

ISOLASI SENYAWA UTAMA KULIT BATANG TUMBUHAN PINUS DARI EKSTRAK ETIL ASETAT

Afdhil Arel*, Dira, Anggun Setiawati

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang

Corresponding author. Email: afdhil.arel@yahoo.com

Received : 19 November 2016 Accepted : 16 Desember 2016 Published : 30 Desember 2016

Abstract Sample of bark *Pine merkusii* Jungh. & De Vriese extracted with different polarity ranging from non-polar, semi-polar to polar. In this study, ethyl acetate was chosen as a solvent to extract the sample. Separation of the compound of the ethyl acetate extract done using column chromatography and monitored by Thin Layer Chromatography (TLC). Some fraction that showed the same spot pattern on the separation by TLC, has been combined as one fraction. The results of separation by TLC showed some good spot patterns, which are produced by several compounds: compounds A1, compounds B1, compound C1, compound D1, E1 compound, and the compound F1. Compounds that have a single spot A1 is then performed recrystallization and spectrometry analysis. The analysis showed that the compound A1 has amorphous shaped, yellowish-white, odorless, and has a melting point of 175 ° C-178 ° C. The results of IR spectrum of this compound showed a strong absorption at wave number 3412.67 cm⁻¹ (OH), 2916.09 cm⁻¹ (N-H), and 1613.95 cm⁻¹ (C = O). The results of UV spectra showed the compound absorbs light at a wavelength maximum at 212.50 nm (0,517 A). The test results of phytochemical of compounds A1, indicates that this compound contains flavonoids and phenol. Based on the UV and IR analysis, it can be concluded that the compound A1 is a flavonoid compound.

Keyword : *Pine merkusii*, column chromatography, recrystallization

Intisari Sampel kulit batang *Pinus merkussi* Jungh. & De Vriese diekstraksi menggunakan pelarut dengan perbedaan polaritas mulai dari non polar, semi polar hingga polar. Dalam penelitian ini, etil asetat dipilih sebagai pelarut untuk mengekstraksi sampel. Pemisahan senyawa dari ekstrak kental etil asetat dilakukan menggunakan kromatografi kolom dan dimonitor dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fraksi yang menunjukkan pola noda yang sama pada hasil pemisahan dengan KLT, digabungkan. Hasil pemisahan kromatografi lapis tipis tersebut menunjukkan beberapa pola noda yang baik, yang dihasilkan oleh beberapa senyawa, yaitu senyawa A1, senyawa B1, senyawa C1, senyawa D1, senyawa E1, dan senyawa F1. Senyawa yang memiliki noda tunggal adalah senyawa A1, sehingga dilakukan rekristalisasi dan beberapa analisis terhadap senyawa tersebut. Hasil analisis menunjukkan bahwa senyawa A1 berbentuk amorf, berwarna putih kekuningan, tidak berbau, dan mempunyai titik leleh 175°C-178°C. Hasil spektrum IR menunjukkan adanya serapan yang kuat pada bilangan gelombang 3412.67 cm⁻¹ (OH), 2916.09 cm⁻¹ (N-H), dan 1613.95 cm⁻¹ (C=O). Hasil spektrum UV menunjukkan senyawa mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang maksimum pada 212.50 nm (0,517 A). Hasil uji fitokimia senyawa A1 menunjukkan bahwa senyawa tersebut memberikan reaksi positif terhadap uji kandungan flavonoid dan fenolik Berdasarkan data analisa UV dan IR yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa senyawa A1 diduga termasuk dalam golongan flavonoid.

Kata kunci : *Pinus merkussi*, kromatografi kolom, rekristalisasi

1. PENDAHULUAN

Kulit kayu belum banyak dimanfaatkan secara luas. Pohon pinus (*Pinus merkusii* Jungh. & De Vriese) merupakan salah satu tanaman yang dapat kita manfaatkan kulit batangnya. Pinus jenis ini merupakan satu-satunya jenis pinus yang tumbuh di Indonesia. Tanaman tersebut merupakan jenis tanaman pohon serba guna karena hampir semua bagian pohonnya dapat dimanfaatkan seperti getah batang, yang dapat diolah lebih lanjut menjadi bahan baku sabun, resin, dan cat. Daun dan batang tanaman tersebut dapat digunakan untuk obat-obatan sedangkan kayunya dapat digunakan untuk konstruksi dan batang korek (Dahlian dan Hartono, 1997).

Pinus merkusii Jungh. & De Vriese digunakan masyarakat sebagai bahan baku obat tradisional dan dikembangkan dalam berbagai sediaan farmasi seperti kapsul. Salah satu obat yang digunakan adalah enzogenol yang digunakan sebagai antioksidan yang diperoleh dari ekstrak kulit batang *Pinus radiata* (Wood, dkk., 2002). Berdasarkan kemanfaatan tanaman tersebut dalam bidang penemuan bahan obat, maka dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan pemeriksaan kandungan utama pada kulit batang pinus (*Pinus merkusii* Jungh. & De Vriese). Proses diawali dengan sokletasi yang kemudian dilanjutkan dengan proses pemisahan senyawa atau fraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan dimonitor menggunakan KLT (Gritter, dkk., 1991). Sokletasi dilakukan dengan menggunakan pelarut semi polar yaitu etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang cocok digunakan untuk menarik senyawa pada kulit batang pinus seperti flavonoid, alkaloid, dan fenolik. Maka dengan menggunakan etil asetat, diharapkan pelarut ini dapat menarik sempurna senyawa kimia yang bersifat semi polar di dalam kulit batang pinus. (Djamal, 2010)

2. METODELOGI PENELITIAN

2.1. Bahan dan alat penelitian

Bahan yang digunakan adalah kulit batang *Pinus merkusii* Jungh. De & Vriese, etil asetat, *n*-heksana, asam klorida pekat, anhidrat asetat, amonia, besi (III) klorida, metanol, silika gel 60, aquadest, kloroform, HCl, H₂SO₄, pereaksi mayer, serbuk Mg.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini seperangkat alat *rotary evaporator*, seperangkat alat spektrofotometer UV-Visibel, seperangkat spektrofotometer IR *Perkin Elmer Spectrum*, seperangkat alat kromatografi kolom, alat sokletasi, hot plate, *melting point apparatus*, blender, lemari pendingin, corong, cawan penguap, pisau, tabung reaksi, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, beaker glas, plat tetes, pipa kapiler, vial, kertas saring, pinset, kapas, spatel, aluminium foil, timbangan analitik, lampu UV_{254nm} dan UV_{365nm}.

2.2. Pengambilan dan penyiapan sampel kulit batang *Pinus Merkusii* Jungh. & De Vriese

Kulit batang *Pinus merkusii* Jungh. & De Vriese diambil sebanyak 10 kg di Taman Hutan Raya Bung Hatta, Padang, Sumatera Barat.

2.3. Pembuatan ekstrak etil asetat kulit batang *Pinus Merkusii* Jungh. & De Vriese

Ampas sebanyak 3,3 kg dari hasil sokletasi menggunakan *n*-heksan kemudian di sokletasi menggunakan etil asetat. Sokletasi dilakukan hingga pelarut dalam alat soklet yang turun ke labu penampung berwarna bening atau hampir bening. Hasil sokletasi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 25,0136 g

2.4. Uji karakterisasi ekstrak etil asetat kulit batang *Pinus Merkusii* Jungh. & De Vriese

Uji karakterisasi meliputi pemeriksaan organoleptis, penentuan rendemen dan uji fitokimia. (Anonim, 2000). Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan beberapa pengujian meliputi uji flavonoid, fenolik, saponin, terpenoid, dan alkaloid (Harbone, 1987). Fraksi kental kulit batang pinus (*Pinus merkusii* Jungh. & De Vriese) dimasukan ke

dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform asetat, dikocok lalu dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform. Lapisan air untuk pemeriksaan : flavonoid, fenolik, saponin dan lapisan Kloroform untuk pemeriksaan : terpenoid, steroid dan alkaloid.

a. Uji flavonoid (Metode "Sianidin Test")

Diambil lapisan air 1-2 tetes, diteteskan pada plat tetes lalu tambahkan serbuk Mg dan HCl_(p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

b. Uji Fenolik

Diambil lapisan air 1-2 tetes, teteskan pada plat penetes lalu tambahkan pereaksi FeCl₃, terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

c. Uji Saponin

Diambil lapisan air kocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuk busa yang permanen (\pm 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

d. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode "Simes")

Diambil sedikit lapisan kloroform ditambahkan dengan norit, kemudian dimasukkan dalam pipet tetes yang ujungnya diberi kapas lalu masukkan dalam plat tetes dibiarkan mengering, ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ (p), ditambahkan asam asetat anhidrat, terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

e. Uji Alkaloid (metode "Culvenore-Fristgerald")

Diambil lapisan kloroform ditambahkan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N, ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2 N kemudian dikocok dibiarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

2.5. Isolasi senyawa utama

Ekstrak etil asetat sebanyak 10 gr dipreparasi untuk selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa menggunakan metode kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom digunakan fasa diam silika gel sebanyak 200 gr (20 x dari berat sampel). Silika gel disuspensikan dengan menggunakan pelarut heksana diaduk homogen kemudian dimasukkan ke dalam kromatografi kolom yang ujungnya telah diberi kapas.

Sampel disiapkan secara preadsorpsi dengan melarutkannya dalam etil asetat dan ditambah silika gel dengan perbandingan 1:1. Campuran sampel dengan silika kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh bentuk bubuk. Setelah silika gel menyatu membentuk bubuk, kemudian dimasukkan kedalam kolom yang telah disiapkan. Elusi dilakukan dengan menggunakan fasa gerak sebanyak 100 mL tiap elusi dengan variasi polaritas yang ditingkatkan secara bertahap yaitu pelarut heksan, heksan - etil asetat, etil asetat, etil asetat-metanol, dan methanol. Komposisi dari fasa gerak tersebut disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi fase gerak kromatografi kolom

Pelarut	Perbandingan Pelarut	Frekuensi Elusi
n-heksan	-	1
n-heksan : etil asetat	4 : 1	5
n-heksan : etil asetat	3 : 2	1
n-heksan : etil asetat	1 : 1	1
n-heksan : etil asetat	2 : 3	1
n-heksan : etil asetat	1 : 4	1
etil asetat	-	2
etil asetat : metanol	4 : 1	1
etil asetat : metanol	3 : 2	4
etil asetat : metanol	1 : 4	1
metanol	-	4

Perpindahan pengelusi ke tingkat yang lebih polar dilakukan jika efluen telah mendekati bening. Hasil kromatografi ditampung dengan vial. Tiap fraksi dimonitor dengan KLT dan noda dilihat dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Fraksi dengan Rf yang sama digabung. Hasil penggabungan ekstrak tersebut dilihat nodanya dengan KLT. Pola noda yang baik, maka ekstrak tersebut yang dilakukan rekristalisasi dan identifikasi selanjutnya. Senyawa yang diperoleh dilakukan pemeriksaan organoleptis, diamati warna, bau, dan bentuk dari senyawa hasil isolasi tersebut. Selain itu dilakukan pula pemeriksaan serapan cahaya menggunakan spektrofotometer UV-Visibel dan pemeriksaan menggunakan spektrofotometer IR untuk mengetahui gugus fungsi pada senyawa tersebut (Silverstein, 1981).

2.6. Analisis senyawa dengan spektrofotometer inframerah

Spektrum IR diukur dengan menggunakan alat spektrofotometer inframerah. Kira-kira 1 mg sampel diukur menggunakan *Perkin Elmer Spectrum*, kemudian diukur serapannya untuk melihat gugus fungsi.

2.7. Analisis Senyawa dengan spektrofotometer UV-visibel

Pemeriksaan spektrum UV dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Visibel. Senyawa hasil isolasi dilarutkan dalam metanol, kemudian diukur serapannya untuk melihat panjang gelombang maksimum.

2.8. Pengukuran titik leleh

Sampel dimasukkan dengan cara mentotolkan kedalam pipa kapiler. Selanjutnya sampel siap untuk dilakukan penentuan titik leleh. Setelah melting point dihidupkan, Dipasang termometer pada alat titik leleh (melting point). Diletakkan pipa kapiler sampel pada lubang di melting point (di atas termometer). Diamati perubahan zat yang terdapat dalam kapiler sampel. Temperatur saat zat mulai mencair atau mulai meleleh sampai zat habis meleleh secara keseluruhan dicatat temperaturnya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pinus merkusii merupakan tanaman yang memiliki banyak kegunaan bagi manusia, mulai dari daun, bunga, kulit batang hingga kayunya. Tanaman ini dapat dipanen setelah berumur 10-15 tahun. Kulit batang *Pinus merkusii* memiliki banyak kandungan kimia yang bermanfaat pada bidang pengobatan. Kandungan flavonoid yang terdapat pada kulit batang *Pinus merkusii* memiliki banyak khasiat dalam bidang kesehatan. Flavonoid merupakan senyawa kimia yang dapat berefek sebagai antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi.

Kulit batang yang telah dipisahkan dari kayunya, kemudian dipilih dan dipisahkan dari pengotor lainnya. Setelah itu dirajang dan dikeringanginkan beberapa hari. Tujuan proses pengeringan ini dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam sampel, menghambat pertumbuhan jamur serta mempermudah penguapan pelarut saat ekstraksi nantinya. Selanjutnya sampel di grinder untuk memperkecil ukuran partikel sehingga masuknya pelarut dalam sampel lebih mudah dan penarikan senyawa kimia oleh pelarut lebih cepat.

Dalam penelitian ini digunakan pelarut etil asetat dengan tujuan didapatkan senyawa kimia yang bersifat semi polar. Karena senyawa kimia yang paling banyak ditemukan bersifat semi polar maka pelarut yang digunakan adalah etil asetat. Sokletasi etil asetat ini dilakukan dengan menyari ampas dari sokletasi menggunakan pelarut n-heksan yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Kemudian selanjutnya disokletasi menggunakan pelarut etil asetat.

Ekstrak kental yang telah diperoleh dilakukan identifikasi dengan pengamatan organoleptis yang meliputi warna, bau, dan bentuk. Warna dari ekstrak kental kulit batang *Pinus merkusii* Jungh. & De Vriese adalah coklat muda, berbau khas seperti bau etil asetat, bentuk nya kental. Selain itu juga dilakukan uji fitokimia. Hasil dari uji fitokimia ini menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat pada ekstrak kental kulit batang *Pinus merkusii* Jungh. & De Vriese adalah positif flavonoid dan fenolik.

Fraksi yang keluar dari kromatografi kolom ditampung menggunakan vial dengan

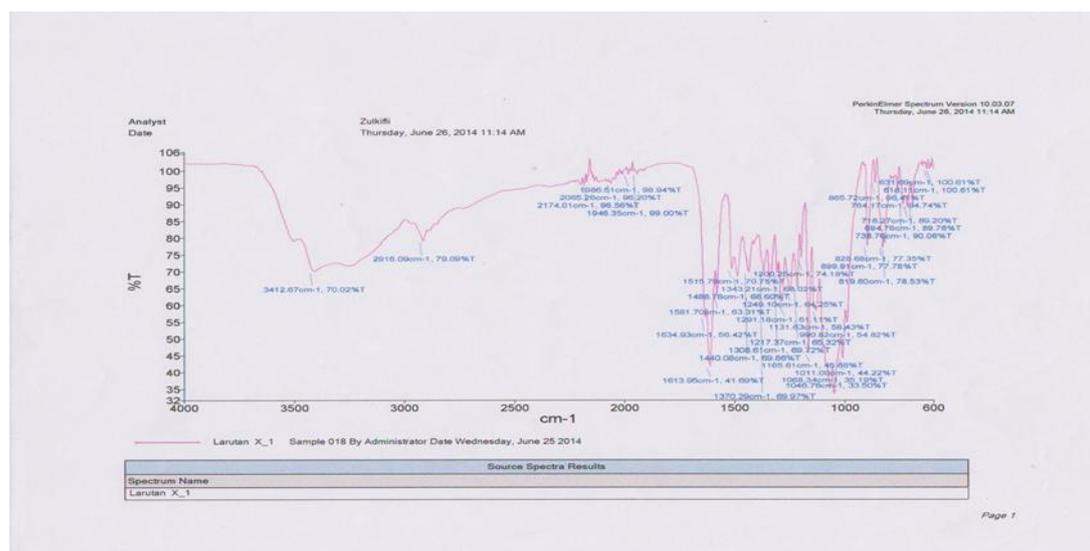
volume 10 mL, seluruhnya berjumlah 226 vial. Setiap fraksi pada vial diberikan kode untuk mempermudah penamaan. Fraksi yang telah di cek menggunakan Kromatografi Lapis Tipis, yang memiliki nilai Rf yang sama kemudian digabungkan menjadi subfraksi. Dari hasil penggabungan fraksi yang memiliki nilai Rf yang sama diperoleh 6 fraksi. Senyawa A₁ (1-83), senyawa B₁ (84-120), senyawa C₁ (121-145), senyawa D₁ (146-183), senyawa E₁ (184-211), senyawa F₁ (212-226). Senyawa dicek kembali menggunakan Kromatografi Lapis Tipis lagi. Senyawa A₁ dengan berat 126 mg, berbentuk serbuk, dan berwarna putih kekuningan. Senyawa B₁ dengan berat 10 mg, berbentuk gum, dan berwarna putih pucat. Senyawa C₁ dengan berat 18 mg, berbentuk gum, dan berwarna kuning kecoklatan. Senyawa D₁ dengan berat 20 mg, berbentuk gum, dan berwarna kuning tua. Senyawa E₁ dengan berat 15 mg, berbentuk serbuk, dan berwarna kuning kecoklatan. Senyawa F₁ dengan berat 12 mg, berbentuk kristal, dan berwarna putih kekuningan.

Senyawa A₁ memiliki pola noda yang baik. Namun masih terdapat pengotor, maka dilakukan pemurnian dengan cara rekristalisasi menggunakan kombinasi pelarut n-heksan dan etil asetat. Senyawa yang telah murni diperoleh sebanyak 0,126 g. Senyawa tersebut memberikan noda tunggal

saat di cek menggunakan Kromatografi Lapis Tipis di bawah lampu UV 254 nm dan 360 nm, menggunakan eluen heksan : etil (8:2), dan nilai Rf = 0,24 cm.

Pemeriksaan senyawa A₁ secara organoleptis menunjukkan bahwa senyawa A memiliki bentuk amorf, tidak berbau, dan berwarna putih kekuningan. Setelah dilakukan pemeriksaan menggunakan *melting point apparatus* senyawa A₁ diketahui memiliki titik leleh 175° C-178° C. Hasil pengujian sinidin test A₁ menunjukkan bahwa memberikan hasil yang positif flavonoid, pada pengujian fenolik senyawa ini juga memberikan hasil yang positif.

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel dan spektrofotometer IR. Dari hasil spectrum IR menunjukkan bahwa senyawa A₁ memiliki gugus O-H dengan intensitas absorpsi yang tajam pada bilangan gelombang 3412.67 cm⁻¹ (4000-2500 cm⁻¹), ikatan C-H dengan intensitas absorpsi yang tajam pada bilangan gelombang 2916.09 cm⁻¹ (3500-2500 cm⁻¹), dan gugus C=O dengan intensitas absorpsi yang tajam pada bilangan gelombang 1613.95 cm⁻¹ (2000-1500 cm⁻¹). Pada pemeriksaan spektrofotometer UV, senyawa memperlihatkan serapan pada panjang gelombang maksimum 212.50 nm (0,517 A). Hasil analisis senyawa diperlihatkan pada Gambar 1 dan Tabel 2.



Gambar 1. Spektrum IR pada senyawa A1

Tabel 2. Hasil pembacaan spectrum IR pada senyawa A1

No	Bilangan gelombang	Daerah absorpsi	Gugus Fungsi
1.	3412.67 cm ⁻¹	4000-2500 cm ⁻¹	O-H
2.	2916.09 cm ⁻¹	3500-2500 cm ⁻¹	C-H
3.	1613.95 cm ⁻¹	2000-1500 cm ⁻¹	C=O

KESIMPULAN

Senyawa A1 yang diperoleh dari fraksi etil asetat kulit batang *Pinus merkusii* Jungh. & De Vriese sebanyak 0,126 g berupa amorf yang berwarna putih kekuningan, tidak berbau, mempunyai jarak lebur 175-178°C, larut dengan etil asetat, metanol dan air. Hasil uji fitokimia senyawa A1 menunjukkan bahwa senyawa tersebut memberikan reaksi positif terhadap uji kandungan flavonoid dan fenolik Berdasarkan data analisa UV dan IR yang diperoleh diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa A1 diduga termasuk dalam golongan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, Depkes RI, (2000), Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, Ed. 1. , Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Dachriyanus. (2004). *Analisis struktur senyawa organik secara spektroskopi*, Cetakan pertama, Andalas University Press, Trianda Anugrah Pratama: Padang
- Dahlia, E, dan Hartono, (1997). Komponen kimia terpenin dari getah Tusam (*Pinus merkusii*) asal Kalimantan Barat. Info Hasil Hutan. Badan Penelitian dan
- Djamal, R. (2010), *Prinsip-prinsip dasar isolasi dan identifikasi*, Universitas Baiturrahmah: Padang.
- Harbone, J.B. (1987), *Metoda fitokimia penentuan cara moderen menganalisa tumbuhan*. Cetakan ke-2, diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro, ITB: Bandung.
- Gritter, Roy. J. James M Bobbit, dan Arthur E. Schwarting. (1991). *Pengantar*

kromatografi. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan I. Sudiro, Edisi II. ITB: Bandung.

Silverstein, R.M., G.C. Basslerand T.C. Morrill. (1981). *Spectrometric identification of organic compound (Ed) IV*. Singapore: John Wiley and Sons.

Wood J., E.,Senthilmohan S., T., Peskin A., V., (2002) *Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs*. Food Chemistry 77 (155-161)