



SEMINAR NASIONAL PENDIDIKAN SAINS
“Pengembangan Model dan Perangkat Pembelajaran
untuk Meningkatkan Kemampuan Berpikir Tingkat Tinggi”
Magister Pendidikan Sains dan Doktor Pendidikan IPA FKIP UNS
Surakarta, 19 November 2015



**MAKALAH
PENDAMPING**

**Artikel Penelitian
Bidang Fisika, Kimia,
Biologi, dan IPA
(Murni)**

ISSN: 2407-4659

**DETEKSI GAMMA AMINO BUTYRIC ACID (GABA)
PADA DAUN *Artocarpus altilis***

Meti Indrowati¹, Pudji Astuti², Rarastoeti Pratiwi³, Rumiyati⁴

¹*Pendidikan Biologi Universitas Sebelas Maret*

²*Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada*

³*Biologi Universitas Gadjah Mada*

⁴*Farmasi Universitas Gadjah Mada*

Email korespondensi : metiindrowati@staff.uns.ac.id

Abstrak

Senyawa aktif Gamma Amino Butyric Acid (GABA) merupakan asam amino yang terdapat di otak mammalia dan berperan sebagai neurotransmitter. Selain pada sistem saraf pusat, GABA juga terdapat dalam konsentrasi tinggi di sel β pankreas serta memiliki potensi sebagai antidiabetes. GABA dapat disintesis oleh hewan, bakteri asam laktat dan tumbuhan. Penelitian dilakukan dengan tujuan mendeteksi keberadaan GABA dalam bagian tumbuhan yaitu daun *Artocarpus altilis*. Deteksi dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam plat silika, fase gerak BAW(3:1:1), dan GABA murni sebagai pembanding. Larutan GABA dibuat dengan pelarut etanol:air (7:3). Hasil penelitian menunjukkan GABA terdeteksi pada ekstrak daun *Artocarpus altilis*.

Kata kunci : GABA, KLT, daun *Artocarpus altilis*

I. PENDAHULUAN

Senyawa *Gamma Amino Butyric Acid* atau GABA merupakan asam amino non protein dengan struktur umum $H_2N(CH_2)-CO_2H$ (Anju *et al.*, 2014) yang terdapat pada tumbuhan (Roberts, 2007), bakteri asam laktat (Kook & Cho, 2013) serta hewan (Luscher & Keller, 2004). Pada Mammalia, GABA merupakan neurotransmitter utama sistem saraf pusat (Kittler & Moss, 2003), berperan sebagai sinaps inhibitor (Gottlieb, 1988) dengan menginduksi

reseptor GABA_A sehingga menyebabkan hiperpolarisasi membran pascasinaps (Zimmermann, 1993 ; Luscher & Keller, 2004). Selain pada sistem saraf pusat, GABA juga terdapat dalam konsentrasi tinggi pada sel β pankreas bersama insulin tapi dalam vesikel berbeda (Franklin & Wollheim, 2004). GABA pankreas memiliki keterkaitan dengan diabetes dalam hal menjaga kondisi homeostasis glukosa (Taneera *et al.*, 2012) serta melibatkan insulin dan glukagon dalam regulasinya (Wang *et al.*, 2013). Selain berpotensi sebagai antidiabetes, GABA diketahui memiliki kemampuan menurunkan tekanan darah pada tikus (Hayakawa *et al.*, 2004) dan manusia (Noguchi *et al.*, 2007).

Keberadaan GABA pada tumbuhan pertama kali diketahui berada pada umbi kentang. Penelitian selanjutnya melaporkan bahwa GABA juga diketahui terdeteksi pada buah *Solanum lycopersicum* dan beras hitam (Akihiro *et al.*, 2008). Meskipun demikian, masih banyak tumbuhan yang belum diteliti dalam aspek deteksi GABA. Informasi hasil deteksi GABA pada tumbuhan dapat menjadi landasan penelitian lanjut terkait implikasi manfaat GABA secara komprehensif.

Sebagai komponen asam amino, GABA dapat dipisahkan diantaranya dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan GABA dalam tumbuhan yaitu daun *Artocarpus sp.* dengan metode KLT. Genus *Artocarpus* merupakan anggota dari famili *Moraceae*, yang terdiri dari beberapa spesies diantaranya *Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg atau sukun. Daun spesies tersebut secara tradisional dipercaya memiliki khasiat sebagai antidiabetes (Ragone, 1997). Hasil penelitian diharapkan dapat memberi informasi bagaimana GABA dapat dideteksi keberadaannya dalam daun *A. altilis*.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan bahan utama yaitu daun *A. altilis*, GABA murni dari Sigma, ninhidrin, etanol, n-butanol, asam asetat glasial dan akuades.

Sampel daun *A. altilis* dibuat dalam bentuk ekstrak etanol 50%. Pembuatan ekstrak etanol menggunakan metode maserasi dimana serbuk daun dimaserasi etanol 50%, disaring dengan corong Buchner hingga didapat filtrat dan residu, residu dimaserasi ulang 3 kali, filtrat dievaporasi dan hasil evaporasi dikeringkan dalam oven suhu 40°C selama 24 jam. Ekstrak etanol dilarutkan dengan CMC. Preparasi larutan standar dilakukan dengan pembuatan larutan stok GABA yaitu 10 mg GABA dilarutkan dalam 10 ml etanol-air (7:3).

Deteksi GABA dalam daun *A. altilis* menggunakan metode KLT dengan fase diam plat silika (*TLC plates silica gel 60 F 254*). Larutan standar GABA serta sampel ditotolkan pada plat menggunakan syringe 100 μ l. Plat dikembangkan dalam chamber berisi fase gerak berupa 40 ml BAW 3:1:1 selama 90 menit. Plat diangkat, dimasukkan oven 40 C selama 10 menit. Plat disemprot dengan ninhidrin dan dikeringkan dengan *hairdryer* dingin. Plat diamati pada sinar tampak dan sinar UV sebelum dan sesudah spray ninhidrin.

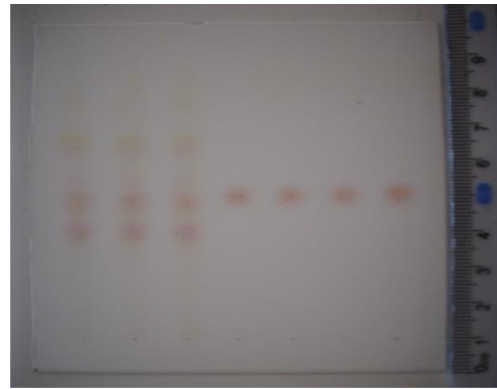
III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mendeteksi GABA dalam daun *A. Altilis*. Metode KLT atau *Thin Layer Chromatography* (TLC) merupakan metode analitik yang umum dipergunakan dalam deteksi asam amino, disamping metode lain seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), *Gas Chromatography* (GC) dan *Capillary Electrophoresis* (CE). Tahapan KLT utamanya terdiri dari penotolan (*spotting*), pemisahan/pengembangan (*separating*), pengeringan (*drying*), penyemprotan (*spraying*) dan pengembangan warna (*color development*) (Qiu *et al.*, 2010).

Deteksi GABA pada daun *A.altilis* menggunakan sampel daun yang dibuat dalam bentuk ekstrak etanol 50%. Pengamatan hasil KLT dilakukan pada tahap sebelum dan sesudah penyemprotan ninhidrin. Hasil KLT diamati dibawah sinar tampak, UV 254 dan UV 366 nm. Hasil KLT GABA ekstrak etanol daun *A.altilis* terdapat pada gambar berikut :

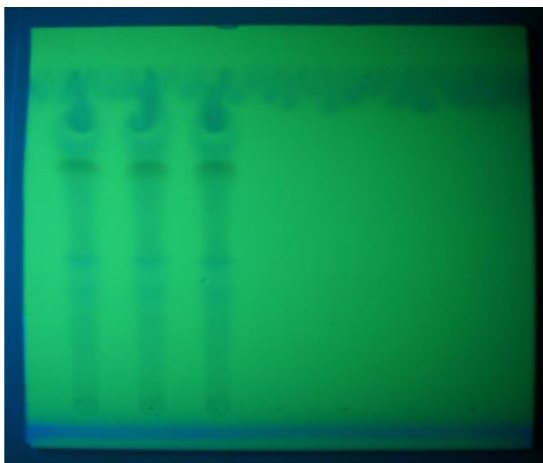


a. Sebelum spray ninhidrin

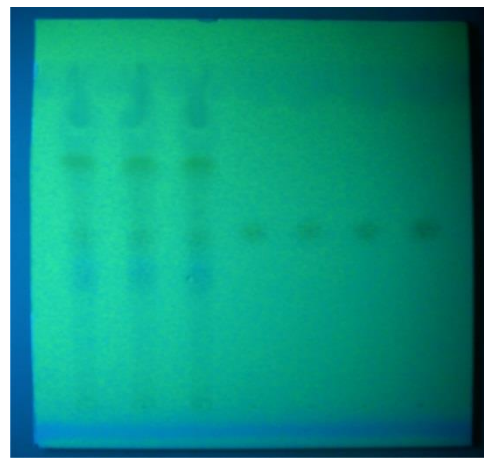


b. Setelah spray ninhidrin

Gambar 1. Hasil KLT GABA ekstrak etanol daun *A.altilis* pada sinar tampak

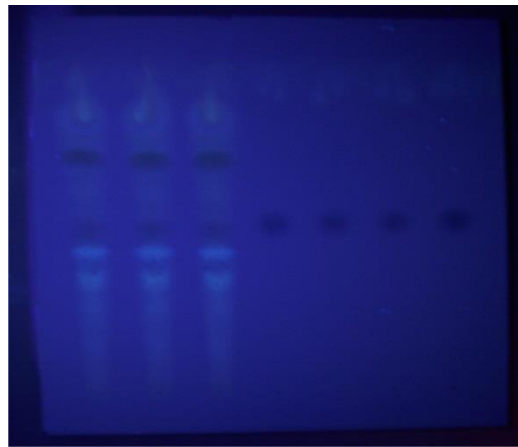
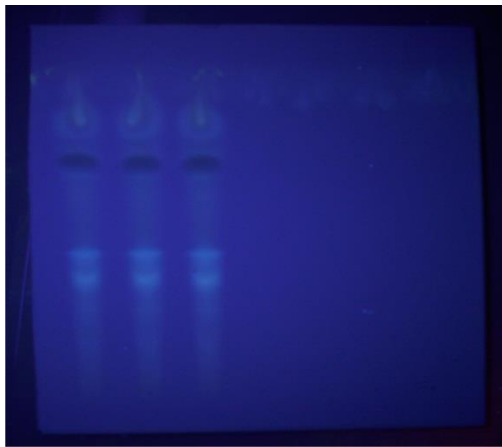


a. Sebelum spray ninhidrin



b. Setelah spray ninhidrin

Gambar 2. Hasil KLT GABA ekstrak etanol daun *A.altilis* pada sinar UV 254 nm



a. Sebelum spray ninhidrin

b. Setelah spray ninhidrin

Gambar 3. Hasil KLT GABA ekstrak etanol daun *A. altilis* pada sinar UV 266 nm

Pada KLT GABA pada ekstrak etanol daun *A. altilis*, GABA murni ditotolkan 4 kali dengan volume penotolan 0,25 mg, 0,50 mg, 1 mg dan 2 mg. Sampel ekstrak etanol daun *A. altilis* ditotolkan 3 kali dengan volume penotolan 100 μ l. Berdasar hasil pengamatan profil kromatogram KLT GABA pada ekstrak etanol daun *A. altilis*, GABA terdeteksi pada sampel dengan penampakan bercak pada rata-rata Rf 0,49. Bercak baru terdeteksi setelah plat disemprot dengan ninhidrin, baik pada pengamatan di bawah sinar tampak (Gambar 1.), sinar UV 254 (Gambar 2) dan sinar UV 256 (Gambar 3.).

Sementara itu, Rediatning dan Kartini (1987) melaporkan hasil penelitiannya tentang analisis asam amino dimana GABA merupakan salah satu jenis asam amino. Detektor ultra lembayung sinar tampak atau detektor fluoresensi dapat digunakan untuk mendeteksi asam amino. Senyawa yang sering digunakan sebagai pereaksi untuk derivatisasi adalah OPA o-ftaladehida / ETSH etantiol dan OPA/2-ME. Pereaksi ini dengan asam amino dapat membentuk derivat iso-indol yang berfluoresensi kuat sehingga dapat terdeteksi oleh detektor fluoresensi.

Dalam laporannya, Kook & Cho (2013) menyebutkan bahwa TLC *Thin Layer Chromatography* dan RP-HPLC *Reverse Phase High Performance Layer Chromatography* digunakan untuk analisis GABA secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis GABA kualitatif menggunakan TLC dengan pengembang BAW n-buthanol-acetic acid-H₂O 5:3:2 atau 4:1:1 sebagai fase gerak dan plat sebagai fase diam. Larutan ninhidrin 0,2% (w/v-ethanol) digunakan sebagai reagen pewarna. GABA standar akan terdeteksi dengan ninhidrin sebagai bercak/spot merah setelah plat dikeringkan pada suhu 60°C setelah penyemprotan dengan reagen ninhidrin. Spot GABA terdeteksi dengan jelas menggunakan 1 μ L sampel yang telah dihilangkan fraksi solidnya melalui sentrifugasi .

Sementara itu Kim *et al.*, (2009) juga melakukan analisis GABA dan dideteksi dengan UV detektor pada panjang gelombang 280 nm. Anju *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa deteksi GABA pada tanaman yaitu *Solanum torvum*

dan *Zingiber officinale* dapat dilakukan dengan HPTLC dengan fase gerak BAW 5:2:2.

Dalam penelitian ini etanol -air (7:3) terbukti efisien sebagai pelarut GABA. Hal ini dimungkinkan karena pelarut tersebut mengandung cukup alkohol yang dapat menguap selama proses pengeringan. Selain itu fase gerak BAW 3:1:1 juga terbukti dapat digunakan sebagai pengembang untuk deteksi GABA pada daun *A. altilis* dengan KLT dimana GABA terdeteksi dalam bentuk bercak merah setelah disemprot ninhidrin.

IV. PENUTUP

Berdasar hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa GABA terdeteksi pada ekstrak daun *Artocarpus altilis* melalui metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam plat silika dan fase gerak BAW (3:1:1). Analisa GABA dalam bahan alam dapat dilakukan dengan KLT untuk analisa kualitatif dan HPLC untuk analisa kuantitatifnya atau simultan di antara keduanya. Penelitian lanjut tentang kandungan GABA dalam bahan alam dan pemanfaatannya masih perlu dilakukan untuk mendapat informasi lebih komprehensif tentang berbagai potensi GABA.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Akihiro, T., Koike, S., Tani, R., Tominaga, T., Watanabe, S., Iijima, Y., & Ezura, H. (2008). Biochemical mechanism on GABA accumulation during fruit development in tomato. *Plant and Cell Physiology*, 49(9), 1378-1389.
- Anju, P., Moothedath, I., and Shree, A.B.R. 2014. Gamma Amino Butyric Acid accumulation in medicinal plants. *Anc Sci Life*. 34(2): 68-72.
- Franklin, I.K. and Wollheim, C.B. 2004. GABA in the endocrine pancreas : its putative role as an islet cell paracrine-signalling molecule. *J Gen Physiol*. 123: 185-190.
- Gottlieb, D.I. 1988. GABAergic Neuron. *J. Physiol*. 258 (2): 82-89.
- Hayakawa, K., Kimura, M., Kasaha, K., Matsumoto, K., Sansawa, H., & Yamori, Y. (2004). Effect of a γ -aminobutyric acid-enriched dairy product on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. *British Journal of Nutrition*, 92(03), 411-417.
- Kim, J., Richter, W., Aanstoot, H., Shi, Y., Fu, Q., Rajotte, R., Kook, M.C. and Cho, S.C. 2013. Production of GABA (gamma amino butyric acid) by lactic acid bacteria. *Korean J.Food Sci. An*. 33(3): 377-389.
- Kook, M.C. and Cho, S.C.. 2013. Production of GABA (gamma amino butyric acid) by lactic acid bacteria. *Korean J.Food Sci. An*. Vol 33 (3): 377-389
- Luscher, B. and Keller, C.A. 2004. Regulation of GABA_A receptor trafficking , channel activity, and functional plasticity of inhibitory synapses. *Pharmacology and Therapeutics*. 102(3): 195-221.

- Noguchi, T., Nakamura, K., Nagai, T., Katsuda, S. I., & Koga, H. (2007). Antihypertensive effects of GABA-enriched potato snacks in spontaneously hypertensive rats. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Japan)*.
- Qiu, T., Li, H., & Cao, Y. (2010). Pre-staining thin layer chromatography method for amino acid detection. *Afr J Biotechnol*, 9, 8679-8681.
- Ragone, D. 1997. *Breadfruit Artocarpus altilis (Parkinson) Fosberg. Promoting the Conservation and use of under utilized and neglected crops 10*. Rome : IPGRI Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research.
- Rediatning dan Kartini. 1987. Analisis Asam amino dengan Kromatografi Cairan Kinerja tinggi secara Derivatisasi Prakolom dan Pascakolom. *Proceeding ITB*. 20: 41-59.
- Taneera J., Jin, Z., Jin, Y., Muhammed, S.J., Zhang, E., Lang, S., Salehi, A., Korsqren, O., Renstrom, O., Groop, L. and Birnir, B. 2012. γ -aminobutyric acid (GABA) signalling in human pancreatic islet is altered in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 55(7):1985-1994.
- Wang, Q., Liang, X., and Wang, S. 2013. Intra islet glucagon secretion and action in the regulation of glucose homeostasis. *Front Physiol*. Review Article. Published 03 Jan 2013. DOI : 10.3389/fphys.2012.00485

PERTANYAAN

No	Penanya /instansi	Pertanyaan	Jawaban
1.	Dr. Agung Abadi Kiswandono M. Sc / Universitas Prima Medan	Gaba : ekstrak kasar etanol KLT dengan ekstrak kasar belum maksimal. Dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi?	BAW perbandingan 3:1:1 untuk bahan pengembangnya. Saran :Spektroskopi massa menjadi struktur GABA