

Penetapan Kadar Metanol Hasil Destilasi Penguap Vakum Putar Ekstrak Metanol Daun Ubi Ungu Menggunakan Raman Spektrofotometer

N. M. W. Astuti^{1*}, N. L. P. I. Aryani¹, N. K. P. A. Purwaningsih¹, N. K. S. M. Dewi¹, N. M. K. Sari¹, W. E. Helyani¹, I. M. A. G. Wirasuta¹

¹Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

*Penulis korespondensi: weedy.aya.05@gmail.com

Received June 6, 2018; Accepted July 2, 2018

ABSTRAK

Pelarut hasil ekstraksi sering tidak dimanfaatkan untuk re-ekstraksi. Metanol adalah pelarut universal yang sering digunakan sebagai pengekstrak simplisia. Hasil destilasi-penguap vakum putar tidak diketahui kemurnian dan kadarnya. Raman spektrofotometer adalah metode analisis non destruktif yang dapat diterapkan untuk menetapkan kadar dan kemurnian metanol hasil destilasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan tekanan vakum terhadap kadar serta kemurnian metanol, sehingga metanol hasil destilasi-penguap vakum putar dapat digunakan kembali untuk re-ekstraksi.

Daun ubi ungu dimaserasi menggunakan metanol 95%:asam sitrat 3%. Ekstrak diuapkan menggunakan penguap vakum putar pada tekanan vakum 100 mbar, 150 mbar, dan 200 mbar dengan variasi rentang waktu 5 hingga 180 menit. Kemurnian dan kadar metanol ditetapkan menggunakan Raman Handheld 1064 nm spektrofotometer.

Validasi metode penetapan kadar metanol dengan Raman spektrofotometer diperoleh: presisi: KV 0,19%-1,70%, ketepatan: 94,4–103,8%, batas deteksi: 1,77 % (v/v), batas kuantifikasi: 5,89% (v/v), rentang linieritas dari 1,77 % - 99,9 % (v/v), dengan persamaan kurva kalibrasi: $y = 216,88x + 1437,1$ dan nilai $R^2 = 0,9997$. Kadar metanol hasil destilasi dengan variasi tekanan 100 – 200 mbar pada rentang waktu 5–180 menit diperoleh kadar metanol 59,8–81,2% (v/v). Semua metanol hasil destilasi memberikan kemiripan spektrum 86–99% jika dibandingkan dengan metanol absolut.

Kata Kunci : Metanol, Re-ekstraksi, Penguap Vakum Putar, Raman Spektrofotometer

ABSTRACT

Solvent extracted results are often not utilized for re-extraction. Methanol is a universal solvent which is often used as an extract of simplicia. The result of a rotary vacuum evaporator distillation is not known purity and level. Raman spectroscopy is a non destructive method of analysis that can be applied to determine the levels and purity of distilled methanol. The objective of this research is to know the change of vacuum pressure to the level and purity of methanol, so that methanol from rotary vacuum distillation can be reused for re-extraction.

Purple sweet potato leaves are macerated using 95% methanol : 3% citric acid. The extract was evaporated using a rotary vacuum evaporator at 100 mbar, 150 mbar, and 200 mbar vacuum pressure with a range of 5 to 180 min. Purity and methanol levels were determined using a Raman Handheld 1064 nm spectrophotometer.

Validation of methanol assay method with Raman spectrophotometer was obtained: precision: KV 0.19% -1.70%, accuracy: 94.4-103.8%, limit of detection: 1.77% (v/v), limit of quantification: 5.89% (v/v), the range of linearity of 1.77% -99.9% (v/v), with a calibration curve equation: $y = 216,88x + 1437.1$ and the value of $R^2 = 0.9997$. Methanol content of distillation product with pressure variation 100 - 200 mbar in the span of 5 to 180 minutes obtained methanol level 59.8-81.2% (v/v). All distilled methanol yields a spectrum similarity of 86-99% when compared with absolute methanol.

Keyword: Methanol, Re-extraction, Rotary Vacuum Evaporator, Raman Spectrophotometer

1. PENDAHULUAN

Metanol adalah pelarut universal yang banyak dimanfaatkan untuk ekstraksi bahan alam, salah satunya dengan metode maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi cair padat menggunakan pelarut selama waktu tertentu pada suhu kamar (Hambali dkk., 2007). Maserat hasil maserasi biasanya dilakukan pemekatan untuk membuat ekstrak kental. Pemekatan ekstrak metanol dilakukan menggunakan penguap vakum putar yang merupakan alat untuk melakukan penguapan pelarut yang efisien. Penguap vakum putar memisahkan ekstrak metanol dari cairannya (metanol) dengan menggunakan pemanasan dan penurunan tekanan sehingga menyebabkan pelarut menguap (Rahayu, 2009).

Pemekatan ekstrak metanol bahan alam dilakukan dengan menggunakan penguap vakum putar tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental atau ekstrak kering. Namun penguapan hingga pekat dengan tekanan rendah dapat menyebabkan air dan senyawa volatil yang juga terkandung dalam ekstrak metanol ikut menguap (Lay, 2009). Hasil destilat ekstrak metanol belum dapat dipastikan kadar metanolnya, dan jika digunakan kembali sebagai pelarut ekstraksi (*renewable*) tidak memberikan hasil yang bagus karena belum diketahui kemurnian metanolnya. Hal tersebut kemungkinan karena penurunan tekanan akan menurunkan titik didih air, sehingga memungkinkan penguapan air yang berlebih dan mengakibatkan penurunan konsentrasi metanol. Adanya air dan senyawa volatil pada ekstrak juga ikut menguap pada kondisi tersebut.

Penetapan kadar metanol hasil penguap vakum putar ekstrak metanol bahan alam dilakukan dengan metode spektroskopi Raman yang merupakan salah satu metode yang menghasilkan spektrum vibrasi suatu senyawa. Tersedianya Raman sebagai alat penunjang dapat lebih memudahkan penelitian ini dilakukan. Raman banyak dimanfaatkan dalam forensik sains seperti analisis senyawa terlarang atau berbahaya, narkotika, bahan peledak, metabolit narkotika

(Chalmers *et al.*, 2012; Thomson, 2002). Hal tersebut karena dengan menggunakan spektroskopi raman dapat dilakukan tanpa merusak sampel (non destruktif). Selain itu Raman dapat mengukur sampel secara *in situ*, tidak memerlukan preparasi sampel, dan yang terpenting dapat menguji sampel langsung dalam wadah kaca, plastik atau medium air (Smith and Dent, 2005). Data analisis spektroskopi Raman yang diperoleh berupa spektrum yang memiliki ciri khas dan spesifik untuk setiap gugus fungsi senyawa. Dari spektrum tersebut kemudian dilakukan pengenalan pola puncak spektrum metanol terhadap spektrum standar metanol dan bilangan gelombang puncak yang muncul secara spesifik pada masing-masing gugus fungsi yang dimiliki oleh metanol untuk menentukan kadar. Oleh karena itu metode Spektroskopi Raman dapat menunjang diperolehnya data berupa kadar metanol hasil penguap vakum putar ekstrak metanol bahan alam.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ubi ungu, metanol, 95% (merck), dan asam sitrat 3%.

Alat yang digunakan untuk penelitian meliputi sendok tanduk, alat gelas untuk maserasi, timbangan analitik (AND[®]), penguap vakum putar (Eyela[®]), spektroskopi Raman (Hand Handled Rigaku). Spesifikasi spektroskopi Raman yang digunakan yaitu memiliki panjang gelombang laser 1064 nm, *laser power* 300 mW, *exposure time* 3500 ms, detektor InGaAs, dan rentang spektra 200-2000 cm⁻¹.

METODE

Ekstraksi Simplisia dengan Metode Maserasi

Daun ubi ungu dimaserasi dengan metanol 95%:asam sitrat 3% (85:15 v/v) perbandingan 1:2 bagian. Direndam selama 24 jam, 6 jam pertama diaduk sekali-sekali. Kemudian dидiamkan selama 18 jam. Didapatkan ekstrak metanol 95%-asam sitrat 3% daun ubi ungu.

Penetapan Kadar Metanol dengan Spektrofotometer Raman

Ekstrak metanol daun ubi ungu di rotavapor pada tekanan vakum 100 mbar; 150 mbar; dan 200 mbar. Masing-masing tekanan vakum tersebut dilakukan pula

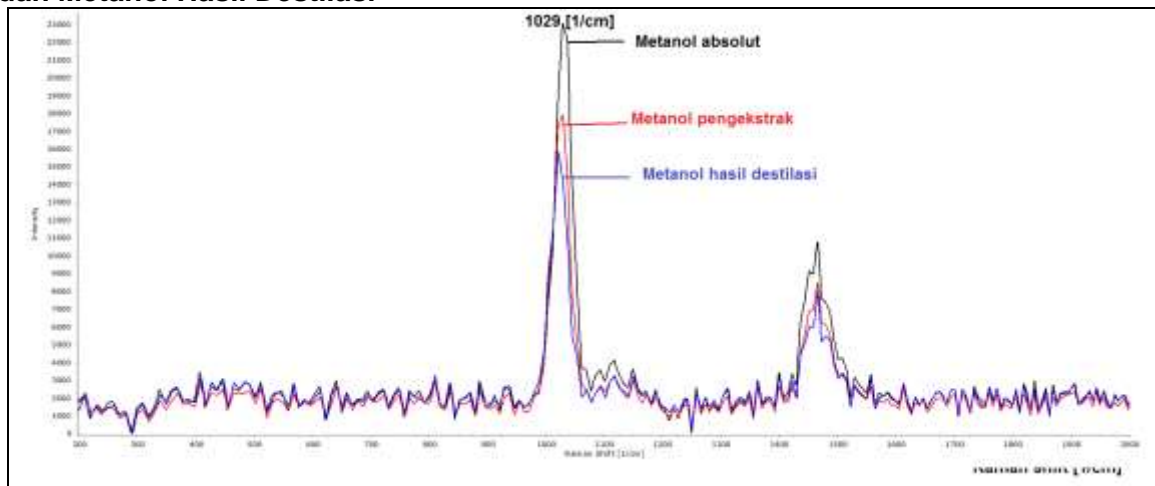
variasi terhadap waktu yaitu 5; 30; 60; 90; 120; 150; 180 menit. Masing-masing variasi antara tekanan dan waktu ditampung dan di ukur dengan raman spektroskopi

Tabel 1. Hubungan Tekanan Vakum dengan Waktu

Waktu	5 menit	30 menit	60 menit	90 menit	120 menit	150 menit	180 menit
Tekanan				100 mbar	150 mbar	200 mbar	

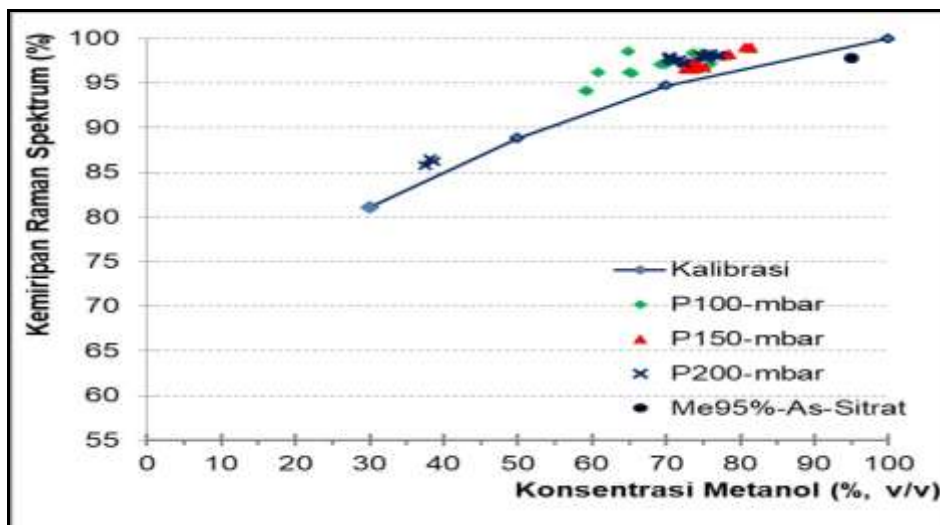
3. HASIL

Pengukuran Raman Spektroskopi Terhadap Metanol Absolut, Metanol Pengekstrak, dan Metanol Hasil Destilasi



Gambar 1. Hasil Raman Spektroskopi Terhadap Metanol Absolut, Metanol Pengekstrak, dan Metanol Hasil Destilasi

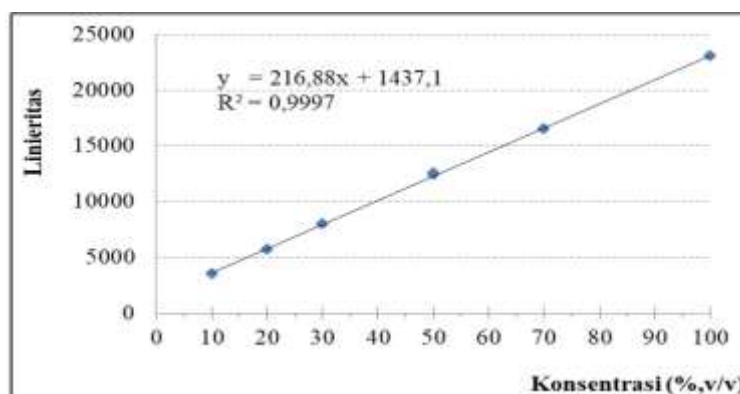
Pengukuran Kemiripan Raman Spektrum



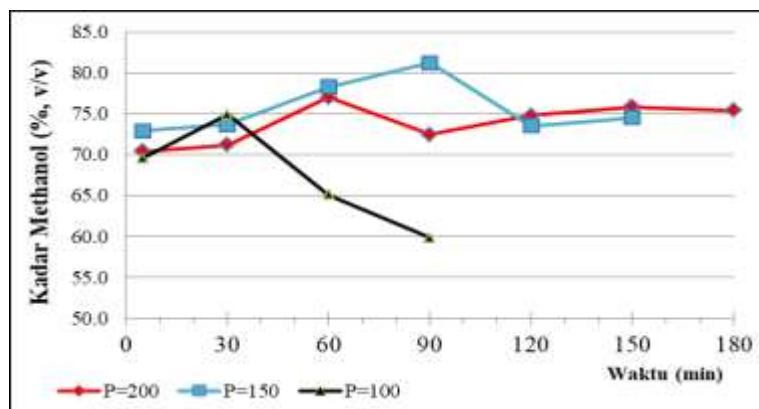
Gambar 2. Kurva Kemiripan Raman Spektrum

Pengukuran Presisi Metanol p.a**Tabel 2.** Hasil Presisi Metanol p.a

Pengukuran	Kadar Metanol (% v/v)					
	10	20	30	50	70	99,9
1	3529	5714	8043	12566	16524	23090
2	3583	5726	7977	12406	16466	23029
3	3463	5745	7952	12546	16513	23112
Rerataan	3525	5728.333	7990.667	12506	16501	23077
KV (%)	1.70	0.27	0.59	0.70	0.19	0.19

Kurva Kalibrasi dan Pengukuran Kadar % Perolehan Kembali**Gambar 3.** Hasil Kurva Kalibrasi Metanol p.a**Tabel 3.** Hasil % Perolehan Kembali dari Metanol p.a

Kadar Sebenarnya	40	60	80	90	96
Pengukuran 1	10440	14410	17580	19746	21110
Pengukuran 2	10400	14390	17710	19915	20993
Pengukuran 3	10490	14480	17550	19844	21168
Rerataan signal Raman	10443	14427	17613	19835	21090
Kadar Perhitungan	41.5	59.9	74.9	84.8	90.6
% Perolehan Kembali	103.8	99.8	93.2	94.3	94.4

Penetapan Kadar Metanol Hasil Penguap Vakum Putar**Gambar 4.** Hasil Penetapan Kadar Metanol Hasil *Rotary Evaporator* Berdasarkan Hubungan Tekanan dan Waktu

4. PEMBAHASAN

Pengukuran Raman Spektroskopi Terhadap Metanol Absolut, Metanol Pengekstrak, dan Metanol Hasil Destilasi

Hasil analisis dengan spektroskopi raman pada *laser power* 300 mW, *exposure time* 3500 ms terhadap metanol absolut, metanol pengekstrak, dan metanol hasil destilasi dihasilkan puncak maksimum pada bilangan gelombang 1029 (1/cm). Bilangan gelombang tersebut digunakan untuk mengukur validasi metode berupa akurasi, presisi, linieritas, LOD dan LOQ, serta penetapan kadar metanol terhadap hasil destilasi. Gambar 1 menjelaskan bahwa adanya penurunan konsentrasi metanol pada metanol hasil destilasi, hal tersebut dapat disebabkan karena penurunan tekanan akan menurunkan titik didih air, sehingga memungkinkan penguapan air yang berlebih dan kemungkinan adanya senyawa volatil lain ikut menguap sehingga menyebabkan penurunan konsentrasi metanol.

Pengukuran Kemiripan Raman Spektrum

Semua metanol hasil destilasi memberikan kemiripan spektrum 86-99% jika dibandingkan dengan metanol absolut (Gambar 2).

Pengukuran Presisi Metanol p.a

Presisi pada penelitian ini dievaluasi dengan menggunakan enam kadar metanol p.a. yaitu 10%; 20%; 30%; 50%; dan 99,9% dengan replikasi sebanyak tiga kali (Tabel 2). Hasil perhitungan nilai KV (%) disajikan pada tabel 1 yang menunjukkan bahwa nilai KV (%) telah memenuhi persyaratan yaitu memiliki $\% KV \leq 2\%$ (Chan *et al.*, 2004).

Kurva Kalibrasi dan Pengukuran Kadar % Perolehan Kembali

Pembuatan kurva kalibrasi digunakan enam konsentrasi metanol p.a. yaitu 10%; 20%; 30%; 50%; 70%; dan 99,9% diperoleh persamaan $y = 216,88x + 1437,1$ dengan nilai $R^2 = 0,9997$ (Gambar 3). Hasil yang didapatkan menunjukkan kurva kalibrasi senyawa yang dituju linieritas yang dapat diterima, dimana dimana nilai $r^2 \geq 0,99$ (UNODC, 2009). Persamaan tersebut kemudian digunakan untuk menghitung nilai

LOD, LOQ dan % perolehan kembali.

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. Dalam hal ini akurasi dihitung sebagai % perolehan kembali. Hasil perhitungan % perolehan kembali disajikan pada tabel 3. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa % perolehan kembali antara 94,4%-103,8%. % perolehan kembali yang masih ditoleransi adalah 80%-110% (Harmita, 2004).

Pengukuran LOD dan LOQ

Berdasarkan persamaan kurva baku maka diperoleh nilai LOD dan LOQ pada metode analisa yang dipergunakan sebesar 1,77% dan 5,89%.

Penetapan Kadar Metanol Hasil Penguap Vakum Putar

Penetapan kadar metanol dan kemurnian metanol hasil destilasi dilakukan menggunakan Raman Handhel 1064 spektrometri. Gambar 4 menjelaskan hubungan antara tekanan vakum dan waktu terhadap kadar metanol hasil destilasi. Grafik tersebut menjelaskan bahwa adanya penurunan kadar metanol pada metanol hasil destilasi dengan adanya pengaruh waktu evaporasi dan tekanan vakum. Kadar metanol hasil destilasi dengan variasi tekanan 100 – 200 mbar pada rentang waktu 5 hingga 180 menit diperoleh kadar metanol 65,1-81,2% (v/v). Destilasi pada tekanan 150-200 mbar memberikan kadar metanol berkisar 70,4-81,2 % (v/v). Hubungan antara tekanan vakum dan waktu yang paling optimal untuk memperoleh kadar metanol hasil destilasi tertinggi adalah pada tekanan 150 mbar dan waktu 90 menit dengan kadar metanol 81,2%. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa metanol hasil destilasi dapat digunakan kembali sebagai pelarut re-ekstraksi.

5. KESIMPULAN

Validasi metode diperoleh hasil presisi 0,19%-1,70%, akurasi ketepatan: 94,4–103,8%, batas deteksi: 1,77 % (v/v), batas kuantifikasi: 5,89% (v/v), dengan persamaan kurva kalibrasi: $y = 216,88x + 1437,1$ dan nilai $R^2 = 0,9997$. Tekanan vakum dan konsentrasi optimum yang diperoleh adalah tekanan vakum pada 150 mbar dan waktu 90

menit dihasilkan kadar metanol hasil destilasi sebesar 81,2%. Semua metanol hasil destilasi memberikan kemiripan spektrum 86-99% jika dibandingkan dengan metanol absolut sehingga metanol hasil destilasi dapat digunakan kembali sebagai pelarut re-ekstraksi.

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada bagian Laboratorium analisis dan Laboratorium Toksikologi Forensik, Lembaga Forensik Sains dan Kriminologi, Universitas Udayana atas bantuan alat, bahan, serta sarana prasarana penunjuang selama penelitian berlangsung.

7. DAFTAR PUSTAKA

Chan, C. C., H. Lam, Y. C. Lee, and X. M. Zhang. 2004. *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*. Canada: John Wiley&Sons, Inc.

Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3):117-135.

Hambali, E., Hendroko., dan Roy. 2007. *Teknologi Bioenergi*. Jakarta: Agro Media Pustaka

Lay, A. 2009. *Prospek Agro-Industri Aren (Arenga Pinata)*. Manado: Balai Penelitian Kelapa dan Palma Lain.

Smith E. and Dent. 2005. *Modern Raman Spectroscopy- A Practical Approach*.

Thompson, E. B. 1985. *Drug Bioscreenng*. USA: Graceway Publishing Company, Inc.

United Nations Office on Drugs and Crime. 2009. *Guidance for the Validation Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens*. New York: U.S. Publication.