

Isolasi Senyawa Fenolat dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Tumbuhan Gandaria

FITRYA, LENNY ANWAR, DAN ERA NOVITASARI

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

INTISARI: Telah dilakukan isolasi senyawa fenolat dari fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan pemisahan senyawa hasil isolasi dilakukan dengan teknik kromatografi. Hasil isolasi berupa kristal berwarna putih dengan titik leleh 185-187°C. Spektrum UV dalam pelarut etil asetat menunjukkan serapan maksimum pada 289 nm, mengindikasikan adanya ikatan rangkap terkonjugasi yang lazimnya merupakan cincin aromatis. Analisa spektrum IR menunjukkan adanya gugus -OH, C-H alifatik, C=O, C=C, C-H, C-O, C=C-H. Berdasarkan data-data spektrum UV, IR, serta berdasarkan uji fitokimia diduga senyawa hasil isolasi ini merupakan senyawa golongan fenolat yang tersubstitusi gugus alifatik dan gugus karbonil.

ABSTRACT: Phenolic compound had been isolated from ethyl acetate fraction of gandaria's bark (*Bouea macrophylla* Griff). The extraction was done by maceration method and separation of isolated compound was conducted by chromatographic technique. The result of isolation is white crystal with 185-187°C in melting point. UV spectrum in ethyl acetate showed a maximum absorbtion at 289 nm. UV spectra analysis showed conjugated double bond as aromatic rings. IR spectrum analysis showed the present of -OH, C-H aliphatic, C=O, C=C, C-H, C-O, C=C-H. Base on the spectrum data of UV, IR and is phytochemical test, it can be suggested that the isolated compound was phenolic compound substituted by aliphatic and carbonyl.

Januari 2010

1 PENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan di Indonesia sangat memungkinkan untuk ditemukannya beraneka jenis senyawa kimia. Beberapa senyawa kimia itu telah banyak ditemukan tetapi berdasarkan sejarah penemuan dan pengembangan telah membuktikan bahwa peluang untuk terjadinya temuan-temuan baru adalah sangat besar^[1].

Senyawa kimia yang berkaitan dengan metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, golongan fenol, feromon dan sebagainya banyak sekali terdapat di dalam tumbuhan dan sangat potensial untuk diteliti dan dikembangkan oleh para peneliti Indonesia dalam rangka pencarian obat atau bahan baku obat^[2].

Tumbuhan Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff) dikenal dengan nama daerah Gandoriah (Minangkabau), Barania (Dayak), Jatake, Gandaria (Sunda), Buwa melawe (Bugis), Gondariya (Jawa)^[3] masih sangat terbatas pemanfaatannya, yaitu hanya sebagai sumber buah-buahan. Kayu dari tumbuhan Gandaria ini banyak digunakan untuk membuat alat-alat pertanian, daunnya yang muda digunakan sebagai lalap, buahnya dapat langsung dimakan, dibuat rujak, asinan, dan sari buah-buahan, dipakai sebagai pengganti jeruk nipis atau asam^[4]. Novalianti^[5] telah melakukan uji fitokimia kulit batang tumbuhan Gandaria diketahui bahwa kulit batang tumbuhan Gan-

daria mengandung senyawa fenolat dan flavonoid, dimana senyawa fenolat memiliki kandungan tertinggi (+4). Dari hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa fraksi etil asetat kulit batang memiliki potensi untuk dilakukan penelitian lebih lanjut guna mengisolasi senyawa golongan fenolat lainnya.

Polifenol adalah asam fenolik dan flavonoid. Polifenol banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran serta biji-bijian. Rata-rata manusia bisa mengkonsumsi polifenol dalam sehari-hari sampai 23 mg. Khasiat dari polifenol adalah sebagai antimikroba dan menurunkan kadar gula darah.

Hasil penelusuran literatur sampai tahun 2008, menunjukkan bahwa belum banyak laporan tentang kandungan yang terdapat di dalam kulit batang tumbuhan Gandaria. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan isolasi senyawa yang terdapat di dalam kulit batang tumbuhan Gandaria khususnya senyawa fenolat dan mengidentifikasi senyawa hasil isolasi

2 METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli 2007 sampai bulan Januari 2008 di laboratorium kimia organik jurusan kimia fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya. Identifikasi senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometer

UV dan IR dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Gajah Mada.

2.2 Alat dan Bahan

Peralatan. Peralatan yang digunakan terdiri dari seperangkat alat destilasi, rotari evaporator R-114 Buchi dengan sistem vakum Buchi B-169, chamber, kolom kromatografi gravitasi, neraca analitis, berbagai alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, alat pengukur titik leleh Fisher Jhon, lampu UV, spektrofotometer Ultraviolet Beck DU-7500, spektrofotometer IR one Perkin Elmer dan spektrofotometer GC-MS washimadzu QP-5000

Bahan. Bahan yang dibutuhkan terdiri dari ekstrak pekat fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan Gandaria (*B. Macrophylla* Griff) metanol teknis, etil asetat teknis, aseton teknis, plat KLT silika gel G 60 F 254, silika gel G 60 (35-70 mesh), serum sulfat 1,5 % dalam H₂SO₄ 2 N dan aquades

2.3 Isolasi dan Pemurnian Senyawa dari Fraksi Etil Asetat

Fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan Gandaria diperoleh dari peneliti terdahulu. Isolasi senyawa fenolat dari fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan Gandaria dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi. Sebelumnya terlebih dahulu dilakukan pemilihan eluen melalui kromatografi lapis tipis (KLT), eluen ini yang akan digunakan sebagai eluen pada kromatografi kolom gravitasi.

Pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat sebanyak 0,9 gram, dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan silika gel G 60 (35-70 mesh) sebagai fase diam. Sampel disiapkan secara preabsorpsi dengan 0,9 gr silika gel G 60 (35-70 mesh).

Sampel dielusi menggunakan eluen etil asetat dan metanol dengan komposisi sebagai berikut: etil asetat : metanol; 9,5 : 0,5 sampai etil asetat : metanol; 4:6. Hasil KLT yang menunjukkan pola noda yang sama dikelompokkan menjadi satu fraksi. Pemisahan ini menghasilkan 3 fraksi yaitu F₁-F₃. Berdasarkan pola noda dari kromatogram KLT yang diperoleh maka noda pada F₃ dan F₂ yang akan dipisahkan lebih lanjut.

Pemisahan selanjutnya dilakukan terhadap fraksi F₂. Fraksi F₂ sebanyak 29,1 mg dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan fase diam silika gel G 60 (35-70 mesh). Sampel disiapkan secara preabsorpsi menggunakan silika gel G 60 (35-70 mesh) sebanyak 29,1 mg, kemudian dielusi menggunakan eluen etil asetat dengan komposisi 100%, eluat ditampung didalam vial-vial yang masing-masing berisi ±50 ml. Vial-vial yang memberikan pola noda yang sama dikelompokkan kedalam satu fraksi. Pemisahan

ini menghasilkan 4 fraksi yaitu F_{2.1} - F_{2.4}. Berdasarkan pola noda pada KLT maka noda utama yang dipisahkan adalah noda pada F_{2.4}.

Fraksi F_{2.4} sebanyak 19,7 mg dipreabsorpsi, kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi dengan menggunakan silika gel G 60 (35-70 mesh) sebagai fase diam, kemudian dielusi dengan menggunakan etil asetat 100 %. Eluat ditampung di dalam vial-vial. Pemisahan dengan kromatografi kolom gravitasi ini menghasilkan 4 fraksi yaitu F_{2.4.1} - F_{2.4.4}. Fraksi ini dimonitor dengan menggunakan KLT dengan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan pereaksi penampak noda serum sulfat. Dari hasil KLT menunjukkan bahwa fraksi F_{2.4.2} menunjukkan pola noda yang utama tetapi masih terdapat pengotor sehingga perlu dilakukan pemurnian dengan cara pencucian menggunakan pelarut etil asetat : aseton (9:1), sehingga didapatlah noda tunggal pada KLT.

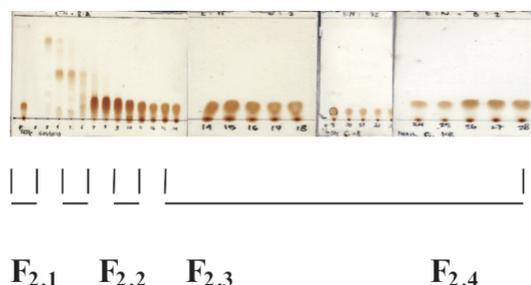
Uji kemurnian senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan KLT dengan berbagai eluen, KLT dua dimensi serta pengukuran titik leleh. Identifikasi hasil senyawa hasil isolasi dilakukan dengan uji fitokimia, spektrofotometer UV dan IR

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Feraksi F₃ tidak berpotensi untuk dilanjutkan karena pada kromatogram KLT pola nodanya tidak sederhana sedangkan jumlahnya sedikit sehingga tidak dapat dipisahkan lebih lanjut. Pemisahan selanjut-

TABEL 1: Penggabungan hasil kromatografi kolom gravitasi dari fraksi F₂ kulit batang Gandaria

Fraksi	No Vial	Berat (mg)
F _{2.1}	1-2	1,9
F _{2.2}	3-5	3,157
F _{2.3}	6-9	2,11
F _{2.4}	10-28	19,7



GAMBAR 1: Kromatogram F₂ kulit batang Gandaria

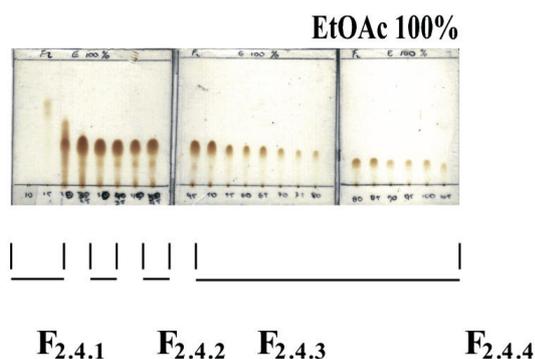
nya dilakukan terhadap F₂ (29,1 mg) fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan Gandaria. Pemisahan dilakukan dengan kromatografi kolom gravitasi dengan menggunakan eluen etil asetat 100%. Berdasarkan hasil

dari kromatogram KLT, fraksi dikelompokkan berdasarkan Rf yang sama, sehingga diperoleh 4 fraksi ($F_{2.1} - F_{2.4}$) yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan kromatogram KLT pada Gambar 1, pola noda pada $F_{2.4}$ memperlihatkan noda yang dominan dengan konsentrasi yang cukup tinggi, sehingga berpotensi sebagai noda utama yang akan dilanjutkan untuk tahap pemisahan selanjutnya. Pemisahan selanjutnya dilakukan dengan memisahkan $F_{2.4}$ dengan kromatografi kolom gravitasi.

TABEL 2: Penggabungan hasil kromatografi kolom gravitasi dari fraksi $F_{2.4}$ Kulit Batang

Fraksi	No Vial	Berat (mg)
$F_{2.4.1}$	1-20	1,08
$F_{2.4.2}$	21-35	14
$F_{2.4.3}$	36-44	0,83
$F_{2.4.4}$	45-106	1,7



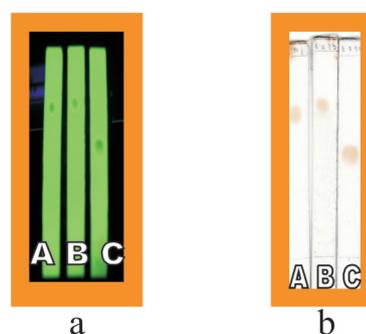
GAMBAR 2: Kromatogram hasil kromatografi kolom gravitasi $F_{2.4}$ kulit batang Gandaria

Fraksi $F_{2.4}$ (19,7 mg) dipisahkan lebih lanjut dengan kolom gravitasi dengan menggunakan pelarut etil asetat 100%. Pemisahan ini menghasilkan 4 fraksi sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 3. Pembagian keempat fraksi ini didasarkan pada kromatogram KLT yang didapat (Gambar 3). Fraksi pada $F_{2.4.2}$ memperlihatkan suatu noda yang berpotensi untuk dilakukan pemurnian lebih lanjut, hal ini didasarkan atas adanya suatu noda tunggal yang masih terdapat pengotor, sehingga diperlukan pemurnian. Pemurnian dilakukan dengan cara pencucian dengan menggunakan eluen yang sesuai. Fraksi $F_{2.4.2}$ yang didapat dari hasil pemisahan $F_{2.4}$ membentuk kristal, dan memperlihatkan pola noda utama yang memiliki harga Rf yang sama dengan intensitas pengotor yang sama pula. Pemurnian dilakukan dengan cara pencucian kristal menggunakan eluen etil asetat : aseton (9:1) pada masing - masing fraksi. Kristal pada $F_{2.4.2}$ yang telah dicuci di KLT secara dua dimensi dan memperlihatkan noda yang tunggal, Sehingga diperoleh kristal F_E .

Uji kemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen yang berbeda yaitu etil asetat: aseton (9:1 dan 7:3) dan etil asetat : metanol (8:2) dengan harga Rf 0,5; 0,75; dan 0,7. Hasil KLT menunjukkan noda tunggal pada lampu UV (Gambar 3) dan berwarna kuning setelah diberi pereaksi penampak noda serum sulfat pada plat KLT (Gambar 3).

TABEL 3: Data KLT Kristal F_E ($F_{2.4.2}$) dengan berbagai Eluen

Etil Asetat	Aseton	Metanol	KLT
8	0	2	A
7	3	0	B
9	1	0	C

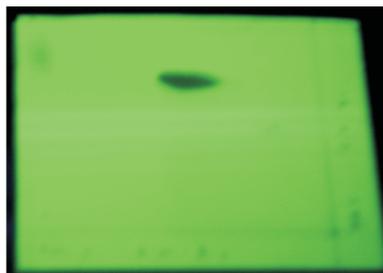


GAMBAR 3: a) Hasil uji KLT terhadap kristal F_E dengan beberapa variasi eluen dengan sinar UV 254 nm, dan b) pereaksi semprot serum sulfat. (Ket.: A = eluen etil asetat : aseton 9:1; B = eluen etilasetat : aseton 7:3; C = eluen etil asetat : metanol 8:2)

Dari Gambar 3, terlihat bahwa pengujian kemurnian kristal hasil isolasi dengan berbagai eluen menunjukkan noda tunggal, sehingga diduga kristal sudah murni. Pengukuran titik leleh kristal F_E memberikan nilai 185 - 187 dengan jarak sempit. Hasil ini lebih memperkuat dugaan bahwa kristal sudah murni. Pengujian kemurnian selanjutnya dilakukan dengan menggunakan KLT dua dimensi (Gambar 4), dimana KLT dua dimensi ini menggunakan dua jenis pelarut yaitu etil asetat: aseton dengan perbandingan 9:1 serta etil asetat : metanol dengan perbandingan 8:2.

Karakterisasi Senyawa hasil isolasi

Spektrum UV dari kristal dalam pelarut etil asetat memberikan serapan maksimum λ_{max} (nm) (absorbansi) : 289 (0,989) (Gambar 6). Adanya absorpsi pada panjang gelombang 289 nm mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi ini mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi yang lazimnya merupakan cincin aromatis, dimana muncul pada panjang gelombang yang lebih panjang dengan kenaikan intensitas yang besar (200-400 nm).



GAMBAR 4: Hasil uji KLT dua dimensi terhadap kristal F_E dengan eluen etilasetat metanol 8:2 dan etilasetat aseton 9:1 dengan penampak noda lampu UV



GAMBAR 5: Hasil uji KLT dua dimensi terhadap kristal F_E dengan pereksi penampak noda serum sulfat

Adanya sistem aromatis ini dikuatkan oleh spektrum IR yang menunjukkan adanya serapan karakteristik aromatik pada bilangan gelombang 1465-1519 cm^{-1} . Hasil pengukuran spektroskopi IR (Gambar 7) memperlihatkan adanya serapan karakteristik pada daerah bilangan gelombang (cm^{-1}) seperti terlihat pada Tabel 4.

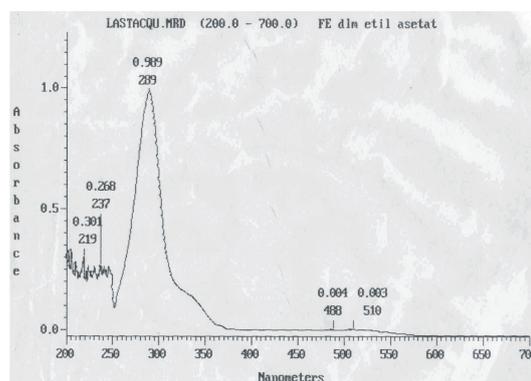
Identifikasi senyawa hasil isolasi dengan spektrometer IR menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3417 cm^{-1} dengan satu puncak serapan agak melebar dengan intensitas yang kuat yang mengindikasikan adanya gugus hidroksil. Gugus hidroksil ini merupakan OH terikat (dapat berikatan hidrogen). Adanya gugus hidroksil diperkuat dengan munculnya ulur C-O alkohol pada daerah 1165-1033 cm^{-1} . Serapan gugus karbonil terlihat pada bilangan gelombang 1643 cm^{-1} sedangkan untuk sistem aromatis dengan serapan pada bilangan gelombang 1465-1519 cm^{-1} . Munculnya serapan pada bilangan gelombang 2931 cm^{-1} berasal dari vibrasi ulur C-H alifatik yang didukung dengan vibrasi tekuk C-H alifatik pada bilangan gelombang 1381-1288 cm^{-1} . Hasil uji fitokimia senyawa hasil isolasi dengan pereaksi warna FeCl_3 menunjukkan warna kuning kehijauan, hal ini mengindikasikan bahwa senyawa tersebut adalah golongan fenolat.

Berdasarkan spektrum yang telah diperoleh dan berdasarkan hasil uji fitokimia, disarankan bahwa kristal hasil senyawa isolasi merupakan senyawa golongan fenolat yang tersubstitusi oleh gugus alifatik dan

TABEL 4: Karakteristik gugus-gugus fungsi dari spektrum IR senyawa hasil isolasi

Bil. Gel. (cm^{-1})	Bentuk pita	Intensitas	Gugus Dugaan
3417	Lebar	Kuat	Ulur O-H
2978-2931	Tajam	Sedang	Ulur C-H alifatik
1643	Lebar	Kuat	Ulur C=O
1465-1519	Tajam	Sedang	C-C aromatis
1381	Tajam	Sedang	Tekuk C-H alifatik
1165-1033	Tajam	Sedang	Ulur C-O
979 dan 810	Tajam	Sedang	Ar H

(tekuk luar bidang)



GAMBAR 6: Spektrum UV senyawa hasil isolasi dalam pelarut Etil Asetat

gugus karbonil.

4 KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

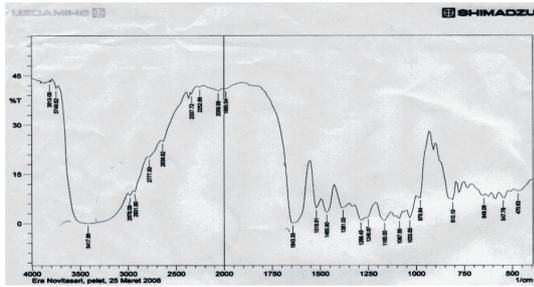
Dari fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff) berhasil diisolasi senyawa yang berupa kristal berwarna putih sebanyak 10 mg dengan titik leleh 185-187°C. Berdasarkan analisis spektroskopi dan uji fitokimia dengan pereaksi warna FeCl_3 diduga senyawa tersebut merupakan senyawa golongan fenolat yang tersubstitusi oleh gugus alifatik dan gugus karbonil.

4.2 Saran

Disarankan untuk melakukan analisa spektroskopi lebih lanjut dengan $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ 1D dan 2D untuk menentukan struktur molekul senyawa hasil isolasi dengan lebih tepat

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim, 2008, Gandaria, <http://id.wikipedia.org/wiki/Gandaria>, 4 Februari 2008
- [2] Evan Putra, Sinly, 2008, *Bahan Alam, Ujung Tombak Riset Kimia di Indonesia*, www.chem-is-try.org, 21 April 2008



GAMBAR 7: Spektrum IR senyawa hasil isolasi

- [3] Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid Ketiga, Departemen kehutanan Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Yayasan Sarana Wahana Jaya (Penterjemah), Jakarta
- [4] Vesheji dan Coronel, 1992, *Edible fruit and Nuts*, Prosea Plant Resources of South east Asia No.2, Pudoc-DLO, Nederland, Page 104-105
- [5] Novalianti, Arni, 2006, Isolasi Senyawa Fenolat Dari Fraksi Etil Asetat Biji Buah dan Kulit Batang Gandaria *Bouea macrophylla* (Griff) , *Kimia FMIPA UNSRI*, Sumatera Selatan