



LAPORAN PENELITIAN

MILIK PERPUSTAKAAN  
UNIV. NEGERI PADANG

**PENENTUAN KADAR RBB PADA DYE-INULIN SECARA HPLC  
MELALUI PEMBENTUKAN SENYAWA DYE-INULIN**

Oleh:

**Dra Yustini Ma'aruf, M.Si**  
**Dra. Minda Azhar, M.Si**  
**Budhi Oktavia, S.Si, M.Si, Ph.D**

21 Juli 2011  
Hd  
KI  
NO. INVENTARIS : 268 / Hd / 2011 - p. 1 (1)  
KLASIFIKASI : 574.192 Maa p. 1

Penelitian ini dibiayai oleh :  
Dana DIPA UNP Tahun Anggaran 2010  
Surat Keputusan Rektor UNP  
No: 190/H35/KP/2010, Tanggal 1 Maret 2010

JURUSAN KIMIA

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG**

JUNI, 2011

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**LAPORAN PENELITIAN DANA DIPA UNP**

1. Judul Penelitian	: <b>Penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC melalui pembentukan senyawa dye-inulin</b>
a. Bidang Ilmu	MIPA yaitu Kimia
b. Kategori Penelitian	Kategori I
2. Ketua Peneliti	
a. Nama dan Gelar	: <b>Dra. Yustini Ma'aruf, M.Si</b>
b. Jenis Kelamin	: Perempuan
c. Golongan/Pangkat dan NIP	: IV-a / Pembina/19500819 198010 2 001
d. Jabatan Fungsional	: Lektor kepala
e. Jabatan Struktural	: -
f. Jurusan/Fakultas	: Kimia / FMIPA
g. Pusat Penelitian	: Lemlit Universitas Negeri Padang
h. Alamat Rumah/Telp/E-mail	: Komplek Taruko Permai 3 Blok A No. 9 Gunung Sariak Padang/ 0751 495261
3. Jumlah Anggota Peneliti	: 2 (dua) orang
a. Nama dan Gelar	: Dra. Minda Azhar, M.Si dan Budhi Oktavia, Ph.D
4. Lokasi Penelitian	: Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia FMIPA
5. Kerjasama dengan Institusi lain	: -
6. Lama Penelitian	: 6 (enam) bulan
7. Biaya yang Dibelanjakan	
a. Sumber Dana	: Dana DIPA UNP
b. Jumlah Dana	: Rp. 7.500.000 (tujuh juta lima ratus ribu rupiah)

Padang, Mei 2011

Mengetahui,  
Dekan Fakultas MIPA UNP

Drs. Asrul, MA  
NIP. 19520423 197603 1 003

Ketua Peneliti,

Dra. Yustini Ma'aruf, M.Si  
NIP. 19500819 198010 2 001

Disetujui oleh:  
Lembaga Penelitian

Dr. Alwen Bentri, M.Pd  
NIP. 19610722 198602 1 002

## ABSTRAK

Dye-inulin merupakan senyawa yang praktis digunakan untuk seleksi bakteri penghasil inulinase. Pembentukan dye-inulin pada variasi massa inulin dan suhu reaksi dan penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC telah dilakukan. Penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC menggunakan kolom ODS C18,  $\lambda$  592 nm, fasa gerak etanol-air (60%:40%) dengan kecepatan alir 1 mL/menit. Kadar RBB dalam dye-inulin pada variasi massa inulin 2g, 4g dan 6 g yang direaksikan dengan 0,5 g RBB berturut turut adalah 14,5684 ppm, 13,9118 ppm, 34,0430 ppm. Kadar RBB dalam dye-inulin pada variasi suhu reaksi 40, 50 dan 60°C berturut turut adalah 29,3627 ppm, 13,9118 ppm, 8,3167 ppm.

## PENGANTAR

Kegiatan penelitian mendukung pengembangan ilmu serta terapannya. Dalam hal ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian integral dari kegiatan mengajarnya, baik yang secara langsung dibiayai oleh dana Universitas Negeri Padang maupun dana dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait.

Sehubungan dengan itu, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang bekerjasama dengan Pimpinan Universitas, telah memfasilitasi peneliti untuk melaksanakan penelitian tentang *Penentuan Kadar RBB pada Dye-inulin secara HPLC Melalui Pembentukan Senyawa Dye-inulin*, berdasarkan Surat Keputusan Rektor Universitas Negeri Padang Nomor : 190/H35/KP/2010 Tanggal 1 Maret 2010.

Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian tersebut di atas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang akan dapat memberikan informasi yang dapat dipakai sebagai bagian upaya penting dalam peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Di samping itu, hasil penelitian ini juga diharapkan memberikan masukan bagi instansi terkait dalam rangka penyusunan kebijakan pembangunan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pembahas usul dan laporan penelitian, kemudian untuk tujuan diseminasi, hasil penelitian ini telah diseminarkan di tingkat Universitas. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya dan khususnya peningkatan mutu staf akademik Universitas Negeri Padang.

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang membantu terlaksananya penelitian ini, terutama kepada pimpinan lembaga terkait yang menjadi objek penelitian, responden yang menjadi sampel penelitian, dan tim pereviu Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang. Secara Khusus, kami menyampaikan terima kasih kepada Rektor Universitas Negeri Padang yang telah berkenan memberi bantuan pendanaan bagi penelitian ini. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerjasama yang terjalin selama ini, penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan dan semoga kerjasama yang baik ini akan menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang.

Terima kasih

Padang, Juni 2011  
Ketua Lembaga Penelitian  
Universitas Negeri Padang



Dr. Alwen Bentri, M.Pd  
NIP. 19610722 198602 1 002

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	i
<b>ABSTRAK</b> .....	ii
<b>PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vii
<b>LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1. Struktur dan Sifat Inulin .....	4
2.2. Sumber Inulin .....	5
2.3. Penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC .....	7
<b>BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN</b> .....	10
<b>BAB IV. METODE PENELITIAN</b> .....	11
4.1. Jenis Penelitian .....	11
4.2. Objek Penelitian .....	11
4.3. Alat dan Bahan .....	11
4.4. Prosedur penelitian .....	11
4.5. Teknik Analisis Data .....	13
<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	14
5.1. Ekstraksi inulin dari umbi dahlia .....	14
5.2. Pembuatan dye-inulin .....	15
5.3. Penentuan kondisi optimum pengukuran dengan HPLC .....	16
5.3.1. Penentuan $\lambda$ maksimum .....	16
5.3.2. Penentuan eluen yang cocok .....	17

5.4. Penentuan kadar RBB melalui pembentukan dye-inulin dengan HPLC .....	19
<b>BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	25
6.1. Kesimpulan .....	25
6.2. Saran .....	25
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	26
<b>LAMPIRAN</b> .....	28

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur inulin .....	4
2. Kelarutan inulin dalam air pada variasi temperatur.....	5
3. Struktur RBB .....	8
4. Inulin dari umbi dahlia .....	14
5. Kurva absorbansi RBB pada variasi $\lambda$ .....	16
6. Kurva absorbansi RBB (merah) dan inulin (biru) pada variasi $\lambda$ .....	17
7. Kurva absorbansi dye-inulin pada variasi $\lambda$ .....	17
8. Kromatogram RBB. Kolom ODS C18, $\lambda$ 592 nm, fasa gerak air dengan kecepatan alir 1 mL/menit .....	18
9. Kromatogram RBB. Kolom ODS C18, $\lambda$ 592 nm, fasa gerak etanol dengan kecepatan alir 1 mL/menit. ....	18
10. Kurva standar larutan RBB .....	19
11 Kromatogram HPLC larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi massa inulin: a. 2g inulin; b.4g inulin; c. 6g inulin .....	20
12. Kromatogram HPLC larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi suhu reaksi: a. 40°C; b. 50°C dan c. 60°C .....	21

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan inulin pada pangan manusia .....	6
2. Massa dye-inulin yang terbentuk pada variasi massa inulin .....	15
3. <i>Massa dye-inulin yang terbentuk pada variasi suhu</i> ..	15
4. Luas area larutan standar RBB pada variasi konsentrasi .....	19
5. Luas area kromatogram larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi massa inulin .....	21
6. Luas area kromatogram larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi massa suhu reaksi .....	22
7. Konsentrasi RBB dalam 1000 ppm larutan dye-inulin dan massa RBB dalam dye-inulin pada variasi massa inulin .....	22
8. Konsentrasi RBB dalam 1000 ppm larutan dye-inulin dan massa RBB dalam dye-inulin pada variasi suhu reaksi ..	22



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Curriculum vitae .....	28
2. Kromatogram larutan RBB .....	34

## BAB. I

### PERNDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Inulin merupakan senyawa yang paling melimpah di alam setelah pati (Franck, 2003). Inulin merupakan senyawa yang potensial untuk dikembangkan. Potensi utama inulin adalah dapat dijadikan *high fructose syrup* (HFS) dan *fructo-oligosaccharides* (FOS) (Ricca *et al.*, 2007; Yuan *et al.*, 2006). HFS dan FOS merupakan senyawa yang penting pada industri makanan, minuman dan farmasi (Tohamy, 2006).

Fruktosa merupakan pemanis alternatif alami yang aman dibanding sukrosa karena mempunyai efek yang bermanfaat pada pasien diabetes, menaikkan penyerapan zat besi pada anak-anak dan mempunyai kapasitas manis yang lebih tinggi (Singh, 2006). Sebaliknya sukrosa diketahui menyebabkan problem yang berhubungan dengan *corpulence*, *cariogenecity* dan *artherosclerosis*. FOS adalah *ingredient* yang penting pada industri makanan dan farmasi (Singh, 2006). FOS dipandang sebagai '*functional food*' karena mempunyai pengaruh positif terhadap komposisi mikroflora usus manusia (Roberfroid, 1998; Kaplan, 2003). Selain itu, inulin dapat dijadikan *raw material* untuk pembuatan bioetanol, asam sitrat, aseton, 2,3-butanadiol. Dengan demikian inulin merupakan senyawa sangat potensial untuk dikembangkan.

Inulin terdapat pada umbi tanaman dahlia, akar chicory dan umbi Jerusalem artichoke dalam jumlah besar (Franck, 2003). Inulin juga terdapat pada pisang, bawang perai, bawang merah, bawang putih dan gandum dalam jumlah sedikit. Tumbuhan Indonesia sebagai sumber inulin selain tanaman dahlia telah diteliti oleh Simanjuntak dkk (2004). Nama keluarga tumbuhan yang ditelitinya adalah *Amaryllidaceae*, *Asteraceae*, *Iridaceae* dan *Poaceae*.

Inulin mudah larut dalam air panas. Oleh sebab itu, prinsip ekstraksi inulin adalah kelarutan inulin dalam air panas dan air dingin. Inulin hasil ekstraksi masih tercampur dengan senyawa-senyawa lain. Kadar inulin dalam ekstrak inulin adalah hal yang penting untuk ditentukan. Kadar inulin dapat ditentukan dengan beberapa cara, diantaranya secara spektrofotometri. Pada cara ini, inulin dilarutkan dalam air panas dan dihidrolisis dengan asam pada temperatur 80°C. Fruktosa sebagai hasil hidrolisis inulin direaksikan dengan  $\text{Cu}^{2+}$  membentuk senyawa berwarna. Kekurangan cara ini adalah terbentuk difruktosa anhidrat suatu senyawa yang berwarna. Senyawa ini dapat mengganggu dalam analisa dengan spektrofotometer sehingga dapat menurunkan keakuratan penentuan konsentrasi inulin.

Penentuan kadar inulin menggunakan kromatografi merupakan salah satu cara yang cepat dan akurat. Tsuen Ih Ruo, dkk (1991), menentukan kandungan inulin dalam buah-buahan menggunakan HPLC dengan detektor pulsa amperometer, R. Dall' Amico, dkk (1995), menentukan kadar inulin dalam plasma dan urin menggunakan *reversed phase* HPLC menggunakan HCl dan asetonitril sebagai fasa gerak dan kolom C18 sebagai fasa diam. R. Marsilio, dkk (2000) juga telah melaporkan penentuan inulin dalam buah-buahan dengan HPLC menggunakan detektor *light-scattering*. Angela Zuleta, dkk (2001) menentukan kadar inulin menggunakan *anion exchange* HPLC dengan air sebagai fasa geraknya dan refraktif index sebagai detektor.

Semua penelitian di atas telah dapat menentukan kadar inulin dengan baik, namun penentuan kadar RBB (*Remazol Brilliant Blue*) pada dye-inulin secara HPLC melalui pembentukan senyawa dye-inulin belum pernah dilaporkan sebelumnya. Metode pewarnaan inulin dengan RBB sangat praktis digunakan untuk uji bakteri penghasil inulinase (Castro, dkk, 1995). Pada penelitian ini, dilakukan penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC.

## **1.2. Perumusan Masalah**

Yang menjadi masalah pada penelitian ini adalah berapakah kadar RBB pada dye-inulin yang ditentukan secara HPLC melalui pembentukan senyawa dye-inulin. Penelitian ini terbatas pada hal-hal berikut :

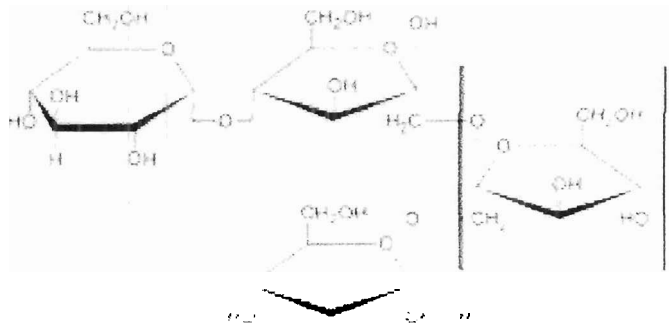
- a. Inulin yang digunakan diekstrak dari umbi dahlia
- b. Inulin direaksikan dengan RBB pada variasi suhu dan massa inulin

## BAB. II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2. 1. Struktur dan Sifat Inulin

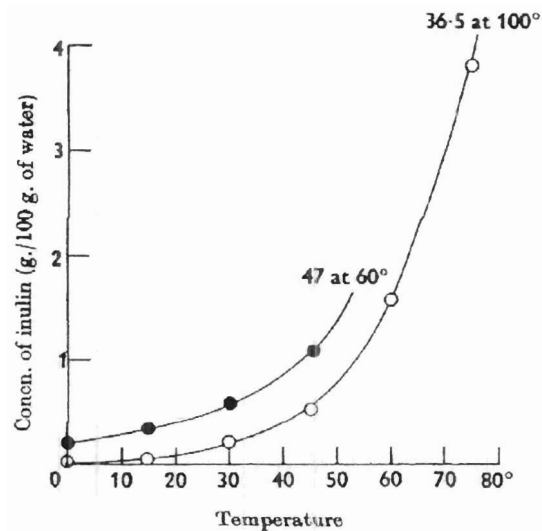
Inulin merupakan polimer alami dengan monomer fruktosa. Jumlah monomer fruktosa pada satu untai polimer bervariasi tergantung sumbernya. Antara monomer fruktosa pada inulin dihubungkan dengan ikatan (2→1) residu β-D-fructofuranosyl (Kulminskaya, *et al.*,2003:22). Tiap ujung pereduksi untai polimer inulin dapat hadir glukosa (Franck, 2003:442). Oleh sebab itu polimer inulin dapat ditulis GF<sub>n</sub> yaitu fruktan dengan ujung terminal glukosa atau F<sub>n</sub> yaitu fruktan tanpa ujung terminal glukosa (Gambar 1). Simbol n pada rumus tersebut adalah derajat polimerisasi (DP). 2<DP≤10 dikenal sebagai oligofruktosa. Inulin yang berasal dari tumbuh-tumbuhan merupakan molekul linear dengan DP bervariasi dari beberapa unit fruktosa sampai sekitar 70. Hal ini berarti bahwa inulin adalah campuran dari oligomer dan polimer (Franck, 2003:443).



Gambar 1. Struktur inulin

Inulin merupakan serbuk berwarna putih. Sifat inulin yang penting untuk dipelajari adalah kelarutan inulin dalam air. Kelarutan inulin dalam air tergantung pada cara bagaimana inulin tersebut direkristalisasi (Phelps, 1965:41). Inulin yang direkristalisasi

dengan etanol berbeda kelarutannya dibandingkan dengan inulin yang direkristalisasi dengan air. Kelarutan inulin yang direkristalisasi dengan etanol lebih besar dibandingkan inulin yang direkristalisasi dengan air. Kelarutan inulin dalam air yang dilaporkan Leite *et al.* (2004) adalah sekitar 6% pada 10°C dan 35% pada 90°C.



Gambar 2. Kelarutan inulin dalam air pada variasi temperatur  
Bulatan hitam, inulin yang direkristalisasi dengan etanol, bulatan kosong, inulin yang direkristalisasi dengan air (Phelps, 1965)

Inulin sukar larut dalam air dingin dan pelarut organik seperti etanol, sebaliknya inulin mudah larut dalam air panas (Bergner, 2004:1; Yurmizar, 1989:53). Bagaimanapun juga, prinsip ekstraksi inulin dari tanaman adalah memanfaatkan kelarutan inulin dalam air dan etanol tersebut. Oleh sebab itu inulin tumbuhan dapat dengan mudah diekstrak dengan air panas. Pemisahan inulin dari air dilakukan dengan menurunkan temperatur.

## 2.2. Sumber Inulin

Inulin terdapat pada umbi tanaman dahlia, akar chicory, dan umbi Jerusalem artichoke dalam jumlah besar (Franck, 2003; Marchessault, 1980). Tanaman chicory,

Jerusalem artichoke tumbuh baik di Amerika Utara, sedangkan tanaman dahlia dapat tumbuh baik di dataran tinggi Indonesia. Inulin untuk kebutuhan pangan diekstrak dari tanaman tersebut. Inulin juga terdapat pada pisang, bawang perai, bawang merah, bawang putih dan gandum dalam jumlah sedikit. Kandungan inulin pada pangan manusia dimuat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan inulin pada pangan manusia

Sumber	Bagian yang dimanfaatkan	Kandungan zat padat kering	Kandungan inulin (% berat segar)
Bawang merah	Umbi	6-12	2-6
Jerusalem artichoke	Umbi	19-25	14-19
Chicory	Akar	20-25	15-20
Daun bawang	Umbi	15-20*	3-10
Bawang putih	Umbi	40-45*	9-16
Artichoke	Daun	14-16	3-10
Pisang	Buah	24-26	0,3-0,7
Gandum	Sereal	88-90	0,5-1*
Barley	Sereal	Na	0,5-1,5*
Dandelion	Daun	50-55*	12-15
Burdock	Akar	21-25	3,5-4,0
Camas	Umbi	31-50	12-22
Mumong	Akar	25-28	8-13
Yacon	Akar	13-21	3-19
Salsify	Akar	20-22	4-11

Keterangan : Na : data tidak tersedia, \* : nilai selalu berubah (Frank, 2003)

Inulin yang terkandung pada tumbuh-tumbuhan yang umumnya digunakan untuk pangan manusia terutama dari kelompok *Liliacea* seperti bawang perai, bawang merah, bawang putih, asparagus dan *Compositae* seperti Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), dahlia (*Dahlia* sp), chicory (*Cichorium intybus*) dan dandelion (*Taraxacum officinalis*) yacon (Georgescu, 2005). Inulin tumbuh-tumbuhan merupakan *raw material* untuk produksi fruktosa skala besar pada masa datang, karena inulin tersedia dalam jumlah banyak (Ricca, 2007).

Tumbuhan Indonesia sebagai sumber inulin selain tanaman dahlia telah diteliti oleh Simanjuntak dkk (2004). Nama keluarga tumbuhan yang ditelitinya adalah

*Amaryllidaceae*, *Asteraceae*, *Iridaceae* dan *Poaceae* yang diantaranya termasuk brambang utan, bakung, tutup bumi, kenikir, alang-alang, tebu ireng, jinten dan sintrong. Kadar inulin pada tumbuh-tumbuhan tersebut kecil dibandingkan pada umbi dahlia. Kadar inulin pada umbi tanaman dahlia cukup besar yaitu 65,7% berat kering (Rukmana, 2004). Dengan demikian umbi tanaman dahlia paling potensial sebagai sumber inulin di Indonesia.

### **2.3. Penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC**

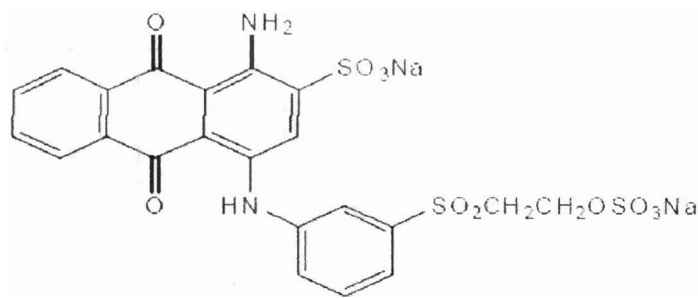
Kromatografi adalah salah satu teknik dalam kimia analitik yang berkembang dengan sangat cepat dan modern. Metoda ini dapat digunakan secara luas untuk mengidentifikasi dan menentukan konsentrasi senyawa organik maupun senyawa anorganik. Kromatografi cair kinerja tinggi atau *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan kromatografi cair dengan mempertinggi laju alir eluen menggunakan tekanan tinggi. HPLC merupakan pilihan, jika zat yang akan dianalisa tidak mudah menguap dan secara termal tidak stabil.

Penentuan kadar inulin menggunakan HPLC merupakan salah satu cara yang cepat dan akurat. Tsuen Ih Ruo, dkk (1991), menentukan kandungan inulin dalam buah-buahan menggunakan HPLC dengan detektor pulsa amperometer. R. Dall' Amico, dkk (1995) menentukan kadar inulin dalam plasma dan urin menggunakan *reversed phase* HPLC dengan HCl dan asetonitril sebagai fasa gerak dan kolom C18 sebagai fasa diam. R. Marsilio, dkk (2000) juga telah melaporkan penentuan inulin dalam buah-buahan dengan HPLC menggunakan detektor *light-scattering*. Angela Zuleta, dkk (2001) menentukan kadar inulin menggunakan *anion exchange* HPLC dengan air sebagai fasa geraknya dan refraktif index sebagai detektor. Berdasar penelitian di atas, kadar inulin telah dapat ditentukan dengan baik menggunakan HPLC. Namun, penentuan kadar RBB pada dye-



inulin menggunakan HPLC melalui pembentukan senyawa dye-inulin (inulin-RBB) belum pernah dilaporkan sebelumnya.

RBB merupakan zat berwarna biru dengan massa molekul relatif ( $M_r$ ) 626,54, rumus molekul  $C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$  (Gambar 3). Zat ini dapat direaksikan dengan polimer karbohidrat seperti xylan, inulin membentuk senyawa yang berwarna biru. Reaksi pembentukan dye-inulin (reaksi antara inulin dan RBB) adalah pembentukan senyawa kompleks. Kompleks inulin-RBB terjadi melalui interaksi antara gugus atom O pada posisi kedua dari monomer fruktosa dalam inulin dengan atom C pada RBB. Struktur molekul RBB dimuat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur RBB  
(Trivedi *et al*, 2009)

Senyawa inulin-RBB merupakan senyawa kompleks berwarna biru yang sangat praktis digunakan untuk skrining bakteri penghasil inulinase. Hidrolisis senyawa inulin-RBB dapat digunakan sebagai indikasi adanya aktivitas inulinase dari bakteri tersebut. Indikasi ditandai adanya warna biru yang semakin berkurang di sekitar koloni bakteri penghasil inulinase. Warna tersebut merupakan hasil hidrolisis senyawa inulin-RBB. Dengan demikian adanya aktivitas inulinase menyebabkan senyawa inulin-RBB terhidrolisis menjadi monomernya atau polimer yang semakin pendek. Proses ini menyebabkan penurunan intensitas warna biru dye-inulin.

Pada HPLC, inulin, RBB dan dye-inulin ditentukan penyerapan pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Alat HPLC diatur pada panjang gelombang maksimum tersebut. Kemudian larutan inulin, RBB dan dye-inulin diinjeksikan ke dalam wadah tempat injeksi. Sampel yang bersifat polar akan terpisah lebih awal terbawa bersama air dan keluar dari kolom menuju detektor kemudian ke luar ke wadah buangan fase gerak. Sampel yang bersifat non polar akan tertahan pada fase diam yaitu ODS C18 yang juga bersifat non polar. Setelah sampel terdeteksi oleh detektor, pada komputer akan terlihat kromatogram yaitu grafik yang menghubungkan respon (potensial, mV) dengan waktu retensi.

## **BAB. III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **3.1. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian adalah menentukan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC.

#### **3.2. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian adalah memberikan kontribusi pada perkembangan IPTEK dalam bidang kimia khususnya kimia analitik dan kimia organik yaitu memberikan cara baru untuk menentukan kadar RBB yang terikat pada dye-inulin secara HPLC.

## BAB. IV

### METODA PENELITIAN

#### 4.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilakukan di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia FMIPA UNP selama 6 (enam) bulan.

#### 4.2. Objek Penelitian

Objek penelitian adalah inulin yang direaksikan dengan RBB membentuk dye-inulin.

#### 4.3. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah HPLC, peralatan gelas, oven, pH meter, kertas saring, neraca analitik, botol reagen, labu ukur, erlenmeyer, botol semprot, batang pengaduk, pipet tetes, kaca arloji. Bahan yang digunakan adalah umbi dahlia, etanol, karbon aktif, aquades, Inulin komersial, RBB,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ .

#### 4.4. Prosedur penelitian

Langkah-langkah utama penelitian adalah sebagai berikut: (a) Ekstraksi inulin dari umbi dahlia; (b) Reaksi dye-inulin; (c) Penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC.

##### a. Ekstraksi inulin dari umbi dahlia

Ekstraksi inulin dari umbi dahlia dilakukan sesuai prosedur Andyani (2001:21-23) sebagai berikut : Umbi dahlia yang sudah bersih, dipotong dan diblender dengan air 1:2 (b:v). Kemudian campuran ini dipanaskan pada penangas air ( $80-90^{\circ}\text{C}$ , sekitar 30 menit). Selagi hangat, disaring dan diambil filtratnya. Selanjutnya ditambahkan etanol 30% pada filtrat sebanyak 40% dari volume filtrat. Larutan ini disimpan di dalam *freezer* selama 18 jam.

Larutan dibiarkan pada suhu ruang selama 2 jam lalu disentrifugasi (1500 rpm, 15 menit). Endapan (inulian basah I) ditambahkan air (1:2) kemudian dipanaskan di penangas air (70<sup>0</sup>C, 30 menit). Ke dalam larutan ini ditambahkan karbon aktif 1-2%(b/v). Larutan disaring, filtrat diukur volumenya dan didinginkan pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan etanol 30% sebanyak 40% dari volume larutan. Lalu didinginkan di dalam *freezer* selama 18 jam. Setelah pendinginan tahap II ini, larutan dikeluarkan dari *freezer* dan dicairkan pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi (1500 rpm, 15 menit) sampai diperoleh endapan putih (inulin basah II). Endapan ini dikeringkan (50-60<sup>0</sup>C, 6-7 jam) lalu dihaluskan.

#### **b. Pembentukan senyawa dye-inulin**

Prosedur pembentukan dye-labeled inulin sintesis sesuai prosedur yang dimuat pada Castro *et al*, 1995. Inulin sebanyak 40g dan 5g RBB masing-masing dilarutkan pada 500 mL aquades, kemudian dicampur homogen. Campuran dipanaskan di atas *hot plate* pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 1 jam, kemudian ditambahkan 100g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sambil diaduk memakai stirrer. Kemudian ditambahkan 100 g Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Campuran selanjutnya dipanaskan 1 jam lagi. Campuran didinginkan dan disentrifus pada 5000 rpm selama 25 menit pada 5<sup>0</sup>C, supernatan dibuang. Endapan diresuspensikan dalam 100 mL aquades dan ditambah 3 volume etanol pa dingin, kemudian suspensi disentrifugasi kembali. Perlakuan ini diulang 5 kali sampai diperoleh supernatan yang tidak berwarna. Endapan diresuspensikan dalam etanol, dikeringkan pada suhu ruang.

#### **c. Penentuan konsentrasi RBB pada inulin-RBB secara HPLC**

Terlebih dahulu ditentukan  $\lambda$  maksimum inulin, RBB dan inulin-RBB menggunakan UV-Vis Spektrofotometer. Pengerjaan dilanjutkan dengan HPLC menggunakan kolom C18 dan fasa gerak etanol/air untuk pemisahan dan penentuan konsentrasi RBB pada inulin-RBB menggunakan detektor UV-Vis pada  $\lambda$  yang telah ditentukan sebelumnya.

#### **4.5. Teknik Analisis Data**

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah data kualitatif dan data kuantitatif pada kromatogram. Data kualitatif dengan melihat waktu retensi setiap puncak pada kromatogram HPLC. Zat yang sama akan mempunyai waktu retensi yang sama. Data kuantitatif dengan melihat luas puncak pada kromatogram HPLC. Sebagai standar digunakan larutan RBB pada berbagai konsentrasi. Pengukuran kadar RBB pada dye-inulin dilakukan pada kondisi optimum pengukuran dengan HPLC.

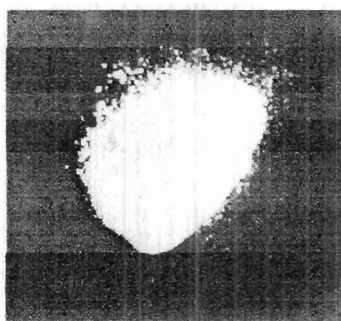
## BAB. V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Ekstraksi inulin dari umbi dahlia

Inulin adalah senyawa kelompok polisakarida dengan monomer fruktosa. Ekstraksi inulin dari umbi dahlia pada penelitian ini dilakukan sesuai prosedur Andyani (2001). Ekstraksi inulin dari umbi dahlia prosedur Andyani tersebut berdasarkan prinsip kelarutan inulin dalam pelarut air dan etanol. Kelarutan inulin dalam air lebih besar dibandingkan dalam etanol. Kelarutan inulin dalam kedua pelarut ini makin tinggi jika suhu dinaikkan.

Pada metoda ini umbi dahlia yang telah dipotong ditambah aguada, kemudian diblender membentuk jus umbi dahlia. Jus umbi dahlia dipanaskan pada suhu 70-80°C selama 30 menit untuk mempertinggi kelarutan inulin dalam air. Selagi panas jus umbi dahlia disaring. Filtrat yang diperoleh didinginkan sampai suhu ruang, kemudian ditambahkan etanol untuk mengendapkan inulin yang terlarut dalam air. Agar inulin lebih banyak mengendap campuran tersebut didiamkan dalam *freezer* semalam. Endapan inulin dipisahkan dari supernatan dengan cara sentrifugasi. Pada penelitian ini diperoleh inulin 93,6 g dari 2320 g umbi dahlia yang telah dikupas. Inulin yang diperoleh berbentuk serbuk berwarna putih (Gambar 4).



Gambar 4. Inulin dari umbi dahlia

## 5.2. Pembuatan dye-inulin

Pembuatan dye-inulin dilakukan pada variasi massa inulin dan variasi suhu reaksi.

Massa dye-inulin yang terbentuk dimuat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Table 2. Massa dye-inulin yang terbentuk pada variasi massa inulin

No	Massa inulin (g)	Massa RBB (g)	Suhu reaksi (°C)	Massa dye-inulin (g)
1	2	0,5	50	1,6293
2	4	0,5	50	8,3165
3	6	0,5	50	5,6596

Tabel 3. Massa dye-inulin yang terbentuk pada variasi suhu

No	Massa inulin (g)	Massa RBB (g)	Suhu reaksi (°C)	Massa dye-inulin (g)
1	4	0,5	40	3,2119
2	4	0,5	50	8,3165
3	4	0,5	60	5,6490

Senyawa dye-inulin paling banyak terbentuk pada massa inulin 4 gram dengan suhu reaksi 50°C. Pada pembuatan senyawa dye-inulin ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ . Kedua senyawa ini diperkirakan berfungsi agar RBB mempunyai kecenderungan untuk membentuk ion dengan melepaskan  $\text{Na}^+$  dalam larutan berair. Keadaan ini akan mempercepat reaksi antara inulin dengan RBB. Senyawa dye-inulin yang terbentuk dibilas dengan 1 volume aquades dan 3 volume etanol pa, kemudian disentrifugasi. Cara ini diulang berkali-kali sampai warna biru supernatan hilang. Tujuan pembilasan dye-inulin adalah agar dye-inulin bebas dari RBB.

Pembilasan dye-inulin yang terbentuk dengan 1 bagian volume aquades dan 3 volume etanol dingin tidak melarutkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  dengan sempurna. Dengan demikian pada proses pembentukan dye-inulin diperkirakan masih terdapat  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ . Pengujian adanya  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan  $\text{BaCl}_2$  pada larutan dye-inulin yang ditandai terbentuknya endapan putih  $\text{BaSO}_4$ .

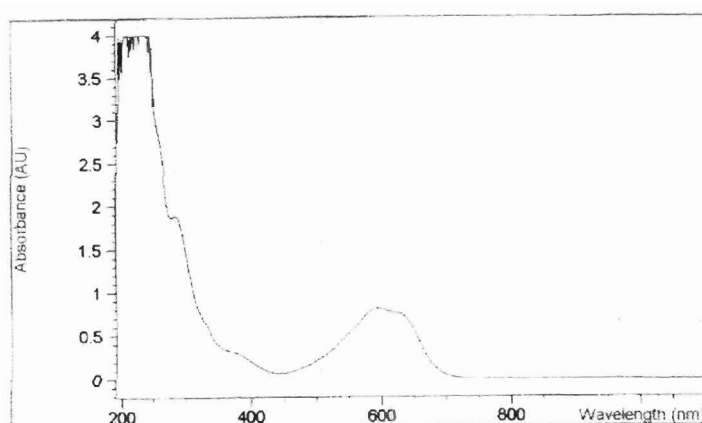


Pengujian adanya  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan  $\text{AgNO}_3$  pada larutan dye-inulin yang ditandai terbentuknya endapan  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ . Konstanta kelarutan ( $K_{sp}$ )  $\text{BaSO}_4$  adalah  $1,5 \times 10^{-9}$ , sedangkan konstanta kelarutan  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  adalah  $2,8 \times 10^{-18}$  (Brady, JE, 1990).

### 5.3. Penentuan kondisi optimum pengukuran dengan HPLC

#### 5.3.1. Penentuan $\lambda$ maksimum

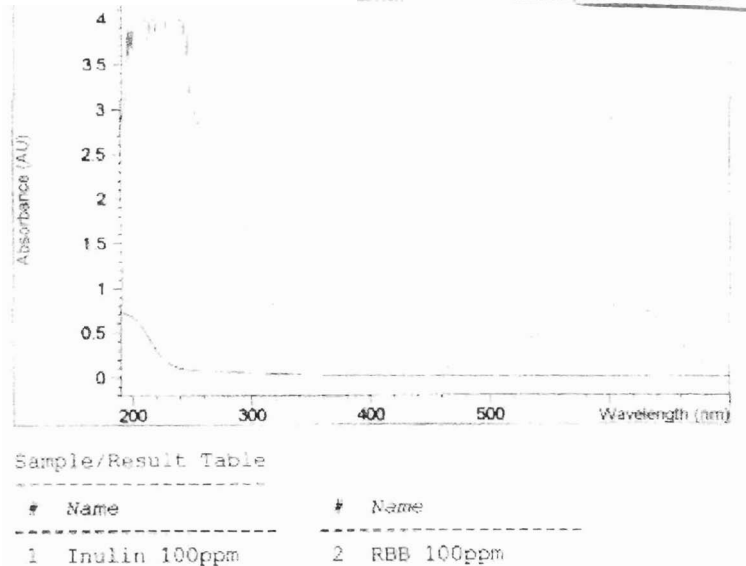
Panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum ditentukan terhadap inulin, RBB dan dye-inulin menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum RBB adalah 592 nm (Gambar 5). Pengukuran dilakukan pada konsentrasi RBB 100 ppm. Pada  $\lambda$  300 sampai dengan 800 nm, inulin tidak memberikan penyerapan. (Gambar 6). Panjang gelombang maksimum inulin adalah 210 nm. Pada  $\lambda$  ini RBB juga memberikan serapan (Gambar 6), sedangkan  $\lambda$  maksimum dye-inulin adalah 592 nm. Pada  $\lambda$  ini inulin tidak memberikan serapan (Gambar 7). Oleh sebab itu, pengukuran konsentrasi RBB pada dye-inulin dilakukan pada  $\lambda$  592 nm.



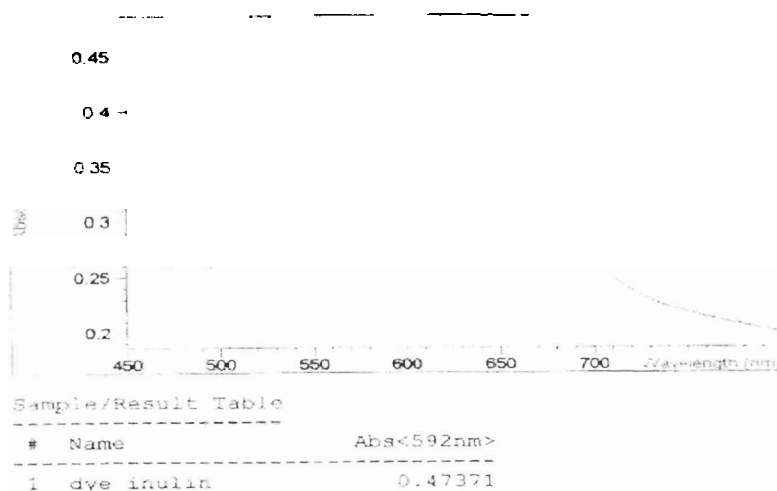
Sample/Result Table

#	Name	Abs<592nm>
1	RBB 100ppm	0.80992

Gambar 5. Kurva absorbansi RBB pada variasi  $\lambda$



Gambar 6. Kurva absorbansi RBB (merah) dan inulin (biru) pada variasi  $\lambda$



Gambar 7. Kurva absorbansi dye-inulin pada variasi  $\lambda$

### 5.3.2. Penentuan eluen yang cocok

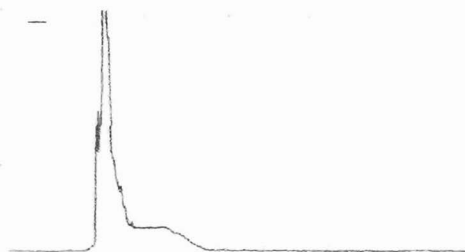
RBB memberikan  $\lambda$  maksimum pada 592 nm. Pengukuran menggunakan HPLC dilakukan pada  $\lambda$  592 nm. Penentuan eluen yang cocok untuk RBB dilakukan dengan memvariasikan komposisi etanol dan air. Kromatogram RBB menggunakan air sebagai fasa gerak dengan kecepatan alir 1 mL/menit tidak terlihat adanya puncak RBB (Gambar

8). Hal ini disebabkan air bersifat polar, sedangkan RBB bersifat semipolar sehingga RBB tidak dapat dielusi oleh air meninggalkan kolom ODS C18.

---

Gambar 8. Kromatogram RBB. Kolom ODS C18,  $\lambda$  592 nm, fasa gerak air dengan kecepatan alir 1 mL/menit.

Kromatogram RBB menggunakan etanol sebagai fasa gerak dilihat puncak dari RBB pada menit ke 5 (Gambar 9). Hal ini menunjukkan bahwa RBB dapat dielusi oleh etanol keluar dari kolom karena etanol juga bersifat semipolar. Namun demikian waktu retensi yang diberikan sangat singkat dan puncak yang diperoleh tidak cukup tajam. Oleh sebab itu diperlukan variasi konsentrasi eluen antara air dan etanol untuk memperoleh kromatogram RBB yang menghasilkan puncak yang tajam. Eluen yang baik untuk RBB adalah etanol- air dengan perbandingan 70% dan 30%. Hal yang sama dilakukan juga pada dye-inulin. Eluen yang menghasilkan puncak tajam dye-inulin adalah etanol-air dengan perbandingan 60% dan 40%.



Gambar 9. Kromatogram RBB. Kolom ODS C18,  $\lambda$  592 nm, fasa gerak etanol dengan kecepatan alir 1 mL/menit.

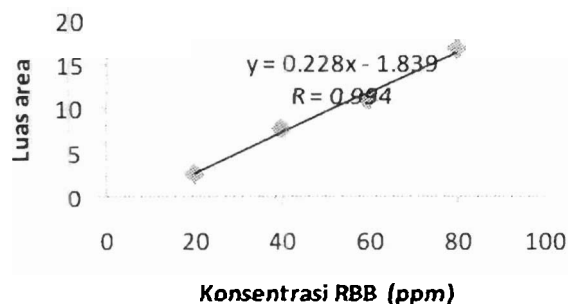
#### 5.4. Penentuan kadar RBB melalui pembentukan dye-inulin dengan HPLC

Analisis dye-inulin dengan HPLC menggunakan kolom ODS C18 dengan fasa gerak etanol-air (60%:40%). Pada analisis ini digunakan aquades sebagai blanko. Laju alir yang digunakan adalah 1 mL/menit. Kadar RBB pada dye-inulin diukur pada  $\lambda$  592 nm. Aquades (blanko) muncul pada waktu retensi 2,89 menit.

Larutan standar yang digunakan untuk pengukuran RBB pada dye-inulin secara HPLC adalah larutan standar RBB dengan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80 ppm. Larutan standar masing-masing konsentrasi diinjeksikan ke sistem HPLC sehingga diperoleh kromatogram dengan luas area untuk masing-masing konsentrasi larutan standar (Tabel 4). Larutan standar RBB disuntikkan pada sistem HPLC menggunakan eluen air etanol dengan perbandingan 30%:70%. Data pada Tabel 4 disajikan dalam bentuk kurva larutan standar RBB (Gambar 10).

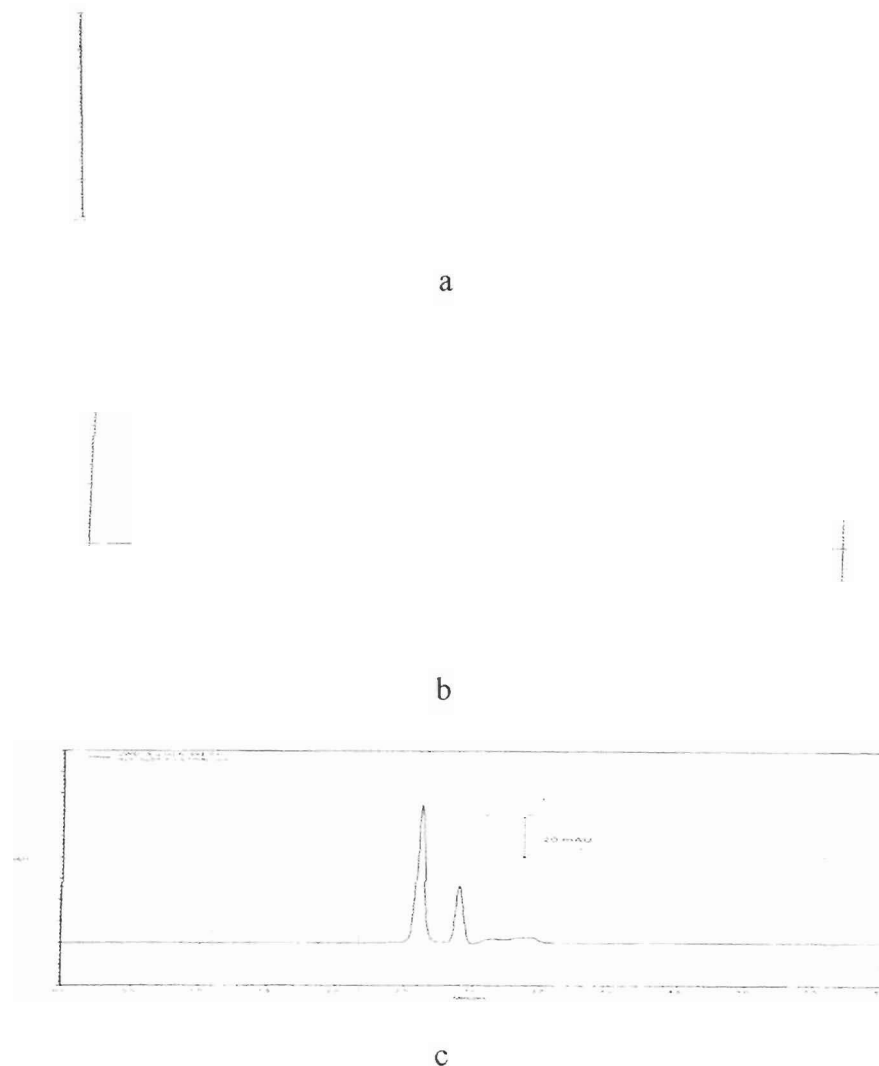
Tabel 4. Luas area larutan standar RBB pada variasi konsentrasi

Konsentrasi RBB (ppm)	Luas area puncak	Rata-rata luas area
20	2,7642	2,7245
	2,6848	
40	7,8534	7,7636
	7,6737	
60	11,1739	10,9974
	10,8209	
80	17,5795	16,8922
	16,2049	



Gambar 10. Kurva standar larutan RBB

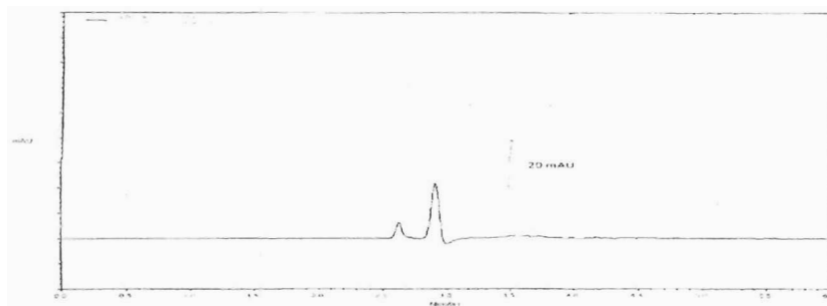
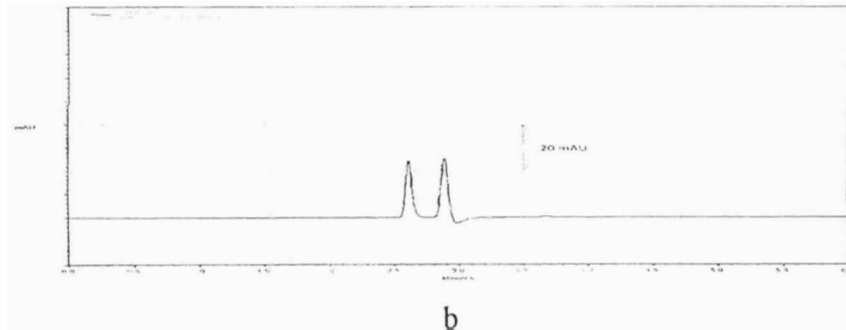
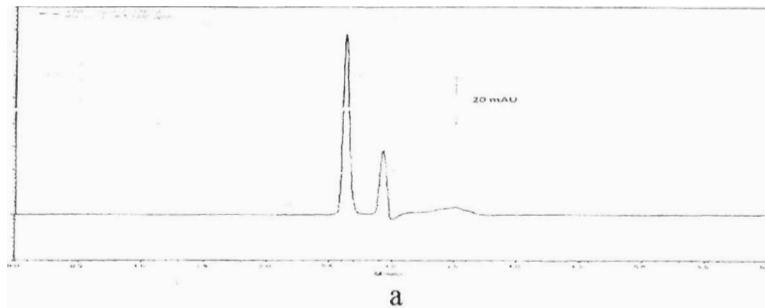
Kurva larutan standar RBB digunakan untuk menentukan kadar RBB pada dye-inulin. Larutan dye-inulin 1000 ppm digunakan untuk analisis HPLC menggunakan eluen etanol air 60%, 40%. Puncak dye-inulin muncul pada waktu retensi 2,61297 menit, sedangkan puncak aquades muncul pada waktu retensi 2,89 menit (Gambar 11 Gambar 12). Luas area puncak senyawa dye-inulin pada variasi massa inulin yang direaksikan dimuat pada Tabel 5. Luas area puncak senyawa dye-inulin pada variasi massa inulin yang direaksikan dimuat pada Tabel 6.



Gambar 11. Kromatogram HPLC larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi massa inulin: a. 2g inulin; b. 4g inulin; c. 6g inulin. Kolom ODS C18,  $\lambda$  592 nm, fasa gerak etanol-air (60%:40%) kecepatan alir 1 mL/menit.

Tabel 5. Luas area kromatogram larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi massa inulin

Massa inulin (g)	Luas area	Rata-rata luas area
2	1,0816	1,4826
	1,6682	
	1,6980	
4	1,7092	1,3329
	1,1979	
	1,0916	
6	6,6498	5,9228
	5,5981	
	5,5206	



Gambar 12. Kromatogram HPLC larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi suhu reaksi: a.40°C; b.50°C dan c.60°C. Kolom ODS C18,  $\lambda$  592 nm, fasa gerak etanol-air (60%:40%) kecepatan alir 1 mL/menit.

Tabel 6. Luas area kromatogram larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi massa suhu reaksi

Suhu reaksi (°C)	Luas area	Rata-rata luas area
40	4,6059	4,8557
	5,7941	
	4,1672	
50	1,7092	1,3329
	1,1979	
	1,0916	
60	0,0608	0,0572
	0,0736	
	0,0373	

Kurva standar RBB digunakan untuk menghitung konsentrasi RBB pada larutan dye-inulin. Konsentrasi RBB dalam 10 mL larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi massa inulin dimuat pada Tabel 6. Konsentrasi RBB dalam 10 mL larutan dye-inulin 1000 ppm pada variasi suhu reaksi dimuat pada Tabel 7.

Tabel 7. Konsentrasi RBB dalam 1000 ppm larutan dye-inulin dan massa RBB dalam dye-inulin pada variasi massa inulin

Massa inulin (g)	Konsentrasi RBB dalam 1000 ppm larutan sampel dye-inulin (ppm)	Massa RBB dalam total sampel dye-inulin yang terbentuk (g)
2	14,5684	0,0237
4	13,9118	0,1157
6	34,0430	0,1927

Tabel 8. Konsentrasi RBB dalam 1000 ppm larutan dye-inulin dan massa RBB dalam dye-inulin pada variasi suhu reaksi

Suhu reaksi (°C)	Konsentrasi RBB dalam 1000 ppm larutan sampel dye-inulin (ppm)	Massa RBB dalam total sampel dye-inulin yang terbentuk (g)
40	29,3627	0,0943
50	13,9118	0,1157
60	08,3167	0,0470

Reaksi antara inulin dan RBB bukan merupakan reaksi stoikiometri yang pasti. Molekul inulin terdiri dari untai polimer dengan derajat polimerasi (DP) yang bervariasi. Reaksi pembentukan dye-inulin dari reaksi antara inulin dan RBB adalah pembentukan

senyawa kompleks. Kompleks inulin-RBB terjadi melalui interaksi antara gugus atom O pada posisi kedua dari monomer fruktosa dalam inulin dengan atom C pada RBB. Dengan demikian diperkirakan setiap molekul RBB dapat terikat pada monomer fruktosa molekul inulin, tetapi tidak setiap monomer fruktosa pada molekul inulin mengikat RBB.

Proses pengikatan RBB pada monomer fruktosa molekul inulin dipengaruhi oleh suhu dan jumlah inulin yang direaksikan. Pada suhu 40°C menghasilkan dye-inulin yang mengandung RBB lebih tinggi dibandingkan pada suhu 50 dan 60°C. Hal menarik disini adalah jumlah dye-inulin yang dihasilkan paling tinggi pada suhu reaksi 50°C yaitu 8,3165 g. Jumlah ini lebih tinggi dibandingkan jumlah inulin dan RBB yang direaksikan yaitu 4,5 g (4g inulin + 0,5g RBB).

Pengujian pada larutan dye-inulin yang disintesa pada suhu 50°C dengan larutan  $\text{BaCl}_2$  dan  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  ternyata terdapat endapan putih. Endapan putih tersebut adalah  $\text{BaSO}_4$  dan  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$ . Pembentukan  $\text{BaSO}_4$  dan  $\text{Ag}_3\text{PO}_4$  terjadi karena pada dye-inulin masih terdapat  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  yaitu garam yang ikut ditambahkan pada proses pembuatan dye-inulin. Kedua senyawa ini tidak terdeteksi pada kondisi pengukuran RBB pada dye-inulin secara HPLC

Jumlah massa inulin yang direaksikan dengan sejumlah massa RBB mempengaruhi jumlah dye-inulin yang terbentuk. Semakin besar massa inulin yang direaksikan dengan RBB, konsentrasi RBB dalam dye inulin juga makin besar. Semakin besar konsentrasi RBB yang terikat pada dye-inulin, semakin berwarna biru dye-inulin tersebut. Dengan demikian dari data ini semakin kuat dugaan bahwa setiap molekul RBB dapat terikat pada monomer fruktosa molekul inulin, tetapi tidak setiap monomer fruktosa pada molekul inulin mengikat RBB. Proses pengikatan RBB pada polimer molekul inulin dipengaruhi oleh jumlah inulin yang direaksikan dan suhu reaksi RBB dan inulin. Dengan kata lain



dapat dinyatakan bahwa tidak ada yang dapat dijadikan sebagai pembatas reaksi pada reaksi antara inulin dan RBB.

Pada proses reaksi inulin dengan RBB pada variasi massa inulin dan suhu reaksi, tidak semua RBB terikat pada inulin. Hal ini ditandai dengan pencucian dye-inulin sampai sekitar 5 kali menghasilkan supernatan yang berwarna biru. Pencucian dye-inulin dihentikan jika supernatan tidak berwarna lagi. Jumlah RBB paling banyak terikat pada setiap gram dye-inulin adalah pada reaksi 6 g inulin dengan 0,5 g RBB pada suhu reaksi 40°C (Tabel 7). Jumlah pengotor paling banyak pada pembentukan dye-inulin adalah pada reaksi 4 g inulin dengan 0,5 g RBB pada suhu reaksi 50°C (Tabel 3)

## BAB. VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Penentuan kadar RBB pada dye-inulin secara HPLC menggunakan kolom ODS C18,  $\lambda$  592 nm, fasa gerak etanol-air (60%:40%) kecepatan alir 1 mL/menit disimpulkan bahwa:

1. Kadar RBB dalam dye-inulin pada variasi massa inulin 2g, 4g dan 6 g yang direaksikan dengan 0,5 g RBB berturut turut adalah 14,5684 ppm, 13,9118 ppm, 34,0430 ppm.
2. Kadar RBB dalam dye-inulin pada variasi suhu reaksi 40, 50 dan 60°C berturut turut adalah 29,3627 ppm, 13,9118 ppm, 8,3167 ppm

#### 6.2. Saran

Berdasarkan penemuan pada penelitian ini, disarankan :

1. Meneliti lanjut penentuan kadar pengotor dalam dye-inulin
2. Meneliti lanjut kadar inulin dalam dye-inulin

## DAFTAR PUSTAKA

- Amico, R.D.; Montini, G.; Pisanello, L.; Piovesan, G.; Bottaro, S., Cracco, A.T.; Zacchello, G., Zacchello, F., (1995), Determination of inulin in plasma and urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography B*, 672 (1) 155-159.
- Andyani, N.F (2001). Produksi Sirup Fruktosa dari Inulin *Dahlia Pinata Cav* secara Hidrolisis Asam. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pangan IPB. Bogor.
- Bergner, P. (2004). "Inulin". <http://www.medherb.com>. Diakses 5 April 2004
- Brady, J.E. (1990). General Chemistry principles and Structure. New York: John Wiley and Sons.
- Castro, GR; Baigori, MD; Sineriz, F (1995). A plate technique for screening of inulin degrading microorganism. *Journal of Microbiological Methods* 22:51-56.
- Franck, Anne; Leenheer, Leen De (2003). "Inulin". Email: [ann.franck@orafti.com](mailto:ann.franck@orafti.com). Diakses 25 Maret 2004
- Georgescu, L.A.; Stoica, I., (2005), Studies Concerning the Dynamic of Enzyme Hydrolyse on the Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*) Inulin, The annual of the University Dunarea de jos of Galaty-no 1, *Fascicle VI-Food Technology*: 77-80.
- Kaplan, H; Hutkins, RW.(2003). Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *Appl Environ Microbiol*. 69:2217-2222.
- Kulminskaya, AA; Arand, M; Eneyskaya, EV; Ivanen, DR; Shabalin, KA; Shishlyannikov, SM; Saveliev, AN; Korneeva, OS; Neustroev, KN.(2003). Biochemical characterization of *Aspergillus awamori* exoinulinase: substrate binding characteristics and regioselectivity of hydrolysis. *Biochimica et Biophysica Acta* 1650:22-29.
- Leita, JTC; Martinelli, P; Murr, FEX; Park, KJ.(2004). Study of the inulin concentration by physical method. Proceedings of the 14th international drying symposium Brazil vol 8 868-875.
- Marchessault, R.H., Bicha, T.; Deslandes, Y., Revol, J.P., (1980), *Chan. J. Chem.*, 58:2415.
- Marsilio, R.; Naturale, M.; Manghi, P.; Montini, G.; Murer, L.; Ros, M.; Bisogno, G., Andretta, B.; Dussini, N.; Giordano, G.; Zacchello, G.; Amico, R.D., (2000), Rapid and simple determination of inulin in biological fluids by high-performance liquid chromatography with light-scattering detection, *Journal of Chromatography B*, 744 (2) 241-247.
- Phelps, CF (1965). The physical properties of inulin solution. *Biochem.J* 95:41-47.
- Ricca, E; Calabro, V; Curcio, S; Iorio, G (2007). The state of the art in the production of fructose from inulin enzymatic hydrolysis. *Critical Reviews in Biotechnology*. Jul-sep 2007:129-145.
- Roberfroid, MB; Loo, AEV; Gibson, GR.(1998). The Bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J. Nutr.* 126:11-19.
- Rukmana, R.(2004). *Dahlia Prospek Agribisnis dan Teknik Budi Daya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Ruo, T.I.; Wang, Z.; Dordal, M.S.; Atkinson, A.J.; (1991), Assay of inulin in biological fluids by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection, *Clinica Chimica Acta*, 204(1-3) 217-222.
- Singh, P; Gill, PK (2006). Production of Inulinase: Recent Advances. *Food Technol Biotechnol* 44(2) 151-162.
- Simanjuntak, P.; Rachmat, J.; Rosalinda, N., (2004), Tumbuhan Indonesia Sebagai Sumber Inulin, *Alchemy*, 3(1) 8-14.
- Tohamy, EY (2006). Purification and characterization of exoinulinase enzyme from *Sterptomyces griseus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 9(5):911-916.

- Yuan, XL; Goosen, C; Kools, H; Maarel, MJEC; Hondel, CAMJJ; Dijkhuizen, L; Ram, AFJ. (2006). Database mining and transcriptional analysis of genes encoding inulin-modifying enzymes of *Aspergillus niger*. *Microbiology*. 152:3061-3073.
- Yurmizar. (1989). Penandaan Inulin dengan Radionuklida Teknesium-99m dan Biodistribusinya pada Tikus Putih. *Skripsi FMIPA*. Padang: Universitas Andalas.
- Zuleta, A., Sambucetti, M.E., (2001) Inulin Determination for Food Labeling, *J. Agric. Food Chem.*, 49 (10) 4570–4572.

## LAMPIRAN 1. Curriculum Vitae

### Ketua Peneliti

#### IDENTITAS DIRI

Nama : **Dra. Yustini Maaruf, M.Si**  
NIP/NIK : 19500819 198010 2 001  
Tempat dan Tanggal Lahir : Padang, 19 Agustus 1950  
Jenis Kelamin : ( ) Laki-laki (√) Perempuan  
Agama : Islam  
Golongan / Pangkat : Pembina/ IV-a  
Jabatan Akademik : Lektor Kepala  
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Padang  
Alamat : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.  
Jl.Prof.Dr.Hamka Air Tawar Padang.  
Telp./Faks. : 0751 7057420  
Alamat Rumah : Komplek Taruko Permai 3 Blok A No. 9 Gunung Sariak  
Padang  
Telp./Faks. : 0751 495261

#### RIWAYAT PENDIDIKAN PERGURUAN TINGGI

Tahun Lulus	Program Pendidikan(diploma, sarjana, magister, spesialis, dan doktor)	Perguruan Tinggi	Jurusan/ Program Studi
1973	Sarjana Muda	IKIP PADANG	Pend. Kimia
1978	Sarjana S-1	IKIP BANDUNG	Pend. Kimia
1998	Magister S-2	UNAND	Kimia Organik

#### PENGALAMAN PENELITIAN

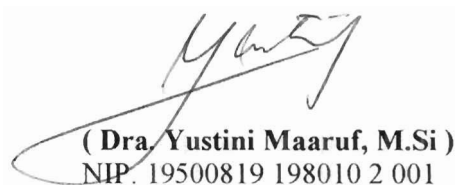
Tahun	Judul Penelitian	Jabatan	Sumber Dana
1997	Isolasi Terpenoid Dari Daun Mali- Mali ( <i>Gomphandra mappiodes</i> Vallet)	Mandiri	BPPS
2000	Isolasi Terpenoid dan Steroid dari tumbuhan tubo urek ( <i>Derris eliptica benth</i> )	Ketua	SPP UNP
2000	Pembuatan Media Transparansi Berwarna dan Pemakaiannya Untuk Pengajaran Kimia di SMU	Anggota	SPP Jurusan
2000	Isolasi Terpenoid Dari Kulit Batang Dan Daun Tumbuhan Angsana ( <i>Pterocarpus indicus</i> )	Ketua	Due-Like UNP
2001	Isolasi Steroid dari daun ceplukan ( <i>Physalis angulata</i> )	Anggota	SPP UNP
2002	Isolasi Terpenoid dan Steroid dari Daun kalawi ( <i>Artocarpus angilata</i> )	Ketua	HEDS 2002
2006	Isolasi Dan Uji Bioaktivitas Flavonoid Dari Buah Terung Pirus ( <i>Cyphomandra betacea</i> (Cav.)Sendtn.	Ketua	DIPA Jurusan Kimia UNP
2006	Upaya Meningkatkan Penguasaan siswa dengan metode Demonstrasi dan pertanyaan Peringkat tinggi pada mata pelajaran kimia di SMU Kota Padang	Anggota	Due - Like

#### Makalah/Poster

Tahun	Judul	Penyelenggara
2000	Isolasi Terpenoid dan Steroid dari tumbuhan tubo urek ( <i>Derris eliptica benth</i> )	Universitas Riau

2001	Karakterisasi terpenoid Dari Kulit Batang Dan Daun Tumbuhan Angsana ( <i>Pterocarpus indicus</i> )	Universitas Lampung
2002	Karakterisasi Terpenoid dan Steroid dari Daun kalawi ( <i>Artocarpus angilata</i> )	USU Medan
2003	Karakterisasi plafonoid dari kulit Jengkol	UNSRI Palembang
2007	Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Plafonoid dari daun min.	UIN Jakarta

Padang, Maret 2010  
Yang menyatakan,



( Dra. Yustini Maaruf, M.Si )  
NIP. 19500819 198010 2 001

## Anggota Peneliti ke-1

### I. IDENTITAS DIRI

1.1	Nama Lengkap dengan Gelar	<b>Dra. Minda Azhar, M.Si</b>
1.2	NIP.	19641124 199112 2 001
1.3	Pangkat/Golongan	Pembina Tingkat I / IV-b
1.4	Jabatan Fungsional	Lektor Kepala
1.5	Fakultas / Jurusan	FMIPA / Kimia
1.6	Tempat dan Tanggal Lahir	Bukittinggi, 24 November 1964
1.7	Jenis Kelamin	Perempuan
1.8	Alamat Kantor / Telepon	Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Padang / 0751 7057420
1.9	Alamat Rumah / Telepon	Jl. Angrek no.28 Komplek UNP Air Tawar Padang / 0751 7051798
1.10	HP / E.Mail	081267 225 154 / <a href="mailto:minda@fmipa.unp.ac.id">minda@fmipa.unp.ac.id</a>

### II. RIWAYAT PENDIDIKAN

2.1. Program	S1	S2
2.2. Nama PT	IKIP Padang	ITB Bandung
2.3. Bidang Ilmu	Pendidikan Kimia	Biokimia/Bioteknologi
2.4. Tahun Masuk	1984	(Pra S2 :1992-1993) 1993
2.5. Tahun lulus	September 1990	Februari 1996
2.6. Judul Skripsi	Studi perbandingan pengajaran konsep mol dengan cara faktor-label dan cara rumus terhadap hasil belajar siswa kelas I di SMA Negeri 2 Padang	Kloning dan penentuan urutan nukleotida mutan <i>sal4-13 Saccharomyces cerevisiae</i>
2.7. Nama pembimbing	Drs. Rusydi Rusyid, MA Drs. Usman Bakar, M.Ed.St	Drs. Hadi Sutedjo, MSc Akhmaloka, Ph.D

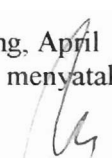
### V. PENGALAMAN PENELITIAN

No	Tahun	Judul Penelitian	Sumber Dana
1.	1994	Penentuan polistirena dengan cara viskometer Ostwald dan pengaruh temperatur terhadap viskositas cairan	-
2.	1999	Amobilisasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan zeolit, bentonit	Due-Like
3	2000	Menentukan taraf intensitas (tingkat kebisingan) bunyi dalam angkutan kota di Kodya Padang	DIPA
4	2000	Pemanfaatan bromelain bongkol nenas pada proses pemisahan minyak dari santan kelapa	DIPA
5	2005	Efektivitas ekstrak bromelain dari bongkol dan batang nenas terhadap jumlah minyak yang dipisahkan dari santan kelapa	DIPA
6	2006	Pengaruh penambahan inulin pada karakteristik set yoghurt dari susu skim	DIKTI
7	2006	Aktivitas enzim inulinase umbi dahlia hasil fraksinasi dengan etanol	HED-JICA
8	2008	Aktivitas enzim inulinase umbi dahlia yang diekstraksi dengan ammonium sulfat	DIPA
10	2008	Efektivitas pengestrak etanol, propanol dan aseton terhadap aktivitas inulinase yang diekstraksi dari umbi dahlia	DIPA
11	2009	Pengaruh jenis dan konsentrasi basa terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang	DIPA

## VI. PENGALAMAN PENULISAN ARTIKEL ILMIAH

No	Tahun	Judul Artikel Ilmiah	Volume/No/ Jumlah Hal	Nama jurnal
1	1997	Kloning Kloning gen <i>sal4-13</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan metoda <i>Allele Rescue</i>	Vol.3;No1 Jumlah hal. 10	Jurnal Kimia Andalas
2	1997	Penentuan urutan nukleotida mutan <i>sal4-13</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	No.04 Th.XXII Jumlah hal. 11	Forum Pend. IKIP Padang
3	1998	AZT sebagai terapi AIDS	No.03;Th.XXI Jumlah hal. 6	Buletin IKIP Padang
4	1999	Proses translasi pada ragi <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i>	Vol.5.No.1 Jumlah hal. 9	Jurnal Kimia Andalas
5	2000	Kloning gen mutan <i>sal4</i> pada ragi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan vector plasmid pUKC-802	Vol.III.No.1 Jumlah hal. 16	Jurnal Sainstek
6	2000	Dideoksi-Sanger, suatu metoda penentuan urutan nukleotida DNA	Vol.2;No.1 Jumlah hal. 13	Jurnal Eksakta
7	2001	Penggunaan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> amobil dengan media pendukung agar- bentonit untuk pembuatan minyak secara fermentasi	Vol.IX;No.2 Jumlah hal. 6	Jurnal stigma (terakreditasi)
8	2001	Amobilisasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dengan agar-zeolit, agar-perlit untuk pemisahan minyak dari santan kelapa	Vol.IX;No.3 Jumlah hal. 6	Jurnal Stigma (terakreditasi)
9	2004	Penentuan waktu dan suhu optimum pemisahan minyak dari santan kelapa menggunakan bromelain bongkol nenas	Vol.XII; No.3 Jumlah hal. 7	Jurnal Stigma (terakreditasi)
10	2004	Hidroksilapatit sebagai material biokeramik	Vol.1; Th V. Jumlah hal. 10	Jurnal Eksakta
11	2004	Pembelajaran konsep mol dengan cara faktor-label dan cara rumus	Vol.27;No.02 Jumlah hal. 18	Jurnal Pembelajaran (terakreditasi)
12	2006	Efektivitas ekstrak bromelain dari bongkol buah dan batang nenas terhadap jumlah minyak yang dipisahkan dari santan kelapa	Vol.IX.No1. Jumlah hal. 13	Jurnal Sainstek (terakreditasi)
13	2007	Aktivitas enzim inulinase yang diekstraksi dengan etanol dari umbi tanaman dahlia	Vol.X;No1. Jumlah hal. 13	Jurnal Sainstek (terakreditasi)
14	2009	Kadar lemak, kadar protein dan uji <i>organoleptik set yoghurt</i> akibat penambahan prebiotik inulin	Vol. XI, No.2.Maret 2009	Jurnal Sainstek
15	2010	Pengaruh konsentrasi NaOH dan KOH terhadap derajat deasetilasi kitin dari limbah kulit udang	Vol.1. Th xi, Feb 2010	Jurnal Eksakta

Padang, April 2011  
Yang menyatakan,

  
Dra. Minda Azhar, M.Si  
NIP.19641124 199112 2 001



## Anggota Peneliti ke-2

### IDENTITAS DIRI

Nama : Budhi Oktavia, S.Si., M.Si., Ph.D  
NIP/NIK : 19721024 199803 1 001  
Jenis Kelamin : Laki-laki  
Tempat/tanggal Lahir : Bukittinggi, 24 Oktober 1972  
Agama : Islam  
Golongan/Pangkat : III c/Lektor  
Jabatan Fungsional Akademik Penata :  
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Padang  
Alamat : Jl. Prof. Dr. Hamka, Kampus UNP, Air Tawar,  
Padang, Telp/Faks : 0751-7057420  
Alamat Rumah : Komplek Alam Permai Blok D No. 6, Gn. Pangilun,  
Padang, Telp/Faks : 0751-8214176  
Email : budhi\_akt@yahoo.com

### II. Riwayat Pendidikan

2.1. Program	S1	S2	S3
2.2. Nama PT	Universitas Andalas Padang	Institut Teknologi Bandung	Gifu University, Jepang
2.3. Bidang ilmu	Kimia	Kimia Analitik	Kimia Analitik (Kromatografi)
2.4. Tahun Masuk	1990	1999	2005
2.5. Tahun lulus	1995	2001	2009
2.6. Judul	Studi penggunaan oksin sebagai pengompleks dalam analisis besi dan aluminium secara ekstraksi pelarut	Pengembangan elektroda komposit karbon-zeolit untuk penentuan senyawa p-nitrofenol secara "Adsorptive Stripping Voltammetry (AdSV)"	Development of versatile separation systems for the determination of anions and transition metal ions in ion chromatography
2.7. Pembimbing	Drs. Zaimi Abdullah, M.S Dra. Deswati, M.S	Prof. Dr. Buchori Dr. Indra Noviantri	Prof. Dr. Toyohide Takeuchi

### PENGALAMAN PENELITIAN

Tahun	Judul Penelitian	Jabatan	Sumber Dana
2002	Pembuatan Dan Karakterisasi Elektroda Selektif Ion (ESI) Sianida Membran Padat Dengan Bahan Aktif Perak Iodida / Perak Sulfida Untuk Analisis Sianida Dalam Limbah	Ketua	HEDS
2003	Penentuan Kadar Sianida Dalam Limbah Tapioka Dengan Pembuatan Elektroda Selektif Ion (ESI) Sianida Membran Padat Menggunakan Bahan Aktif Perak Iodida (AgI)	Ketua	Dosen Muda UNP
2004	Ekstraksi Cu(II) Dengan di-2 Ethyl Hexyl Phosphoric Acid secara Ekstraksi Membran Cair	Ketua	Dosen Muda UNP

### KARYA TULIS ILMIAH

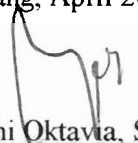
Tahun	Judul	Penerbit/Jurnal
2008	Simultaneous determination of Fe(III) and Fe(II) ions via complexation with salicylic acid and 1,10-phenanthroline in microcolumn ion chromatography	Analytical Sciences, Vol. 24 (2008) 1-6
2009	Poly(ethylene oxide)-bonded stationary phase for capillary ion chromatography	Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol. 393 (2009) 1267-1272.

### PESERTA KONFERENSI/SEMINAR/LOKAKARYA/SIMPOSIUM

Tahun	Judul Kegiatan	Penyelenggara
2006	Microcolumn liquid chromatography with Zeolite 4A as stationary phase	17 <sup>th</sup> Conference of the Society for Chromatographic Sciences, November 1 <sup>st</sup> -2 <sup>nd</sup> , 2006, Sendai, Japan
2007	Separation and determination of metal oxinates complexes in microcolumn liquid chromatography	18 <sup>th</sup> Conference of the Society for Chromatographic Sciences, November 8 <sup>th</sup> -9 <sup>th</sup> , 2007, Hakodate, Japan
2007	Determination of iodate and nitrate by using Zeolite 4A as stationary phase in microcolumn liquid chromatography	Indonesian Scientific Meeting of Chubu, May 19 <sup>th</sup> , 2007, Gifu, Japan.
2007	Determination of Co <sup>2+</sup> and Fe <sup>2+</sup> as metal oxinates complexes by microcolumn liquid chromatography	International Symposium on Metallomics 2007 (ISM 2007), November 28 <sup>th</sup> -December 1 <sup>st</sup> , 2007, Nagoya, Japan
2007	Separation and determination of common transition metals via metal oxinate complexes in microcolumn liquid chromatography	24 <sup>th</sup> Ion Chromatography Symposium, December 5 <sup>th</sup> -6 <sup>th</sup> , 2007, Aichi, Japan

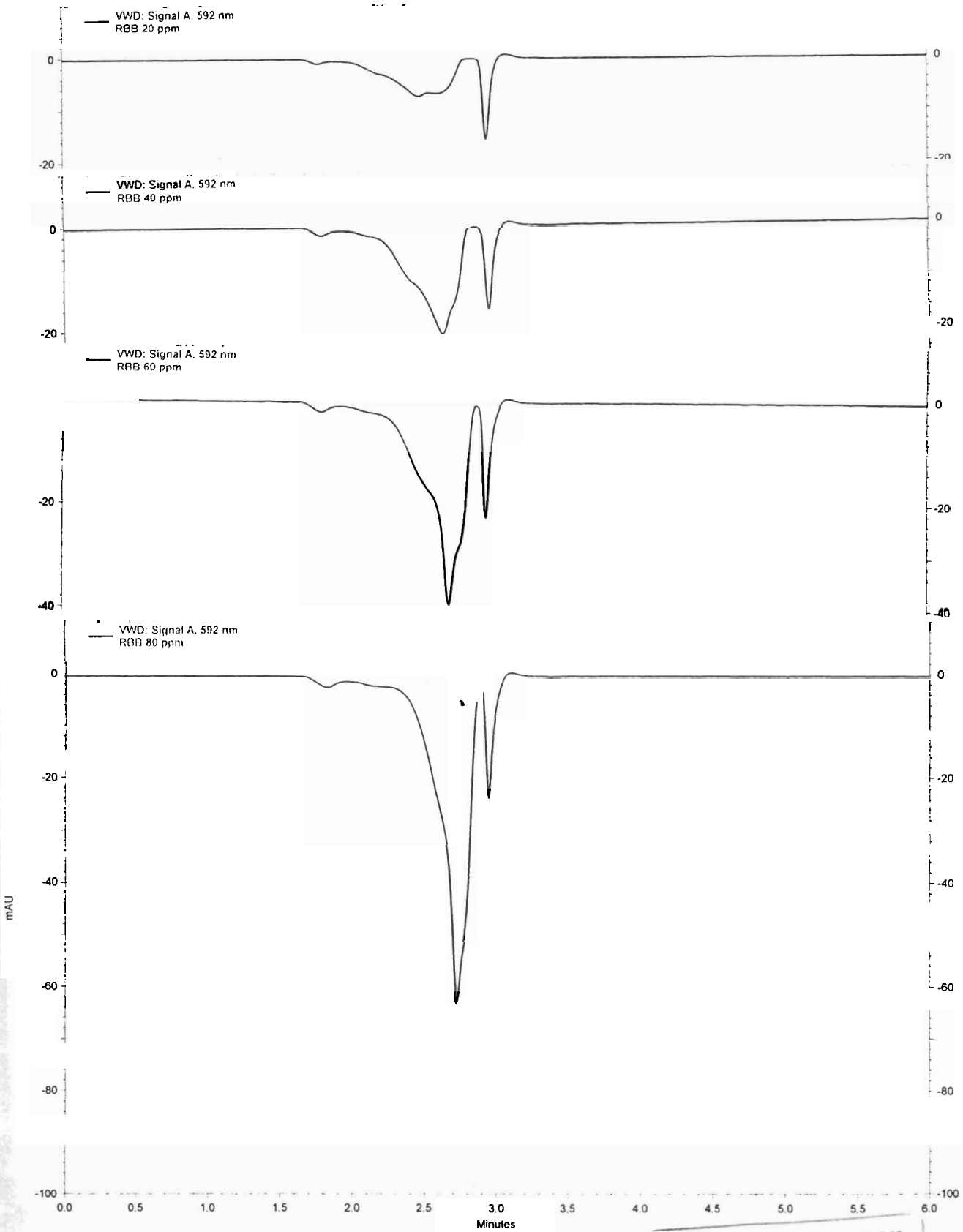
Saya menyatakan bahwa semua keterangan dalam Identitas Diri ini adalah benar dan apabila terdapat kesalahan, saya bersedia mempertanggungjawabkannya.

Padang, April 2011



Budhi Oktavia, S.Si, M.Si, Ph.D  
19721024 199803 1 001

## LAMPIRAN 2. Kromatogram larutan standar RBB



MILIK PERPUSTAKAAN  
UNIV. NEGERI PADANG