



**ANALISIS KANDUNGAN SENYAWA LINAMARIN UMBI SINGKONG  
(*Manihot esculenta*) PADA BEBERAPA VARIETAS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Elok Bashirah Yuliana**  
**131710101090**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**ANALISIS KANDUNGAN SENYAWA LINAMARIN UMBI SINGKONG  
(*Manihot esculenta*) PADA BEBERAPA VARIETAS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Elok Bashirah Yuliana**  
**131710101090**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memnuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk :

1. Allah SWT, puji syukur atas segala rahmat dan nikmatNya yang telah memudahkan segala urusan sampai detik ini, semoga hamba mendapat ampunanNya dan diberi petunjuk agar selalu berada pada jalanMu.
2. Nabi Muhammad SAW, tauladan satu-satunya yang telah membimbing umat manusia menjadi khalifah di bumi untuk mencapai kebahagiaan dunia dan akhirat.
3. Orangtua tercinta, ibu Busani dan bapak Syukran terimakasih atas kasih sayang, doa dan dukungannya, sehingga dapat mengantarkan saya sampai jenjang ini.
4. Nenek Jami dan Kakek Alm. Manu terimakasih atas perhatian, kasih sayangnya, dukungan dan doanya.
5. Adik kesayangan Faris Dwi Yulianto terimakasih atas dukungan dan do'anya. Harus lebih baik dari kakak.
6. Seluruh keluarga besar terimakasih atas dukungan dan do'anya.
7. DPU Prof. Ir. Achmad Subagio M.Agr P.hD, DPA Nurul Isnaini Fitriyana S.TP M.P dan DPA mulai semester satu yaitu Wiwik Siti Windrati S.TP M.P.
8. Guru-guruku dari SDN Bago, SMPN 2 Besuk, SMAN 1 Kraksaan sampai dengan perguruan tinggi.
9. Seluruh kerabat, sahabat. Teman satu angkatan FTP 2013, Himagihasta FTP Universitas Jember.
10. Almamater Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

**MOTTO**

Allah akan meninggikan derajat orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang memiliki ilmu pengetahuan (Al-Mujadillah : 11)\*

Atau

Barang siapa menginginkan kebahagiaan didunia dan diakhirat maka haruslah memiliki banyak ilmu (HR. Ibnu Asakir)\*\*

Atau

Orang yang menuntut ilmu berarti menuntut rahmat, orang yang menuntut ilmu berarti menjalankan rukun Islam dan pahala yang diberikan sama dengan para Nabi (HR. Dailani dari Anas r.a)\*\*\*

Atau

Dengan kecerdasan jiwalah manusia menuju arah kesejahteraan. (Ki Hajar Dewantara)\*\*\*\*

---

\* ) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang : PT. Kumudasmoro Grafindo.

\*\* ) Departemen Agama Republik Indonesia. 1997. *Hadits dan Terjemahannya*. Jakarta : Direktorat Jenderal Pembinaan Kelembagaan Agama Islam.

\*\*\* ) Departemen Agama Republik Indonesia. 1997. *Hadits dan Terjemahannya*. Jakarta : Direktorat Jenderal Pembinaan Kelembagaan Agama Islam.

\*\*\*\* ) Ki Hajar Dewantara. 2017. Kata Mutiara Tentang Pentingnya Ilmu. Srial on line. <http://www.duniakata.com/2014/11/45-kata-mutiara-tentang-pentingnya-ilmu.html>. [17 Juli 2017].

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Elok Bashirah Yuliana

NIM : 131710101090

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Analisis Kandungan Senyawa Linamarin Umbi Singkong (*Manihot esculenta*) Pada Beberapa Varietas” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali dalam kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan dalam institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harusnya dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 Juli 2017

Yang menyatakan,

Elok Bashirah Yuliana

NIM 131710101090

SKRIPSI

ANALISIS KANDUNGAN SENYAWA LINAMARIN UMBI SINGKONG  
(*Manihot esculenta*) PADA BEBERAPA VARIETAS

oleh :

**Elok Bashirah Yuliana**  
**NIM 131710101090**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr., P.hD

Dosen Pembimbing Anggota : Nurul Isnanini Fitriyana, S.TP., MP

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Analisis Kandungan Senyawa Linamarin Umbi Singkong (*Manihot esculenta*) Pada Beberapa Varietas” karya Elok Bashirah Yuliana, NIM 131710101090 telah diujikan dan disahkan pada

hari / tanggal :

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr.,P.hD  
NIP. 1969051719922011001

Ketua

Nurul Isnaini Fitriyana, S.TP.,M.P  
NIP. 197809202012122001

Anggota

Tim Penguji

Dr. Puspita Sari S.TP., M.Ph  
NIP. 197203011998022001

Miftahul Choiron ST.P.,M.Sc  
NIP. 198503232008011002

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng  
NIP 196809231994031009

## RINGKASAN

**Analisis Kandungan Senyawa Linamarin Umbi Singkong (*Manihot esculenta*) Pada Beberapa Varietas;** Elok Bashirah Yuliana, 131710101090; 2017; 58 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Produksi singkong yang melimpah selain dapat digunakan sebagai makanan pokok, bahan baku pembuatan tapioka, MOCAF, dan lain sebagainya (Hartati *et al.*, 2008). Singkong juga berpotensi digunakan sebagai pangan fungsional karena memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berbeda dengan umbi lainnya yaitu terdapat senyawa glukosida sianogenik yang terdiri dari linamarin 93% (*2-β-D-glucopyranosyloxy-2-methylpropanenitrile*) dan lotaustralin 7% (*2R)-2-β-D-glucopyranosyloxy-2-methylbutyronitrile*) yang dapat digunakan untuk terapi pengobatan kanker. Singkong dilaporkan mengandung nitrilosida linamarin antara 25-1830 mg/kg. Akan tetapi adanya varietas singkong yang berbeda-beda menunjukkan perbedaan kandungan linamarin yang berkisar antara 25-450 ug ekuivalen sianida/g.

Penelitian ini yang dilakukan yaitu preparasi bahan sampai mendapatkan umbi singkong bersih tanpa kulit, kemudian memproduksi ekstrak singkong kasar, dan setelah itu melakukan ekstraksi senyawa linamarin. Selanjutnya dianalisis HCN pada umbi singkong segar. Sampel linamarin dianalisis FTIR untuk mengetahui ketidakstabilan senyawa. Identifikasi dengan LC-MS/MS untuk mengidentifikasi senyawa linamarin dan senyawa non linamarin yang terdapat pada sampel dengan konsentrasi tertentu.

Hasil penelitian pengujian HCN pada umbi singkong segar mulai dari konsentrasi tertinggi sampai terendah. Konsentrasi HCN dalam *wet basis* pada varietas Malang-4 sebesar 67,63 ppm. Pada varietas Malang-6 sebesar 58,42 ppm. Pada singkong varietas Kaspro sebesar 44,04 ppm. Varietas Ketan sebesar 14,71 ppm. Varietas Cimanggu sebesar 11,54 ppm. Varietas Mentega sebesar 10,83 ppm.

Hasil identifikasi keberadaan senyawa dengan TIC (*Total Ion Chromatography*), menunjukkan bahwa senyawa-senyawa lain (non linamarin) yang terdapat pada ekstrak sampel hanya sebagian kecil. Kandungan senyawa pada ekstrak sampel yang diekstraksi sebagian besar senyawa linamarin. Hal ini dapat dibuktikan dengan terdapatnya luas area senyawa yang paling besar dengan RT (*Retention Time*) 0,92-0,94 menit, sedangkan senyawa-senyawa lain yang muncul hanya sebagian kecil dengan luas area sangat kecil.

Hasil dari spektrum massa senyawa linamarin, menunjukkan terdapatnya komponen-komponen pecahan linamarin yang tersusun atas senyawa dengan berat molekul 18 m/z, 67 m/z dan 179 m/z. Senyawa linamarin tersusun atas senyawa dengan berat molekul 67 m/z dan 179 m/z (Lopes *et al.*, 2015), sedangkan senyawa dengan berat molekul 18 m/z merupakan pelarut jenis NH<sub>4</sub> yang digunakan dalam metode identifikasi senyawa linamarin LC-MS/MS.

Berdasarkan *retention time* yang didapat terhadap semua sampel senyawa linamarin 1 teridentifikasi pada RT 0,92-0,96 menit dan pada senyawa linamarin 2 teridentifikasi pada RT 1,16-1,32 menit. Sedangkan senyawa lotaustralin teridentifikasi pada RT 1,34-1,45 menit. Adanya perbedaan *retention* pada



senyawa linamarin 1 dan 2 disetiap sampelnya hal ini dikarenakan adanya perbedaan afinitis pada sampel terhadap fase diam.

Hasil FTIR senyawa linamarin pada singkong varietas Malang-6 terdapat bilangan gelombang pita alifatik yaitu O-H, C-H, C-O dan  $C\equiv N$  dapat tervibrasi, sedangkan CN amida tidak dapat tervibrasi. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya perubahan atau penguraian selama proses pembuatan sampel, sehingga struktur molekul linamarin pada singkong tetap seperti semula. Namun terdapat perbedaan nilai bilangan gelombang yang dihasilkan dari sampel linamarin. Mekanisme degradasi pita alifatik senyawa linamarin dapat teridentifikasi dengan adanya pelepasan unsur- unsur O-H (Idibie, 2006) sampai pembentukan CN amida (Mingi *et al.*, 1992).

Berdasarkan perhitungan dengan *spike* glukosa, konsentrasi senyawa linamarin yang ekuivalen dengan glukosa dalam umbi singkong segar mulai dari tertinggi sampai terendah yaitu : singkong varietas Malang-4 pada linamarin 1 sebesar 14.300,81 ppm dan linamarin 2 sebesar 2.655,73 ppm. Pada singkong varietas Malang-6 linamarin 1 sebesar 4.630,08 ppm dan linamarin 2 939,17 ppm. (pada varietas Kaspro linamarin 1 sebesar 1.450,72 ppm dan linamarin 2 sebesar 674,30 ppm. Singkong varietas Ketan linamarin 1 sebesar 1.481,00 ppm dan linamarin 2 sebesar 662,33 ppm. Pada varietas Cimanggu linamarin 1 sebesar 1.147,06 ppm dan linamarin 2 sebesar 545,52 ppm. Pada varietas Mentega linamarin 1 sebesar 24,37 ppm dan linamarin 2 sebesar 81,20 ppm. Kandungan senyawa linamarin ekuivalen dengan glukosa disetiap varietas berbeda-beda. Adanya perbedaan kandungan senyawa linamarin ini dikarenakan perbedaan laju biosintesis, degradasi dan laju transport (Elias *et al.*, 1991), serta perbedaan kondisi lingkungan dan cara budidaya tanaman singkong (Bradbury, 1991).

## SUMMARY

**Analysis of Linamarin Compounds of Cassava Bulbs (*Manihot esculenta*) in Some Varieties;** Elok Bashirah Yuliana, 131710101090; 2017; 58 pages; Department of Agricultural Product Technology Faculty of Agricultural Technology University of Jember.

Abundant cassava production can be used as staple food, raw material for tapioca production, MOCAF, and others (Hartati et al., 2008). Cassava is also potentially used as a functional food because it contains different bioactive compounds with other tubers ie there are cyanogenic glucoside compounds consisting of 93% linamarin (2- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy-2-methylpropanenitrile) and lotaustralin 7% (2R) -2 -  $\beta$  -D-glucopyranosyloxy-2- methylbutyronitrile) which can be used for cancer treatment therapies. Cassava is reported to contain linamarine nitrilosides between 25-1830 mg / kg. However, the presence of different varieties of cassava shows differences in linamarin content ranging from 25-450 ug equivalent to cyanide / g.

This research is done that is preparation of the ingredients to get the cassava bulbs clean without skin, then produce the crude cassava extract, and after that do the extraction of linamarin compound.

Further analyzed HCN on fresh cassava tubers. Linamarin samples were analyzed by FTIR to determine the instability of the compound. Identification with LC-MS / MS to identify linamarin compounds and non-linamarin compounds contained in samples of specific concentrations. The results of HCN testing on fresh cassava tubers ranging from highest concentration to terndah. HCN concentration in wet base on Malang-4 variety was 67,63 ppm. In Malang-6 varieties 58,42 ppm. In the case of Kaspro varieties of 44.04 ppm. Glutinous varieties of 14.71 ppm. Cimanggu varieties of 11.54 ppm. Varieties of Butter is 10,83 ppm.

The results of identification of the presence of compounds with TIC (Total Ion Chromatography), showed that the other compounds (non linamarin) contained in the sample extract only a small part. The compound content of extracted samples extracted most of linamarin compounds. This is evidenced by the largest area of the compound with RT (Retention Time) 0.92-0.94 minutes, while other compounds that appear only a small area with a very small area.

The results of the mass spectrum of linamarin compounds, indicating the presence of linamarin fractional components composed of compounds with molecular weight of 18 m / z, 67 m / z and 179 m / z. Linamarin compounds are composed of compounds with molecular weight of 67 m / z and 179 m / z (Lopes et al., 2015), whereas the compound with molecular weight of 18 m / z is the type of NH<sub>4</sub> solvent used in the linamarin compound identification method LC-MS / MS.

Based on the retention time obtained on all samples of linamarin 1 compound was identified at RT 0.92-0.96 min and on linamarin 2 compound was identified at RT 1.16-1.32 min. While the lotaustralin compound was identified at RT 1.34-1.45 minutes. The difference of retention on linamarin 1 and 2

compounds in each sample is due to the difference of affinity in the sample to the stationary phase.

The result of FTIR of linamarin compound on cassava varieties Malang-6 there is aliphatic band wave number that is O-H, C-H, C-O and  $C\equiv N$  can be vibrated, while CN amide can not be vibrated. This shows that there is no change or decomposition during the sample making process, so that the structure of linamarin molecules in cassava remains the same as before. However, there are differences in the value of the wave numbers generated from the linamarin sample. The mechanism of aliphatic ribbon degradation of linamarin compounds can be identified by the release of elements of O-H (Idibie, 2006) to CN amide formation (Mingi et al., 1992).

Based on the calculation with glucose spike, the concentration of linamarin compounds equivalent to glucose in fresh cassava tubers ranging from highest to lowest are: cassava varieties of Malang-4 in linamarin 1 of 14,300,81 ppm and linamarin 2 of 2,655,73 ppm. In cassava varieties Malang-6 linamarin 1 for 4,630,08 ppm and linamarin 2 939,17 ppm. (On varieties of Cashpro linamarin 1 for 1,450,72 ppm and linamarin 2 equal to 674,30 ppm) cassava varieties of ketan linamarin 1 1,481,00 ppm and linamarin 2 662,33 ppm On varieties of Cimanggu linamarin 1 1,147,06 ppm and Linamarin 2 amounting to 545,52 ppm On varieties Linamar butter 1 for 24,37 ppm and linamarin 2 equal to 81,20 ppm Linamarin compound content equivalent to glucose in each varieties different The difference of linamarin compound is due to different rate of biosynthesis, Degradation and transport rate (Elias et al., 1991), as well as differences in environmental conditions and the way cultivation of cassava plants (Bradbury, 1991).

## PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan berkat-Nya yang berlimpah sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Kandungan Senyawa Linamarin Umbi Singkong (*Manihot esculenta*) Pada Beberapa Varietas” dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan starta satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penyusun skripsi ini tidak lepas bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian;
2. Ir. Gyarto, M.Sc selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Dr. Bambang Herry Purnomo, S.TP., M.Si dan Nurud Diniyah, S.TP., M.P selaku Komisi Bimbingan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
4. Prof. Ir. Achmad Subagio, M.Agr, PhD selaku Dosen Pembimbing Utama dan ibu Nurul Isnaini Fitriyana, S.TP, M.P selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan dengan tulus dan sabar dalam penyelesaian skripsi;
5. Ibu Wiwik Siti Windrati, S.TP, M.P selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan saran selama menempuh kuliah sampai selesai;
6. Dr. Puspita Sari, S.TP, M.Phil dan Miftahul Choiron ST.P, M.Sc selaku tim penguji, atas saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;
7. Seluruh dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang telah membimbing dan mendidik untuk menimba ilmu selama kuliah sampai tercapainya gelar sarjana;
8. Seluruh teknisi laboratorium Jurusan Teknologi Hasil Pertanian (Mbak Ketut, Mbak Neni, Pak Mistar, dan Mbak Wim), teknisi Poli Teknik Negeri Malang (Pak Kaliawan) yang telah memberikan masukan dan bantuan selama

penelitian berlangsung di laboratorium, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik;

9. Seluruh staff dan karyawan di lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih atas waktunya dalam memberikan informasi yang dibutuhkan untuk penelitian ini;
10. Kedua orang tua saya, ibu Busani dan bapak Syukran terimakasih atas kasih sayang, doa, dukungan serta moril dan materil untuk dapat menyelesaikan studi ini.
11. Nenek Jami dan Kakek Alm. Manu terimakasih atas perhatian, kasih sayangnya, dukungan dan doanya.
12. Adik kesayangan Faris Dwi Yulianto terimakasih atas dukungan dan do'anya. Harus lebih baik dari kakak.
13. Seluruh kerabat, sahabat. Teman satu angkatan FTP 2013, Himagihasta FTP Universitas Jember.
14. Almamater Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
15. Teman-teman Kapaks yang tetap semangat berjuang bersama-sama dan telah memberikan banyak inspirasi maupun motivasi selama penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun, baik dari isi maupun bentuk susunan penulisannya. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah wawasan bagi semua pihak khususnya pembaca.

Jember, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>MOTTO</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>SUMMARY</b> .....	ix
<b>PRAKATA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTARTABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	2
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Singkong</b> .....	4
<b>2.2 Varietas Singkong</b> .....	5
<b>2.3 Linamarin</b> .....	7
<b>2.4 Efek Fungsional Senyawa Linamarin</b> .....	9
<b>2.5 Teknis Isolasi</b> .....	9
<b>2.6 LC-MS/MS</b> .....	10
<b>2.7 FTIR</b> .....	11
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	12
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	12
<b>3.2 Alat dan Bahan</b> .....	12
3.2.1 Alat Penelitian .....	12
3.2.2 Bahan Penelitian .....	12
<b>3.3 Rancangan Penelitian</b> .....	12
3.3.1 Preparasi Bahan .....	13
3.3.2 Produksi Ekstrak Singkong Kasar .....	13
3.3.3 Ekstraksi Senyawa Linamarin .....	14
<b>3.4 Parameter Pengamatan</b> .....	15
<b>3.5 Prosedur Analisa</b> .....	16
3.5.1 Preparasi Sampel .....	16

3.5.2 Pengujian HCN Pada Singkong Segar .....	16
3.5.3 Analisis Senyawa Linamarin Menggunakan FTIR .....	17
3.5.4 Identifikasi dengan LC-MS/MS .....	17
<b>3.6 Analisa Data .....</b>	<b>19</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>20</b>
<b>4.1 Uji HCN Pada Umbi Singkong Segar .....</b>	<b>20</b>
<b>4.2 Identifikasi Keberadaan Senyawa .....</b>	<b>21</b>
4.2.1 Hasil TIC ( <i>Total Ion Chromatography</i> ) .....	21
4.2.2 Spektrum Massa Senyawa Linamarin .....	22
4.2.3 Hasil Kromatogram Dari Analisis LC-MS/MS .....	22
4.2.4 Analisis Senyawa Linamarin Menggunakan FTIR .....	28
<b>4.3 Konsentrasi Senyawa Linamarin Berdasarkan <i>Spike</i> Glukosa .....</b>	<b>29</b>
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>30</b>
5.1 Kesimpulan .....	30
5.2 Saran .....	30
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>31</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel 3.1 Optimasi Parameter massa MS/MS .....	18
Tabel 4.1 Hasil Pengujian HCN pada Singkong Segar .....	20
Tabel 4.2 Hasil Analisis LC-MS/MS Senyawa Linamarin .....	26
Tabel 4.3 Hasil Analisis LC-MS/MS Senyawa Lotaustralin .....	26
Tabel 4.4 Konsentrasi Senyawa Linamaein Berdasarkan <i>Spike</i> Glukosa .....	29



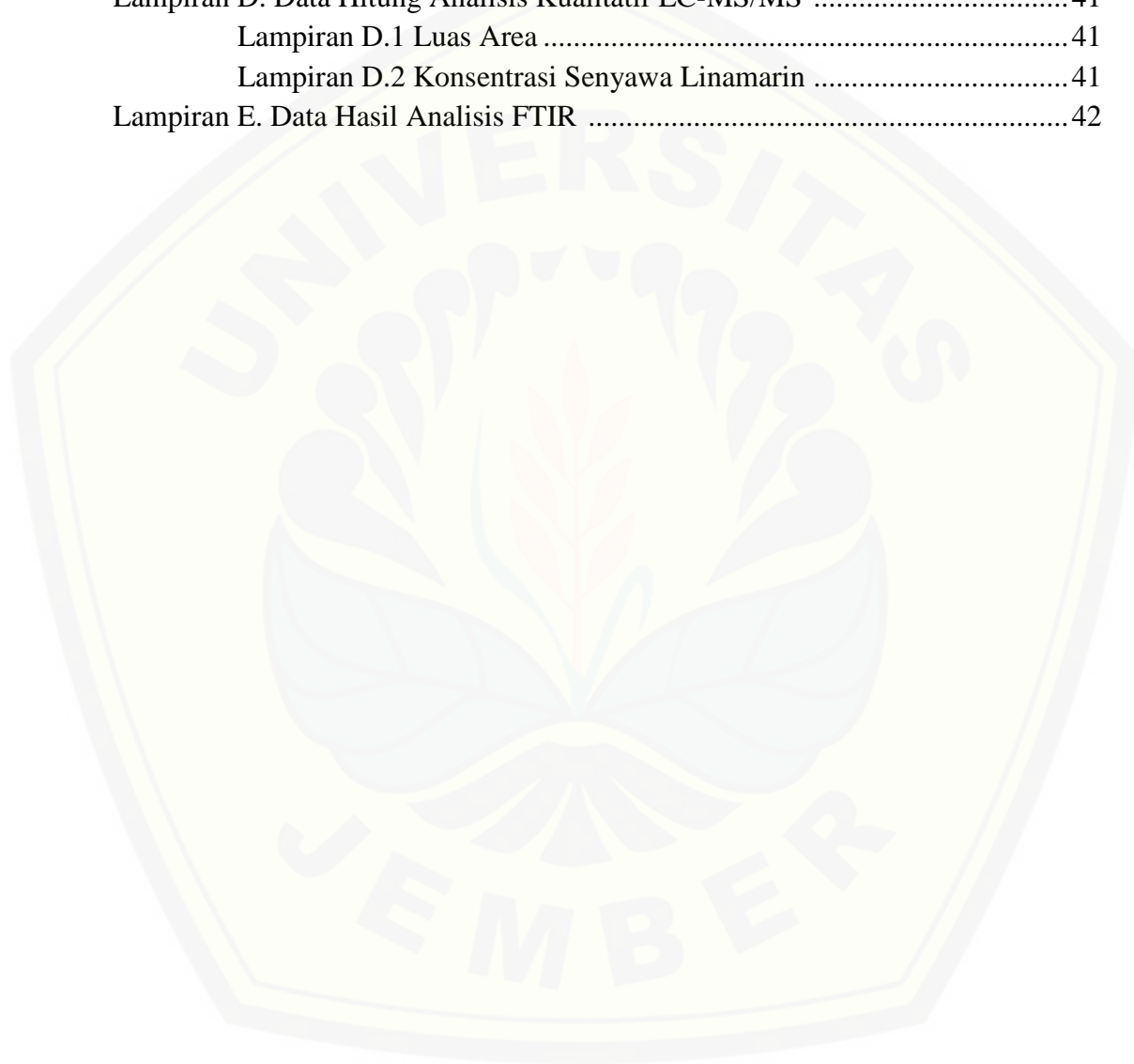


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Umbi Singkong .....	4
Gambar 2.2 Struktur Molekul Senyawa Linamarin .....	7
Gambar 2.3 Hidrolisis Senyawa Linamarin .....	8
Gambar 2.4 Struktur Molekul Senyawa Lotaustralin .....	8
Gambar 2.5 Hidrolisis Senyawa Linamarin dan Lotaustralin .....	8
Gambar 2.6 Alat Vakum Filtrasi .....	10
Gambar 3.1 Preparasi Bahan .....	13
Gambar 3.2 Produksi Ekstrak Singkong Kasar .....	14
Gambar 3.3 Diagram Alir Esktraksi Senyawa Linamarin .....	15
Gambar 3.4 Diagram Alir Pengukuran HCN .....	16
Gambar 3.5 Analisis Senyawa Linamarin dengan FTIR .....	17
Gambar 3.6 Analisis Identifikasi dengan LC-MS/MS .....	18
Gambar 4.1 Hasil TIC Senyawa Linamarin pada Varietas Malang-4 .....	21
Gambar 4.2 Hasil TIC Senyawa Linamarin pada Varietas Kaspro .....	21
Gambar 4.3 Hasil TIC Senyawa Linamarin pada Varietas Mentega .....	21
Gambar 4.4 Spektrum Massa Senyawa Linamarin .....	22
Gambar 4.5 Kromatogram Senyawa Linamarin Varietas Malang-4 .....	23
Gambar 4.6 Kromatogram Senyawa Linamarin Varietas Malang-6 .....	23
Gambar 4.7 Kromatogram Senyawa Linamarin Varietas Kaspro .....	24
Gambar 4.8 Kromatogram Senyawa Linamarin Varietas Ketan .....	24
Gambar 4.9 Kromatogram Senyawa Linamarin Varietas Cimanggu .....	24
Gambar 4.10 Kromatogram Senyawa Linamarin Varietas Mentega .....	24
Gambar 4.11 Kromatogram Senyawa Lotaustralin Varietas Malang-4 .....	25
Gambar 4.12 Kromatogram Senyawa Lotaustralin Varietas Malang-6 .....	25
Gambar 4.13 Kromatogram Senyawa Lotaustralin Varietas Kaspro .....	25
Gambar 4.14 Kromatogram Senyawa Lotaustralin Varietas Ketan .....	25
Gambar 4.15 Kromatogram Senyawa Lotaustralin Varietas Cimanggu .....	26
Gambar 4.16 Kromatogram Senyawa Lotaustralin Varietas Mentega .....	26
Gambar 4.17 Hasil FTIR Senyawa Linamarin Varietas Malang-6 .....	28

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran A. Proses Ekstraksi dan Analisis Senyawa .....	34
Lampiran B. Data Hasil Analisis HCN pada Singkong .....	36
Lampiran C. Data Hasil Analisis LC-MS/MS .....	37
Lampiran C.1 Data Hasil TIC .....	37
Lampiran C.2 Data Hasil Uji Kualitatif .....	38
Lampiran D. Data Hitung Analisis Kualitatif LC-MS/MS .....	41
Lampiran D.1 Luas Area .....	41
Lampiran D.2 Konsentrasi Senyawa Linamarin .....	41
Lampiran E. Data Hasil Analisis FTIR .....	42



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Produksi umbi-umbian di Indonesia yang paling melimpah yaitu singkong (*Manihot esculenta*), terbukti pada tahun 2015 produksi singkong sebanyak 21.791.000 ton dengan luas panen sebesar 949.000 Ha, dan produktivitas 229,56 Ku/Ha dengan berbagai jenis varietas yang ada (BPS, 2016). Hal ini menjadikan Indonesia sebagai produsen singkong ketiga terbesar di dunia setelah Brazil dan Nigeria.

Potensi pengembangan tanaman singkong di Indonesia sangat mudah mengingat lahan yang tersedia untuk budidaya singkong cukup luas terutama dalam bentuk lahan di dataran rendah serta lahan-lahan di dataran tinggi dekat kawasan hutan (Hartati *et al.*, 2008). Singkong memiliki banyak jenis varietas dan bermunculan varietas-varietas baru khususnya di daerah Jawa Timur. Pada tahun 2001 diluncurkan varietas unggulan baru yang produktivitasnya cocok ditanam di daerah Jawa Timur khususnya Jember. Varietas-varietas tersebut diantaranya varietas Kaspro, Malang-4, Malang-6, Mentega, Ketan, dan Cimanggu.

Produksi singkong yang melimpah tersebut selain dapat digunakan sebagai makanan pokok, bahan baku dalam pembuatan tapioka dan MOCAF, singkong juga berpotensi digunakan sebagai bahan *nutraceuticall* karena memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berbeda dengan umbi lainnya. Umbi singkong mengandung senyawa glukosida sianogenik yang terdiri dari linamarin 93% (*2-β-D-glucopyranosyloxy-2-methylpropanenitrile*) dan lotaustralin 7% (*2R)-2-β-D-glucopyranosyloxy-2-methylbutyronitrile*) yang dapat digunakan untuk terapi pengobatan kanker (Liangcheng *et al.*, 1995). Linamarin yang diekstrak dari biji almond, apricot, *peach*, dan singkong telah dikenal lama dalam sejarah pengobatan cina, yaitu dapat digunakan sebagai terapi pengobatan kanker (Lyu, 2004 dalam hartati *et al.*, 2008).

Menurut Saidu (2004) penguraian metabolik linamarin oleh β-glukosidase (enzim linamarase atau enzim hidrolase) yang akan menghasilkan terbentuknya gula keton dan sianida. Sianida yang dihasilkan oleh linamarin merupakan agen sitotoksik yang berpotensi membunuh sel kanker dengan jalan menghambat

sitokrom oksidase pada rantai transport elektron mitokondria. Sel kanker (sel neoplastik) yang kekurangan enzim rhedonase tetapi memiliki banyak enzim hidrolase. Enzim hidrolase tersebut jika bereaksi dengan senyawa linamarin, maka sel kanker tersebut akan terpapar efek lethal oleh sianida yang dilepaskan oleh senyawa linamarin (Hartati *et al.*, 2008).

## 1.2 Rumusan Masalah

Singkong dilaporkan mengandung nitrilosida linamarin antara 25-1830 mg/kg (Culbert, 1983). Akan tetapi adanya varietas singkong yang berbeda-beda menunjukkan perbedaan kandungan linamarin yang berkisar antara 25-450 ug ekuivalen sianida/g (Hartati *et al.*, 2008). Beberapa varietas singkong yang memiliki kandungan senyawa linamarin yang berbeda seperti varietas manis (Mentega, Ketan, dan Cimanggu) yang biasanya dikonsumsi oleh masyarakat, varietas pahit (Kaspro, Malang-4, dan Malang-6) yang biasa tidak dikonsumsi langsung oleh masyarakat dan digunakan sebagai bahan baku dalam industri. Adanya perbedaan kandungan senyawa linamarin pada beberapa varietas singkong dikarenakan adanya perbedaan laju biosintesis, degradasi dan laju transport (Elias *et al.*, 1991), serta perbedaan kondisi lingkungan dan cara budidaya tanaman singkong (Bradbury, 1991). Oleh karena itu diperlukan melakukan penelitian untuk identifikasi dan menganalisis kandungan senyawa linamarin pada umbi beberapa varietas singkong agar dapat digunakan sebagai data eskplorasi terkait potensi senyawa linamarin pada singkong sebagai *nutraceutical*.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain :

1. Mengidentifikasi kandungan senyawa linamarin umbi singkong pada beberapa varietas.
2. Mengetahui konsentrasi senyawa linamarin dalam umbi singkong pada beberapa varietas.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Meningkatkan nilai guna dan nilai tambah (*added value*) bahan pangan lokal.
2. Dapat digunakan sebagai data eskplorasi terkait potensi senyawa linamarin pada singkong sebagai *nutraceutical*.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Singkong

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan tanaman yang sangat populer di seluruh dunia, khususnya di negara-negara tropis. Singkong merupakan salah satu bahan pangan yang utama. Di Indonesia, singkong merupakan makanan pokok ke tiga setelah padi-padian dan jagung (Chalil, 2003). Singkong mengandung senyawa glukosida sianogenik yang tersebar hampir pada semua jaringan tanaman (Djazuli dan Bradbury, 1999).



**Gambar 2.1** Umbi singkong (Dokumentasi Pribadi)

Menurut Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (2011) pengelompokan singkong berdasarkan HCN menjadi 3 kelompok yaitu :

- a. Tidak boleh dikonsumsi bila kadar HCN lebih dari 100 ppm (rasa pahit), seperti varietas Adira II, Adira IV dan Thailand.
- b. Dianjurkan tidak dikonsumsi bila kadar HCN 40 – 100 ppm (agak pahit), seperti varietas UJ-5.
- c. Boleh dikonsumsi kadar HCN kurang dari 40 ppm (tidak pahit), seperti varietas Adira I dan Manado.

Terdapat korelasi antara kadar HCN singkong segar dengan kandungan pati. Semakin tinggi kadar HCN semakin pahit dan kadar pati meningkat dan sebaliknya. Di samping itu, singkong segar mengandung senyawa polifenol dan bila terjadi oksidasi akan menyebabkan warna coklat (*browning* secara enzimatik) oleh enzim fenolase, sehingga warna tepung kurang putih (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2011).

Berdasarkan kadar amilosa, singkong dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu singkong gembur (kadar amilosa lebih dari 20%) yang ditandai secara fisik bila kulit ari yang berwarna coklat terkelupas dan kulit tebalnya mudah dikupas, dan

singkong kenyal (kadar amilosa kurang dari 20%) yang ditandai bila kulit ari warna coklat tidak terkelupas (lengket pada kulit tebalnya) dan kulit tebalnya sulit dikupas (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2011).

Varietas singkong yang ada di Indonesia sangat banyak dan berbeda-beda, sehingga menunjukkan kandungan senyawa glukosida yang berbeda pula. Hal ini juga berpengaruh terhadap kandungan linamarin. Kandungan linamarin pada setiap varietas singkong berbeda-beda berkisar antara 25-250 ug ekuivalen sianida/g. Hal tersebut disebabkan oleh perbedaan laju biosintesis dan degradasi senyawa glukosida sianogen pada singkong (Elias *et al.*, 1997). Menurut Bradbury *et al* (1991) menyatakan bahwa faktor lain yang dapat mempengaruhi perbedaan kandungan senyawa glukosida sianogenik pada varietas singkong adalah lingkungan, teknik penanaman dan kondisi tumbuh singkong tersebut.

## 2.2 Varietas Singkong

CIAT (*Centro International de Agricultural Tropica*) memperkenalkan 22 jenis tanaman singkong dan 9 jenis dari Philipina sejak tahun 1977-1979. Jenis atau varietas singkong termasuk dalam kategori unggul apabila memenuhi persyaratan yaitu: hasil produksi tinggi, lebih dari 30 ton/ha; kadar pati 35%-40%; berumur genjah (pendek) kurang dari 8 bulan; tahan terhadap serangan hama dan penyakit; dan memiliki rasa yang bervariasi sesuai kebutuhan. Apabila dikonsumsi secara langsung, digunakan singkong rasa manis, sedangkan untuk keperluan industri, digunakan singkong rasa pahit (Suprapti, 2005).

Varietas-varietas singkong unggul yang biasa ditanam penduduk Indonesia, khususnya di Kabupaten Jember antara lain: Kaspro, Malang-4, Malang-6, Mentega, Ketan, dan Cimanggu. Beberapa varietas tanaman singkong yang banyak memberikan hasil dari pertanamannya adalah sebagai berikut :

- a. Varietas Kaspro : yaitu termasuk dalam Varietas Unggul Baru (VUB) dan mempunyai produksi dan kadar pati tinggi telah berkembang luas di Jawa Timur. Varietas Kaspro umur genjah, kadar pati tinggi dan produksi tinggi (35-40 ton/Ha/8-10 bulan) sangat diminati pihak industri di Jawa Timur. Varietas Kaspro memiliki kadar air 57,35%, kadar bahan kering 41,34%, kadar gula total 36,22%, kadar pati dalam berat kering sebesar 79,57%, kadar serat dalam

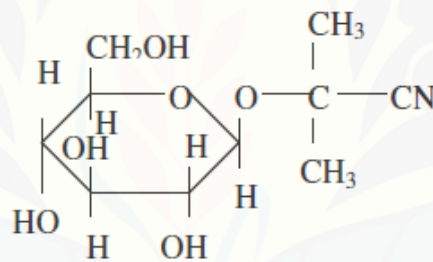
berat kering sebesar 1,70%, dan kadar amilosa dalam berat kering sebesar 25,66% (Ginting *et al.*, 2006).

- b. Varietas Malang-4 : termasuk kedalam varietas introduksi dan dilepas pada tahun 2001. Optimal pemanenan umbi yaitu berumur 9 bulan, hasil umbi sebanyak 39,7 t/Ha, memiliki kadar pati dalam berat basah sebesar 25-32% dan kadar HCN >100,0 mg/kg. Varietas Malang-4 memiliki rasa pahit, agak tahan tungau merah (*Tetranichus sp.*), adaptif terhadap hara sub-optimal dan sesuai untuk bahan baku industri (Balitkabi, 2011).
- c. Varietas Malang-6 : termasuk kedalam varietas introduksi dan dilepas pada tahun 2001. Optimal pemanenan umbi yaitu berumur 9 bulan, hasil uumbi sebanyak 36,4 t/Ha, memiliki kadar pati dalam berat basah sebesar 25-32%, dan kadar HCN >100,0 mg/kg. Varietas Malang-6 memiliki rasa pahit, agak tahan tungau merah (*Tetranichus sp.*), adaptif terhadap hara sub-optimal dan sesuai untuk bahan baku industri (Balitkabi, 2011). Menurut Ginting *et al.*, (2006) karakteristik singkong varietas malang-6 yaitu memiliki kadar air 53,77%, kadar bahan kering 45,49%, kadar gula total dalam berat basah sebesar 41,29%, kadar serat dalam berat kering 1,39%, dan kadar amilosa dalam berat kering sebesar 27,16%.
- d. Varietas Mentega : Varietas Mentega memiliki kadar HCN antara 50-100 ppm termasuk kedalam golongan singkong yang beracun sedang. Varietas Mentega memiliki rasa yang enak dan kandungan patinya yang relatif tinggi. Ciri-ciri dari varietas ini adalah warna kulit daging ubi kekuningan, enak, manis dan kadar tepungnya lebih dari 26% (Purwaningsih, 2005). Sementara itu produksi singkong varietas Mentega mencapai 20 ton dari rata-rata 117-155 ton produksi singkong (BPS, 2005).
- e. Varietas Ketan : Varietas Ketan memiliki rasa yang manis, enak, dan memiliki kadar HCN antara 50-100 ppm. Termasuk dalam Varietas Unggul Baru (VUB) dan berkembang luas di Jawa Timur. (Balitkabi, 2011).
- f. Varietas Cimanggu : Varietas Ketan memiliki rasa yang manis, enak, dan memiliki kadar HCN antara 50-100 ppm. Termasuk dalam Varietas Unggul Baru (VUB) dan berkembang luas Sukabumi (Balitkabi, 2011).

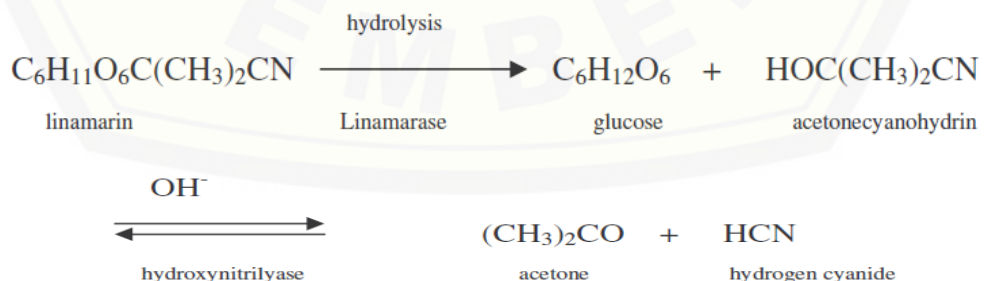


### 2.3 Linamarin dan Lotaustralin

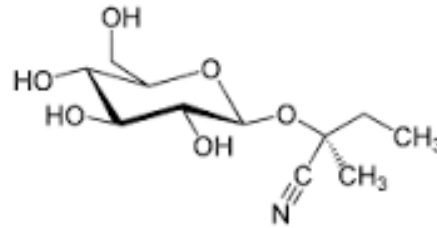
Linamarin merupakan senyawa bioaktif turunan dari valin sedangkan lotaustralin merupakan turunan dari isoleusin. Rasio linamarin dan lotaustralin pada umbi singkong adalah sekitar 93:7 (Hartati, 2008). Senyawa glukosida sianogenik yaitu linamarin, dengan adanya enzim linamarase ( $\beta$ -glukosidase), akan terhidrolisa menjadi *acetocyanohidrin*. Selanjutnya *cyanohidrin* akan terurai menjadi hidrogen sianida. Hidrolisa linamarin terdiri dari dua tahap reaksi yang melibatkan pembentukan senyawa intermediate, yakni *acetonecyanohidrin*, yang selanjutnya secara spontan atau oleh aksi dari enzim *hydroxynitrilelyase* akan membentuk acetone dan hidrogen sianida (Yeoh *et al.*, 2000). Pada singkong, glukosa sianogenik utama adalah linamarin, sementara sejumlah kecil lotaustralin (metil linamarin) hanya ditemukan dalam jumlah kecil pada singkong. Struktur molekul linamarin dapat dilihat pada **Gambar 2.2**, hidrolisis linamarin dapat dilihat pada **Gambar 2.3**, dan struktur molekul dapat dilihat pada **Gambar 2.4**.



**Gambar 2.2** Struktur molekul linamarin (Idibie, 2006)

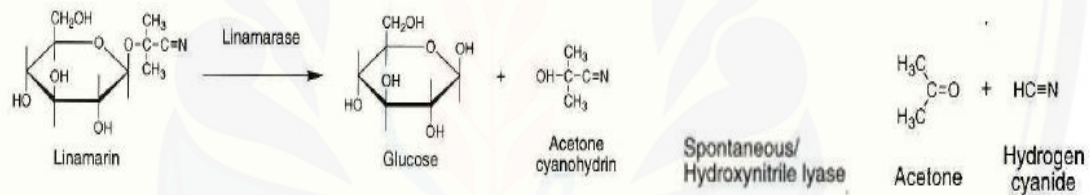


**Gambar 2.3** Hidrolisis linamarin (Idibie, 2006)



**Gambar 2.4** Struktur Molekul Lotaustralin (Lopes, 2015)

Linamarin ( $C_{10}H_{17}NO_6$ ) juga dikenal sebagai phaseolunatin yang memiliki berat molekul 247,24 g/mol. Komposisi linamarin secara fitokimia terdiri dari C 48,85%, H 6,83%, N 5,6% dan O 38,83%. Linamarin larut dalam air dan berwujud bubuk berwarna putih (Seigler, 1975). Linamarin dengan cepat dihidrolisis menjadi glukosa dan aseton sianohidrin, sedangkan lotaustralin dihidrolisis menjadi sianohidrin dan glukosa. Dibawah kondisi netral, aseton sianohidrin didekomposisi menjadi aseton dan hidrogen sianida (Sulusi, 2011). Proses hidrolisis senyawa linamarin dan lotaustralin dapat dilihat pada **Gambar 2.5**.



**Gambar 2.5** Proses hidrolisis senyawa linamarin dan lotaustralin (Sulusi, 2011).

Linamarin termasuk dalam kelas yang dikenal sebagai *beta-cyanogenetic glucosides*. Termasuk juga didalamnya glukosida yang lain seperti lotaustralin, amygladin, prunasin dan dhurrin. Linamarin juga dikenal sebagai nitriloside (Krebs, 1970). Senyawa-senyawa tersebut didefinisikan sebagai senyawa yang larut dalam air, tidak beracun, dan senyawa bergula yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Banyak diantara senyawa glukosida tersebut yang dapat dimakan. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa yang terdiri dari molekul-molekul gula, *hydrogen cyanide*, cincin benzene atau aseton (Krebs, 1970 dalam Idibie, 2006), akan tetapi linamarin tidak memiliki cincin benzene. Singkong merupakan sumber nitrilosida tertinggi (linamarin) dibandingkan tanaman lain seperti sorghum, gandum, dan millet (Oke 1969, Krebs 1974 dalam Hartati *et al.*, 2008). Singkong dilaporkan mengandung nitrilosida linamarin antara 25-1830 mg/kg (Culbert, 1983 dalam Hartati *et al.*, 2008).

## 2.4 Efek Fungsional Senyawa Linamarin

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa linamarin yang terdapat pada produk-produk dari singkong dapat melewati proses metabolisme pada tubuh manusia tanpa ada perubahan terhadap strukturnya selama 24 jam dan dikeluarkan dari tubuh melalui sekresi urin (Brimer and Roseing, 1993., Calson., *et al*, 1995 dalam Hartati *et al.*, 2008).

Linamarin memiliki sifat-sifat yang dapat menjadikannya sebagai kandidat senyawa antineoplastik (anti kanker). Linamarin disebut juga sebagai nitrilosida yang diharapkan pada proses hidrolisis dapat menghasilkan senyawa sitotoksik yaitu asam sianida. Sel neoplastik (sel kanker) yang kekurangan enzim rhedonase dan kaya akan enzim hidrolase akan terpapar terhadap efek lethal dari sianida yang dilepaskan oleh linamarin (Hartati *et al.*, 2008).

Sejak tahun 1981 telah diketahui bahwa linamarin merupakan faktor agravasi pada devisiensi iodine yang mengakibatkan terjadinya malnutrisi. Sebagai senyawa cyanoglukosida, linamarin secara kimia dikaitkan dengan amygdalin (laetrile) walaupun keduanya berbeda berat molekulnya. Linamarin dan amygdalin yang diekstrak dari biji almond, apricot, peach (Nahrstedt, 1987 dalam Hartati *et al.*, 2008), dan ekstrak singkong (Yeoh, 1998) telah digunakan dalam pengobatan kanker dan telah dikenal lama dalam sejarah pengobatan cina (Lyuke, 2004 dalam Hartati *et al.*, 2008).

## 2.5 Teknis Isolasi Senyawa Linamarin

Teknik isolasi senyawa linamarin menggunakan metode ultrafiltrasi, penggunaan ultrafiltrasi dikarenakan senyawa glukosida sianogen yang terdapat pada sel singkong memiliki ukuran yang kecil dan berada pada jaringan terdalam sel. Ultrafiltrasi merupakan suatu komponen alat yang mampu memisahkan senyawa glukosida sianogen dengan jaringan sel singkong (Idibie, 2006). Prinsip kerjanya berdasarkan membran yang digunakan pada saat filtrasi. Membran adalah suatu lapisan tipis yang memisahkan dua fase dan membatasi pengangkutan berbagai bahan kimia secara selektif. Membran dapat berupa heterogen atau homogen, simetrik atau asimetrik dalam strukturnya, padat atau

cairan, yang dapat membawa muatan positif atau negatif, netral atau bipolar. Membran dapat memanfaatkan berbagai *driving force* untuk memisahkan material (Aryanti, 2013). Ultrafiltrasi adalah teknik proses pemisahan membran untuk menghilangkan berbagai zat terlarut dengan BM (berat molekul) tinggi, aneka koloid, mikroba sampai padatan tersuspensi dari air larutan. Membran semipermeabel dipakai untuk memisahkan makromolekul dari larutan. Ukuran dan bentuk molekul terlarut menjadi faktor penting dalam metode ultrafiltrasi (Aryanti, 2013). Tekanan sistem ultrafiltrasi biasanya rendah antara 10-100 Psi (70-700 kPa), sehingga dapat menggunakan pompa sentrifugal biasa.

Membran ultrafiltrasi dibuat dengan mencetak polimer *selulosa acetate* (CA) sebagai lembaran tipis. Fluks maksimum bila membrannya anisotropic, ada kulit tipis rapat dan pengemban berpori. Membran *selulosa acetate* (CA) mempunyai sifat pemisahan yang baik namun dapat dirusak oleh bakteri dan zat kimia, rentan pH. Ada pula sembilan membran dari polimer polisulfon, akrilik, juga polikarbonat, PVC, poliamida, piliviniliden fluoride, kopolimer AN-VC, poliasetal, poliakrilat, kompleks polielektrolit, PVA ikat silang. Juga dapat dibuat membran dari keramik, aluminium oksida, zirconium oksida dan lain sebagainya (Aryanti, 2013). *Fouling* membran merupakan perubahan irreversibel yang terjadi pada membran. Penyebab dari *fouling* adalah interaksi fisik dan atau kimia spesifik antara membran dan komponen-komponen yang ada dalam aliran proses. Terjadinya *fouling* membran tidak dapat dihindari dan inilah tantangan terberat dalam teknologi membran. Lapisan *fouling* membran (*foulant*) ini menghambat filtrasi. *Foulant* ini dapat berupa endapan organik (makromolekul, substansi biologi), endapan inorganik (logam hidroksida, garam kalsium) dan partikulat. *Foulant* akan terakumulasi pada permukaan membran karena tidak ikut ambil bagian dalam transfer massa. Akibatnya *foulant* ini akan mengurangi efektivitas dan fluks membran (Aryanti, 2013).

## 2.6 LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*)

LC-MS/MS adalah salah satu teknik kimia yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan kemampuan analisis spectrometer massa. LC-MS/MS merupakan satu satunya teknik kromatografi cair dengan *detector*

*spectrometer* massa. Kelebihan dari teknologi LC-MS/MS yaitu: hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan *spectrometer* massa sebagai detektor, aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis karena penerapan LC-MS/MS tidak terbatas untuk molekul volatil (biasanya dengan berat molekul dibawah 500 Da), mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat. Selain itu, sejumlah data kualitatif maupun kuantitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter (Michael dan Seger, 2008 dalam Ginting, 2012).

Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi molekul ( $m/z$ ). Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion (*ion source*) yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa (*mass analyzer*) yang menyeleksi ion. Sistem LC-MS/MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa (Agilent Technologies, 2001 dalam Ginting, 2012).

### **2.7 FTIR (*Fourier Transform Infrared*)**

FTIR (*Fourier Transform Infrared*) prinsip kerjanya yaitu berdasarkan pada besarnya frekuensi sinar infra merah (*infrared*) yang diserap dengan tingkat energi tertentu. Molekul senyawa kompleks yang diinjeksikan dengan energi dari sinar infra merah yang akan menyebabkan molekul tersebut mengalami vibrasi. Setiap atom atau molekul besarnya energi vibrasi berbeda tergantung pada atom-atom dan kekuatan ikatan, sehingga dihasilkan frekuensi yang berbeda pula (Suseno dan Firdausi, 2008). Spektrum FTIR digunakan untuk mengetahui keberadaan gugus fungsi pada senyawa yang memiliki pita spesifik yang menonjol yaitu C-H, C-C, C=O, O-H, N-H, C-O, C=C, C=N dan NO<sub>2</sub> serta dapat dikombinasikan dengan konjugat frekuensi yang terbentuk, seperti CN amida-oxsin (Rahman *et al.*, 2007).

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa Proses Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Kimias, Fakultas Farmasi, Universitas Jember dan Laboratorium Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang. Penelitian ini dilaksanakan selama 7 bulan yaitu pada bulan November 2016 – Juni 2017.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam isolasi senyawa bioaktif linamarin adalah *rotary evaporator* BUCHI RE 120, Vakum filtrasi, Whatman 80 mm No 41, blender Philips, *freeze dryer*, dan sentrifuse 5.000 rpm. Alat yang digunakan dalam analisis dan identifikasi kandungan senyawa linamarin yaitu seperangkat alat LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*) merk Acella type 1250 buatan *Thermo Scientific*, seperangkat alat FTIR dan spektrofotometri UV-Vis.

##### 3.2.2 Bahan Penelitian

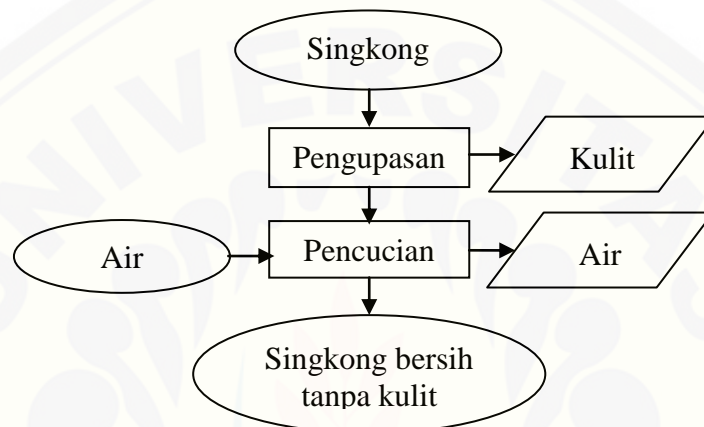
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi singkong varietas manis (Mentega, Ketan, dan Cimanggu) dan pahit (Malang 4, Malang 6, dan Kaspro) yang diperoleh dari Dusun Kali Malang, Desa Mulyoharjo, Kecamatan Puger. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian adalah methanol teknis, granula karbon aktif dengan ukuran 8-20 mesh, asam format, methanol pro analisis, kertas pikrat, isopropanol, dan aquades.

#### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam beberapa tahap antara lain preparasi bahan, ekstraksi linamarin kasar dan purifikasi linamarin (Idibie, 2006). Berikut adalah penjelasan dari tahap-tahap penelitian yang akan dilaksanakan.

### 3.3.1 Preparasi Bahan

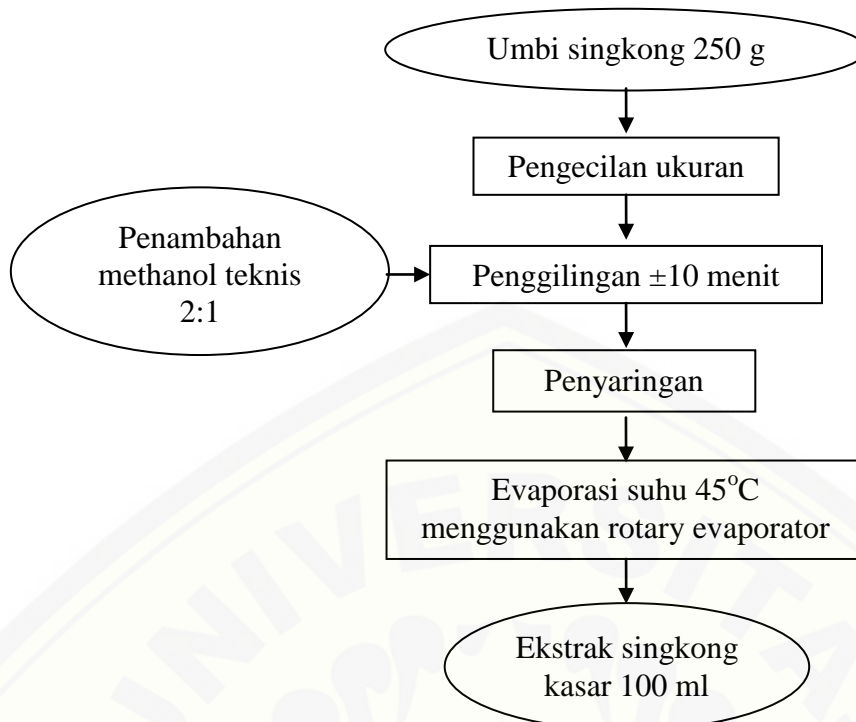
Preparasi bahan yang dilakukan yaitu singkong segar dilakukan pengupasan untuk menghasilkan singkong tanpa kulit. Setelah itu dilakukan pencucian dengan air untuk memisahkan singkong dengan kotoran, sehingga didapatkan singkong bersih dan dapat dilakukan proses selanjutnya. Diagram alir preparasi bahan dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



**Gambar 3.1** Preparasi bahan

### 3.3.2 Produksi Ekstrak Singkong Kasar

Umbi singkong sebanyak 250 gram yang telah dihasilkan pada proses preparasi bahan dilakukan pemotongan untuk memperluas permukaan pada singkong dan memudahkan dalam proses penghalusan atau penggilingan. Setelah dilakukan pemotongan singkong tersebut dilakukan penghalusan dengan menggunakan *blender* selama 10 menit untuk mendestruksi umbi singkong. Pada proses penghalusan ini ditambahkan methanol hangat 99,5% sebanyak 2:1 (methanol teknis : umbi singkong) yang berfungsi untuk mengesktrak linamarin yang terdapat pada singkong tersebut. Selanjutnya sampel yang telah homogen dilakukan pemisahan dengan menggunakan vakum filtrasi dengan ukuran kertas whatmann 80 mm no 41. Sampel (filtrat) yang lolos dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C sampai pekat, hasil yang diperoleh dari pemekatan tersebut adalah ekstrak singkong kasar. Diagram alir proses produksi ekstrak singkong kasar singkong dapat dilihat pada **Gambar 3.2**.

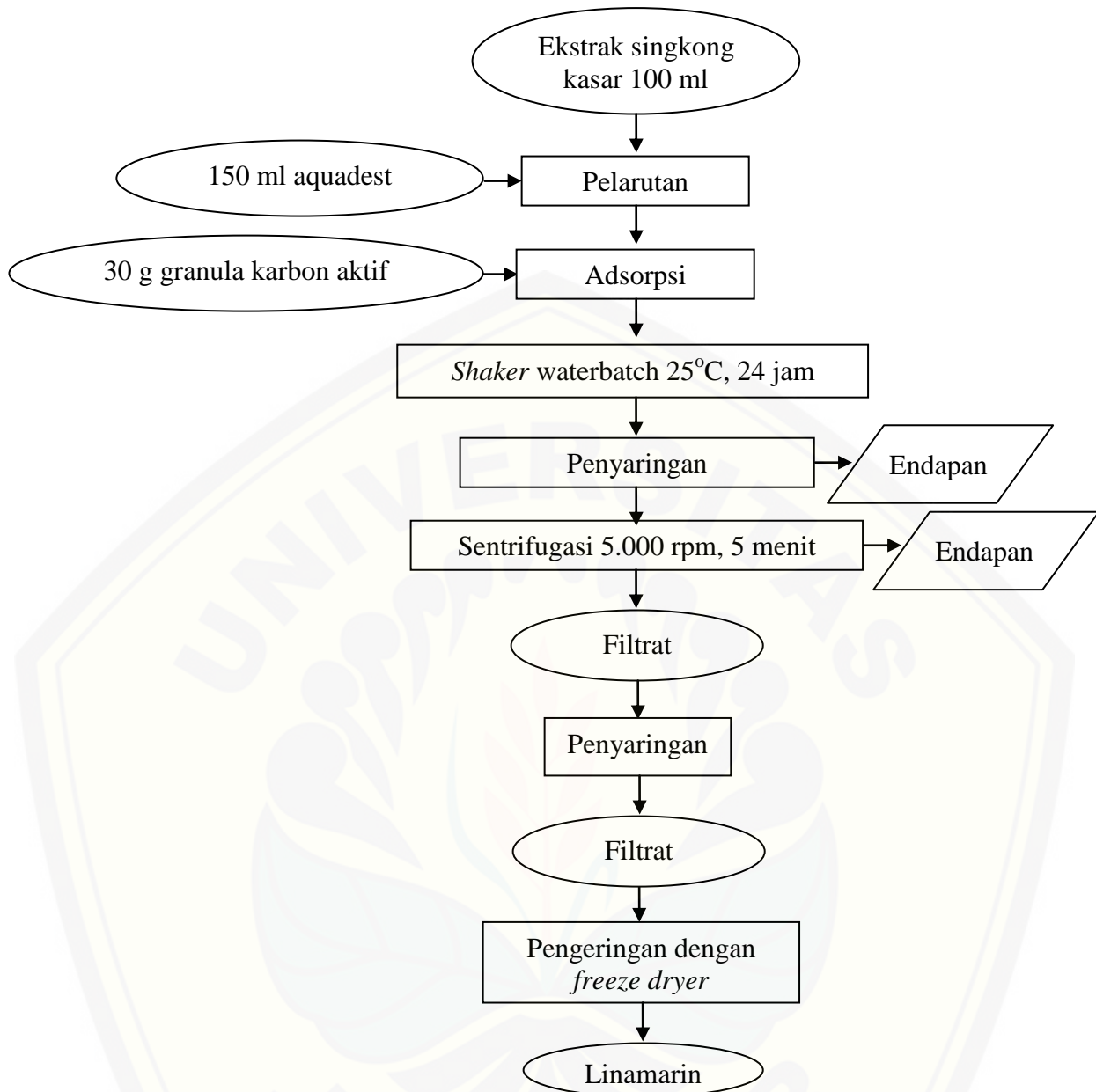


**Gambar 3.2** Produksi ekstrak singkong kasar (Idibie, 2006)

### 3.3.2 Ekstraksi Senyawa Linamarin

Ekstrak singkong kasar sebanyak 100 ml dilakukan pelarutan dengan aquadest 150 ml. Setelah itu dilakukan adsorpsi menggunakan granula karbon aktif sebanyak 30 gram yang berfungsi untuk mengadsorb senyawa-senyawa non glukosa sianogenik. Setelah itu dilakukan penggojokan menggunakan *waterbatch* pada suhu 25°C selama 24 jam untuk menghasilkan sampel yang homogen. Sampel yang telah homogen dilakukan pemisahan dengan vakum filtrasi menggunakan kertas whatman 80 mm no 41 untuk memisahkan filtrat dan endapan. Filtrat yang dihasilkan dilakukan pemisahan dengan menggunakan sentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 5.000 rpm, sentrifugasi berfungsi untuk memisahkan antara filtrat dan endapan. Filtrat yang didapat dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan tersebut merupakan senyawa linamarin basah. Setelah itu filtrat dikeringkan menggunakan alat *freeze dryer* sampai kering berbentuk bubuk. Diagram alir ekstraksi senyawa bioaktif linamarin dapat dilihat pada **Gambar 3.3**.





**Gambar 3.3** Diagram alir ekstraksi senyawa linamarin (Idibie, 2006)

### 3.4 Parameter Pengamatan

Kandungan senyawa linamarin dianalisis dan diidentifikasi dengan beberapa pengamatan antara lain :

- Identifikasi senyawa linamarin menggunakan LC-MS/MS (Lopes *et al.*, 2015).
- Analisis senyawa linamarin menggunakan FTIR (Idibie, 2006).
- Pengujian kandungan HCN singkong segar menggunakan spektrofometri (Nebiyu dan Getachew, 2011).

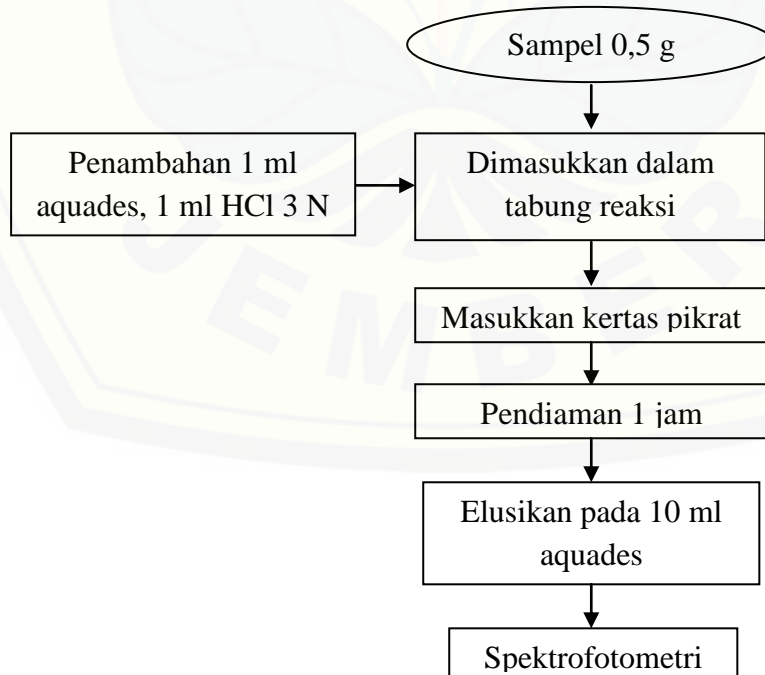
### 3.5 Prosedur Analisa

#### 3.5.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel yang dilakukan sebelum dianalisis dan diidentifikasi dengan LC-MS/MS yaitu melakukan preparasi bahan sampai memperoleh singkong bersih tanpa kulit. Setelah itu melakukan ekstraksi singkong kasar dengan dilakukan pemisahan menggunakan vakum filtrasi dan evaporasi. Selanjutnya dilakukan ekstraksi untuk menghasilkan ekstrak kasar senyawa linamarin.

#### 3.5.2 Pengujian Kandungan HCN pada Singkong Segar

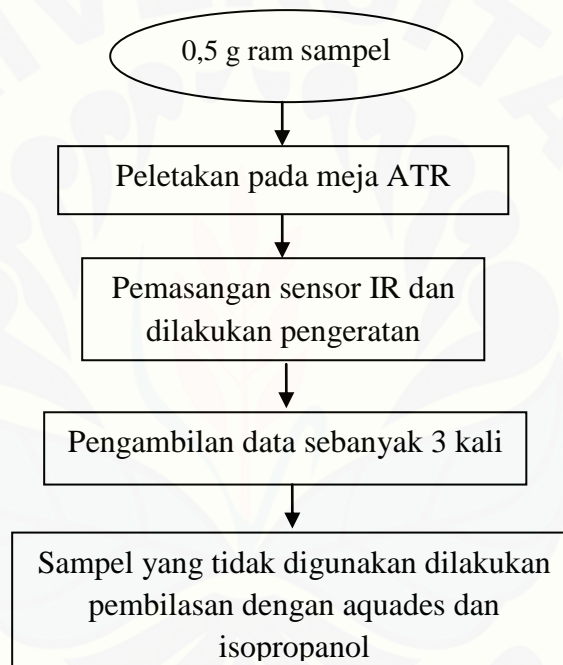
Pengukuran kandungan HCN pada singkong segar dilakukan dengan cara spektrofotometri. Hal pertama yang dilakukan yaitu kertas pikrat direndam ke dalam 0,5 gram sampel yang telah ditambahkan 1 ml akuades selama 30 menit. Setelah itu dilakukan pengenceran sampai 10 ml. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Larutan blanko yang digunakan yakni asam pikrat direndam ke akuades tanpa sampel, (Nebiyu & Getachew, 2011). Perhitungan konsentrasi HCN pada sampel berdasarkan kurva standart. Diagram alir prosedur pengukuran kandungan HCN dapat dilihat pada **Gambar 3.4**.



**Gambar 3.4** Diagram alir pengukuran HCN (Nebiyu dan Getachew, 2011)

### 3.5.3 Analisis Senyawa Linamarin menggunakan FTIR

Sampel sebanyak 0,5 gram diletakkan pada meja ATR, kemudian dilakukan pemasangan sensor IR dan dilakukan pengeratan. Sampel yang sudah tersentuh oleh sensor IR, setelah itu dilakukan pengambilan data sebanyak tiga kali. Sampel yang sudah tidak digunakan, kemudian dilakukan pembilasan dengan aquadest dan dilanjutkan dengan pembilasan isopropanol (Idibie, 2006). Diagram alir analisis menggunakan FTIR dapat dilihat pada **Gambar 3.5**.



**Gambar 3.5** Analisis senyawa linamarin dengan FTIR (Idibie, 2006)

### 3.5.4 Identifikasi dengan LC-MS/MS

Identifikasi senyawa linamarin dan lotaustralin menggunakan LC-MS/MS. Prosedur untuk identifikasi dengan LC-MS/MS yaitu melarutkan sekitar 0,1 gram ekstrak sampel kedalam pelarut 0,1% asam format dalam (Acetonitrile : air ; 80:20). Selanjutnya dilakukan sonifikasi selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 400 rpm selama 10 menit. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan membrane filter 0,2 mikron, lalu dimasukkan kedalam botol vial dan dilakukan analisis menggunakan kolom dengan spesifikasi *Hypersil Gold* (50mm x 2,1mm x 1,9 $\mu$ m). UHPLC merk Acella type 1250 buatan *Thermo*

*Scientific* yang terdiri dari degasser vakum, pompa quartener, autosampler termostatik dikendalikan personal computer melalui program x-calibur (Lopes., *et al*, 2015).

Eluen A = 0,1% asam format dalam air,

Eluen D = 0,1% asam format dalam methanol

Eluen C = 20 mMol asam format dalam (methanol dan Isopropano 45:55).

Fase gerak dengan kecepatan diatur dengan komndisi sistem gradient dapat dilihat pada **Tabel 3.1**.

**Tabel 3.1** Kondisi system gradient (Lopes., *et al*, 2015).

No	Time	A%	B%	C%	D%	$\mu\text{l}/\text{min}$
0	0.00	95.0	0.0	0.0	5.0	150.0
1	1.00	95.0	0.0	0.0	5.0	150.0
2	2.00	15.0	0.0	10.0	75.0	300.0
3	2.50	0.0	0.0	25.0	75.0	300.0
4	3.75	0.0	0.0	25.0	75.0	300.0
5	4.00	15.0	0.0	10.0	75.0	300.0
6	4.50	95.0	0.0	0.0	5.0	300.0
7	6.00	95.0	0.0	0.0	5.0	150.0

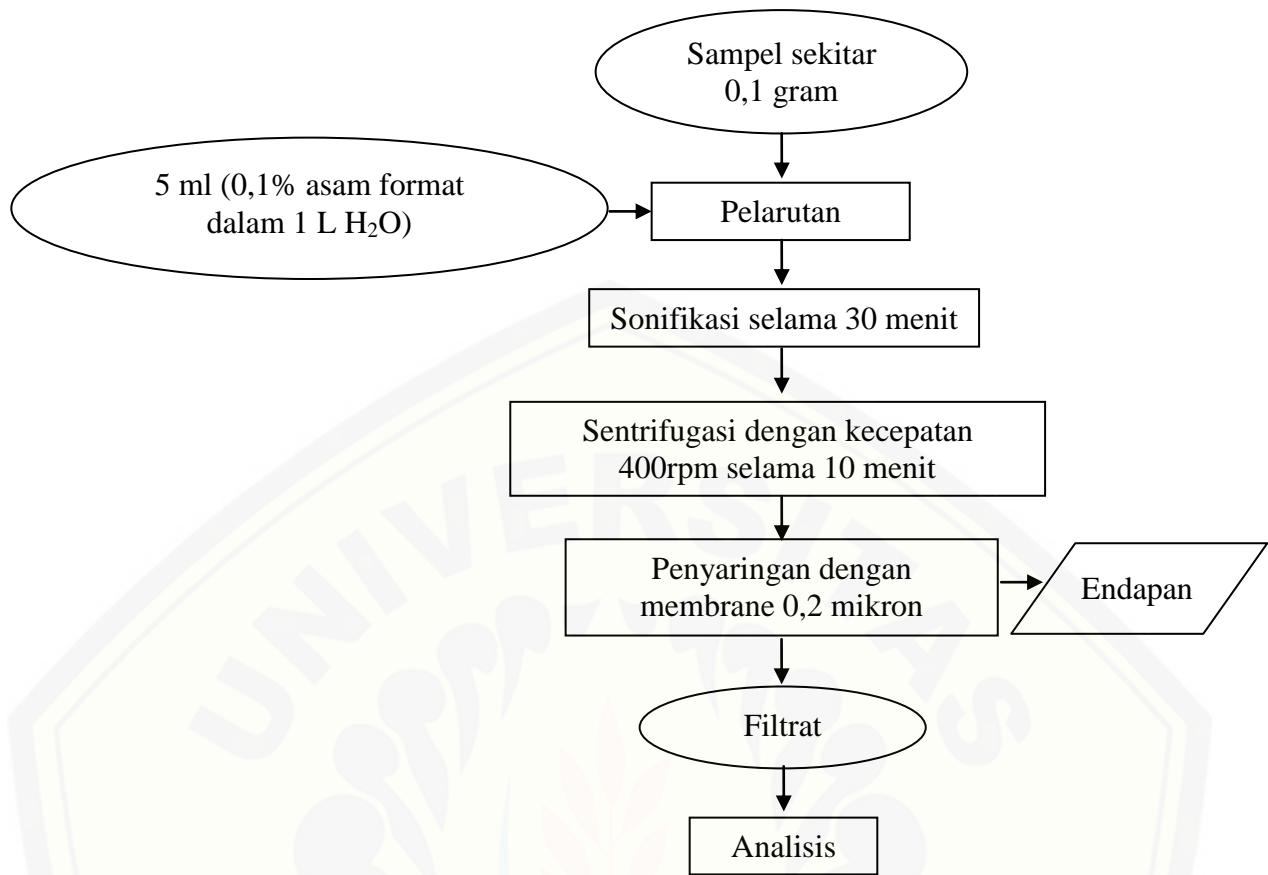
Penggunaan MS/MS Triple Q (quadrupole) spektrometer massa TSQ Quantum Access Max dari Thermo Finnigan dengan sumber ionisasi ESI (Electrospray Ionization) dikendalikan oleh software TSQ Tune yang dioperasikan dengan mode Positive. Penentuan kuantitas diatur pada **Tabel 3.2**.

Kondisi ionisasi ESI adalah sebagai berikut: tegangan spray 3kV; Suhu penguapan 250°C; Suhu kapiler, 300°C; nitrogen sebagai sheath gaspressure 40 psi, dan Aux gas pressure 10 psi dengan gas argon (Lopes., *et al*, 2015).

**Tabel 3.2** Optimasi parameter massa MS/MS

Ion Molekul	Parent mass (m/z)	Product mass (m/z)
Linamarin	265	163
Lotaustralin	279	163

Diagram alir identifikasi senyawa linamarin dan lotaustralin dengan LC-MS/MS dapat dilihat pada **Gambar 3.6**.



**Gambar 3.6** Diagram alir preparasi sampel identifikasi dengan LC-MS/MS (Lopes., *et al*, 2015).

### 3.6 Analisa Data

Penelitian ini merupakan penelitian jenis deskriptif yaitu data disajikan dalam bentuk kromatogram yang dideskripsikan dalam TIC (*Total Ion Chromatogram*) dan XIC (*Extraid Ion Chromatogram*) yang akan dibahas secara deskriptif.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Senyawa linamarin pada varietas malang-4 teridentifikasi (linamarin 1 RT 0,92 menit dan linamarin 2 RT 1,22 menit), malang-6 (pada linamarin 1 RT 0,94 menit dan linamarin 2 RT 1,16 menit), kaspro (pada linamarin 1 RT 0,94 menit dan linamarin 2 RT 1,22 menit) , ketan (pada linamarin 1 RT 0,94 menit dan linamarin 2 RT 1,16 menit), cimanggu (pada linamarin 1 RT 0,96 menit dan linamarin 2 RT 1,32 menit), dan mentega (pada linamarin 1 RT 0,94 menit dan linamarin 2 RT 1,18 menit). Pada sampel CN amida tidak teridentifikasi.
2. Konsentrasi senyawa linamarin ekuivalen glukosa pada singkong segar mulai yang tertinggi sampai terendah yaitu, malang-4 (linamarin 1 sebesar 14.300,81 ppm dan linamarin 2 sebesar 2.655,73 ppm), malang-6 (linamarin 1 sebesar 4.630,08 ppm dan linamarin 2 sebesar 939,17 ppm), kaspro (linamarin 1 sebesar 1.450,72 ppm dan linamarin 2 sebesar 674,30 ppm), ketan (linamarin 1 sebesar 1.481,00 ppm dan linamarin 2 sebesar 662,33 ppm), cimanggu (linamarin 1 sebesar 1.147,06 ppm dan linamarin 2 sebesar 545,52 ppm), dan mentega (linamarin 1 sebesar 24,37 ppm dan linamarin 2 sebesar 81,20 ppm).

### 5.2 Saran

Penelitian ini perlu dilakukan analisis in-vivo dan in-vitro yaitu pengujian anti kanker senyawa linamarin dan lotaustralin terhadap sel kanker atau pada penderita kanker.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agroinovasi. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan dan Diversifikasi Pangan*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Aryanti, S. K. 2013. *Metode dan Penggunaan Teknologi Ultrafiltrasi*. Semarang: Undip Press.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2006. *Racun Alami Pada Tanaman*. Republik Indonesia. Jakarta.
- Badan Pusat Statistik. 2016. *Produksi dan Luas Tanaman Singkong di Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik Indonesia.
- Balitkabi. 2011. *Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Ubi-umbian*. Balitkabi Malang. Malang.
- Bradbury, J. H., Egan S. V. dan Lynch, M. J. 1991. "Analysis of Cyanide in Cassava Using Acid Hidrolysingof Cyanogenic Glukosides". *Journal of Science Food and Technology*. No. 55; 277 – 290.
- Chalil, D. 2003. *Agribisnis Ubi Kayu di Propinsi Sumatera Utara*. Medan: Jurusan Sosial Ekonomi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Culbert, M. 1983. *What the Medical Establishment Wont's Tell You That Could Save Your Life*. Virginia Beach: Donning Co Inc.
- Djazuli, M., dan Bradbury, J. H. 1999. "Cyanogen Content of Cassava Roots and Flour in Indonesia". *Journal of Food Chemistry*. No. 65; 523-525.
- Elias, M., Bala, N., Sudhakaran, P. R. 1997. "Catabolism of linamarin in cassava (*Manihot esculenta*)". *Journal of Plant Science*. No. 126; 155-162.
- Ginting, E., S.S. Antarlina, J.S. Utomo dan Ratnaningsih. 2006. "Teknologi Pasca Panen Ubi Mendukung Diversifikasi Pangan dan Pengembangan Agroindustri". *Bulletin Palawija*. No. 11: 15-28.
- Ginting, M. K. 2012. *Validasi Metode LC-MS/MS Untuk Penentuan Senyawa Asam Trans, Trans-Mukonat, Asam Hippurat, Asam 2-Metil Hippurat, Asam 3- Metil Hippurat, Asam 4-Metil Hippurat dalam Urin Sebagai Biomaker Paparan Benzena, Toluena dan Xilena*. Program Studi Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Hartati, I., Kurniasari, L. dan Yulianto, M. E. 2008. *Inaktivasi Enzimatik pada Produksi Linamarin dari Daun Singkong sebagai Senyawa Antineoplastik*. Semarang; Undip Press.













- Harijono., Siwi, N., dan Sutrisno, A. 2011. "Purifikasi Dan Karakterisasi Linamarase Gadung (*Dioscorea hispida Dennst*) Untuk Detoksifikasi Bubur Umbi Gadung". *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 12 No. 2 76-82.
- Idibie, C. A. 2006. *Isolation of Pure Cassava Linamarin as An Anticancer Agent*. Johannesburg: Witwatersrand of University.
- Kartasapoetra, A. G. 1994. *Teknologi Penyuluhan Pertanian*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Krebs, E. T. Jr. 1970. "The Nitrilside (Vitamin B-17): Their Nature, Occurrence and Metabolic Significance". *Journal of Applied Nutrition*. No. 32; 75 – 86.
- Liangcheng, D., Mpoko, B., Birger, L. M. dan Barbara, A. H. 1995. "The Biosynthesis of Cyanogenic Glucosides in Roots of Cassava". *Journal of Phytochemistry*. No. 39 Vol 2; 323-326.
- Lopes, P., Elene de Vries. Dan Hans M., 2015. *Straightforward Method to Determine Intact Cyanogenic Glucosides in Almonds and Flaxseeds by LC-MSMS*. AB Wangeningen: Rikilt Wangeningen UR.
- Mingi, N. D., Poulter, N. H. dan Roseling, H. 1992. "An Outbreak of Acute Intoxications from Consumption of Insufficiently Processed Cassava in Tanzania". *Nutrition Research*. No. 12; 677 -687.
- Nebiyu, Amsalu., Essublew Getachew. 2011. Soaking and Drying Of Cassava Roots Reduced Cyanogenic Potential of Three Cassava Varieties at Jimma, Southwest Ethiopia. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10, hal. 13465-13469.
- Rahman, H., Usman., A, Ahmad. 2007. *Uji Metabolit Sekunder dan Senyawa Bioaktif Menggunakan FTIR*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Rukmana, R. 1997. *Ubi Jalar Budidaya dan Pasca panen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Saidu, Y. 2004. "Physicochemical Features of Rodanes". *Africa Journal of Biotechnology*. No. 3; 370-374.
- Seigler, D. S. 1975. "Isolation and Characterization of Naturally Occuring Cyanogenic Compounds. *Journal of Phytochemistry*. No. 14; 9 – 29.
- Sulusi, P. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan dan Diversifikasi Pangan*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta.



- Sundari, T. 2010. *Pengenalan Varietas Unggul dan Teknik Budidaya Ubikayu* (Materi Pelatihan Agribisnis bagi KMPH). Balai Penelitian Malang: Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian.
- Suprapti, L. 2005. *Tepung Tapioka Pembuatan dan Pemanfaatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suseno, J, E dan Firdausi. 2008. *Rancang Bangun Spektroskopi FTIR untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi*. Jakarta: Berkala Fisika.
- Yan, J., Tong, S., Li, J. dan Lou, J. 2006. *Preparative Isolation and Purification of Amygdalin From Prunus armeniaca L, with High Recovery by High-Speed Countercurrent Chromatography*. China; Hangzhou University.
- Yeoh, H. H. 1998. *Monitoring the Cyanogenic Potential of Cassava the Trend Towards Biosensor Development*. Trend in Analytical Chemistry. 17, 234-240.
- Yeoh, H. H. 2000. *Assessing Cyanogen Content in Cassava-Based Food Using the Enzyme-Dipstick Method*. Singapore: National University of Singapore.
- Yuliati, W. Ilyah, M. Indirawati, K. 2012. *Analisis Kinerja Gas Chromatography Type Shimadzu GC-FID Pada Kinerja Pengaruh Perubahan Temperature Column Terhadap Nilai Retention Time dan Area of Detection Peak Dari Bhyphenile in N-Hexane di PT. Ditek Jaya*. Teknik Fisika Fakultas Teknologi Industri ITS. Surabaya. Vol 1, No 1, (2012) 1-5.

LAMPIRAN

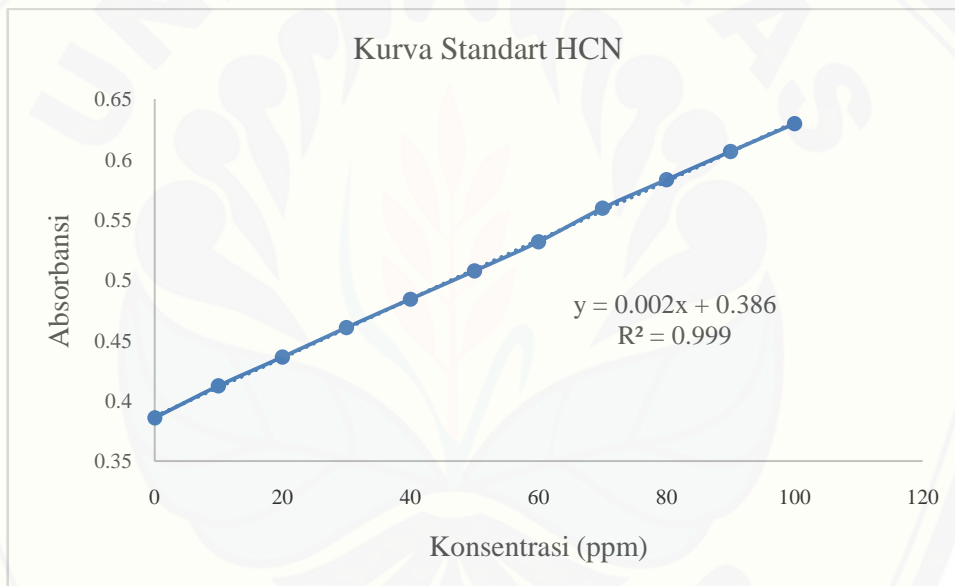
Lampiran A. Proses Ekstraksi dan Analisis Senyawa

 <p>Preparasi singkong</p>	 <p>Destruksi singkong</p>	 <p>Penyaringan singkong</p>
 <p>Filtrat setelah penyaringan</p>	 <p>Evaporasi</p>	 <p>Filtratsetelah evaporasi</p>
 <p>Adsorpsi</p>	 <p>Shaker waterbath</p>	 <p>Penyaringan</p>
 <p>Pengeringan</p>	 <p>Sampel linamarin</p>	 <p>Penimbangan</p>



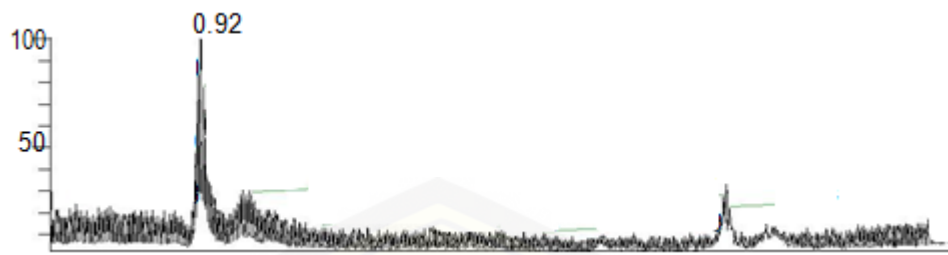
**Lampiran B. Data Hasil Analisis HCN Pada Singkong  
Pembuatan Kurva Standart**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0,3857
10	0,4123
20	0,4361
30	0,4605
40	0,4842
50	0,5074
60	0,5315
70	0,5594
80	0,5831
90	0,6063
100	0,6295



**Konsentrasi HCN Pada Singkong Segar**

Varietas	Absorbansi	Konsentrasi HCN (WB) (ppm)	Kadar air (%)	Konsentrasi HCN (DB) (ppm)
Malang-4	0,5492	67,6250	60,58	171,5499
Malang-6	0,5271	58,4167	58,77	141,6849
Kaspro	0,4926	44,0417	63,35	120,1683
Ketan	0,4222	14,7083	60,86	37,5787
Cimanggu	0,4146	11,5417	60,24	29,0284
Mentega	0,4129	10,8333	58,78	26,2816

**Lampiran C. Data Hasil Analisis LC-MS/MS****Lampiran C.1 Data Hasil TIC (Total Ion Chromatography)**

Singkong Varietas Malang-4



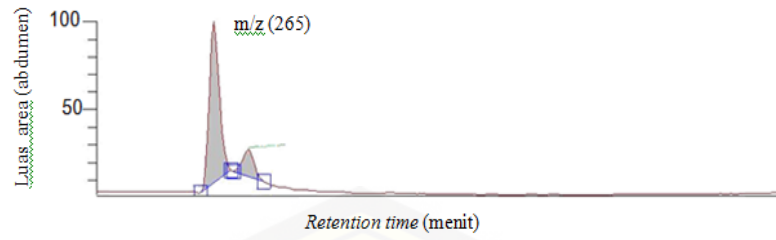
Singkong Varietas Kaspro



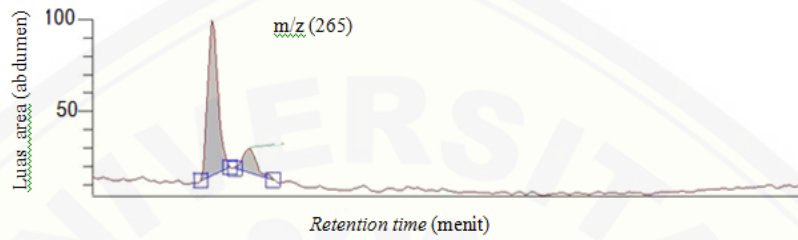
Singkong Varietas Mentega

Lampiran C.2 Data Hasil Uji Kualitatif

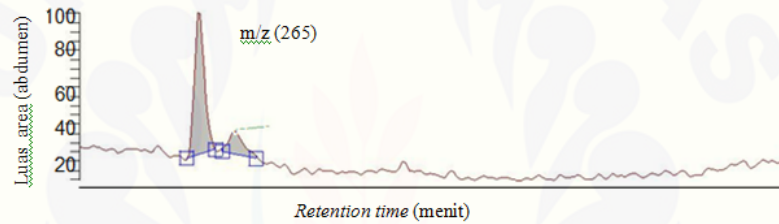
Lampiran C.2.1 Uji Kualitatif Linamarin



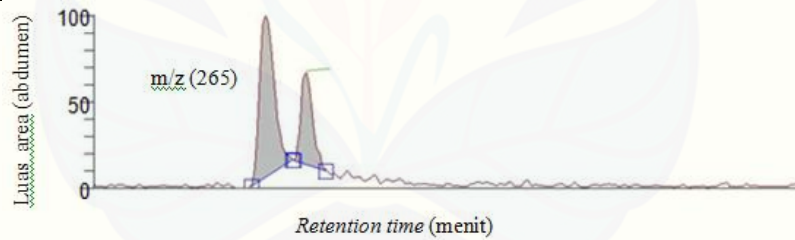
Singkong Varietas Malang-4



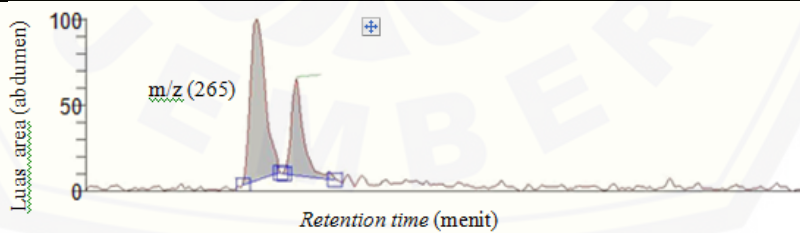
Singkong Varietas Malang-6



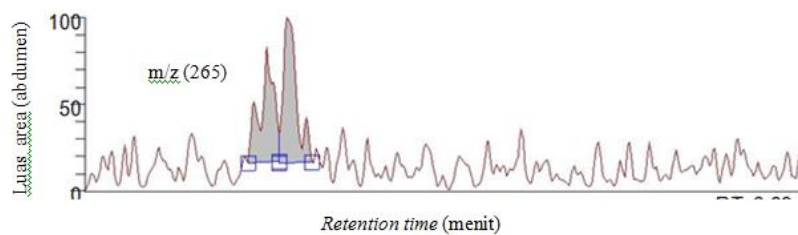
Singkong Varietas Kaspro



Singkong Varietas Ketan

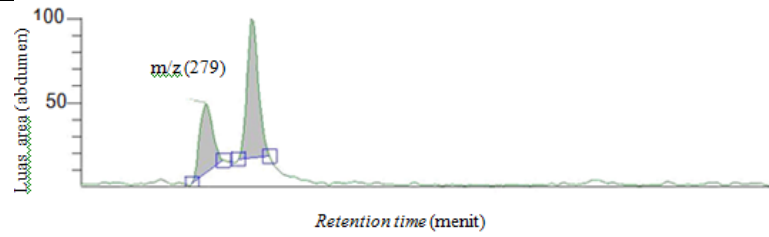


Singkong Varietas Cimanggu



Singkong Varietas Mentega

Lampiran C.2.2 Uji Kualitatif Lotaustralin



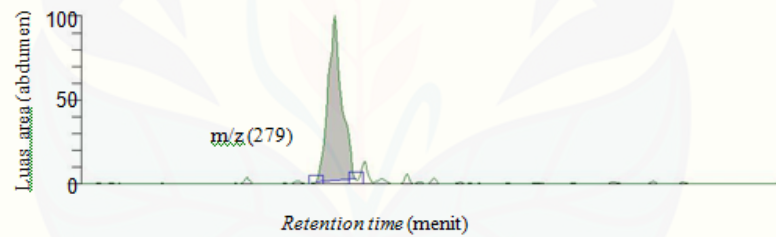
Singkong Varietas Malang-4



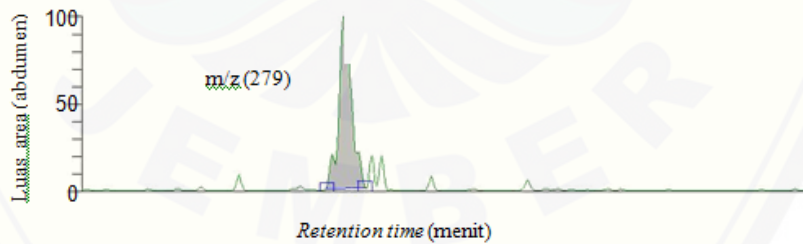
Singkong Varietas Malang-6



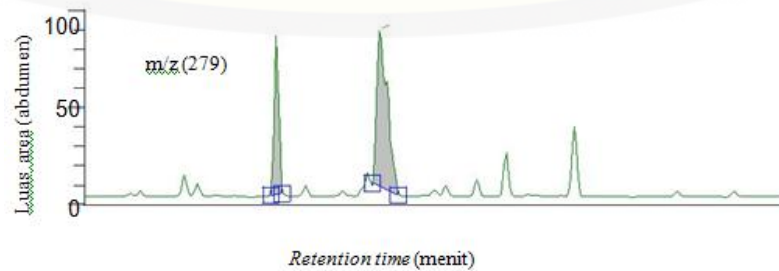
Singkong Varietas Kaspro



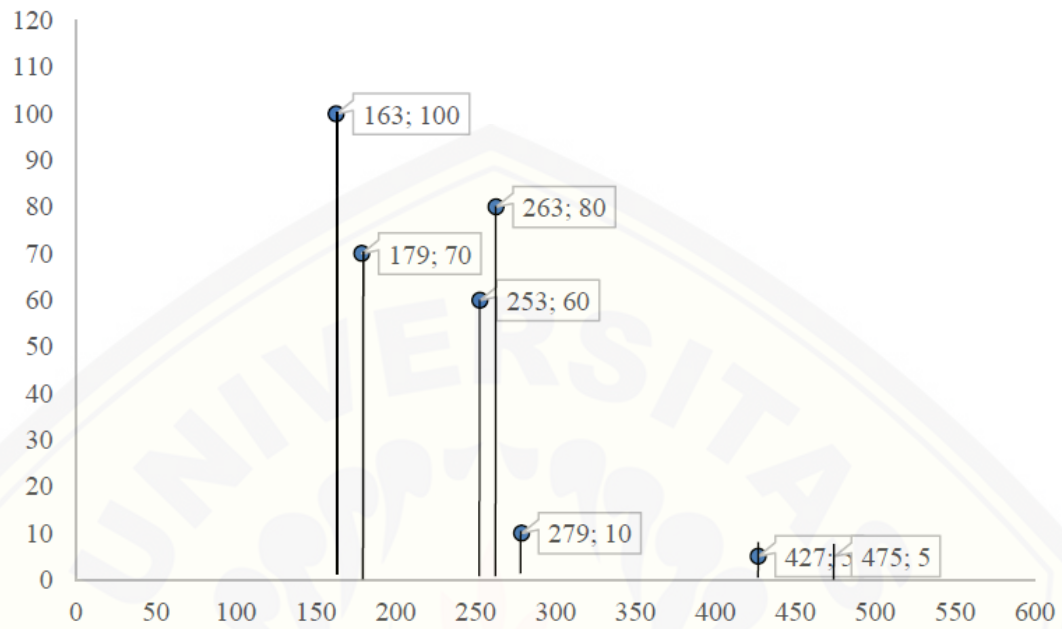
Singkong Varietas Ketan



Singkong Varietas Cimanggu



Singkong Varietas Mentega

**Lampiran C.23** Spektrum Massa Senyawa Linamarin



**Lampiran D. Data Hitung Analisis Kualitatif LC-MS/MS****Lampiran D.1 Luas Area****Lampiran D.1.1 Luas Area Senyawa linamarin**

Varietas	RT		Molekul Target (Area)	
	Linamarin 1	Linamarin 2	Linamarin 1	Linamarin 2
Malang-4	0,92	1,22	593.193,00	110.159,00
Malang-6	0,94	1,16	151.419,00	30.714,00
Kaspro	0,94	1,22	64.087,00	29.788,00
Ketan	0,94	1,16	59.789,00	26.739,00
Cimanggu	0,96	1,32	36.721,00	17.464,00
Mentega	0,92	1,18	1.102,00	3.672,00

**Lampiran D.1.2 Luas Area Senyawa Lotaustralin**

Varietas	RT	Molekul Target (Area)
Malang-4	1,34	28.373,00
Malang-6	1,34	4.119,00
Kaspro	1,43	3.439,00
Ketan	1,34	3.372,00
Cimanggu	1,42	3.358,00
Mentega	1,45	204,00

**Lampiran D.2 Konsentrasi Senyawa Linamarin Berdasarkan *Spike* Glukosa**

Varietas	Konsentrasi linamarin dalam singkong segar (ppm ekuivalen glukosa)	
	Linamarin 1	Linamarin 2
Malang-4	14.300,81	2.655,73
Malang-6	4.630,08	939,17
Kaspro	1.450,72	674,30
Ketan	1.481,00	662,33
Cimanggu	1.147,06	545,52
Mentega	24,37	81,20

## Lampiran E. Data Hasil Analisis FTIR

