JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND SCIENCES
Electronic ISSN :
Homepage : https://www.journal-jps.com

ORIGINAL ARTICEL

JPS |Volume 1| No 1|JUL-DES |2018|pp. 39-44



DETERMINATION OF PHOSPHORUS CONTENT IN GREEN OKRA (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) USING VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

Muharni Saputri[1)*], Muhammad Gunawan[2)], Maizatun Maghfirah[3)]
Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dhien Medan,
Jl. Gatot Subroto / Jl. Rasmi No. 28 Medan 20123
e-mail: muharnisaputri16@gmail.com

ABSTRACT
Green Okra is one vegetable that contains minerals is quite high. One such mineral is phosphorus, which is an essential mineral needed for growth and repair of cells in the body. This study aims to determine the levels of phosphorus in raw green okra, steamed, and stew as commonly consumed by people. The research method using wet digestion analysis and measurement with visible spectrophotometry with the addition of phosphorus reagent color developer which is a mixture ammonium molibdat 4%, ascorbic acid 0.1 N, antimonil potassium tartrate, and 5N sulfuric acid produces a blue color and is measured at a wavelength of 722, 50 nm with the working time in the 30th minute to the 38th minute. Levels of phosphorus obtained from raw green okra 62.115 mg / 100 g, steamer 60.130 mg / 100 g,

Keywords: Phosphor; Green okra; Visible spectrophotometry; Validation

ABSTRAK
Okra hijau merupakan salah satu sayuran yang mengandung mineral cukup tinggi. Salah satu mineral tersebut adalah fosfor, yaitu mineral esensial yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perbaikan sel-sel di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar fosfor pada okra hijau mentah, kukusan, dan rebusan sebagaimana lazimnya dikonsumsi oleh masyarakat. Metode penelitian dengan menggunakan analisis destruksi basah dan pengukuran dengan spektrofotometri sinar tampak dengan penambahan pereaksi pengembang warna fosfor yaitu campuran amoniummolibdat 4%, asam askorbat 0,1 N, kalium antimonil tartrat, dan asam sulfat 5N menghasilkan warna biru dan diukur pada panjang gelombang 722,50 nm dengan waktu kerja pada menit ke-30 hingga menit ke-38. Kadar fosfor yang diperoleh dari okra hijau mentah 62,115 mg/100 g, kukusan 60,130 mg/100 g, dan rebusan 60,040 mg/100 g, dengan hasil validasi diperoleh persen perolehan kembali pada batas penerimaan yang baik sebesar 100,42% dengan presisi (RSD) 1,00%, dan batas deteksi (LOD) 0,0175 µg/ml dan batas kuantitasi (LOQ) 0,0584µg/ml.

Kata kunci: Fosfor; Okra hijau; Spektrofotometri sinar tampak; Validasi

PENDAHULUAN

Okra hijau (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) merupakan jenis tumbuhan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat, khususnya untuk dimanfaatkan sebagai sayuran. kandungan gizi dalam setiap 100 gram okra hijau segar adalah sekitarkarbohidrat 7,03 g; protein 2,0 g; lemak 0,1 g; fosfor 63 mg; serat 3,2 g; kalsium 81 mg; zat besi 0,80 mg; magnesium 57 mg; vitamin A 375 IU; vitamin c 21,1 mg; vitamin e 35 mg; vitamin k 53 µg dan lain sebagainya (Santoso, 2016).

Mineral merupakan salah satu zat gizi kebutuhan tubuh manusia yang mempunyai peranan penting dalam pemeliharaan fungsi tubuh, seperti untuk pengaturan kerja enzim-enzim, pemeliharaan keseimbangan asam-basa, membantu pembentukan ikatan yang memerlukan mineral seperti pembentukan hemoglobin (Almatsier, 2004). Fosfor merupakan mineral kedua terbanyak di dalam tubuh yaitu 1% dari berat badan. Sekitar 85% fosfor terdapat di dalam tubuh sebagai garam kalsium fosfat di dalam tulang dan gigi yang tidak dapat larut (Pudjiadi, 2000). Fosfor selebihnya terdapat di dalam semua sel tubuh, separuhnya di dalam otot dan di dalam cairan ekstraseluler. Fosfor merupakan bagian dari DNA dan RNA yang terdapat dalam inti sel dan sitoplasma sel hidup. Sebagai fosfolipid, fosfor merupakan komponen penyusun dinding sel (Winarno, 2002).

Masyarakat umumnya mengkonsumsi okra hijau yang telah diolah. Hal ini kemungkinan dapat menurunkan manfaat okra hijau untuk kesehatan, karena senyawa kimia yang terkandung di dalamnya, terutama fosfor akan berkurang/rusak, maka perlu dianalisis kandungan fosfor di dalam okra hijau mentah dan yang telah diolah (Nadira, 2009). Dalam beberapa literatur, penentuan kadar fosfor dapat dilakukan secara spektrofotometri serapan atom dan secara spektrofotometri sinar tampak, menggunakan pereaksi pengembang warna fosfor berwarna biru diukur pada panjang gelombang sekitar 610-750 nm. Penetapan kadar fosfor dengan metode spektrofotometri sinar tampak lebih praktis dan sederhana, dan dapat digunakan untuk kadar yang kecil (Vogel, 1989).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian yaitu akuades (Brataco, Indonesia), akuabides (Brataco, Indonesia), amonium molibdat 4% (Merck, Jerman), asam askorbat 0,1 N (Merck, Jerman), asam nitrat 5 N (Merck, Jerman), asam sulfat 5 N (Merck, Jerman), kalium antimonil tartrat 0,274% (Merck, Jerman), dan kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman).

Alat-alat yang digunakan berupa alat-alat gelas blender (Miyako®), *hot plate (Nouva),* neraca analitik (*Mettler Teledo*®),oven (*memmert*), dan Spektrofotometer *UV-Visible* (*Shimadzu* 1800®).

Penyiapan Sampel

Okra hijau segar disortasi basah, setelah disortasi sampel sebanyak ± 1,5 kg dicuci bersih dengan air mengalir hingga tidak terdapat kotoran yang tertinggal, lalu dibilas dengan akuabides. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan lalu dirajang kecil-kecil ± 1 cm, kemudian sampel dibagi 3 untuk setiap perlakuan.

1. Okra hijau mentah
   Sampel dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian ditimbang ± 85 gram.
2. Okra hijau kukusan
   Sampel dikukus terlebih dahulu dengan air mendidih suhu 100ºC selama ± 10 menit, didinginkan ± 5 menit, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender dan ditimbang masing-masing ± 85 gram.
3. Okra hijau rebusan
   Sampel direbus terlebih dahulu dengan air mendidih suhu100ºC selama ± 10 menit, didinginkan ± 5 menit, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender dan masing-masing ditimbang ±85 gram.

Destruksi Basah

Sampel yang telah dihaluskan ditimbang ± 85 g, dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 20 ml asam nitrat 5N, kemudian dipanaskan diatas *hotplate* hingga mendidih selama lebih kurang 30 menit pada suhu 100ºC (Raimon, 1993)

Pembuatan Larutan Sampel

Larutan hasil destruksi disaring dengan kertas *Whatmann* no. 42 dengan membuang 5 ml larutan pertama hasil penyaringan dan selanjutnya dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml. Residu pada kertas saring dibilas sebanyak 3 kali sampai filtrat tidak memberikan reaksi positif terhadap larutan pengembang warna fosfor. Kemudian dicukupkan volumenya dengan akuabides hingga garis tanda. Larutan ini digunakan untuk uji kualitatif dan kuantitatif.

Analisis Kualitatif Fosfor

Analisis kualitatif fosfor dapat dilakukan dengan pereaksi amonium molibdat dan $BaCl_2$5%, analisis kualitatif dilakukan pada larutan sampel:

a. Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 5,0 ml larutan sampel, ditambah pereaksi amonium molibdat 4% b/v ± 2,0 ml, dikocok lalu diamkan, maka akan terbentuk endapan kuning.
b. ke dalam tabung reaksi dimasukkan 5 ml larutan sampel, ditambahkan larutan $BaCl_2$ 5% ± 2,0 ml, maka terbentuk endapan putih yang larut dalam asam nitrat encer (Vogel, 1985).

Analisis Kuantitatif Fosfor

Pembuatan kurva serapan maksimum larutan KH_2PO_4

Ditimbang seksama 0,2197 g KH_2PO_4 dilarutkan dan dilakukan pengenceran sampai diperoleh konsentrasi sebesar 6 µg/ml, kemudian dipipet 5 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, ditambahkan 1,0 ml larutan pengembang warna fosfor, dicukupkan dengan akuabides sampai garis tanda, diperoleh konsentrasi larutan baku KH_2PO_4 konsentrasi 1,2 µg/ml. Diukur serapan pada panjang gelombang maksimum 400-800 nm (Khopkar, 2002)

Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 5 ml larutan KH_2PO_4 (konsentrasi 6 µg/ml) dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, ditambahkan 1,0 ml larutan pengembang warna fosfor, dicukupkan dengan akuabides sampai garis tanda, diperoleh konsentrasi larutan baku KH_2PO_4 konsentrasi 1,2 µg/ml, kemudian diukur serapan pada panjang gelombang maksimum mulai dari terbentuknya kompleks warna pada ± 5 menit sampai 60 menit. Diperoleh absorbansi yang stabil sebagai waktu kerja yang baik.

Pembuatan kurva kalibrasi larutan baku KH_2PO_4

Dimasukkan larutan KH_2PO_4 (konsentrasi 6 µg/ml) sebanyak 2,5 ml; 3,5 ml; 4,5 ml; 5,0 ml; dan 6,0 ml masing-masing ke dalam labu tentukur 25 ml, ditambahkan 1,0 ml larutan pengembang warna fosfor, dicukupkan dengan akuabides hingga garis tanda, diperoleh larutan konsentrasi 0,6 µg/ml; 0,8 µg/ml; 1,0 µg/ml; 1,2 µg/ml; dan 1,4 µg/ml. Diamkan selama beberapa menit sesuai waktu kerja. Kemudian diukur serapan pada panjang gelombang maksimum, maka diperoleh kurva kalibrasi dan dihitung persamaan garis regresi.

Pengukuran absorbansi sampel

Dipipet 5,0 ml larutan sampel yang telah dpersiapkan (ditimbang seksama ± 85 g didestruksi basah dan dicukupkan sampai 50 ml), dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, dicukupkan dengan akuabides hingga garis tanda. Dipipet 6 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml, kemudian di pipet 5,0 ml dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, ditambah 1,0 ml larutan pengembang warna fosfor, dicukupkan dengan akuabides hingga garis tanda. Diamkan selama 30 menit diukur serapan pada panjang gelombang 722,50 nm.

Validasi Metode

Uji validasi metode dilakukan dengan uji akurasi (kecermatan), uji presisi (keseksamaan), dan uji sensitivitas yaitu *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOD).

Analisis Data

Data kadar dinyakatan sebagai rata-rata ± SD. Data dianalisis dengan Uji T dengan tingkat kepercayaan 99%.

HASIL DAN DISKUSI

Analisis kualitatif pada okra hijau menunjukkan hasil yang positif adanya fosfor dengan pereaksi amonium molibdat 4% terbentuk endapan kuning dan $BaCl_2$ 5%, terbentuk endapan putih yang larut dalam asam nitrat encer (Vogel, 1989). Pada **Gambar 1** analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri sinar tampak menghasilkan panjang gelombang maksimum sebesar 722,50 nm. Panjang gelombang yang diperoleh ini sesuai dengan literatur, yaitu pada rentang 610-750 nm yang merupakan rentang panjang gelombang untuk warna komplementer biru-hijau (Gandjar dan Rohman, 2007).

Pada **Gambar 2** menunjukkan hasil dari pengukuran absorbansi pada berbagai waktu, diperoleh absorbansi yang stabil pada menit ke-30 hingga menit ke-38. Maka pekerjaan pengukuran absorbansi selanjutnya dapat digunakan waktu kerja mulai menit ke-30 sampai menit 38.

Analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometer sinar tampak menghasilkan kurva kalibrasi dengan persamaan y = 0,348081x + 0,001445 dengan nilai R^2 = 0,999945, sebagaimana yang ditunjukkan oleh **Tabel 1** dan **Gambar 3**. Pada penetapan kadar fosfor menggunakan metode asam askorbat secara spektrofotometri sinar tampak. Sampel yang telah didestruksi basah berupa PO_4^{3-} bereaksi dengan amonium molibdat dan kalium antimonil tartrat dalam suasana asam membentuk kompleks fosfomolibdat lalu direduksi dengan asam askorbat membentuk kompleks molibdenum yang bewarna biru dan stabil selama 8 menit, diukur pada menit ke-30 pada panjang gelombang 722,50 nm. Perhitungan kadar fosfat dapat menggunakan rumus menurut Walpole (1962). Berdasarkan perhitungan statistik rata-rata kadar fosfor pada sampel dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 4**.

Tabel 1. Hasil pengukuran kurva kalibrasi larutan baku kalium dihidrogen pospat

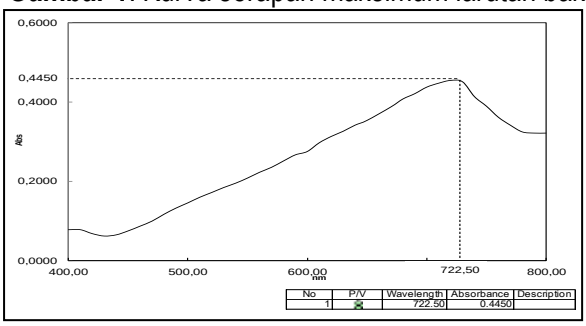
NO	Konsentrasi(µg/ml)	Absorbansi
1.	0,000	0,001
2.	0,600	0,209
3.	0,800	0,281
4.	1,000	0,351
5.	1,200	0,421
6.	1,400	0,486

Berdasarkan hasil analisis kadar fosfor yang didapat dari sampel okra hijau yang diuji, terlihat bahwa kadar fosfor di antara sampel yang diuji tersebut terdapat perbedaan. Kadar fosfor di dalam okra hijau mentah lebih tinggi dibandingkan dengan kadar fosfor di dalam sampel yang telah dikukus dan yang telah direbus. Menurut berbagai referensi dinyatakan bahwa kadar fosfor di dalam okra hijau berkisar 63 ml/100 g (Santoso, 2016). Kadar fosfor di dalam okra hijau dari hasil penelitian diperoleh lebih kecil dibandingkan dengan referensi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh tempat tumbuh tanaman, iklim, jenis tanah, alat dan metode yang digunakan pada analisa.

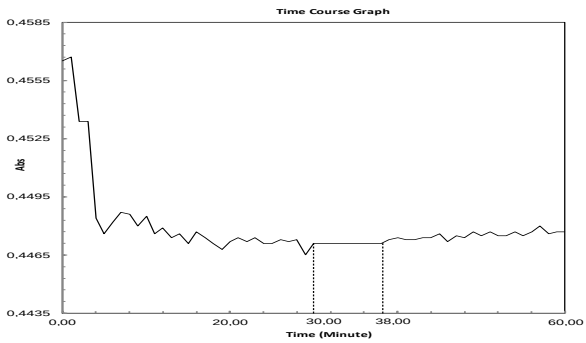
Tabel 2. Hasil analisis kadar fosfor di dalam sampel okra hijau

No.	Sampel	Kadar fosfor (mg/100g)
1	Okra hijau mentah	62,115 ± 0,065
2	Okra hijau kukus	60,130 ± 0,073
3	Okra hijau rebus	60,040 ± 0,095

Gambar 1. Kurva serapan maksimum larutan baku

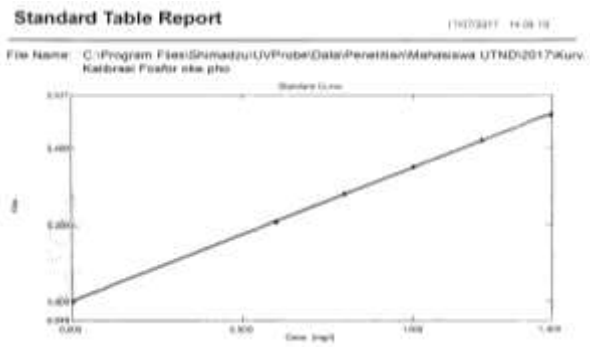


fosfor dengan konsentrasi 1,2 µg/ml

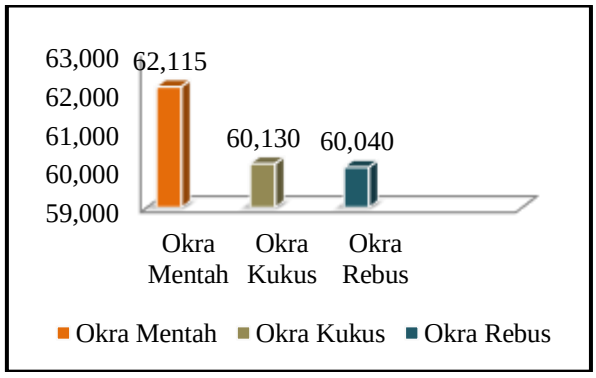


Gambar 2.*Operating time* larutan baku fosfor

Validasi metode dilakukan dengan cara uji akurasi, presisi, dan uji sensitivitas yaitu *Uji Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantity* (LOQ) yang dapat dilihat pada Tabel 3. Uji presisi ditentukan dengan cara menghitung Relatif standar deviasi persen (RSD), sedangkan uji akurasi dilakukan dengan membuat 3 konsentrasi analit dengan rentang spesifik 80%, 100%, dan 120%. Setiap rentang spesifik mengandung 70% analit dan 30% bahan baku pembanding masing-masing dikerjakan dengan 3 replikasi (Harmita, 2004). Dari uji perolehan kembali yang dilakukan, di dapat persen perolehan kembali sebesar 100,42%. Maka dapat disimpulkan bahwa metode yang dilakukan memberikan akurasi yang memenuhi persyaratan yaitu 80-120% (Ermer dan Miller, 2005). Berdasarkan perhitungan LOD dan LOQ secara berturut-turut sebesar 0,0175 dan 0,0584 µg/ml. Konsentrasi sampel masih diatas dari harga LOD (Harmita, 2004).



Gambar 3. Kurva kalibrasi larutan baku fosfor



Gambar 4. Histogram kadar fosfor pada okra hijau

KESIMPULAN

Berdasarkan pengamatan selama penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan kadar fosfor di dalam okra hijau mentah = 62,115 mg/100g, dan okra hijau yang telah direbus = 60,040 mg/100g, tetapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar fosfor di dalam okra hijau yang telah direbus dan yang telah dikukus. Spektrofotometri sinar tampak, menggunakan pereaksi campuran amonium molibdat 4% b/v, asam askorbat 0,1 N dan kalium antimonil tartrat, dan asam sulfat 5 N, memenuhi uji validasi metode dengan persen *recovery* rata-rata 100,42% dan konsentrasi pengukuran diatas/dibawah LOD 0,0175 µg/ml dan LOQ 0,0584 µg/ml.

REFERENSI

Almatsier, S. (2004). *Prinsip Dasar Ilmu Gizi.* Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Umum. Hal. 243, 245.

Ermer, J., dan Miller, J.H. (2005). *Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Giude to Best Practice*. Weinheim: Wiley-VCH. Hal. 89.

Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 223, 235-236, 240-243, 262, 464.

Harmita. (2004). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Perhitungannya*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI. Hal. 119, 130, 131.

Khopkar, S.M. (2002). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press. Hal. 215.

Nadira, S. (2009). Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Okra (Abelmoschus esculantus L. Moench) pada Pelakuan Pupuk Dekaform dan Defolias. *Journal Agrisains*. 10(1): 10 – 15.

Pudjiadi, S. (2000). *Ilmu Gizi Klinik pada Anak.* Edisi Keempat. Jakarta: Penerbit FK UI. Hal.197-198.

Raimon. (1993). Perbandingan Metoda Destruksi Basah dan Kering secara Spektrofotometri Serapan Atom. Jaringan Kerjasama Kimia Analitik Indonesia.*Jurnal.Lokakarya Nasional.* Yogyakarta. Hal. 50-53.

Santoso, H.B. (2016). *Halaman Organik Minimalis-Sehat dengan Menyulap Taman Sempit Jadi Taman Sayuran Organik*. Yogyakarta: LilyPublisher. Hal. 76-81.

Vogel, A.I.(1989). *Textbook of Macro and Semimicro Qualitative Inorganic Analysis*. Penerjemah: Setiono,L.,dan Pudjaatmaka, A.H.(1985). Buku Teks Vogel Kimia Analisis Anorganik Kualitatif. Edisi kelima. Bagian I. Jakarta: PT Kalman Media Pustaka. Hal.378-379.

Walpole, R.E. (1962). *Introduction to statistics*.Penerjemah: Bambang Sumantri.1995. Pengantar Statistika Edisi Ketiga. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. Hal. 381-397.

Winarno, F.G. (2002). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama. Hal. 154-158.