

Optimasi Analisa Kadar β Karoten Dalam Jagung (*Zea mays.L*) Dengan Metoda HPLC Terhadap Pengaruh Lama Perebusan, Variasi Eluen Dan Kolom

Endang Widaya Nengsih¹, Budhi Oktavia², Sri Benti Etika³

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Padang, Indonesia

¹endang_unp@yahoo.com, ²budhi_akt@yahoo.com, ³bentietika@yahoo.com

Abstract - Corn contains a variety of important chemical compounds; one of them is vitamin A. Nowadays, a shortage of vitamin A becomes a problem for people in whole the world, especially for developing countries, including Indonesia. However, this problem can be reduced by increasing pro-vitamin A which is the precursor of vitamin A. The Pro-vitamin A is obtained from one of Indonesian staple food. It is corn. Unfortunately, the cooking process of corn can reduce the content of vitamin A precursors or β -carotene. The effect of boiling on β -carotene content can be analyzed by HPLC method, a UV-Vis detector at wavelength of 449 nm with C-8 column and an organic solvent of methanol 100%. Retention time for β -carotene is 6, 20 minutes. The effect of long boiling toward decreasing of β -carotene contents has been tested in this research. The result of β -carotene contents for long boiling in 20 minutes and 30 minutes after boiling process are 56, 02% and 68, 32%.

Key word : pro-vitamine A, β Carotene, Boiling time, C-8, HPLC

I. PENDAHULUAN

Jagung (*Zea mays L*) merupakan salah satu tanaman pangan dunia yang terpenting selain gandum dan padi. Jagung selain sebagai sumber karbohidrat utama di Amerika Tengah dan Selatan, jagung juga menjadi alternatif sumber pangan di Amerika Serikat. Penduduk beberapa daerah di Indonesia (misalnya di Madura dan Nusa Tenggara) juga menggunakan jagung sebagai pangan pokok. Kebutuhan jagung di Indonesia saat ini cukup besar, yaitu lebih dari 10 juta ton pipilan kering per tahun. Adapun konsumsi jagung terbesar adalah untuk pangan dan industri pakan ternak (Budiman, 2011:18-19).

Jagung mengandung berbagai senyawa kimia penting, salah satunya vitamin A. Pada negara berkembang kekurangan vitamin A menjadi hal yang lazim terjadi, dan salah satu masalah yang di hadapi oleh masyarakat yang tingkat ekonomi rendah. Namun hal ini dapat dikurangi melalui peningkatan provitamin A yang berasal dari karotenoid pada tanaman yang menjadi salah satu bahan makanan pokok, seperti jagung (*Zea mays L*). Secara umum karotenoid pada buah jagung terlihat pada kernel atau buahnya, karotenoid dominan terdapat pada buah atau kernel jagung. Secara runut kandungannya yakni lutein, zeaxanthin, β - karoten, β - cryptoxanthin, dan α - Karoten (Safawo,2010).

Fungsi β karoten selain provitamin A juga dapat mencegah atau menghambat perkembangan kanker, diantaranya senyawa

β karoten, fitoen dan kantosantin. Hal ini didasarkan kepada adanya hubungan yang erat antara resiko terhadap kanker dengan jumlah retinol dalam darah dan konsumsi terhadap β karoten.

Perubahan struktur provitamin A dalam pengolahan dan penyimpanan makanan dapat terjadi melalui beragam jalur tergantung pada kondisi reaksi. Ada beberapa kemungkinan reaksi perubahan yang disebabkan oleh panas tanpa adanya oksigen, terutama isomerisasi bentuk cis-trans menjadi bentuk neo- β -karoten. Reaksi ini terjadi baik pada pemasakan maupun pengalengan sayur. Senyawa karotenoid yang mempunyai isomer trans mempunyai aktivitas provitamin A 100 %. Kehilangan aktivitas provitamin A dapat terjadi selama sterilisasi anaerob dan bervariasi dari 5-50 %, tergantung pada suhu, waktu dan bentuk karotenoid. Pada suhu tinggi, β karoten terpecah menjadi beberapa bentuk hidrokarbon aromatik (Andarwulan dan Koswara1989:180).

Penentuan kadar β - karoten secara kromatografi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar β karoten pada jagung kuning yang menjadi konsumsi seluruh dunia. Dewasa ini penelitian mengenai analisa beta karoten diantaranya di lakukan dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis), seperti yang telah di lakukan oleh beberapa peneliti yakni Asahedi Umora; dkk (2010) hasil dari percobaannya yakni aseton lebih efektif mengekstrak karotenoid.

Analisa β karoten oleh Tura Safawo menggunakan kolom C-18 dengan fasa gerak asetonitril:metanol:etil asetat waktu retensi β karoten yang diperoleh memiliki waktu yang lama yakni β karoten 22,15 menit, analisa juga dilakukan oleh Delia Gabriela dengan menganalisa jenis jagung hybrids menggunakan kolom Zorbax C-18 dengan fasa gerak asetonitril : metanol (20:80) dengan waktu retensi yang

Corresponding Author :

Budhi Oktavia, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University, Padang, West Sumatera, Indonesia.



budhi_akt@yahoo.com

dihasilkan yakni 4 menit, namun bentuk kromatogram yang dihasilkan masih terdapat puncak yang bercabang dan terdapat noise disekitar kromatogram. Oleh karena itu analisa dari β karoten dari buah jagung diperlukan teknik analisa dengan menggunakan HPLC dengan hasil yang lebih baik.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka pada penelitian ini akan dilakukan analisa terhadap β Karoten pada jagung, menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Penggunaan HPLC pada analisa β karoten ini sangat tepat karena analisis dengan HPLC cepat, daya pisah baik, dan memiliki kepekaan tinggi.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah HPLC Merk Agilent type 1120, Spektrofotometer UV-Vis type , peralatan ekstraksi, rotary evaporator, peralatan gelas, kolom C-8, ODS C-18, CLC-Si dan peralatan gelas. Bahan yang digunakan adalah buah jagung segar, standar β karoten, aseton, asam askorbat, aquades, petrolium benzene, asetonitril, etanol dan metanol.

B. Prosedur Penelitian

1. Prosedur Secara Umum

Prosedur kerja secara umum penggunaan HPLC adalah fasa gerak dialirkan dengan kecepatan alir 1 mL/menit. Selanjutnya panjang gelombang diatur pada λ_{maks} yang telah di tentukan dengan Spektrofotometer UV-Vis sehingga didapatkan *base line* yang stabil pada monitor. Setelah itu diinjeksikan blangko terlebih dahulu kemudian baru diinjeksikan sampel dan di peroleh kromatogram. Kromatogram yang di peroleh tersebut *diprint* dan dijadikan data untuk analisis.

2. Pembuatan larutan standar β karoten

a. Pembuatan larutan standar β karoten 1000 ppm

1. Dibuat larutan standar etanol dari bahan baku pembanding dengan kadar 10% dengan memipet sebanyak 52,08 ml etanol. Kemudian diencerkan dalam labu ukur 500 mL menggunakan pelarut aquadest. Ditimbang 0,05 gram serbuk β karoten, dilarutkan dengan petrolium benzene dan dimasukkan ke dalam labu 50 mL. Larutan standar β karoten 1000 ppm dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL
2. Kemudian dilarutkan dalam petroleum benzene sampai tanda batas. Konsentrasi larutan standar beta karoten yang diperoleh adalah 100 ppm.

b. Ekstraksi β Karoten Dari Jagung

1. Ditimbang 50 g buah jagung yang telah direbus setelah mendidih 0 menit, 10 menit, 20 menit

dan 30 menit kemudian diblender, ditambah asam askorbat lalu dimaserasi dengan aseton sampai semua terendam dalam pelarut selama \pm 6 jam, dilakukan berulang kali sampai didapatkan ampas putih.

2. Disaring dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan penguap vakum (*rotary evaporator*) suhu 40°C
3. Ekstrak pekat diencerkan dengan petrolium benzene dan dianalisa

3. Penetapan panjang gelombang pengukuran

Larutan standar β karoten 10 ppm diukur serapannya pada panjang gelombang 269 - 446 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis,. Kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum untuk analisis.

4. Penentuan kondisi optimum untuk β karoten secara HPLC

a. Variasi kolom

Larutan standar β karoten di dalam pelarut petrolium benzene diinjeksikan sebanyak 20 μl ke dalam kolom CLC-Sil, ODS C-18 dan C-8 menggunakan fasa gerak campuran etanol:air, metanol:air, asetonitril:air, asetonitril:etanol, etanol 100 %, dan metanol 100 %. dengan variasi 80:20 ; 70:30 ; 60:40 ; 50:50 ; 30:70 ; 10:90. Dipilih kolom yang memberikan pemisahan terbaik berdasarkan waktu retensi (t_R) serta bentuk kromatogram yang di hasilkan.

b. Variasi fasa gerak

Larutan standar β karoten di dalam pelarut petrolium benzene diinjeksikan sebanyak 20 μl ke dalam kolom C-8 menggunakan fasa gerak campuran metanol:air (90:10), metanol:air (80:20) metanol 100 %. Dipilih komposisi fasa gerak yang memberikan pemisahan terbaik berdasarkan waktu retensi (t_R).

5. Penentuan kurva regresi linear dari larutan standar β karoten

Campuran larutan β karoten dengan variasi konsentrasinya 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, dan 25 mg/L diinjeksikan sebanyak 20 μL ke dalam kolom HPLC menggunakan kondisi optimum analisa yang telah ditentukan sebelumnya. Kurva kalibrasi dibuat berdasarkan konsentrasi (mg/L) dan luas puncak yang dihasilkan.

6. Penentuan Kadar β karoten secara HPLC

Kondisi terpilih kemudian digunakan pada analisis sampel. 20 μl sampel diinjeksikan ke dalam kolom dan dicatat waktu retensi puncak-puncak yang dihasilkan sampel. Jika puncak-puncak tersebut mempunyai waktu retensi yang kurang lebih sama dengan waktu retensi puncak larutan standart, maka dapat disimpulkan bahwa pada sampel terdapat zat-zat tersebut.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

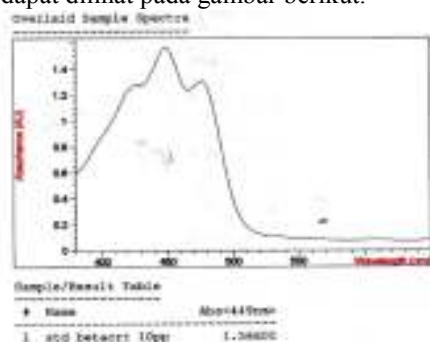
A. Teknik Analisa Sampel

Sampel jagung diambil langsung dari lahan pertanian di Kec. Pauh Kota Padang Sumatera Barat. Sampel jagung merupakan biji jagung yang mengalami proses perebusan. Sampel biji jagung yang mengalami proses perebusan dibedakan menjadi jagung yang direbus nol menit setelah mendidih atau saat mendidih, jagung yang direbus 10 menit setelah mendidih, 20 menit setelah mendidih dan 30 menit setelah mendidih.

B. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Standart β Karoten

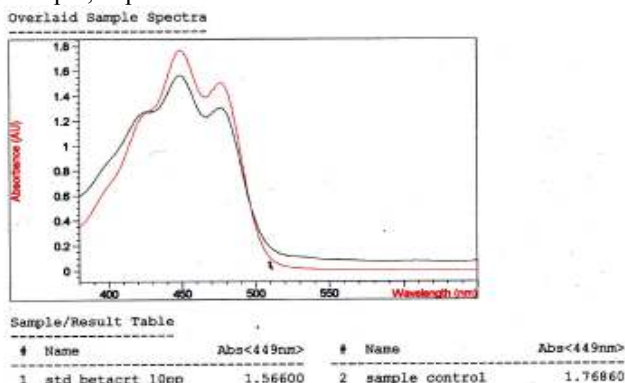
Penentuan panjang gelombang maksimum larutan standart β karoten dengan menggunakan UV-Vis. Pengukuran λ_{mak} ini diperlukan karena detektor yang digunakan pada HPLC yakni detektor UV-Vis. Dimana hasil pengukuran λ_{mak} dengan UV-Vis tersebut yang akan digunakan pada saat penentuan kondisi optimum dengan HPLC.

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum Larutan standar β karoten dengan menggunakan UV-Vis yakni pada 449 nm, ini dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar. 1. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum (λ_{mak}) dari larutan standart β karoten

Sebagai pembanding spektrogram dari larutan standart dan sampel, dapat dilihat dibawah ini :



Gambar.2. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum (λ_{mak}) larutan standard dengan hasil ekstrak β karoten.

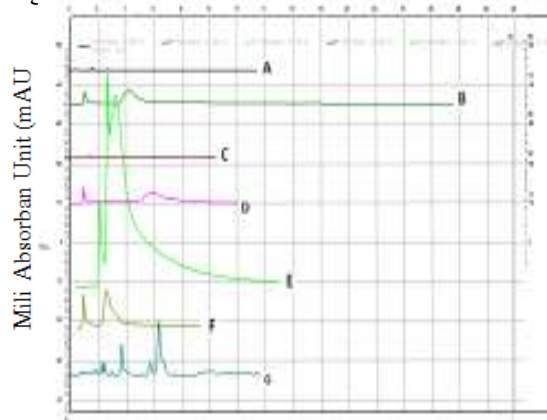
C. Penentuan Kondisi Optimum β Karoten Dengan Menggunakan HPLC

1. Variasi Kolom

Kolom adalah bagian terpenting pada kromatografi. Berhasil atau gagalnya suatu analisis tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai (Efendy.2004.hal:6) Oleh karena itu dalam penentuan kondisi optimum analisa kadar β karoten kolom divariasikan.

a. Column CLC-SIL atau kolom Silika

Kolom yang di gunakan sebagai fasa diam yakni kolom silika. Kolom Silika atau Si-OH. Silika –Si-OH memiliki permukaan yang terikat polar(CroyJ. Gritter. Hal:198). Berikut ini merupakan hasil analisa β karoten dengan menggunakan kolom CLC-SIL



Gambar.3.variasi fasa gerak dengan menggunakan kolom CLC-Sil aju alir 1 ml/menit, $\lambda = 449\text{nm}$, fasa gerak Etanol : Air, A (etanol : air ; 80:20), B (etanol: air 50:50), C (metanol:air;50:50), D(metanol:air80:20) , E (metanol:air;60:40), F (Metanol : air; 70:30), G (Asetonitril : air;50:50)

Pada kromatogram yang menggunakan eluen etanol dengan air dengan perbandingan 50:50 kromatogram sedikit memperlihatkan adanya puncak dari β karoten, namun pada perbandingan 20:80 tidak ada sama sekali tampak puncak dari β karoten.

Pada kromatogram eluen metanol:air dengan komposisi 80:20, 60:40 dan 70:30 kromatogram memperlihatkan puncak yang lebar dan tidak tajam, serta kromatogram dengan eluen asetonitril:air 50:50, didapatkan kromatogram yang sangat lebar dan tidak tajam.

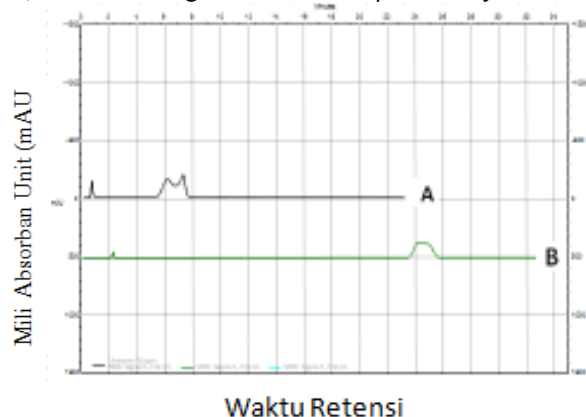
Hal ini dikarenakan kepolaran beturut-turut dari etanol sampai asetonitril yang semakin polar oleh karena itu diinginkan saat β karoten melewati kolom polar yang dibawa oleh pelarut polar sedangkan sifat β karoten yang non polar sehingga zat yang polar tinggal dikolom dan yang non polar melewati kolom yakni menggunakan fasa normal, namun akibat kepolaran eluen yang sangat polar sama halnya dengan sifat kolom kromatogram β karoten tidak menghasilkan kromatogram yang baik.

Waktu retensi untuk analisa rata-rata dua sampai lima menit hal ini memperlihatkan waktu pemisahan yang relatif cepat, namun dilihat dari bentuk kromatogram, hal ini tidak

memungkinkan untuk digunakan. Dikarenakan sifat dari β karoten yang tidak sesuai dipisahkan dengan kolom yang polar.

b. Kolom ODS C-18

Penentuan kondisi optimum dengan menggunakan kolom tipe C-18. Kolom C-18 merupakan kolom yang nonpolar, hasil kromatogram dari analisa β karoten yakni :

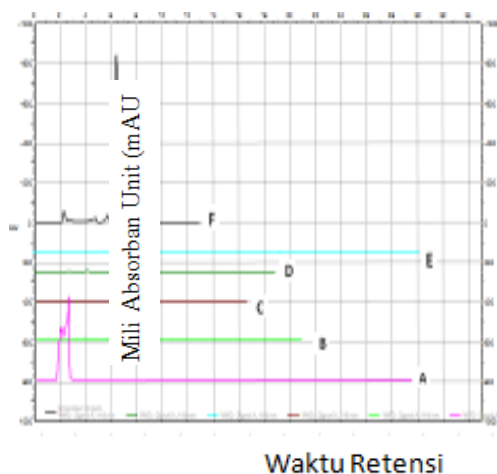


Gambar.4.variasi fasa gerak dengan menggunakan kolom C-18 laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 449$ nm, fasa gerak asetonitril : etanol, A (asetonitril : etanol ; 50:50), B (asetonitril : etanol 20:80),

Kromatogram yang dihasilkan memperlihatkan kromatogram yang tidak ideal sebagai kromatogram standar karena selain puncak yang bercabang, waktu retensi yang didapatkan juga sangat tidak efisien yakni 24,29 menit. Kondisi ini tidak hanya memerlukan waktu yang lama untuk analisa, namun juga tidak efisien dalam penggunaan fasa gerak.

c. Kolom C-8

Kolom C-8 merupakan kolom yang bersifat semi polar. Pada penentuan kondisi optimum menggunakan kolom C-8 hasil kromatogram yang di peroleh dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



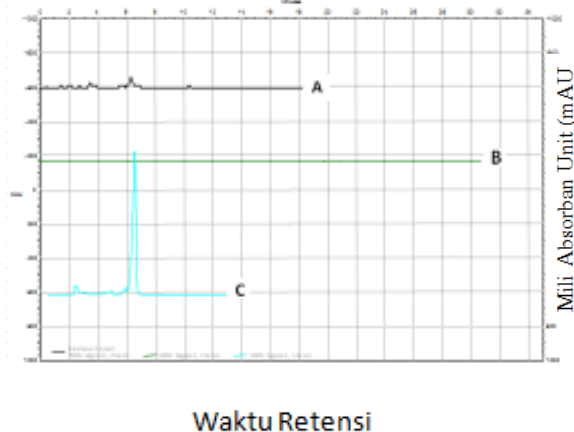
Gambar.5. variasi fasa gerak dengan menggunakan kolom C-8 laju alir 1 ml/menit, $\lambda=449$ nm, fasa gerak, A, etanol 100%, B. etanol-air(80:20), C. etanol-air (50:50) D.metanol:air(90:10), E. metanol-air (80:20), F.metanol 100%

Hasil kromatogram analisa menggunakan kolom C-8 menunjukkan adanya perubahan yang signifikan dibandingkan dengan kromatogram menggunakan kolom silika maupun kolom ODS C-18. Kromatogram yang dihasilkan pada variasi fasa gerak asetonitril : etanol 50:50 dan 80:20 terdapat beberapa puncak, namun terlihat adanya salah satu puncak yang relatif baik.

Kromatogram dengan metanol 100 % menunjukkan kromatogram yang memiliki satu puncak yang tajam dan waktu retensi cepat yakni 6,48 menit. Dari variasi kolom dan variasi eluen didapat maka kolom C-8 dapat digunakan sebagai kolom yang memenuhi syarat untuk analisa kadar β karoten menggunakan fasa gerak metanol 100 %. Selanjutnya akan dilakukan variasi fasa gerak metanol pada kolom C-8 tersebut.

2. Variasi Fasa Gerak

Variasi fasa gerak dilakukan pada penentuan kondisi optimum dengan HPLC karena didalam kromatografi cair komposisi dari pelarut atau fasa gerak adalah salah satu dari variabel yang mempengaruhi pemisahan. (Efendy.2004.hal:7)

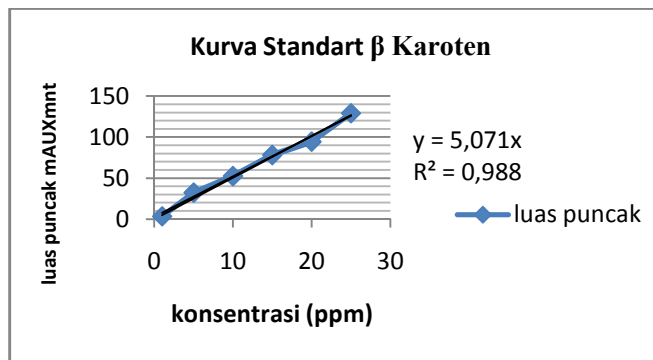


Gambar .6.variasi fasa gerak dengan laju alir 1 mL/mnt, λ_{maks} 449 nm dari .A. Metanol : air (90:10) B.metanol:air(80:20) C.Metanol 100 % dengan kolom C-8.

D. Penentuan Kurva Regresi Linear Larutan Standar β Karoten

Berdasarkan kondisi optimum yang telah diperoleh pada variasi kolom C-8 dan fasa gerak metanol 100 % maka dilakukan pengukuran larutan standar β karoten pada konsentrasi 1ppm, 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm dan 25ppm seperti pada tabel 5. Variasi ini dipilih untuk membuat kurva regresi linear agar di dapat persamaan regresi yang berguna dalam menghitung kadar β karoten.

Kurva regresi linear di bawah, menghasilkan persamaan regresi linear yaitu $y = 5,071x$ dengan linearitas $R^2 = 0.988$. Dari hasil tersebut, dapat terlihat bahwa ketelitian dari pengukuran β karoten sudah memenuhi standar ketelitian dalam melakukan analisa.



Gambar 7. Kurva standar β karoten, laju alir 1 ml/menit λ = 499 nm, kolom C-8, fasa gerak methanol 100 %

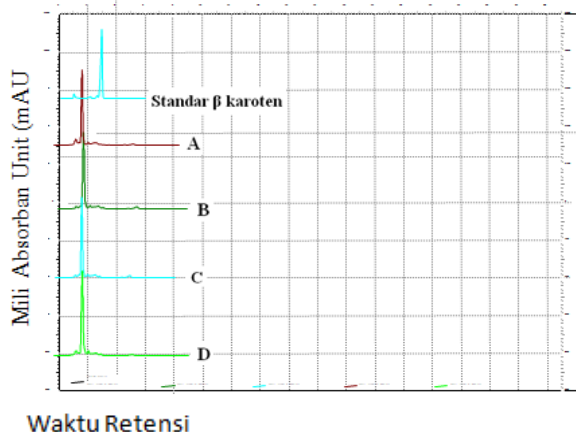
E. Penentuan kadar β Karoten Pada Buah Jagung Yang Dipengaruhi Oleh Perebusan Dengan HPLC

1. Preparasi sampel

Dalam analisa menggunakan HPLC ketika sampel tersebut berupa padatan, sampel tersebut harus dilarutkan dengan pelarut yang biasa digunakan sebagai fasa gerak. Sampel tersebut diekstraksi dengan pelarut yang sesuai dan dilakukan dengan ketelitian serta kehati-hatian dalam mengekstrak karena jika tidak kromatogram yang dihasilkan akan memunculkan noise atau adanya puncak pengganggu.

Hasil maserasi tersebut di uapkan menggunakan rotary evaporator sampai pelarut yakni aseton tidak lagi terdapat pada sampel dan yang tertinggal hanya ekstrak pekat dari β karoten. Ekstrak pekat ini dilarutkan seluruhnya dengan petroleum benzene dan disaring menggunakan *membrane filtration* yang berukuran 0,2-0,5 μm (0,45 μm yang umum untuk HPLC).

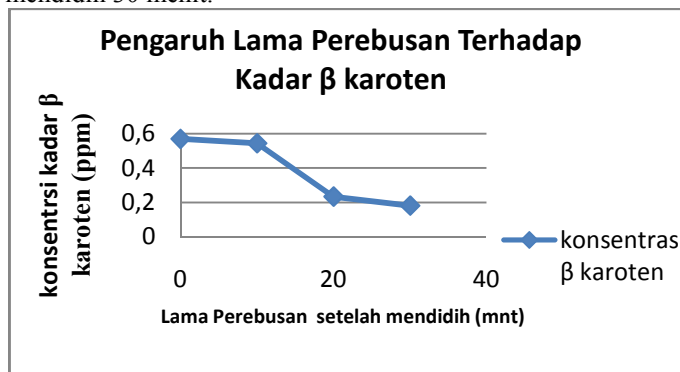
2. Analisa kadar β karoten



Gambar 8. Kromatogram sampel buah jagung yang telah divariasikan lama perebusan, jagung kontrol dan larutan standar β karoten. laju alir 1 ml/menit λ = 449 nm, kolom C-8, fasa gerak methanol 100 %. A. 0 menit setelah mendidih, B. 10 setelah mendidih, C. 20 menit setelah mendidih, D. 30 menit setela mendidih

Luas puncak dari kromatogram hasil analisa dapat dapat memperlihatkan bagaimana pengaruh perebusan terhadap

kadar β karoten dari buah jagung. Dibawah ini merupakan bentuk kurva dari luas puncak kadar β karoten dari buah jagung dengan variasi lama waktu perebusan. Kurva memperlihatkan adanya penurunan kadar dari β karoten. Hal ini sesuai dengan teori dari (Winarno. 1994) dijelaskan bahwa Faktor utama yang mempengaruhi karoten selama pengolahan pangan dan penyimpanan adalah oksidasi oleh oksigen udara dan perubahan struktur oleh panas. Oleh sebab itu perebusan memiliki pengaruh terhadap kadar β karoten, namun pada perebusan 0 menit saat mendidih sampai 10 menit setelah mendidih pengaruh tersebut tampak belum signifikan mengurangi kadar dari β karoten. Pengaruh perebusan tersebut tampak berpengaruh setelah 20 – 30 menit setelah mendidih, yakni 59,02 % setelah 20 menit mendidih dan 68,32 % setelah mendidih 30 menit.



Gambar 9. Kurva hasil analisa kadar β karoten yang divariasikan lama perebusan dengan luas puncak kromatogram. Laju alir 1 mL/mnt. λ_{maks} = 449 nm, kolom C-8, fasa gerak metanol 100 %

Grafik hasil analisa menunjukkan hasil pengukuran yang berturut-turut mengalami penurunan, dalam hal ini pemanasan berlangsung dengan kondisi proses perebusan yang dilakukan variasi waktu atau lama perebusan. Waktu perebusan yang jelas memperlihatkan penurunan yakni 20 menit setelah mendidih sampai 30 menit setelah mendidih.

Berdasarkan hasil data penurunan kadar β karoten pada waktu 0, 10, 20 dan 30 menit setelah mendidih penurunan kadar. Kadar yang diperoleh yakni 0,5538 ppm 0 menit mendidih, 0,5292 ppm 10 menit setelah mendidih, 0,2269 ppm 20 menit setelah mendidih dan 0,1754 ppm setelah 30 menit mendidih. Kadar penurunan signifikan pada 20 – 30 menit setelah mendidih, yakni 59,02 % setelah 20 menit mendidih dan 68,32 % setelah mendidih 30 menit.

Analisa β karoten memiliki data hasil LOD (*limit of detection*) yakni 114 ppb. LOD ini didapatkan menggunakan rumus *signal/noise*(3:1). LOD diartikan dengan konsentrasi terendah analit sampel yang masih dapat dideteksi dengan metode analisis tersebut. Semakin rendah harga LOD, maka metode itu semakin sensitif.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan :

1. β karoten mempunyai panjang gelombang maksimum setelah dilakukan pengujian menggunakan spektroskopi UV-Vis 449 nm. Analisis β karoten menggunakan HPLC dilakukan pada panjang gelombang 449 nm, laju alir 1 mL/mnt, fasa gerak metanol 100 %, kolom C-8
2. Kadar yang diperoleh setelah analisa yakni 0,5538 ppm pada 0 menit mendidih, 0,5292 ppm pada 10 menit setelah mendidih, 0,2269 ppm pada 20 menit setelah mendidih dan 0,1754 ppm pada 30 menit setelah mendidih, dan % penurunan kadar yang selama proses perebusan yakni 4,442 % pada 10 menit setelah mendidih, 59,02 % pada 20 menit setelah mendidih dan 68,32 % pada 30 menit setelah mendidih

B. Saran

1. Penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh perebusan terhadap kadar β karoten, dapat dilakukan dari buah-buahan atau sayuran lain yang mengandung β karoten
2. Karena kadar β karoten dalam jagung sangat kecil, diperlukan kondisi analisa yang lebih sensitif atau dengan menambah berat sampel.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada dosen penguji yaitu Bapak Drs. Zul Afkar M.S, Bapak Drs. Bahrizal, M.Si, dan Bapak Deski Beri, M.Si atas bimbingan dan masukannya. Serta semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

VI. REFERENSI

- [1] Andarwulan Nuri dan Sutrisno Kuswora.1989. *Kimia Vitamin*.Bogor.Cv Rajawali IPB
- [2] Anastasia, Yessy. 2011. *teknik analisis residu golongan tetrasiklin dalam daging ayam secara kromatografi cair kinerja tinggi*.buletin teknik pertanian vol.16, No.2. 2011 :68 – 73.
- [3] Bambang Prijadi, Titis Kusuma Sari , Anniversary Sabathani.2010.*Pengaruh Cara Pengolahan Daun Pakis (Diplazium Escelentum) Terhadap Kadar β -karoten*. Universitas Brawijaya
- [4] Budiman Haryanto.2011.*Sukses Bertanam Jagung Komoditas Pertanian yang menjanjikan*.Yogyakarta:Pustaka Baru Press
- [5] Delia Gabriela.*RP-HPLC Determination of β Karoten From Three Maize Hybrids*.seria Agronomie Vol 50
- [6] Effendy.2004. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. Universitas Sumatera Utara.
- [7] Garand Ira D.1976.*Introductory Food Chemistry*.USA.The AVI Publishing Company
- [8] Gritter Roy J.1991.*Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*.Bandung: ITB Bandung
- [9] Gross Jeana.1987.*Pigment In Fruit*.London.Harcourt Brance Jcanorich, Publiser
- [10] Jordi Oliver, Andreu Palou. 2000. *Chomatographic Determination Of Carotenoid in Foods*. Journal Of Chromatography A, 881 (2000) 543-555
- [11] Lufri M.S. 2005. *Metodologi Penelitian*. Padang. FMIPA
- [12] N. Katrangi, L. A Kaplan, and E. A. Stein. 2012. *Separation and Quantitation Of Serum β karoten and othercarotenoids by higt performance liquid chromatograh*y. Journal Of Lipid Research, Vol 25
- [13] Handayani tri dkk.2007. *Kajian peningkatan kandungan Zat Besi (Fe), Seng (Zn) dan Beta Karoten dalam Singkong (Manihot eculenta Crants chin) Melalui teknologi biorsifikasi*. Bogor. IPB
- [14] Harbone J.B.1996. *Metode Fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*.Bandung.ITB,
- [15] I M. Oka Adi Parwata K. Ratnayani, dan Ana Listya. 2010. *Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (Ceiba Pentandra) Dan Madu Kelengkeng (Naphelium Longata L)*. Jurnal. Kimia 4 (1), Januari 2010:54- 62
- [16] Sakidja. 1989. *Kimia Pangan*.Jakarta : Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan
- [17] Suarni dan S. Widowati. *Struktur, Komposisi, dan Nutrisi Jagung*. Balai Penelitian Tanaman Serealia, Maros Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor
- [18] Tarmizi.2008.*Pembuatan Pereaksi Kimia*.Padang.UNP Press
- [19] Tura Safawo, N. Senthil*, M. Raveendran, S.dkk.2010. *Exploitation of natural variability in maize for β - carotene content using HPLC and gene specific markers*. Elektronik Journal of Plant Breeding, 1(4)
- [20] Winarno. F.G. 1994. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- [21] Wikipedia.co.id. diakses Desember 2012
- [22] Wiwiek Tri Wahyuni dan Roestamsjah. 1995. *Perkembangan Material Packing Oktadodesil Silika Pada Kolom Kromatografi Cair*. Buletin IPT. No 4 Vol