

Karakterisasi dan Perubahan Antosianin Ubi Jalar Ungu Selama Germinasi

by Kukuk Yudiono

Submission date: 13-Dec-2021 10:35PM (UTC+0700)

Submission ID: 1729205963

File name: 93-99-Kukuk_UKWK-Malang.pdf (504.95K)

Word count: 2427

Character count: 15024

Karakterisasi dan Perubahan Antosianin Ubi Jalar Ungu Selama Germinasi

Kukuk Yudiono

Universitas Katolik Widya Karya Malang

ABSTRAK

Ubi jalar yang disimpan dalam keadaan lembab umumnya akan mengalami germinasi dan hal ini oleh konsumen dianggap rusak. Pada proses germinasi akan terjadi peningkatan aktivitas enzim sehingga diduga akan terjadi perubahan nutrisi dan perubahan senyawa metabolit yaitu senyawa antioksidan misalnya antosianin. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan produksi antosianin terbaik selama germinasi serta mengetahui karakterisasi komponen penyusun antosianin sebagai titik tolak pengembangan senyawa anti kanker. Kandungan antosianin total diukur dengan metode perbedaan pH, dan diperoleh hasil tertinggi pada ubi jalar yang digerminasi di minggu ke-3 yaitu sebesar 222,07 mg/Kg berat basah dan di minggu ke-4 mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi (dengan metode DPPH) yaitu sebesar 54,61 %. Komponen penyusun antosianin dengan metode LC-MS/MS kromatogram yang muncul adalah cyanidin-3-0-glucoside dan peonidin -3,5-0-diglucoside

Kata kunci: Ubi jalar ungu, germinasi, antosianin, Cyanidin-3-0-glucoside, peonidin -3,5-0-diglucoside

ABSTRACT

The sweet potatoes are stored in a moist state generally will undergo germination and it is by the consumer is considered broken. In the germination process will be an increase in activity of the enzyme that is expected to occur changes in nutrition and changes in metabolites are compounds anthocyanin antioxidants, for example. This study aims to get the best anthocyanin production during germination and determine the characterization of the composition of anthocyanin as the starting point of the development of anti-cancer compounds. Total anthocyanin content measured by the pH difference method, and obtained the highest yield in sweet potato in germination in the 3rd week in the amount of 222.07 mg / kg wet weight and at week 4 have the highest antioxidant activity (DPPH method) that is equal to 54.61%. Components of anthocyanins with methods LC-MS / MS chromatograms that arises is cyanidin-3-0-glucoside and peonidin -3,5-0-diglucoside.

Keywords: purple sweet potato, germination, anthocyanins, cyanidin-3-0-glucoside, peonidin -3,5-0-diglucoside

PENDAHULUAN

Penggunaan pewarna sintetis dalam produk pangan yang tidak aman karena mengandung logam berat seperti timah yang berbahaya bagi kesehatan dapat memicu penyakit berbahaya seperti tumor dan kanker. Menurut WHO, (2014) Kasus kanker diperkirakan melonjak 57 % di seluruh dunia dalam 20 tahun ke depan, selanjutnya dinyatakan bahwa kasus kanker baru akan naik dari sekitar 14 juta menjadi 22 juta dalam dua dekade dan kematian akibat kanker diperkirakan meningkat dari 8,2 juta menjadi 13 juta setiap tahun. Pada tahun 2030 diperkirakan terjadi lonjakan penderita kanker di Indonesia sampai tujuh kali lipat dan tiap tahun diperkirakan terdapat 100 penderita baru per 100.000 penduduk. Ini berarti dari jumlah 237 juta penduduk, ada sekitar 237.000 penderita kanker baru setiap tahunnya (Kartika, 2013). Dalam jangka panjang penelitian ini ditujukan untuk menentukan senyawa bioaktif yang terdapat dalam antosianin yang mampu berperan sebagai anti kanker.

Cyanidin sebagai salah satu jenis antosianin terutama pada ubi jalar ungu, dilaporkan memiliki kemampuan sebagai antimutagenik dan anti kanker serta sangat berguna bagi kesehatan

mata dan retina (Yasimoto dkk., 1999). Selain itu, pigmen ungu pada ubi jalar mempunyai sifat fungsional terhadap kesehatan yaitu sebagai antioksidan, antikanker, dan juga terbukti mampu mencegah kerusakan fungsi hati, menurunkan kadar gula darah, dan sebagai anti hipertensi (Suda dkk., 2003). Berdasarkan hasil penelitian Katsube dkk. (2003) dan Zhang dkk. (2005) bahwa antosianin yang diisolasi dari tanaman *Vaccinium myrtillus*, buah-buahan dan sayuran telah berhasil sebagai bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan sel-sel kanker pada manusia. Glikosida dari antosianin yang berhasil diidentifikasi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker tersebut masing-masing sianidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, dan petunidin.

Ketika produksi ubi jalar melimpah biasanya kelebihan produk yang tidak dapat dijual petani atau yang belum diolah dalam industri dilakukan penyimpanan. Namun selama penyimpanan banyak ubi jalar yang mengalami germinasi, sehingga hal ini dianggap rusak dan akhirnya tidak dimanfaatkan. Proses germinasi benih merupakan suatu rangkaian kompleks dari perubahan-perubahan morfologi, fisiologi dan biokimia. Faktor-faktor yang mempengaruhi germinasi terdiri dari faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal seperti: kemasakan dan ukuran benih, dormansi, dan hormon. Sedangkan faktor eksternal meliputi: air, temperatur, oksigen, dan cahaya. Pada proses germinasi akan terjadi peningkatan aktivitas enzim sehingga akan terjadi perubahan nutrisi dan perubahan senyawa metabolit yaitu senyawa antioksidan misalnya antosianin (Umnajkitikorn dkk., 2013).

Tujuan dari penelitian ini adalah (1) diperoleh produksi antosianin terbaik selama germinasi; (2) mendapatkan karakterisasi komponen penyusun antosianin sebagai titik tolak pengembangan senyawa anti kanker.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan adalah umbi ubi jalar varietas Ayamurasaki yang dipanen dari kebun percobaan Balitkabi Malang. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain: etanol 96%, aquades, HCL 32%, Na-Phosphat, DPPH.

Peralatan yang digunakan antara lain: alat gelas, rotary evaporator, neraca analitis, spektrofotometer, centrifuge, dan LC-MS/MS.

Pelaksanaan Percobaan Germinasi Umbi Ubi Jalar

Dipilih ubi jalar bersih sehat dari varietas Ayamurasaki, mencuci ubi jalar dengan hati-hati. Menempatkan setiap bagian umbi dalam botol atau gelas yang diisi air steril, penempatan umbi adalah setengah bagian terendam air. Digunakan tusuk gigi untuk menahan umbi pada tempat germinasi. Perlakuan adalah waktu simpan dengan 7 level pengamatan yaitu minggu ke- (1,2,3,4,5,6, dan 7) meliputi kandungan total antosianin, aktivitas antioksidan, intensitas warna, ukuran warna dan karakterisasi komponen antosianin. Perlakuan diulang 2 kali, menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK).

Ekstraksi Antosianin dan Analisis kadar antosianin menggunakan metode cepat Kuantifikasi (Abdel, 1999 yang dimodifikasi)

Ditimbang sampel (ubi jalar ungu *Ayamurasaki*) yang sudah diblender sebanyak 3 gr, kemudian ditambah 24 ml etanol 96% (1:8), diasamkan (etanol : HCL 1,0 N = 35 : 15), diaduk selama 15 menit dengan *magnetic stirrer*. Setelah tercampur rata, campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit, diperoleh supernatant. Supernatant dituangkan ke dalam labu ukur 50 ml, disaring dengan kertas saring whatman sehingga diperoleh filtrat/konsentrat antosianin bebas ampas. Kemudian filtrat ditambah etanol yang sudah diasamkan sampai mencapai volume 50 ml. Filtrat/konsentrat dalam botol dihembus nitrogen untuk mengusir oksigen dalam *head space*, disimpan dalam lemari pendingin suhu 4°C sampai siap dianalisis untuk: total antosianin, hplc, dan aktivitas antioksidan.

Kandungan Total Antosianin (Abdel, 1999 yang dimodifikasi)

Diambil 4 ml Filtrat/konsentrat dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm

Perhitungan analisis kadar antosianin:

$$C = (A/e) \times (\text{vol}/1.000) \times \text{MW} \times (1/\text{berat sample}) \times 10^6$$

Keterangan:

C = konsentrasi total antosianin (mg/ kg)

A = bacaan absorbansi

e= absorptivitas molar (*cyandin 3-5-diglucoside* = 25.965 L/mol)

Vol=total volume ekstrak antosianin dalam labu ukur (50 ml)

MW=berat molekul *cyaniding 3-5-diglukosida* (449).

Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Bland-Williams dkk., 1995)

Analisis Aktivitas Antioksidan menggunakan metode DPPH. Filtrat hasil ekstraksi sebanyak 4 ml, ditambah larutan DPPH sebanyak 1 ml dengan konsentrasi 0,2 mM, didiamkan selama 30 menit sebelum dilakukan analisis, kemudian diambil larutan sebanyak 1 ml dan ukur absorbansinya pada λ 517 nm.

$$\text{Efek penangkapan DPPH (\%)} = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$$

A₀ = absorbansi dari kontrol atau tanpa penambahan ekstrak

A₁ = absorbansi dari sampel

Karakterisasi Antosianin dengan LC-MS/MS (Yonghua Ling, dkk., 2009 yang dimodifikasi)

Hasil ekstrak masing-masing ditimbang 5 ml pada tabung centrifuge, kemudian dilarutkan dalam 10 mL pelarut Acetonitril, dikocok selama 1 menit kemudian dilakukan sonifikasi selama 30 menit dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung centrifuge dan dikeringkan pada suhu 90°C. Hasil sentifugasi ditambahkan acetonitrile 5 mL kemudian dilakukan sonifikasi selama 15 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan difiltrasi dengan membrane filter 0,2 μ m kemudian dimasukkan botol vial. Botol vial dimasukkan dalam auto sample pada LC-MS/MS yang siap diinjeksi sebanyak 5, 10 μ L untuk dianalisis.

Kondisi Operasi LC-MS/MS

Uji genistein dengan peralatan LC-MS/MS . Kolom yang digunakan dengan spesifikasi Hypersil Gold (50mm x 2.1mm x 1.9 μ m). UHPLC merk ACCELLA type 1250 buatan Thermo Scientific yang terdiri dari degasser vakum, pompa quartener, autosampler termostatik dikendalikan Personal computer melalui program x-calibur 2.1. Mobile-fase A terdiri dari 0,1% asam format dalam aquabidest, fase B terdiri dari 0,1% asam format dalam Acetonitrile. Sebuah gradien linier dengan kecepatan 300 μ l/menit dengan pengaturan fase gerak sebagai berikut : a) 0-0.6 menit 15%B, 2-3.5 menit 100%B, 4.5 menit 15 %B. Volume injeksi pada LC adalah 2 μ L . Kolom dikontrol pada 30°C, dan kompartemen autosampler ditetapkan untuk 10°C.

Penggunaan MS/MS Triple Q (quadropole) spektrometer massa TSQ QUANTUM ACCESS MAX dari Thermo Finnigan dengan sumber ionisasi ESI (Electrospray Ionization) dikendalikan oleh software TSQ Tune yang dioperasikan dengan mode Positive. Molekul C3G dengan ion prekursor 449 m/z didapatkan ion transisi 287 m/z. Sedangkan P 3,5-O-DG ion prekursor 625 m/z didapatkan ion transisi 463; 301 m/z. Kondisi ionisasi ESI adalah sebagai berikut: tegangan spray 3 kV ; Suhu penguapan 270 °C; Suhu kapiler, 300 °C; nitrogen sebagai sheath gas pressure 40 psi, dan Aux gas pressure 10 psi dengan gas argon.

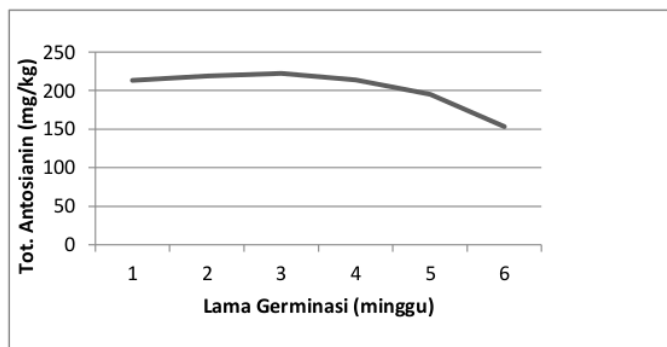
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Total Antosianin

Berdasarkan hasil pengukuran kandungan total antosianin pada umbi ubi jalar yang digerminasi selama 7 minggu (42 hari) didapat peningkatan kandungan antosianin pada pengamatan tiap 7 hari. Kandungan total antosianin tertinggi diperoleh pada germinasi di minggu ke-3 yaitu sebesar 222,07 mg/kg berat basah. Peningkatan antosianin umbi ubi jalar selama germinasi diperkirakan karena proses germinasi terjadi peningkatan aktivitas enzim-enzim dalam bahan, termasuk enzim pembentuk antosianin seperti enzim PAL (*phenylalanine ammonia lyase*).

Hasil penelitian William dkk. (1992) menyatakan bahwa pigmen antosianin biji Arabidopsis timbul setelah germinasi, hal tersebut terkait dengan peningkatan mRNA yang dikodekan oleh 4 gen biosintesis flavonoid seperti, PAL7 (*encoding fenilalanin amonia-liase 1*) CHS (*encoding chalcone synthase*), CHI (*encoding chalcone isomerase*), dan DFR (*encoding dihydroflavonol reduktase*).

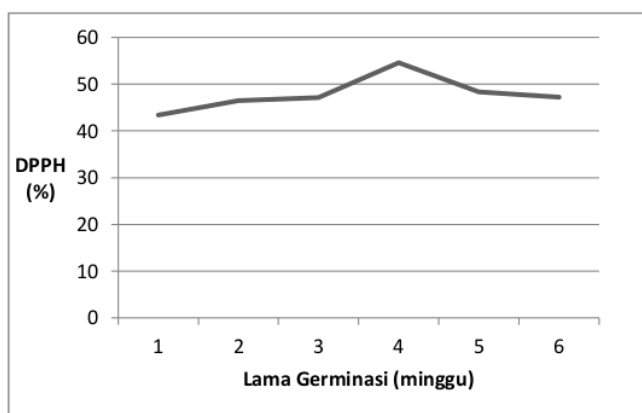
Adapun Gambar perubahan antosianin umbi ubi jalar selama germinasi seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perubahan Kandungan Antosianin selama Germinasi

Aktivitas Antioksidan

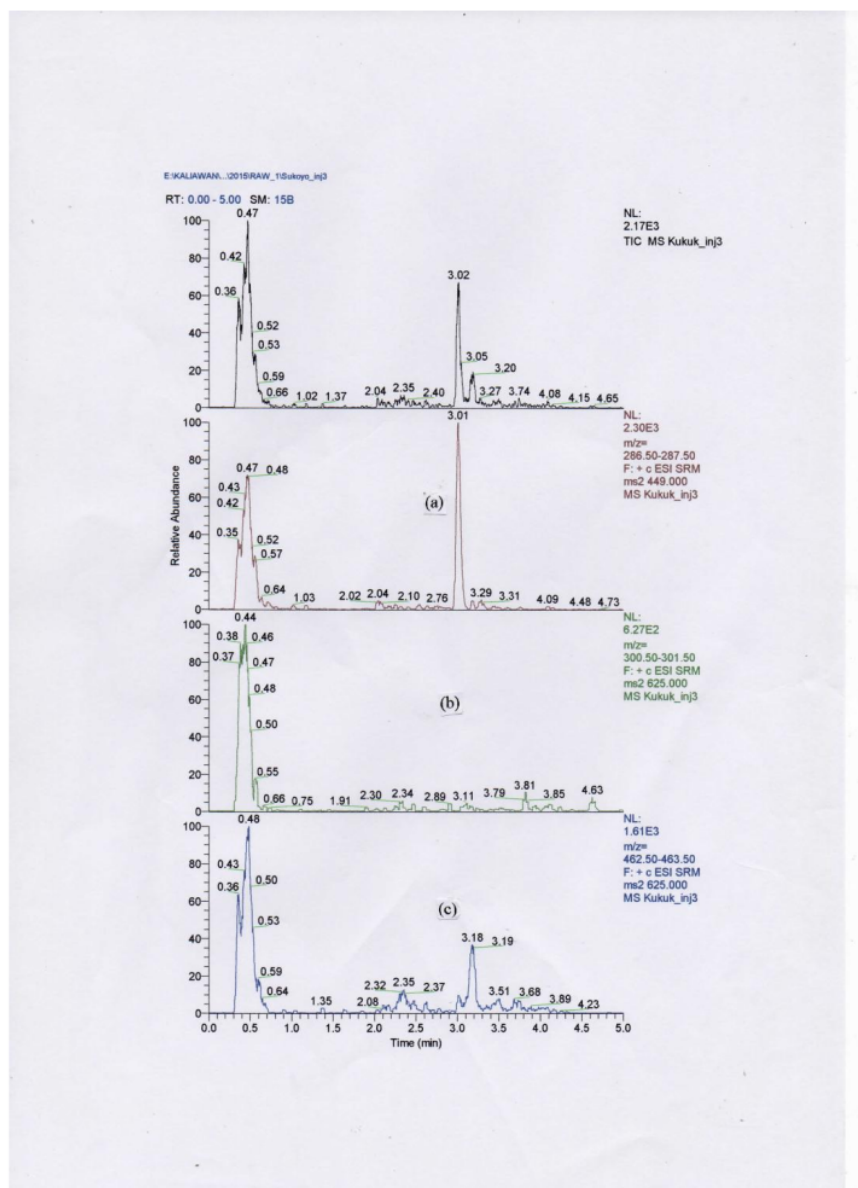
Pengamatan aktivitas antioksidan selama germinasi terjadi peningkatan dan aktivitas antioksidan tertinggi terjadi pada germinasi minggu ke-4 yaitu sebesar 54,61%. Pola perubahan aktivitas antioksidan ini selaras dengan pola perubahan kandungan antosianin selama germinasi, sehingga dalam penelitian ini antosianin mempunyai peran utama sebagai antioksidan. Uji aktivitas antioksidan DPPH (*diphenyl picril hidrazyl*) berdasarkan reaksi penangkapan radikal bebas dari DPPH oleh senyawa antioksidan seperti antosianin melalui mekanisme donasi atom hidrogen. Pada Gambar 2 adalah perubahan aktivitas antioksidan selama germinasi.



Gambar 2. Perubahan Aktivitas Antioksidan selama Germinasi

Karakterisasi Antosianin

Hasil karakterisasi antosianin dengan menggunakan LC-MS/MS seperti terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. LC-MS/MS Kromatogram Antosianin Ubi Jalar Ungu Ayamurasaki

Dari Gambar 3.a dihasilkan fragmentasi ion $[M-X]^+$ adalah m/z 286.50 sampai 287.50 dan peaks ion molekularnya $[M]^+$ adalah m/z 449 sehingga ini mengkonfirmasi bahwa penyusun antosianin ubi jalar ungu adalah *Cyanidin-3-O-glucoside*. Gambar 3.b dihasilkan fragmentasi ion $[M-X]^+$ adalah m/z 300.50 sampai 301.50 dan peaks ion molekularnya $[M]^+$ adalah m/z 625, konfirmasi hasil ini tidak dapat ditentukan apakah *Peonidin-3-O-glucoside*, *Peonidin-3-O-(c-6''-O-coumaroyl)-glucoside*, *Peonidin-3-O-(t-6''-O-coumaroyl)-glucoside*, atau *Petunidin-3-O-(6''-O-coumaroyl)-glucoside*. Sedang Gambar 3.c dihasilkan fragmentasi ion $[M-X]^+$ adalah m/z 462.50 sampai 463.50 dan peaks ion molekularnya $[M]^+$ adalah m/z 625 hasil ini mengkonfirmasi bahwa

penyusun antosianin adalah *Peonidin -3,5-0-diglucoside*. Sehingga hasil karakterisasi antosianin ubi jalar ungu var. Ayamurasaki dapat disimpulkan ada dua penyusun antosianin ubi jalar ungu var. ayamurasaki yang telah pasti yaitu *Cyanidin-3-0-glucoside* dan *Peonidin -3,5-0-diglucoside*. Yasimoto (1999) melaporkan bahwa *Cyanidin* mempunyai kemampuan sebagai senyawa anti kanker.

KESIMPULAN

Germinasi ubi jalar sampai minggu ke-3 dan ke-4 menghasilkan kandungan antosianin dan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 222.07 mg/Kg berat basah dan 54,61 %. Hasil uji LC-MS/MS mengkonfirmasi bahwa penyusun utama antosianin ubi jalar ungu Ayamurasaki adalah *Cyanidin-3-0-glucoside* dan *Peonidin -3,5-0-diglucoside*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kemeterian Riset dan Teknologi, yang telah menyediakan dana penelitian melalui Hibah Bersaing Nomor 017/SP2H/P/K7/KM/2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Aal and P. Hucl, 1999. A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats. *Cereal Chem.* 76(3):350–354.
- Andarwulan, N., Kusnandar, F., dan Herawati, D. 2011. *Analisis Pangan*. Dian Rakyat. Jakarta.
- Bland-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C., 1995. *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie* 29:25-30
- FAO. 1984. *Specification for Identity and Purify of Food Colours*. FAO of The United Nations. Rome.
- Kartika, Unoviana, 2013. *Penderita Kanker di Indonesia Meningkat*. <http://health.kompas.com>. [23 Maret 2013].
- Katsube, N., K. Iwashita, T. Tsushida, K. Yamaki, M. Kobori. 2003. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 51 (1) : 68-75.
- Suda, I., Oki, Tomoyuki, Masuda, Miami, Kobayaki, Mio, Nishiba, Yoichi, Furata, Shu, 2003. Physiological Functionality of Purple-Fleshed Sweet Potatoes Containing Anthosyanin and Utilization in Foods. *Japan agricultural Research Quarterly (JARQ)* 37(3): 167-173
- Umnajkitikom, Kamolchanok., Bualuang Faiyue and Kobkiat Saengnil, 2013. Enhancing Antioxidant Properties of Germinated Thai rice (*Oryza sativa* L.) cv. Kum Doi Saket with Salinity. *J Rice Res.* 1:1
- WHO, 2014. *Imminent Global Cancer 'Disaster' Reflects Aging, Lifestyle Factors*. The World Cancer Report. <http://edition.cnn.com/2014/02/04/health/who-world-cancer-report/>. [8 April 2014].
- William L. Kubasek, Brenda W. Shirley, Ann McKillop, Howard M. Goodman, Winslow Briggs, and Frederick M. Ausubel, 1992. Regulation of Flavonoid Biosynthetic Genes in Germinating *Arabidopsis* Seedlings. *Plant Cell*, Vol. 4, 1229-1236.
- Yashimoto, M.S. Okuna, M. Yoshinaga, O. Yamakawa, M. Yamaguchi and J. Yamada, 1999. Antimutagenicity of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Root. *Biosci Biotechnology. Biochemistry* 63: 541-543.
- Yonghua Ling, Chen Ren, Susan R. Mallery, Carlos M. Ugalde, Ping Pei, U.V.R. Vijaya Saradhi, Gary D. Stoner, Kenneth K. Chan, and Zhongfa Liu, 2009. A Rapid and Sensitive LC-MS/MS Method for Quantification of Four Anthocyanins and Its Application in a Clinical Pharmacology Study of a Bioadhesive Black Raspberry Gel. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 877(31): 4027–4034.

Zhang, Zhitian, Christopher C. Wheatley , Harold Corke, 2002. Biochemical changes during storage of sweet potato roots differing in dry matter content. *Posth. Biol. and Techn.* (24) 317–325.

Karakterisasi dan Perubahan Antosianin Ubi Jalar Ungu Selama Germinasi

ORIGINALITY REPORT

18%

SIMILARITY INDEX

15%

INTERNET SOURCES

12%

PUBLICATIONS

10%

STUDENT PAPERS

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

1%

★ Linda Chalker-Scott. "Environmental Significance of Anthocyanins in Plant Stress Responses", Photochemistry and Photobiology, 7/1999

Publication

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off