

Penetapan Kadar Inulin dalam Ekstrak Air Umbi Bengkuang (*Pachyrhizus erosus* L.) dari Gresik Jawa Timur dengan Metode KLT Densitometri

(*Inulin Determination of Yam Bean Tuber (*Pachyrhizus erosus* L.) from Gresik East Java using TLC Densitometry*)

Marizka Wimala, Yuni Retaningtyas, Lestyo Wulandari
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Jalan Kalimantan No. 37 Jember 68121
e-mail: marizkawimala@gmail.com

Abstract

Yam bean is one of tubers group that has many benefits because of its chemical constituents named inulin. Yam bean are produced in several regions in Indonesia such as Tegal, Bogor, Prembun, and Madura. In this research, inulin determination in yam bean tuber from Gresik East Java as one of yam bean production center, performed to obtain the plant source in Indonesia which is potential to produce inulin. Inulin determination was conducted using TLC Densitometry method that has been validated. Based on a standard curve that meets the requirements of linearity ($r=0,997$; $V_{xo}=3,847\%$; $X_p=355,407ng$), the results showed that levels of inulin in yam bean tuber derived from Gresik was $12,322\% \pm 1,733\%$ and mean recovery was $100,08\% \pm 1,142\%$. This result meet the requirements for the actual analyte concentration $\geq 10\%$: coefficient of variation is $< 1,9\%$ and mean recovery in the range of 98%-102%.

Keywords: *inulin, yam bean tuber, Gresik East Java, TLC Densitometry*

Abstrak

Bengkuang adalah salah satu tanaman golongan umbi-umbian yang memiliki banyak manfaat karena mengandung inulin. Bengkuang diproduksi di beberapa daerah di Indonesia seperti Tegal, Bogor, Prembun, dan Madura. Dalam penelitian ini, penetapan kadar inulin dalam umbi bengkuang dari Gresik Jawa Timur, sebagai salah satu sentra penghasil bengkuang, dilakukan untuk memperoleh sumber tanaman di Indonesia yang berpotensi dalam menghasilkan inulin. Penetapan kadar inulin dilakukan dengan metode KLT Densitometri yang telah divalidasi. Dengan kurva standar yang memenuhi persyaratan linearitas ($r=0,997$; $V_{xo}=3,847\%$; $X_p=355,407ng$), hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar inulin umbi bengkuang dari Gresik adalah $12,322\% \pm 1,733\%$ dan rata-rata *recovery* adalah $100,08\% \pm 1,142\%$. Hasil ini memenuhi persyaratan untuk konsentrasi aktual analit dalam sampel sebesar $\geq 10\%$, yaitu koefisien variasi $< 1,9\%$ dan rata-rata *recovery* dalam rentang 98%-102%.

Kata kunci: inulin, umbi bengkuang, Gresik Jawa Timur, KLT Densitometri

Pendahuluan

Inulin adalah polisakarida yang tergolong dalam kelompok karbohidrat, terdiri dari rantai lurus D-Fruktosa dengan satu unit glukosa di setiap ujungnya [1]. Inulin memiliki banyak manfaat bagi tubuh diantaranya digunakan sebagai prebiotik dengan mengurangi jumlah

bakteri patogen dalam usus, meningkatkan kekebalan tubuh, dan mengurangi resiko osteoporosis dengan cara meningkatkan absorpsi kalsium [2]. Selain itu juga memiliki banyak potensi dalam bidang pangan diantaranya dapat digunakan sebagai pengganti lemak dan gula pada produk makanan rendah kalori serta sebagai bahan baku pembuatan

sirup fruktosa [3]. Inulin juga memiliki banyak potensi dalam aplikasi farmasi, sebagai *filler-binder* dalam formulasi tablet, untuk menstabilkan terapi protein, atau untuk meningkatkan disolusi obat lipofilik [1].

Inulin dapat ditemukan dalam tanaman golongan umbi-umbian. Bengkuang (*Pachyrhizus erosus* L.) merupakan salah satu tanaman golongan umbi-umbian yang mengandung inulin. Kandungan kimia bengkuang adalah inulin, pachyrizon, dan rotenon. Bengkuang banyak dihasilkan di beberapa daerah di Indonesia seperti Tegal, Bogor, Prembun, dan Madura [4]. Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar inulin dalam ekstrak air umbi bengkuang dari salah satu sentra penghasil bengkuang yaitu Gresik Jawa Timur sebagai upaya untuk mendapatkan sumber tanaman di Indonesia yang paling berpotensi dalam menghasilkan inulin. Mengingat selama ini inulin diperoleh melalui import dari luar negeri berupa inulin komersial [5].

Penetapan kadar inulin dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya adalah dengan menggunakan metode *Gas Chromatography* (GC) (Matute *et al.*, 2010), KCKT (Retnaningtyas, 2012; Simonova *et al.*, 2010; Zuleta & Sambucetti, 2001) dan KLT (Ertan *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2011; Simonovska, 2000; Retnaningtyas *et al.*, 2009). Dalam penelitian ini, penetapan kadar inulin dilakukan dengan metode KLT Densitometri yang telah tervalidasi [6].

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu pengambilan sampel umbi bengkuang, ekstraksi inulin umbi bengkuang, dan penetapan kadar inulin dalam ekstrak air umbi bengkuang dari Gresik Jawa Timur dengan metode KLT Densitometri.

Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian kuantitatif eksperimental laboratorium bertempat di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah umbi bengkuang yang berusia 4 bulan dan ditanam di media tanah di Desa Wates Tanjung, Kecamatan Wringinanom, Kabupaten Gresik. Pengambilan sampel tersebut dilakukan dengan teknik *purposive sampling* berdasarkan tujuan penelitian yakni mengetahui kadar inulin dalam bengkuang dari salah satu sentra penghasil bengkuang yaitu Gresik Jawa Timur.

Alat dan bahan yang digunakan antara lain *scanner* Densitometer winCATS Camag, perangkat komputer dengan program winCATS, lempeng KLT Silika Gel 60 F₂₅₄, standar Inulin (Sigma-Aldrich), etanol 96% (teknis), asam asetat glasial (J.T. Baker), metanol p.a (Sigma-Aldrich), akuabides (WIDA WITM Unicap), *aniline p.a* (MERCK), *diphenylamine* (MERCK), asam fosfat, dan aseton p.a (MERCK).

Penelitian diawali dengan pengambilan sampel umbi bengkuang dari daerah Gresik untuk diekstraksi. Hasil ekstraksi selanjutnya ditetapkan kadar inulinnya menggunakan metode KLT Densitometri yang telah tervalidasi.

Ekstraksi inulin dilakukan sesuai optimasi metode ekstraksi oleh Sandiya (2014) dengan prosedur sebagai berikut: umbi bengkuang dibersihkan, dikupas, dicuci dan dipotong kecil-kecil, kemudian dicampur dengan air panas pada suhu 90° C menggunakan blender selama 1 jam. Bengkuang yang telah dihaluskan kemudian dipanaskan di atas *waterbath* selama ±1 jam sambil diaduk. Selanjutnya disaring, dimana filtrat yang diperoleh diendapkan pada suhu -20° C selama 18 jam. Larutan didinginkan dan dicairkan pada 8° C selama 42 jam. Konsentrat yang diperoleh disentrifugasi pada 1500 rpm, selama 15 menit hingga diperoleh endapan putih dan dipisahkan. Endapan putih kemudian dikeringkan pada 60° C dan ditumbuk atau dihaluskan sampai diperoleh serbuk putih halus.

Larutan standar inulin dibuat dengan menimbang sejumlah tertentu standar inulin kemudian dilarutkan dengan pelarut hasil optimasi, lalu diencerkan sejumlah tertentu hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 500 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm. Preparasi sampel dibuat dengan menimbang sampel ekstrak air umbi bengkuang sebanyak 180,0 mg (3x replikasi) kemudian dilarutkan dalam pelarut hasil optimasi.

Penetapan kadar inulin dilakukan sesuai penelitian oleh Lestari (2013) menggunakan metode KLT Densitometri dengan kondisi analisis pada Tabel 1, dimana sebelumnya dilakukan uji identitas dan kemurnian untuk mengetahui ada atau tidaknya inulin dalam ekstrak dan kemurniannya. Dilanjutkan dengan uji keakuratan dengan adisi standar 60% untuk menunjukkan keakuratan hasil penetapan kadar, yang ditentukan berdasarkan nilai *recovery* (perolehan kembali) analit yang didapatkan.

Tabel 1. Kondisi Analisis

Kondisi Analisis	Hasil
Pelarut	Akuabides steril : etanol 96% pa (3:1) v/v
Eluen (Fase gerak)	Asam asetat glasial pa : metanol pa : akuabides steril (0,5:7,5:2) v/v/v
Lama pengeringan setelah eluasi	10 menit
Penampak noda	Campuran anilin dalam aseton 1% v/v : difenilamin dalam aseton 10% b/v : asam fosfat (5:5:1) v/v/v
Teknik pewarnaan	Dicelup
Suhu pengovenan	110° C
Panjang gelombang maksimum (λ)	380 nm
Konsentrasi uji	1000 ppm
Fase diam	Lempeng KLT Silika Gel F ₂₅₄

Hasil Penelitian

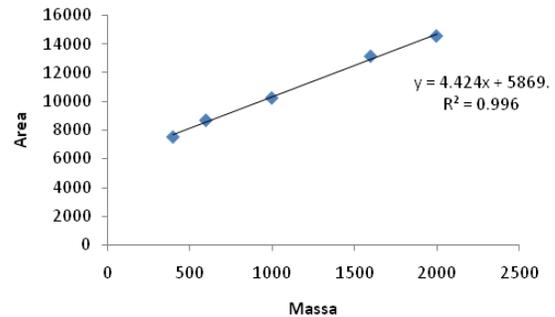
Hasil ekstraksi umbi bengkuang dari Gresik Jawa Timur menghasilkan jumlah rendemen yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi Umbi Bengkuang

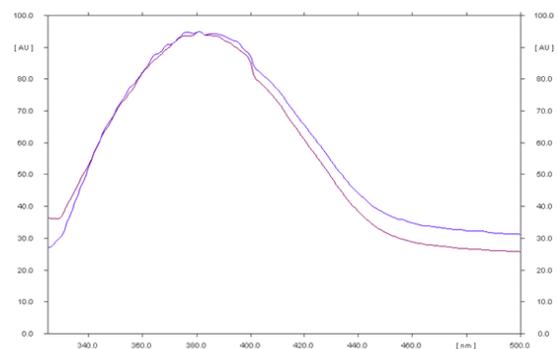
Replikasi	Bobot Awal (mg)	Bobot Akhir (mg)	Rendemen (%)
1	200	3,730	1,865
2	200	3,834	1,917
3	200	3,782	1,891
Rata-rata rendemen ± RSD			1,891% ± 1,375%

Pembuatan kurva baku menggunakan larutan standar dengan 5 tingkat konsentrasi yang berbeda antara lain 200 ppm, 300 ppm, 500 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm dengan jumlah penotolan masing-masing 2 µL memperoleh persamaan kurva baku sesuai Gambar 1.

Uji identitas dan kemurnian dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya inulin dalam ekstrak umbi bengkuang dan kemurniannya. Hasil pengujian tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Grafik Persamaan Kurva Baku



Gambar 2. Spektra Standar dan Sampel Inulin

Data mengenai korelasi spektra pada uji identitas dan kemurnian sampel bengkuang dari Gresik Jawa Timur dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Hasil Uji Kemurnian Inulin

Track	Rf	r(s,m)	r(m,e)	Kesimpulan
Standar	0,85	0,998721	0,999877	Purity
Sampel	0,85	0,997188	0,999727	Purity

Tabel 4. Hasil Uji Identitas Inulin

Track	Rf	r(s,s)	r(s,a)	Kesimpulan
Standar	0,85	0,994926	-	Inulin
Sampel	0,85	0,994926	0,991653	Inulin

Penetapan kadar inulin dalam ekstrak air umbi bengkuang dari Gresik Jawa Timur memberikan hasil sesuai Tabel 5. Uji akurasi dilakukan dalam penelitian ini untuk menunjukkan keakuratan hasil penetapan kadar. Uji akurasi dilakukan dengan menghitung *recovery* yang dihasilkan dari penambahan standar sebanyak 60% dari kadar analit dalam sampel yang didapat dari hasil penetapan kadar. Hasil uji akurasi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 5. Hasil Penetapan Kadar inulin dalam Ekstrak Air Umbi Bengkuang dari Gresik Jawa Timur

Replikasi	Penimbangan (mg)	Massa Inulin Percobaan (ng/spot)	Kadar b/b (%)
1	180,5	1795,39	12,433
2	180,4	1742,18	12,071
3	180,3	1797,87	12,464
Kadar b/b rata-rata ± RSD		12,322% ± 1,733%	

Tabel 6. Hasil uji Akurasi

Replikasi	Massa Inulin Teoritis (ng)	Massa Inulin Percobaan (ng)	Recovery (%)
1	2647,95	2672,63	100,93
2	2647,95	2615,58	98,78
3	2647,95	2662,24	100,53
Mean recovery ± RSD		100,08% ± 1,142%	

Pembahasan

Persamaan kurva baku yang diperoleh dari hasil pengukuran 5 konsentrasi standar antara lain 200 ppm, 300 ppm, 500 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm dengan jumlah penotolan masing-masing 2 µL adalah $y=4,424x+5869$ dengan nilai $r=0,997$; $V_{xo}=3,847\%$; dan $X_p=355,407$ ng. Hasil tersebut telah memenuhi persyaratan yaitu nilai r mendekati ± 1 , $V_{xo}<5\%$, dan $X_p<$ nilai konsentrasi linieritas terkecil yang digunakan, sehingga kurva tersebut dikatakan linier [7].

Kemurnian analit dalam sampel dapat dilihat berdasarkan nilai $r(s,m)$ dan $r(m,e)$ yang menunjukkan korelasi antara spektra yang diambil pada posisi awal/start (s), puncak/maximum (m), dan akhir/end (e). Dalam tabel 3 diketahui bahwa nilai korelasi spektra inulin lebih dari 0,99 yang berarti analit dalam sampel adalah murni. Identitas analit dilihat berdasarkan nilai $r(s,s)$ dan $r(s,a)$ yang menunjukkan korelasi spektra antara dua track standar yang mempunyai konsentrasi yang sama dan korelasi spektra antara track standar dan track analit dalam sampel. Dari tabel 4 diketahui nilai korelasi yang diperoleh lebih dari 0,99 yang berarti analit dalam sampel murni dan identik dengan standar.

Penetapan kadar inulin menunjukkan bahwa terdapat $12,322\% \pm 1,733\%$ inulin dalam ekstrak air umbi bengkuang dari Gresik Jawa Timur, dengan nilai koefisien variasi yang

memenuhi persyaratan yaitu $<1,9\%$ untuk kadar aktual analit dalam sampel sebesar $\geq 10\%$. Hasil penetapan kadar tersebut dikatakan valid sesuai uji keakuratan yang juga memenuhi syarat dengan hasil *mean recovery* sebesar $100,08\% \pm 1,142\%$, dimana untuk konsentrasi aktual analit sebesar $\geq 10\%$ persyaratan yang diminta adalah *mean recovery* dalam rentang $98\%-102\%$ [8].

Simpulan dan Saran

Umbi bengkuang dari Gresik Jawa Timur dapat digunakan sebagai sumber tanaman penghasil inulin di Indonesia dengan kadar sebesar $12,322\% \pm 1,733\%$. Perlu dilakukan penelitian penetapan kadar inulin dalam umbi bengkuang dengan perbedaan umur, daerah budidaya, dan varietas untuk mengetahui pengaruh ketiga faktor tersebut terhadap kandungan inulin dalam umbi bengkuang.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran yang menyediakan bahan *Diphenylamine pro analysis* pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Raymond CR, Paul JS, Marlan EQ. Handbook of pharmaceutical excipients: inulin. 6th ed. London: Pharmaceutical Press; 2009.
- [2] Narinder K, Anil KG. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. J. Biosci. 2002 Dec; 27(7): 703-714.
- [3] Bryan CT. Inulin: a comprehensive scientific review. Duncan Crow [Internet]. 2000 [cited 2014 March 18]. Available from: http://members.shaw.ca/duncanancrow/inulin_review.html
- [4] Wiwin S, Rini M Neni G, Tati R. Tumbuhan bahan pestisida nabati dan cara pembuatannya untuk pengendalian organisme pengganggu tumbuhan (OPT). Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran; 2008.
- [5] Sri W, Eni H, Rudi N. Extraction of inulin from various Yam tubers (*Dioscorea spp.*). Bangkok: The 12th Asean Food Conference; 2011.
- [6] Putri IL. Pengembangan dan validasi metode KLT densitometri untuk penetapan kadar inulin dalam ekstrak air umbi

- bengkuang (*Pachyrhizus erosus* L.).
Jember: Universitas Jember; 2013.
- [7] Harmita. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. M. Ilmu Kefarmasian. 2004 Dec: 1(3): 117-135.
- [8] Anonim. AOAC peer-verified methods program, Manual on Policies and Procedures. USA: Arlington, Virginia; 1998.