

Determinasi Inulin dalam Sampel Ekstrak Umbi Dahlia (*Dahlia spp L.*) yang Ditanam pada Media Tanah dan *Polybag* dengan Metode KLT- Densitometri

(Determination of Inulin Sample Extract Dahlia Tuber (Dahlia Spp L.) Grown from Soil Planted Mediated and Polybag Mediated with TLC-Densitometry Method)

Arroofita Ani Sandiya, Yuni Retnaningtyas, Lestyo Wulandari
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail korespondensi: Arroofita.sandiya@gmail.com

Abstract

Inulin is a polysaccharide , which is composed of fructose units. Inulin is generally found in plants family Compositae, Amirilidaceae, and Poaceae. Benefits inulin is as bifidogenic body, stimulate the immune system , relieve constipation , reduce the risk of osteoporosis . Inulin can be consumed alone as a prebiotic supplement. The purpose of this study was to develop a method for determination of inulin TLC-Densitometry in dahlia tuber extract samples (Dahlia spp L.) grown in soil media and polybag . Determination of inulin as a method of TLC densitometry using the stationary phase TLC plates Silica Gel F₂₅₄, mobile phase = acetic acid glacial p.a: methanol p.a: aquabides sterille (v/v/v/v) (0,5:7,5:2) , solvent = Aquabides sterille: Ethanol 96 % p.a (3:1) v/v, apparition stains is mixed aniline in acetone 1% v/v:diphenylamine in acetone 10% b/v:phosphoric acid (5:5:1), and the wavelength (λ) 380 nm . Validation of the method showed that the research procedures performed has had good linearity with a coefficient correlation 0.996 and Vx0 value 4.850%. This method also gives good accuracy and precision that is the percent recovery of inulin at 99,96%±0,39%. and the value of repeatability = 0,993% < 2,7% and intermediate precision RSD = 0,554% < 2,7% with limits of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ), respectively, 71,03 ng/spot and 236.76 ng/spot. The results showed levels of inulin in the dahlia tuber extract soil planted mediated by 86.256%±0.669% (%b/b±RSD%) , and dahlia tubers grown polybag mediated by 76.146%±1.657% (%b/b±RSD%) .

Keywords: bulbs dahlia (*Dahlia spp L.*), inulin, TLC, soil media, media polybag

Abstrak

Inulin merupakan suatu polisakarida, yang terdiri dari unit-unit fruktosa. Inulin yang secara umum terdapat dalam tumbuhan dengan family Compositae, Amiralidaceae, dan Poaceae. Manfaat inulin tubuh adalah sebagai *bifidogenic*, merangsang sistem kekebalan tubuh, mengurangi konstipasi, mengurangi resiko *osteoporosis*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan metode KLT-Densitometri untuk determinasi inulin dalam sampel ekstrak umbi dahlia (*Dahlia spp L.*) yang ditanam pada media tanah dan *polybag*. Determinasi inulin secara metode KLT Densitometri menggunakan fase diam Lempeng KLT Silika Gel F254, fase gerak asam asetat: metanol: aquabides (v/v/v/v) = 0,5:7,5:2, pelarut Aquabides : Etanol 96% (3:1) v/v, penampak noda campuran *aniline* dalam aseton 1% v/v: *diphenylamine* dalam aseton 10% b/v: asam fosfat (5:5:1), dan pada panjang gelombang (λ) 380 nm. Validasi metode menunjukkan bahwa prosedur penelitian yang dilakukan memiliki linieritas yang baik dengan nilai koefisien korelasi Linier dengan nilai koefisien korelasi 0,996 dan nilai $V \times 0$ 4,850%. Metode ini juga memberikan akurasi dan presisi yang baik yakni dengan persen perolehan kembali inulin sebesar $99,96\% \pm 0,39\%$. dan nilai RSD *repeatability* = $0,993\% < 2,7\%$ dan RSD *intermediet precision* = $0,554\% < 2,7\%$. Dengan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) berturut-turut adalah 71,03 ng/spot dan 236,76 ng/spot. Hasil penelitian menunjukkan Kadar inulin dalam ekstrak umbi dahlia yang ditanam dimedia tanah sebesar $86,256\% \pm 0,669\%$ (%b/b \pm RSD%), dan umbi dahlia yang ditanam dimedia *polybag* sebesar $76,146\% \pm 1,657\%$ (%b/b \pm RSD%).

Kata kunci: dahlia (*Dahlia spp L.*), inulin, KLT, media tanah, media *polybag*

Pendahuluan

Inulin adalah senyawa karbohidrat alamiah yang merupakan polimer dari unit-unit fruktosa. Inulin memiliki derajat polimerisasi diatas 30 [1] dan mengendap dalam campuran etanol dan air [2]. Inulin mempunyai beberapa manfaat baik dalam tubuh maupun industri. Manfaat inulin tubuh adalah sebagai berikut; *bifidogenic* (mampu menjaga pertumbuhan *bifidobacterium* di usus besar); merangsang sistem kekebalan tubuh, mengurangi resiko *osteoporosis* [3].

Sumber inulin yang terdapat di Indonesia adalah umbi tanaman dahlia yang dikenal sebagai tanaman hias yang dimanfaatkan bunganya. Umbi dahlia mengandung hampir 70 % pati dalam bentuk inulin. Kandungan inulin dalam umbi dahlia sekitar 60% [4]. Dahlia merupakan tanaman yang dapat menghasilkan karbohidrat (inulin) yang tersimpan dalam umbi dan termasuk dalam familia Compositae [5].

Tanaman dahlia dapat tumbuh baik pada daratan tinggi dengan ketinggian optimum 700- 1.000 m dpl. Tanaman Dahlia, dapat tumbuh pada beberapa media yaitu tanah lempung berpasir yang mengandung humus, dan di *polybag* berisi campuran sekam [6].

Berdasarkan latar belakang tersebut, banyaknya manfaat yang dimiliki inulin dari

ekstrak umbi dahlia, dan belum adanya penelitian mengenai determinasi kandungan inulin dalam ekstrak umbi dahlia yang ditanam pada media yang berbeda yaitu pada media tanah dan *polybag* dengan suatu metode yang sudah terjamin validitasnya, pada penelitian ini akan dilakukan determinasi inulin ekstrak umbi dahlia (*Dahlia spp L.*) yang ditanam pada media tanah dan *polybag* dengan metode KLT-Densitometri.

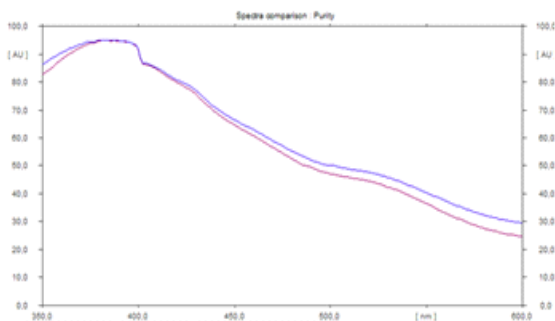
Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat kuantitatif eksperimental laboratoris. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan sampling purposif dimana sampel yang diambil mengacu pada perimbangan tujuan dan batasan penelitian, yaitu dahlia yang digunakan berasal dari tanaman yang dibudidayakan di media tanah dan *polybag* dengan jenis tanaman adalah dahlia bangkok ungu serta didapat dari daerah Batu- Jawa Timur, Pasar Bunga Jalan Cemara Kipas. Sebelum dilakukan uji validasi dilakukan optimasi teknik ekstraksi. Kemudian dilakukan uji validasi sebagai variabel analisa adalah spesifisitas, linieritas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ), presisi, akurasi. Selanjutnya dilakukan determinasi atau penetapan kadar inulin dalam ekstrak umbi dahlia. Alat yang digunakan adalah *scanner*

Densitometer *winCATS* Camag, perangkat komputer dengan program *winCATS* dan program *Validation Method of Analysis*, *ultrasonic cleaner*, oven, dan lampu Ultra violet (UV), labu ukur (10 mL, 25 mL, 50 mL, dan 100 mL) Pyrex, gelas ukur (10 ml dan 25mL) Pyrex, erlenmeyer 100 mL Pyrex, *beaker glass* (50 ml, 100 ml, 200 ml dan 500 ml), timbangan analitik Sartorius, pipet volume (0,5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 10 mL) Pyrex, bola pipet, batang pengaduk, pipet tetes, vial, *stirrer*, *hot plate*, *water bath*, termometer, blender (Phillips), *freezer*, kulkas, cawan porselen, bejana camag (*chamber*). Bahan-bahan yang digunakan adalah umbi dahlia (berasal dari kota Batu Jawa Timur), lempeng KLT Silika Gel 60 F₂₅₄, kertas saring, standar Inulin (Fluka), *aquadest*, etanol 96% , etanol 70%, asam asetat glasial (J.T. Baker) p.a, *methanol* p.a (Sigma-Aldrich) dan aquabides (WIDA WITM Unicap), *aniline* p.a (MERCK), *diphenylamine* (MERCK), aseton p.a, asam fosfat, resorsinol p.a (MERCK), *acetonitrile* (J.T. Baker).

Hasil Penelitian

Data hasil validasi metode spektra pengujian uji spesifitas ditunjukkan pada Gambar 1 dan hasil *scanning* uji spesifitas dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Spektra sampel dan standar pada uji *purity*

Tabel 1. Hasil *scanning* spektrum uji kemurnian/*purity*

Uji	Track	Rf	r(s,m)	r(m,e)	Kesimpulan
Purity	Standar	0,89	0,998	0,9974	<i>Purity</i>
	Sampel	0,91	0,999	0,9988	<i>Purity</i>

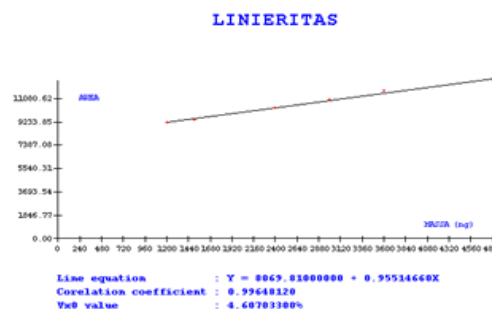
Tabel 2. Hasil uji identitas/ *identity*

Uji	Track	Rf	r(s,s)	r(s,a)	Kesimpulan
Identitas	Standar	0,89	0,998	-	Inulin
	Sampel	0,91	0,998	0,998	Inulin

Data parameter linieritas dengan nilai $r = 0,996$ dan $V_{x0} = 4.607\%$ diperoleh dari program *Validation Method of Analysis* ditunjukkan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Tabel 3. Koefisien korelasi konsentrasi (ng/ *spot*) dengan area standar inulin dan data parameter uji linieritas

Metode	Linieritas
<i>Probability</i>	95%
Jumlah Data	6
Persamaan Garis	$Y = 8069,81000000 + 0,95514660X$
Koefisien Korelasi	0,99648120
V_{x0}	4,60703300%
X_p	721,66850000 ppm (360,83 ng/ <i>spot</i>)



Gambar 2. Kurva linieritas konsentrasi (ng/ *spot*) dan area standar

Metode ini peka karena telah memenuhi persyaratan parameter sensitifitas dengan nilai batas deteksi = 71,03 ng/*spot* dan batas kuantitasi = 236,76 ng/*spot*. Data hasil pengujian parameter presisi dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 4. Hasil pengujian *repeatability* dengan n=6

Penimbangan (mg)	Massa inulin dalam sampel (mg)	Inulin % b/b
45,30	3,068	84,66
45,00	3,048	84,67
45,80	3,104	84,72
45,60	3,090	84,70
45,00	2,992	83,11
45,90	3,148	85,73
	Rata- rata	84,60
	SD	0,84
	RSD/CV	0,993% < 2,7%

Tabel 5. Hasil pengujian *intermediate precision* dalam tiga hari percobaan dengan n=6

Hari	Kadar inulin (% b/b) ± RSD(%)*
1	84,60% ± 0,993%
2	84,05% ± 1,34%
3	84,98% ± 1,14%
Rata-rata	84,54%
SD	0,468
%RSD	0,554% < 2,7%

* replikasi 3 kali

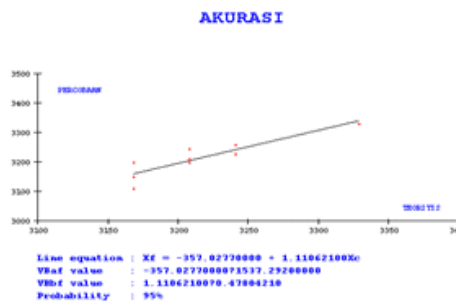
Data hasil pengujian parameter akurasi, hasil rata-rata akurasi, serta kurva konsentrasi teoritis dan konsentrasi percobaan dapat dilihat pada Tabel 6, Tabel 7 dan Gambar 3.

Tabel 6. Hasil pengujian metode akurasi

Adisi	Penimbangan sampel (mg)	Teoritis (ng/spot)	Percobaan (ng/spot)	Recovery (%)
30%	45,00	3168	3198	100,95
	45,00	3168	3149	99,40
	45,00	3168	3111	98,20
			99,52% ± 1,39%	
45%	45,0	3208	3243	101,09
	45,0	3208	3209	100,03
	45,0	3208	3199	99,72
			100,28% ± 0,72%	
60%	45,00	3241	3259	100,56
	45,00	3241	3228	99,59
	46,20	3329	3331	100,06
			100,07% ± 0,91%	

Tabel 7. Hasil rata-rata akurasi

Penambahan (%)	% Recovery* ± RSD %
30	99,52% ± 1,39%
45	100,28% ± 0,72%
60	100,07% ± 0,91%
Rata- rata	99,96% ± 0,39%



Gambar 4. Kurva konsentrasi teoritis dan konsentrasi percobaan

Hasil penetapan kadar inulin ekstrak umbi dahlia yang ditanam media *polybag* dan hasil determinasi inulin ekstrak umbi dahlia yang ditanam media tanah dapat dilihat pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Tabel 8. Hasil determinasi inulin ekstrak umbi dahlia yang ditanam media *polybag*

Replikasi sampel	Penimbangan sampel (mg)	Massa inulin (ng/spot)	Kadar inulin (% b/b)
1	45,40	2793	76,899
2	45,20	2779	76,85
3	45,00	2689	74,69
		Rata- rata	76,15%
		RSD	1,657%

Tabel 9. Hasil determinasi inulin ekstrak umbi dahlia yang ditanam media tanah

Replikasi sampel	Penimbangan sampel (mg)	Massa inulin (ng/spot)	Kadar inulin (%b/b)
1	45,00	3112	86,44
2	45,00	3122	86,72
3	45,00	3082	85,61
		Rata- rata	86,26%
		RSD	0,669%

Pembahasan

Pada penelitian ini kondisi analisis mengacu pada penelitian sebelumnya yakni fase diam Lempeng KLT Silika Gel F254, fase

gerak asam asetat: metanol: aquabides (v/v/v/v) = 0,5:7,5:2, pelarut Aquabides : Etanol 96% (3:1) v/v, penampak noda = campuran *anilinedalam* aseton 1% v/v: *diphenylamine* dalam aseton 10% b/v: asam fosfat (5:5:1) dan pada panjang gelombang (λ) 380 nm [7]. Setelah diperoleh kondisi analisis yang optimum maka tahapan selanjutnya adalah optimasi teknik ekstraksi kemudian validasi terhadap metode analisis yang dikembangkan. Tujuan validasi adalah agar metode analisis yang dipakai diketahui kespesifikan, kelinieran, kepekaanya, kepresisian, dan akurasi [8].

Validasi metode analisis menunjukkan bahwa metode KCKT yang dikembangkan memenuhi persyaratan parameter validasi spesifisitas karena memberikan hasil pengujian yang spesifik, hal ini dapat dilihat berdasarkan nilai $r(s,m)$ dan nilai $r(m,e)$ spektra sampel dan standar inulin dapat dilihat pada Tabel 2, diketahui bahwa perhitungan korelasi spektra dari data $> 0,990$ yang menunjukkan bahwa inulin dalam sampel murni. Pada uji identitas ditunjukkan berdasarkan nilai $r(s,s)$ dan nilai $r(s,a)$. Dari Tabel 3, nilai korelasi didapatkan $> 0,990$ yang berarti analit dalam sampel identik dengan standar inulin.

Metode juga memberikan hasil analisis yang memenuhi persyaratan parameter linieritas dengan nilai $r = 0,996$ dan $V_{x0} = 4.607\%$ (Tabel 4 dan Gambar 2); peka karena telah memenuhi persyaratan parameter sensitifitas dengan nilai batas deteksi=71,03 ng/spot dan batas kuantitasi= 236,76 ng/spot; dikatakan presis karena memenuhi persyaratan parameter presisi dengan nilai RSD *Repeatability* 0,993% dan RSD *Intermediate Precision* adalah 0,554% (Tabel 5 dan Tabel 6); dan parameter akurasi dengan % *Recovery* \pm SD = 99,96% \pm 0,39% (Tabel 8).

Determinasi inulin pada sampel ekstrak umbi dahlia (*Dahlia spp L.*) yang ditanam pada media tanah dan *polybag* dengan metode KLT-Densitometri yang telah divalidasi. Data hasil determinasi inulin ekstrak umbi dahlia yang ditanam media *polybag* dapat dilihat pada Tabel 9. Hasil determinasi inulin ekstrak umbi dahlia yang ditanam media tanah dapat dilihat pada Tabel 10. Data pada Tabel 9 dan Tabel 10 menunjukkan bahwa kadar inulin dari ekstrak umbi dahlia yang ditanam media *polybag* lebih kecil dari sampel inulin dari ekstrak umbi dahlia yang ditanam media tanah. Bahan organik merupakan bahan penting dalam menciptakan kesuburan tanah. Bahan organik memperbaiki sifat-sifat tanah meliputi sifat fisik, kimia dan

biologi tanah [9]. Bahan organik pada *polybag* jumlahnya lebih sedikit bila dibandingkan dengan unsur organik yang terdapat pada tanah hal ini menyebabkan produktivitas tanaman tidak maksimal dibandingkan pada tanah. Pengaruh bahan organik pada biologi tanah adalah menambah energi yang diperlukan kehidupan mikroorganisme tanah [10]. Media *polybag* dengan menggunakan wadah plastik akan menyebabkan unsur organik dalam tanah akan berkurang sehingga menyebabkan tanah kurang gembur, dan sistem perakaran susah untuk menembus plastik atau menyebabkan pertumbuhan akar terhambat. Bila pertumbuhan akar terhambat dalam hal ini umbi dahlia juga akan terhambat produktivitasnya.

Simpulan dan Saran

Metode KLT-Densitometri untuk determinasi inulin dalam ekstrak umbi dahlia memberikan hasil analisis yang: Spesifik; Linier dengan nilai koefisien korelasi = 0,997, V_{x0} 4,607% dan X_p 721,669 (360,83 ng/spot); Peka dengan batas deteksi 71,03 ng/spot dan batas kuantitasi 236,7683 ng/spot; Presis dengan nilai RSD *repeatability* = 0,993% $<$ 2,7% dan RSD *intermediet precision* = 0,554% $<$ 2,7%; Akurat dengan % *Recovery* 99,96% \pm 0,39%; Kadar inulin umbi dahlia yang ditanam di media tanah sebesar 86,26% \pm 0,669% (%b/b \pm RSD %), dan umbi dahlia yang ditanam di media *polybag* sebesar 76,15% \pm 1,657% (%b/b \pm RSD %). Dapat disimpulkan bahwa media tanam umbi dahlia mempengaruhi kadar inulin atau metabolit sekunder di dalamnya.

Berdasarkan kesimpulan, saran peneliti adalah perlu dilakukan penelitian determinasi inulin dalam umbi dahlia yang ditanam pada media tanah dan *polybag* pada jenis dahlia yang lain dengan metode ini untuk mengetahui pengaruh jenis tanaman terhadap kandungan inulin.

Daftar Pustaka

- [1] Nakamura T., Ogata Y., Shitara A., Nakamura A., dan Ohta K. Continous Production of Fructose Syrups from Inulin by Immobilized Inulinase from *Aspergillus niger* Mutant 817. J. Ferment. Bioeng. 1995. 80: 164-169.

- [2] Vandame, E. J. dan D. G. Derycke. Microbial Inulinase: Fermentation Process, Properties and Application. *Advances in Appl. Microbial.* 1983. 29: 139-176.
- [3] Kaur, N., dan Gupta, A.K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition, *J.Biosci.* 2002. 7:703-714.
- [4] Rahayuningsih, M. & R. Purnawati. 1993. Perbaikan Konversi Mikrobial Inulin Menjadi Fruktosa. didalam Susdiana, Y. 1997. Ekstraksi dan Karakterisasi Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia pinnata Cav*). Skripsi, unpublished. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- [5] Wijanarka, Sri Pujiyanto. Optimasi Produksi Enzim Inulinase Termotabil oleh Bakteri Termofilik dari Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis*). Semarang: FMIPA-Biologi Universitas Diponegoro. 2002.
- [6] Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan, BAPPENAS. 2000. Tentang Budidaya Pertanian (*Dahlia Spp L*). Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi : Jakarta.
- [7] Lestari, Putri I. Pengembangan dan Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Penetapan Kadar Inulin dalam Ekstrak Air Umbi Bengkuang (*Pachyrhizus erosus L.*). Jember : Universitas Jember. 2013.
- [8] Satiadarma, Mulja, Tjahjono, dan Kartasasmita. *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*. Edisi Pertama. Surabaya: Airlangga University Press. 2004.
- [9] Hakim, Nyakpa dan A.M Lubis. *Dasar-dasar Ilmu Tanah*. Lampung: Universitas Lampung. 1986.
- [10] Sutanto. R. *Penerapan Pertanian Organik*. Yogyakarta : Kanisius. 2002.