



ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK DARI DAUN PUTAT (*Planchonia valida* Blume)

(ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PHENOLIC COMPOUND FROM PUTAT LEAVES (*Planchonia valida* Blume))

Syafri Syamsudin, Andi Hairil Alimuddin*, Berlian Sitorus

*Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak, 78124*

*Corresponding author: andi.hairil.alimuddin@chemistry.untan.ac.id

DOI: <http://dx.doi.org/10.26418/indonesian.v5i2.56554>

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 July 2022

Accepted 30 July 2022

Available online

31 July 2022

Keywords:

*Putat leaves,
Planchonia valida
Blume, phenolic and
ester*

ABSTRACT

Gallic acid has been isolated from the leaves of the Putat plant (*Planchonia valida* Blume). This study aimed to isolate and characterize isolates from Putat leaves by phytochemical and FTIR spectrophotometry. The research procedures included extraction by maceration, partitioning by fractionation, vacuum liquid chromatography (KCV), gravity column chromatography (KKG), thin layer chromatography (TLC), and FTIR analysis. A total of 1400 grams of Putat leaf powder was macerated to produce 159.243 grams (11.38%) of methanol extract. A total of 101 grams of methanol extract was dechlorophyllated to obtain 21.430 grams (21.21%) of dechlorophyllated extract. The dechlorophyllated extract was partitioned gradually with n-hexane and ethyl acetate to produce n-hexane fractions of 0.341 grams (1.591%), ethyl acetate of 10.143 grams (47.33%), and methanol of 9.170 grams (42.79%). A phytochemical test showed that in the dechlorophyllated extract, the methanol and ethyl acetate fractions contained alkaloids, phenolics, flavonoids, and terpenoids while the n-hexane fraction contained alkaloids and flavonoids. A total of 7 grams of ethyl acetate fraction was fractionated by vacuum liquid chromatography to produce fractions B1 to B8. The B4 fraction was continued to the separation step by gravity column chromatography so that the fractions S1 to S9 were obtained. The S4 fraction was continued to the separation stage using preparative thin layer chromatography (TLC) to produce isolates S4.1 to S4.5. Isolate S4.1 was tested for purity by two-dimensional TLC showed that the isolate was not pure. The results of the phytochemical test with 5% FeCl₃ spray reagent indicated a positive phenolic compound which was strengthened by FTIR characterization of the presence of -OH, -CH aromatic, -CH aliphatic, C=C, C=O, and C-O groups. Based on these results, it was concluded that the isolate from the dechlorophyllated extract of Putat leaves belonged to phenolic compounds.

© 2022 IJoPAC. All rights reserved

1. Pendahuluan

Tumbuhan Putat secara empiris telah dilaporkan pemanfaatannya dalam bidang pengobatan tradisional. Masyarakat Mahakam Ulu Kalimantan Timur menggunakan daun putat sebagai obat gatal-
Syafri Syamsudin, et. al. / Indo. J. Pure App. Chem. 5 (2), pp. 85-98, 2022

gatal pada kulit, campuran bedak untuk melindungi kulit dari paparan sinar matahari, campuran air mandi pasca melahirkan dan menghilangkan flek-flek hitam di wajah^[1]. Putat merupakan salah satu spesies dari genus *Planchonia* yang termasuk satu dari 25 genus famili Lecythidaceae^[2]. Genus *Planchonia* mempunyai 10 spesies yang persebarannya dari Asia Tenggara sampai Pasifik Barat termasuk Australia. Spesies *Planchonia valida* Blume merupakan spesies utama dari genus *Planchonia* yang dapat ditemukan di Borneo, Malaysia, Sumatera, Jawa dan Sulawesi^[3].

Penelitian dari genus *Planchonia* yang telah dilaporkan diantaranya secara uji fitokimia terdapat senyawa saponin terasilasi dengan triterpenoid dari kulit kayu spesies *Planchonia careya*^[4]. Telah diisolasi 6 senyawa kimia dari *Planchonia careya* yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap yaitu (+)-galokatekin, galokatekin-(4 α →8)-galokatekin, asam α -dimorfenolik, asam hiptatat, asam 3- β -*O*-*trans*-*p* kumaroiltormentat, asam 3- β -*O*-*cis*-*p*-kumaroiltormentat^[5]. Hasil penelitian terhadap *Planchonia gendis* yang menunjukkan adanya 3 senyawa flavonoida yaitu golongan flavonol glikosida^[6].

Ekstrak etanol dari daun Putat memiliki aktifitas antioksidan kuat dengan rata-rata IC₅₀ sebesar 40,552 ppm^[7]. Penelitian lainnya yang dilaporkan, berdasarkan hasil karakterisasi isolat dari ekstrak metanol daun Putat (*Planchonia valida* Blume) di daerah Sumatera Utara diduga merupakan senyawa fenolik yaitu asam galat^[8].

Berdasarkan informasi yang telah diperoleh, penelitian tentang senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan Putat masih terbatas. Oleh karena itu, pada penelitian ini difokuskan mengisolasi senyawa fenolik dari daun Putat (*Planchonia valida* Blume) serta mengkarakterisasi secara uji fitokimia dan spektrofotometri FTIR.

2. Metode

2.1. Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah daun Putat, etil asetat, kloroform, metanol, *n*-heksana, plat KLT Alumunium F245, reagen uji fitokimia, plat KLT preparatif, silika G60 (0,2-0,5 mm) Merck, dan silika G60 (0,040-0,063 mm) Merck.

Alat yang digunakan adalah *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) *Shimadzu*, neraca digital (*Pioneer*), *rotary evaporator* (Heidolph), pipa kapiler, plat tetes, dan chamber, peralatan alat gelas kimia, peralatan destilasi (*thermo scientific*), lampu UV λ 254 nm dan λ 366 nm, peralatan KCV, peralatan kromatografi kolom.

2.2. Prosedur Kerja

2.2.1 Determinasi Sampel

Sampel dideterminasi di Laboratorium Biologi FMIPA Untan Pontianak. Determinasi dilakukan berdasarkan pengamatan ciri fisiologis tumbuhan. Sampel tumbuhan yang diteliti merupakan spesies *Planchonia valida* Blume yang diperoleh dari desa Selat Remis, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat.

2.2.2 Persiapan Sampel

Daun Putat yang telah dipetik, lalu dikeringkan tanpa terpapar matahari secara langsung. Daun kering dihaluskan menggunakan blender sampai diperoleh dalam bentuk serbuk.

2.2.3 Ekstraksi dan Partisi Sampel

Daun putat seberat 1,4 kg diblender sampai menjadi serbuk. Serbuk daun Putat dimaserasi dengan metanol teknis 3x24 jam, kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat tersebut dihilangkan klorofilnya dengan cara dilarutkan dalam metanol 1 L kemudian ditambahkan sejumlah aquades hangat secara perlahan 1 L dan didiamkan selama 24 jam. Hasil deklorofilasi dipisahkan antara endapan dan filtrat. Sebanyak 200 mL filtrat dipekatkan dan ditimbang sedangkan sisanya sebanyak 1800 mL dilanjutkan tahap partisi. Filtrat deklorofilasi selanjutnya dipartisi

cair-cair dengan *n*-heksana sampai bening dan etil asetat sampai bening, diperoleh 3 fraksi yaitu *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Semua fraksi yang diperoleh, dievaporasi dan ditentukan beratnya.

2.2.4 Uji Fitokimia

a. Identifikasi senyawa alkaloid

Dilakukan dengan menambahkan sedikit masing-masing ekstrak dan fraksi ke tabung reaksi masing-masing ditambahkan dengan 3 reagen berbeda yaitu Dragendrof, Mayer dan Wegner. Hasil positif ditunjukkan masing-masing terbentuknya endapan jingga pada reagen Dragendrof, terbentuknya endapan putih atau kekuningan pada reagen Mayer dan terbentuknya endapan cokelat pada reagen Wegner^[9].

b. Identifikasi senyawa flavonoid

Dilakukan dengan menambahkan masing-masing ekstrak dan fraksi ke tabung reaksi. Pada sampel ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menandakan positif flavonoid^[9].

c. Identifikasi senyawa terpenoid dan steroid

Dilakukan dengan menambahkan masing-masing ekstrak dan fraksi ke tabung reaksi, sampel ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Terbentuknya warna merah atau ungu menandakan adanya golongan terpenoid dan warna kebiruan sampai hijau menandakan adanya golongan steroid^[9].

d. Identifikasi senyawa fenolik

Dilakukan dengan menambahkan masing-masing ekstrak dan fraksi ke tabung reaksi, sampel ditambahkan reagen FeCl₃ 5%. Terbentuknya warna biru sampai kehitaman menandakan positif fenolik^[10].

2.2.4 Pemisahan dan pemurnian

Sampel fraksi padat etil asetat sebanyak 7 gram diimpregnasi menggunakan silika G60 (0,2-0,5 mm). Fase diam silika G60 (0,040-0,063 mm) ditimbang 70 gram dan dimasukkan ke dalam kolom lalu dipadatkan dan diratakan, kemudian sampel dimasukkan ke dalam kolom. Sampel elusi dengan fase gerak *n*-heksana 100%, *n*-heksana:ea (8:2) 2x100 mL, (7:3) 2x100mL, (6:4) 2x100mL, (5:5) 2x100mL, (4:6) 2x100mL, (3:7) 2x100mL, (2:8) 2x100mL, (1:9) 2x100mL, etil asetat 100% 2x100mL dan metanol 100% sampai warna eluat memudar. Eluat yang memiliki spot relatif sama digabungkan, didapati 8 fraksi hasil penggabungan KCV yang diberi kode B1-B8 dan ditimbang. Setiap fraksi gabungan di KLT dengan *n*-heksana:ea (7:3).

Fraksi B4 dilanjutkan ke tahap kromatografi kolom gravitasi. Sampel fraksi B4 disiapkan dengan cara impregnasi. Fase diam silika gel G60 (0,040-0,063 mm) dimasukkan ke dalam kolom lalu dipadatkan sambil dialirkan *n*-heksana 100%. Sampel dimasukkan ke dalam kolom dan elusi dengan *n*-heksana:ea (8:2), (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9), etil asetat 100% dan metanol 100% masing-masing dalam volume 100 mL. Masing-masing eluat ditampung dalam vial 5 mL dan diuji KLT dengan *n*-heksana:ea (7:3). Pola spot yang relatif sama digabung, didapati 9 fraksi hasil KKG yang di beri kode S1-S9 dan ditimbang. Setiap fraksi gabungan di KLT dengan *n*-heksana:ea (7:3) dan diuji dengan reagen semprot FeCl₃ 5%.

Isolat S4 dimurnikan menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Isolat S4 ditotolkan ke plat KLTP 7x10 cm, elusi dengan *n*-heksana:ea (7:3). Noda target di plat KLTP dikerok lalu ditambahkan etil asetat kemudian didekantasi filtratnya dikering anginkan. Noda yang diperoleh dari KLTP diberi kode S4.1 dan dilanjutkan KLT 2D dengan eluen 1 *n*-heksana:etil asetat (7:3) dan eluen 2 CHCl₃:metanol (9:1). Hasil KLT kemudian diidentifikasi dengan reagen semprot FeCl₃ 5%.

2.2.5 Karakterisasi Isolat dengan Spektrometer FTIR

Isolat yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan spektrometer FTIR yang dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu Departemen Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Ekstraksi dan Partisi Daun Putat

Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah *Planchonia valida* Blume atau dikenal dengan nama Putat. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun Putat yang diperoleh dari desa Selat Remis, Kabupaten Kubu Raya, Kalimantan Barat. Daun Putat dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung kemudian dipotong dan dihaluskan dengan blender. Hal ini dilakukan agar ukuran sampel menjadi lebih kecil sehingga memperbesar luas permukaan sampel serta dapat membantu proses pemecahan membran sel untuk mengeluarkan senyawa kimia pada sampel. Sampel yang telah halus dan kering ditimbang dan dilanjutkan ke tahap ekstraksi.

Serbuk daun kering sebanyak 1,4 kg dimaserasi 3x24 jam agar sebagian besar senyawa kimia pada sampel larut ke dalam pelarutnya. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang mudah digunakan, praktis, dan sederhana^[11]. Saat proses maserasi pelarut yang digunakan yaitu pelarut metanol. Salah satu keuntungan menggunakan pelarut metanol adalah mudah menguap dengan titik didih rendah sebesar 64,7°C sehingga memudahkan untuk diuapkan saat proses evaporasi^[12]. Maserat yang dihasilkan dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *evaporator*. Ekstrak padat metanol yang diperoleh sebanyak 159,243 gram dengan persen rendemen 11,38 %.

Sebanyak 101 gram ekstrak padat metanol dilarutkan dengan pelarut metanol kemudian ditambahkan air hangat dengan volume yang sama. Air ditambahkan sedikit demi sedikit secara perlahan sambil diaduk, setelah itu didiamkan semalaman dan terbentuk endapan berwarna hijau. Endapan yang terbentuk lalu disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Hal ini dilakukan untuk memisahkan senyawa klorofil yang terdapat pada ekstrak daun sehingga tidak mengganggu saat pengamatan. Perlakuan ini dinamakan dengan proses deklorofilasi^[13]. Filtrat deklorofilasi diuapkan dan ditentukan beratnya. Berat ekstrak awal dan hasil deklorofilasi daun Putat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Berat ekstrak awal dan ekstrak hasil deklorofilasi daun Putat

Sampel	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Rendemen (%)
Ekstrak metanol daun Putat	1400	159,243	11,38
Ekstrak deklorofilasi	101	21,430	21,21

Filtrat hasil deklorofilasi kemudian dipartisi menggunakan *n*-heksana sampai bening dan menggunakan pelarut etil asetat. Penggunaan pelarut *n*-heksana dan etil asetat berdasarkan tingkatan kepolarannya, dengan menggunakan pelarut *n*-heksana senyawa nonpolar dari ekstrak akan larut dipelarut *n*-heksana, sedangkan senyawa yang semipolar akan bergabung dengan pelarut etil asetat sehingga tersisa senyawa kimia yang kepolarannya tinggi dipelarut metanol^[14]. Fraksi *n*-heksana, etil asetat dan metanol diuapkan kembali menggunakan *rotary evaporator* untuk mengetahui berat yang didapat. Hasil dari penimbangan fraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Berat fraksi dan rendemen

Sampel	Berat (gram)	Rendemen (%)
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,341	1,591
Fraksi Etil Asetat	10,143	47,330
Fraksi Metanol	9,170	42,790

3.2 Uji Fitokimia

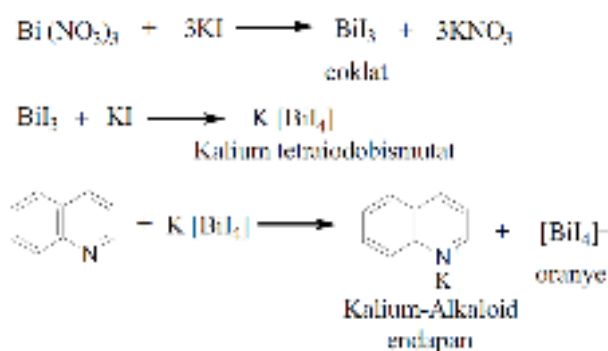
Sampel ekstrak dan fraksi yang diperoleh, diidentifikasi golongan senyawa kimia berdasarkan uji fitokimia. Uji fitokimia menjadi panduan dalam pemilihan sampel yang akan dilanjutkan. Hasil dari uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia

Metabolit Sekunder	Ekstrak (Filtrat deklorofilasi)	Fraksi Metanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi <i>n</i> Heksan
Alkaloid	+++	+++	+++	+
Fenolik	+++	+++	+++	-
Flavonoid	+	+	+	++
Terpenoid	+	+	+	-
Steroid	-	-	-	-

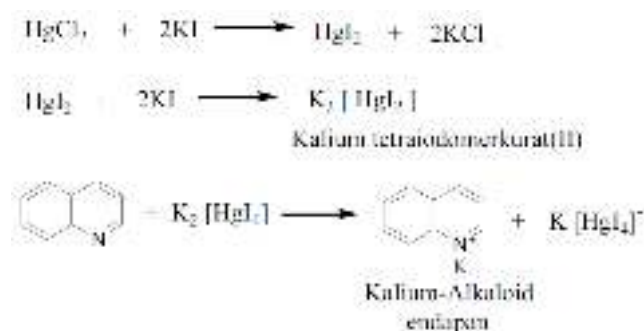
Keterangan: (+++) intensitas kuat, (++) sedang (+) lemah, (-) tidak terdeteksi

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan menambahkan masing-masing reagen Dragendrof, Mayer dan Wagner ke dalam tabung reaksi yang telah berisi ekstrak uji. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk endapan berwarna jingga untuk Dragendrof, endapan putih kekuningan untuk Mayer dan endapan coklat untuk Wegner^[9]. Seluruh sampel uji menunjukkan positif golongan alkaloid. Reaksi yang terjadi antara pereaksi Dragendroff dan alkaloid, dimana nitrogen dari alkaloid yang mempunyai pasangan elektron bebas membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat dan menghasilkan endapan kalium-alkaloid^[14]. Reaksinya senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendroff tercantum pada Gambar 1.



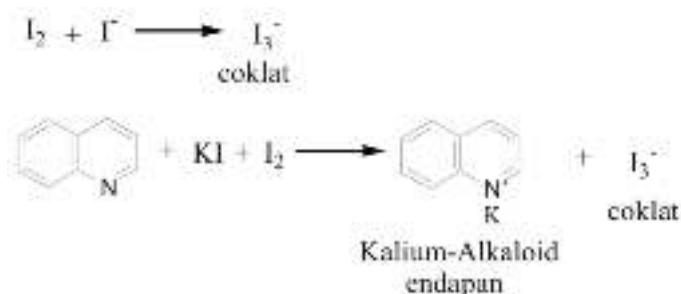
Gambar 1. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendrof

Endapan putih menandakan hasil positif terhadap uji Mayer. Endapan diperkirakan adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomercurat (II)^[15]. Pasangan elektron bebas pada atom nitrogen, digunakan untuk berikatan secara kovalen koordinat dengan ion logam^[16]. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan atom nitrogen akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) dan menghasilkan endapan kalium-alkaloid. Reaksi pada uji Mayer ditunjukkan pada Gambar 2.



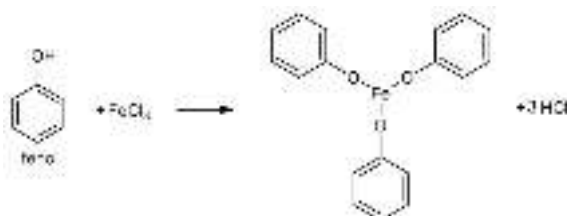
Gambar 2. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer

Endapan coklat muda sampai kuning menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada uji Wagner. Endapan diperkirakan adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, I iodin bereaksi dengan ion I⁻ dari kalium iodida menghasilkan ion I₃⁻ yang berwarna coklat. Mekanisme reaksi pada uji Wagner, diperkirakan atom nitrogen akan bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium iodida dan menghasilkan endapan kalium-alkaloid^[16]. Reaksi uji Wagner ditunjukkan pada Gambar 3.



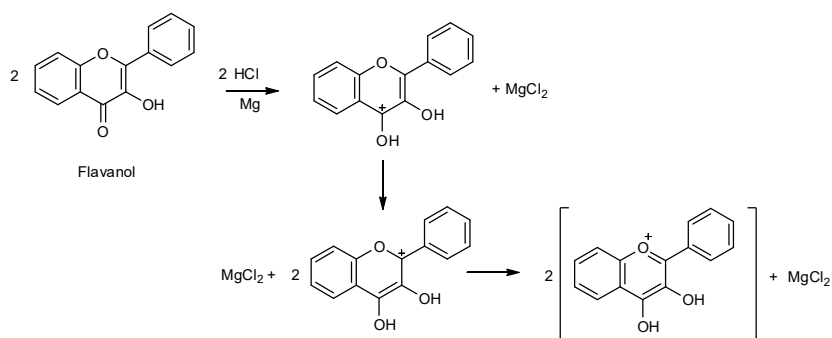
Gambar 3. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Wagner

Senyawa fenolik diidentifikasi menggunakan reagen FeCl₃ 5% yang ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi sampel uji. Terbentuknya warna hitam-kebiruan pada sampel uji menunjukkan adanya senyawa fenolik pada sampel^[9]. Seluruh sampel uji menunjukkan positif fenolik terkecuali pada fraksi *n*-heksana yang tidak terbentuk larutan berwarna biru kehitaman. Hal ini menunjukkan pada sampel ekstrak metanol (filtrat deklorofilasi), fraksi metanol dan etil asetat terkandung senyawa fenolik yang tinggi. Identifikasi senyawa fenol dapat diperoleh dengan menggunakan pereaksi FeCl₃^[9]. Fenol akan membentuk warna hijau, ungu, merah, biru, coklat, atau hitam pekat akibat reaksi dengan besi (III) klorida. Adanya perubahan warna yang berbeda-beda disebabkan oleh senyawa yang memiliki gugus hidroksil berbeda jumlah dan posisinya^[17]. Reaksi pada uji fenolik dicantumkan pada Gambar 4.



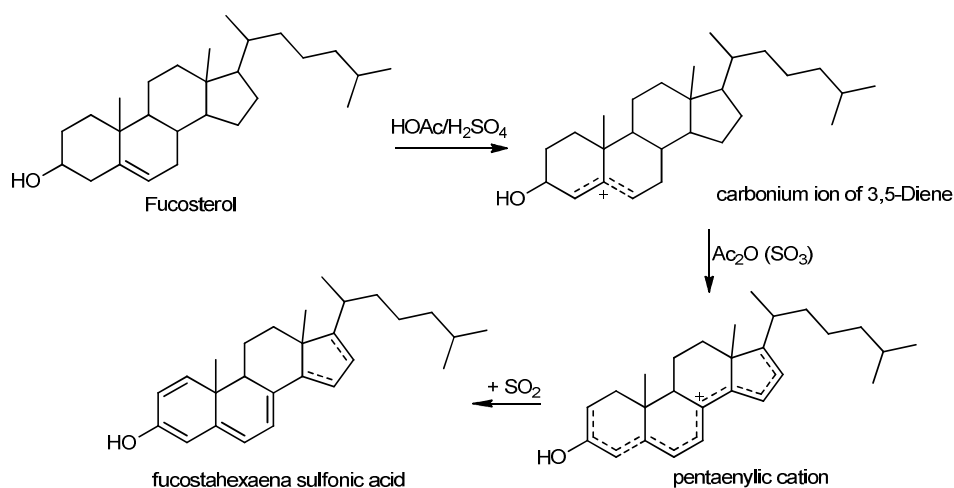
Gambar 4. Reaksi senyawa fenolik dengan FeCl₃

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menambahkan sedikit serbuk Mg dan ditetesi HCl pekat ke dalam tabung reaksi yang telah diisi sampel uji. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-jingga pada sampel uji^[9]. Pada uji flavonoid ini, fraksi *n*-heksana terbentuk warna kuning yang jelas di lapisan bawah sampel. Ekstrak metanol dan fraksi etil asetat menunjukkan perubahan warna yang tidak terlalu jelas sehingga diindikasikan bahwa hanya sedikit senyawa flavonoid yang terkandung pada sampel tersebut. Reaksi pada uji flavonoid tercantum pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl

Identifikasi senyawa steroid dan terpenoid menggunakan reagen Liebermann-Burchard (anhidrida asetat- H_2SO_4 pekat) ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi sampel uji. Terbentuknya warna merah-ungu menandakan positif golongan terpenoid dan warna biru-hijau positif golongan steroid^[9]. Adanya perbedaan warna ini didasari oleh kemampuan senyawa terpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut anhidrida asam asetat^[14]. Berdasarkan literatur, ekstrak metanol, fraksi metanol dan fraksi etil asetat menunjukkan terbentuknya warna jingga, sehingga diindikasikan terdapat senyawa terpenoid pada sampel. Reaksi senyawa terpenoid/steroid dengan pereaksi Liebermann-Burchard tercantum pada Gambar 6^[18].



Gambar 6. Reaksi senyawa terpenoid/steroid dengan pereaksi Liebermann-Burchard

3.4 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

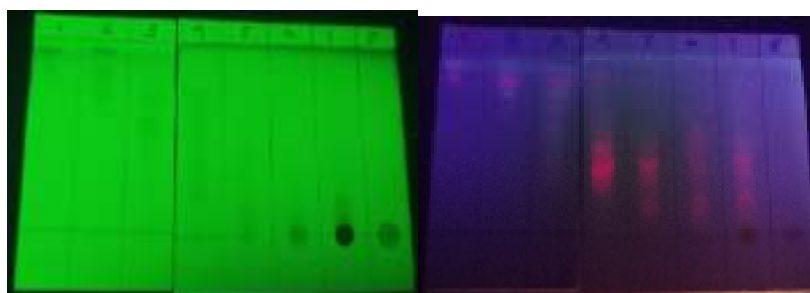
Pemurnian dengan metode KCV dilakukan terhadap fraksi etil asetat karena menunjukkan hasil positif dengan uji fitokimia golongan polifenol dan memiliki massa tertinggi. Fraksi etil asetat sebanyak 7 gram terlebih dahulu dilarutkan lalu diimpreg dengan silika impreg dengan perbandingan sampel:silika (1:1) hal ini dilakukan agar terjadi proses pemisahan yang optimal saat elusi karena sampel diharapkan dapat tersebar secara merata. Sampel selanjutnya dialiri fase gerak bergradien *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (8:2), (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9), etil asetat 100% dan metanol 100% sampai warna eluat tidak terlalu pekat. Peningkatan kepolaran eluen dilakukan agar senyawa metabolit sekunder terdistribusi berdasarkan kepolaran eluen tersebut, sehingga senyawa metabolit sekunder yang didapat akan lebih mudah dipisahkan.

Proses KCV dilakukan dengan menggunakan fase diam silika G60 seberat 70 gram. Hasil KCV semua dimonitoring dengan KLT eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) dan digabungkan berdasarkan kesamaan noda yang tampak dengan menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm serta reagen penampak noda. Pemilihan eluen *n*-heksana:etil asetat (7:3) didasarkan pada distribusi pola noda yang dihasilkan terlihat memiliki pemisahan yang lebih baik dari semua eluen yang didapatkan dari hasil orientasi eluen sebelumnya. Penggunaan lampu UV didasarkan pada sifat fluoresensi dari noda dan lempeng KLT. Saat lampu UV 254 nm digunakan, indikator dari lempeng akan berfluoresens dan noda akan tampak gelap, sedangkan pada lampu UV 366 nm noda yang terdeteksi akan berfluoresens sehingga noda-noda yang muncul akan lebih mudah untuk dilihat karena lempeng tidak berfluoresens. Fluoresensi merupakan emisi cahaya yang dipancarkan karena tereksitasinya elektron dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi^[19].

Eluat hasil KCV didapatkan sebanyak 8 eluat hasil penggabungan KCV dan diukur berat masing-masing eluat kemudian di KLT serta dideteksi di bawah sinar UV 254 nm, 366 nm dan disemprot dengan reagen serum sulfat untuk mendeteksi noda dari senyawa fenolik^[20]. Berat eluat hasil gabungan KCV dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Berat fraksi gabungan hasil KCV

Kode Eluat	Berat (mg)
B1	89
B2	40
B3	133
B4	242
B5	482
B6	317
B7	826
B8	584



Gambar 7. Deteksi sinar UV 254 dan 365 nm



Gambar 8. Hasil semprot dengan Serium Sulfat ($Ce_2(SO_4)_3$)

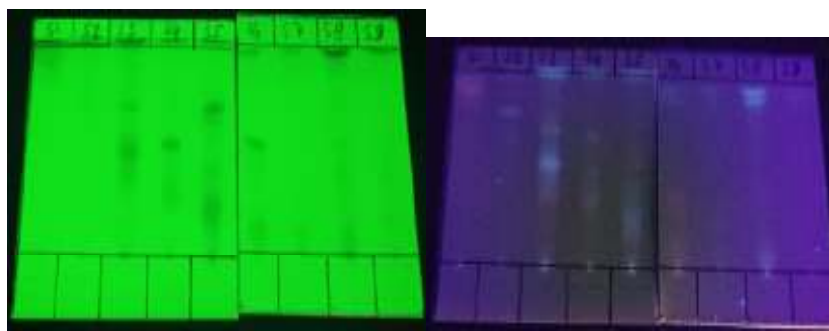
Berdasarkan hasil KLT, kompleksitas dari eluat B4 terpisah cukup baik dan tampak mencolok noda merah, kemudian hasil semprot reagen penampak noda serium sulfat, terbentuk perubahan warna pada *spot* tunggal menjadi kehitaman yang diduga adanya senyawa fenolik pada eluat B4. Sebanyak 242 mg eluat B4 diperoleh dari tahap KCV yang dilanjutkan ke tahap pemisahan selanjutnya menggunakan kromatografi kolom gravitasi (KKG).

3.5 Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Sampel sebanyak 242 mg yang dimasukkan ke dalam kolom kromatografi gravitasi (KKG) lalu dielusi menggunakan eluen bergradien *n*-heksana 100%, *n*-heksana:etil asetat (8:2), (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9), etil asetat 100% dan metanol 100% sampai noda di kolom turun semua. Isolat ditampung 5 mL dan didapatkan 162 isolat. Masing-masing isolat diKLT dengan eluen *n*-heksana:ea (7:3) dan dideteksi dengan menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Hasil KKG diperoleh 9 isolat gabungan yang kemudian dikeringkan dan ditimbang. Berikut berat masing-masing isolat gabungan hasil KKG pada Tabel 5.

Tabel 5. Berat eluat gabungan hasil KKG

Kode Isolat	Berat (mg)
S1	16
S2	8
S3	19
S4	15
S5	21
S6	20
S7	2
S8	28
S9	1



Gambar 9. Deteksi UV 254 dan 365 nm

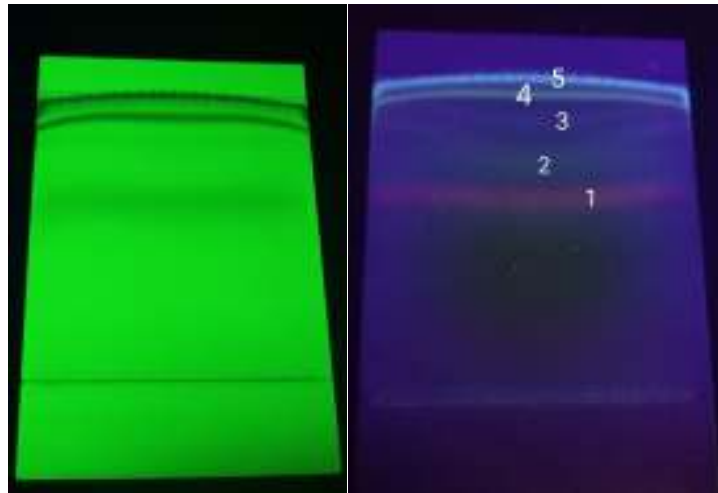


Gambar 10. Hasil semprot dengan FeCl_3 5%

Berdasarkan hasil KLT, kompleksitas dari isolat S4 terpisah 3 noda kemudian hasil deteksi menggunakan reagen semprot spesifik penampak noda fenolik yaitu FeCl_3 5%, terbentuk perubahan warna *spot* tunggal dan sedikit pengotor menjadi kehitaman yang menandakan adanya senyawa fenolik pada isolat S4. Isolat S4 mempunyai berat 15 mg yang dilanjutkan ke tahap pemurnian.

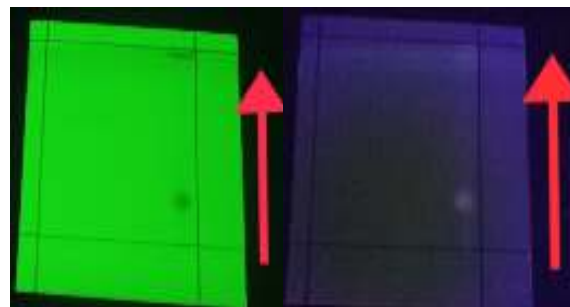
3.6 Pemurnian Isolat

Pemurnian lebih lanjut terhadap Isolat S4 dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Isolat S4 ditotolkan ke plat KLTP 7x10 cm kemudian dielusi dengan pelarut *n*-heksana:etil asetat (7:3). Setelah dielusi, Sampel pada plat KLTP terpisah menjadi 5 noda yang tampak kemudian dipisahkan dengan mengerok silika pada plat sesuai dengan letak warna noda. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 11.

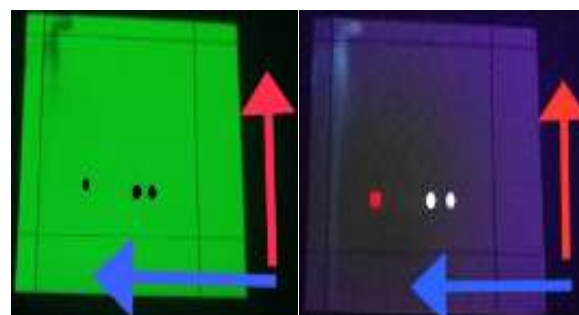


Gambar 11. Deteksi UV 254 dan 365 nm

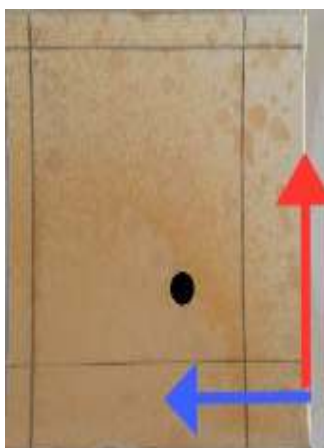
Noda nomor 1 berwarna merah pada plat KLTP diambil dan dilarutkan ke dalam etil asetat lalu didekantasi. Larutan dibiarkan sampai kering kemudian ditimbang dan didapatkan berat isolat 1 mg. Isolat diberi kode S4.1 dan dilanjutkan KLT 2 dimensi dengan eluen 1 *n*-heksana:etil asetat (7:3), eluen 2 kloroform:metanol (9:1). Penggunaan KLT 2 dimensi ini untuk menguji kemurnian isolat hasil isolasi berdasarkan noda yang muncul. Isolat dikatakan murni apabila menghasilkan 1 noda tunggal pada eluen apapun^[21]. Pada lampu UV 254 dan 366 nm hasil yang didapatkan pada eluen pertama, muncul noda tunggal. Hasil elusi ke 2, pada lampu UV 254 nm muncul noda tunggal dan pada lampu 366 nm masih terdapat noda lain muncul yang diduga senyawa lain, sehingga isolat yang didapat belum dikatakan murni. Plat hasil KLT kemudian disemprot dengan reagen FeCl₃ 5% untuk memastikan adanya senyawa fenolik yang terdapat pada isolat. Hasil uji semprot menunjukkan bahwa terdapat bercak noda hitam tunggal di plat sehingga yang terisolasi ada senyawa fenolik. Isolat yang didapatkan kemudian dikeringkan dan ditimbang.



Gambar 12. Deteksi UV 254 dan 365 nm

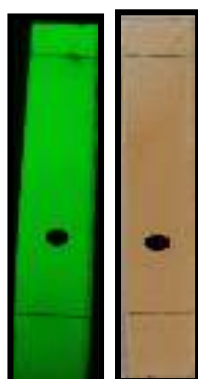


Gambar 13. Deteksi UV 254 dan 365 nm



Gambar 14. Hasil semprot reagen FeCl_3 5%

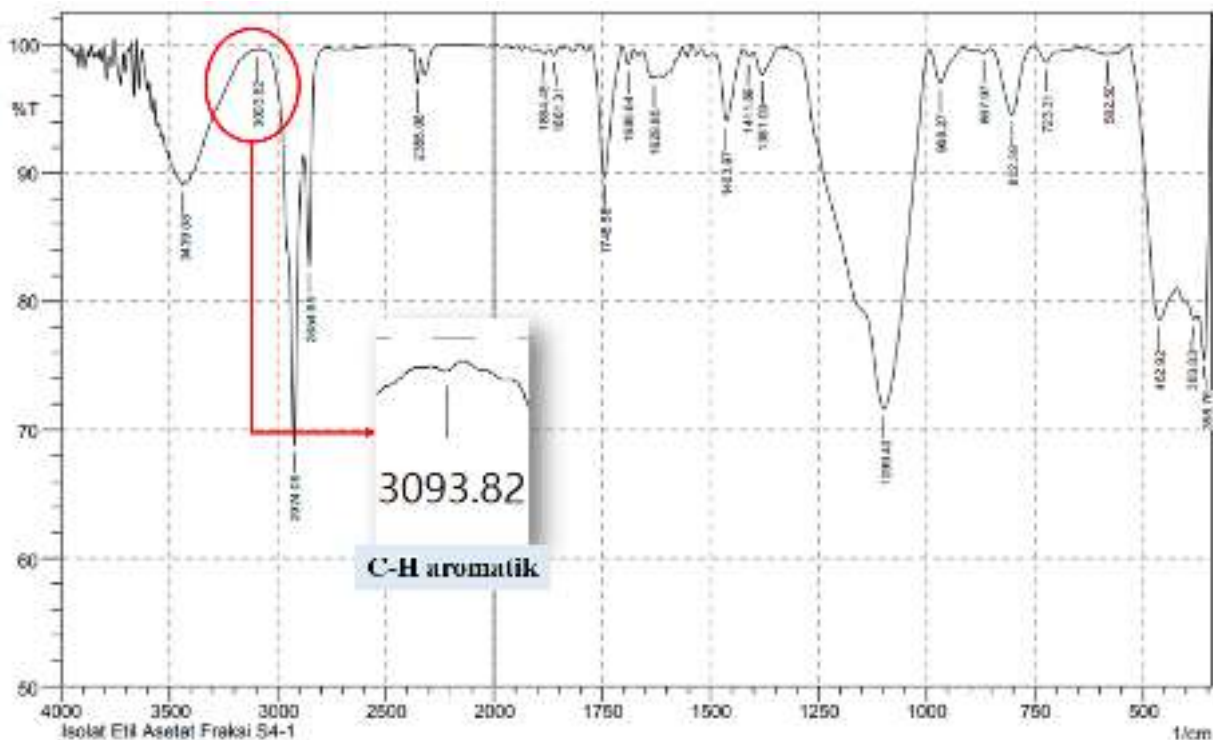
Isolat yang didapat memiliki bentuk padatan berwarna putih dan membentuk seperti lapisan tipis dipermukaan dalam vial dengan berat isolat 1 mg. Untuk memastikan kembali, isolat kemudian diidentifikasi dengan metode KLT menggunakan pendeteksi sinar UV 254 dan 366 nm dan pereaksi semprot FeCl_3 5%. Hasil KLT menunjukkan bahwa nilai R_f isolat adalah 0,28. Nilai R_f yang baik adalah kisaran pada angka 0,2-0,8^[22]. Isolat dikarakterisasi dengan instrumen FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang ada pada hasil isolasi yang didapatkan.



Gambar 15. Hasil KLT isolat S4.1 eluen n-heksan:EA (7:3)

3.7 Karakterisasi Gugus Fungsi Isolat

Berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan reagen semprot FeCl_3 , menunjukkan adanya bercak hitam pada plat yang menandakan positif adanya senyawa fenolik pada isolat. Sampel isolat S4.1 kemudian dikarakterisasi menggunakan instrumen FTIR. Pengukuran spektrum inframerah dilakukan pada daerah cahaya inframerah tengah (*mid-infrared*) yaitu pada bilangan gelombang 4000-200 cm^{-1} . Energi radiasi infra merah akan menyebabkan molekul tergetar atau bergetar. Setiap tipe ikatan kimia atau gugus fungsi menghasilkan pita absorpsi inframerah yang sangat khas dan spesifik^[23]. Isolat S4.1 dicampurkan dengan KBr dan dihaluskan menggunakan mortar yang kemudian dibuat pellet KBr kemudian dianalisis dengan FTIR. Adapun spektrum IR yang dihasilkan dari isolat S4.1 dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Spektrum FTIR dari isolat S4.1

Berdasarkan data spektrum FTIR yang didapatkan, isolat S4.1 menunjukkan adanya beberapa puncak pada bilangan tertentu. Hasil analisis spektrum FTIR dari senyawa isolasi yang dibandingkan dengan beberapa literatur menghasilkan interpretasi gugus fungsi ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil interpretasi spektrum FTIR

Isolat S4.1	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Perkiraan Gugus Fungsi
	Sudding and Herawati, 2019	Fessenden dan Fessenden, 1982	Skoog <i>et al.</i> , 2016	
3439,08	3450,65	3000-3700	3200-3600	O-H
3093,82	-	-	3050-3150	C-H aromatik
2924,09 2854,65	2926,01 dan 2860,43	2800-3000	2850-2970	C-H alifatik
1745,58	1722,43	1735-1750	1690-1760	C=O
1689,64 1629,85	1616,26	1600-1700	1610-1680	C=C aromatik
1463,97	1456,26	1450-1600	1500-1600	C-C dari -CH ₂
1381,03	1382,96	-	1340-1470	C-C dari -CH ₃
1099,43	1039,63	1050-1260	1050-1300	C-O

Berdasarkan Gambar spektrum FTIR, gugus fungsi yang terdeteksi antara lain, adanya bilangan gelombang 3439,08 cm⁻¹ yang meruncing menunjukkan adanya *stretching* -OH. Adanya bilangan gelombang 3093,82 cm⁻¹ dengan intensitas sangat lemah menunjukkan gugus C-H aromatik yang

didukung dengan munculnya puncak pada bilangan gelombang 867,97; 802,39 dan 723,31 cm^{-1} [24]. Selanjutnya terlihat pada bilangan gelombang 2924,09 dan 2852,65 cm^{-1} puncak kuat menandakan *stretching* C-H alifatik yang di susul pita serapan bilangan gelombang 1463,97 cm^{-1} yang menunjukkan ikatan C-C dari CH_2 dan pita pada bilangan gelombang 1381,03 cm^{-1} yang merupakan lekukan C-C dari CH_3 [24,25]. Bilangan gelombang 1745,58 cm^{-1} terdapat puncak tajam menunjukkan *stretching* C=O karbonil dan dibuktikan dengan adanya puncak bilangan gelombang 1099,43 cm^{-1} yang menunjukkan gugus C-O dari ester^[19]. Bilangan gelombang 1689,64 dan 1629,85 cm^{-1} puncak lemah menunjukkan *stretching* C=C aromatis^[24]. Sesuai dengan data bilangan gelombang daerah spektrum inframerah pada literatur, hasil spektrofotometri FTIR di atas memiliki kemiripan dengan hasil identifikasi IR dari senyawa turunan fenolik ester, 4-hidroksi benzoil etil ester sebagai pembanding^[25]. Senyawa isolate dari ekstrak deklorofilasi daun *Planchonia valida* Blume (Putat) menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam isolat S4.1 merupakan senyawa turunan fenolik ester.

4. Kesimpulan

Adapun kesimpulan dari penelitian adalah:

1. Hasil isolasi yang diperoleh dari 1400 gram Daun Tumbuhan Putat (*Planchonia valida* Blume) memiliki bentuk amorf berwarna putih dengan berat isolat 1 mg dan positif terhadap reagen FeCl_3 5% yang menunjukkan isolat yang didapat merupakan golongan senyawa fenolik.
2. Hasil analisis dengan Spektrofotometer Inframerah (FTIR) menunjukkan adanya serapan gugus -OH, -CH aromatik, -CH alifatik, C=C aromatik, C=O dan C-O. Berdasarkan hasil tersebut membuktikan bahwa isolat S4.1 merupakan golongan senyawa fenolik ester.

Daftar Pustaka

- [1] Supriningrum R., Nurul F., dan Yenni E. P. (2019). Karakterisasi Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Putat (*Planchonia valida*). *Al Ulum Sains dan Teknologi*, Vol. 5 (1)
- [2] Duarte, R.C, Carlos R.R, Raimundo B.F, and Leda M. (2015). Chemical Constituents of *Lecythis pisonis* (Lecythidaceae) – A New ^1H ^{13}C Saponin and Complete and Chemical Shift Assignments. *Natural Product Communications*, Vol. 10 (6)
- [3] Ogata, K. (2008). Identification of The Timbers of Southeast Asia And Western Pasific. Japan
- [4] Khong, P.W., and Lewis, K.G. (1979). New chemical constituents of *Planchonia careya*. II. Bark constituents soluble in light petroleum, *Australian journal of chemistry*, Vol 32 (7): 1621-1626
- [5] Mc.Rae M., Yang Q., and Crawford R. (2008). Antibacterial Compound from *Planchonia Careya* Leaf Extract. *Victoria: Elsevier*
- [6] Crublet, M.L., Long, C., Sevenet, T. and Hadi, H.A., 2003, Acylated flavonol glycosides from leaves of *Planchonia grandis*, *Phytochemistry*, Vol 64 (2) 589-594
- [7] Hajar. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Putat (*Planchonia Valida* Bl.) dengan Metode DPPH (1,1- Difenil-2-Pikrilhidrazil). Samarinda: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, Retrieved on Mei 18, 2020 from: http://repository.akfarsam.ac.id/index.php?p=show_detail&id=1081.
- [8] Hasibuan, N. A. K. (2018). Isolasi Senyawa Fenolik dari Daun Tumbuhan Putat (*Planchonia valida* Blume), Sumatera Utara: Institusi USU, Retrieved on Januari 17, 2020 from: <https://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/8271>
- [9] Harborne, J. B. (1987). Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Bandung: Penerbit ITB
- [10] Suryani, D.I., Zahara, T.A., dan Rudiyanasyah. (2017). Karakterisasi Senyawa Steroid dari Diklorimetana ranting Durian Klawing (*Durio graveolens* Becc.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(4): 45-48.

- [11] Leba, M. A. (2017). Ekstaksi dan Real Kromatografi, Yogyakarta: Deepublish
- [12] Maleta, H.S., Renny, I., Leenawaty, L., dan Tatas, H.P. (2018). Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, 40-50.
- [13] Rugayah. (2017). Karakterisasi Senyawa Triterpenoid dari Daun Jabon (*Anthocephalus cadamba (Roxb.) Miq.*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, Vol 6 (2).
- [14] Haryati, N. A., Chairul, S., dan Erwin. (2015). Uji Toksisitas dan Aaktivitas Antibakteri ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 36-40.
- [14] Wonoraharjo, S. (2013). Metode - Metode Pemisahan Kimia. Jakarta: PT. Indeks
- [15] Svehla. (1990). Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Mikro dan Semimakro. Jakarta: PT. Kalman Media Pustaka
- [16] Julianto, T.S. (2019). 'Fitokimia' Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia, Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia
- [17] Pambayun, R., Murdijati, G., Slamet, S., & Kapti, R., 2007, Kandungan Fenol dan Sifat Antibakteri dari Berbagai Jenis Ekstrak Produk Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*). *Majalah Farmasi Indonesia*, 141-146.
- [18] Nugrahani, R., Yayuk, A., dan Aliefman, H. (2016). Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*). *Jurnal Pendidikan IPA*, 97- 103.
- [19] Fessenden and Fessenden. (1990). Kimia Organik, Jilid 1. Jakarta: Penerbit Erlangga
- [20] Rahayu. (2016). Isolasi dan identifikasi senyawa fenolik dari kulit batang *aquilaria microcarpa* dan uji aktifitasnya sebagai antikanker, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Retrieved on Februari 9, 2020 from: <http://repository.unair.ac.id/id/eprint/54147>
- [22] Rohman A. (2009). Kromatografi untuk Analisis Obat. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- [23] Dachriyanus. (2004). Analisis Struktur Senyawa Organik, Padang: Andalas University Press
- [24] Skoog, D.A., West, B.M., Holler, F.J. and Crouch, S.R. (2016). Principles of Instrumental Analysis, Canada: Sevent Edition Thomson Learning
- [25] Sudding and N Herawati. (2019). Isolation and Identification of Secondary Methabolites Compound of Moringa Oleifera Lamk Leaf Acetic Ethyl Extract. *Journal of Physics: Conference Series*, 1752 (2021) 012053