



PEMISAHAN SITRONELAL MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI KOLOM DENGAN FASA DIAM SIKLODEKSTRIN TERASETILASI

Murtiyanti Setyaningrum*) dan Edy Cahyono

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima April 2016
Disetujui Mei 2016
Dipublikasikan Agustus 2016

Kata Kunci:
senyawa kiral
kromatografi kolom
siklodekstrin

Abstrak

Pemisahan senyawa kiral telah menjadi perbincangan besar didunia penelitian. Senyawa kiral memiliki pasangan enantiomer dengan efek samping yang berbeda. Melihat kondisi tersebut, maka dilakukan penelitian tentang pemisahan senyawa kiral (sitronelal) dengan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodekstrin terasetilasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pemisahan senyawa kiral menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodekstrin terasetilasi. Reaksi asetilasi siklodekstrin dengan anhidrida asam asetat selama 36 jam. Hasil reaksi asetilasi dianalisis dengan FT-IR untuk mengetahui gugus fungsi. Siklodekstrin terasetilasi digunakan sebagai fasa diam. Pemisahan sitronelal dilakukan dengan eluen yang telah ditentukan dengan KLT yaitu toluen : etil asetat (12:0,1) sehingga diperoleh isolat F1 dari hasil penggabungan beberapa fraksi. Analisis terhadap isolat F1 dilakukan menggunakan GC. Kromatogram GC isolat F1 menunjukkan persentase sitronelal 86,77%. Dilakukan perbandingan dengan silica gel sebagai fasa diam untuk kromatografi kolom. Kromatogram GC menunjukkan persentase sitronelal sebanyak 80,91%. Hasil analisis perlu dilanjutkan dengan GC-kolom kiral untuk mengetahui terpisahnya senyawa kiral.

Abstract

The separation of chiral compounds has been a big debate in the world of research. Has a pair of enantiomers of chiral compounds with different side effects. Seeing these conditions, then conducted research on the separation of chiral compounds (citronellal) using column chromatography with cyclodextrin stationary phase acetylated. The purpose of this study was to determine the effectiveness of the separation of chiral compounds using column chromatography with cyclodextrin stationary phase acetylated. Cyclodextrin acetylation reaction with acetic acid anhydride for 36 hours. Acetylation reaction products were characterized by FT-IR to determine the functional groups. Acetylated cyclodextrin is used as the stationary phase. The separation of citronellal performed with eluent was determined by TLC namely toluene: ethyl acetate (12: 0.1) to obtain F1 isolates from the merger of several fractions. Analysis of the F1 isolates was performed using GC. GC chromatogram shows the percentage of isolates F1 86.77% citronellal. Do a comparison with silica gel as the stationary phase for column chromatography. GC chromatogram shows the percentage of citronellal as much as 80.91%. Results of analysis needs to be followed by GC-chiral column to determine the separation of chiral compounds.

© 2016 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:
E-mail: murti_bolobolo@gmail.com

p-ISSN 2522-6951
e-ISSN 2502-6844

Pendahuluan

Pemisahan senyawa kiral telah menjadi pembicaraan besar karena sebagian besar molekul bioorganik adalah kiral. Karena sifat kiralitasnya, sepasang enantiomer dari organisme hidup menunjukkan respon biologis yang berbeda antara satu dengan yang lain, sering kali dua enantiomer dari obat rasemat yang sama memiliki efek farmakologi yang berbeda. Sebagai contoh S(+)-propranolol sangat lebih aktif dari pada enantiomernya. Anestetik ketamin diberikan sebagai campuran rasemat. S(+)-ketamin lebih potensi dari pada R(-)-ketamin, disamping itu bentuk R(-) menyebabkan efek setelah operasi. Karena efek samping yang mungkin disebabkan oleh hadirnya komponen campuran dalam rasemat obat, sehingga saat ini kecenderungan industri farmasi dalam mempersiapkan obat dalam satu enantiomer saja.

Senyawa kiral adalah ketika empat ligan yang berbeda terikat pada karbon tetravalent, menghasilkan molekul asimetris yang mana atom karbon sebagai pusat asimetrisnya (Fanali; 2000). Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase diam dan cairan (pereaksi) sebagai fase gerak untuk mengetahui banyaknya komponen contoh yang keluar melalui kolom (Adnan; 1997). Menurut Rosyidah (2011) *n*-heksana : etil asetat sangat efektif untuk pemisahan senyawa terpen seperti monoterpen, diterpen, triterpen dan steroid. Hasil penelitian Rosyidah (2011) menunjukkan fasa gerak *n*-heksana : etil asetat menghasilkan R_f 0,5 pada senyawa terpen dan menunjukkan noda tunggal pada hasil KLT. Senyawa golongan terpen alkohol dari tanaman obat herbal *Thimus vulgaris* dan *Thymus zygis* telah diidentifikasi menggunakan KLT dengan komposisi eluen toluena : etil asetat (93:7) dan deteksi noda menggunakan larutan vanilin. Hasil analisis menunjukkan bahwa komponen mengandung sitronelal yang mempunyai R_f 0,7-0,8 (Sayekti, *et al.*; 2013).

Siklodekstrin efektif dalam pemisahan dua turunan naftalena dengan kromatografi cair kinerja tinggi. Hasil yang diperoleh selektivitas dapat secara signifikan ditingkatkan oleh interaksi antara cincin s-triazine dari ikatan kimia siklodekstrin-silika sebagai fasa diam (Chen, *et al.*; 2005).

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah β-siklodekstrin, Zr⁴⁺-zeolit beta, DMF, aseton, standar sitronelal (+)/(-)-sitronelal, *n*-heksana, etil-asetat, toluen dan silika gel 60

GF254 dengan *grade pro analyst* buatan *Merck*. Sedangkan untuk alat-alat yang digunakan antara lain: satu set peralatan kromatografi kolom, satu set alat KLT, *Gas Chromatography* dan FT-IR *Spectrofotometer Perkin Elmer series frontier*.

Langkah kerja yang dilakukan dalam penelitian ini dimulai dengan melakukan reaksi asetilasi dengan memasukkan 5 g katalis Zr⁴⁺-zeolit beta ditambah 20 mL anhidrida asetat (0,0208 mol) ditambah 5 mL pelarut DMF kemudian diaduk, campuran 20 g β-siklodekstrin dan 70 mL DMF dimasukkan tetes demi tetes. Diaduk dengan pengaduk magnet pada temperatur ruang 27°C selama 36 jam. Kemudian hasil reaksi disaring dan ditambahkan dengan aseton. Hasil reaksi dianalisis menggunakan FT-IR.

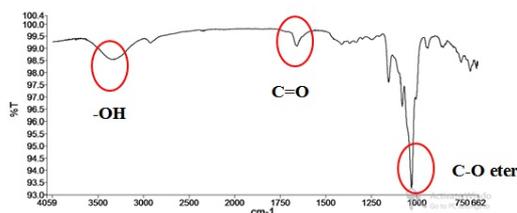
Selanjutnya untuk menentukan eluen menggunakan metode KLT. Pada plat silika gel G60 ditotolkan sampel sitronelal dengan menggunakan pipa kapiler. Plat KLT dibiarkan sesaat, kemudian dimasukkan kedalam bejana berisi eluen berupa campuran *n*-heksana : etil-asetat dengan perbandingan 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 dan 10:0. Untuk mengidentifikasi adanya spot pada plat silika, plat yang telah dikeringkan, kemudian dilihat pada lampu UV.

Kedalam kolom dimasukkan 20 g siklodekstrin terasetilasi yang terlebih dahulu direndam dengan toluena. Sebanyak 5 mL sampel sitronelal dimasukkan dalam kolom yang telah berisi fasa diam dan dielusikan menggunakan komposisi eluen toluena : etil asetat bergradien. Komposisi eluen yang digunakan adalah 12:0,1; 12:0,5 dan 12:1. Tetes eluat ditampung pada vial tiap 2 mL kemudian tiap vial diuji dengan KLT dan dilihat pada lampu UV. Sebagai perbandingan dilakukan hal yang sama dengan fasa diam silika gel.

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis menggunakan FT-IR menunjukkan bahwa gugus -OH hasil reaksi asetilasi β-siklodekstrin semakin berkurang, sedangkan gugus C=O semakin bertambah. Hal ini menandakan gugus -OH telah digantikan oleh gugus asetil dengan bertambahnya gugus C=O. Namun dikarenakan pada spektrum IR hasil asetilasi *peak* pada bilangan gelombang 3000an yaitu gugus -OH masih ada berarti bahwa tidak semua gugus -OH pada β-siklodekstrin digantikan oleh gugus asetil dari anhidrida asam asetat. Hal inilah yang membuat β-siklodekstrin terasetilasi menjadi kaya akan gugus fungsi dan

akan lebih selektif dalam pemisahan senyawa kiral.



Gambar 1. Hasil IR produk reaksi asetilasi β -siklodekstrin (B)

Pola noda (*spot*) KLT dengan komposisi eluen *n*-heksana dan etil asetat pada perbandingan 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, dan 10:0 menunjukkan sampel telah terelusi tetapi antara noda belum terpisah dengan baik. Oleh karena itu, kepolaran dari campuran eluen perlu ditingkatkan. Kepolaran eluen ditingkatkan pada komposisi eluen yaitu *n*-heksana : etil asetat (12:0,1 dan 12:1) serta campuran toluena dan etil asetat dengan perbandingan 12:0,1.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemisahan dengan menggunakan komposisi eluen yang telah ditingkatkan kepolarannya menghasilkan dua *spot* untuk komposisi eluen *n*-heksana : etil asetat (12:0,1) dan toluena : etil asetat (12:0,1). Sedang pada komposisi eluen *n*-heksana : etil asetat (12:1) hanya menghasilkan satu *spot* saja. Hal ini dikarenakan senyawa telah terelusi namun belum terpisah.

Toluena : etil asetat (12:0,1) menghasilkan dua *spot* yang paling jelas dengan waktu retensi (R_f1) 0,5875 dan waktu retensi (R_f2) 0,8875. Nilai R_f2 termasuk ke dalam rentang nilai R_f sitronenol yaitu dari 0,7-0,8. Senyawa golongan terpen alkohol dari tanaman obat terbal *Thymus vilgaris* dan *Thymus zygis* telah diidentifikasi menggunakan KLT dengan komposisi eluen toluena : etil asetat (93:7) dan noda dideteksi dengan menggunakan larutan vanilin. Hasil analisis menunjukkan bahwa obat herbal tersebut mengandung senyawa sitronelal dengan waktu retensi (R_f) 0,7-0,8 (Utami; 1987). Pemilihan fasa gerak pada fraksi 3 hasil isolasi minyak sereh dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan komposisi eluen toluena : etil asetat (12:0,1) (analisis KLT menggunakan plat silica gel; tebal 0,25 mm; jarak elusi 4 cm; penampak noda vanilin; dipanaskan) menunjukkan nilai R_f = 0,825 (Sayekti, *et al.*; 2013).

Kolom modifikasi ini dibuat dengan metode basah yaitu dengan memasukkan cam-

puran fasa diam dan toluena yang dibuburkan terlebih dulu. Penggunaan metode basah yaitu dengan dijadikan bubur dulu dimaksudkan agar saat didalam kolom tidak ada rongga-rongga udara. Sitronelal dimasukkan kedalam kolom dan dibiarkan terserap kedalam fasa diam terlebih dahulu sebelum dilakukan elusi. Pada saat sitronelal sudah terserap seluruhnya kemudian dielusikan dengan eluen toluena dan etil asetat dengan perbandingan 12:0,1. Pada saat pengelusion pertama yang akan keluar terlebih dahulu adalah eluen dalam hal ini adalah toluena. Kemudian eluat yang telah ditampung dalam vial-vial diuji dengan menggunakan plat KLT silica gel. Eluen yang digunakan adalah toluena dan etil asetat dengan perbandingan 12:0,1. Hasil KLT disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil kromatografi kolom menggunakan eluen yang bergradien dengan fasa diam siklodekstrin terasetilasi yang diuji dengan KLT

Berdasarkan hasil KLT didapatkan *spot* yang kemudian dihitung R_f . Harga R_f dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Harga R_f eluat pada tiap vial

Vial eluat	Jumlah spot	Nilai R_f
1	1	0,4
2	1	0,43
3	2	$R_{f1} = 0,5$ $R_{f2} = 0,83$
4	2	$R_{f1} = 0,52$ $R_{f2} = 0,84$
5	2	$R_{f1} = 0,48$ $R_{f2} = 0,84$
6	1	0,39
7	1	0,38

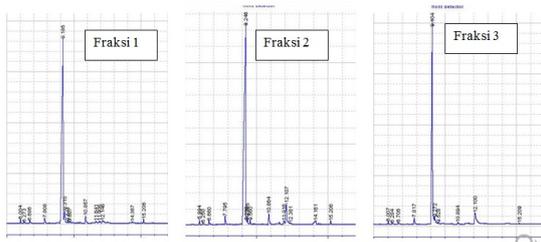
Untuk harga R_f dari eluat yang sama kemudian dikumpulkan menjadi satu sehingga didapatkan 3 fraksi yaitu disajikan pada Tabel 2. Fraksi 1, 2 dan 3 kemudian dianalisis menggunakan GC.

Tabel 2. Fraksi yang dihasilkan dari kromatografi kolom

Fraksi	Vial eluat	Nilai R_f
1	1-2	0,4 – 0,43
2	3-5	0,48 – 0,52 dan 0,83 – 0,84
3	6-7	0,38 – 0,39

Dari data GC sitronelal hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodekstrin terasetilasi didapatkan

beberapa puncak yaitu pelarut dan hasil pemisahan sitronelal.



Gambar 3. Kromatogram GC sitronelal hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom fasa diam siklodextrin terasetilasi

Sebagai perbandingan dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam silica gel.



Gambar 4. Hasil kromatografi kolom menggunakan eluen yang bergradien dengan fasa diam silica gel yang diuji dengan KLT

Berdasarkan hasil KLT didapatkan spot yang kemudian dihitung Rf. Harga Rf dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Harga Rf eluat pada tiap vial

Vial eluat	Jumlah spot	Nilai Rf
1	Tidak ada	-
2	Tidak ada	-
3	2	Rf ₁ = 0,53 Rf ₂ = 0,86
4	2	Rf ₁ = 0,52 Rf ₂ = 0,87
5	2	Rf ₁ = 0,48 Rf ₂ = 0,85
6	1	0,53
7	1	0,54

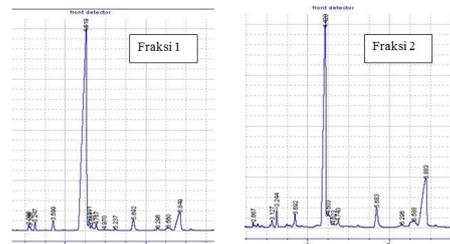
Untuk harga Rf dari eluat yang sama kemudian dikumpulkan menjadi satu sehingga didapatkan 2 fraksi yaitu disajikan pada Tabel 4. Fraksi 1 dan 2 kemudian dianalisis menggunakan GC.

Tabel 4. Fraksi yang dihasilkan dari kromatografi kolom

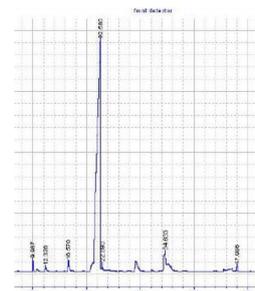
Fraksi	Vial eluat	Nilai Rf
1	3-5	0,48 – 0,53 dan 0,85 – 0,87
2	6-7	0,53 – 0,54

Hasil GC dari fraksi yang telah didapat dari kromatografi kolom dengan menggunakan silica gel dapat dilihat pada Gambar 5. Dari

hasil GC didapat fraksi 1 dari pemisahan sitronelal menggunakan fasa diam siklodextrin terasetilasi yang memiliki konsentrasi tertinggi yaitu 86,77% kemudian dilakukan analisis lagi menggunakan GC dengan metode dari Nhu-Trang, *et al.* yaitu gas pembawa yang digunakan adalah gas hidrogen dengan aliran 1,5 mL/ menit, injektor dan suhu FID 250°C. Suhu diprogram dari 60°C (ditahan selama 10 menit) kemudian dinaikkan tiap 1°/menit sampai suhu mencapai 110°C kemudian dinaikkan lagi 6°/menit sampai suhu 175°C ditahan selama 2 menit. Hasil GC fraksi 1 menggunakan metode Nhu-Trang dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 5. Kromatogram GC sitronelal hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom fasa diam silica gel



Gambar 6. Kromatogram GC fraksi 1 dengan metode Nhu-Trang, *et al.*

Dari Gambar 6. didapatkan kromatogram sitronelal yang telah dipisahkan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodextrin terasetilasi. Namun berdasarkan kromatogram terpisahnya enantiomer dari sitronelal belum terlihat jelas. Hal ini dikarenakan kolom yang digunakan pada GC bukan kolom kiral. Untuk melihat lebih jelas bahwa enantiomer dari sitronelal telah terpisah maka harus dilakukan analisis lebih lanjut dengan menggunakan GC kolom kiral. Analisis dengan GC kolom kiral tidak dapat dilakukan karena kendala dari GC yang sedang rusak.

Untuk memastikan bahwa enantiomer dari sitronelal telah terpisah maka dibandingkan kadar sitronelal hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodextrin terasetilasi dan dengan fasa diam silica gel. Dari hasil GC didapatkan kadar pemisahan

sitronelal yang disajikan pada Tabel 5.

Dari data yang ada pada Tabel 5. menyatakan bahwa kadar sitronelal hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodekstrin terasetilasi lebih tinggi dari pada kadar sitronelal hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam silica gel. Hal ini menunjukkan bahwa pemisahan menggunakan fasa diam siklodekstrin terasetilasi lebih baik dari pada dengan menggunakan fasa diam silica gel.

Tabel 5. Perbandingan kadar sitronelal hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodekstrin dan fasa diam silica gel

Fraksi	Kadar sitronelal (%)	
	Pemisahan dengan fasa diam siklodekstrin terasetilasi	Pemisahan dengan silica gel
1	86,77	80,91
2	82,33	53,99
3	82,84	-

Simpulan

Pemisahan sitronelal sebagai senyawa kiral menggunakan kromatografi kolom dengan fasa diam siklodekstrin terasetilasi lebih baik dari pada dengan menggunakan fasa diam silica gel.

Hal ini dapat ditunjukkan dengan mengetahui kadar sitronelal setelah dipisahkan dengan kromatografi kolom. Namun agar hasil pemisahan dapat terlihat secara sempurna perlu di analisis dengan GC-kolom kiral.

Daftar Pustaka

- Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi untuk Analisa Bahan Makanan. Penerbit Andi: Yogyakarta
- Chen, C.Y., Hsing, L.C., & Jiunn, H.Y. 2005. Use of Chemically Bonded-Cyclodextrin Silica Stationary Phase for Liquid Chromatographic Separation of Structural Isomer. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 52: 753-758
- Fanali, S. 2000. Enantioselective Determination by Capillary Electrophoresis With Cyclodextrins as Chiral Selectors. *Journal of Chromatography A*, Italy
- Rosyidah, K. 2011. Isolasi dan Uji Sitotoksik Senyawa Limonen dari Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi*). *Bioscientiae*, 8(2): 1-5
- Sayekti, E., A. Sapar., Fitriyanti. & T.A. Zaharah. 2013. *Isolasi Rhodinol dari Minyak Sereh Jawa Menggunakan Metode Kromatografi Kolom Tekan*. Prosiding Semirata FMIPA. Lampung: Universitas Lampung