

Comparison on Isolation Technique of Vanilin from Vanili Fruit (*Vanilla planifolia* Andrews)

Winarto Haryadi^a, Sri Handayani^b, Retno Arianingrum^b

^aJurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada

Email : wrnt_haryadi@yahoo.com

^bJurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta

ABSTRACT

Isolation of vanilin from vanili fruit by two methods; maseration and soxhlet using ethylacetate, ethanol and chloroform solvents has been investigated. Extraction result was hydrolized using sodium hydroxide followed by acidification by using chloride acid. Filtrate of acidification was extracted by using chloroform and the targeted vanillin was separated by evaporation. Purification was engaged by recrystallization using aquadest-ethanol. Elucidation to the compound structure was performed by FTIR spectrophotometer, H-NMR, C-NMR, HMQC and HMBC. It is noted that vanillin isolation by soxhletation procedure was more effective compared to maseration. Ethylacetate was more effective solvent than chloroform and conversely ethanol is ineffective for the isolation.

Keywords: vanilin isolation, soxhlet isolation, maseration

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi vanilin dari buah vanili dengan dua cara yaitu maserasi dan ekstraksi soxhlet dengan variasi pelarut yang digunakan yaitu etilasetat, etanol dan kloroform. Hasil ekstraksi dihidrolisis dengan natrium hidroksida dan dilanjutkan dengan pengasaman menggunakan asam klorida. Sisa pengasaman diekstrak dengan kloroform dan target vanilin dipisahkan dengan cara evaporasi. Pemurnian dilakukan dengan metode rekristalisasi dengan pelarut etanol-akuades. Elusidasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan spektrometer FTIR, H-NMR, C-NMR, HMQC serta HMBC. Teknik isolasi vanilin dengan menggunakan soxhletasi lebih efektif daripada maserasi. Etilasetat adalah pelarut yang lebih efektif digunakan untuk isolasi vanilin dari pada kloroform, sedangkan etanol tidak efektif digunakan untuk isolasi vanilin. Hasil terbaik isolasi vanilin dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut etilasetat dengan rendemen 2,01%, titik leleh 81°C dan kadar 100%.

Kata-kata Kunci: metode isolasi vanilin, ekstraksi soxhlet, maserasi

Pendahuluan

Vanilin sebagai salah satu senyawa fenolat sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi senyawa antioksidan dan selanjutnya sebagai kandidat antikanker. Hal ini berkaitan dengan strukturnya yang memiliki kemampuan untuk dimodifikasi lebih jauh menjadi turunannya dengan cara kondensasi aldol silang dengan senyawa karbonil lain yang memiliki *Ha*. Penelitian ini penting untuk dilakukan dan diharapkan dapat membantu menemukan kandidat senyawa yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan dan agen kemopreventif dengan memanfaatkan keragaman hayati yang ada di Indonesia.

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) adalah salah satu sumber hayati yang melimpah di daerah tropis khususnya Indonesia. Vanili Indonesia dikenal di pasar internasional dengan nama *Java Vanilla Beans*. Luas areal tanam vanili Indonesia menurut data Direktorat Jendral Perkebunan Departemen Pertanian tahun 2008 ada adalah 25.429 ha (Meynarti dkk, 2010). Pemasukan devisa negara melalui ekspor vanili pada tahun 2000 sebesar US\$31,4 juta yang hampir semuanya dalam bentuk mentah. Oleh karena itu usaha peningkatan produksi

vanili selalu dilakukan oleh para praktisi peneliti perkebunan Mansur, 2009; Virman, 2008).

Vanilin dapat diperoleh dengan cara sintesis, semi sintesis maupun isolasi dari bahan alam. Keragaman hayati yang sangat luas di Indonesia lebih memungkinkan dan menguntungkan untuk mendapatkan vanilin dengan cara isolasi dari bahan alam. Vanilin dapat diperoleh dari buah vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) dengan berbagai cara yaitu metode ekstraksi enzimatik (Indriana, 2006), ekstraksi soklet (Jadhav, dkk., 2009) dan ekstraksi menggunakan oktilamina (Tarabanko, dkk., 2007). Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi vanilin dari vanili untuk digunakan sebagai bahan dasar sintesis dan modifikasi struktur vanilin menjadi senyawa yang lebih bermanfaat.

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Membandingkan efektifitas isolasi vanilin melalui metode soxhlet dan maserasi
2. Membandingkan efektifitas pelarut pada isolasi vanilin.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan semuanya dari E Merck. Buah vanili dibeli dari petani Temanggung. TLC scanner yang digunakan adalah CAMAG di laboratorium Kimia UII. Spektrofotometer FTIR dari Shimadzu di laboratorium Kimia Organik FMIPA UGM. Spektrometer NMR 500 MHz Jeol di laboratorium instrumen LIPI.

Isolasi vanilin dengan teknik ekstraksi soxhlet.

Masukkan sejumlah buah vanili segar yang telah dihancurkan ke dalam oven selama kira-kira 5 jam untuk mengurangi kadar air. Selanjutnya timbang sejumlah tertentu dan bungkus dengan kertas saring, dan masukkan ke dalam ekstraktor soklet. Pasang 1 set alat ekstraktor soklet dan tuangkan etanol ke dalam labunya. Panaskan dan hitung sirkulasinya sampai minimal 25 kali. Setelah selesai, saring etanol hasil ekstraksi dan uapkan dengan evaporator buchii. Ekstrak etanol selanjutnya dihidrolisis dengan menggunakan NaOH 1 N, selanjutnya diasamkan dengan HCl 1:1. Vanilin diisolasi dengan cara ekstraksi sisa hasil pengasaman dengan menggunakan kloroform. Vanilin dipisahkan dari pelarutnya dengan cara evaporasi. Setelah didapatkan endapan, murnikan dengan cara rekristalisasi. Tentukan sifat fisiknya meliputi warna, berat dan titik lelehnya. Ulangi prosedur tersebut dengan mengganti pelarut etanol dengan etilasetat dan kloroform.

Isolasi vanilin dengan teknik maserasi.

Isolasi vanilin dengan metode maserasi diawali dengan menyiapkan sampel buah vanili kering. Sekitar 200 g buah vanili kering yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam jerigen kecil kemudian dituangi etanol sampai semua sampel terendam. Diamkan satu malam kemudian disaring untuk mendapatkan ekstrak etanol 1. Sisa buah vanili kemudian direndam kembali menggunakan etanol, serta didiamkan kembali selama 1 malam. Kemudian dilakukan penyaringan kembali untuk mendapatkan ekstrak etanol 2. Campur ekstrak etanol 1 dan 2 kemudian diuapkan sampai didapat ekstrak etanol kental. Ekstrak etanol kental kemudian dihidrolisis menggunakan NaOH 1 N, selanjutnya diasamkan dengan HCl 1:1. Vanilin dipisahkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut kloroform kemudian dilakukan evaporasi untuk memisahkan vanilin dari pelarutnya. Pemurnian hasil isolasi dilakukan dengan cara rekristalisasi menggunakan pelarut etanol-aquades. Setelah dikeringkan, vanilin hasil isolasi ditentukan

beratnya.

Cara kerja di atas diulangi dengan cara mengganti etanol dengan etilasetat dan kloroform sebagai pelarut saat maserasi.

Karakterisasi hasil isolasi baik ekstraksi soxhlet maupun maserasi meliputi sifat fisik seperti warna, berat dan titik leleh. Hasil yang memiliki kemurnian terbaik dilihat dari data TLC-scanner serta titik leleh yang paling mendekati titik leleh vanilin standar. Elusidasi struktur dilakukan dengan menggunakan FTIR, NMR 1 dimensi baik H-NMR dan C-NMR, serta NMR 2 dimensi yaitu HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*) dan HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Coherence*).

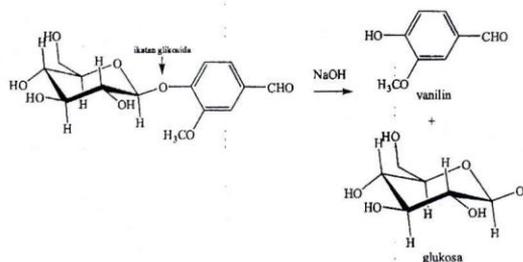
Pembahasan

1. Isolasi vanilin dari buah vanili

Isolasi vanilin dari buah vanili dilakukan dengan dua cara yaitu secara ekstraksi soxhlet dan maserasi. Kedua cara isolasi tersebut menggunakan variasi pelarut yang sama yaitu kloroform, etilasetat dan etanol. Hasil isolasi vanilin dengan cara ekstraksi soxhlet dan maserasi menggunakan tiga macam pelarut disampaikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

a. Isolasi vanilin dari buah vanili dengan ekstraksi soklet.

Secara umum ekstraksi dan isolasi vanilin dari buah vanili dilakukan dalam tiga tahap yaitu ekstraksi menggunakan ekstraktor soxhlet dengan variasi tiga macam pelarut yaitu kloroform, etilasetat dan etanol kemudian dilanjutkan dengan hidrolisis menggunakan basa kuat dan terakhir rekristalisasi untuk memurnikan hasil isolasi. Variasi ketiga macam pelarut tersebut dilakukan untuk mencari pelarut yang paling efektif. Hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida antara molekul vanilin dengan glukosa menggunakan natrium hidroksida sebagai basa kuat seperti ditunjukkan pada Gambar 1. Setelah dilakukan hidrolisis kemudian



Gambar 1. Reaksi hidrolisis vanilinglikosida

diasamkan untuk menetralkan sisa basa. Pengasaman lebih efektif dilakukan dengan menggunakan HCl daripada asam sulfat.

Dari Tabel 1 terlihat bahwa ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut etilasetat menghasilkan rendemen yang paling tinggi, sedangkan rendemen pelarut kloroform lebih kecil dan ekstraksi menggunakan pelarut etanol tidak menghasilkan isolat vanilin karena masih berupa campuran yang sulit dipisahkan. Berdasarkan data penentuan titik leleh vanilin standar, diketahui bahwa titik leleh vanilin adalah 83°C, sehingga dari data titik lebur pada Tabel 1 dapat diperkirakan bahwa isolasi vanilin menggunakan pelarut etilasetat menghasilkan vanilin dengan kemurnian paling tinggi. Dengan demikian metode ekstraksi Soxhlet menggunakan pelarut etil asetat merupakan metode isolasi paling efisien.

b. Isolasi vanilin dari buah vanili dengan cara maserasi

Isolasi vanilin dengan cara maserasi dilakukan dengan cara yang sama dengan sokletasi. Variasi pelarut yang digunakan juga sama yaitu kloroform, etilasetat dan etanol kemudian dilanjutkan dengan hidrolisis

menggunakan basa kuat dan pemurnian juga dilakukan dengan rekristalisasi. Hasil maserasi dengan tiga macam pelarut ditampilkan pada Tabel 2.

Berdasarkan data titik lebur pada Tabel 2 dapat diperkirakan bahwa isolasi vanilin menggunakan pelarut etilasetat menghasilkan vanilin dengan kemurnian paling tinggi. Maserasi vanilin dengan pelarut kloroform, meskipun menghasilkan isolat dengan rendemen tinggi, namun berdasarkan titik leburnya kemurnian vanilin yang dihasilkan masih rendah. Maserasi vanilin dengan pelarut etanol menghasilkan campuran berbentuk pasta yang sulit dikeringkan dan direkristalisasi. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pelarut etanol mampu melarutkan sebagian besar senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya. Dengan demikian maserasi vanilin dengan pelarut etanol tidak efektif karena banyaknya senyawa-senyawa lain, sehingga pemurnian vanilin lebih sulit dilakukan.

Berdasarkan data ekstraksi soxhlet dan maserasi dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut etilasetat merupakan metode isolasi paling efisien karena rendemen yang dihasilkan paling besar dan secara kualitatif kemurniannya paling tinggi.

Tabel 1. Hasil isolasi vanilin dari buah vanili dengan metode ekstraksi soxhlet

No	Pelarut	Rendemen (%)		Ciri fisik	
		Ulangan	Rata -rata	Titik lebur (°C)	Warna /keterangan
1	Kloroform	1. 0,93	0,69	71	coklat tua
		2. 0,55			
		3. 0,59			
2	Etilasetat	1. 1,9	2,01	81	coklat muda
		2. 2,5			
		3. 1,63			
3	Etanol	1. 1,9	1,9	--	coklat hitam (berbentuk pasta, tidak bisa dikristalkan)

Tabel 2. Hasil isolasi vanilin dari buah vanili dengan metode maserasi

No	Pelarut	Rendemen (%)		Ciri fisik	
		Ulangan	Rata -rata	Titik lebur (°C)	Warna /keterangan
1	Kloroform	1. 1,5	2,2	76	coklat tua
		2. 1,9			
		3. 2,66			
2	Etilasetat	1. 1,9	1,75	82	coklat muda
		2. 0,8			
		3. 2,55			
3	Etanol	-	-	--	coklat hitam (berbentuk pasta, tidak bisa dikristalkan)

Tabel 3. Data spektra NMR beserta data HMBC dan HMQC senyawa hasil isolasi dari buah vanili

No. C	δ H (Σ , m, j) (ppm)	δ C (ppm)	HMBC (ppm)
1'	-	130	-
2'	7,417 (1, s)	108,8	127,8 147 151
3'	-	147	-
3'-OMe	3,9 (3, s)	56,3	151 147
4'	-	151	-
4'-OH	6,25 (1, s)	-	114,5 147 151
5'	7,04 (1, d, 8,5)	114,5	130 127 147
6'	7,43 (1, d, 8)	127,8	108,8 151 191
1	9,83 (1,s)	191,15	108,8 130 147 151

Hasil isolasi vanilin dari vanili ini termasuk bagus karena kadar vanilin dalam vanili sekitar 1,5-3% (Indriana, 2006). Ekstraksi menggunakan etanol tidak efektif karena kepolarannya tidak sesuai dengan vanilinglikosida yang terdapat dalam buah vanili. Etanol terlalu polar untuk mengekstrak vanilinglikosida yang kurang polar.

Berdasarkan data penentuan titik leleh terhadap senyawa hasil isolasi dan perbandingannya dengan titik leleh vanilin standar dapat diperkirakan bahwa isolasi vanilin menggunakan pelarut etilasetat menghasilkan vanilin dengan kemurnian tinggi. Selain itu kadar vanilin dari data TLC-scanner menunjukkan kemurnian vanilin hasil isolasi sebesar 98,9-100%.

2. Elusidasi struktur senyawa hasil isolasi

Senyawa hasil isolasi dengan cara ekstraksi soxhlet maupun maserasi ditentukan strukturnya secara spektrometri menggunakan spektrofotometer FTIR dan spektrometer NMR 1 dan 2 dimensi. Data FTIR menunjukkan puncak serapan dengan bilangan gelombang sekitar 2924 dan 2854 cm^{-1} merupakan bilangan gelombang dari vibrasi ulur C-H aldehida, sedangkan serapan sekitar 1666 cm^{-1} menunjukkan vibrasi ulur dari C karbonil. Bilangan gelombang sekitar 3186 cm^{-1} merupakan serapan khas untuk vibrasi ulur O-H sedangkan bilangan gelombang sekitar 1597 cm^{-1} dan

1157 cm^{-1} menunjukkan vibrasi dari gugus aromatis dan gugus eter. Dengan demikian berdasarkan spektra FTIR diperoleh informasi bahwa senyawa hasil isolasi memiliki gugus fungsi aldehida, cincin aromatis, hidroksi dan eter.

Untuk mempertegas struktur senyawa hasil isolasi, maka dilakukan elusidasi menggunakan spektrometer NMR 1 dan 2 dimensi. Data NMR ditampilkan pada Tabel 3. Dari data pada Tabel 3 dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi dari buah vanili adalah 4-hidroksi-2-metoksibenzaldehida atau vanilin yang memiliki struktur seperti pada gambar 2.

Kesimpulan

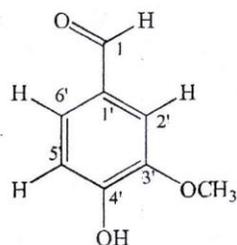
Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah teknik isolasi vanilin dengan menggunakan sokletasi lebih efektif daripada maserasi. Etilasetat adalah pelarut yang lebih efektif digunakan untuk isolasi vanilin daripada kloroform, sedangkan etanol tidak efektif digunakan untuk isolasi vanilin. Hasil terbaik isolasi vanilin dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut etilasetat dengan rendemen 2,01%, titik leleh 81°C dan kadar 100%.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini dengan proyek STRANAS tahun 2010

Pustaka

Dnyaneswar, J., Rekha B.N., Gogate, P.R. and Rathod, V.K., 2009, Extraction of Vanilin from Vanilla Pods : A Comparison Study of Conventional Soxhlet and Ultrasound Assisted Extraction, *Journal of Food Engineering*, Vol. 93, Issue 4, 421-426.



Gambar 2. 4-hidroksi-2-metoksibenzaldehida (Vanilin)

- Indriana, S.M., 2006, Ekstraksi Vanili Secara Enzimatis dari Buah Vanili (*Vanilla Planifolia* Andrews) Segar, Sekolah Pascasarjana, Bogor.
- Jadhav, S.J.; Nimbalkar, S.S.; Kulkarni, A.D.; Madhavi, D.L., 1996, Lipid Oxidation in Biological and Food System. 5-63.
- Mansur U., 2009, Teknik Penggunaan Naungan Paranet untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Produksi Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews), *Buletin Teknik Pertanian*, Vol. 14, No. 2, 76-79.
- Meynarti S.D.I., Laba U. dan Endang H., 2010, Balittri.litbang.deptan.go.id
- Tarabanko, V.E. Yu.V. Chelbina, V.A. Sokolenko, N.V. Tarabanko, 2007, A Study of Vanilin Extraction by Octylamine, *Solvent Extraxtion and Ion Exchange*, Vol. 25, 99-107
- Virman C., 2008, Teknik Inokulasi Mikoriza Arbuskula pada Bibit Vanili, *Buletin Teknik Pertanian*, Vol. 13 No. 2.