

IDENTIFIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DAN METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK ETANOL BERAS KETAN HITAM (*Oryza sativa* L.) DALAM PEMANFAATANNYA SEBAGAI ALTERNATIF PENGOBATAN DEMAM BERDARAH DENGUE

IDENTIFICATION OF ANTHOCYANIN COMPOUNDS AND SECONDARY METABOLITES FROM EXTRACT ETHANOL BLACK GLUTINOUS RICE (*Oryza sativa* L.) IN UTILIZATION AS COMPLEMENTARY MEDICINE TREATMENT OF DENGUE HAEMORRHAGIC FEVER

KETUT AGUS ADRIANTA*

*Akademi Farmasi Saraswati Denpasar, Jalan Kamboja No 11A, Denpasar, Bali

Abstrak : Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat adalah beras ketan hitam yang diduga mengandung senyawa antosianin, hal ini terlihat dari warna ungu pekat yang diperlihatkannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa antosianin, jenis antosianin apa yang terkandung dalam beras ketan hitam. Beras ketan hitam diekstraksi dengan pelarut etanol 80% yang diasamkan dengan asam sitrat 3%. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode skrining fitokimia, sedangkan identifikasi senyawa antosianin dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan eluen Forestal (HCL pekat-asam asetat-air) dengan perbandingan 3:30:10 dan BAA (n-butanol-asam asetat-air) dengan perbandingan 4:1:5. Hasil penelitian menunjukkan melalui uji skrining fitokimia diperoleh hasil bahwa beras ketan hitam positif mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid. Dari hasil kromatografi lapis tipis analitik, ekstrak beras ketan hitam mengandung senyawa antosianin. Pada eluen Forestal tidak menghasilkan noda yang jelas dan eluen korosif terhadap plat KLT sedangkan pada eluen BAA menghasilkan noda berwarna merah lembayung dengan nilai Rf sebesar 0,467. Berdasarkan nilai Rf yang didapat, disimpulkan bahwa beras ketan hitam positif mengandung antosianin dengan jenis pelargonidin 3-glukosida.

Kata kunci: Beras ketan hitam, metabolit sekunder, skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis

Abstract : One of natural ingredients that can be used as medicine is the black glutinous rice which is presumed to contain anthocyanin compound, which is seen from the dark purple color it shows. This research has purpose to find out whether there is anthocyanin compound, what kind of anthocyanin that contains in the black glutinous rice. The black glutinous rice is extracted with 90% ethanol solvent which was acidified with 3% citrate acid. Identification of secondary metabolite compound is carried out by phytochemical screening method, whereas identification of anthocyanin compound is carried out by Thin Layer Chromatography using the eluent Forestal (HCL thick-acetate acid-water) with ratio of 3:30:10 and BAA (n-buthanol-acetate acid-water) with ratio of 4:1:5. Research result shows that through phytochemical screening test it is obtained the result that the black glutinous rice is positively contains secondary metabolite of alkaloid, flavonoid, tanin and triterpenoid. From the result of analytical thin layer cromatography, the black glutinous rice extract contains the anthocyanin compound. In eluent Forestal there is no clear result of stain and eluen corrosive to KLT plate whereas eluen BAA produced reddish purple colored stain with Rf value for 0.467. Based on the Rf value obtained it is concluded that the black glutinous rice positively contains anthocyanin of pelargonidin 3-glukosida type.

Keywords: Black glutinous rice, secondary metabolite, fitokimia screening, thin layer cromatography

PENDAHULUAN

Demam berdarah dengue atau yang biasa disebut *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) merupakan penyakit akut bersifat endemik dan memiliki prevalensi, angka morbiditas dan mortalitas DBD dari tahun ke tahun terus

menunjukkan peningkatan dan terjadi di semua propinsi di Indonesia. Gambaran klinis yang menonjol pada penyakit DBD adalah terjadinya kebocoran plasma darah. Proses penyembuhan DBD dapat dilakukan dengan cara meningkatkan kadar trombosit. Sampai saat ini pengobatan penyakit DBD masih bersifat suportif, yaitu

mengatasi kehilangan cairan plasma akibat peningkatan permeabilitas pembuluh darah kapiler.

Achmad dan Wahono (2001) dalam Muharni dkk. (2013) menyatakan kelompok senyawa tanin dan flavonoid dapat menjadi alternatif pengobatan DBD. Rindiastuti dan Tyasari (2008) dalam Muharni (2011) menyatakan salah satu bahan alam yang dapat dijadikan alternatif adalah angkak. Wanti (2008) menyebutkan bahwa aktifitas antioksidan angkak dari beras putih, merah dan hitam, yang paling tinggi terdapat pada beras hitam

Dari data tersebut, peneliti tertarik untuk mengidentifikasi kandungan antosianin dan metabolit sekunder lain yang terdapat dalam beras ketan hitam sebagai penelitian pendahuluan. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini dimulai dari skrining fitokimia, ekstraksi kemudian dilanjutkan dengan metode uji kromatografi lapis tipis untuk identifikasi antosianinnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa antosianin dan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol beras ketan hitam.

BAHAN DAN METODE

Rancangan penelitian. Penelitian ini merupakan penelitian dalam bentuk deskriptif laboratory yang dilakukan secara keahliatan dengan metode KLT dan skrining fitokimia. Teknik sampling yang digunakan adalah *probability sampling* dengan teknik pengumpulan data berupa perubahan warna saat reaksi dalam tabung reaksi serta nilai Rf noda dari uji KLT.

Bahan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah beras ketan hitam (*Oryza sativa L.*) yang tumbuh di daerah Jatiluwih, Tabanan serta bahan kimia meliputi etanol 80% (Brataco), HCl pekat, asam asetat glacial, *n-BuOH*, *aquadest*, asam sitrat 3%, serbuk Mg, pereaksi dragendorf dan mayer, amil alkohol, alkohol kloralhidrat, FeCl_3 1%, asam asetat anhidrad dan asam sulfat pekat.

Metode. Adapun metode atau alur kerja dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstraksi
 - a. Serbuk beras ketan hitam ditimbang sebanyak 1g dan masukkan ke dalam cawan porselen.
 - b. Maserasi menggunakan pelarut etanol 80% yang diasamkan dengan asam sitrat 3% (Kristiana dkk., 2012). Jumlah bahan dan

campuran pelarut berbanding 1:5 (b/v) (Ariviani, 2010). Letakkan cawan kedalam alat *elmasonic*, lalu nyalakan alat pada suhu 30°C selama 3 menit.

- c. Campuran serbuk beras ketan hitam dan pelarut diaduk menggunakan batang pengaduk, lalu dimaserasi kembali pada alat *elmasonic*. Tahap ini diulangi sampai 3 kali.
- d. Ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dengan maserat
- e. Pelarut dalam filtrat dibiarkan menguap dengan cara meletakkan dalam lemari asam selama 10 menit.

2. Skrining fitokimia

a. Identifikasi alkaloida

Timbang 500 mg serbuk simplisia, tambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air, panaskan di atas tangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Filtrat dibagi dalam 2 bagian masing-masing 3 ml filtrat dalam tabung reaksi. Filtrat pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff kemudian filtrat kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, amati. Hasil positif jika saat penambahan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan coklat dan saat penambahan pereaksi Mayer membentuk endapan putih atau kuning yang larut dalam methanol (Suwarni dkk., 2013).

b. Identifikasi flavonoid

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia dilarutkan dalam 50 ml air, dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Sisa filtrat digunakan untuk percobaan berikutnya. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan kedalam tabung dan ditambahkan sedikit serbuk Mg kemudian tambahkan 1 ml larutan alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama), tambahkan beberapa tetes amil alkohol, kocok kuat-kuat, biarkan memisah. Terdapat warna dalam amil alkohol (merah, kuning atau jingga) menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Suwarni dkk., 2013).

c. Identifikasi tanin

Digunakan filtrat yang diperoleh pada uji flavonoid 5 ml filtrat ditetesi dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif menunjukkan warna hijau violet pada penambahan FeCl_3 1% (Suwarni dkk., 2013).

d. Identifikasi saponin

Filtrat dari uji flavonoid sebanyak 10 ml filtrat dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik. Hasil dikatakan positif bila

terbentuk busa stabil selama 10 menit, setinggi 1-10 cm (Suwarni dkk., 2013).

e. Identifikasi triterpenoid/steroid

Sebanyak 50 mg serbuk simplisia ditempatkan pada cawan porselen dan ditambahkan 15 tetes asam asetat anhidrad sampai terendam semuanya, dibiarkan selama kurang lebih 15 menit. Ambil larutan dengan pipet tetes lalu masukkan sebanyak 6 tetes pada tabung reaksi. Tambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif menunjukkan warna merah jingga atau ungu (triterpenoid) atau biru (steroid) (Sangi dkk., 2008).

3. Penyiapan larutan eluen

a. Penyiapan larutan eluen forestal

Dibuat sebanyak 10 ml larutan dengan mencampurkan HCl pekat-asam asetat-air dengan perbandingan 3:30:10 (Wahyuni, 2014). Larutan eluen lalu dimasukkan ke dalam chamber kemudian chamber ditutup. Tujuan perlakuan tadi adalah agar penjuanan berjalan lebih cepat.

b. Penyiapan larutan eluen BAA

Dibuat sebanyak 10 ml larutan dengan mencampurkan n-butanol- asam asetat-air dengan perbandingan 4:1:5 (Wahyuni, 2014). Larutan eluen lalu dimasukkan ke dalam chamber kemudian chamber ditutup. Tujuan perlakuan tadi adalah agar penjuanan berjalan lebih cepat.

4. Pemisahan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT)

KLT menggunakan plat silika gel G₆₀F₂₅₄ dengan ukuran 9cm x 3cm. Fase gerak yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen adalah eluen Forestal = HCl pekat:asam asetat:air (3:30:10), BAA = n-butanol:asam asetat:air (4:1:5). Ekstrak beras ketan hitam ditotolkan pada jarak 2,5cm dari tepi bawah pada plat silika gel G₆₀F₂₅₄ dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan di

udara dan dielusi sejauh 5 cm. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna merah sampai lembayung.

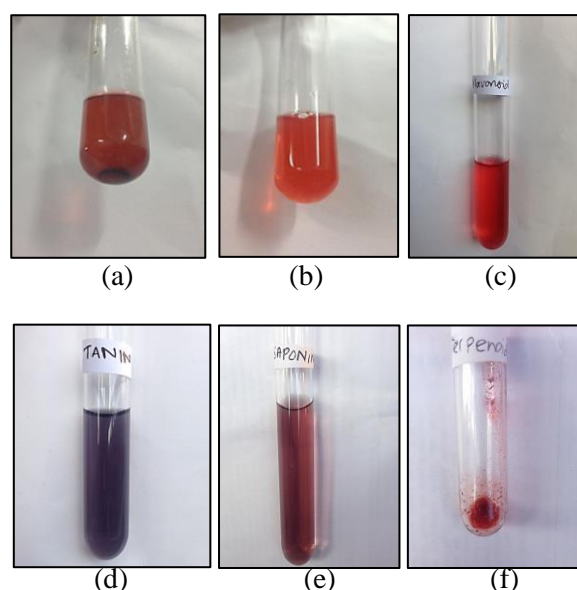
5. Pengolahan dan analisis data

Dari hasil elusi pada KLT, jarak pemisahan noda dan jarak tempuh eluen kemudian dihitung untuk mendapatkan nilai R_f dengan rumus pada persamaan 2.1. setelah didapatkan nilai R_f noda, maka dibandingkan dengan nilai R_f antosianin yang ada pada literatur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan reaksi warna. Berikut adalah hasil skrining fitokimia:



Gambar 1. Hasil skrining fitokimia (a) uji alkaloid dengan pereaksi dragendorf, (b) uji alkaloid dengan pereaksi dragendorf, (c) uji flavonoid, (d) uji tanin, (e) uji saponin dan (f) uji triterpenoid/steroid

Tabel.1 Hasil Skrining Fitokimia

No	Pengujian	Pengamatan Reaksi Positif (Teori)	Hasil Pengamatan	Keterangan
1	Uji Alkaloid dengan pereaksi dragendorf	Endapan coklat (Suwarni, 2013).	Terbentuk endapan coklat.	(+)
2	Uji Alkaloid dengan pereaksi mayer	Endapan putih atau kuning yang larut dalam methanol (Suwarni, 2013).	Menghasilkan larutan warna merah kekuningan dengan sedikit endapan keruh.	(+)
3	Uji Flavonoid	Warna dalam amialkohol (merah, kuning atau jingga)	Menghasilkan larutan berwarna merah.	(+)
4	Uji Tanin	Warna hijau violet pada penambahan FeCl ₃ (Suwarni, 2013).	Dari pengujian yang dilakukan diperoleh hasil yaitu larutan berwarna violet.	(+)
5	Uji Saponin	Busa stabil selama 10 menit dengan tinggi 1 sampai 10 cm (Suwarni, 2013).	Dari pengujian yang dilakukan diperoleh hasil membentuk	(-)

No	Pengujian	Pengamatan Reaksi Positif (Teori)	Hasil Pengamatan	Keterangan
			sedikit busa yang hanya bertahan beberapa detik.	
6	Uji Triterpenoid / Steroid	Warna merah jingga atau ungu (triterpenoid) atau biru (steroid) (Sangi, 2008).	Dari pengujian yang dilakukan diperoleh hasil yaitu menunjukkan larutan berwarna merah jingga.	(+)

Pada uji alkaloid, baik dengan pereaksi dragendorff maupun mayer menghasilkan endapan yang sesuai literatur sehingga dapat dikatakan positif. Menurut Sangi dkk. (2008), pengendapan terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi yang digunakan. Pereaksi Dragendorff mengandung bismut nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismutat (III)) sedangkan pereaksi Mayer mengandung kalium iodida dan merkuri (klorida kalium tetraiodomercurat (II)).

Pada uji flavonoid menghasilkan larutan berwarna merah sehingga dikatakan positif. Menurut Robinson (1995) dalam Sangi dkk. (2008), warna merah yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium.

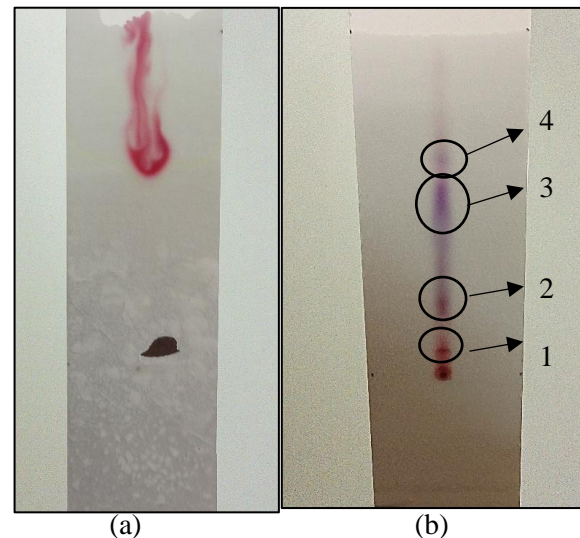
Pada uji tanin menunjukkan larutan berwarna violet sehingga dikatakan positif mengandung tanin. Menurut Harborne (1987) dan Sangi dkk. (2008), secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan yaitu tanin hidrolisis dan tanin kondensasi. Masing-masing golongan memberikan reaksi warna yang berbeda terhadap $FeCl_3$ 1 %. Pada saat penambahannya diperkirakan $FeCl_3$ bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Hasil reaksi itulah yang akhirnya menimbulkan warna. Pereaksi $FeCl_3$ digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tannin. Harborne (1987) menyatakan keberadaan tanin sendiri memang sangat terkait dengan antosianin karena dalam keadaan terkondensasi, senyawa tanin merupakan salah satu bagian dari antosianin, yaitu proantosianidin.

Pada uji saponin menghasilkan busa yang hanya tahan beberapa detik sehingga dikatakan negatif mengandung saponin. Dalam Sangi dkk. (2008) dikatakan bahwa saponin memiliki glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar dan gugus steroid dan triterpenoid sebagai gugus nonpolar. Senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar

bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa.

Pada pengujian triterpenoid/steroid menunjukkan hasil warna merah jingga, sehingga positif mengandung triterpenoid. Dalam Sangi dkk. (2008) dikatakan bahwa perubahan warna tersebut didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat dalam pelarut anhidrida asam asetat.

2. Hasil pemisahan noda dengan metode KLT



Gambar 2. Hasil pemisahan noda menggunakan metode KLT dengan (a) eluen Forestal dan (b) eluen BAA

Pada pengembangan dengan eluen forestal menghasilkan pemisahan noda yang kurang bagus. Elusi menggunakan eluen ini tidak mendapatkan hasil pemisahan noda yang baik sehingga tidak bisa dihitung nilai Rf nya.

Pengembangan dengan eluen BAA menghasilkan 4 noda yang terpisah dengan rapi, sehingga bisa dihitung nilai Rf nya.

Tabel 2. Hasil Warna dan Nilai Rf Identifikasi Antosianin Secara KLT

No.	Pemisahan noda	Nilai Rf (Teori)	Nilai Rf	Warna (Teori)	Warna yang terbentuk
1	Noda eluen Forestal	-	-	-	Merah
2	Noda 1 eluen BAA	0,15	0,075	Lembayung	Merah
3	Noda 2 eluen BAA	0,15	0,192	Lembayung	Merah Lembayung
4	Noda 3 eluen BAA	0,44	0,467	Merah	Merah Lembayung
5	Noda 4 eluen BAA	0,6	0,6	Lembayung	Lembayung

Nilai Rf noda ketiga pada eluen BAA yaitu 0,467 paling mendekati nilai Rf antosianin yang ada pada literatur jenis pelargonidin 3-glukosida. Dalam literatur, nilai Rf standar pelargonidin 3-glukosida menggunakan eluen BAA sebesar 0,44. Warna noda yang dihasilkan adalah merah lembayung. Dalam Harborne (1987) dikatakan memang warna antosin akan mengikuti warna dari jenis aglikonnya. Warna aglikon pelargonidin itu sendiri adalah merah. Perbedaan warna kemungkinan juga dipengaruhi oleh ikatan aglikon tersebut dengan glukosida pada antosianin. Keberadaan pengotor saat penyiapan, penyimpanan bahan dan alat serta saat ekstraksi juga kemungkinan mempengaruhi perbedaan warna.

SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa beras ketan hitam (*Oryza sativa* L.) yang di uji mengandung senyawa antosianin dan metabolit sekunder lain. Pada uji skrining fitokimia hasilnya positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid. Pada identifikasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan eluen terbaik yaitu BAA didapatkan nilai Rf 0,467 dan termasuk antosianin jenis pelargonidin 3-glukosida.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, H. dan Wahono, C.S., 2001, *Pengaruh Pemberian Ekstrak Psidium Guajava Terhadap Jumlah Trombosit Pada Penderita Demam Berdarah Dengue di Bangsal Rawat Inap penyakit Dalam RSUP. Dr. Syaiful Anwar Malang*, Majalah Kedokteran Unibraw.
- Ariviani, S. 2010, *Total Antosianin Ekstrak Buah Salam dan Korelasinya dengan Kapasitas Anti Peroksidasi pada Sistem Linoelat*, Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan UNS, Surakarta.
- Harborne, 1986. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, edisi II. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Dan Soediro, I., ITB, Bandung.
- Kristiana, H.D., Ariviani, S. dan Khasanah L.U, 2012, Ekstraksi Pigmen Antosianin Buah Senggani (*Melastoma malabathricum* Auct. Non Linn) Dengan Variasi Jenis Pelarut, *Jurnal Teknosains Pangan*, Vol 1 No 1, Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Muharni, S., Almahdy dan Martini, R.D. 2013, *Efek Penggunaan Suplemen Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava Linn.) dan Angkak (Monascus purpureus) dalam Meningkatkan Trombosit pada Demam Berdarah Dengue (DBD) di Instalasi Rawat Inap Ilmu Penyakit Dalam RSUP. DR. M. Djamil Padang*, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, Riau.
- Rindiastuti, Y. dan Tyasari, K.D., 2008, *Potensi Monascus Purpureus Rice Strain TNP-13 disfungsi endotel*, Fakultas Kedokteran Sebelas Maret, Solo.
- Robinson, T. 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi Keenam, ITB, Bandung. Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara, Fakultas MIPA UNSRAT Manado, Manado.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara, Fakultas MIPA UNSRAT Manado, Manado.
- Suwarni, E., Cahyaningsih, E. dan Megawati, F. 2013, *Penuntun Praktikum Farmakognosi*, Akademi Farmasi Saraswati Denpasar, Denpasar.

Wahyuni, N.W.S. 2014, Identifikasi Antosianin pada Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L. var. *Ayamurasaki*) secara Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis, Akademi Farmasi Saraswati Denpasar, Denpasar.

Wanti, S., 2008, 'Pengaruh Berbagai Jenis Beras terhadap Aktivitas Antioksidan pada Angkak oleh *Monascus Purpureus*', *Skripsi*, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.