

Optimasi Fase Gerak Pada Isolasi Dan Identifikasi Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L)

Siti Rahmah Kurnia Ramdan¹, Vivit Fitriah¹
¹STIKes Muhammadiyah Ciamis, Ciamis, Indonesia

Korespondensi: Siti Rahmah Kurnia Ramdan

Email: stirahmah.cms@gmail.com

Alamat : Bojongmengger Kecamatan Cijeungjing, Kabupaten Ciamis 46271



Pharmacy Genius Journal is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

ABSTRAK

Pendahuluan: Ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang memiliki kandungan gizi utama karbohidrat dan nutrisi lainnya diantaranya serat, dan pektin. Kandungan lain yaitu adanya pigmen antosianin yang memiliki manfaat sebagai antioksidan, antikarsinogenik, antmutagenik dan sebagai pewarna alami. Antosianin merupakan zat larut air dan merupakan turunan mono atau diasetil 3-(2-glukosil)glukosil-5-glukosil peonidi dan sianidin.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi fase gerak pada isolasi antosianin dari ubi jalar ungu dengan tiga variasi eluen yaitu eluen I: n-butanol:asam asetat:air (4:1:5), eluen II n-Butanol : Asam asetat : Air (1:5:4) dan n-Butanol : Asam asetat : Air (5:4:1).

Metode: Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kromatografi kolom untuk proses pemisahan pigmen antosianin dan kromatografi lapis tipis untuk identifikasi senyawa. Selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer uv-vis.

Hasil: Hasil dari isolasi antosianin pada ekstrak ubi jalar ungu dengan menggunakan kromatografi kolom diperoleh waktu pemisahan dan nilai Rf yang berbeda-beda dari setiap variasi eluen. Eluen paling baik adalah eluen II dengan waktu pemisahan 16 menit 15 detik dan nilai Rf sebesar 0,5 cm, kemudian eluen I dengan waktu pemisahan 18 menit 32 detik dan nilai Rf sebesar 0,7 cm dan eluen III dengan waktu pemisahan 12 menit 36 detik dengan nilai Rf 0,4.

Kesimpulan: Dari data hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa eluen paling optimal pada isolasi antosianin ubi jalar ungu adalah eluen II

Kata Kunci: Antosianin, optimasi eluen, isolasi, kromatografi kolom.

Pendahuluan

Ubi jalar ungu merupakan salah satu sumber daya alam yang memiliki daging umbi berwarna ungu. Kandungan serat pada ubi jalar ungu yaitu 3 g/ 100 g. Kandungan nutrisi pada tepung ubi jalar ungu adalah 7–8% air, 2,1% abu, 58% pati, 3,0% gula reduksi, dan 2,7% (Dewi DP, 2018). Ubi jalar ungu memiliki kandungan antosianin yang yang tidak terdapat dalam sumber karbohidrat lainnya seperti gandum (Kurniawan, Willy Lukas, 2013). Ubi jalar ungu memiliki kandungan zat aktif berupa flavonoid, tanin, antosianin (Sulastri, et al., 2013), (Mohanraj dan Sivasankar, 2014). Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa ubi jalar ungu dari daerah jenggik mengandung senyawa flavonoid, antosianin, saponin, dan tanin. Untuk karakterisasi senyawa antosianin digunakan uji kromatografi lapis tipis dengan fase gerak butanol:asam asetat:air dengan perbandingan 4:5:1 dengan nilai Rf yang dihasilkan sebesar 0,41 (Yuyun febriani, 2021).

Antosianin adalah senyawa organik yang termasuk dalam bagian flavonoid yang memiliki sifat larut dalam air dan memberikan warna merah, biru, violet, dan berperan sebagai antioksidan. Peran sebagai antioksidan ditemukan di bagian daun dan umbi dari tanaman ubi jalar ungu (Milind dan Monika, 2015). Pigmen antosianin merupakan zat yang memberikan warna oranye, merah muda, merah, ungu, hingga biru pada bahan-bahan alami termasuk tumbuhan (Li,2009). Antosianin berfungsi sebagai pewarna alami makanan, kosmetik dan lainnya. (Siti Rahmah, 2023). Kandungan antosianin pada ubi jalar ungu adalah 61.85 mg/100g (Nida El Husna, 2013). Selain itu menurut Widiati (2010) juga melaporkan kandungan antosianin dari sejumlah ubi jalar ungu yang berasal dari beberapa sejumlah daerah di Indonesia, seperti ubi jalar Malang mengandung antosianin 511,70 mg/100 g, Lokal Bone 530,06 mg/100 g, Lokal Sumedang 508,45 mg/100 g, Selo Tiga-2 79,47 mg/100 g, Lokal Sukabumi 606,08 mg/100 g, Bangkok 58,68 mg/100 g, Lokal Bone, 645,37 mg/100 g, Lokal Jambi 69,37 mg/100 g, Yangyang 65,16 mg/100 g, dan Selo Banyuwangi 76,13 mg/100 g.

Warna predominan daging umbi ubi jalar berkorelasi dengan kandungan antosianin, semakin pekat warna ungu, semakin tinggi kandungan antosianin umbi. faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin yaitu pH, suhu, cahaya, oksigen, dan ion logam (Nollet, 1996) Menurut Dixon dkk. (2007), pamarutan, pengeringan, dan pemasakan pasta ubi jalar ungu dapat mengurangi jumlah antioksidan di dalam bahan pangan. Stabilitas antosianin dipengaruhi oleh sejumlah faktor seperti pH, cahaya, suhu, co-pigmentasi, sulfit, asam

askorbat, oksigen dan enzim. Sehingga dapat efek dari faktor-faktor ini sangat berpengaruh terhadap stabilitas antosianin dan degradasinya. (Bianca et al, 2021). Identifikasi dan fraksinasi antosianin dapat dilakukan dengan metode kromatografi kolom (Mitha dkk, 2016)

Tujuan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui fase gerak yang paling baik dengan membandingkan tiga jenis eluen yaitu eluen I: n-butanol:asam asetat:air (4:1:5), eluen II n-Butanol : Asam asetat : Air (1:5:4) dan n-Butanol : Asam asetat : Air (5:4:1)pada isolasi antosianin Ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L*) dengan metode Kromatografi kolom.

Metode Penelitian Alat

Timbangan analitik 1 Alumunium foil Secukupnya Gelas ukur 10 ml 2 Hotplate 1 Cawan porselen 1 Erlenmeyer 4 Kertas saring Secukupnya Kapas 1 Kromatografi kolom 1 Pipet tetes 5 Silika Gel 60 (ukuran 0,04-0,063) Secukupnya Batang Pengaduk 1 Plat Silika Gel G-F254 Chamber

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah : Satu set alat kromatografi kolom (pyrex), Gelas ukur (pyrex), Chamber, gelas kimia (pyrex), pipet tetes, kertas saring, kapas atau tisu, blender, batang pengaduk, spatula, penyaring *buchner*, seperangkat alat spektrofotometerUV- Vis, seperangkat alat refluks, timbangan analitik.

Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini ialah : Silica Gel G-F 254, Silika Gel 60 (ukuran 0,04-0,063), Ubi jalar ungu, Aquades, asam asetat (p.a), asam asetat (teknis), N-Butanol (teknis), kapas.

Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan Sampel

Pengumpulan Bahan Baku

Ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L*) diperoleh dari perkebunan budidaya di kecamatan Rancah. Pengambilan bahan dilakukan usia tanaman 3,5 sampai 4 bulan, ukuran panjang ubi jalar ungu 20 cm dan diameter 5 cm.

Pembuatan Simplisia:

1) Sortasi Basah

Ubi jalar ungu dibersihkan dengan cara memisahkan kotoran-kotoran atau benda asing lainnya misalnya debu atau pengotor yang menempel pada umbinya. Kemudian dipilih umbi yang masih segar berwarna ungu pekat, selanjutnya dibersihkan dari kerikil, tanah, rumput-rumputan, dan bagian tanaman yang rusak.

2) Pencucian

Untuk menghilangkan pengotor lainnya yang masih melekat pada ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L*), maka dilakukan pencucian dengan cara menggunakan air yang mengalir kemudian ditiriskan.

3) Perajangan

Perajangan bertujuan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Cara yang digunakan dalam proses perajangan yaitu dengan mengupas terlebih dahulu kulit ubi jalar ungu, kemudian dirajang menggunakan parutan kasar. Hal ini dilakukan agar setiap potongan ubi sama rata dari ukuran serta ketebalannya dan memudahkan proses pengeringan.

4) Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang lebih tahan lama dalam penyimpanan dengan cara mengurangi kadar air dibawah. Dilakukan di bawah sinar matahari dan ditutup oleh kain hitam. Tujuan menggunakan kain hitam adalah agar menghindari terurainya kandungan kimia dan debu. Digunakan warna hitam karena warna hitam lebih mudah menyerap panas.

5) Penyerbukkan

Pembuatan serbuk simplisia dibuat dari simplisia yang sudah dikeringkan melalui dengan cara diblender tanpa menyebabkan kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan yang merata.

2. Pembuatan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L*)

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi yaitu 500gram sampel yang sudah ditimbang menggunakan aquadest 600 ml dengan penambahan larutan asam sitrat 10% sebanyak 100 ml selama 24 jam. Aquadest merupakan larutan netral yang dapat melarutkan pigmen antosianin, penambahan asam sitrat 10% untuk menurunkan pH larutan dan

menjaga stabilitas antosianin. Keadaan semakin asam menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak.

3. Penyiapan Eluen Untuk Isolasi Kromatografi Kolom

a. Eluen I n-Butanol : Asam asetat : Air (4:1:5)

Dibuat eluen I sebanyak 100 ml. Masukkan n-Butanol sebanyak 40 ml kedalam Erlenmeyer kemudian tambahkan 10 ml asam asetat lalu tambahkan 50 ml air. Aduk sampai homogen kemudian tutup Erlenmeyer menggunakan alumunium foil.

b. Eluen II n-Butanol : Asam asetat : Air (1:5:4)

Dibuat eluen II sebanyak 100 ml. Masukkan n-Butanol sebanyak 10 ml kedalam Erlenmeyer kemudian tambahkan 50 ml asam asetat lalu tambahkan 40 ml air. Aduk sampai homogen kemudian tutup Erlenmeyer menggunakan alumunium foil

c. Eluen III n-Butanol : Asam asetat : Air (5:4:1)

Dibuat eluen III sebanyak 100 ml. Masukkan n-Butanol sebanyak 50 ml kedalam Erlenmeyer kemudian tambahkan 40 ml asam asetat lalu tambahkan

4. Isolasi ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) dengan kromatografi kolom Proses ini merupakan pemurnian senyawa antosianin ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L). Metode yang digunakan merupakan kromatografi kolom dengan variasi tiga jenis eluen.

a. Menyiapkan alat dan bahan.

Siapkan kapas secukupnya untuk dimasukkan kedalam kolom. Tujuannya agar silika yang dimasukkan tidak akan menyumbat lubang kolom.

b. Membuat bubur silika. Silika gel yang sudah diaktivasi didalam oven dengan suhu 110°C selama 2 jam ditimbang sebanyak 20 gram dan dicampur dengan 100 ml n-Heksana. Diaduk dan dimasukan sedikit demi sedikit kedalam kolom.

c. Dinding kolom sambil diketuk-ketuk agar tidak terdapat gelembung udara. Diamkan silika didalam kolom selama 24 jam. Tujuannya agar bubur silika yang berada didalam kolom mampat sempurna. Kran kolom ditutup dan bagian atas kolom ditutup menggunakan alumunium foil. Ini bertujuan agar silika gel yang berada didalam kolom tidak kering dan retak selama proses pemampatan.

d. Masukkan sampel berupa ekstrak kental sebanyak 1 gram diatas permukaan silika sedikit demi sedikit tanpa merusak permukaan atas silika.

- e. Tambahkan eluen sebanyak 100 ml.
- f. Kran kolom dibuka dan tampung fraksi yang keluar dari dalam kolom.
- g. Senyawa antosianin diambil yaitu yang berwarna ungu
- h. Lakukan kembali dengan menambahkan eluen variasi I dan II.

Pengolahan dan Analisis Data

Antosianin hasil isolasi dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen yang sama berdasarkan variasi perbandingan. Fase diam yang digunakan adalah plat silika gel G-F254. Kemudian dilakukan penyiapan plat KLT dengan tinggi 8cm dan lebar 2cm dan batas awal masing-masing 1cm. Fraksi yang diperoleh dari ketiga variasi isolasi kromatografi kolom kemudian ditotolkan pada masing-masing plat KLT. Setelah totolan kering, plat KLT dimasukkan kedalam chamber yang sebelumnya sudah dijenuhkan menggunakan eluen yang sama. Plat KLT dikeluarkan setelah eluen mencapai batas akhir dan dikeringkan. Kemudian dilakukan pengamatan dibawah lampu UV 254 nm. Dihitung nilai Rf dari masing-masing fraksi.

Hasil dan Pembahasan

Pengumpulan Bahan Baku

Bahan baku Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) diperoleh dari hasil kebun petani di Dusun Cimulya Desa Patakaharja Kecamatan Rancah Kabupaten Ciamis Rt 24 Rw 09. Pengambilan bahan dilakukan pada saat bahan sudah berwarna ungu pekat dengan umur tanaman 3,5 sampai 4 bulan, ukuran panjang ubi jalar ungu 20 cm dan diameter 5 cm. Hal ini bertujuan agar umbi yang dihasilkan optimal dan kualitasnya baik.

Persiapan Sediaan Simplisia Bahan baku disortasi basah menggunakan air pam yang mengalir tujuannya untuk menghilangkan kotoran-kotoran seperti tanah dan lainnya. Setelah Ubi jalar ungu bersih dari kotoran yang masih menempel, kulitnya dikupas kemudian dipotong menggunakan parutan agar ukuran setiap potongannya sama rata dan mempermudah dalam proses pengeringan. Hasil ubi jalar ungu yang sudah dipotong disimpan diatas nampan kemudian dijemur dibawah sinar matahari selama satu hari. Setelah kering, kemudian diserbukkan menggunakan blender.

Pembuatan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L) dilakukan dengan cara maserasi

yaitu 500gram sampel yang sudah ditimbang dilarutkan menggunakan aquadest 600 ml dengan tambahan larutan asam yaitu asam sitrat 10% sebanyak 100 ml dan lama ekstraksi yaitu 1 hari. Aquadest merupakan larutan netral yang dapat melarutkan pigmen antosianin ditambah lagi dengan penambahan asam sitrat 10% yang mampu menurunkan pH larutan. Keadaan semakin asam menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak

Tabel.1 Hasil isolasi dengan Kromatografi Kolom

Pelarut	Warna	Waktu Pemisahan
n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	Merah lembayung	18 menit 32 detik
n-Butanol : asam asetat : air (1:5:4)	Merah muda	16 menit 15 detik
n-Butanol : asam asetat : air (5:4:1)	Sedikit merah	12 menit 36 detik

Hasil dari fraksi yang ditampung terdapat perbedaan warna serta waktu pemisahannya. Hal ini dikarenakan kekuatan setiap perbandingan fase gerak berbeda-beda dalam proses pemisahan senyawa pada ekstrak kental ubi jalar ungu. Tingkat kepolaran pelarut juga mempengaruhi proses pemisahan dalam kromatografi kolom. Proses pemisahan yang baik pada kromatografi kolom ini ditunjukkan oleh variasi pertama yaitu n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5). Pada variasi pertama menunjukkan warna yang lebih merah dengan waktu pemisahan 18 menit 32 detik. Hal ini menunjukkan senyawa yang keluar pada proses pemisahan menggunakan eluen variasi pertama memiliki tingkat kepolaran yang lebih baik dibandingkan dengan variasi II dan III karena senyawa dengan tingkat kepolaran yang rendah akan terbawa oleh eluen lebih dulu dan yang memiliki tingkat kepolaran yang tinggi akan tertahan lebih lama dalam silika gel untuk kemudian terbawa oleh eluen. Hal ini yang menyebabkan waktu dari setiap variasi eluen berbeda-beda.

A. Analisis Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Tabel.2 Hasil Analisis Data KLT

Perlakuan	Warna Spot	Jarak solut	Jarak fase gerak	Nilai Rf
n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	Merah pudar	5 cm	7 cm	0,7 cm
n-Butanol : asam asetat : air (1:5:4)	Merah pudar	4 cm	7 cm	0,5 cm
n-Butanol : asam asetat : air (5:4:1)	Merah pudar	3 cm	7 cm	0,4 cm

Berdasarkan tabel.2 diperoleh bahwa setiap fraksi yang diuji KLT memiliki warna yang pudar. Ini diduga oleh beberapa faktor yaitu dari tempat yang kurang kedap cahaya menyebabkan senyawa antosianin yang diuji rusak melihat dari sifatnya yang sensitif dari cahaya. Pemisahan dengan eluen I yaitu n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5) memiliki proses pemisahan yang optimal. Dari hasil monitoring KLT didapatkan masing-masing variasi yaitu n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5), n-Butanol : asam asetat : air (1:5:4), dan n-Butanol : asam asetat : air (1:5:4) memiliki nilai Rf yang baik. Menurut Dini Haryati Adam (2015) nilai Rf yang baik berdasarkan literatur terdapat pada rentang 0,2-0,8

Kesimpulan

1. Antosianin pada ekstrak ubi jalar ungu dapat diisolasi menggunakan kromatografi kolom dengan menggunakan 3 variasi eluen yaitu eluen I n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5), eluen II n-Butanol : asam asetat : air (1:5:4) dan eluen III n-Butanol : asam asetat : air (5:4:1).
2. Eluen yang optimal pada isolasi antosianin ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) secara berurutan adalah eluen II n-Butanol : asam asetat : air (1:5:4) menampakkan warna merah muda dengan waktu pemisahan 16 menit 15 detik dan nilai Rf sebesar 0,5 cm, selanjutnya eluen I n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5) menampakkan warna merah lembayung dengan waktu pemisahan 18 menit 32 detik dan nilai Rf sebesar 0,7 cm dan eluen III n-Butanol : asam asetat : air (5:4:1) menampakkan warna sedikit merah dengan waktu pemisahan 12 menit 36 detik dengan nilai Rf 0,4.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bianca Enaru, Georgiana Dretcanu, Teodora daria, Andreea Stanila, Zorita Diaconeasia. (2021). Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. National Library Of Medicine. Vol 10(12). doi: 10.3390/antiox10121967.
2. Dewi DP (2018). Substitusi tepung daun kelor (*Moringa oleifera* L) pada cookies terhadap sifat fisik, sifat organoleptik, kadar proksimat dan kadar Fe. Ilmu Gizi Indonesia;1(2):104-14.
3. Kurniawan, Willy Lukas. (2013). Pembuatan dan Karakterisasi tepung dan pati ubi jalar ungu. Unvesitas Parahyangan Repository.
4. Mitha Dea Anggistia, Hendri Widiyandari, Khairul Anama. (2016). Identifikasi dan Kuantifikasi Antosianin dari Fraksi Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L) dan Pemanfaatannya sebagai Zat Warna DyeSensitized Solar Cell (DSSC). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi Journal of Scientific and Applied Chemistry. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi 19 (2) (2016) : 50 – 57
5. Mohanraj, Remya ; Sivasankar, Subha. (2014). Sweet Potato (*Ipomea batatas* [L.] Lam)- A Valuable Medicinal Food : A Review. Journal of Medicinal Food. 17(7), 733-741.
6. Milind, Parle ; Monika, (2015). Sweet Potato as A Super Food. International Journal Res. Ayurveda Pharm. 6(4), July-August.
7. Nida El Husna, Melly Novita, Syarifah Rohaya. 2013. Kandungan Antosianin Dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu Segar Dan Produk Olahannya. AGRITECH, Vol. 33, No. 3, Hal: 296-302
8. Siti Rahmah Kurnia Ramdan, Risda Wulandari. 2023. Determination Of Anthocyanin Levels In Telang Folwer (*Clitoria ternatea*) Using The Dfferential pH Mehod Base On Three Types Of Solvents. Jurkes (Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan Kebidanan, Farmasi dan Analis Kesehatan. Vol.10 No. 01: ISSN: 2656-5838. Hal:1-9.
9. Sulastri, Erlidawati, Syahrial, Muhammad Nazar, Thursina Andayani. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) Hasil Budidaya. Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan. 9(3); 125 – 130. ISSN 1412-5064
10. Widiati, H.A. (2010). Karakterisasi plasma nutfah ubi jalar berdaging umbi predominan

ungu. Buletin Plasma Nutfah 16: 85-89.

11. Yuyun Febriani , Ersi Arviana Ihsan , Sulistia Ardyati. (2021). Analisis Fitokimia Dan Karakterisasi Senyawa Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batatas*) Sebagai Bahan Dasar Lulur Hasil Budidaya Daerah Jenggik Lombok. Sinteza, Jurnal Farnasi Klinis dan Sains Bahan Alam Vol. 1 No.1, Februari 2021, Hal. 1-6.