

KARAKTERISASI SENYAWA FENOLIK DARI FRAKSI ETIL ASETAT PADA KULIT BATANG TUMBUHAN CERIA (*Baccaurea hookeri*)

Tjia Fu Min^{1*}, Andi Hairil Alimuddin¹, Rudiyanasyah¹
¹Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
*E-mail: fuminzn@gmail.com

ABSTRAK

Tumbuhan ceria merupakan salah satu tumbuhan tropis yang tumbuh liar di alam dan memiliki buah yang bernilai ekonomis rendah. Banyaknya pembukaan lahan perkebunan menyebabkan tumbuhan ceria terancam punah. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap tumbuhan ceria agar dapat memberikan informasi ilmiah, terutama mengenai isolasi dan karakterisasi senyawa fenolik. Penelitian ini adalah bertujuan untuk mengisolasi dan mengarakterisasi senyawa fenolik yang terkandung dalam kulit batang tumbuhan ceria. Salah satu senyawa fenolik dari fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan ceria telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi. Isolat murni dengan kode Pre 2R* merupakan isolat berbentuk kristal jarum (berwarna bening) dengan massa 11,2 mg. Isolat Pre 2R* diisolasi menggunakan metode maserasi, fraksinasi, dan kromatografi, sedangkan untuk karakterisasi menggunakan uji fitokimia. Isolat Pre 2R* positif berbentuk senyawa fenolik, berdasarkan uji fitokimia dengan menggunakan larutan $FeCl_3$ 5%, yaitu dengan ditandai perubahan warna menjadi hitam kebiruan.

Kata Kunci: fenolik, isolat Pre 2R*, kulit batang tumbuhan ceria

PENDAHULUAN

Tumbuhan ceria adalah tumbuhan yang berbunga dan berbuah sepanjang tahun (Haegens, 2000). Tumbuhan ceria tumbuh liar di alam dan buahnya kurang dimanfaatkan serta bernilai ekonomis rendah.

Menurut penelitian dari Susanti *et al* (2014), kulit buah tumbuhan ceria mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik terpenoid, dan steroid, serta memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) pada ekstrak metanol, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol terhadap *E. coli* berturut-turut 0,440%, 0,405%, 0,407%, dan 0,415%; sedangkan terhadap *S. aureus* berturut-turut 0,438%, 0,391%, 0,421%, dan 0,412% (Susanti *et al*, 2014).

Penelitian yang lain dilakukan terhadap kulit batang tumbuhan ceria. Menurut Panjaitan *et al* (2014), ekstrak metanol kulit

batang tumbuhan ceria mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, polifenol, dan steroid, serta memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 56,47 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan menurut Maro *et al* (2015) hasil kromatografi vakum cair pada fraksi metanol kulit batang tumbuhan ceria mengandung senyawa polifenol dan terpenoid, serta memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 9,265 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan penelitian-penelitian di atas, belum ada satu pun penelitian yang mengisolasi dan mengarakterisasi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan ceria, terutama senyawa fenolik. Sumber antioksidan alami umumnya merupakan senyawa fenolik (Sarastani *et al*, 2002), sehingga penting untuk melakukan penelitian yang mengisolasi dan mengarakterisasi senyawa fenolik dari tumbuhan ceria, terutama pada kulit batang yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

METODOLOGI PENELITIAN

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang tumbuhan ceria (*Baccaurea hookeri*) yang diambil di Kecamatan Batang Tarang, Kabupaten Sanggau, Provinsi Kalimantan Barat.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat destilasi, alat kromatografi kolom, *hot plate*, plat tetes, *rotary evaporator*, dan seperangkat alat gelas.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades, asam klorida (HCl) pekat, diklorometana (DCM), etil asetat (EA), kulit batang tumbuhan ceria, larutan besi (III) klorida (FeCl_3) 5%, metanol, *n*-heksana, plat KLT silika gel Kieselgel 60 F₂₅₄, plat KLT preparatif, reagen Liebermann-Burchard, reagen serium sulfat, reagen Wagner, serbuk magnesium (Mg), silika gel 60 (230-300 *mesh*), silika gel 60 (60-70 *mesh*), dan silika gel 60 G.

Prosedur Kerja

Ekstraksi dan fraksinasi

Maserasi dan fraksinasi dilakukan dengan merujuk pada penelitian Heni (2015) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 2,2 kg sampel dimaserasi 6 x ±24 jam dengan menggunakan metanol pada suhu ruang. Ekstrak metanol dikumpulkan dan dipisahkan dengan alat *rotary evaporator*.

Ekstrak metanol difraksinasi menggunakan *n*-heksana dengan perbandingan 1:1, kemudian difraksinasi menggunakan DCM dengan perbandingan secara umum 1:3 dan ditambah akuades secukupnya. Fraksi metanol difraksinasi kembali menggunakan EA dengan perbandingan secara umum 1:1 dan ditambah akuades secukupnya. Semua fraksi yang diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* dan ditimbang.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan dengan merujuk pada penelitian Afriani *et al* (2016) dengan sedikit modifikasi.

Identifikasi senyawa alkaloid

Sejumlah kecil ekstrak/ fraksi diteteskan di plat tetes, kemudian ditambahkan reagen Wagner. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk endapan cokelat.

Identifikasi senyawa flavonoid

Sejumlah kecil ekstrak/fraksi diteteskan di plat tetes, kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg dan ditetesi HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-jingga pada sampel uji.

Identifikasi senyawa terpenoid dan steroid

Sejumlah kecil ekstrak/fraksi diteteskan di plat tetes, kemudian ditambahkan reagen Liebermann-Burchard. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah untuk triterpenoid dan warna biru-hijau untuk steroid.

Identifikasi senyawa polifenol dan tanin

Sejumlah kecil ekstrak/fraksi diteteskan di plat tetes, kemudian ditambahkan larutan FeCl_3 5%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam-kebiruan pada sampel uji.

Pemisahan dan pemurnian Senyawa

Kromatografi vakum cair (KVC) dan Kromatografi kolom tekan (KKT)

Fraksi EA sebanyak 28,18 g difraksinasi dengan menggunakan metode KVC. Sampel dielusi dengan eluen 2 x 200 mL dengan perbandingan: *n*-heksana:EA; (5:5), (3:7), (1:9), EA 100%, EA:metanol; (9:1), (8:2), (6:4), dan (4:6). Eluat hasil KVC dengan pola nada yang relatif sama digabung menjadi satu, sehingga diperoleh 10 subfraksi. Subfraksi gabungan SG 5 dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Subfraksi gabungan SG 5 sebanyak 415 mg difraksinasi menggunakan metode KKT. Sampel dielusi dengan perbandingan eluen sebagai berikut: *n*-heksana:DCM; (5:5) 150 mL, (3:7) 100 mL, DCM 100% 100mL, DCM:EA; (7:3) 100 mL, (5:5) 500 mL, EA 100% 100 mL, EA:metanol; (7:3) 200 mL, (5:5) 100 mL, dan (3:7) 600 mL. Hasil eluat (129 botol vial) di-KLT, pola nada yang relatif sama digabung menjadi satu. Subfraksi gabungan SG 5.3 dilanjutkan ke tahap selanjutnya.

Rekristalisasi dan KLT-Preparatif (KLT-P)

Subfraksi gabungan SG 5.3 direkristalisasi dengan pelarut EA. Filtrat EA subfraksi gabungan SG 5.3 diuji kemurniannya dengan menggunakan KLT 2 dimensi. Sejumlah kecil filtrat EA subfraksi gabungan SG 5.3 ditotolkan ke plat KLT 5 x 5 cm (jarak elusi 4 cm), kemudian dielusi dengan EA 100%.

Filtrat EA Subfraksi gabungan SG 5.3 dimurnikan dengan kembali menggunakan metode KLT-P. Sampel ditotolkan ke plat KLTP, kemudian dielusi dengan EA 100%. Noda pada Plat KLT-P dikeruk menjadi 3 bagian dengan kode Pre 1, Pre 2, dan Pre 3. Isolat Pre 2 dan Pre 3 direkristalisasi dengan EA, kemudian diberi kode Pre 2R dan Pre 3R. Isolat Pre 2R dan Pre 3R di-KLT dengan EA 100%. Isolat Pre 3R diuji fitokimia dengan menggunakan larutan FeCl_3 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Ceria

Sampel kulit batang tumbuhan ceria dipisahkan antara kulit bagian dalam dan kulit bagian luar, yang bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme khususnya jamur yang melekat di bagian kulit luar. Kulit bagian dalam dikering-anginkan dalam ruangan dan tidak terkena paparan sinar matahari secara langsung. Proses pengering-anginan bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung dalam sampel. Kadar air yang banyak akan mempengaruhi proses penguapan (evaporasi) pelarut, karena titik didih air yang cukup tinggi dibanding dengan pelarut-pelarut lainnya. Semakin tinggi kadar air, maka semakin sulit untuk menguapkan pelarut-pelarut yang digunakan. Paparan sinar matahari secara langsung dapat merusak metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit batang tumbuhan ceria, sehingga proses pengeringan dilakukan di dalam ruangan.

Sampel dihaluskan dengan menggunakan blender. Semakin halus sampel, maka semakin besar luas permukaan bidang sentuh terhadap pelarut, sehingga maserasi dapat berjalan dengan optimal. Sebanyak 2,2 kg serbuk sampel dimaserasi selama 6 x 24 jam dengan

menggunakan metanol. Maserat disaring dan diperas dengan menggunakan corong *buchner*. Ekstrak metanol yang telah disaring, kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Jumlah ekstrak metanol yang diperoleh dari proses maserasi sebanyak 171,5960 g dengan rendemen 7,8%.

Fraksinasi

Ekstrak metanol difraksinasi dengan menggunakan *n*-heksana, DCM, dan EA. Proses fraksinasi dilakukan secara berurutan sesuai dengan tingkat kepolaran yaitu dimulai dari pelarut yang paling nonpolar sampai ke pelarut yang lebih polar, agar senyawa-senyawa metabolit sekunder pada sampel terdistribusi sesuai dengan kepolaran pelarut. Fraksinasi pertama dilakukan dengan menggunakan *n*-heksana dalam corong dengan perbandingan 1:1 sebanyak 2 kali, sehingga diperoleh fraksi metanol dan fraksi *n*-heksana. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat nonpolar akan cenderung larut dalam *n*-heksana dibandingkan dengan metanol yang bersifat polar. Fraksi metanol difraksinasi dengan DCM dengan perbandingan secara umum 1:3 dan ditambah akuades secukupnya, sehingga diperoleh fraksi DCM. Metanol larut sempurna dengan akuades, sedangkan DCM hanya sedikit larut dalam akuades, sehingga penambahan akuades dapat meningkatkan kepolaran metanol. Semakin jauh perbedaan kepolaran, maka akan semakin mudah memisahkan antara fase metanol dan fase DCM. Fraksi metanol difraksinasi kembali dengan menggunakan EA dengan perbandingan secara umum 1:1 dan ditambah akuades secukupnya, sehingga diperoleh fraksi EA.

Semua fraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Berat ekstrak metanol dan semua fraksi yang diperoleh dicantumkan dalam Tabel 1. Uji fitokimia merupakan salah satu identifikasi awal untuk menentukan komponen senyawa dalam sampel. Uji fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi DCM, fraksi EA, dan fraksi metanol antara lain uji senyawa terpenoid, steroid, flavonoid, alkaloid, polifenol, dan tanin. Hasil uji fitokimia dicantumkan dalam Tabel 2.

Tabel 1. Berat dan Rendemen Hasil Fraksinasi

Sampel	Berat (g)	Rendemen (%)	Terhadap
Ekstrak metanol	171,5960	7,7998	2,2 Kg sampel
Fraksi <i>n</i> -heksana	5,7329	3,3409	Ekstrak metanol
Fraksi DCM	4,7464	2,7660	Ekstrak metanol
Fraksi EA	28,3637	16,5293	Ekstrak metanol
Fraksi metanol	153,6905	89,5653	Ekstrak metanol

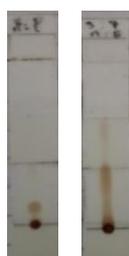
Tabel 2. Uji Fitokimia Kulit Batang Tumbuhan Ceria

Metabolit Sekunder	Sampel				
	Ekstrak Metanol	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi DCM	Fraksi EA	Fraksi Metanol
Alkaloid					
-Wagner	+++	+	++	++	++
Flavonoid	++	-	+	+++	+++
Terpenoid	++	+	+++	+++	++
Steroid	+	+	-	-	++
Polifenol/Tanin	+++	+	++	+++	++

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

Pemisahaan dan Pemurnian KLT pendahuluan

Pemisahaan dan pemurnian komponen metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi EA dilakukan menggunakan metode kromatografi vakum cair (KVC), kromatografi kolom tekan (KKT), dan kromatografi lapis tipis preparatif (KLT-P). Sebelum di-KVC, fraksi EA terlebih dahulu dianalisis dengan menggunakan plat KLT silika gel Kieselgel 60 F₂₅₄, yang bertujuan untuk mengetahui pola noda senyawa yang akan diisolasi dan jenis eluen yang akan digunakan dalam proses KVC. Berikut adalah hasil KLT fraksi EA yang dicantumkan dalam Gambar 1.



(a) (b)

Gambar 1. KLT fraksi EA dengan eluen *n*-heksana:EA; (a) 5:5 dan (b) 3:7

Kromatografi vakum cair (KVC)

KVC merupakan salah satu pemisahan senyawa tahap awal dalam mengisolasi senyawa bahan alam. KVC memanfaatkan

fase diam dan fase gerak dalam mempengaruhi migrasi senyawa-senyawa dalam suatu sampel. KVC dalam penelitian ini menggunakan kolom berdiameter 6 cm dan fase diam silika gel 60 G, serta menggunakan suatu pompa vakum.

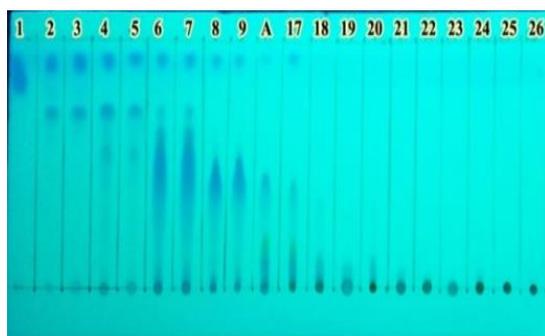
Fase diam silika gel 60 G dimasukkan ke dalam kolom dan dipadatkan hingga mencapai 6 cm. Fraksi EA sebanyak 28,18 g diimpregnasi dengan menggunakan 28,02 g silika gel 60 (0,2-0,5 mm) sampai homogen dan dibiarkan kering. Fraksi EA yang telah diimpregnasi kemudian dimasukkan ke dalam kolom dan bagian atas dilapisi dengan kertas saring. Berikut adalah perbandingan eluen yang digunakan dalam mengelusi sampel fraksi etil asetat yang dicantumkan dalam TABEL 3.

Subfraksi yang diperoleh dari hasil KVC sebanyak 30 botol kaca 100 mL. Untuk menentukan subfraksi yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang relatif sama maka subfraksi di-KLT dengan menggunakan perbandingan eluen *n*-heksana:etil asetat; 3:7. Kromatogram subfraksi dari no 1-26 dicantumkan dalam Gambar 2.

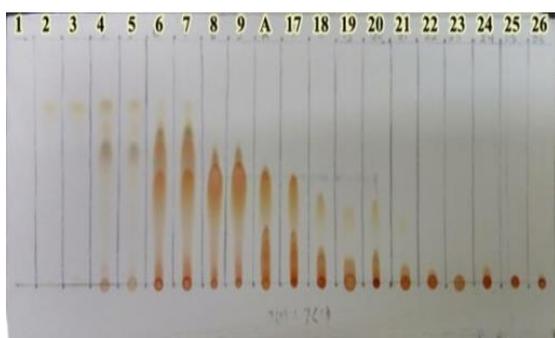
Gambar 2 menunjukkan adanya kesamaan pola noda hasil KVC, selanjutnya pola noda yang memiliki kesamaan digabung menjadi subfraksi gabungan. Hasil penggabungan subfraksi-subfraksi dicantumkan pada Tabel 4.

Tabel 3. Perbandingan Eluen yang digunakan dalam KVC

Perbandingan Eluen (200 mL)	Kode Fraksi	
	Elusi Ke-1	Elusi Ke-2
<i>n</i> -heksana:EA		
5:5	1	2-3
3:7	4-5	6-7
1:9	8-9	10-11
EA 100%	12-13	14-15
EA:metanol		
9:1	16-17	18-19
8:2	20-21	22-23
6:4	24-25	26-27
4:6	28-29	30



(a)



(b)

Gambar 2. KLT Hasil KVC dengan Eluen *n*-heksana : EA; 3:7 (a) UV 254 nm (b) disemprot Serium Sulfat

Subfraksi gabungan yang diteruskan pada tahap pemisahan selanjutnya adalah SG 5 dengan berat total 415 mg. Berdasarkan pola kromatogram dari SG 5 (subfraksi no. 8 dan 9) yang ditunjukkan pada Gambar 2, mengandung komponen yang diperkirakan senyawa mayor sehingga akan lebih mudah untuk proses pemisahan selanjutnya.

Tabel 4. Subfraksi Gabungan Hasil KVC Fraksi EA

Kode Subfraksi	Kode Subfraksi Gabungan	Berat (mg)
1	SG 1	82,0
2-3	SG 2	51,2
4-5	SG 3	46,8
6-7	SG 4	69,3
8-9	SG 5*	415,0
10-16	SG 6 (A)	1.778,7
17	SG 7	288,7
18-24	SG 8	15.688,5
25-30	SG 9	8.673,8

Keterangan: *Subfraksi gabungan yang dilanjutkan ke tahapan selanjutnya

Kromatografi kolom tekan (KKT)

Kromatografi kolom tekan (KKT) atau *flash chromatography* memiliki prinsip yang kurang lebih sama dengan metode kromatografi vakum cair (KVC). KKT memanfaatkan tekanan untuk mempercepat elusi, sedangkan KVC lebih menggunakan prinsip pengurangan tekanan untuk mempercepat elusi. Fase diam yang biasa digunakan dalam KKT adalah silika Kieselgel 60 (0,040-0,063 mm). Silika pada KKT memiliki ukuran yang besar dibandingkan silika gel pada KVC, dan lebih kecil jika dibandingkan dengan silika pada kromatografi kolom gravitasi (KKG).

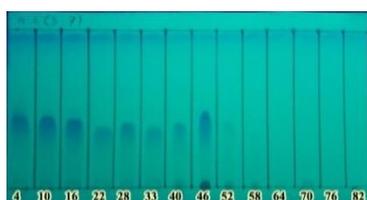
Subfraksi gabungan yang dilanjutkan ke KKT adalah SG 5. Kolom KKT yang digunakan berdiameter 2 cm, dengan tinggi fase diam 10 cm. SG 5 sebanyak 415 mg diimpregnasi dengan 136,6 mg silika gel 60 (0,2-0,5 mm). Perbandingan eluen yang digunakan dalam mengelusi SG 5 dicantumkan dalam Tabel 5.

Hasil KKT dari SG 5 berjumlah 129 botol vial dengan volume tampungan 5 mL. Hasil KKT diidentifikasi secara acak dimulai dari no. 4-82 menggunakan metode KLT dengan eluen *n*-heksana:EA; 3:7, penampak noda lampu UV 254 nm, dan disemprot serium sulfat. Kromatogram hasil KLT dicantumkan dalam Gambar 3.

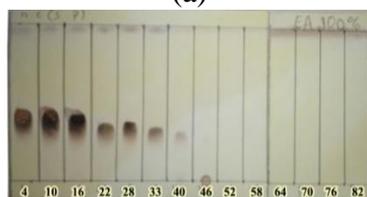
Beberapa pola noda hasil KKT SG 5 menunjukkan kesamaan, selanjutnya pola noda yang memiliki kesamaan digabung menjadi subfraksi gabungan SG 5.1, SG 5.2, dan SG 5.3. Penggabungan pada hasil KKT SG 5 dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 5. Perbandingan Eluen yang digunakan dalam mengelusi SG 5

Perbandingan Eluen (100 mL)	Jumlah Elusi	Kode Fraksi
<i>n</i> -heksana:DCM		
5:5	1 kali + 50 mL	
3:7	1 kali	
DCM 100%	1 kali	
DCM:EA		
7:3	1 kali	
5:5	5 kali	1-37
EA 100%	1 kali	38-44
EA:metanol		
7:3	2 kali	45-60
5:5	1 kali	61-67
3:7	6 kali	68-129



(a)



(b)

Gambar 3. KLT Hasil KKT pada SG 5 (a) UV 254 nm (b) disemprot Serum Sulfat (Catatan: no. 64-82 dielusi Ulang dengan EA 100%)

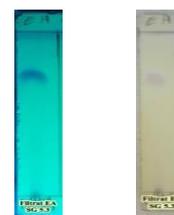
Tabel 6. Gabungan Hasil KKT SG 5

SG 5	Subfraksi Gabungan (2)	Berat (mg)
1-16	SG 5.1	190
20-29	SG 5.2	-
44-49	SG 5.3*	-

Keterangan: *Subfraksi gabungan yang dilanjutkan ke tahapan selanjutnya

Pemurnian dengan menggunakan Metode Rekristalisasi

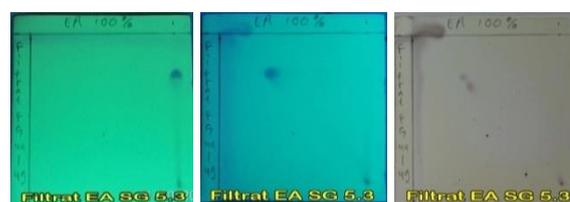
SG 5.3 direkristalisasi dengan menggunakan pelarut EA, tujuan dari rekristalisasi adalah untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang ada dalam SG 5.3. Filtrat EA SG 5.3 berwarna kuning muda dan di KLT. Pola noda KLT pada filtrat EA SG 5.3 dicantumkan pada Gambar 4.



(a) (b)

Gambar 4. KLT Filtrat EA SG 5.3 dengan menggunakan Eluen 100% EA (a) UV 254 nm (b) disemprot Serum Sulfat

Untuk menguji kemurnian senyawa metabolit sekunder, maka dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan KLT 2 dimensi. KLT 2 dimensi yang digunakan berukuran 5 cm dengan jarak elusi 4 cm, serta eluen 100% EA. Hasil KLT 2 dimensi dicantumkan dalam Gambar 5.



(a) (b) (c)

Gambar 5. KLT 2 Dimensi Filtrat EA SG 5.3 dengan menggunakan Eluen 100% EA (a) Elusi Pertama, (b) Elusi Kedua, (c) disemprot Serum Sulfat

Pola noda yang terlihat pada KLT 2 dimensi baik elusi pertama maupun elusi kedua masih menunjukkan satu noda yang dominan, namun setelah disemprot dengan serum sulfat terlihat jelas bahwa filtrat EA SG 5.3 masih menunjukkan dua noda yang berdekatan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan plat kromatografi lapis tipis preparatif (KLT-P).

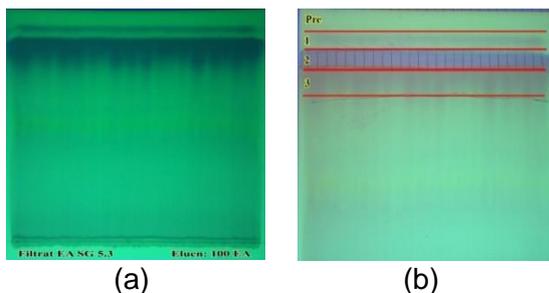
Pemurnian dengan menggunakan KLT-preparatif

Prinsip KLT-P sama dengan KLT sederhana, namun yang membedakan adalah KLT-P digunakan untuk mengisolasi senyawa, sehingga diperlukan plat yang lebih luas, sedangkan KLT sederhana digunakan untuk menganalisis. KLT-P yang digunakan untuk mengisolasi senyawa pada filtrat EA SG 5.3 berukuran 20 x 20 cm dengan alas kaca. Filtrat EA SG 5.3 ditotolkan sepanjang 18 cm dan jarak elusi 19 cm dengan menggunakan eluen 100 %

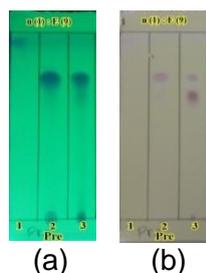
EA. Hasil KLT-P filtrat EA SG 5.3 dicantumkan pada Gambar 6.

Hasil KLT-P filtrat etil asetat subfraksi gabungan SG 5.3 dikeruk menjadi tiga bagian utama yaitu dengan kode Pre 1, Pre 2 dan Pre 3 dan masing-masing dilarutkan dengan pelarut metanol, kemudian dipisahkan silika KLT-P dengan filtrat metanol. Filtrat metanol isolat Pre 1, Pre 2, dan Pre 3 di-KLT. Pola KLT dapat dilihat pada Gambar 7.

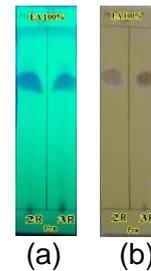
Isolat Pre 2 merupakan senyawa target, sedangkan isolat Pre 3 merupakan bagian dari senyawa target yang tercampur dengan noda bagian yang lebih bawah (bagian ekor), sehingga isolat Pre 3 muncul dua noda. Hal ini sesuai dengan pola KLT 2 dimensi, dimana SG 5.3 menunjukkan dua noda yang berdekatan. Isolat Pre 2 dan Pre 3 kemudian direkristalisasi dengan menggunakan pelarut EA yang bertujuan untuk menghilangkan bagian pengotor. Isolat Pre 2 dan Pre 3 yang telah direkristalisasi dengan EA diberi kode Pre 2R dan Pre 3R. Pola noda isolat Pre 2R dan Pre 3R dicantumkan pada Gambar 8.



Gambar 6. KLT-P Filtrat EA SG 5.3 dengan menggunakan Eluen 100 % EA (a) UV 254 nm (b) Bagian Senyawa Target yang dikeruk

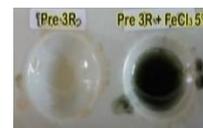


Gambar 7. KLT Isolat Pre 1, Pre 2 , dan Pre 3 dengan Eluen *n*-heksana:EA; 1:9 (a) UV 254 nm (b) disemprot Serum Sulfat



Gambar 8. KLT Pre 2R dan Pre 3R dengan Eluen 100% EA (a) UV 254 nm (b) disemprot Serum Sulfat

Isolat Pre 2R dan Pre 3R merupakan isolat identik yang berbentuk kristal jarum (berwarna bening) dengan massa masing-masing 6,1 mg dan 5,1 mg. Isolat Pre 3R diuji kandungan senyawa fenolik dengan menggunakan larutan $FeCl_3$ 5%. Hasil uji menunjukkan bahwa isolat Pre 3R positif mengandung senyawa fenolik yang ditandai dengan perubahan warna menjadi hitam-kebiruan (tercantum dalam GAMBAR 9). Isolat Pre 2R dan Pre 3R kemudian diberi kode Pre 2R*.



Gambar 9. Uji golongan senyawa fenolik pada Isolat Pre 3R

SIMPULAN

Salah satu senyawa fenolik dari fraksi etil asetat kulit batang tumbuhan ceria telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi. Isolat murni dengan kode Pre 2R* berbentuk kristal jarum (berwarna bening) dengan massa 11,2 mg. Isolat positif mengandung senyawa fenolik, berdasarkan uji fitokimia dengan menggunakan larutan $FeCl_3$ 5%, yaitu dengan ditandai perubahan warna menjadi hitam-kebiruan.

DAFTAR PUSTAKA

Afriani, N., Idiawati, N., dan Alimuddin, A., H., 2016, Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva *Artemia salina*, *JKK*, 5 (1):58-64, ISSN 2303-1077.

- Haegens, R.M.A.P. 2000. Taxonomy, Phylogeny, and Biogeography of *Baccaurea*, *Distichirhops*, and *Nothobaccaurea* (*Euphorbiaceae*), *Blumea Suppl.*, 12:1-216. <http://www.nationaalherbarium.nl/Euphorbs/specB/Baccaurea.htm>. (Diakses pada tanggal 14 Maret 2017).
- Heni, 2015, Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura.
- Maro, JP, Alimuddin, A. H., dan Harlia, 2015, Aktivitas Antioksidan Hasil Kromatografi Vakum Cair Fraksi Metanol Kulit Batang Ceria (*Baccaurea hookeri*), *JKK*, 4 (4):35-40, ISSN 2303-1077.
- Panjaitan, M. P., Alimuddin, A. H., dan Adhitiyawarman, 2014, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Ceria (*Baccaurea hookeri*), *JKK*, 3 (1):17-21, ISSN 2303-1077.
- Sarastani, D., Soekarto, S. T., Muchtadi, T. R., Fardiaz, D., dan Apriyantono, A., 2002, Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk.), *Jurnal, Teknol, dan Industri Pangan*, 13 (2).
- Susanti, M. H., Alimuddin, A. H., dan Arreneuz, S., 2014, Penentuan Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Ceria (*Baccaurea polyneura* Hook.f.) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *JKK*, 3 (3):14-18, ISSN 2303-1077.