

PROSIDING

PROSIDING



SEMINAR NASIONAL SAINS DAN TEKNOLOGI II 2015

Inovasi Humaniora, Sains dan Teknologi untuk Pembangunan Berkelanjutan

KUTA, 29-30 OKTOBER 2015



SEMINAR NASIONAL SAINS & TEKNOLOGI II 2015

Inovasi Humaniora, Sains dan Teknologi untuk Pembangunan Berkelanjutan

KUTA, 29-30 OKTOBER 2015

LEMBAGA PENELITIAN & PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

RESEARCH and COMMUNITY SERVICE for PROSPERITY

Supported By :



9 786022 940913



UDAYANA UNIVERSITY PRESS



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL SAINS
DAN TEKNOLOGI 2015

“Inovasi Humaniora, Sains dan Teknologi
untuk Pembangunan Berkelanjutan”

Kuta, 29 - 30 Oktober 2015

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS UDAYANA



UDAYANA UNIVERSITY PRESS
2015



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL SAINS
DAN TEKNOLOGI 2015

*“Inovasi Humaniora, Sains dan Teknologi untuk
Pembangunan Berkelanjutan”*

Kuta, 29 - 30 Oktober 2015

Editor

Ni Made Ary Esta Dewi Wirastuti, S.T., MSc. PhD
Prof. Dr. Drs. IB Putra Yadnya, M.A.
Prof. Dr. Ir. I Gede Mahardika, M.S.
Dr. Ni Ketut Supasti Dharmawan, SH., MHum., LL.M.
Prof. Dr. drh. I Nyoman Suarsana, M.Si
Prof. Dr. Ir. I Gede Rai Maya Temaja, M.P.
Ir. Ida Ayu Astarini, M.Sc., Ph.D
Prof. Dr. Ir. Nyoman Gde Antara, M.Eng
Dra. Ni Luh Watiniasih, MSc, Ph.D
Prof. Dr. drh. Ni Ketut Suwiti, M.Kes.
Prof. Dr. Ir. I Made Alit Karyawan Salain, DEA.
Ir. I Nengah Sujaya, M.Agr.Sc., Ph.D.
Ir. Ida Bagus Wayan Gunam, MP, Ph.D
dr. Ni Nengah Dwi Fatmawati, SpMK, Ph.D
Dr. Agoes Ganesha Rahyuda, S.E., M.T.
Putu Alit Suthanaya, S.T., M.Eng.Sc, Ph.D.
I Putu Sudiarta, SP., M.Si., Ph.D.
Dr. Ir. Yohanes Setiyo, M.P.
Dr. P. Andreas Noak, SH, M.Si
I Wayan Gede Astawa Karang, SSi, MSi, PhD.
Dr. Drh. I Nyoman Suarta, M.Si

Diterbitkan Oleh:

Udayana University Press,
Lembaga Penelitian dan Pengabdian
Kepada Masyarakat Universitas Udayana

2015, xli + 2191 hal, 21 x 29,7 cm

ISBN 978-602-294-091-3





IDENTIFIKASI ANTOSIANIN UMBI UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas* L.) DENGAN KLT-SPEKTROFOTODENSITOMETRI

I Made Agus Gelgel Wirasuta^{1*}, Luh Putu Mirah Kusuma Dewi¹, Made Jelita Sugosha²,
Ni Luh Putu Vidya Paramita¹, I Gusti Ayu Made Srinadi³, Ida Bagus Gede Dwidasmara⁴,
Ni Made Pitri Susanti¹

¹⁾ Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Udayana, Indonesia

²⁾ PS Apoteker-Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Udayana, Indonesia

³⁾ Jurusan Matematika, FMIPA, Universitas Udayana, Indonesia

⁴⁾ Jurusan Ilmu Komputer, FMIPA, Universitas Udayana, Indonesia

*Corresponden Pengarang: mgelgel1@yahoo.de

ABSTRAK

Antosianin adalah komponen utama dari ubi ungu, yang memiliki berbagai efek farmakologi. Identifikasi dari komponen kimia antosianin bermanfaat untuk tujuan penyusunan sidikjari fitokimia dan standarisasi ekstrak ubi ungu. Serbuk ubi ungu diekstraksi dengan metanol 1% HCl. Ekstrak pekat dielusi dengan fase gerak a) etil asetat : asam asetat glasial : asam format : air (100:11:11:26 v/v), b) n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5 v/v) and c) n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:2 v/v). Fase gerak c memberikan pemisahan komponen antosianin yang paling baik. Identifikasi senyawa antosianin berdasarkan harga R_f, reaksi kimia, dan bentuk spektrum UV-Vis (in-situ) setiap puncaknya. Hasil identifikasi diperoleh puncak R_f 0,3 dan 0,58 adalah turunan antosianin dengan λ_{max} 540 nm.

Kata Kunci: Antosianin, *Ipomoea batatas* L., KLT, identification.

1. PENDAHULUAN

Antosianin merupakan komponen pigmen utama yang terdapat dalam tanaman termasuk pada umbi ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.). Hasil penelitian dari Fakultas Pertanian Unud di Bali ditemukan umbi dari ubi jalar ungu mengandung antosianin yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 110 - 210 mg/100 gram (Suprpta, et al 2004). Secara luas antosianin diketahui memiliki berbagai efek farmakologi sehingga sering dimanfaatkan oleh masyarakat dalam pengobatan. Efek farmakologi antosianin pada ubi jalar ungu diantaranya adalah memiliki aktivitas antikarsinogenik, antioksidan dan dapat menghambat enzim α -glukosidase (Jawi, et al. 2011).

Identifikasi antosianin dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan dengan menggunakan plat silika gel 60 F₂₅₄ sebagai fase diam dan beberapa jenis campuran pelarut sebagai fase gerak yaitu etil asetat : asam asetat glasial : asam format : air (100:11:11:26 v/v), n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5 v/v) atau n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:2 v/v) (Wagner, H. dan S. Bladt. 1996). Menurut penelitian lain, antosianin juga dapat diidentifikasi dengan menggunakan fase gerak berupa etil asetat : asam asetat : asam klorida 2M (85:6:9 v/v) atau etil asetat : butanon : asam asetat : air (6:3:1:1) (Andersen, O.M dan Markham K.R.. 2006).

Pemilihan fase gerak sangat penting dalam identifikasi senyawa antosianin dalam ekstrak metanol umbi ubi jalar ungu. Sehingga pada penelitian ini dilakukan optimasi fase gerak untuk identifikasi senyawa antosianin pada umbi ubi jalar ungu dengan KLT-Spektrofotodensitometri.

2. MATERI DAN METODE

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol, asam klorida, etil asetat, asam asetat glasial, asam format, aquades, n-butanol, etanol, AlCl₃ 5%, FeCl₃ 2% dan amonia dengan derajat kemurnian pro analisis (Merck-Germany) serta fase diam plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck-Germany). Sampel yang digunakan adalah umbi ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) dari Desa Petang, Kabupaten Badung, Bali.

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas seperti pipet ukur, labu ukur, gelas *beaker* dan vial. *Blender*, timbangan analitik, *ballfiller*, pipet tetes, sendok tanduk, oven, sonikator, alat sentrifugasi dan tabungnya, penotol Linomat V, chamber, spektrofotometer UV dan CAMAG *TLC Scanner 3*.

2.1. Metode Penelitian

Proses Ekstraksi Antosianin

Sampel umbi ubi jalar ungu dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 50°C hingga kering, kemudian digiling dengan *blender* hingga didapatkan serbuk. Serbuk tersebut kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut 1% HCl metanol. Sebanyak 1 gram serbuk umbi ubi jalar ungu dilarutkan dalam 2 mL 1% HCl metanol. Larutan disonikasi selama 5 menit pada suhu 60°C kemudian disentrifugasi selama 10 menit (4000 rpm). Filtrat digunakan sebagai sampel.

Proses Optimasi Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan dengan menguji tiga campuran pelarut yang paling sering digunakan sebagai fase gerak dalam pemisahan antosianin, yaitu: a) etil asetat : asam asetat glasial : asam format : air (100:11:11:26 v/v), b) n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5 v/v) dan c) n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:2 v/v) (Wagner dan Blatt, 1996). Disiapkan 3 buah plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ masing-masing berukuran 2x10 cm. Plat dicuci dengan metanol dan diaktivasi pada suhu 110°C selama 30 menit. Sampel ditotolkan sebanyak 10 uL pada masing-masing plat dengan menggunakan penotol linomat V. Plat yang telah ditotolkan kemudian dielusi pada tiap chamber yang telah jenuh dengan masing-masing fase gerak (a, b dan c). Plat yang telah dielusi kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 60°C selama 5 menit untuk menghilangkan pelarut pada plat. Diamati pemisahan tiap bercak pada plat secara visual, dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Plat *discanning* dengan menggunakan densitometer CAMAG *TLC Scanner 3* pada panjang gelombang 210 nm. Dihitung daya pisah atau resolusi (R_s) dan faktor asimetri atau *tailing factor* (T_p) dari tiap kromatogram yang dihasilkan. Harga R_s yang baik adalah $\geq 1,5$ dan *tailing factor* (T_p) untuk sebagian besar puncak harus jatuh antara 0,9 dan 1,4, dengan nilai 1,0 mengindikasikan puncak simetris sempurna (Ahuja dan Dong, 2005).

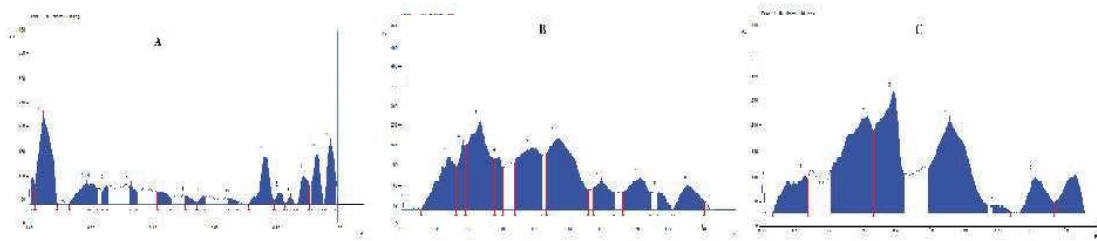
Proses Identifikasi Antosianin

Plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ berukuran 2x10 cm sebanyak 3 buah masing-masing ditotolkan 10 uL ekstrak metanol umbi ubi jalar ungu. Plat dielusi pada chamber yang telah jenuh dengan fase gerak hasil optimasi. Diamati plat secara visual, dibawah sinar UV 254 nm UV 366 nm. Plat *discanning* dengan menggunakan densitometer CAMAG *TLC Scanner 3* pada panjang gelombang 210 nm dan panjang gelombang maksimum antosianin serta pada rentang panjang gelombang 190-600 nm.

Masing-masing plat kemudian diidentifikasi kembali dengan menggunakan penampak bercak dan pereaksi warna berupa amonia (plat 1), AlCl₃ 5% (plat 2) dan FeCl₃ 2% (plat 3). Diamati perubahan warna yang dihasilkan secara visual, dibawah sinar UV 254 nm dan dibawah sinar UV 366 nm. Ditentukan spot yang diduga antosianin.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil optimasi fase gerak diperoleh kromatogram tiap plat yang dielusi dengan masing-masing fase gerak. Kromatogram yang dihasilkan dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram Ekstrak Metanol Umbi Ubi Jalar Ungu pada Masing-Masing Fase Gerak pada Panjang Gelombang 210 nm.. Keterangan : A : Fase gerak etil asetat:asam asetat glasial:asam format:air (100:11:11:26 v/v), B : Fase gerak n-butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5 v/v), C : Fase gerak n-butanol:asam asetat glasial:air (4:1:2 v/v)

Gambar 1 menampilkan desntogram hasil pemisahan turunan antosianin ubi ungu yang muncul dan nilai Rf dari puncak kromatogram pada masing-masing fase gerak. Jumlah puncak yg muncul dan nilai Rf dari tiap puncak pada masing-masing fase gerak dapat dilihat pada tabel 1. Yaitu terlihat 15 puncak pada fase gerak A, 10 puncak pada fase gerak B dan 8 puncak pada fase gerak C.

Setiap kromatogram memiliki puncak mayor yaitu puncak yang memiliki nilai AUC terbesar yang merupakan puncak dari senyawa marker pada sampel. Puncak mayor pada fase gerak A, B dan C secara berturut-turut memiliki nilai Rf 0,05; 0,47 dan 0,56. Untuk dapat mengetahui fase gerak yang optimal maka dilakukan evaluasi dengan menghitung nilai Resolusi (Rs) dan *Tailling factor* (Tf) dari puncak mayor tersebut. Hasil perhitungan Rs dan Tf dari puncak mayor pada masing-masing fase gerak dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa fase gerak C memiliki nilai resolusi (Rs) 1,53 dan 1,70, dimana nilai tersebut telah memenuhi persyaratan $RS \geq 1,5$. Selain itu nilai Tf puncak mayor pada fase gerak C telah memenuhi persyaratan yaitu berada pada rentang 0,9–1,4, dimana nilai Tf puncak mayor pada fase gerak C adalah 1,2. Hal tersebut menunjukkan bahwa puncak mayor yang dihasilkan oleh fase gerak C dapat dikatakan simetris. Berdasarkan hal tersebut maka pada penelitian ini dipilih fase gerak C yaitu n-butanol: asam asetat glasial : air (4:1:2 v/v) sebagai fase gerak optimal.

Tabel 1. Tabel Jumlah Puncak yang Muncul dan Nilai Rf Tiap Puncak

Rf	Fase Gerak			Rf	Fase Gerak		
	A	B	C		A	B	C
	Puncak				Puncak		
0,01	*		*	0,51	*		
0,05	*			0,56	*		*
0,14		*	*	0,60		*	
0,19	*	*		0,65	*		
0,21	*			0,71		*	*
0,24		*		0,77	*	*	
0,25	*			0,81	*		*
0,29		*	*	0,85	*		
0,33	*			0,86		*	
0,39		*	*	0,89	*		
0,42	*			0,93	*		*
0,47		*		Jumlah puncak	15	10	8

Keterangan :

A : Fase gerak etil asetat:asam asetat glasial:asam format:air (100:11:11:26 v/v)

B : Fase gerak n-butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5 v/v)

C : Fase gerak n-butanol:asam asetat glasial:air (4:1:2 v/v)

* : Puncak

* : Puncak Mayor pada masing-masing fase gerak

Tabel 2. Hasil Perhitungan Nilai Rs dan Tf Puncak Mayor pada Masing-Masing Fase Gerak

Rf Puncak Mayor	Fase Gerak						Tf
	A		B		C		
	Rs		Rs		Rs		
	x	y	X	y	x	Y	
0,05	1	2	-	-	-	-	1,50
0,47	-	-	0,80	1,30	-	-	1,30
0,56	-	-	-	-	1,53	1,70	1,20

Keterangan :

A : Fase gerak etil asetat : asam asetat glasial : asam format : air (100:11:11:26 v/v)

B : Fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5 v/v)

C : Fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:2 v/v)

x : Nilai resolusi puncak mayor terhadap puncak sebelum puncak mayor

y : Nilai resolusi puncak mayor terhadap puncak setelah puncak mayor

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa 540 nm merupakan panjang gelombang maksimum antosianin. Berdasarkan hasil scan pada 540 nm diperoleh kromatogram dan spektrum yang dapat dilihat pada gambar 2.

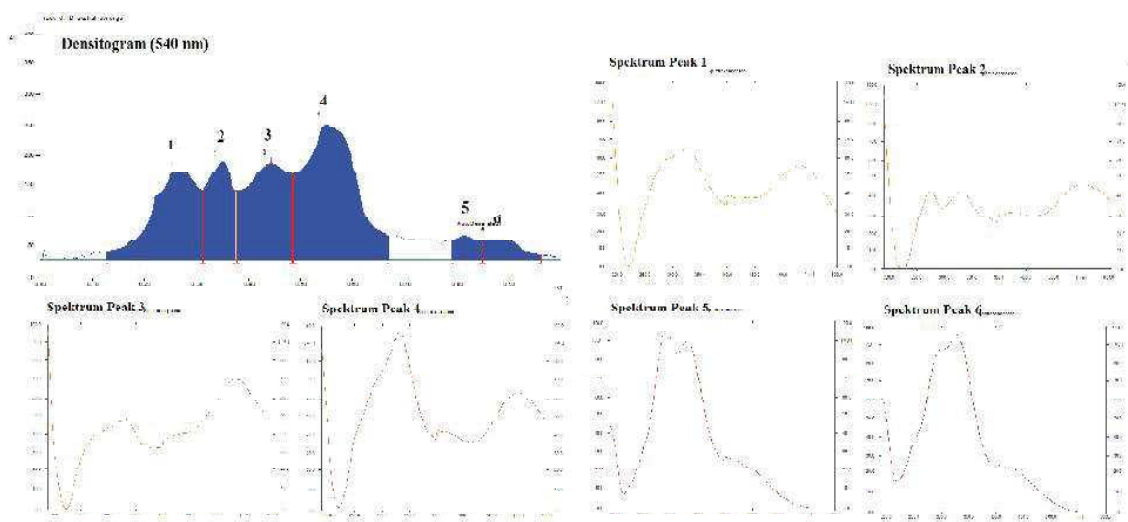
Hasil identifikasi menunjukkan bahwa 540 nm merupakan panjang gelombang maksimum antosianin. Berdasarkan hasil scan pada 540 nm diperoleh kromatogram dan spektrum yang dapat dilihat pada gambar 2. Untuk memastikan identitas senyawa antosianin maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan NH_3 , AlCl_3 5% dan FeCl_3 2%. Hasil identifikasi antosianin dengan penampak bercak dan pereaksi warna dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan beberapa hasil reaksi warna diatas, dapat dilihat bahwa bercak pada Rf 0,30 dan Rf 0,58 merupakan bercak yang diduga sebagai antosianin. Hal tersebut terlihat dari hasil pengamatan pada penguapan dengan ammonia dan pada pemberian pereaksi semprot AlCl_3 5%.

Hasil identifikasi yang diperoleh memperlihatkan bahwa pada umbi ubi jalar ungu terdapat dua jenis antosianin. Menurut pustaka umbi ubi jalar ungu mengandung sianidin dan peonidin [9]. Berdasarkan struktur kimia antosianin, diduga bahwa Rf 0,30 merupakan sianidin, sedangkan bercak dengan Rf 0,58 merupakan peonidin. sianidin diketahui memiliki gugus $-\text{OH}$ pada R_1 sedangkan peonidin memiliki gugus $-\text{OCH}_3$ pada R_1 [10]. Gugus $-\text{OH}$ tersebut menyebabkan sianidin bersifat lebih polar dibandingkan peonidin. Sehingga pada fase diam polar senyawa sianidin yang bersifat polar akan lebih tertambat pada fase diam sehingga memiliki nilai Rf lebih kecil dibandingkan peonidin yang cenderung bersifat non polar.



Tabel 3. Hasil Identifikasi Antosianin dengan Penampak Bercak dan Pereaksi Warna

No.	Pereaksi	Pustaka	Hasil		Kesimpulan
			Rf	Pengamatan	
1.	NH ₃	Bercak jingga hingga lembayung menjadi biru menandakan antosianin Sinar UV :bercak merah jingga redup atau merah menjadi birumenandakan Antosianidin 3-glikosida [11].	0,30	visual : merah jingga → biru gelap UV 254 nm : pemadaman fluoresensi UV 366 nm : Merah keunguan → tetap	(+) Antosianin
			0,40	Visual : ungu muda menjadi biru muda UV 254 nm : Pemadaman Fluorosensi UV 366 nm : ungu kemerahan → biru	-
			0,51	Visual : ungu menjadi biru UV 254 nm : Pemadaman Fluorosensi UV 366 nm : ungu kemerahan → biru	-
			0,58	Visual : Merah muda → Biru keunguan UV 254 nm : Pemadaman Fluorosensi UV 366 nm : ungu kemerahan berfluoresensi → tidak berfluoresensi	(+) Antosianin
2.	FeCl ₃ 2%	Bercak berwarna ungu menandakan adanya senyawa fenol [12].	0,30	Visual : Merah jingga → ungu pudar	(+) Fenol
			0,40	Visual : ungu muda → ungu pudar	(+) Fenol
			0,51	Visual : ungu → biru keunguan	(+) Fenol
			0,58	Visual : merah muda → ungu	(+) Fenol
3.	AlCl ₃ 5 %	Sinar UV 366 nm : bercak berfluoresensi kuning menandakan 5-hidroksi Flavonoid [11].	0,30	UV 366 nm : Merah Keunguan → ungu gelap kekuningan	(+) 5-hidroksi Flavonoid
			0,40	UV 366 nm : ungu kemerahan → kuning	-
			0,51	UV 366 nm : ungu kemerahan → ungu	-
			0,58	UV 366 nm : ungu kemerahan berfluoresensi → Biru kekuningan Berfluorosensi	(+) 5-hidroksi Flavonoid



Gambar 2. Kromatogram dan Spektrum Masing-Masing Puncak pada Ekstrak Metanol Umbi Ubi Jalar Ungu pada 540 nm



4. KESIMPULAN

Identifikasi antosianin pada ekstrak metanol umbi ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) dapat diperoleh dengan menggunakan metode KLT-Spektrofotodensitometri dengan fase diam plat silika gel G₆₀ F₂₅₄ dan fase gerak optimal yaitu n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:2 v/v).

Hasil identifikasi memperlihatkan bahwa senyawa antosianin terdapat pada bercak yang memiliki nilai R_f 0,30 dan 0,58 dengan panjang gelombang maksimum 540 nm.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, S. dan M.W. Dong. 2005. *Handbook Of Pharmaceutical Analysis By HPLC*. New york :Elsevier Inc. Hal. 28-30.
- Andersen, O.M dan Markham K.R.. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. London : Taylor & Francis group. Hal. 12.
- Jawi I M., D. N. Suprpta, I N. Arcana,A. W. Indrayani dan A. A. N. Subawa. 2011. *Efek Antioksidan Ekstrak Umbi Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L) terhadap Darah dan Berbagai Organ pada Mencit yang Diberikan Beban Aktivitas Fisik Maksimal*. Denpasar : Universitas Udayana.
- Suprpta D.N., Antara M., Arya N., Sudana M., Duniaji A.S. dan Sudarma M.. 2004. *Kajian Aspek Pembibitan, Budidaya dan Pemanfaatan umbi-umbian sebagai sumber pangan alternatif*. Denpasar : Laporan Hasil Penelitian. Kerjasama BAPEDA Propinsi Bali dengan Fakultas Pertanian UNUD.
- Wagner, H. dan S. Bladt. 1996. *Plant Drugs Analysis: a Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd Edition*. Germany : Springer-Verlag BerlinHeidelberg. Hal. 282.