

PEMANFAATAN MESOPORI SILIKA UNTUK PEMISAHAN SELEKTIF SENYAWA PADA TEH HITAM (*Camellia sinensis* L.)

Sri Gustini Husein¹, Melvia Sundalian²

¹ Kelompok Keilmuan Farmakokimia, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung 40266, Email : srigustinihusein@yahoo.com

² Kelompok Keilmuan Farmakokimia, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung 40266
Email : msundalian@gmail.com

Abstrak

Teh (*Camellia sinensis* [L.] O. Kuntze) merupakan bahan minuman kedua yang paling banyak diminati di dunia setelah air mineral. Pengembangan metode isolasi senyawa metabolit sekunder teh hitam perlu menjadi perhatian mengingat potensi dan manfaatnya. Salah satu metode yang dapat dipilih yaitu dengan menggunakan material mesopori. Pada penelitian ini mesopori dibuat dari campuran CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*), etanol absolut, ammonium hidroksida, asam borat, dan TEOS (*Tetraethyl Orthosilicate*) yang karakteristik menggunakan instrument *Scanning Electron Microscopic*, *Transmission Electron Microscopic*, dan *Fourier Transform Infrared*. Selain itu, mesopori silika juga dilakukan penjerapan terhadap ekstrak teh hitam yang bertujuan mengisolasi senyawa metabolit sekunder teh hitam, salah satunya kuersetin. Pemastian kadar kuersetin dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Hasil karakteristik menunjukkan bahwa mesopori silika yang dibuat memiliki partikel dengan diameter antara 10-20 nm dan bersifat amorf. Berdasarkan proses penjerapan mesopori terhadap ekstrak hitam menghasilkan fraksi yang memiliki kadar kuersetin sebesar 0,8753 ppm. Mesopori silika dapat dikatakan memiliki kemampuan untuk menjerap beberapa metabolit sekunder teh hitam, walaupun belum dapat diaplikasikan proses permurnian isolat.

Kata kunci : Mesopori, Mesopori Silika, Teh Hitam, Kuersetin

PENDAHULUAN

Teh (*Camellia sinensis* [L.] O. Kuntze) merupakan bahan minuman kedua yang paling banyak diminati di dunia setelah air mineral. Teh telah digunakan sebagai obat dan minuman kesehatan sejak jaman dahulu (Saito, 2006). Secara umum teh terbagi menjadi tiga jenis, yaitu teh hitam, teh hijau, dan teh oolong. Dari ketiga jenis teh tersebut, teh hitam merupakan teh yang paling diminati. Berdasarkan data tahun 2013 total produksi teh di Indonesia mencapai 146.450 ton, dimana 70.840 ton teh tersebut merupakan komoditi ekspor Indonesia (Badan Pusat Statistik, 2014).

Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada teh hitam yaitu senyawa polifenol (katekin, epikatekin, epikatekin galat, epigalokatekin, dan epigalokatekin galat), alkaloid (kafein, teobromin, dan teofilin) serta senyawa flavonol (kaemferol, kuersetin, dan mirisetin) (Sharangi, 2009). Beberapa diantara senyawa tersebut adalah senyawa marker penting salah satunya senyawa kuersetin. Kuersetin adalah senyawa golongan flavonoid yang memiliki rumus molekul

C₁₅H₁₀O₇. Kuarsetin berkhasiat sebagai antioksidan yang kuat (Engelhardt, 2010).

Pada umumnya pengambilan senyawa metabolit sekunder pada teh dapat dilakukan dengan teknik isolasi konvensional, tetapi teknik isolasi konvensional tidak efisien dan membutuhkan waktu yang lama. Untuk mengatasi kekurangan tersebut perlu lakukan pengembangan metode isolasi.

Pengembangan metode isolasi senyawa metabolit sekunder teh hitam perlu menjadi perhatian mengingat potensi dan manfaatnya. Metode isolasi yang digunakan hendaknya memiliki tingkat selektivitas yang baik dan dengan biaya yang relatif murah, serta diharapkan juga dapat diperoleh isolat dengan kemurniaan yang tinggi dengan jumlah yang maksimal. Salah satu metode yang dapat dipilih yaitu dengan menggunakan material mesopori.

Mesopori (nanopori) merupakan material yang memiliki pori berukuran nanometer yang berjumlah sangat banyak atau memiliki luas permukaan yang sangat besar. Luas

permukaan yang sangat besar dibandingkan dengan material pori konvensional menyebabkan mesopori memiliki kemampuan yang sangat baik untuk mengabsorpsi dan berinteraksi dengan atom, ion, ataupun molekul pada permukaan luarnya (Vadia and Sadhara 2011). Potensi yang dimiliki mesopori inilah menjadi dasar pada penelitian ini mesopori digunakan dalam pengembangan metode isolasi senyawa kuersetin pada teh hitam.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Water 1525, Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV1800, *Scanning Electron Microscopic* (SEM) JSM-6510A, *Transmission Electron Microscopic* (TEM) HT 7700, *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Nicolet iS5, XRD 6000 Rigaku Ultima IV, pengaduk ultrasonik, timbangan digital, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium kimia analisis.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah Kuersetin (TCI Chemical), Aquabidest, Metanol (Merck), Etanol 96% (Merck), Etanol 70%, TEOS (*Tetraethyl orthosilicate*), Asam Borat, CTAB (*Cetyl Trimetil Amonium Bromide*), Ammonium Hidroksida dan teh hitam.

Pembuatan dan Karakterisasi

Mesopori Berbasis Silika

Sejumlah tertentu CTAB dilarutkan dengan aquadest dalam wadah teflon kemudian ditambahkan etanol absolute (1 : 1), ammonium hidroksida, asam borat, dan TEOS. Semua bahan dicampur dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan pada suhu 70 °C sampai terbentuk *sol-gel* dan kemudian didiamkan pada suhu kamar selama 24 jam, lalu disaring. Endapan dicuci dengan air-etanol hingga mencapai pH netral dan selanjutnya di tanur pada suhu 600 °C selama 8 jam.

Karakterisasi mesopori hasil sintesis dilakukan dengan menggunakan XRD-6000 (Shimadzu) dengan panjang gelombang Cu- K α 1 = 1,5418 Å dengan energi 40 kV dan arus 30 mA dengan kisaran *scanning* sudut 2 θ antara 1,52° - 10°. Pengamatan bentuk, struktur, morfologi, dan ukuran kristal mesopori hasil sintesis dilakukan karakteristik menggunakan SEM JSM-6510 A

dengan akselerasi 20 kV dengan variasi perbesaran antara 500 – 40.000 kali. Karakteristik dengan TEM dilakukan dengan *Transmission Electron Microscopes* (TEM) HT 7700 pada tegangan 100/120 kV dengan filamen. Selain itu, karakterisasi mesopori hasil sintesis dan hasil pencangkakan juga dilakukan menggunakan FTIR Thermo Nicolet iS5 pada daerah bilangan gelombang 400 cm⁻¹ sampai 4000 cm⁻¹.

Preparasi Sampel Uji dan Penjerapan Sampel Uji Terhadap Mesopori

Sampel teh hitam ditimbang sebanyak 100 miligram, kemudian direfluks dengan air. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya dievaporasi sampai didapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental dilarutkan dalam 30 mL etanol 70%, dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan 1,5 gram mesopori. Proses penjerapan sampel dengan teknik pengocokan menggunakan *orbital shakeer* selama 24 jam dan 48 jam. Hasil penjerapan selanjutnya disaring sehingga didapatkan filtrat dan residu (endapan). Residu selanjutnya dielus dengan etanol 96% dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam dan disaring. Semua filtrat dan mesopori tersebut dianalisis menggunakan FTIR dan KCKT untuk penentuan kadar senyawa kuersetin yang didapat.

Karakterisasi Mesopori Setelah Penjerapan

Mesopori yang telah menyerap sampel uji (fraksi) dilakukan karakterisasi kembali untuk melihat perbedaan karakter material mesopori sebelum dan setelah dilakukan penjerapan dengan menggunakan instrument FTIR. Hasil yang didapat dibanding dengan hasil karakterisasi mesopori sebelum penjerapan.

Penentuan Kapasitas/Kemampuan Penjerapan Mesopori

Filtrat dari masing-masing fraksi setelah penjerapan diukur secara kuantitatif menggunakan HPLC. Hasil yang didapat dibandingkan terhadap hasil pengujian fraksi sebelum penjerapan. Perbandingan hasil ini dimaksudkan untuk melihat kapasitas dari mesopori dalam mengabsorpsi sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

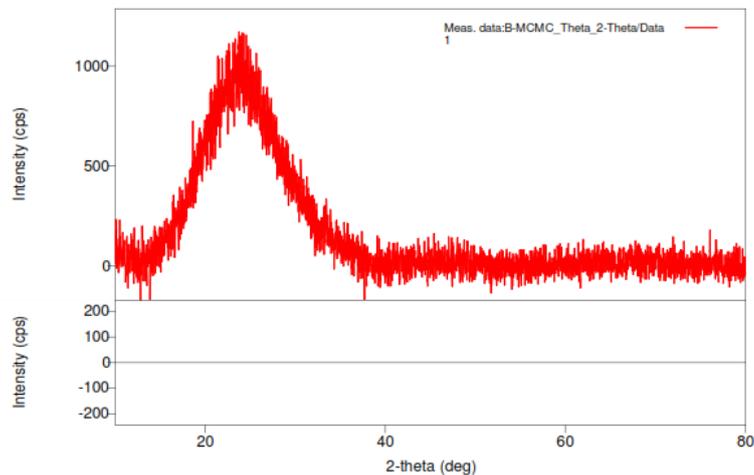
Karakterisasi Mesopori Berbasis Silika

Hasil Karakterisasi mesopori dengan XRD

Karakterisasi mesopori hasil sintesis dilakukan

dengan memindai pola difraksi sinar X menggunakan XRD-6000 (Model: Rigaku Ultima IV) dengan panjang radiasi Cu- K α ($\lambda = 1,5418$ nm) dengan energi 40 kV dan arus 30 mA dengan kisaran *scanning* sudut 2 θ antara 1,52° - 10°.

Hasil spektrum XRD dari sintesis mesopori, yang ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil analisis XRD menunjukkan bahwa mesopori BMCMC ini bersifat amorf. Fasa amorf mesopori dapat berubah menjadi kristalinitas yang lebih baik pada suhu 250°C.



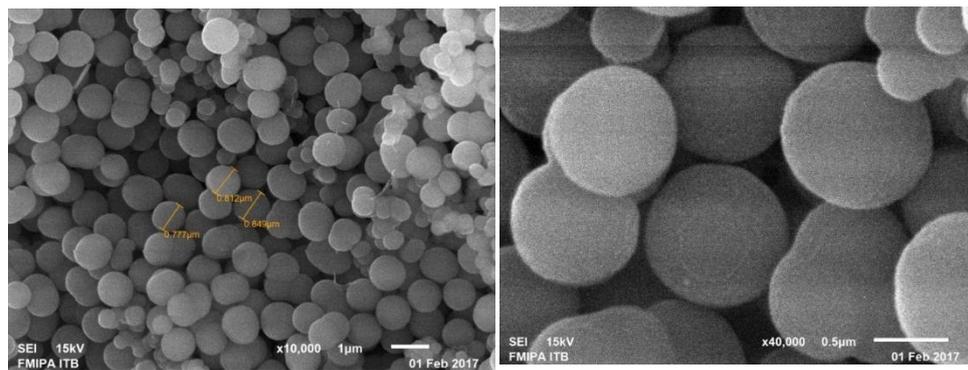
Gambar 1. Profil XRD Mesopori

Hasil Karakterisasi Mesopori dengan SEM

Pengamatan bentuk, struktur, morfologi, dan ukuran kristal mesopori hasil sintesis dilakukan karakteristik menggunakan SEM JSM-6510 A dengan akselerasi 20 kV dengan variasi perbesaran antara 500 sampai 40.000 kali. Gambar 2 menunjukkan bentuk, struktur dan morfologi dari mesopori yang disintesis dengan perbesaran 10.000

kali dan 40.000 kali.

Analisis SEM menunjukkan kehomogenan suatu mesopori. Homogenitas ini dapat menciptakan sifat yang lebih baik dan luas permukaan yang tinggi yang dapat membantu atau bahkan lebih penting dalam mencapai tingkat adsorpsi yang signifikan (Vadia and Sadhara, 2011)



(a) perbesaran 10.000 kali

(b) perbesaran 40.000 kali

Gambar 2. Bentuk Morfologi Mesopori Hasil Analisis SEM

Hasil Karakterisasi Mesopori dengan TEM

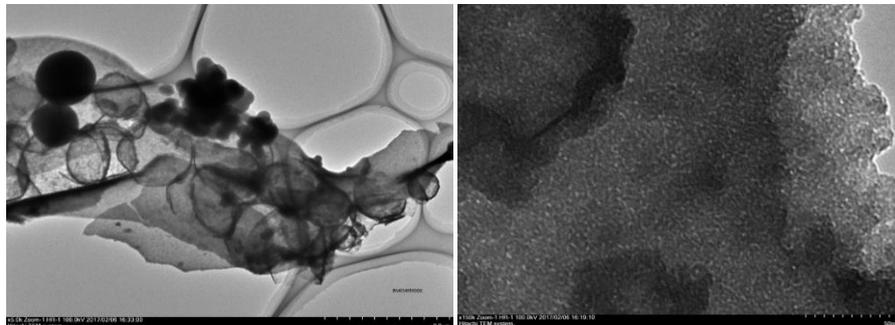
Penyiapan sampel dilakukan dengan membentuk suatu lapisan sangat tipis sehingga memudahkan elektron yang ditembakkan untuk berpenetrasi dan menembus sampel. Hasil analisis TEM dari mesopori pada perbesaran 5.000 dan 150.000 kali

dapat dilihat pada gambar 3.

Hasil analisis TEM menunjukkan partikel mesopori mempunyai ukuran partikel antara 10 – 20 nm. Biasanya melibatkan partikel mesopori berada dalam skala ukuran micron (Vadia and Sadhara,

2011). Ukuran partikel yang kecil sehingga dapat memberikan luas permukaan adsorpsi yang lebih tinggi, hal ini diharapkan agar molekul metabolit

sekunder dari teh hitam dapat terjerap lebih maksimal.

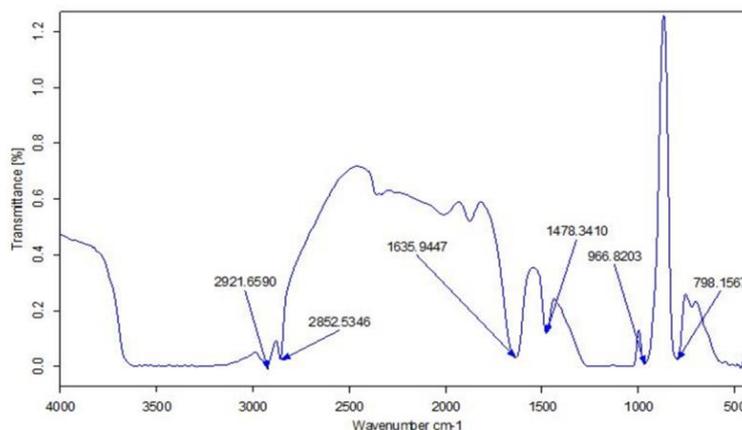


(a) Perbesaran 5000 kali (b) perbesaran 150.000 kali
Gambar 3. Hasil Karakterisasi Mesopori dengan Analisis TEM

Spektrum FTIR Mesopori

Informasi absorpsi inframerah pada umumnya diberikan dalam bentuk spektrum yang menunjukkan bilangan gelombang (cm^{-1}) pada sumbu x dan intensitas absorpsi (A) atau persen

transmitan (T) pada sumbu y. Intensitas pita dapat dinyatakan dengan transmitan (T) atau absorban (A) (Griffiths et al, 2007 ; Skoog et al, 2007). Gambar 4 menunjukan spektrum FTIR mesopori sebelum penjerapan.



Gambar 4. Spektrum FTIR Mesopori BMCMC

Keterangan:

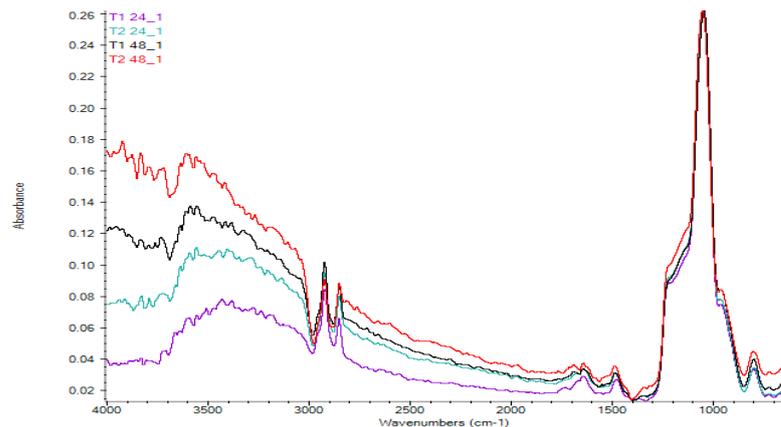
1. Wavenumber 2921 cm^{-1} dengan gugus fungsi C-H (alkana, kuat)
2. Wavenumber 2852 cm^{-1} dengan gugus fungsi C-H (alkana, kuat)
3. Wavenumber 1635 cm^{-1} dengan gugus fungsi C=H (alkena, berubah-ubah)
5. Wavenumber 966 cm^{-1} dengan gugus fungsi C-H (alkena, kuat)
6. Wavenumber 798 cm^{-1} dengan gugus fungsi C-H (alkana, kuat) dan C-H (alkena, kuat)

Hasil Analisis Sampel

Spektrum FTIR Mesopori setelah proses penjerapan

Hasil penjerapan mesopori dianalisis kembali menggunakan FTIR. Dari pola spektrum yang

ditunjukkan Gambar 6. Pada spektrum terlihat terdapat penambahan puncak di bilangan gelombang 1552 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi gugus aromatic kuersetin (Hua and Wang, 2004).



Gambar 6. Overlay Profil FTIR Mesopori Setelah Proses Penjerapan

Hasil spektrum pada mesopori setelah penjerapan menunjukkan puncak khas dari kuersetin bilangan gelombang 1552 cm^{-1} , akan tetapi puncak tersebut sangat lemah dan tidak tajam, kemungkinan hal tersebut disebabkan oleh kecilnya kadar kuersetin pada senyawa teh hitam.

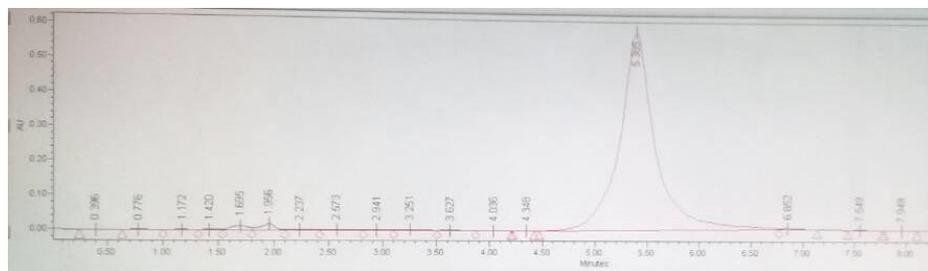
Analisis Kuersetin dengan HPLC

Penentuan Kondisi Optimum

Pengukuran standar kuersetin dilakukan pada panjang gelombang maksimum yaitu 370 nm . Kolom

yang digunakan adalah kolom C-18 dengan sistem fase terbalik. Fase gerak dibuat dengan perbandingan antara metanol, aquabidest dan asam fosfat 0,5% (54:45:1). Laju alir yang digunakan pada pengukuran adalah 1 mL/menit.

Hasil pengukuran standar kuersetin menunjukkan terdapat puncak pada kromatogram waktu retensi sebesar 5,365 menit. Adapun kromatogram standar kuersetin dapat dilihat pada gambar 7.



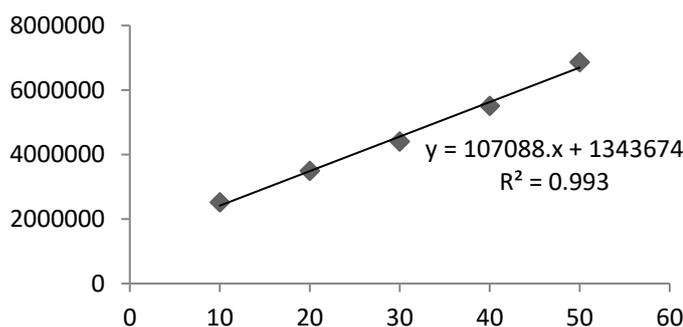
Gambar 7. Kromatogram Standar Kuersetin

Kurva Baku Standar Kuersetin

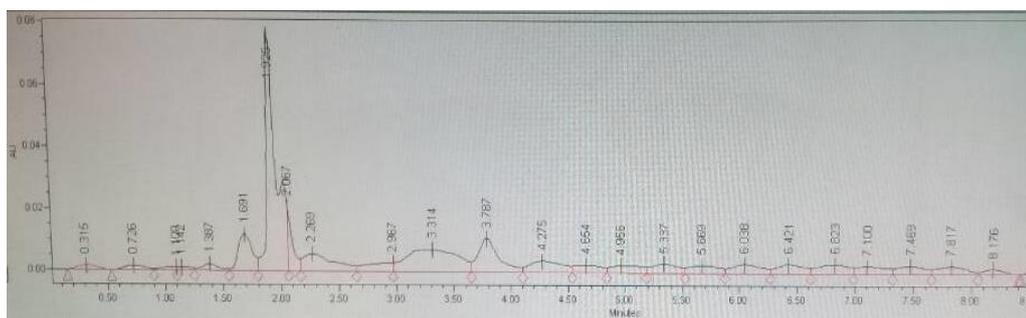
Hasil kurva baku standar kuersetin dengan lima variasi didapatkan persamaan $y = 107088x + 1343674$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,993. Nilai koefisien korelasi ini dapat diterima karena tidak kurang dari 0,98 (Permana, 2011). Kurva baku standar kuersetin dapat dilihat pada Gambar 8.

Analisis Penjerapan Mesopori Terhadap Kadar Kuersetin pada Fraksi Teh Hitam pada kromatogram

fraksi sampel hasil penjerapan mesopori menunjukkan masih banyak puncak (*peak*) yang muncul namun lebih sedikit dibandingkan dengan puncak pada kromatogram ekstrak teh hitam. Adanya pengurangan ini menunjukkan bahwa mesopori BMCMC ini dapat memisahkan beberapa metabolit sekunder dari teh hitam, tetapi masih belum dapat diaplikasikan dalam proses permurnian (Klabunde and Richards, 2009).



Gambar 8. Kurva Baku Baku Kuersetin



Gambar 9. Kromatogram Fraksi Setelah Penjerapan dengan Mesopori

Berdasarkan pengukuran, kadar kuersetin yang dihasilkan dari penjerapan menggunakan mesopori adalah 0,8753 ppm. Jumlah ini dapatkan dari 100 mg sampel ekstrak teh hitam yang digunakan.

KESIMPULAN

Mesopori BMCMC yang telah disintesis memiliki ukuran partikel yang mempunyai diameter antara 10-20 nm dan bersifat amorf. Mesopori BMCMC mempunyai kemampuan untuk menjerap beberapa metabolit sekunder teh hitam, tetapi belum dapat diaplikasikan untuk memurnikan masing-masing isolat.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2014. *Teh: Statistika Perkebunan Indonesia 2013-2014*. Direktorat Perkebunan Indonesia

Balitri, Juniarty T. 2013. "Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh (*Camelia sinensis*)". *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Vol.19. No.3.

Bandersky, Leonid A and Gayle, Frank W. 2001. *Electron Diffraction Using Transmission Electron*

Microscopy. National Institute of Standars and Technology, Gaithersburg. MD 20899-8554.

Engelhardt, Ulrich H. 2010. *Chemistry of Tea. Comprehensive Natural Products II*. 3. 999-1032.

Griffiths, P. R., Haseth, J.A.D., and Winefordner, J. D. 2007. *Fourier Transform Infrared Spectrometry*. Second Edition. New York, J. Wiley.

Hirvonen J, Timo L, Laena P, Helder S, Vesa P L, Taemu H, Joakim R, Ermei M, Jarno S. 2008. "Feasibility of Silicon-Based Mesoporous Materials for Oral Drug Deliverpplication". *Dosis*, Vol. 24. No. 2.

Hua, Y. and Wang, H.-Q. (2004), Chemical Components of *Anaphalis Sinica* Hance. *Jnl Chinese Chemical Soc*, 51: 409-415.

Klabunde, K.J. and Richards, R.M. 2009. "*Nanoscale Materials In Chemistry: Ordered Microsporous and Mesoporous Materials*". 2nd.Ed. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken. New Jersey.

Kumari, A., Yadav, S.K.,, Pakade, Y.B., Singh, B., c, Yadav, S.B. 2010. Development of biodegradable nanoparticles for delivery of quercetin. *Colloids and*

Surfaces B: Biointerfaces 80. 184–192

Kyllomen N. 2014. "Drug Loading and Release Properties of Mesoporous silicon Nanoparticles Using D-Luciferin as a Drug-Like Model Molecule". *Thesis*. University of Eastern, Finland.

Nugraha, A. dan Ghozali MT. *Penetapan Kadar Flavonoid Kuersetin Ekstrak Kulit Buah Apel Hijau (Pyrus malus L.) Dengan Menggunakan Metode kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Tesis. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Saito, Samuel T, Albert Welzel, Edna S Suyenega dan Francie Bueno. 2006. "A Method For Fast Determination Of Epigallocatechin (EGCG), Epicatechin (EC), Catechin (C) And Caffeine (CAF) In Green Tea Using HPLC". *Campinas* . Apr-Jun. 26(2): 394-400

Sharangi, A.B. 2009. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis L.*) - A review. *Food Res. Int.* 42. 529-535

Silverstein, R.M., Webster, F.X., and Kiemle, D.J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Coumpounds: Seventh Edition*. New Jersey: Jhon Wiley and Sons, Inc.

Skoog D.A., Holler, F.J., and Crouch, S.R. 2007. *Principles of instrumental Analysis sixth edition*. Canada: Thomson Brooks/Cole.

Vadia N, and Sadhara R. 2011. "Mesoporous Material MCM-41: A New Drug Carrier". *Asian J.harm Clin. Res.* Vol 4 issue 2. 44-53.

Zana R. 2005. *Dinamic of Surfactant Self-Assemblies Micelles, Microemulsions, Vesicles, and Lyotropic Phases*. CRC Press is an imprint of Taylor & Francis Group.

Zhao L, Hongqiang Q, Ren"an Wu, Hanfa Z. 2012. "Recent Advances of Mesoporous Material in Sample Preparation". *Journal of Chromatography A.* 1228. 193-204.