

Identifikasi Senyawa Fenolik Hasil Isolasi dari Fraksi Semi Polar Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*)

The Identification of Phenolic Compounds from Semi Polar Fraction of Ethyl Acetate Extracts of The Plant Stem Bark Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*)

Rokhmad Samsul Arif* dan Tukiran

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural sciences

State University of Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, email: rokhamdsamsul@gmail.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian tentang isolasi senyawa fenolik fraksi semi polar ekstrak etil asetat dari kulit batang tumbuhan nyiri batu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etil asetat pada tumbuhan nyiri batu. Kemudian proses isolasi dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV), Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), dan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P) yang selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektroskopi UV-Vis, FT-IR dan GC-MS. Berdasarkan hasil dari spektroskopi yang telah diperoleh menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh yaitu 2-metoksi-5-(1-propenil) fenol dan 2-metoksi-4-(1-propenil) fenol dengan m/z 180 dan 164.

Kata kunci: Etil asetat, Nyiri batu, Semi polar, Senyawa Fenolik

Abstract. It had been done a research about compounds isolation of semi-polar fraction of ethyl acetate extract from the stem bark of plants nyiri batu. This study aimed to determine the content of chemical compounds contained in the ethyl acetate extract of the plant. Isolation process was done using Vacuum Liquid Chromatography (VLC), Gravitational Column Chromatography (GCC), and Preparative Thin Layer Chromatography (TLC-P) that were further identified using UV-Vis, FT-IR and GC-MS spectroscopies. Based on the analyzed data show that the compound, obtained were 2-methoxy-5- (1-propenyl) phenol and 2-methoxy-4- (1-propenyl) phenol with m/z 180 and 164, respectively.

Key Word: Ethyl acetate, Nyiri batu, Semi polar, Phenolic Compounds

PENDAHULUAN

Hutan mangrove merupakan jenis hutan yang tumbuh dan berkembang pada daerah landai di muara sungai, dan pesisir pantai yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Sebagian besar tumbuhan mangrove dapat tumbuh dengan baik pada tanah berlumpur, terutama di daerah endapan lumpur terakumulasi. Ada sekitar 89 jenis spesies mangrove yang tumbuh di dunia dan 51% spesies diantaranya hidup di Indonesia. Jumlah tersebut belum termasuk spesies yang hidup bersama di daerah mangrove. Terdapat 32 jenis spesies mangrove sejati dan 20 asosiasi mangrove tumbuh subur di Indonesia [1].

Salah satu jenis spesies mangrove yang memiliki banyak manfaat adalah tumbuhan dari famili Meliaceae. Tumbuhan dari famili Meliaceae

dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan rumah, kayu bakar, obat sakit perut, dan masih banyak lagi kegunaannya. Disisi lain, tumbuhan Meliaceae banyak mengandung minyak atsiri, arylpropanoid, acetogenin, kumarin, flavonoid, tanin, protoalkaloid, bitter tetranotriterpenoid, diterpenoid, triterpenoid, dan saponin. Senyawa tersebut berfungsi sebagai insektisida, antifeedant, insect repellent, antiinflammatory, antioksidan, sitotoksik dan anti tumor [2].

Fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat disintesis tumbuhan, sebagai respon terhadap berbagai kondisi seperti infeksi, radiasi UV, dan lain sebagainya. Pada tumbuhan, fenolik dapat bertindak sebagai *antifeedants*, *atraktan* untuk penyerbuk, *kontributor pigmentasi*

tanaman, *antioksidan*, sebagai pelindung dari berbagai jenis parasit dan paparan suhu ekstrim. Salah satu jenis famili tumbuhan yang memiliki potensi senyawa fenolik adalah Meliaceae [3].

Adapun jenis tumbuhan Meliaceae yang telah dilaporkan memiliki kandungan fenolik salah satunya adalah genus *Xylocarpus*. Selain dari kandungan senyawa fenolik, genus *Xylocarpus* juga memiliki kandungan metabolit sekunder yang lain adalah triterpenoid, alkaloid, flavanol, steroid, dan monoterpen [4].

Xylocarpus moluccensis merupakan salah satu spesies dari genus *Xylocarpus* yang memiliki kandungan fenolik. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, telah berhasil didapatkan beberapa jenis turunan fenolik dari genus tersebut antara lain, *Molluccensins H*, *Molluccensins I*, dan *Molluccensins J* [5].

Selain itu, senyawa β -sitosterol dan stigmasterol telah berhasil diisolasi dari ekstrak heksana kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) [6]. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, peneliti mencoba untuk melakukan proses isolasi senyawa fenolik dari fraksi semi polar ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah sebagai berikut: pelarut etil asetat teknis, etil asetat p.a, *n*-heksana. Pelat KLT kieselgel G 60 F-254, Kromatografi Cair Vakum (KCV), dan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG) menggunakan silica gel 60 (0,040-0,063 mm), impleknasi menggunakan silica gel 60 (0,2-0,5 mm). Sedangkan peralatan yang digunakan dalam penelitian ini mencakup satu set alat KKG, KCV, evaporator, vial berukuran 100 ml dan 15 ml, gelas kimia, gelas ukur, pipet, pipa kapiler, dan untuk identifikasi isolat adalah spektrometer UV, IR dan GC-MS.

Prosedur Penelitian

Proses Persiapan Sampel

Kulit batang tumbuhan nyiri batu dikupas, dibersihkan dan selanjutnya dipotong berukuran kecil dan diangin-anginkan hingga kering kemudian digiling sampai menjadi serbuk.

Tahap Ekstraksi dan Isolasi Sampel Nyiri Batu

Serbuk halus kulit batang tumbuhan nyiri batu sebanyak 1,5 kg diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etil asetat pada suhu kamar yang dilakukan secara berulang dengan menggunakan cara yang sama sebanyak 3 kali, masing-masing selama 24 jam. Tahapan selanjutnya yaitu dilakukan proses penyaringan pada hasil maserasi 1, 2, dan 3, dengan menggunakan corong Buchner dilengkapi dengan alat vakum sehingga menghasilkan total ekstrak kental etil asetat sebanyak 249 g. Proses isolasi dilakukan dengan cara, ekstrak etil asetat sebanyak 20 gram dipisahkan komponen kimianya sebanyak 2 kali dengan menggunakan teknik KCV campuran eluen yang digunakan yaitu (H=100%, H:EM=5:4:1, H:EM=4:5:1, H:EM=3:6:1, H:E:M=2:7:1, Etil asetat=100%, Metanol=100%), sehingga menghasilkan 14 fraksi.

Kemudian proses monitoring dilakukan dengan menggunakan KLT analisis dengan perbandingan eluen yang digunakan, yaitu H:E:M=3:6:1. Berdasarkan profil KLT monitoring yang mempunyai nilai R_f sama dan dilakukan proses penggabungan sehingga di dapatkan 3 fraksi yang lebih sederhana yaitu (Ea: 1-5, EAb: 6-11, Eac:12-14) selanjutnya dipilih salah satu fraksi utama yaitu fraksi (EAb:6-11) untuk dilakukan fraksinasi ulang dengan teknik pemisahan KKG dengan eluen H:E = 4:1 dan menghasilkan 42 fraksi.

Berdasarkan hasil monitoring KLT analisis, terhadap 42 fraksi di atas lalu dilakukan proses penggabungan fraksi menjadi dua fraksi berdasarkan kemiripan R_f -nya yaitu: fraksi A (1-10) dan fraksi B (6) dan C (11-39). Selanjutnya, pemisahan lebih lanjut dilakukan menggunakan KLT preparatif terhadap fraksi A (1-10) menggunakan eluen H:E = 4:1. Selanjutnya dilakukan pengerokan diatas KLT preparatif pada spot noda fraksi semi polar yaitu fraksi tengah. Hasil dari pengerokan dikumpulkan pada vial, selanjutnya dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat p.a, disaring dan diuapkan sehingga didapatkan kristal berwarna putih dengan berat 39 mg.

Tahap Identifikasi Senyawa hasil Isolasi

Penentuan struktur molekul isolat dilakukan melalui beberapa langkah atau tahap

uji spektroskopi untuk mendapatkan data spektra untuk selanjutnya ditentukan struktur molekulnya. Langkah- langkah tersebut adalah sebagai berikut:

1. Melakukan pengukuran spektrum UV untuk menentukan gugus kromofor
2. Melakukan pengukuran spektrum IR untuk mengetahui gugus fungsi
3. Melakukan pengukuran GC-MS untuk mengetahui secara pasti senyawa yang dominan dalam isolat serta pola fragmentasi senyawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Senyawa

Sebanyak 1,5 kg serbuk halus kulit batang tumbuhan Nyiri batu diekstraksi menggunakan proses maserasi dengan pelarut etil asetat pada suhu kamar. Ketinggian pelarut yang digunakan pada proses maserasi yaitu ± 1 cm di atas permukaan dan dikerjakan secara berulang dengan cara yang sama sebanyak 3 kali masing-masing selama 24 jam. Proses penyaringan dilakukan dengan menggunakan corong Buchner dilengkapi dengan alat vakum sehingga menghasilkan ekstrak etil asetat berwarna merah kecoklatan dengan masing-masing sebanyak 124 g, 107 g, dan 18 g, sehingga keseluruhan ekstrak yang didapatkan sebanyak 249 g.

Selanjutnya digunakan ekstrak etil asetat sebanyak 20 gram yang dipisahkan menggunakan KCV dan dilakukan sebanyak 2 kali. Fasa diam yang digunakan adalah silika dengan spesifikasi gel Merck 60 GF254 dan fasa mobil eluen n-heksana, campuran n-heksana : etil asetat : metanol, etil asetat dan metanol dan menghasilkan sejumlah 14 fraksi ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil KCV 1 dan 2

No.	Eluen H:E:M	Fraksi yang Dihilkan
1.	Heksana 100%	1-2
2.	50:40:10	3-4
3.	40:50:10	5-6
4.	30:60:10	7-8
5.	20:70:10	9-10
6.	Etil asetat 100%	11-12
7.	Metanol 100%	13-14

Berdasarkan hasil monitoring yang dilakukan menggunakan KLT analisis, dengan perbandingan eluen n-heksana: etil asetat: metanol= 3:6:1 yang selanjutnya dilakukan penggabungan berdasarkan fraksinya dan didapatkan 3 fraksi gabungan dengan nilai R_f yang sama yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Fraksi Gabungan KCV 1 dan 2

No.	Fraksi gabungan KCV	Fraksi gabungan
1.	EA a	1-5 KCV 1
2.	EA b	6-11 KCV 1
3.	EA c	12-14 KCV 1

Kemudian berdasarkan dari hasil penggabungan fraksi yang telah dilakukan, tahap selanjutnya difokuskan pada fraksi EA b (fraksi semi polar) yang akan dipisahkan dari pelarutnya dengan cara diuapkan menggunakan evaporator hingga didapatkan berat kering sebesar 0,3137. Selanjutnya pada berat kering fraksi semi polar dilakukan proses impleksasi dengan menggunakan silika gel dan kemudian dilakukan fraksinasi dengan menggunakan KKG dengan perbandingan eluen n-heksana : etil asetat = 4: 1 dan dihasilkan 42 fraksi.

Berdasarkan dari hasil KLT dengan menggunakan perbandingan eluen n-heksana : etil asetat = 4: 1 kemudian dilakukan proses penggabungan fraksi menjadi dua fraksi berdasarkan pada kemiripan R_f -nya yang sama. Berikut merupakan hasil fraksi gabungan yang ditunjukkan pada tabel 3.

Berdasarkan hasil monitoring yang telah dilakukan menggunakan KLT analisis pada fraksi gabungan KKG, dilakukan pemfokusan pada fraksi A (1-10) yang selanjutnya akan dilakukan proses pemisahan menggunakan KLT-Preparatif.

Selanjutnya dilakukan pengerokan pada KLT preparatif pada spot noda fraksi semi polar, yaitu fraksi tengah.

Tabel 3. Hasil Fraksi Gabungan dari KKG

No.	Fraksi-fraksi	Fraksi gabungan
1.	1-10	A
2.	6	B
3.	11-39	C

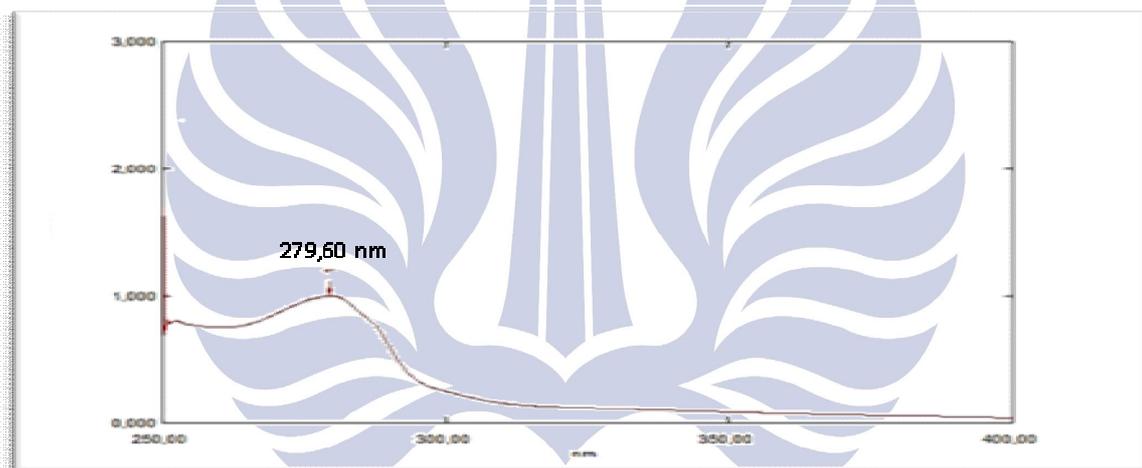
Hasil dari pengerokan dikumpulkan pada vial, selanjutnya dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat p.a seladan disaring sehingga terpisahkan antara residu dan filtrat. Kemudian filtrat diuapkan hingga kering dan didapatkan kristal berwarna putih dengan berat 39 mg.

Identifikasi Senyawa

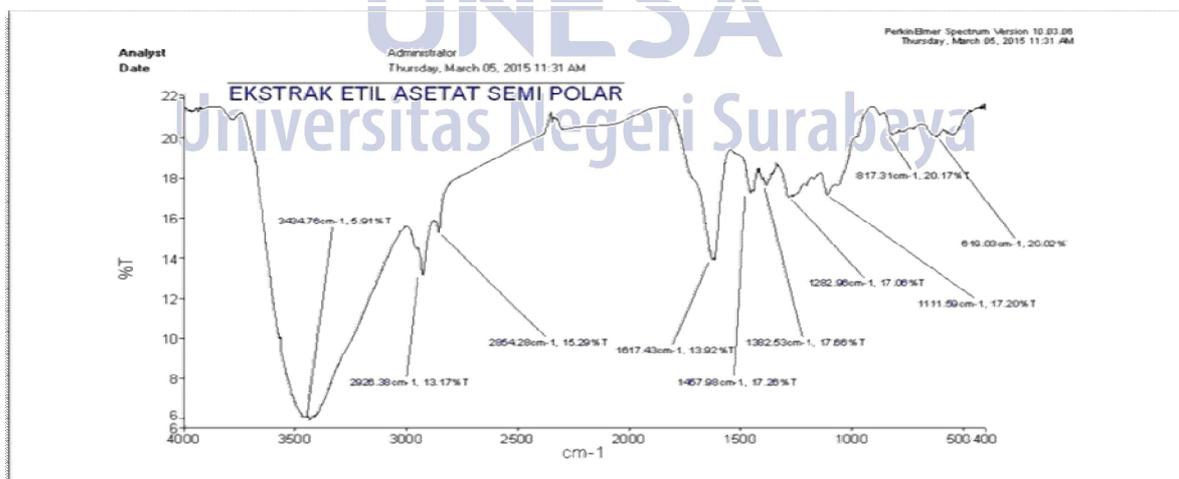
Berdasarkan hasil dari isolasi senyawa fenolik dari kulit batang tumbuhan Nyiri batu pada fraksi semi polar, maka dapat dijelaskan sebagai berikut. Berdasarkan dari pengukuran menggunakan spektrum UV-Vis menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi dengan menggunakan pelarut etil asetat menghasilkan puncak pada serapan maksimum pada panjang gelombang 279.60 nm, yang ditunjukkan pada Gambar 1.

Berdasarkan dari hasil analisis FT-IR yang ditunjukkan pada Gambar 2, bahwa isolat tumbuhan Nyiri batu pada fraksi semi polar, dapat memperlihatkan bilangan gelombang $\nu_{maks} = 3434.76 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus O-H, bilangan gelombang $\nu_{maks} = 2926.38, 2854.28 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-H regangan, bilangan gelombang

$\nu_{maks} = 1328.53 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_3$ umbrela, bilangan gelombang $\nu_{maks} = 1457.98 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus vibrasi tekuk (C-H), bilangan gelombang $\nu_{maks} = 1617.43 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus ikatan C=C siklik, bilangan gelombang $\nu_{maks} = 1282.96-1111.59 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus Uluran C-O, bilangan gelombang $\nu_{maks} = 817.31, 619.03 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus lentur (luar bidang) $-\text{C}=\text{C}-\text{H}$.



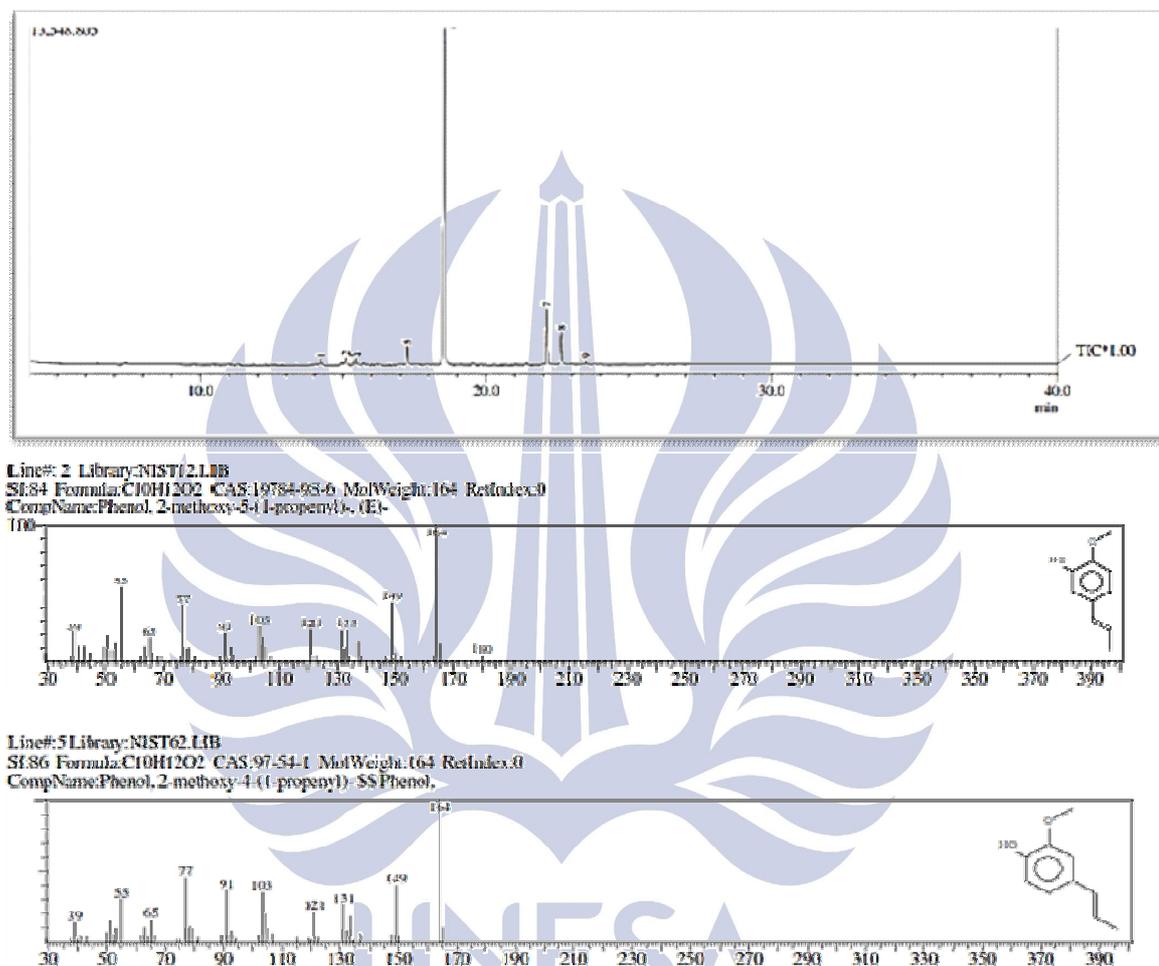
Gambar 1. Spektrum UV Isolat Fraksi Semi Polar



Gambar 2. Spektrum IR Isolat Nyiri Batu

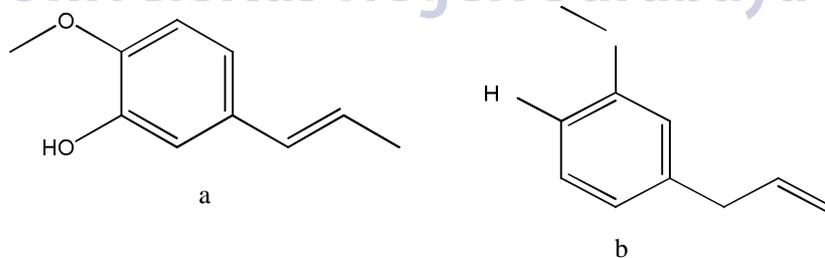
Berdasarkan dari hasil analisis GC pada Gambar 3, khususnya pada puncak ke-2 dan 5 dengan masing-masing massa molekul relatif sebesar 180 dan 164 dapat diidentifikasi bahwa pada isolat fraksi semi polar mengandung senyawa golongan fenolik

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan dari database WILEY229.LIB menunjukkan bahwa isolat pada puncak 2 dan 5 adalah senyawa 2-metoksi-5-(1-propenil) fenol dan 2-metoksi-4-(1-propenil) fenol dengan struktur molekul $C_{10}H_{12}O_2$. Seperti pada Gambar 4.



Gambar 3. Spektrum GC-MS Isolat Nyiri Batu

Universitas Negeri Surabaya



Gambar 4. a. 2-metoksi-5-(1-propenil) fenol, b. 2-metoksi-4-(1-propenil)fenol (sumber: WILEY229.LIB)

SIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi ekstrak etil asetat kulit fraksi semi polar kulit batang tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*) menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah 2-metoksi-4-(1-propenil) fenol yang memiliki rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$ dan dengan m/z 164.

DAFTAR PUSTAKA

1. Eryanti. 1999. *Identifikasi dan isolasi senyawa kimia dari Mangrove (hutan Bakau)*. Laporan Hasil Penelitian Pusat Penelitian Kawasan Pantai dan Perairan Universitas Riau. hal 18.
2. Santoni Adlis, Nurdin Hazli, Manjang Yunazar, A. Achmad Sjamsul. 2009. Minyak Atsiri Dari Toona Sinensis Dan Uji Aktivitas Insektisida. *Repository Universitas Andalas*. Padang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas. Vol. 2, No. 2.
3. Ravangpai, Warin. 2011. Limonoids from seeds of Thai *Xylocarpus moluccensis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 21. 4485- 4489.
4. Shen, Li-Ru., Gou, Dong., Yu, Mei-Yue., Yin, Bao- Wei., Zhao Lei., Shi Qing-Wen., Wang, Li-Yong & Huo, Chang-Hong. 2009. Chemical Constituents of Plants from the Genus *Xylocarpus*. *Chemistry & Biodiversity*. 6: 1293-1308.
5. Pudhom, Khanitha, Damrong Sommit, Paulwatt Nuclear, Nattaya Ngamrojanavanich, and Amorn Petsom. 2010. Moluccensins H-J, 30-Ketophragmalin Limonoids from *Xylocarpus moluccensis*. *Journal of Natural Products*. 7. 263–266.
6. Taufiqurrahman, Mochammad. 2010. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Insektisida*. *Skripsi tidak dipublikasikan*. Surabaya : Unesa.