

## PENGARUH JENIS ABSORBAN DALAM PROSES ISOLASI KATECHIN GAMBIR

(THE EFFECT OF TYPE OF ABSORBANCE IN THE ISOLATION PROCESS OF GAMBIR CATECHIN)

Hendri Muchtar, Yusmeiarti dan Gusri Yeni  
 Baristand Industri Padang  
 Email : guszen@yahoo.com

### ABSTRAK

**P**enyediaan katechin gambir sebagai bahan baku industri terutama industri farmasi dan kosmetik dapat dilakukan dengan mengisolasi katechin menggunakan absorban dalam metoda kromatografi kolom, yang memberikan hasil optimal dan kemurnian tinggi. Absorban yang dapat digunakan untuk isolasi sesuai dengan sifat senyawa katechin adalah silika gel, amberlit XAD<sub>4</sub> dan sephadox LH-20 sebagai fasa diam dan metanol, heksan, etil-asetat dan campurannya sebagai fasa geraknya. Untuk menentukan kemurnian dan identifikasi senyawa katechin gambir yang diperoleh, dilakukan uji kimia/fisika berdasarkan sifat senyawa dan pengujian terhadap kromatografi lapis tipis (KLT), spektrofotometer UV/Vis, spektrum FTIR dan HPLC serta uji titik leleh. Berdasarkan hasil analisa dan uji kemurnian katechin gambir yang dihasilkan pada penelitian ini didapatkan katechin gambir hasil isolasi dengan menggunakan kombinasi absorban amberlit XAD<sub>4</sub> dan sephadox LH-20 yang paling identik dengan kemurnian tinggi dibanding standar katechin sintesis yang tersedia.

**Kata kunci :** Katechin, isolasi, absorban

### ABSTRACT

**G**ambir catechin as raw material especially in the pharmacy and cosmetic industries, can be isolated by means of chromatography method, using absorbance column that give high purity of catechin content. The absorbance that can be used were amberlite XAD<sub>4</sub>, silica gel and sephadox LH-20 as stationary phase. The solvent being used were methanol, hexano, ethyl acetate and mixture of the three solvents as mobile phase. The identification and determination of the catechin's purity in gambir was carried out by using thin layer chromatography (TLC), spectrophotometer of UV/Vis and FTIR, High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) and melting point apparatus. Based on the result analysis, the catechin being isolated by combination of amberlite XAD<sub>4</sub> and sephadox LH-20 absorbance was having high purity and comparatively identic to the catechin standard.

**Keywords :** Catechin, isolation, absorbance

### PENDAHULUAN

Gambir adalah ekstrak daun dan ranting tanaman *Uncaria Gambir (Hunter) Roxb* yang dikeringkan. Getah gambir mengandung katechin (30–35%), produk kondensasi dalam bentuk asam katechu tanat atau tanin (25 – 55%), kuersetin, asam

gallat, asam alegat, katecol, pigmen dan alkaloid dalam jumlah kecil.

Selain itu gambir juga mengandung lilin, minyak, katechin merah, gambir fluoresensi (dalam jumlah kecil), dan zat-zat mineral (3 – 4%). Katechin dan tanin merupakan kandungan utama dari gambir yang termasuk senyawa kompleks dari

Isolasi senyawa katechin dari gambir secara kromatografi lapisan tipis atau *Thin Layer Chromatography* (TLC) dan kromatografi kolom dilakukan dengan 2 tahap isolasi menggunakan kolom (absorban) yang berbeda dan mencari kombinasi absorban yang paling cocok untuk menghasilkan katechin dari gambir dengan tingkat kemurnian dan rendemen tinggi. Kombinasi absorban yang digunakan dalam penelitian ini adalah amberlit pada isolasi tahap pertama dan silika gel tahap kedua (amberlit - silika gel); silika gel isolasi tahap pertama dan sephadex LH-20 isolasi tahap kedua (silika gel-sephadex LH-20); serta amberlit isolasi tahap pertama dan sephadex LH-20 isolasi tahap kedua (amberlit-sephadex LH-20). Dari ketiga kombinasi absorban tersebut diperkirakan kombinasi antara absorban amberlit dan sephadex LH-20 dapat menghasilkan isolasi katechin paling tinggi. Hal ini disebabkan sifat amberlit yang lebih efisien dalam penggunaan pelarut dibandingkan dengan silika gel dan sifat dari sephadex LH-20 yang mempunyai resolusi tinggi.

#### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: a) bahan untuk pembuatan gambir murni yaitu gambir mentah dan bahan untuk isolasi gambir : metanol, etil asetat, heksana, amberlit XAD<sub>2</sub>, sephadex LH-20, silika gel; serta b) bahan kimia untuk analisa katechin: acetonitril, asam format, etil asetat, dan standar pembanding katechin merk Sigma.

#### Alat

Peralatan penelitian terdiri atas: kolom preparatif, neraca analitik, desikator, oven, pompa vakum, evaporator, plat silika GF254, spektrofotometer UV/Vis, kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC), spektrometer inframerah (IR), lampu UV, alat uji titik leleh, alat-alat gelas, saringan 300 mesh, boks KLT (kromatografi lapisan tipis), kertas saring whatman 42, dan alat-alat untuk analisa.

#### Metoda

##### 1. Pemurnian Gambir

Pemurnian gambir dilakukan melalui tahapan proses pelarutan dengan air panas (suhu = 70°C), penyaringan dan pencucian secara berulang dengan air bersih untuk menghilangkan komponen yang bukan katechin dalam gambir.

Filtrat yang didapat dari hasil saringan diendapkan selama semalam untuk menda-

patkan endapan yang maksimal. Endapan dicuci kembali dengan air dingin sampai air cucian berwarna coklat muda atau bersih, yang menunjukkan bahwa senyawa tanin sudah terpisahkan. Endapan yang didapat dikeringkan dalam oven dengan suhu ± 50°C. Gambir kering kemudian dihaluskan dengan lumpang porselen dan selanjutnya digunakan sebagai bahan baku pembuatan katechin gambir murni.

##### 1. Isolasi Katechin Secara Kromatografi

Penggunaan dua absorban yang berbeda merupakan salah satu solusi dalam mengefisienkan pengambilan senyawa katechin dari gambir. Penggunaan absorban pertama bertujuan untuk menghilangkan senyawa lain seperti senyawa katecol, kuersetin, dan lain-lain. Absorban yang dipakai pada tahap pertama merupakan absorban dengan harga yang murah, proses pemurniannya kembali mudah dan penyusutannya cukup kecil. Penggunaan absorban tahap kedua dilakukan sebagai proses penyelesaian akhir (*finishing*) dalam pengambilan senyawa katechin dalam gambir. Biasanya absorban pada tahap kedua merupakan absorban dengan tingkat efektifitas yang tinggi.

##### a. Isolasi dengan absorban amberlit XAD<sub>2</sub>

Isolasi dengan absorban amberlit XAD<sub>2</sub> dilakukan dengan melarutkan gambir dalam air dingin dan dilewatkan dalam kolom yang berisi absorban amberlit sedikit demi sedikit. Senyawa yang larut dalam air termasuk tanin yang melewati kolom dibuang, sedangkan senyawa katechin dan senyawa flavonoid lainnya akan diserap oleh amberlit. Selanjutnya elusi senyawa yang diserap amberlit dengan metanol. Eluat yang keluar ditampung dalam vial-vial kecil berdasarkan warna yang terbentuk dari masing-masing eluat, diidentifikasi dengan pelat KLT dengan penampak noda uap iodium/lampu UV dan selanjutnya Rf nya diukur. Nilai Rf merupakan perbandingan antara jarak eluen dengan jarak noda yang timbul. Senyawa yang dianggap memiliki nilai Rf yang sama digabung dan dipekatkan.

##### b. Isolasi dengan silika gel

Sebelum mengisolasi dengan absorban silika gel, dilakukan preparasi sampel dengan memanaskan gambir dalam larutan etil asetat, disaring dan diuapkan di atas evaporator, kemudian dicampurkan dengan silika gel sampai terbentuk larutan yang

homogen. Larutan dimasukkan ke dalam kolom dan elusi secara bertingkat dengan tahap penambahan pelarut heksana (senyawa non polar turun ke bawah), dan dilanjutkan elusi dengan etil asetat : alkohol secara *gradient gravity* (1 : 9, 2 : 8, 3 : 7, dan seterusnya). Eluat yang keluar ditampung dalam vial-vial kecil berdasarkan pada warna yang terbentuk dari masing-masing eluat dan diidentifikasi dengan pelat KLT dengan penampak noda uap iodium/lampu UV. Senyawa yang dianggap memiliki Rf yang sama digabung dan dikristalkan.

**c. Isolasi dengan absorban sephadex LH-20.**

Gambir yang sudah dilakukan pemisahan dengan absorban silika gel atau amberlit ditimbang dan dilarutkan dengan etil asetat dengan perbandingan 1 : 5 sampai semua bahan terlarut, dipanaskan di atas penangas air pada suhu  $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  lebih kurang 10 menit, dan disaring selagi panas dengan kertas saring Whatman 42. Hasil saringan kemudian dikeringkan di atas penangas air sehingga terbentuk fraksi gambir kering. Endapan kemudian dilarutkan kembali dengan metanol dan dimasukkan ke dalam kolom berisi absorban sephadex LH-20 secara perlahan-lahan agar pembentukan pita warna tidak rusak. Selanjutnya dibiarkan mengendap selama semalam atau sampai terbentuknya pita warna yang sempurna dalam kolom, lalu elusi dengan metanol.

**3. Pengujian dan analisa**

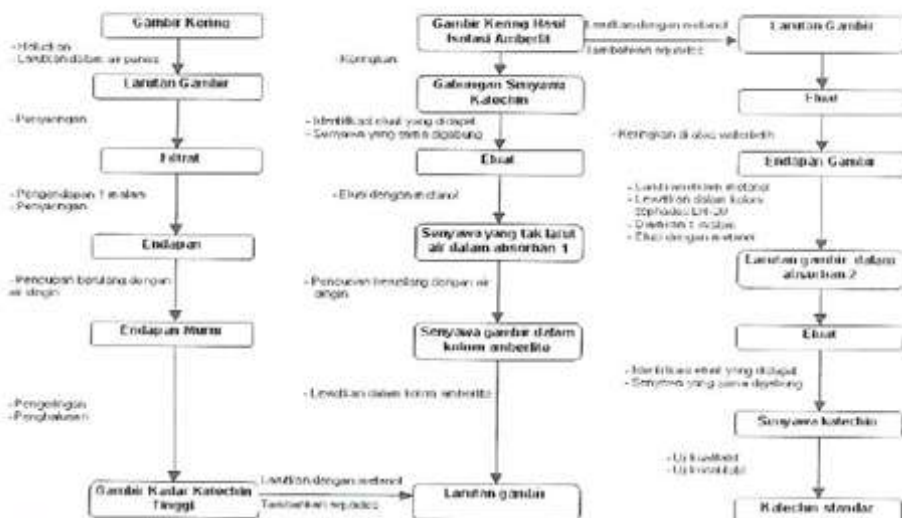
Terhadap katechin gambir yang didapat dilakukan pengujian secara kualitatif dan kuantitatif.

**a. Pemeriksaan kualitatif**

- 1) Uji kelarutan dengan berbagai pelarut seperti metanol, etil asetat, akuades, kloroform dan lain-lain. Hasil elusi ditampung dalam vial-vial kecil, dan terhadap masing-masing vial dilakukan uji Rf pada plat KLT dengan fasa gerak campuran etanol : air : asam asetat (40 : 60 : 1%) v/v, kemudian diidentifikasi dengan lampu UV. Noda dengan Rf yang sama digabungkan dan dikristalkan. Rekrystalisasi dilakukan dengan menambahkan kloroform secara perlahan sambil diaduk sampai terbentuk endapan. Selanjutnya disaring dan dikeringkan dalam desikator sampai kadar air diperkirakan  $\pm 15\%$ . Bagan alir proses seperti terlihat pada Gambar 1.
- 2) Reaksi warna dengan besi (III) klorida.
- 3) Identifikasi katechin secara HPLC.
- 4) Uji FTIR untuk melihat bentuk struktur molekul yang terbentuk dari senyawa katechin hasil isolasi dibandingkan dengan standar teknis keluaran Sigma.

**b. Pemeriksaan kuantitatif**

- 1) Penentuan kadar air dilakukan dengan metoda gravimetri.
- 2) Pengujian titik leleh dengan menggu-



Gambar 1. Bagan alir proses isolasi katechin dari gambir



nakan alat penentuan titik leleh (melting point apparatus).

- 3) Serapan maksimum dengan alat spektrofotometer UV/Vis.
- 4) Penentuan kadar katechin dilakukan menurut SNI.01-3391-2000. Pengukuran dapat dilakukan dengan membandingkan penyerapan larutan contoh dengan penyerapan larutan standar menggunakan alat spektrofotometer UV, dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Katechin (\%)} = \frac{Et279 \times Ws \times 100}{Ec279 \times W}$$

#### Keterangan :

Et279 = Penyerapan larutan contoh pada panjang gelombang 279 nm.

Ec279 = Penyerapan larutan standar pada panjang gelombang 279 nm.

Ws = Berat standar.

W = Berat contoh gambir.

#### Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi dengan HPLC

Pengujian menggunakan HPLC dilakukan untuk menentukan kemurnian senyawa hasil isolasi. Contoh katechin dari gambir dilarutkan dalam larutan metanol, diencerkan, dan 1  $\mu$ g sampel diinjeksikan ke dalam kolom platinum EPS C18 dengan spesifikasi : 1,5  $\mu$ m, 33 x 7 mm rocket, *mobile phase* 0,05% V/V TFA 87:13 water acetonitril, *flowrate* 10  $\mu$ l/min dan *detector* UV 210 nm.

#### Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi dengan FTIR

Untuk membuktikan bentuk struktur katechin gambir hasil isolasi yang sama dengan membandingkan dengan standar perbandingan yang tersedia dilakukan uji dengan FTIR. Spektrofotometer Infra merah (IR) digunakan untuk analisa gugus fungsi dengan kondisi contoh berupa bubuk 1%

dalam bubuk KBr yang dibuat pelet. Spektrogram inframerah dibaca pada angka gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  dan diamati bilangan gelombang serapan gugus fungsinya.

#### Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi dengan Spektrofotometer UV/Vis

Pengujian menggunakan spektrofotometer UV/Vis dilakukan untuk menentukan serapan maksimum larutan gambir yang diuji pada panjang gelombang 250-350 nm, serapan maksimum yang terbentuk pada panjang gelombang 280-281 nm merupakan serapan maksimum untuk senyawa katechin.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kemurnian Gambir

Pemurnian gambir dilakukan berdasarkan sifat-sifat kelarutan dari komponen utama yang terkandung dalam gambir yaitu katechin dan tanin (asam katechu tanat) mempunyai kelarutan berbeda. Katechin tidak mudah larut dalam air dingin dan dalam keadaan kering berbentuk amorf berwarna kuning muda dan memberikan rasa manis; sedangkan tanin mudah larut dalam air dingin dan dalam keadaan kering berwarna coklat kemerahan yang memberikan rasa sepat<sup>(9)</sup>.

Parameter yang diharapkan dari hasil pemurnian gambir yaitu gambir dengan kandungan katechin tinggi dan parameter lainnya yang memenuhi persyaratan standar mutu gambir mutu I, SNI 01-3391-2000<sup>(10)</sup>.

Hasil pemurnian gambir dengan metoda yang dilakukan menunjukkan terjadinya peningkatan kandungan katechin dari gambir mentah (bahan baku). Kadar katechin yang di uji secara spektrofotometer adalah 94,55% dengan parameter lainnya yang memenuhi standar mutu I seperti dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Gambir Mentah dan Gambir Hasil Pemurnian

No.	Kriteria Uji	Syarat Mutu	Hasil Analisa	
		SNI. 01- 3391 - 2000	Bahan Baku	Hasil Pemurnian
		Mutu I		
1.	Keadaan	Utuh Kuning s/d kuning kecoklatan, Khas	Utuh Kuning s/d kuning kecoklatan, Khas	Bubuk Putih kekuningan  Khas
	-Bentuk			
	-Warna			
	-Bau			
2.	Kadar air, b/b %	Maks.14	15,45	13
3.	Kadar abu, b/b %	Maks 5	3,34	1,37
4.	Katechin b/b %, adb	Min. 60	60,31	94,55
5.	Kadar bahan tdk larut dlm:			
	-Air b/b %	Maks.7	6,03	5,02
	-Alkohol b/b %	Maks.12	6,44	6,14

Dalam isolasi senyawa katechin gambir, semakin tinggi kandungan katechin dari bahan gambir yang digunakan, semakin sedikit komponen lainnya (seperti tanin, katecol, dan lain-lain) sehingga semakin mudah proses dalam pemurnian gambir.

#### Isolasi Katechin Secara Kromatografi

Teknik isolasi yang digunakan untuk membuat katechin murni dari gambir adalah teknik pemisahan dengan cara kromatografi. Kromatografi merupakan suatu metoda pemisahan fisik dimana komponen yang dipisahkan didistribusikan diantara fasa diam dan fasa gerak. Fasa yang lebih kuat antara molekul solut dengan yang ada di dalam fasa diam akan menyebabkan jumlah solut tertahan dalam fasa diam, lebih besar dibawah kondisi setimbang dan sebaliknya.

Pemisahan dengan teknik ini juga didasarkan pada perbedaan sifat-sifat fisik, dimana ada zat yang terlarut dalam cairan dan ada zat yang dapat teradsorpsi pada suatu butiran zat padat. Proses adsorpsi dipengaruhi oleh kekuatan ikatan antara solut dan adsorban yang digunakan untuk dapat saling memisahkan. Terlepasnya solut dari adsorban adalah karena tendensi kelarutannya, dimana adsorban yang bersifat polar akan mengadsorpsi solut yang bersifat lebih polar<sup>(2)</sup>.

#### Isolasi dengan Amberlit

Isolasi dengan amberlit dilakukan berdasarkan pada prinsip kerja amberlit yang menyerap komponen tidak larut dalam air dingin seperti katechin dan senyawa flavonoid lainnya. Sedangkan senyawa yang larut dalam air dingin, seperti senyawa tanin dan senyawa lainnya yang tersisa dari proses pemurnian gambir akan turun melewati celah amberlit bersama proses pencucian.

Untuk mengambil senyawa yang diserap amberlit, elusi dengan pelarut metanol. Senyawa yang diserap amberlit dapat melepaskan kembali ikatannya karena metanol yang merupakan pelarut yang cocok sebagai pelarut flavonoid (gambir). Hasil elusi dari amberlit diidentifikasi dengan KLT, dimana senyawa yang sama ditandai dengan noda pada KLT yang sama digabung dan dipekatan.

Isolasi awal dengan amberlit merupakan suatu cara untuk mengefisienkan isolasi katechin baik terhadap waktu maupun biaya, karena jika dilakukan langsung dengan sephadex LH-20 proses pembersihan kembali sephadex LH-20 akan membutuhkan waktu yang lama dan metanol yang banyak.

#### Isolasi dengan Sephadex LH-20

Pemisahan dengan sephadex LH-20 bekerja dengan prinsip memisahkan larutan gambir berdasarkan perbedaan berat molekul (BM) dalam larutan, dimana BM yang besar terelusi lebih dahulu ke dasar kolom baru, dilanjutkan dengan BM yang lebih kecil. Sephadex LH-20 dirancang khusus untuk digunakan memakai pelarut organik.

Pada proses pemisahan komponen dengan sephadex LH-20 akan terbentuk pita-pita warna berdasarkan komponen yang dipisahkan. Pada pemisahan komponen gambir dari hasil isolasi amberlit, pita-pita warna yang terbentuk akan berwarna coklat pada bagian bawah kolom, yang menandakan masih terdapatnya kotoran atau komponen lain seperti tanin yang tidak terpisahkan oleh amberlit. Bagian atasnya berwarna kuning muda, yang dari hasil identifikasi dan pengujian secara KLT dan dibandingkan dengan standar sintetis, merupakan senyawa katechin. Hal ini menunjukkan penggunaan sephadex LH-20 dalam proses isolasi katechin cukup efektif dan juga berdasarkan sifatnya sephadex LH-20 akan menghasilkan eluat tanpa sisa sehingga kehilangan komponen yang diharapkan akan menjadi kecil. Sephadex LH-20 dapat memisahkan komponen lebih selektif, namun kelemahannya sulit dalam pemurnian kembali<sup>(7,9)</sup>.

#### Kemurnian dan identifikasi senyawa

Untuk menguji kemurnian dan identifikasi masing-masing senyawa katechin hasil isolasi menggunakan kombinasi adsorban yang berbeda, dilakukan uji banding dengan standar sintetis (Sigma), meliputi uji reaksi warna, KLT, pengukuran titik leleh, kelarutan senyawa, serapan maksimum, spektrum IR, spektrofotometer UV/Vis dan HPLC.

#### 1. Reaksi warna.

Senyawa katechin dari masing-masing produk hasil isolasi sama-sama memberikan warna hijau kehitaman jika direaksikan dengan senyawa  $FeCl_3$  dalam suasana basa. Hal ini menunjukkan semua senyawa merupakan golongan senyawa katechin.

#### 2. Identifikasi noda dengan KLT (kromatografi lapisan tipis).

Untuk melihat tingkat kemurnian senyawa hasil isolasi dapat digunakan KLT dengan penampak noda lampu UV dan/atau uap iodium. Eluen yang digunakan adalah campuran etanol, akuades, asam asetat



dengan perbandingan (40:60:1)% v/v. Hasil elusi memberikan satu noda yang menunjukkan bahwa senyawa dalam keadaan murni. Elusi senyawa katechin dari hasil isolasi kombinasi absorban yang berbeda dengan standar sintesis pada KLT dengan eluen yang sama (ko-kromatografi) memberikan nilai Rf yang sama yaitu 0,92. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah identik.

### 3. Titik leleh.

Untuk melihat kemurnian senyawa dapat diukur titik lelehnya. Bila senyawa tersebut mempunyai titik leleh dengan *range* yang besar menunjukkan senyawa tersebut kurang murni. Sebaliknya jika titik lelehnya sama atau hampir sama dengan *range* yang tajam dapat diperkirakan zat tersebut identik. Dari hasil uji didapatkan titik leleh senyawa hasil isolasi dengan kombinasi absorban amberlit – sephadex LH-20 adalah 168°C atau mendekati sama dengan standar pembandingan yaitu 167-168°C. Hal ini menunjukkan senyawa dalam keadaan murni dan identik dengan standar sintesis.

### 4. Kadar katechin

Analisa kadar katechin gambir dilakukan secara spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 280 nm sesuai dengan SNI 01-3391-2000, berdasarkan rumus perbandingan berat contoh dan

standar katechin dikali dengan perbandingan serapan standar dengan serapan senyawa katechin hasil isolasi dikali 100% seperti terlihat pada Tabel 2.

Dari hasil perhitungan diketahui bahwa dengan absorban Amberlit-Sephadex LH-20 kadar katechin sebesar 98,63%, dengan absorban Silika gel – Sephadex LH20 kadar katechin sebesar 96,81% dan dengan absorban Silika gel-Amberlit kadar katechin sebesar 95,12% (Tabel 3).

### 5. Kelarutan senyawa katechin

Senyawa katechin mudah larut dalam etil asetat dan metanol, sukar larut dalam air dingin, dan tidak larut dalam kloroform. Hasil menunjukkan bahwa senyawa katechin hasil isolasi dengan kombinasi absorban Amberlit – Sephadex LH-20 lebih mendekati kelarutan standar sebagaimana terlihat pada Tabel 3.

### 6. Identifikasi senyawa katechin dan standar dengan Spectrophotometer Infra Red (IR)

Identifikasi pita absorpsi khas yang disebabkan oleh berbagai gugus fungsi merupakan dasar penafsiran Spektrum Infra Merah<sup>(1)</sup>. Delapan daerah terpen-ting telah ditentukan dengan baik yang digunakan pada penafsiran pendahuluan spektrum. Jadi frekwensi regang O-H menimbulkan pita absorpsi kuat didaerah 3412 cm<sup>-1</sup> (standar) dan 3411 cm<sup>-1</sup> (senyawa hasil isolasi).

Tabel 2. Hasil Analisa Serapan dan Berat sampel

Variasi absorban	Serapan (A)	Berat Sampel (g)
Amberlit-Silika	0,5733	0,0649
Silika-sephadex	0,6046	0,0638
Amberlito-sephadex	0,7173	0,0625

\* berat standar 0,0634 g, serapan standar 0,6215

Tabel 3. Hasil Uji Katechin Hasil Isolasi Gambir dan Standar Katechin Sintesis

No.	Parameter Uji Standar	Standar Katechin Sintesis	Katechin Gambir Hasil Isolasi dengan Kombinasi Absorban		
			Silika Gel – Amberlite	Silika Gel – Sephadex LH-20	Amberlite Sephadex LH-20
1.	Kondisi - Bentuk - Warna - Bau	Serbuk Putih kekuningan Khas.	Serbuk Putih kekuningan Khas.	Serbuk Putih kekuningan Khas.	Serbuk Putih kekuningan Khas.
2.	Kadar air	14,81	19,43	12,99	14,01
3.	Titik leleh.	168°C	169°C	123,51°C	168°C
4.	Kadar katechin	97%	95,12%	96,81%	98,63%
5.	Kelentutan dalam air dingin	Mudah larut 1:12	Mudah larut 1:10	Mudah larut 1:10	Mudah larut 1:12
6.	Kelentutan dalam etyl asetat	Sukar larut	Sukar larut 1:1000	Sukar larut 1:1000	Sukar larut 1:1000
7.	Kelarutan dalam metanol	1:1000	Mudah larut 1:3,5	Mudah larut 1:3,5	Praktis tidak larut 1:3
8.	Kelarutan dalam kloroform	Mudah larut 1:3	Praktis tidak larut	Praktis tidak larut	Praktis tidak larut
9.	Reaksi warna dengan FeCl3	Tidak larut 1:15.000 Hijau	1:15.000 Hijau	1:15.000 Hijau	1:15.000 Hijau

Adanya pita kuat didaerah  $3000\text{ cm}^{-1}$  s/d  $3750\text{ cm}^{-1}$  pada spektrum IR suatu senyawa merupakan petunjuk kuat bahwa molekul itu mengandung gugus O-H. Pita pada range  $650\text{ cm}^{-1}$  s/d  $1675\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya regang  $\text{-C=C-}$  aromatik, lentur  $\text{C-H}$ , Ar-H. Tidak adanya pita kuat pada range  $1650\text{ cm}^{-1}$ - $3300\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan tidak adanya regang C-H pada  $\text{-C=H-H}$ , Ar-H dan lain-lain, regang  $\text{C=C}$ ,  $\text{C=N}$ , regang  $\text{C=O}$  pada asam, aldehid, keton, amida, ester, anhidrida dan lain-lain. Spektrum IR dari katechin standar dan katechin hasil isolasi dengan beberapa absorban, disajikan pada Gambar 2a, Gambar 2b dan Gambar 2c.

**7. Spektrum Senyawa dengan Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrum senyawa katechin dari gambar hasil isolasi menggunakan kombinasi absorban yang berbeda memperlihatkan pola yang sama dengan standar sintetis. Serapan maksimum terlihat pada panjang gelombang 280-281 nm dalam pelarut metanol baik senyawa hasil isolasi maupun senyawa standar sintetis. Hal ini menunjukkan senyawa hasil isolasi yang didapat adalah murni dan identik seperti terlihat pada Gambar 3.

**8. Katechin hasil isolasi dibandingkan dengan katechin sintetis secara HPLC**

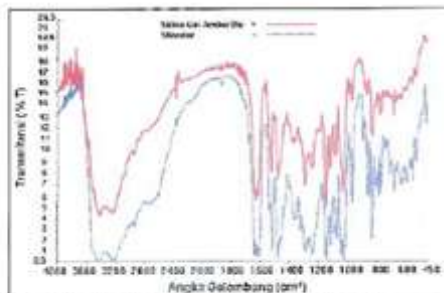
Kromatogram katechin hasil isolasi dari kombinasi absorban dengan katechin sintetis dapat dilihat pada Gambar 4a, Gambar 4b dan Gambar 4c.

Hasil identifikasi kromatogram menunjukkan adanya pita yang sama pada waktu relensi yang sama dengan standar sintetis. Berarti kedua pita identik satu sama lain, atau menunjukkan kedua senyawa tersebut adalah sama.

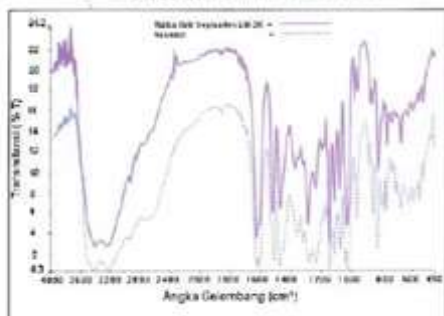
**Isolasi dengan kombinasi absorban**

Isolasi dengan variasi absorban memberikan hasil yang berbeda. Penggunaan absorban amberlit XAD4 dengan ukuran buiran 20-60 mesh, porositas volume 42% dan luas permukaan  $300\text{ m}^2/\text{g}$  sering digunakan untuk mengisolasi senyawa-senyawa fenol, antibiotik, pestisida klorida dan berbagai senyawa aromatik dan senyawa nitrogen dan lain-lain. Absorban ini bersifat non polar. Senyawa katechin gambar yang dilarutkan dalam air akan dapat diserap dengan baik dalam kolom amberlit XAD4, sehingga senyawa polar lain yang larut dalam air akan dapat pisahkan dengan baik.

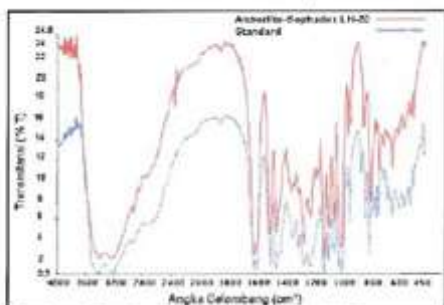
Dalam penggunaan sephadex LH-20 yang dirancang untuk digunakan dalam pelarut organik polar atau campuran pelarut dengan air mempunyai ukuran partikel dalam keadaan kering  $18\text{-}111\text{ }\mu\text{m}$ , dalam metanol  $27\text{-}163\text{ }\mu\text{m}$ . Absorban ini stabil dalam pelarut air dan eluen organik, tidak stabil pada pH dibawah 2. Pemisahan didasarkan pada berat molekul dari bahan



Gambar 2a. Spektrum IR Hasil Isolasi Senyawa Katechin Gambar Menggunakan Absorban Silika Gel-Amerberlit



Gambar 2b. Spektrum IR Hasil Isolasi Senyawa Katechin Gambar Menggunakan Absorban Silika Gel-Sephadex LH-20

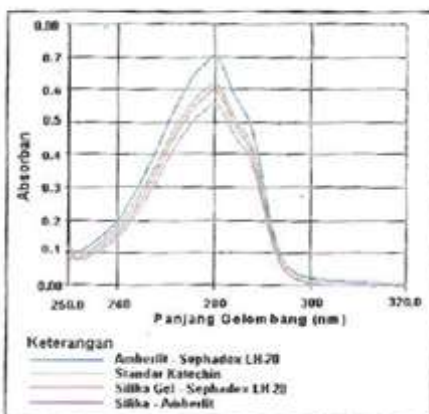


Gambar 2c. Spektrum IR Hasil Isolasi Senyawa Katechin Gambar Menggunakan Absorban Amberlit-Sephadex LH-20

yang diisolasi sehingga katechin yang bersifat mudah larut dalam air mempunyai berat molekul yang cukup besar yaitu 290 akan lebih mudah dipisahkan dengan kombinasi kedua absorbans tersebut. Dalam penggunaan absorbans silika gel, dimana pemisahannya berdasarkan tingkat kepolaran, senyawa katechin yang tergolong kedalam senyawa polar akan lebih banyak terserap dan tertinggal dalam absorbans ini. Oleh karena itu penggunaan variasi absorbans dengan silika gel untuk senyawa katechin tidak efisien, seperti yang dapat dilihat dari kadar katechin yang diperoleh pada Tabel 2.

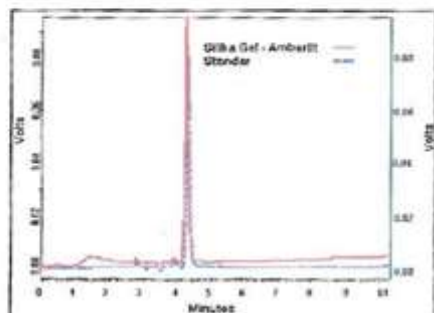
Dari seluruh hasil analisa, ternyata kombinasi absorbans amberlit – sephadex LH-20 memberikan senyawa yang identik dengan standar sintetis. Semakin mendekati senyawa katechin dari gambir yang diuji semakin murni katechin gambir yang didapat. Tingkat kemurnian yang tinggi merupakan salah satu syarat penggunaan bahan baku dalam industri kosmetik dan obat-obatan.

Dilihat dari tingkat kemurniannya, katechin hasil isolasi dengan absorbans amberlit-sephadex LH-20, identik dengan standar perbandingan sintetis (Sigma), sehingga katechin ini dapat digunakan sebagai standar perbandingan yang selama ini sulit diperoleh. Kendala lain adalah harga standar perbandingan yang mahal serta memerlukan waktu yang cukup lama antara pemesanan hingga penerimaan akibat prosedur impor yang cukup rumit.

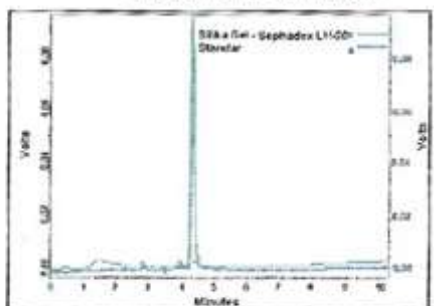


Gambar 3. Spektrum UV/Vis Katechin Sintetis dan Katechin Hasil Isolasi dengan Variasi Absorbans.

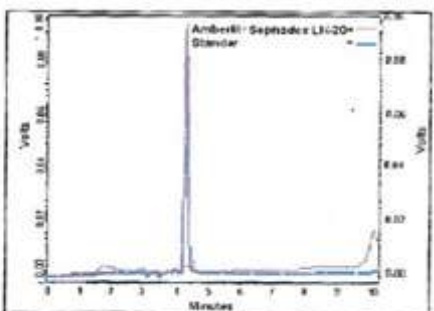
Terdapat pula kemungkinan standar perbandingan mengalami kerusakan atau terurai selama proses pengiriman. Dalam penggunaan standar perbandingan alam akan bersifat lebih stabil jika dibandingkan dengan senyawa sintetis dan sebaiknya standar



Gambar 4a. Kromatogram secara HPLC dari Katechin Sintetis dan Katechin Gambir Hasil Isolasi Menggunakan Absorbans Silika Gel-Amberlit



Gambar 4b. Kromatogram secara HPLC dari Katechin Sintetis dan Katechin Gambir Hasil Isolasi Menggunakan Absorbans Silika Gel-Sephadex LH-20



Gambar 4c. Kromatogram secara HPLC dari Katechin Sintetis dan Katechin Gambir Hasil Isolasi Menggunakan Absorbans Amberlit-Sephadex LH-20



pembandingan yang digunakan dalam pengujian sebaiknya mempunyai sifat yang benar-benar sama dengan kandungan bahan yang akan diuji.

Hasil isolasi dengan rendemen yang tinggi merupakan yang paling diharapkan, karena hal ini akan berpengaruh terhadap biaya produksi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Dari identifikasi gambir hasil isolasi dengan menggunakan kombinasi dua absorban yang berbeda yang dibandingkan dengan standar sintesis, kombinasi amberlit-sephadex LH-20 mempunyai sifat yang paling identik dengan standar sintesis, dan menunjukkan tingkat kemurnian tinggi, yang terlihat pada titik leleh yang sama, mudah larut dalam air dingin dan etil asetat, sukar larut dalam kloroform dan dilihat dari bentuk spektrum serta bentuk strukturnya paling mendekati standar katechin sintesis.
2. Rendemen tertinggi didapat pada kombinasi absorban amberlit-sephadex LH-20 yaitu 98,63% dengan kadar air 14,01%.
3. Katechin murni yang diperoleh berpotensi untuk dikomersialkan sebagai bahan baku obat dan kosmetik serta sebagai standar pembandingan dalam pengujian produk gambir di laboratorium.

### Saran

Metoda isolasi untuk mendapatkan katechin murni sebagai bahan baku industri obat dan kosmetik perlu dikembangkan dalam skala yang lebih besar dan dievaluasi tekno-ekonominya, sebelum diproduksi secara komersial.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Prof. DR. Amri Bakhtiar, MS, DEA, Apt dan Bapak DR. Dedi Prima Putra, APT dari Fakultas Farmasi Unand yang telah memberikan masukan dan saran dalam melakukan kegiatan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Anonimous. Standar Nasional Indonesia, Syarat Mutu Gambir, SNI 01 - 3391 - 2000, Dewan Standar Nasional Indonesia, Jakarta, 2000.
2. Bakhtiar A. Potensi Senyawa Bahan Alam Flavanoid Sebagai Obat dan Kosmetik, Pidato Pengukuhan Sebagai Guru Besar Tetap dalam Ilmu Farmasi, Disampaikan pada Rapat Senat Luar Biasa Universitas Andalas, Padang, 4 Februari 2005.
3. K.Hostetmann. Cara Khromatografi preparatif, Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam, Terjemahan, Penerbit ITB Bandung, 1995.
4. Day, R. A dan A. L. Undeswood, Analisa Kimia Kuantitatif, Diterjemahkan Oleh R. Soendoro, Erlangga, Jakarta, 1991.
5. Herman, J.R: G. Blusche. Analisis Farnasi, Edisi ke-5, Diterjemahkan Oleh Soendari Noesono, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1994.
6. Gustri.Y, Hendri. M, Indra. S, Firdaus. J. Yulia. A, Marjali. Pengaruh Waktu Pemanasan Terhadap Mutu Cube Black Gambir dan Aplikasi Sebagai Penyamak Kulit, *Jurnal Riset Industri dan Perdagangan*, Volume 3, No.2, Desember 2005.
7. Leung, A.Y. *Encyc. Cammonatural Ingredients Used in Foods Drugs and Cosmetic*. 103 - 104; New York, John Wiley & Sons, 1980.
8. Markham, KR. Cara mengidentifikasi senyawa flavonoid, Terjemahan Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 1988.
9. Nazir, N. Gambir, Budaya, Pengolahan dan Prospek Diversifikasinya, Penerbit Yayasan Hasil Hutan non Kayu, Padang, 2000.
10. Parker, S.P., Weil, J., Richman, B., Fox, E.J., Bonardi, A., Faulk, J. *Encyclopedia of Chemistry*, Fifth Edition, McGraw-Hill, New York, 1983.
11. Sastrohamidjojo, H. *Spektroskopi Infra-merah*. Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Liberty, Yogyakarta, 1992.
12. Yusmeiarti, Silia, Elya Rovina, Dindin, S. *Pengembangan Teknologi Pemurnian Gambir, Laporan Penelitian*, DIP Tahun 2000, Balai Litbang Industri Padang, Maret 2000.
13. Venkataraman, K., *The Chemistry of Synthetic Dyes*, Academic Press. Inc., New York, Second Ed., 1969