

KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK DARI FRAKSI METANOL BUNGA NUSA INDAH (*Mussaenda erythrophylla*)

Sri Utami^{1*}, Ari Widiyantoro¹, Afghani Jayuska¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H Hadari Nawawi, Pontianak

*email:3utami.mpw@gmail.com

ABSTRAK

Bunga nusa indah (Mussaenda erythrophylla) merupakan tanaman yang hidup di daerah tropis. Penelitian ini bertujuan untuk mengarakterisasi senyawa fenolik dari fraksi metanol pada bunga nusa indah. Penelitian ini dilakukan dengan berbagai metode pemisahan yaitu fraksinasi dan pemurnian. Isolat relatif murni diperoleh 438,9 mg berbentuk amorf. Kemurnian isolat diuji menggunakan kromatografi lapis tipis 1 dan 2 dimensi yang menunjukkan noda tunggal dan uji fitokimia yang menunjukkan positif fenolik. Spektrum ultraviolet visible (UV-Vis) dengan menggunakan pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 221,0 nm menunjukkan adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^$. Pada 267,5 nm menunjukkan adanya transisi elektronik $n \rightarrow \sigma^*$. Spektrum infrared (IR) menunjukkan bilangan gelombang (cm^{-1}): 3120,82 – 3514,30 (cm^{-1}) (OH) stretching; 1454,33 cm^{-1} (C=C aromatic) stretching; 1128,36 cm^{-1} (C-O-C) stretching; 2922,16-2858,51 cm^{-1} (C-H alifatic), 1730,15 cm^{-1} (C=O), 1583, 56 cm^{-1} (C=C alifatic), 827,46 cm^{-1} C-H alifatic. Berdasarkan hasil uji fitokimia, spektrum UV-Vis dan IR, maka isolat F_{2.6} diindikasikan merupakan senyawa fenolik.*

Kata kunci : fenolik, isolat, *Mussaenda erythrophylla*

PENDAHULUAN

Tanaman bunga nusa indah merupakan tanaman bergenus *Mussaenda* yang berasal dari Afrika Barat. Umumnya ditemukan di lingkungan sekitar. (Eswaraiah, *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian Kar DM, *et al.*, (2014), tanaman nusa indah disebut sebagai *Nagavalli*, secara tradisional daunnya dimanfaatkan sebagai obat antiinflamasi, bisul, demam, kusta dan asma. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya, akar bunga nusa indah (*Mussaenda erythrophylla*) memiliki kandungan senyawa golongan flavonoid, saponin, steroid dan fenolik.

Fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Fenolik sekurang-kurangnya memiliki satu gugus fenol (Vermerris dan Nicholson, 2006). Senyawa fenolik sederhana mengandung sifat bakterisidal, antiseptik dan antihelmintik (Pangelly, 2004). Hingga saat ini belum ditemukannya publikasi penelitian yang mengungkapkan adanya fenolik pada bagian bunga dari tanaman bunga nusa

indah (*M. erythrophylla*) sehingga perlu dilakukannya penelitian yang bertujuan untuk mengetahui karakterisasi senyawa fenolik dengan menggunakan analisis spektrofotometri UV-Vis dan spektrometri IR.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat penunjang penelitian ini adalah alat-alat gelas kimia yang umum digunakan di Laboratorium Kimia Organik, inkubator, neraca analitik, pipa kapiler, *rotary evaporator*, statif dan klem serta seperangkat alat kromatografi kolom, kemudian analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (*Varian Cary 60*), spektrometer IR (*Shimadzu*). Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah berbagai jenis pelarut organik diantaranya metanol, *n*-heksana, diklorometana dan etil asetat baik yang *p.a* maupun teknis; pereaksi untuk uji fitokimia meliputi asam klorida (HCl) pekat, asam sulfat (H₂SO₄) 2 N, besi (III) klorida (FeCl₃) 10%, logam Mg, pereaksi Libermann-Burchard, pereaksi Wagner; plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck);

silika gel G-60 (230-400 mesh) dan silika gel G-60 (70-230 mesh).

Prosedur Kerja

Preparasi sampel

Sampel berupa bunga nusa indah (*Mussaenda erythrophylla*) diambil di lingkungan Fakultas Ekonomi Universitas Tanjungpura, Pontianak. Keakuratan spesies tanaman dideterminasi di Herbarium Bogoriense LIPI Bogor. Sampel yang segar dikumpulkan dan dikeringanginkan di tempat terbuka yang terlindung dari sinar matahari kemudian potong-potong dan dihaluskan dengan cara diblender. Sampel yang telah halus dan kering kemudian akan dilanjutkan ke tahap maserasi.

Ekstraksi

Sebanyak 750 g sampel bunga nusa indah dimaserasi dengan metanol pada suhu ruang selama 3 x 24 jam. Ekstrak disaring dan filtratnya ditampung ke dalam botol berwarna cokelat. Filtrat yang dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Sampel yang telah pekat kemudian ditimbang untuk mengetahui berat sampel ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol yang diperoleh adalah sebanyak 113,5668 gram.

Fraksinasi

Ekstrak kental metanol sebanyak 60 gram dipartisi menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda seperti *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan metanol. Semua fraksi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak dan semua fraksi dilakukan uji fitokimia sebelum dilanjutkan ke tahap pemurnian dan isolasi.

Metode pemisahan dan pemurnian

Kromatografi lapis tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan teknik pemisahan diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) (Khopkar, 1990). Pemisahan senyawa dilihat dari noda hasil totalan yang berasal dari campuran fraksi dan eluen. Setelah itu, pelat atau lapisan dimasukkan kemudian ditutup rapat dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang sesuai (Firdaus dan Utami, 2009). Pola yang terbentuk akan disinari UV 254 nm dan 366 nm.

Kromatografi vakum cair (KVC)

Kromatografi vakum cair merupakan teknik pemisahan dan pemurnian yang dilakukan menggunakan fase diam berupa silika gel 60 (970-230 mesh). Fase gerak menggunakan eluen terbaik dari KLT sebelumnya. Fraksi dan fase diam dielusi menggunakan eluen terbaik.

Kromatografi kolom gravitasi (KKG)

Kromatografi Kolom Gravitasi merupakan metode pemisahan senyawa yang menggunakan kolom yang berdiameter 1,5 cm dan tinggi kolom 30 cm. Fasa diam yang digunakan berupa silika gel 60 (70-230 mesh). Fase gerak yang digunakan adalah eluen terbaik dari KLT gabungan hasil KVC. Eluat yang dihasilkan di KLT kembali untuk melihat pola yang sama dan ditentukan massa dari setiap fraksi sehingga dipilih satu fraksi untuk dilakukan pemurnian.

Uji Kemurnian

Isolat yang relatif murni diketahui melalui analisis KLT satu dimensi dan KLT dua dimensi menggunakan berbagai macam eluen. Apabila kromatogram menunjukkan satu pola noda maka dapat dikatakan bahwa isolat relatif murni.

Karakterisasi Senyawa Fenolik

Isolat relatif murni fraksi metanol dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis (*Varian Cary 60*) dan spektrometer IR (*Shimadzu*). Hasil analisis berupa gambar spektrum dan data-data yang terbaca dari spektrum. Spektrum yang diperoleh akan diinterpretasikan untuk mengarakterisasi senyawa yang terdapat dalam fraksi metanol bunga nusa indah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Sampel bunga nusa indah yang telah kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender dan diekstraksi dengan cara maserasi. Maserasi adalah proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi suhu dingin diskontinyu (Putra, *et al.*, 2014). Maserasi dilakukan selama 3x24 jam menggunakan pelarut metanol. Proses evaporasi menggunakan evaporator dengan suhu 40°C. Ekstrak kental metanol yang

diperoleh yaitu sebanyak 113,57 gram (dari 750 gram sampel).

Fraksinasi

Ekstrak kental metanol (60 gram) di partisi menggunakan pelarut sesuai dengan tingkat kepolarannya, seperti *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan metanol. Berdasarkan hasil fraksinasi yang diperoleh maka dapat dihitung nilai % rendemen setiap fraksi. Berikut ini merupakan tabel % rendemen dari hasil perhitungan massa fraksi.

Tabel 1. Nilai % Rendemen dari Massa Fraksi Hasil Fraksinasi Sampel

Fraksi	Massa Fraksi (g)	Rendemen (%)
fraksi metanol	6,4573	10,76
fraksi <i>n</i> -heksana	10,4488	17,41
fraksi diklorometana	6,1108	10,18
fraksi etil asetat	8,3772	13,96

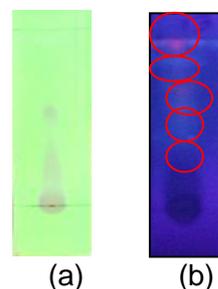
Uji Metabolit Sekunder

Ekstrak dari keempat fraksi hasil partisi yang diperoleh yaitu fraksi metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi diklorometana dan fraksi etil asetat kemudian dilakukan uji fitokimia. Berdasarkan hasil uji fitokimia diketahui ekstrak kental metanol mengandung senyawa kimia seperti fenolik, tannin, saponin, steroid, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Selain itu, senyawa fenolik terdapat pada fraksi diklorometana, etil asetat dan metanol.

Metode Pemisahan dan Pemurnian Kromatografi vakum cair (KVC)

Langkah awal yang dilakukan sebelum KVC adalah kromatografi lapis tipis pada fraksi metanol. Tujuannya untuk menentukan eluen terbaik yang akan digunakan pada saat pemisahan dan pemurnian dalam proses KVC. KLT dilakukan menggunakan plat silika gel 60 F₂₅₄ ; ukuran 1x5 cm yang dielus dengan variasi fase gerak seperti metanol 100 %, etil asetat 100%, etil asetat : metanol (5:5); etil asetat : diklorometana (5:5), (3:7), (7:3), (1:9), (9:1), (2:8), (4:6), (6:4) ; metanol : etil asetat (1:1), (1:9), (9:1), (5:5), (3:7) ; metanol : etil asetat : diklorometana (1:4:5), (1:3:6). Pada perlakuan ini didapatkan

perbandingan metanol: etil asetat: diklorometana (1:3:6) sebagai eluen terbaik yang akan digunakan dalam proses KVC. Fase gerak yang memberikan noda terbanyak dengan jarak pemisahan yang cukup atau perbedaan nilai R_f yang cukup besar akan digunakan sebagai eluen pada saat proses KVC (Parwata, *et al.*, 2010).



Gambar 1. Eluen Perbandingan Terbaik Metanol: Etil Asetat: Diklorometana (1:3:6) Menggunakan Lampu UV (a) 245 nm (b) 366 nm.

Kromatografi Vakum Cair menggunakan fraksi metanol mendapatkan eluat sebanyak 42 botol. Selanjutnya fraksi metanol dikeringanginkan untuk mengetahui massa fraksi yang diperlukan sebagai pertimbangan untuk pemilihan fraksi yang akan diteruskan.

Tabel 2. Data Massa Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan KVC

No.	Fraksi gabungan	Fraksi-fraksi yang digabung	Massa fraksi (mg)
1.	F1	1-2	16,54
2.	F2	3-5	16,48
3.	F3	6-10	28,86
4.	F4	11-17	48,99
5.	F5*	18-21	117,26
6.	F6	22-30	55,09
7.	F7	31-34	2049

Keterangan : * Sampel dilanjutkan ke tahap selanjutnya

Pola pemisahan yang sama pada hasil kromatografi lapis tipis digabungkan sehingga memperoleh tujuh fraksi gabungan (F₁-F₇), selanjutnya dikeringanginkan pada suhu kamar. Ketujuh fraksi gabungan ditimbang untuk mengetahui massa sampel setelah kromatografi vakum cair. Dari hasil pemisahan terpilih gabungan dari plat nomor 18-21. Pola pemisahannya paling

baik dan jumlah bobot sampelnya paling banyak yakni 117,26 mg.

Kromatografi kolom gravitasi (KKG)

Berdasarkan hasil KLT dari hasil KKG dipilih pola noda yang sama untuk digabungkan, maka terpilih 7 fraksi gabungan ($F_{2.1}$ - $F_{2.7}$) yang akan ditentukan massa fraksi-fraksi tersebut. Tabel 3 adalah data massa fraksi dan hasil uji Fenolik dari 7 fraksi hasil penggabungan.

Tabel 3. Data Massa Fraksi-Fraksi Pemisahan KKG

No.	Fraksi gabungan	Fraksi-fraksi yang digabung	Massa fraksi (mg)
1.	$F_{2.1}$	1-2	3,2
2.	$F_{2.2}$	3-4	7
3.	$F_{2.3}$	5-9	20
4.	$F_{2.4}$	10-45	94,7
5.	$F_{2.5}$	46-48	39,4
6.	$F_{2.6}^*$	49-97	438,9
7.	$F_{2.7}$	98-116	27,3

Keterangan : * fraksi yang diteruskan untuk dianalisis

Berdasarkan dengan pertimbangan dari massa ketujuh fraksi tersebut maka fraksi terpilih akan dianalisis spektrometri. Hal ini karena massa ketujuh fraksi tersebut tidak memungkinkan untuk dilakukan KKG karena dikhawatirkan massa ketujuh fraksi tersebut akan habis. Pada tabel 4.6 diketahui massa fraksi ke enam ($F_{2.6}$) memiliki massa fraksi yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi yang lainnya. Selain itu, $F_{2.6}$ memiliki pola noda serupa sehingga $F_{2.6}$ terpilih untuk dianalisis spektrometri.

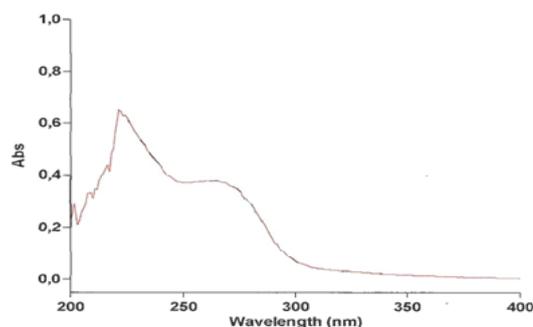
Uji Kemurnian

Analisis KLT satu dimensi menggunakan beberapa eluen, diantaranya adalah metanol 100%, etil asetat:metanol 5:5, etil asetat:metanol 7:3 dan etil asetat:metanol 3:7. Uji kemurnian dari fraksi $F_{2.6}$ selanjutnya dianalisis dengan KLT dua dimensi menggunakan eluen yang berbeda. Kromatogram Dua Dimensi Fraksi $F_{2.6}$ Menggunakan Eluen (a) Etil Asetat: Metanol (3:7) dan (b) Etil Asetat: Metanol (7:3) (Analisis KLT Menggunakan Silika Gel 60 F_{254} ; Tebal 0,2 mm; Ukuran 5 x 5 cm; Jarak Elusi 4 cm dan pada UV 254 nm dan 366

nm). fraksi $F_{2.6}$ memiliki satu komponen yang hampir sama dengan warna yang sama. Hasil warna yang terlihat adalah warna biru. Hal ini menandakan bahwa apabila dilakukan uji spektrometri maka sinyal yang muncul adalah sinyal komponen dominan yang terlihat atau bisa dikatakan senyawa target dapat terlihat pada komponen tersebut. Menurut Rita (2010), hasil dari uji kemurnian adalah fraksi yang tetap menunjukkan noda tunggal dengan berbagai campuran eluen yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi relatif murni secara KLT.

Analisis Senyawa Golongan Fenolik dalam Isolat $F_{2.6}$ Spektrofotometer UV-Vis

Karakterisasi isolat $F_{2.6}$ dengan spektrofotometer UV-Vis Cary 60. Menggunakan pelarut metanol menghasilkan spektrum sebagai berikut.



Gambar 2. Spektrum UV-Vis

Tabel 4. Panjang Gelombang (nm) dan Absorsi UV-Vis pada Isolat $F_{2.6}$

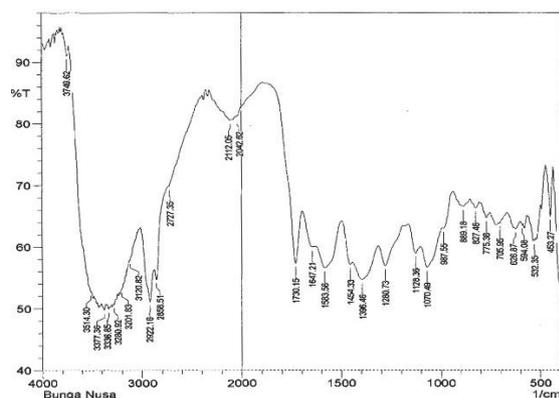
Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
221,0	0,651
267,5	0,370

Berdasarkan spektrum UV-Vis isolat menunjukkan adanya panjang gelombang maksimum yaitu 221,0 nm dan 267,5 nm yang menunjukkan adanya transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ dari ikatan rangkap C=C. Pada 267,5 nm menunjukkan transisi elektronik $n \rightarrow \sigma^*$ dari ikatan C=O. Hal ini diperkuat dari hasil spectrum IR yang menunjukkan adanya gugus fungsi C=C pada bilangan gelombang 1454,33 (cm^{-1}) dan adanya gugus fungsi C=O pada

bilangan gelombang $1730,15 \text{ cm}^{-1}$. Serapan landai pada panjang gelombang $267,5 \text{ nm}$ kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron $n \rightarrow \sigma^*$ yang disebabkan adanya ikatan rangkap C=O.

Spektrometri IR

Karakterisasi dengan spektrometer inframerah bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang ada pada isolat F_{2.6}. Alat spektrum yang digunakan adalah spektrometer IR shimadzu. Analisis isolat F_{2.6} dengan spektrometer inframerah menghasilkan spektrum pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum Spektrometri Inframerah isolat F_{2.6} (FTIR)

Berdasarkan dengan hasil spektrum FTIR menunjukkan adanya bilangan gelombang dan serapan sehingga dapat ditentukan gugus yang terdapat pada analit. Berikut ini merupakan data yang diperoleh dari spektrum FTIR.

Tabel 5. Spektrum Inframerah Isolat F_{2.6}

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Intensitas	Gugus fungsi
3120,82-3514,30	Lebar	OH (ulur)
2922,16-2858,51	Lebar	C-H alifatik
1730,15	Tajam	C=O
1583, 56	Tajam	C=C alifatik (ulur)
1454,33	Tajam	C=C aromatik (ulur)
1128,36	Tajam	C-O-C (ulur)
827,46	Lebar	C-H siklik (tekuk)

Berdasarkan data spektrum tersebut, isolat diindikasikan merupakan senyawa fenolik. Hal ini dikarenakan adanya serapan lebar pada bilangan gelombang $3120,82\text{-}3514,30 \text{ cm}^{-1}$ yang menandakan adanya gugus fungsi OH (ulur). Pada bilangan gelombang $2922,16\text{-}2858,51 \text{ cm}^{-1}$ memiliki serapan lebar yang menunjukkan adanya gugus fungsi C-H alifatik. Pada bilangan gelombang $1730,15 \text{ cm}^{-1}$ memiliki serapan tajam yang menunjukkan adanya gugus C=O. Pada bilangan gelombang $1583, 56 \text{ cm}^{-1}$ memiliki serapan tajam yang menunjukkan adanya gugus C=C alifatik (ulur). Bilangan gelombang $1454,33 \text{ cm}^{-1}$ memiliki serapan tajam yang menunjukkan C=C aromatik (ulur), bilangan gelombang $1128,36 \text{ cm}^{-1}$ memiliki serapan tajam yang menunjukkan adanya gugus C-O-C (ulur), dan pada bilangan gelombang $827,46 \text{ cm}^{-1}$ memiliki serapan lebar yang menunjukkan adanya gugus C-H siklik (tekuk).

SIMPULAN

Berdasarkan uji fitokimia, pemisahan dan pemurnian, serta analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan spektrometri IR maka diprediksikan bahwa senyawa yang terdapat di dalam isolat F_{2.6} adalah fenolik.

DAFTAR PUSTAKA

- Eswaraiah, M.C dan Elumalai, A. 2011. Isolation of phytoconstituents from the stems of *Mussaenda erythrophylla*. Department of Pharmacognosy Anurag Pharmacy College. India. *Der Pharmacia Sinica*, 2: 132-142.
- Firdaus dan Utami, 2009. Analisis Kualitatif Paracetamol pada Sediaan Jamu Serbuk Pegal Linu Yang Beredar di Purwokerto. *Jurnal Farmasi*. 6:2.
- Kar, D.M, Rout S.K., Moharana, L., dan Majumdar, S., 2014. Evaluation of Anticonvulsant Activity of Hydroalcoholic Extract Of *Mussaenda Philippica* on Animals. *Journal of Acute Disease*. Hal 46-50.
- Khopkar, S.M. 1990. Konsep Dasar Kimia Analitik. Penerjemah : A. Saptorahardjo, Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pangelly, 2004. The Constituents of Medical Plants. 2 Edition. Allen & Uwin, Crows Nest.

- Parwata IM. O.A.P.,Ratnayani K., dan Listya A. , 2010. Aktivitas Antiradical Bebas serta Kadar Beta Karoten pada Madu Randu (*Ceiba Pentendra*) dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata L*). *Jurnal Kimia*. 4:54-62.
- Putra,B.A.A., Bogoriani, N.W., Diantariani, N.W., 2014. Ekstraksi Warna Alam dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa Paradisiaca L.*) dengan Metode Maserasi, Refluks, dan Sokletasi. 8:113-199.
- Rita, W.S., 2010. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu Putih (*Curcuma Zedoaria Berg.*) (*Roscoe*). *J.Kim* 4:20-26.
- Vermerris W, Nicholson R. Phenolic Compound. Netherlands: Springer, 2006.