

Analisis Kandungan Vitamin E pada Buah *Borassus flabellifer* Linn. Menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Analysis of Vitamin E in Borassus flabellifer Linn. Using High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Hari Widada

Laboratorium Kimia Organik dan Kimia Analisis, Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Email: hr.widada@gmail.com

Abstrak

Vitamin E hanya disintesis di dalam tanaman dan sumber terbanyak adalah tanaman yang menghasilkan minyak, termasuk buah siwalan (*Borassus flabellifer* Linn.). Siwalan merupakan salah satu tanaman jenis palma yang dapat tumbuh baik di ekosistem pantai dan telah diketahui mempunyai banyak manfaat. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kandungan vitamin E dalam buah siwalan. Ekstraksi vitamin E dalam buah siwalan dilakukan dengan ekstraksi kering dan ekstraksi basah untuk membandingkan perolehan kadar vitamin E-nya. Ekstrak dianalisis dengan sistem HPLC fase normal dengan sistem kolom: C18, fase gerak: etil asetat/ asam asetat/ heksana = 1/1/198, kecepatan alir 2 mL/ menit, detektor UV-Vis 295 nm dengan volume injeksi 20,25L. Validasi metode analisis untuk menentukan parameter uji kesesuaian sistem, linearitas, *limit of quantification*, akurasi, presisi dan *recovery*. Hasil ekstraksi buah siwalan diperoleh rendemen ekstrak basah sebesar 0.152% dan rendemen ekstrak kering sebesar 5.77%. Parameter validasi metode analisis berturut-turut meliputi uji kesesuaian sistem 1.34%, linearitas r^2 0.995, *limit of quantification* 2.14 ng/ mL, akurasi % *difference* 6.33%, presisi intra-day 4.39%, inter-day 3.88% dan *recovery* 3.49%. Hasil proses validasi memenuhi kriteria menurut FDA (2001). Hasil analisis kandungan vitamin E diperoleh kadar rata-rata ekstrak kering sebesar 3.19% \pm 0.12% dan ekstrak basah sebesar 4.76% \pm 0.17%.

Kata kunci: Vitamin E, Siwalan, HPLC, Validasi, *Borassus flabellifer* Linn.

Abstract

Vitamin E is only synthesized in plants and is the largest source of oil-producing crops, including fruit palm (Borassus flabellifer Linn.). Siwalan is one type of palm plants that grow well in coastal ecosystems and have been known to have many benefits. This study aims to establish the amount of vitamin E in the palm fruit. The extraction of vitamin E in the palm fruit is done by extraction of dry and wet extraction to compare the acquisition of vitamin E was. Extracts were analyzed by normal-phase HPLC system with a system of columns: C18, mobile phase: ethyl acetate / acetic acid / hexane = 1/1/198, flow rate of 2 mL / min, UV-Vis detector at 295 nm injection volume of 20 uL. Validation of analytical methods to determine the parameters of the system suitability test, linearity, limit of quantification, accuracy, precision and recovery. Results obtained by extraction of palm fruit extract yield amounted to 0152% wet and dry extract yield of 5.77%. Parameter validation of analytical methods respectively include system suitability test 1:34%, 0995 r2 linearity, limit of quantification 2:14 ng / mL, 6:33 Difference%% accuracy, precision intra-day 4:39%, 3.88% inter-day and 3:49% recovery. Results of the validation process meets the criteria according to the FDA (2001). Results of the analysis of the content of vitamin E obtained an average level of dry extract of 3:19% \pm a 0.12% and amounted to 4.76% wet extract \pm 0:17%.

Key words: Vitamin E, Siwalan, HPLC, Validation, *Borassus flabellifer* Linn.

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.¹

Vitamin E secara alami hanya disintesis oleh tanaman dan sumber terbanyak dari vitamin E adalah jenis tanaman yang menghasilkan minyak. Semua tanaman tingkat tinggi (kecuali jenis alga) terdapat α -tokoferol pada daun dan bagian hijau yang lainnya, sedangkan γ -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, α , β , γ dan σ .²

Vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) dapat dianalisis dengan berbagai metode. Pada tahun 1970, AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) menampilkan beberapa metode analisis konvensional pada α -tokoferol dan α -tokoferil asetat yang berbasis pada analisis kolorimetri atau polarimetri dan teknik 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

mengubah gugus hidroksi 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. 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.³

Indonesia sebagai negara kepulauan dengan sekitar 17.805 buah pulau yang memiliki garis pantai sepanjang lebih dari 80.000 km.⁴ 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 *B. flabellifer Linn.* adalah daun dan nira yang dihasilkan dari proses penyadapan yang diperdagangkan dalam bentuk nira segar maupun diolah menjadi produk gula.⁵ Sementara pada buah yang dimanfaatkan adalah bijinya yang bertekstur seperti gelatin dengan rasa cairan seperti air kelapa.⁶ Buah muda yang rasanya manis dan gurih seperti buah kelapa muda, sehingga dapat digunakan untuk bahan minuman, manisan, buah kaleng, kue dan selai.⁷

Sebagai tanaman jenis palma-palmaan maka buah *B. flabellifer Linn.* diduga mengandung minyak dan senyawa larut minyak. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha untuk menganalisis kandungan senyawa larut minyak yang terdapat pada daging buah *B. flabellifer Linn.* khususnya kandungan vitamin E-nya.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan vitamin E dalam daging buah *B. flabellifer Linn.* dan melakukan validasi metode analisis terhadap sistem yang digunakan dengan instrumen HPLC.

BAHAN DAN CARA

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: buah *B. flabellifer Linn.*, etanol p.a (Merck), heksana p.a (Merck), etil asetat p.a (Merck), asam asetat p.a. (Merck). Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: alat-alat gelas, corong pisah, Rotary Evaporator (Rotavapor^R R215), system alat HPLC (Simadzu[®] AD30) meliputi; fase gerak (fase normal) 1:1:198 (v/ v/ v) = etil asetat/asam asetat/ heksana, detektor fluoresen (eksitasi 290 nm, emisi 330 nm) atau detektor UV 295 nm, kolom silica 4.6 mm × 25 cm, 5- μ m (fase normal)

Penelitian ini menggunakan dua sampel yaitu sampel kering (simplisia) dan sampel segar (daging buah basah). Preparasi ekstraksi sampel kering dilakukan dengan cara maserasi. Simplisia kering disiapkan dengan memotong tipis ($\pm 0,5$ cm) daging buah *B. flabellifer Linn.* yang sudah dikupas dan dicuci bersih. Simplisia dihaluskan menggunakan blender 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 yang sama. Pada hari ke-2 remaserasi dilakukan penyaringan. Hasil penyaringan (filtrat) maserasi dan remaserasi dicampur dan

diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C. Larutan ekstrak diuapkan kembali menggunakan cawan porselen dengan kipas angin sampai tidak tercium bau pelarut, kemudian dihitung rendemen ekstrak masing-masing bagian.

Preparasi ekstraksi sampel basah menggunakan metode ekstraksi langsung. Daging buah *B. flabellifer Linn.* segar (sampel) sebanyak 750 gram dibagi 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 tercampur rata. Masing-masing bagian ditambahkan 350 mL *n*-heksan dan sesering mungkin digojok. Filtrat dipisahkan dari ampas daging buah *B. flabellifer Linn.* menggunakan penyaring. Filtrat yang didapat dari masing-masing bagian digojok kembali kemudian dipisahkan dalam corong pisah. Bagian fase minyak diambil dan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Larutan pekat yang didapat diuapkan kembali menggunakan cawan petri dengan kipas angin sampai tidak tercium bau pelarut sehingga diperoleh ekstrak *B. flabellifer Linn.* 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

Validasi metode analisis dengan metode HPLC dilakukan terhadap beberapa parameter yaitu uji kesesuaian sistem (UKS), kurva kalibrasi dan linieritas, penetapan Limit of Quantification (LoQ), akurasi, presisi serta *recovery*. Uji kesesuaian sistem, kurva kalibrasi dan linieritas diukur dengan cara membuat seri konsentrasi larutan standar vitamin E 10, 20, 30, 40, 50, 60 ng/ mL. *Limit of Quantification*, akurasi, presisi dan *recovery* diukur pada tiga titik konsentrasi yang merupakan nilai tengah yaitu 15, 35, 55 ng/ mL. Penginjeksian sampel masing-masing dilakukan enam kali replikasi. Presisi dilakukan untuk pengukuran *intra-day* (keterulangan) dan *inter-day* (presisi antara). Uji *intra-day* (*repeatability*) dilakukan pada jangka waktu yang singkat untuk melihat presisi pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatan, tempat maupun waktunya.

Analisis HPLC kandungan vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) dalam komponen minyak buah *B. flabellifer Linn.* dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut: 1) *setting* sistem HPLC (Tabel 1) sesuai dengan petunjuk, 2) membilas sistem dengan fase gerak selama 10 menit dengan kecepatan alir 1,5 ml/ menit selanjutnya menghubungkan kolom dengan *detector*, 3) menyetimbangkan kolom dengan fase gerak pada kecepatan alir 1,5 mL/ menit sampai *baseline* stabil, 4) menginjeksikan sampel (25-100 µL) dan 5) analisis menggunakan fase gerak dengan kecepatan alir 1,5 mL/ menit (fase normal).

HASIL

Tabel 1. Sistem HPLC yang Digunakan⁸ untuk Validasi Metode Analisis Kandungan Vitamin E pada Buah *B. flabellifer Linn.*

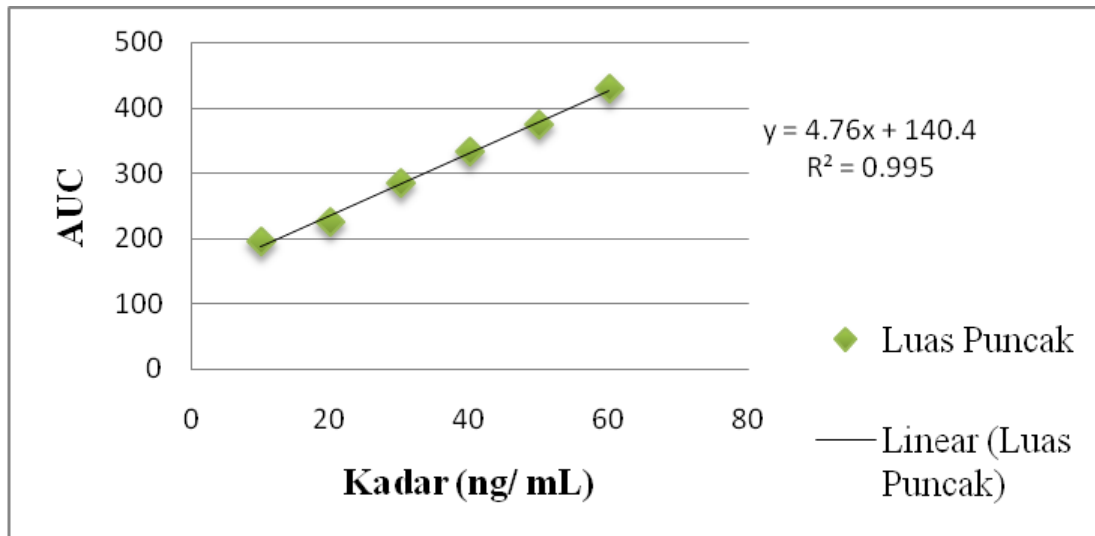
| Bagian HPLC | Keterangan |
|-------------------|---|
| Kolom | C ₁₈ |
| Dimensi Kolom | 4.6 mm x 25 cm |
| Fase Gerak | Etil asetat/asam asetat/heksana 1:1:198 (v/v/v) |
| Kecepatan Alir | 2 ml/ menit |
| Ilusi | Isokratik |
| Detektor | UV-Vis |
| Panjang Gelombang | 295 nm |
| Suhu | 40° C |
| Volume Injeksi | 20 µl |

Beberapa sampel hasil pengeringan menggunakan oven suhu 70°C selama 24 jam diperoleh hasil pada Tabel 1, sedangkan ekstraksi basah sebelum dilakukan penyarian fase minyak menggunakan n-heksan ditambahkan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh dalam penelitian ini berbentuk ekstrak kental dengan nilai hasil rendemen sebagai berikut:

Tabel 2. Berat Simplisia Setelah Pengeringan (70°C Selama 24 jam) dan Rendemen Ekstrak Buah *B. flabellifer Linn.*

| Replikasi | Bobot Sampel (gram) | | Rendemen Ekstrak (%) | |
|------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-------|
| | Sebelum dikeringkan | Sesudah dikeringkan | Kering | Basah |
| 1 | 250 | 22,86 | 4,892 | 0,113 |
| 2 | 250 | 21,97 | 7,632 | 0,158 |
| 3 | 250 | 22,34 | 4,782 | 0,185 |
| Rata-rata | | 22,39 | 5,769 | 7,632 |

Validasi metode analisis kandungan vitamin E dilakukan menggunakan sistem HPLC berdasarkan referensi sebagaimana tertuang dalam Tabel 1. Data luas puncak (*Area Under Curve/ AUC*) kemudian dibuat plot persamaan garis lurus kurva kalibrasi (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Standar Vitamin E dalam Buah *B. flabellifer Linn.*

Nilai parameter validasi metode analisis kandungan vitamin E menggunakan metode HPLC dibandingkan dengan kriteria validitas menurut stan-

dart *Food and Drug Administration* (FDA) (Tabel 3).

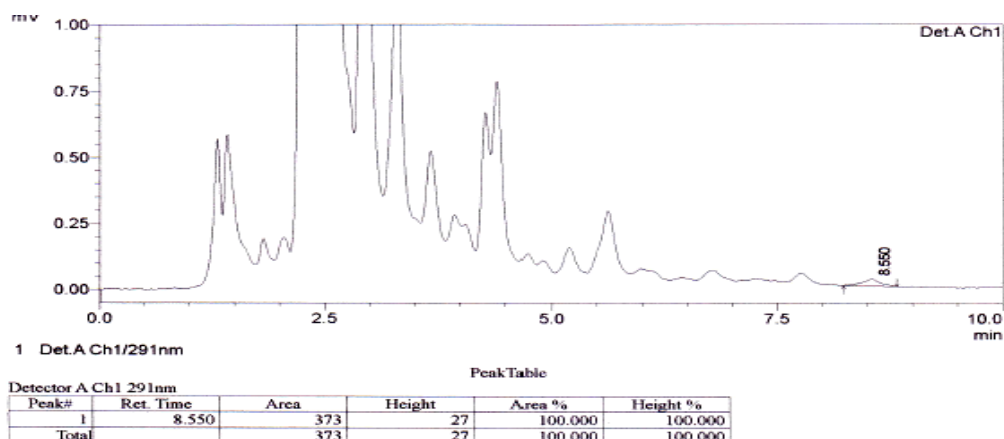
Hasil analisis pada ekstrak kering yang diperoleh ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Parameter Validasi Dibandingkan dengan Kriteria Menurut Standart *Food and Drug Administration* (FDA)

| No | Jenis Pengujian | Kriteria ⁹ | Hasil |
|----|--------------------------------------|---|---|
| 1 | Uji Kesesuaian Sistem | % CV <2% | 1.34% |
| 2 | Kurva Kalibrasi dan Linearitas | Nilai korelasi (R)>0.99, LOQ dan titik lain<15% | R=0.995 % error=14.71 % |
| 3 | <i>Limit of Quantification</i> (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 | <i>Recovery</i> | 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 % |

Tabel 4. Hasil Analisis Kandungan Vitamin E dari Ekstrak Kering dan Ekstrak Basah Buah *B. flabellifer Linn.*

| 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% | | | |



Gambar 3. Kromatogram Hasil Analisis Kandungan Vitamin E Buah *B. flabellifer Linn.*

DISKUSI

Proses ekstraksi dalam penelitian ini menghasilkan rendemen ekstrak yang sangat rendah. Permasalahan ini disebabkan oleh karena sebagian besar massa buah *B. flabellifer Linn.* tersusun dari komponen air, sehingga proses pengeringan menyebabkan susut bobot yang sangat besar. Pada ekstraksi kering diperoleh konsentrasi rendemen rata-rata sebesar 5.765 %. Rendemen yang dihasilkan dari proses ekstraksi basah 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 *B. flabellifer Linn.* dari dalam massa cair yang didominasi komponen larut air. Kecilnya kandungan komponen minyak menyebabkan rendemen yang dihasilkan juga jauh lebih kecil (rata-rata 0,152%).

Proses validasi diawali dengan membuat kurva kalibrasi menggunakan senyawa standar vitamin E. Kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi $y = 4.76 x + 140.4$ dengan $r^2 = 0.995$. Nilai korelasi 0.995 membuktikan linieritas hasil pengukuran

dengan sistem yang sudah didesain. Selanjutnya ditentukan nilai parameter validasi dengan membandingkan hasil perhitungannya dengan kriteria standar yang berlaku untuk sediaan farmasi.⁹ Acuan FDA digunakan karena vitamin E merupakan kandungan kimia yang disuplementasikan dalam sediaan makanan, minuman, kosmetika maupun obat-obatan. Pada uji kesesuaian sistem, FDA mempersyaratkan bahwa validitas metode terpenuhi jika nilai % CV < 2 %, dan pada sistem ini didapatkan nilai % CV= 1.34%. Linieritas kurva kalibrasi juga terpenuhi dengan nilai $r^2 > 0.99$ yakni dengan $r^2 = 0.995$. Penentuan *Limit of Quantification* (LoQ) dilakukan pengukuran menggunakan kadar sampel sebesar 10 ng/ mL, FDA mempersyaratkan % CV < 15. Hasil perhitungan didapatkan % CV= 10.0% dan nilai LoQ: 2.14 ng/ mL.

Penentuan akurasi dan presisi dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi yang merupakan nilai tengah dari seri konsentrasi pada penentuan kurva kalibrasi, yakni pada konsentrasi 15 ng/ mL, 35 ng/ mL dan 55 ng/ mL. Food and Drug Administration mempersyaratkan validitas pada parameter

akurasi dan presisi dengan nilai % CV < 15.⁹ Hasil pengukuran berturut-turut diperoleh rata-rata % CV akurasi= 4.39 %, presisi *intra-day*= 4.39 % dan presisi *inter-day*: 3.88 %. Perolehan kembali (*recovery*) juga ditetapkan pada 15 ng/mL, 35 ng/mL dan 55 ng/mL. Persyaratan yang harus dipenuhi menurut FDA adalah nilai % *recovery* antara 80-120%.⁹ Nilai % *recovery* pada konsentrasi 15 ng/mL dan 35 ng/mL memenuhi persyaratan, yakni berturut-turut sebesar 95.14% dan 100.70%, sedangkan pada konsentrasi 55 ng/mL nilai % *recovery* tidak memenuhi persyaratan yakni sebesar 75.00%. Secara umum dari pengukuran parameter validasi diperoleh hasil yang menyatakan bahwa sistem dan metode yang digunakan adalah valid.

Analisis kandungan vitamin E dalam buah *B. flabellifer Linn.* dengan metode HPLC dilakukan menggunakan metode fase normal karena dalam sistem ini fase diam yang digunakan bersifat polar, sedangkan fase gerak bersifat non-polar.⁸ Detektor yang digunakan adalah detektor UV karena pada struktur vitamin E terdapat sistem ikatan-II (kromofor) yang mengabsorpsi sinar UV pada area panjang gelombang 291.5 nm, sehingga senyawa yang dianalisis kompatibel bagi penggunaan detektor UV.⁸

Analisis kandungan vitamin E dalam buah *B. flabellifer Linn.* dilakukan terhadap ekstrak yang diperoleh dengan cara ekstraksi kering dan ekstraksi basah. 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 5). Hasil analisis

kandungan vitamin E dalam buah *B. flabellifer Linn.* lebih besar jika dibandingkan dengan kandungan vitamin E dalam buah kolang-kaling (*Arenga pinnata Merr.*), yaitu 0,92% dari proses ekstraksi kering dan 1,12% dari ekstraksi basah.¹⁰ Hasil analisis kandungan vitamin E dari ekstraksi basah didapat hasil yang lebih besar kemungkinan disebabkan oleh faktor stabilitas senyawa vitamin E terhadap pengaruh suhu. Pemanasan yang dilakukan pada proses pengeringan ekstrak menyebabkan rusaknya kandungan vitamin E dalam sampel. Pemanasan dapat mengurangi berbagai fraksi vitamin E dalam kelapa sawit dan minyak kedelai sebagai fungsi dari tingkat pemanasan.¹¹ Stabilitas isomer vitamin E bervariasi selama pemanasan, tergantung pada jenis minyak yang digunakan, yang mencerminkan isi PUFA (*Poly-Unsaturated Fatty Acid*) dan isomer vitamin E-nya. Penelitian yang ada belum memberikan bukti yang memadai tentang perubahan vitamin E, terutama *tocotrienol* setelah proses pemanasan.¹¹

Dalam analisis kandungan vitamin E buah *B. flabellifer Linn.* ini sukar dilakukan pemisahan komponen penyusun dalam campuran vitamin E yaitu tokoferol dan tokotrienol karena keterbatasan sensitifitas dan resolusi dari alat HPLC yang digunakan. Hasil yang diperoleh adalah kadar vitamin E total. Hal ini ditunjukkan dari hasil kromatogram dan data luas puncak yang hanya menunjukkan satu puncak (Gambar 3.). Metode HPLC dengan fase terbalik menggunakan fase gerak methanol:air (97:3 v/v) dan fase diam *pentafluorophenyl* (diameter butiran: 3 µm, dimensi: 150 mm × 4.6 mm), terbukti memiliki sensitivitas, kecepatan dan pengulangan yang lebih tinggi dibandingkan dengan HPLC fase normal.¹²

Penggunaan pelarut 2-propanol dapat mencegah hilangnya analit dan dengan demikian mengurangi risiko kemungkinan pengukuran kesalahan.¹²

SIMPULAN

Dalam buah *B. flabellifer Linn.* terdapat kandungan vitamin E dengan kadar rata-rata; ekstrak kering sebesar 3.19% ± 0.12% dan ekstrak basah sebesar 4.76% ± 0.17%. Sistem HPLC dengan fase normal dapat digunakan untuk analisis kandungan vitamin E dalam buah *B. flabellifer Linn.*

DAFTAR PUSTAKA

1. Hillan, J., *Facts about Vitamin E*. Department of Family, Youth and Community Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 2006.
2. Christie, W.W., *Tocopherols and Tocotrienols – Structure, Composition, Biology and Analysis*, 2011, @ <http://lipidlibrary.aocs.org>
3. Xu, Z. Analysis of Tocopherols and Tocotrienols, *Protocols in Food Analytical Chemistry*. 2002, D1.5.1-D1.5.12, John Wiley and Sons Inc.
4. Hantoro W.S. 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, 2001 December 10-12.
5. Mahmud, Z. dan Amrizal. Palma sebagai Bahan Pangan, Pakan dan Konservasi. *Buletin Balitka*, 1991; (14): 106 – 113. Balai Penelitian Kelapa. Manado.
6. Nurtama, B. dan I. Naomi.. Paket Industri Pembuatan Buah Lontar (*Borassus flabellifer Linn.*) Olahan. *Buletin Teknik dan Industri Pangan*, 1996; VII (2): 95-99
7. Amalo, P. Multiguna, dari Akar hingga Nira. *Media Indonesia*. 21 November 2008. Hal 5.
8. Sarikaya, B.B. and Kalayar, H. Quantitative Determination of D-tocopherol and Quality Control Studies in *Sarcopoterium spinosum L.* *Marmara Pharmaceutical Journal*, 2011; 15: 7-10.
9. Anonim, Guidance for Industry; Bioanalytical Method Validation, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), *Center for Veterinary Medicine (CVM)*, May 2001, p. 4-10.
10. Irawan,S. dan Widada, H., Validasi Metode Analisis Kandungan Vitamin E pada Buah Kolang Kaling (*Arenga pinnata Merr.*) dengan Metode High Performance Liquid Chromatography, Skripsi, FKIK, UMY,hal.12, 2014
11. Adam, S.K., Nik Aziz Sulaiman, N.A., Top, A.G.M. and Jaarin, K., Heating Reduces Vitamin E Content in Palm and Soy Oils, *Malaysian J Biochemistry and Molecular Biology*, 2007; 15 (2): 76-79
12. Górna[, P., Siger, A., Czubinski, J., Dwiecki, K., SegliFa, D., and Nogala-Kalucka, M. An Alternative RP-HPLC Method for the Separation and Determination of Tocopherol and Tocotrienol Homologues as Butter Authenticity Markers: A comparative study between two European countries. *European J Lipid Science and Technology*, 2014; 116 (7): 895–903.