



Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Anthocyanin Characterization of *Morus alba* and *Morus cathayana* in Indonesia)

Rehmadanta Sitepu^{1*}, Heryanto², Tatas H.P. Brotosudarmo², Leenawaty Limantara^{2,3}

¹Program Studi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Ma Chung Malang

²Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigmen (MRCPP)
Villa Puncak Tidar N-01 Malang, Jawa Timur-Indonesia

³Universitas Pembangunan Jaya

Jl. Cendrawasih, Kel. Sawah Baru, Kec. Ciputat Tangerang Selatan, Banten, Indonesia.

ABSTRACT

Mulberry fruit has been known to be rich in antioxidants due to its anthocyanin contents. Unfortunately, the utilization of mulberry fruits as a source of antioxidants and therapy is rare in Indonesia. Mulberry plants are only used for feeding domesticated animal or making tea from its leaves. This study aims to characterize anthocyanin of *Morus alba* and *Morus cathayana*. Characterization of anthocyanin extracts from *Morus alba* and *Morus cathayana* were performed using solvent 0.1% hydrochloric acid (HCl) in methanol, and then analyzed by UV-Vis spectrophotometer and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results of UV-visible absorption spectra obtained from the crude extract shows that absorption spectra of mulberry extract *M. cathayana* provide higher absorbance ± 1.3 a.u. compared to absorbance which was obtained from the crude extract of mulberry *M. alba* are on ± 0.4 a.u. The total anthocyanin obtained from extract of *M. cathayana*, is $40,39 \pm 7,64$ mg/g dry weight compared with *M. alba* which has a value $11,57 \pm 3,02$ mg/g dry weight. Results of chromatogram of HPLC using XR-ODS column with elution A was 0.1% formic acid in acetonitrile and elution B was 0.1% formic acid in water shows both *M. cathayana* and *M. alba* have two dominant pigments of anthocyanin. However, the intensity of chromatograms obtained from *M. cathayana* is higher than the intensity of chromatograms of *M. alba*. The intensity of chromatogram of *M. cathayana* is 50 mAU on retention time 7.86 minutes and 15 mAU on retention time 8.38 minutes. The intensity of chromatogram of *M. alba* is 10 mAU on retention time 7.35 minutes and 3 mAU on retention time 7.76 minutes. The two dominant anthocyanins are predicted as cyanidin-3-O-glucoside and cyanidin-3-rutinoside.

Key words: Anthocyanin, *Morus alba*, *Morus cathayana*

ABSTRAK

Buah murbei kaya antioksidan karena kandungan antosianin yang banyak. Sayangnya, pemanfaatannya sebagai sumber antioksidan di Indonesia masih minim. Pemanfaatan tanaman murbei hanya sebatas daun yang dijadikan pakan ternak dan teh. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan karakterisasi antosianin buah murbei spesies *Morus alba* dan

Morus cathayana. Karakterisasi antosianin ekstrak buah murbei *Morus cathayana* dan *Morus alba* dilakukan menggunakan pelarut 0,1% asam klorida (HCl) dalam metanol dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-tampak dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Hasil serapan spektra UV-tampak yang diperoleh dari ekstrak kasar menunjukkan spektra serapan ekstrak buah *M. cathayana* memberikan nilai yang lebih tinggi $\pm 1,3$ a.u dibandingkan serapan yang diperoleh dari ekstrak kasar buah *M. alba* dengan serapan $\pm 0,4$ a.u. Nilai total antosianin yang diperoleh dari *M. cathayana* sebanding dengan serapan ekstrak segarnya, yaitu $40,39 \pm 7,64$ mg/g berat kering dibandingkan *M. alba* yang memiliki nilai total antosianin $11,57 \pm 3,02$ mg/g berat kering. Hasil kromatogram dari KCKT menggunakan kolom XR-ODS dengan pengelusi A adalah 0,1% asam formiat dalam asetonitril dan pengelusi B adalah 0,1% asam formiat dalam air menunjukkan baik *M. cathayana* maupun *M. alba* memiliki dua pigmen antosianin dominan. Walaupun bergitu, intensitas kromatogram *M. cathayana* lebih tinggi dibandingkan intensitas pada *M. alba*. Nilai intensitas *M. cathayana* adalah 50 mAU untuk waktu tambat 7,86 menit dan 15 mAU untuk waktu tambat 8,38 menit. Nilai intensitas *M. alba* adalah 10 mAU untuk waktu tambat 7,35 menit dan 3 mAU untuk waktu tambat 7,76 menit. Dua antosianin dominan pada *M. alba* dan *M. cathayana* diprediksi merupakan sianidin-3-O-glukosida dan sianidin-3-O-rutinosida.

Kata kunci: Antosianin, *Morus alba*, *Morus cathayana*

LATAR BELAKANG

Antosianin merupakan pigmen golongan flavonoid yang larut air berperan penting dalam memberi warna pada tanaman. Pigmen ini tersebar luas pada tanaman termasuk tanaman pangan. Telah banyak studi dilakukan untuk mempelajari efek protektif dari berbagai jenis flavonoid ini di berbagai jenis tanaman dan buah-buahan. Kajian ini mencakup antioksidans antialergi, antiinflamasi, antivirus, antiproliferatif, antimutagenik, antimikro-bial, antikarsinogenik, perlindungan kerusakan kardiovaskular dan alergi, pencegahan diabetes dan peningkatan penglihatan (Zafra-Stone *et al.*, 2007). Aktivitas antioksidan antosianin disebabkan fungsinya sebagai agen pengkelat ion

logam dalam beberapa tingkat pH. Antosianin juga diketahui dapat menginduksi enzim-enzim fase II (transferase glutation-S, glukuronosiltransferase difosfat uridin, reduktase quinon, dll.) yang dapat menghambat aktivasi karsinogen yang diaktivasi enzim-enzim fase I, sehingga mencegah kerusakan DNA. Ekstrak yang kaya antosianin juga dapat menghambat 50% lini sel tumor kolon manusia, mencegah oksidasi LDL secara *in vitro* yang akan mencegah terjadinya aterosklerosis, dan juga diketahui melindungi LDL dari hidrogen peroksida yang diinduksi stress oksidatif pada kultur sel endotel manusia (Zhao, 2007).

Tumbuhan golongan beri merupakan salah satu sumber antosianin yang potensial

Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Rehmadanta Sitepu dkk)

(Zhao, 2007). Kandungan antosianin pada *elderberry* diketahui secara signifikan melindungi sel endotelial dari stres oksidatif. Antosianin yang terdapat di dalam *blueberry* juga diketahui memiliki efek perlindungan terhadap stres oksidatif dan radikal bebas ketika diuji dengan sel darah merah secara *in vivo* (Zafra-Stone *et al.*, 2007). Sehingga buah beri menjadi penting untuk menggantikan antioksidan sintetik yang selama ini banyak beredar di pasaran (Arfan *et al.*, 2012)

Di Indonesia, referensi mengenai pemanfaatan tanaman beri untuk kesehatan jarang ditemukan. Hal ini sangat berbeda dengan beberapa negara seperti Cina dan Amerika yang produksi murbeinya telah menjadi komoditas ekspor. Indonesia belum memiliki pengetahuan yang luas tentang diversifikasi pemanfaatan tanaman beri. Umumnya tanaman murbei paling banyak dimanfaatkan daunnya untuk pakan pembudidayaan ulat sutera di Indonesia (Singhal *et al.*, 2010).

Ada empat spesies murbei unggul yang dikembangkan di Indonesia, yaitu *Morus alba*, *Morus multicaulis*, *Morus cathayana*, dan *Morus nigra*. *M. nigra* merupakan murbei endemik daerah tropis yang telah diketahui komposisi antosianinnya (Özgen *et al.*, 2009), sedangkan ketiga spesies lainnya merupakan murbei yang berasal dari Cina

dan Jepang yang komposisi antosianinnya setelah ditanam di Indonesia belum banyak diteliti (Singhal *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal ini akan sangat menarik bila dapat mengetahui seberapa besar kandungan dan profil antosianin dari murbei non endemik daerah tropis di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan Sartorius BT2245, blender laboratorium Waring Commercial, spektrofotometer UV-1700 (Shimadzu), *moisture tester* MOC634 (Shimadzu), kolom shim-pack XR-ODS (100 mm x I.D. 3 mm) Shimadzu, autosampler SIL-20 AC XR, pompa LC-20 AD XR, detektor diode array tipe SPD-M20 A.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah murbei spesies *M. alba* yang diambil daerah sekitar Kota Malang sedangkan spesies *M. cathayana* diambil dari Puslitbang Peningkatan Produktivitas Hutan (Pusprohut), Bogor, Provinsi Jawa Barat, metanol (Merck), HCl (Merck), KCl (Merck), natrium asetat (E. Merck), akuades. Semua bahan yang digunakan merupakan bahan-bahan untuk analisis.

Preparasi sampel

Sampel buah segar murbei spesies *M.*

Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Rehmadanta Sitepu dkk)

alba dan *M. cathayana* dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dari sisa air cucian. Selanjutnya sampel buah murbei dihaluskan dengan menggunakan blender selama \pm 10 menit. Murbei yang dihaluskan selanjutnya dilakukan pengukuran kadar air.

Penentuan kadar air

Penentuan karakteristik fisik dilakukan dengan menentukan kadar air dengan *moisture tester*. Masing-masing sampel diletakkan pada alat *moisture tester*. Alat ini akan bekerja secara otomatis untuk mengukur persentase kadar air masing-masing buah murbei yang dihaluskan. Nilai persentase yang tertera dicatat setelah pengukuran dilakukan. Percobaan ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Nilai persentase kadar air diperoleh dari rerata hasil pengukuran.

Ekstraksi

Selanjutnya, masing-masing preparat halus buah murbei ditimbang sekitar 0,1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL. Pelarut 1% HCl dalam metanol ditambahkan sebanyak 1,5 mL ke dalam tabung *ependorf* yang telah terisi sampel murbei (Huang *et al.*, 2011). Kemudian, sampel tersebut dihomogenisasi dengan pelarutnya dengan menggunakan

vortex kurang lebih 5 menit. Selanjutnya, sampel tersebut dimaserasi selama 24 jam di dalam freezer pada suhu -2°C . Ekstrak yang larut dan residu daging buah dipisahkan dengan sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 3 menit. Bagian supernatannya dimasukkan ke dalam labu 5 ml dan ditambahkan pelarut hingga tanda batas.

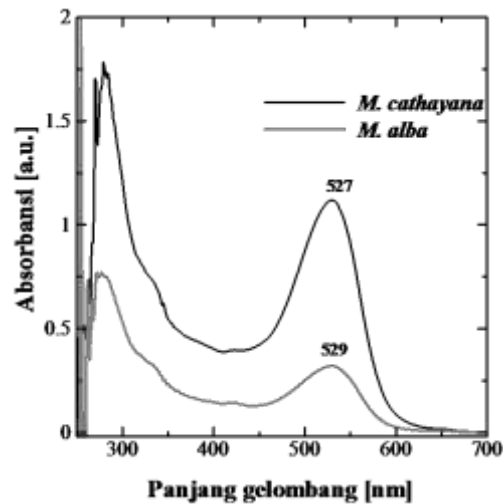
Labu ukur dihomogenisasi untuk memperoleh campuran ekstrak yang seragam. Selanjutnya, ekstrak tersebut digunakan untuk melakukan pengukuran total antosianin dan karakterisasi antosianin menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Spektra serapan antosianin ekstrak buah murbei

Sebanyak 100 μL ekstrak dicampurkan dengan 400 μL pelarut ekstraksi diukur spektrum serapannya pada interval panjang gelombang (λ) 200-900 nm menggunakan spektrofotometer UV-1700 Pharmaspec (Shimadzu) untuk penentuan jumlah nilai serapan yang ada pada masing-masing sampel.

Penentuan kandungan antosianin

Antosianin total ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer. Absorbansi ekstrak kasar antosianin pada pH 1,0 dan pH 4,5 diukur pada λ 510 nm dan 700 nm.



Gambar 1 Perbandingan spektra UV-tampak ekstrak kasar *M. alba* dan *M. cathayana*

Absorbansi yang diperoleh dari masing-masing λ pada pH 1,0 dan pH 4,5 dimasukkan ke dalam rumus seperti yang dijelaskan oleh Aramwit *et al.*, 2010 :

(1)

$$A = [(A_{510}-A_{700})]_{pH\ 1,0} - [(A_{510}-A_{700})]_{pH\ 4,5}$$

Dimana A = absorbansi total antosianin; A510 = absorbansi yang diukur pada λ 510 nm; A700 = absorbansi yang diukur pada λ 700 nm.

Kandungan antosianin total dihitung berdasarkan Gardana *et al.*, 2014 dengan rumus :

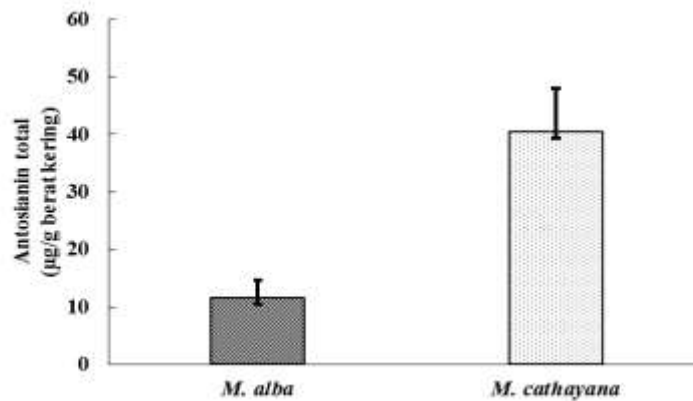
$$C = \frac{A \times MW \times DF \times V}{\epsilon \times L \times W_t} \times 1000 \quad (2)$$

dimana, C = kandungan antosianin ($g\ kg^{-1}$)
 ϵ = koefisien ekstingsi sianidin 3-glukosida ($26.900\ L\ cm^{-1}\ mol^{-1}$); L = lebar kuvet (1

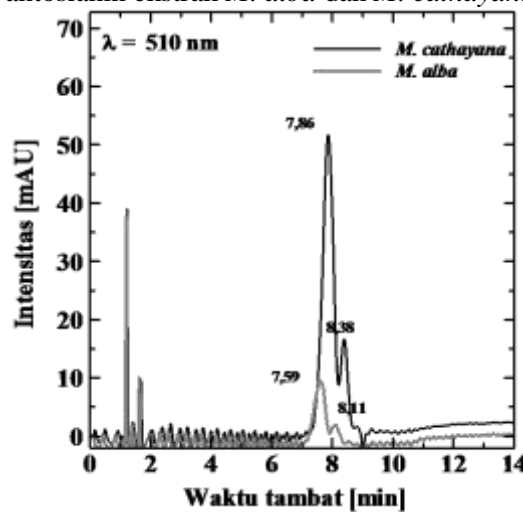
cm); MW = berat molekul sianida 3-glukosida ($0,445\ kg\ mol^{-1}$); DF = faktor pengenceran; W_t = berat sampel (g) (Gardana *et al.*, 2014).

Penentuan jenis antosianin dengan KCKT

Ekstrak antosianin yang berasal dari *M. alba* dan *M. cathayana* ditentukan komponen penyusunnya dengan menggunakan KCKT. Metode KCKT yang digunakan adalah metode KCKT yang telah dimodifikasi dari metode Shimadzu (Lopes-Da-Silva *et al.*, 2002). Kolom XR-ODS digunakan sebagai fase diam, sedangkan fase gerak 0,1 % asam formiat dalam akuades (A) dan 0,1% asam formiat dalam asetonitril (B) dengan laju alir 0,5 ml/menit.



Gambar 2 Perbandingan total antosianin ekstrak *M. alba* dan *M. cathayana*



Gambar 3 Kromatogram KCKT *M. alba* dan *M. cathayana*

Kondisi eluen pada 0,01 menit 5% B; 15 menit 25% B; 15,01 menit 95% B; 20 menit 95% B; dan pada 25 menit 5% B. Antosianin dideteksi pada λ 510 nm. Selanjutnya hasil yang diperoleh dari analisis KCKT digunakan untuk menentukan komponen antosianin berdasarkan waktu tambat, spektra serapan, dan selain itu, kuantitas setiap antosianin ditentukan berdasarkan luas puncak masing-masing komponen.

HASIL

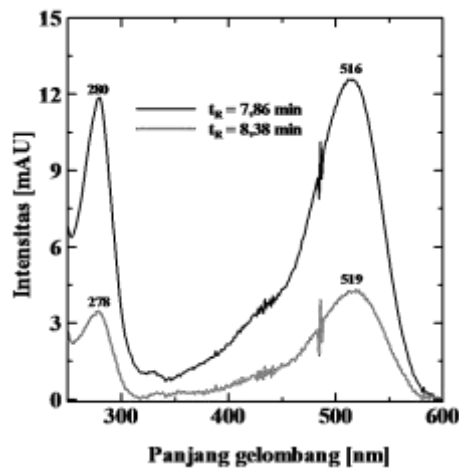
Penentuan kadar air pada buah murbei *M. alba* dan *M. cathayana* diperoleh dengan memvariasikan massa buah murbei yang diletakkan pada *moisture tester*. Hasil pengukuran menunjukkan kadar air *M. alba* adalah $86,02 \pm 1,61$ % sedangkan *M. cathayana* adalah $84,68 \pm 4,10$ %.

Pola spektral ekstrak antosianin buah segar *M. alba* dan *M. cathayana* diukur terlebih dahulu sebelum menentukan nilai antosianin total dengan menggunakan buffer pH 4,5 dan pH 1.

Hasil pengukuran dengan menggunakan spektroskopi UV-tampak menunjukkan nilai serapan absorbansi ekstrak *M. cathayana* yang lebih tinggi dari *M. alba* pada panjang gelombang serapan maksimum (λ_{maks}). Hasil yang disajikan pada Gambar 1 dapat menunjukkan nilai absorbansi ekstrak *M. cathayana* pada λ_{maks} 527 nm adalah 1,3 a.u. dan absorbansi *M. alba* pada λ_{maks} 529 nm

adalah 0,4 a.u.

Nilai total antosianin diperoleh dari pengukuran absorbansi ekstrak kasar *M. alba* dan *M. cathayana* buffer pH 4,5 dan pH 1,0 yang diukur pada λ 510 nm dan λ 700 nm. Nilai total antosianin dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh dari masing-masing λ dengan menggunakan rumus (1).



Gambar 4 Pergeseran serapan maksimum antosianin pada ekstrak *M. cathayana*

Tabel 1 Tabel luas area dominan pada λ 510 nm hasil KCKT *M. alba* dan *M. cathayana*
 Catatan : a) Wu *et al.*, 2011; b) Zhang *et al.*, 2011

No. Puncak	Sampel	Penelitian ini		Pustaka acuan		Hipotesis
		Waktu tambat (menit)	λ_{maks} (nm)	Waktu tambat	λ_{maks} (nm)	
1	<i>M. alba</i>	7,35	514	8,90 ^{a)} ;	518;	sianidin-3-O-glukosida
	<i>M. cathayana</i>	7,86	516	8,00 ^{b)}	516	
2	<i>M. alba</i>	7,76	517	10,32 ^{a)} ;	519;	sianidin-3-O-rutinosida
	<i>M. cathayana</i>	8,38	519	8,38 ^{b)}	518	

Hasil pengukuran yang disajikan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai antosianin total yang berasal dari ekstrak kasar antosianin *M. cathayana* lebih tinggi

dengan nilai $40,39 \pm 7,64 \mu\text{g/g}$ berat kering atau berkisar $145,23 \text{ mg/l}$ dibandingkan nilai antosianin total pada *M. alba* dengan nilai $11,57 \pm 3,02 \mu\text{g/g}$

Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Rehmadanta Sitepu dkk)

berat kering atau berkisar 31,72 mg/l.

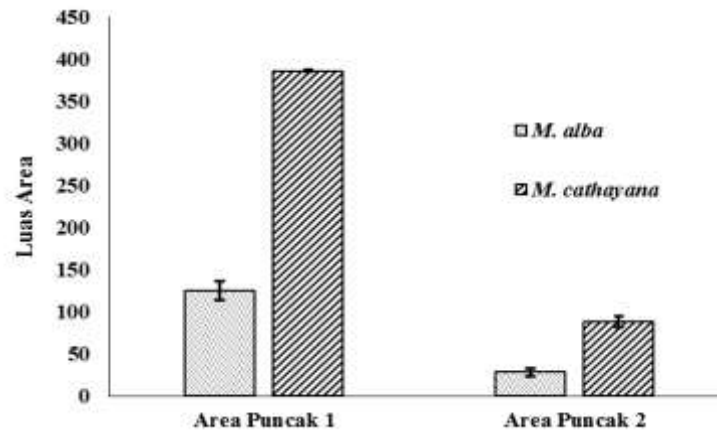
Hasil kromatogram KCKT menggunakan kolom XR-ODS dengan pengelusi 0,1% asam formiat dalam asetonitril sebagai pelarut A dan 0,1% asam formiat sebagai pelarut B menunjukkan adanya dua puncak yang terdeteksi pada λ 510 nm pada waktu tambat yang berbeda. Waktu tambat kedua kromatogram ini pada 7,86 menit dan 8,38 menit untuk *M. cathayana* dan 7,35 serta 7,76 menit pada *M. alba* (Gambar 3).

Intensitas kromatogram yang dihasilkan juga sangat berbeda untuk masing-masing sampel. Gambar 3 menunjukkan intensitas kromatogram yang diperoleh dari *M. cathayana* (7,86 menit = 50 mAU; 8,38 menit = 15 mAU) lebih tinggi dibandingkan dari intensitas yang dihasilkan dari *M. alba* (7,35 menit = 10 mAU; 7,76 menit = 3 mAU). Hal ini juga terkait dengan jumlah total antosianin yang terkandung jauh lebih banyak pada *M. cathayana* dibandingkan dengan *M. alba*.

Gambar 4 menunjukkan pergeseran λ_{maks} untuk puncak antosianin 1 dan antosianin 2 pada *M. cathayana*. Pada waktu tambat 7,86 menit menunjukkan serapan maksimum pada λ 516 nm dan

pada waktu tambat 8,38 menit menunjukkan serapan pada λ 519 nm. Hasil penelitian ini menunjukkan terdapatnya dua antosianin dominan yang diperkirakan merupakan jenis antosianin yang sama untuk masing-masing spesies murbei. Berdasarkan hasil penelusuran pustaka yang dipertimbangkan melalui kedekatan λ_{maks} dan waktu retensi, maka antosianin yang terdapat pada kedua spesies murbei diperkirakan sianidin-3-O-glukosida dan sianidin-3-O-rutinosida (Wu *et al.*, 2011). Hal ini seperti yang tertera pada Tabel 1.

Selanjutnya masing-masing ekstrak murbei diplot terhadap luas puncak yang diperoleh sebagai gambaran kuantitatif perbandingan jumlah masing-masing antosianin pada sampel murbei. Gambar 5 memberikan informasi mengenai dua puncak antosianin dominan yang terdapat pada masing-masing murbei. Baik sianidin-3-O-glukosida maupun sianidin-3-O-rutinosida lebih dominan pada ekstrak murbei *M. cathayana* dengan luas puncak mencapai 400 unit (sianidin-3-O-glukosida) dan 100 unit (sianidin-3-O-rutinosida). Dari Gambar 5 juga diperoleh informasi bahwa pigmen yang paling dominan pada masing-masing sampel murbei adalah sianidin-3-O-glukosida.



Gambar 5 Perbandingan luas puncak dari masing-masing waktu tambat *M. alba* dan *M. cathayana*

PEMBAHASAN

Ekstraksi antosianin pada buah murbei *M. alba* dan *M. cathayana* yang dilakukan menggunakan pelarut 1% HCl dalam metanol (Ge & Ma, 2013) dapat memberikan interpretasi yang baik dalam membandingkan kandungan antosianin pada masing-masing spesies murbei meskipun pada penggunaannya metode ini tidak dapat mengekstraksi seluruh pigmen yang ada pada daging buah masing-masing spesies. Peruntukan untuk dapat mengekstraksi seluruh pigmen total diperlukan konsentrasi asam yang lebih tinggi atau penambahan beberapa jenis asam (Du *et al.*, 2008). Hassimoto *et al.*, 2007 melakukan ekstraksi dengan komposisi pelarut metanol : asam formiat (9:1, v/v) atau dengan pelarut metanol, air, dan asam asetat (70:30:5, v/v) dapat mengekstrak seluruh pigmen

antosianin.

Dari hasil yang diperoleh menggunakan metode ini, baik dari nilai absorbansi pada λ_{maks} dari spektra serapan ekstrak kasar (Gambar 1) maupun nilai total antosianin (Gambar 2) yang diperoleh berdasarkan hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-tampak menunjukkan suatu korelasi yang menginterpretasikan bahwa kandungan antosianin pada *M. cathayana* lebih banyak dibandingkan kandungan antosianin yang terdapat pada *M. alba*.

Penentuan nilai absorbansi pada λ_{maks} dari spektra serapan ekstrak kasar tanpa perlakuan dalam pH tertentu perlu dilakukan mengingat ketidakstabilan beberapa komponen antosianin. Keberadaan pH juga sangat mempengaruhi kestabilan antosianin. Antosianin akan berubah

ke beberapa bentuk dalam pH tertentu. Pada pH 1, kation flavilium yang berwarna merah dan ungu merupakan spesies dominan. Pada pH antara 2-4 membentuk spesies dominan kuinoidal yang berwarna biru. Pada pH 4-6 akan membentuk 2 senyawa tidak berwarna, karbinol pseudobase dan kalkon (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). Atas dasar terbentuknya senyawa-senyawa berwarna pada pH tertentu ini yang digunakan sebagai acuan dasar untuk menentukan total antosianin berdasarkan rumus (1). Liu *et al.*, 2004 pada penelitiannya menyatakan bahwa rentang kandungan antosianin pada buah murbei berkisar antara 147 – 2.725 mg/l, berdasarkan hal ini, maka hanya *M. cathayana* masuk dalam kriteria ini yang memiliki antosianin total berkisar pada 145,23 mg/l.

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer diperkuat dengan data kromatogram KCKT yang menunjukkan adanya dua puncak dari masing-masing ekstrak murbei *M. alba* dan *M. cathayana*. Nilai intensitas dua puncak pada kromatogram KCKT ini berbeda antara spesies satu dengan yang lain. Nilai intensitas lebih tinggi ditunjukkan oleh *M. cathayana* dengan nilai intensitas mencapai 50 mAU pada waktu tambat 7,86 menit dan intensitas mencapai 15 mAU untuk waktu tambat 8,38 menit (Gambar 3).

Spektra serapan 2 jenis antosianin yang dapat dipisahkan menggunakan KCKT (Gambar 4) pada masing-masing sampel menunjukkan adanya pergeseran λ_{maks} sebesar 1-10 nm. Hal ini dapat dipengaruhi oleh jenis antosianin yang terkandung dalam sampel. Misalnya λ_{maks} sianidin-3-O-glukosida pada λ 518 nm, sedangkan delfinidin-3-rutinosida terdeteksi pada λ_{maks} 526 nm (Wu *et al.*, 2011).

Nilai λ_{maks} yang diperoleh untuk setiap puncak ditunjukkan pada Tabel 1 selanjutnya dibandingkan dengan pustaka yang ada sehingga dapat memberikan informasi mengenai jenis antosianin yang ada pada masing-masing sampel murbei. Pustaka acuan yang ditampilkan adalah pustaka dengan kondisi KCKT yang hampir sama dengan penelitian ini, yaitu menggunakan kolom C-18 (150 × 4,60 mm, 5 μ m) dengan fase gerak 1% asam trifluoroasetat dalam air dan asetoneitril. Namun kondisi eluen yang digunakan pada masing-masing pustaka berbeda-beda. Panjang kolom C-18 yang digunakan pada penelitian ini 100 mm, lebih pendek dari pustaka acuan, sehingga menjadi alasan waktu retensi yang diperoleh lebih pendek juga. Kondisi Penelusuran berdasarkan pustaka ini

Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Rehmadanta Sitepu dkk)

perlu dipastikan kembali secara eksperimental untuk memastikan kandungan yang ada. Untuk tujuan ini maka diperlukan penentuan jenis antosianin yang terkandung dengan menggunakan Spektroskopi Massa (SM) dan Resonansi Magnet Inti (RMI) (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). Data yang diperoleh dari Spektroskopi Massa (data akan ditampilkan pada publikasi selanjutnya) menunjukkan bahwa puncak 1 pada kedua spesies murbei dengan waktu tambat 7,35 dan 7,86 menit memberikan nilai $[M]^+ = 449$ yang merupakan berat molekul sianidin-3-O-glukosida, (Qin *et al.*, 2010) sedangkan puncak 2 baik dengan waktu tambat 7,76 dan 8,38 menit memberikan nilai $[M]^+ = 595$ yang merupakan berat molekul sianidin-3-rutinosida. (Zafra-Stone *et al.*, 2007)

Sianidin-3-O-glukosida dan sianidin-3-rutinosida merupakan jenis antosianin yang paling dominan pada buah murbei. Secara keseluruhan berdasarkan pustaka, 64% antosianin buah murbei merupakan sianidin-3-O-glukosida dan 35% adalah sianidin-3-rutinosida (Ştefănuţ *et al.*, 2011). Hasil KCKT seperti Gambar 5 menunjukkan adanya 2 antosianin

dominan yang terkandung pada masing-masing murbei. Perbandingan intensitas dari dua puncak dominan ini berkisar 4 : 1 atau 5 : 1. Dari hasil penelusuran pustaka tersebut, diprediksi komponen antosianin dominan pada dua spesies murbei yaitu sianidin-3-O-glukosida dan sianidin-3-rutinosida (Qin *et al.*, 2010). Walaupun pada penelitian ini λ_{maks} *M. alba* sedikit bergeser dari pustaka acuan, namun dengan kolom XR-ODS, yang diharapkan muncul pertama kali adalah komponen-komponen yang polar termasuk sianidin-3-O-glukosida dan sianidin-3-rutinosida. Pergeseran λ_{maks} juga dapat disebabkan karena elusi pelarut bergradien dimana pada penelitian ini menggunakan 5% pelarut B pada 0,01 menit hingga 25% pelarut B pada saat 15 menit. Pola spektra masing-masing puncak pada penelitian ini juga menyerupai pola spektra dari pustaka acuan (Qin *et al.*, 2010).

Hasil ini dapat dijadikan sebagai acuan dalam pemilihan jenis buah murbei yang diharapkan dapat digunakan sehingga meningkatkan nilai ekonomis murbei. Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa sianidin-3-O-glukosida dan

Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Rehmadanta Sitepu dkk)

sianidin-3-rutinosida memiliki efek dalam menghambat migrasi dan invasi sel kanker paru-paru manusia (Chen *et al.*, 2006). Penelitian terbaru yang dilakukan di Indonesia menunjukkan adanya efek antibakteri buah murbei terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae* (Hastuti *et al.*, 2012). Penelitian untuk menentukan kualitas kandungan antosianin buah murbei di beberapa daerah di Indonesia juga diperlukan untuk melihat potensi daerah yang dapat memberikan jumlah kandungan antioksidan yang lebih banyak. Penelitian dengan tujuan ini hanya dilakukan di Makassar untuk menentukan determinasi *M. alba* di beberapa lokasi di Makassar dengan menggunakan spektroskopi *Fourier Transform-Infra Red* (FT-IR) (Syahrani *et al.*, 2016). Dari beberapa referensi ini dapat disimpulkan bahwa pemanfaatan dan penelitian murbei di Indonesia dalam lingkup farmasi masih terbatas, sehingga diperlukan penelitian yang lebih komprehensif untuk mengali potensi farmakologi buah ini sehingga dapat meningkatkan pemanfaatannya di bidang kesehatan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Ma Chung yang memberikan dana untuk penelitian ini dalam bentuk skema Penelitian Dosen Pemula Universitas Ma Chung. Terima kasih kepada Puslitbang Peningkatan Produktivitas Hutan (Pusprohut), Bogor, Provinsi Jawa Barat yang memberikan sampel buah murbei.. Terima kasih kepada Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigmen (MRCPP) dimana penelitian ini dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aramwit, P., Bang, N. & Srichana, T., 2010. The Properties and Stability Of Anthocyanins In Mulberry Fruits. *Food Research International*, 43(4), pp.1093–1097. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.01.022>.
- Arfan, M. et al., 2012. Antioxidant Activity Of Mulberry Fruit Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, pp.2472–2480.
- Castañeda-Ovando, A. et al., 2009. Chemical Studies Of Anthocyanins: A Review. *Food Chemistry*, 113(4), pp.859–871. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>.
- Chen, P.N. et al., 2006. Mulberry Anthocyanins, Cyanidin 3-Rutinoside And Cyanidin 3-Glucoside, Exhibited An Inhibitory Effect On The Migration And Invasion Of A Human Lung Cancer Cell Line. *Cancer Letters*, 235(2), pp.248–259.

Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Rehmadanta Sitepu dkk)

- Du, Q., Zheng, J. & Xu, Y., 2008. Composition Of Anthocyanins In Mulberry And Their Antioxidant Activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(5), pp.390–395.
- Gardana, C. et al., 2014. Bilberry Adulteration: Identification and Chemical Profiling of Anthocyanins by Different Analytical Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(45), pp.10998–11004.
- Ge, Q. & Ma, X., 2013. Composition And Antioxidant Activity Of Anthocyanins Isolated From Yunnan Edible Rose (An ning). *Food Science and Human Wellness*, 2(2), pp.68–74. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213453013000244> [Accessed January 14, 2015].
- Hassimotto, N.M. a., Genovese, M.I. & Lajolo, F.M., 2007. Identification and Characterisation of Anthocyanins from Wild Mulberry (*Morus Nigra* L.) Growing in Brazil. *Food Science and Technology International*, 13, pp.17–25.
- Hastuti, U.S. et al., 2012. DAYA Antibakteri Ekstrak Daun Dan Buah Murbei (*Morus alba* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 9(1), pp.529–534.
- Huang, H.P. et al., 2011. Anthocyanin-Rich Mulberry Extract Inhibit The Gastric Cancer Cell Growth In Vitro And Xenograft Mice By Inducing Signals of P38/P53 And C-Jun. *Food Chemistry*, 129(4), pp.1703–1709. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.035>.
- Liu, X. et al., 2004. Quantification and Purification of Mulberry Anthocyanins with Macroporous Resins. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 5(5), pp.326–331. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1082888&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Lopes-Da-Silva, F. et al., 2002. Identification of Anthocyanin Pigments In Strawberry (cv Camarosa) by LC Using DAD and ESI-MS Detection. *European Food Research and Technology*, 214, pp.248–253.
- Özgen, M., Serçe, S. & Kaya, C., 2009. Phytochemical and Antioxidant Properties of Anthocyanin-Rich *Morus nigra* and *Morus rubra* Fruits. *Scientia Horticulturae*, 119(3), pp.275–279.
- Qin, C. et al., 2010. Analysis and Characterisation of Anthocyanins In Mulberry Fruit. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(2), pp.117–126.
- Singhal, B.K. et al., 2010. Approaches to Industrial Exploitation of Mulberry (*Mulberry* sp.) Fruits. *J. Fruit Ornamental Plant Res.*, 18(1), pp.83–99.
- Ștefănuț, M.N. et al., 2011. Anthocyanins HPLC-DAD and MS Characterization, Total Phenolics, and Antioxidant Activity of Some Berries Extracts. *Analytical Letters*, 44(18), pp.2843–2855. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032719.2011.582550>.
- Umar, A., Syahrini, R., Burhan, A., Maryam, F., & Masero, L. R. (2016). Determinasi Dan Analisis Finger Print Tanaman Murbei (*Morus alba* Lour) Sebagai Bahan Baku Obat Tradisional Dengan Metode Spektroskopi FT-IR dan Kemometrik. *Pharmakon*, 5(1), 78–90.
- Wu, X. et al., 2011. Aqueous Two-Phase Extraction, Identification and Antioxidant Activity of Anthocyanins From Mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.). *Food Chemistry*, 129(2), pp.443–453. Available at:

Karakterisasi Antosianin Buah Murbei Spesies *Morus alba* dan *Morus cathayana* di Indonesia

(Rehmadanta Sitepu dkk)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.097>.

Zafra-Stone shirley, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA, Bagchi D. Anthocyanins--occurrence, chemistry extraction and. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51:675-683.

doi:10.3390/ijms13022472.

Zhang, W. et al., 2011. Separation and Character Analysis of Anthocyanins From Mulberry (*Morus alba* L.) Pomace. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(3), pp.268–276.

Zhao, Y. (Ed.), 2007. Berry Fruit: Value-Added Products For Health Promotion. CRC Press, Boca Raton.