



UNIVERSITAS  
ISLAM  
INDONESIA



# **FITOKIMIA**

**Tinjauan Metabolit Sekunder dan  
Skrining Fitokimia**

**TATANG SHABUR JULIANTO**



Buku Ajar

**Fitokimia**  
**Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia**

Penulis:

Tatang Shabur Julianto

Penerbit:



**UNIVERSITAS  
ISLAM  
INDONESIA**

2019

## KATALOG DALAM TERBITAN (KDT)

Julianto, Tatang Shabur

Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia/ Tatang Shabur Julianto. --Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia, 2019.

x + 106 hlm. ; 16 x 23 cm

ISBN 978-602-450-332-1

e-ISBN 978-602-450-333-8

©2019 Penulis

Hak cipta dilindungi Undang-Undang.

Dilarang memperbanyak atau memindahkan seluruh atau sebagian isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektronik ataupun mekanik termasuk memfotokopi, tanpa izin dari Penulis.

## FITOKIMIA TINJAUAN METABOLIT SEKUNDER DAN SKRINING FITOKIMIA

Penulis

Tatang Shabur Julianto

Cetakan I

Januari 2019 M / Jumadil Ula 1440 H

Penerbit:



**UNIVERSITAS  
ISLAM  
INDONESIA**

Kampus Terpadu UII

Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta 55584

Tel. (0274) 898 444 Ext. 2301; Fax. (0274) 898 444 psw 2091

<http://library.uii.ac.id>; e-mail: [perpustakaan@uii.ac.id](mailto:perpustakaan@uii.ac.id)

# Kata Pengantar

*Assalamu alaikum wr. wb.*

*Alhamdulillahirobbil'alamin.* Segala puji syukur ke hadirat Allah SWT yang dengan limpahan rahmat dan karunia-Nya, akhirnya buku ini dapat tersusun.

Fitokimia merupakan kajian ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi senyawaan kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan. Keberadaan metabolit sekunder ini sangat penting bagi tumbuhan untuk dapat mempertahankan dirinya dari makhluk hidup lainnya, mengundang kehadiran serangga untuk membantu penyerbukan dan lain-lain. Metabolit sekunder juga memiliki manfaat bagi makhluk hidup lainnya.

Buku ini diharapkan dapat membantu proses pembelajaran matakuliah fitokimia atau pun matakuliah lainnya yang terkait dengan senyawa kimia tumbuhan.

Saran dan kritik sangat kami harapkan kepada seluruh pembaca untuk kesempurnaan buku ini di masa mendatang.

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Badan Pengembangan Akademik yang telah memberikan dukungan insentif terhadap penulisan dan penerbitan buku ini melalui Program UJI Menulis 2018.

*Wa'alaikum salam Wr. Wb.*

Yogyakarta, 26 Oktober 2018  
Penulis

Tatang Shabur Julianto

# Daftar Isi

<b>Kata Pengantar</b>	<b>v</b>
<b>Daftar Isi</b>	<b>vi</b>
<b>Daftar Gambar</b>	<b>viii</b>
<b>1. Pengantar Fitokimia</b>	<b>1</b>
<b>2. Metabolit Primer dan Metabolit Sekunder</b>	<b>7</b>
2.1    Pengertian metabolit primer dan metabolit sekunder	7
2.2    Jalur Biosintesis	12
<b>3. Metode Ekstraksi, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan</b>	<b>17</b>
3.1    Perlakuan sampel tumbuhan	17
3.2    Metode Ekstraksi Tumbuhan	20
3.3    Metode Pemisahan dan Pemurnian Metabolit Sekunder Tumbuhan	30
3.4    Metode Identifikasi Metabolit Sekunder Tumbuhan	32
<b>4. Senyawa Fenolik</b>	<b>35</b>
4.1    Pengertian Senyawa Fenolik	35
4.2    Metode Ekstraksi Senyawa Fenolik	42
4.3    Metode Identifikasi Senyawa Fenolik	43
<b>5. Alkaloid</b>	<b>44</b>
5.1    Pengertian Alkaloid	44
5.2    Metode Ekstraksi Alkaloid	49
5.3    Metode Identifikasi Alkaloid	51
<b>6. Terpenoid</b>	<b>52</b>
6.1    Pengertian Terpenoid	52
6.2    Metode Ekstraksi Terpenoid	56
6.3    Metode Identifikasi Terpenoid	57



<b>7. Poliketida</b>	<b>60</b>
7.1    Pengertian Poliketida	60
7.2    Metode Ekstraksi Poliketida	67
<b>Glikosida</b>	<b>69</b>
7.3    Pengertian Glikosida	69
7.4    Metode Ekstraksi Glikosida	82
7.5    Metode Identifikasi Glikosida	82
<b>8. Suplemen: Pembuatan Reagen untuk Skrining Fitokimia</b>	<b>84</b>
<b>Referensi</b>	<b>97</b>
<b>Glosari</b>	<b>99</b>
<b>Index</b>	<b>101</b>

## Daftar Gambar

Gambar 1.1 Beberapa senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan	3
Gambar 2.1 Beberapa fungsi metabolit sekunder dalam tumbuhan	9
Gambar 2.2 Jenis metabolisme tumbuhan	11
Gambar 2.3 Jalur biosintesis metabolisme sekunder dalam tumbuhan	13
Gambar 2.4 Metabolit sekunder dari beberapa jalur biosintesis	15
Gambar 3.1 Proses maserasi	21
Gambar 3.2 Perkolator	21
Gambar 3.3 Alat ekstraksi soxhlet	22
Gambar 3.4 Supercritical Fluid Extraction (SFE)	23
Gambar 3.5 Reaktor Microwave-assisted extraction (MAE)	24
Gambar 3.6 Alat Ultrasound-Assisted Extraction	24
Gambar 3.7 Alat Acelarated-Assisted Extraction	25
Gambar 3.8 Proses enflourasi	26
Gambar 3.9 Destilasi rebus	28
Gambar 3.10 Destilasi uap-air	29
Gambar 3.11 Destilasi uap	30
Gambar 4.1 Beberapa jenis senyawa antosianin dalam buah-buahan	36
Gambar 4.2 Beberapa senyawa turunan asam hidroksisinamat suatu fenil propanoid	38
Gambar 5.1 Senyawa-senyawa alkaloid yang terkandung dalam getah Opium	45
Gambar 6.1 Metil jasmonat, suatu monoterpenoid dalam kelopak bunga melati	52
Gambar 7.1 Biosintesis poliketida	61
Gambar 7.2 Senyawa mycothiazole, suatu poliketida yang terdapat dalam sponge	62
Gambar 7.3 Beberapa senyawa poliketida	63
Gambar 7.4 Pengelompokan poliketida berdasarkan strukturnya	64



Gambar 7.5 Klasifikasi genom dan produk dalam biosintesis poliketida	65
Gambar 7.6 Proses kondensasi dalam biosintesis poliketida	66
Gambar 7.7 Reaksi Claisen dalam biosintesis poliketida	67





# 1. Pengantar Fitokimia

## Capaian Pembelajaran

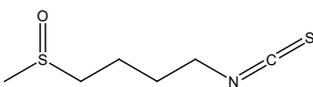
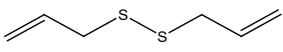
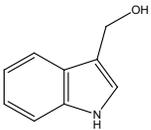
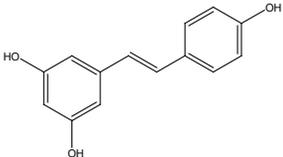
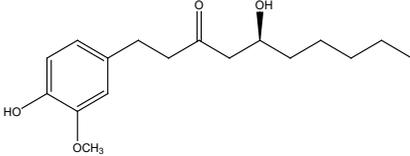
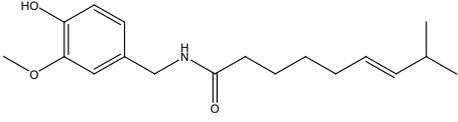
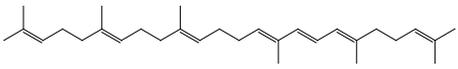
Setelah mempelajari bab 1 ini mahasiswa dapat :

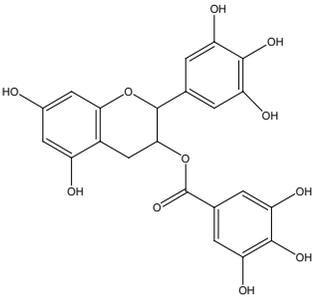
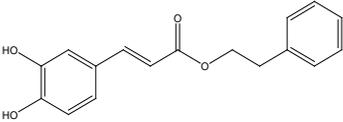
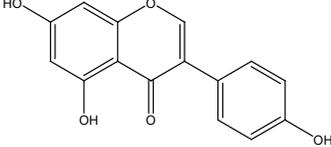
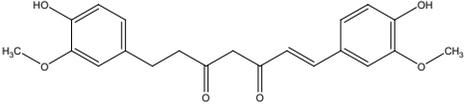
- Memahami dan menjelaskan pengertian fitokimia
- Memahami dan menjelaskan penerapan senyawa kimia dalam metabolisme tumbuhan

Fitokimia merupakan kajian ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi senyawa kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan. Keberadaan metabolit sekunder ini sangat penting bagi tumbuhan untuk dapat mempertahankan dirinya dari makhluk hidup lainnya, mengundang kehadiran serangga untuk membantu penyerbukan dan lain-lain. Metabolit sekunder juga memiliki manfaat bagi makhluk hidup lainnya.

Hewan termasuk juga manusia dan kebanyakan mikroorganisme bergantung secara langsung maupun tidak langsung terhadap tumbuhan sebagai sumber makanan. Itulah mengapa tumbuhan melalui evolusi membangun strategi sistem pertahanannya dalam melawan gangguan hewan herbivora dan mikroorganisme patogen. Tumbuhan juga harus bersaing dengan tumbuhan lain seringkali dengan tumbuhan dengan spesies yang sama untuk memperoleh kebutuhan sinar matahari, air dan zat makanan nutrisi. Hal yang sama dilakukan oleh hewan yang membangun strategi pertahanan terhadap mikroba dan predator, misalnya dengan sistem imun kompleks untuk melindungi dirinya dari mikroba, senjata, kematian, sistem peringatan, pembentukan racun sebagai pertahanan kimiawi. Namun demikian, tumbuhan tidak dapat bergerak ketika ingin menghindari dari bahaya sehingga mereka perlu membangun bentuk mekanisme pertahanan lainnya, membangun kemampuan pertumbuhan kembali ketika terjadi kerusakan bagian tumbuhan yang termakan oleh hewan atau patogen (daun), perlindungan mekanis (yaitu dengan duri, paku, rambut penyengat, dan lain-lain); kulit kayu yang tebal pada akar dan batang, atau dengan adanya lapisan-lapisan kutikula hidrofobik; getah atau resin yang menghalangi gigitan serangga; membangun dinding sel yang tidak dapat dicerna; dan

menghasilkan metabolit tumbuhan sekunder. Mekanisme yang disebutkan terakhir mungkin merupakan strategi paling penting untuk pertahanan tumbuhan. Contoh mekanisme yang sama ditemukan pada banyak serangga dan invertebrata lainnya, terutama spesies laut. Beberapa vertebrata juga menghasilkan dan menyimpan metabolit protektif yang mirip dalam struktur untuk metabolisme tumbuhan.

Sumber	Struktur	Nama senyawa
Brokoli		Sulforapen
Bawang putih		Dialil sulfida
Kubis		Sindol-3karbinol
Anggur		Resveratrol
Jahe		Gingerol
Cabe		Capsaicin
Tomat		Likopen

Daun teh		Epigallocatechin-3galat
Madu		Asam kafeicfenetil eter
Kedelai		Genistein
Kunyit		curcumin

Gambar 1.1 Beberapa senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan

## Tindakan Hewan, Manusia Dan Tumbuhan Menghadapi Gangguan

Jenis Gangguan	Hewan dan manusia	Tumbuhan
		
Serangan dari hewan dan serangga	Menyerang baik/melarikan diri/ mengeluarkan repellent (bau yang tidak enak)	Menghasilkan senyawa racun, senyawa yang memiliki rasa pahit, inhibitor enzim, menghasilkan protein
Infeksi oleh mikroorganisme	Memproduksi sistem imun/ antibiotic	Menghasilkan senyawa metabolit antimikroba
Cahaya matahari yang terik	Berteduh, menggunakan sunscreen, mengenakan pakaian	Menghasilkan senyawa anti sinar ultraviolet

Tumbuhan menghasilkan banyak senyawa kimia untuk keperluan pertahanan dan komunikasi, tetapi tumbuhan juga dapat menimbulkan bentuk perang kimia ofensif mereka sendiri yang menargetkan proliferasi sel patogen. Bahan kimia ini mungkin memiliki aktivitas umum atau spesifik terhadap situs target utama pada bakteri, jamur, virus, atau penyakit neoplastik.

## Latihan Soal

1. Jelaskan definisi fitokimia!
2. Seberapa pentingnya fitokimia dipelajari untuk kehidupan sehari?
3. Jelaskan perbedaan cara hewan dan tumbuhan dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya!





## 2. Metabolit Primer dan Metabolit Sekunder

### Capaian Pembelajaran

Setelah mempelajari bab 2 ini mahasiswa dapat :

- Memahami dan menjelaskan perbedaan antara metabolit primer dan sekunder
- Memahami dan menjelaskan tiga jalur biosintesis dalam tumbuhan serta contohnya

### 2.1 Pengertian metabolit primer dan metabolit sekunder

Semua makhluk hidup mengubah dan menginterkoneksi sejumlah besar senyawa organik untuk melangsungkan kehidupan, tumbuh dan bereproduksi. Makhluk hidup memiliki kemampuan menyediakan energi dalam bentuk ATP dan pasokan gugus pembangun untuk merancang jaringan tubuhnya.

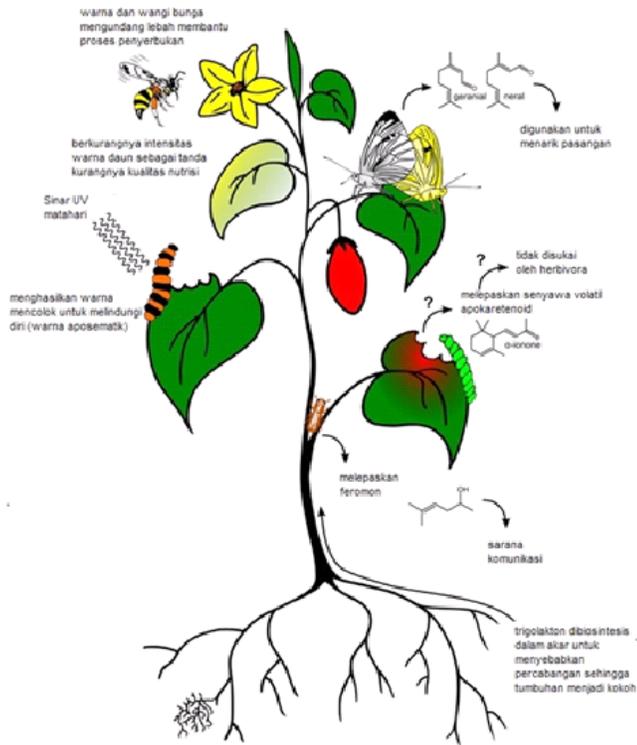
Sebuah hubungan kolektif yang terintegrasi dari reaksi kimia yang dimediasi secara enzimatik dan ditata secara rapi dalam rangka mencapai tujuan tersebut di atas disebut sebagai **metabolisme antara**, sedangkan jalur yang terlibat diistilahkan sebagai **jalur metabolisme**. Beberapa biomolekul yang sangat penting diantaranya adalah karbohidrat, protein, lemak, dan asam nukleat. Karbohidrat tersusun atas unit gula, protein dibuat dari asam amino, asam nukleat tersusun berdasarkan nukleotida dan lemak terbentuk oleh 3 rantai asam lemak yang berikatan dengan gliserol.

Makhluk hidup secara umum bervariasi jika ditinjau dari kapasitasnya dalam melakukan sintesis dan proses pengubahan senyawa kimia. Misalnya, tumbuhan sangat efisien dalam mensintesis senyawa organik melalui fotosintesis dari bahan anorganik yang ditemukan di lingkungan, sementara organisme lain seperti hewan dan mikroorganisme bergantung pada memperoleh bahan mentah mereka dalam makanan mereka, misalnya dengan mengkonsumsi tumbuhan. Dengan demikian, beberapa jalur metabolik berkaitan dengan senyawa dasar yang diperoleh dari penguraian makanan, sementara yang lainnya diminta untuk mensintesis molekul khusus

dari senyawa dasar yang diperoleh. Meskipun karakteristik organisme hidup yang sangat bervariasi, jalur untuk memodifikasi dan mensintesis karbohidrat, protein, lemak, dan asam nukleat pada dasarnya sama pada semua organisme. Proses-proses ini menunjukkan kesatuan mendasar dari semua materi hidup, dan secara kolektif digambarkan sebagai metabolisme utama. Senyawa yang terlibat dalam jalur yang disebut **metabolit primer**. Karenanya, degradasi karbohidrat dan gula umumnya terjadi melalui jalur yang ditandai dengan baik yang dikenal sebagai glikolisis dan siklus Krebs /sitrat/siklus asam trikarboksilat, yang melepaskan energi dari senyawa organik melalui reaksi oksidasi. Oksidasi asam lemak dari lemak dengan urutan yang disebut  $\beta$ -oksidasi juga menghasilkan energi. Organisme aerobik mampu mengoptimalkan proses-proses ini dengan menambahkan pada proses selanjutnya yaitu fosforilasi oksidatif. Proses ini meningkatkan efisiensi oksidasi dengan menggabungkan proses yang lebih umum berlaku untuk oksidasi berbagai substrat daripada harus menyediakan proses spesifik untuk masing-masing substrat.

Metabolisme merupakan seluruh perubahan kimia yang terjadi dalam sel hidup yang meliputi pembentukan dan penguraian senyawa kimia. Metabolisme primer dalam suatu tumbuhan meliputi seluruh jalur metabolisme yang sangat penting kemampuan tumbuhan untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya.

Metabolit primer merupakan senyawa yang secara langsung terlibat dalam pertumbuhan suatu tumbuhan sedangkan metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan dalam jalur metabolisme lain yang walaupun dibutuhkan tapi dianggap tidak penting perannya dalam pertumbuhan suatu tumbuhan.



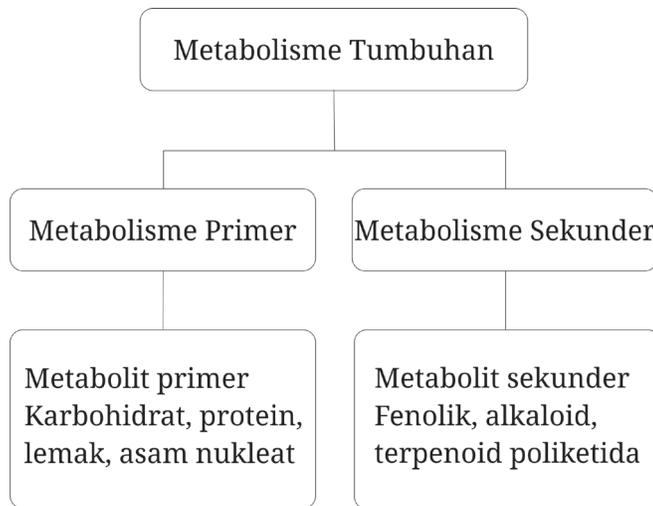
Gambar 2.1 Beberapa fungsi metabolit sekunder dalam tumbuhan

Bagaimanapun itu, metabolit sekunder berperan bagi tumbuhan dalam jangka waktu yang panjang, seringkali sebagai tujuan pertahanan, serta memberikan karakteristik yang khas dalam bentuk senyawa warna. Metabolit sekunder juga digunakan sebagai penanda dan pengatur jalur metabolisme primer. Hormon tumbuhan yang merupakan metabolit sekunder seringkali digunakan untuk mengatur aktivitas metabolisme sel dan pertumbuhan suatu tumbuhan. Metabolit sekunder membantu tumbuhan mengelola sebuah sistem keseimbangan yang rumit dengan lingkungan, beradaptasi mengikuti kebutuhan lingkungan. Warna yang diberikan oleh metabolit sekunder dalam tumbuhan merupakan contoh yang bagus untuk menjelaskan bagaimana sistem keseimbangan diterapkan. Melalui warna, tumbuhan dapat menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan dan juga dapat berguna untuk bertahan dari serangan hewan.

Metabolisme sekunder menghasilkan sejumlah besar senyawa-senyawa khusus (kurang lebih 200.000 senyawa) yang secara fungsi tidak memiliki peranan dalam membantu pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan namun diperlukan oleh tumbuhan untuk bertahan dari keadaan lingkungannya. Metabolisme sekunder terhubung dengan metabolisme primer dalam hal senyawa pembangun dan enzim dalam biosintesis. Metabolisme primer membentuk seluruh proses fisiologis yang memungkinkan tumbuhan mengalami pertumbuhan melalui menerjemahkan kode genetik menghasilkan protein, karbohidrat dan asam amino.

Senyawa khusus dari metabolisme sekunder sangat penting untuk berkomunikasi dengan organisme lain secara mutualistik (misalnya penarik organisme menguntungkan seperti penyerbuk) atau interaksi antagonis (misalnya pencegah terhadap herbivora dan mikroba patogen). Lebih jauh lagi metabolit sekunder membantu dalam mengatasi stres abiotik seperti peningkatan radiasi UV walaupun mekanisme fungsinya masih belum sepenuhnya dipahami.

Bagaimanapun, keseimbangan yang baik antara produk metabolisme primer dan sekunder adalah yang terbaik untuk pertumbuhan dan perkembangan optimal tumbuhan serta untuk mengatasi secara efektif kondisi lingkungan yang sering berubah. Senyawa khusus yang terkenal diantaranya alkaloid, polifenol termasuk flavonoid, dan terpenoid. Manusia menggunakan cukup banyak senyawa ini, atau tumbuhan dari mana mereka berasal, untuk tujuan pengobatan dan nutrisi.



Gambar 2.2 Jenis metabolisme tumbuhan

### Beberapa fungsi penting metabolit sekunder:

- Hormon
- Sebagai agen pewarna untuk menarik atau memberi peringatan pada spesies lainnya
- Fitoaleksan (sebagai bahan racun) yang memberikan pertahanan melawan predator.
- Merangsang sekresi senyawa-senyawa lainnya seperti alkaloid, terpenoid, senyawa fenolik, glikosida, gula dan asam amino.

### Hubungan antara metabolisme sekunder dan metabolisme primer:

- Proses dan produk metabolisme primer sama pada hampir semua organisme sedangkan metabolisme sekunder lebih spesifik
- Dalam tumbuhan, metabolisme primer dibuat melalui fotosintesis, respirasi dan lain-lain menggunakan  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , dan  $\text{NH}_3$  sebagai bahan baku dan membentuk produk seperti glukosa, asam amino, asam nukleat. Sedangkan di dalam metabolisme sekunder, tahap biosintesis, substrat dan produknya khas untuk tiap famili dan spesies. Spesies-spesies yang dekat secara taksonomi memiliki kesamaan jenis metabolit sedangkan spesies yang jauh secara taksonomi memiliki metabolit sekunder yang sangat berbeda.

## 2.2 Jalur Biosintesis

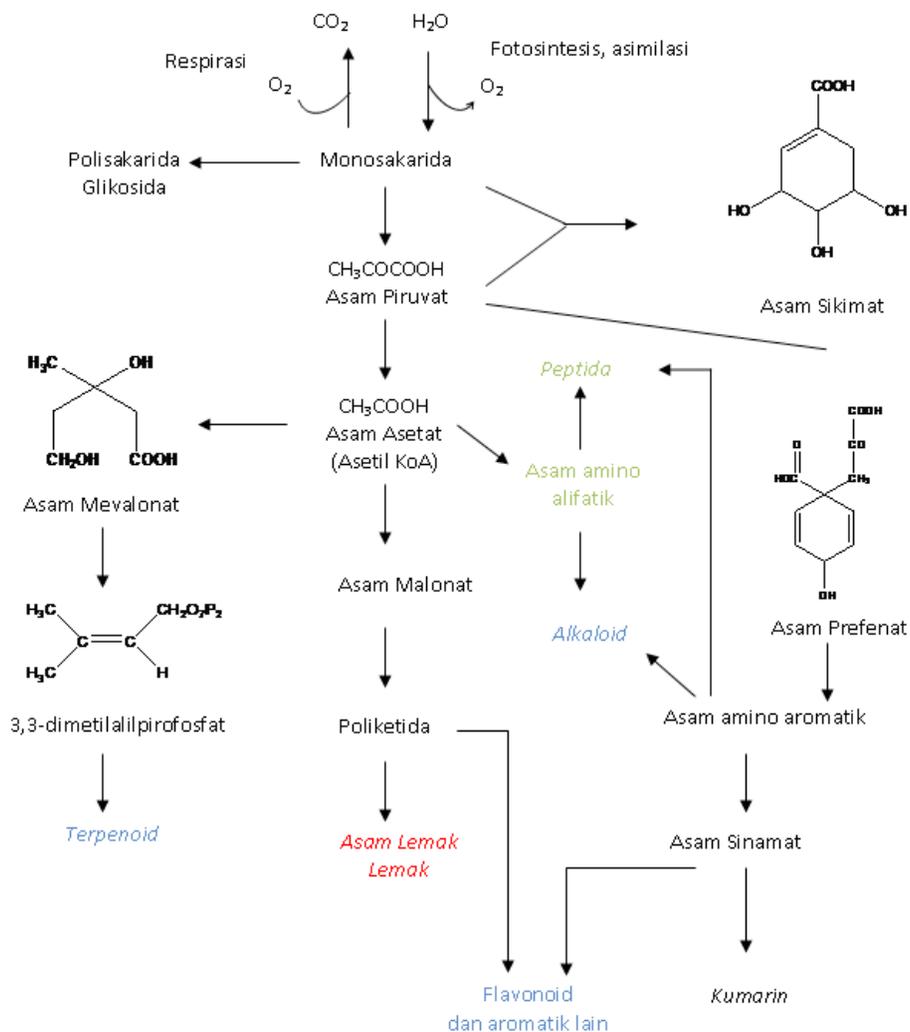
Penentuan jalur biosintetik memungkinkan kita untuk memahami hubungan dan aliran dinamis dari senyawa yang ada dalam sel hidup.

Pemahaman tentang urutan biosintesis dapat membantu kita mengidentifikasi enzim dan gen, memahami hubungan antara organisme yang berbeda (seperti simbiosis, interaksi tumbuhan-serangga, dan lain-lain). Pemahaman tentang biosintesis adalah bagian dari pemahaman lengkap tentang biologi tumbuhan, ekologi dan keanekaragaman hayati.

Jalur biosintesis, atau jalur biosintesis adalah gambaran langkah-langkah reaksi kimia yang terjadi ketika organisme hidup menciptakan molekul kompleks baru dari prekursor yang lebih sederhana dan lebih kecil.

Kata "biosintesis" berasal dari dua kata dasar yaitu "Bio" yang menunjukkan bahwa reaksi berlangsung dalam organisme hidup yang berbeda dengan reaksi di dalam laboratorium; "sintesis" yang menunjukkan bahwa bahan awal yang sederhana direaksikan untuk membentuk produk yang lebih besar.

Jalur biosintesis adalah ringkasan dari reaksi kimia ini, dipecah oleh setiap langkah. Untuk mendeskripsikan suatu jalur, informasi ekstra relevan sering dimasukkan, seperti enzim, koenzim, dan kofaktor yang digunakan dalam setiap reaksi.



Gambar 2.3 Jalur biosintesis metabolisme sekunder dalam tumbuhan

Berdasarkan senyawa pembangunnya (*building block*) maka jalur biosintesis metabolit sekunder dalam tumbuhan dapat dibagi menjadi 3 jalur yaitu:

1. Jalur asam asetat (*Acetate Pathway*)
2. Jalur asam sikimat (*shikimic acid pathway*)
3. Jalur asam mevalonat dan deoksisilulosa (*mevalonate acid and deoxyxylulose pathway*)

## **Jalur Asam Asetat**

Asetil KoA dibentuk oleh reaksi dekarboksilasi oksidatif dari jalur glikolitik produk asam piruvat. Asetil Ko-A juga dihasilkan oleh proses  $\beta$ -oksidasi asam lemak, secara efektif membalikkan proses dimana asam lemak itu sendiri disintesis dari asetil-KoA.

Metabolit sekunder penting yang terbentuk dari jalur asetat meliputi senyawa fenolik, prostaglandin, dan antibiotik makrolida, serta berbagai asam lemak dan turunan pada antarmuka metabolisme primer / sekunder.

## **Jalur Asam Sikimat**

Asam shikimat diproduksi dari kombinasi fosfoenolpiruvat, jalur glikolitik antara, dan erythrose 4-fosfat dari jalur pentosa fosfat. Reaksi siklus pentosa fosfat dapat digunakan untuk degradasi glukosa, tetapi mereka juga fitur dalam sintesis gula oleh fotosintesis.

Jalur sikimat mengarah ke berbagai senyawa fenolik, turunan asam sinamat, lignan, dan alkaloid

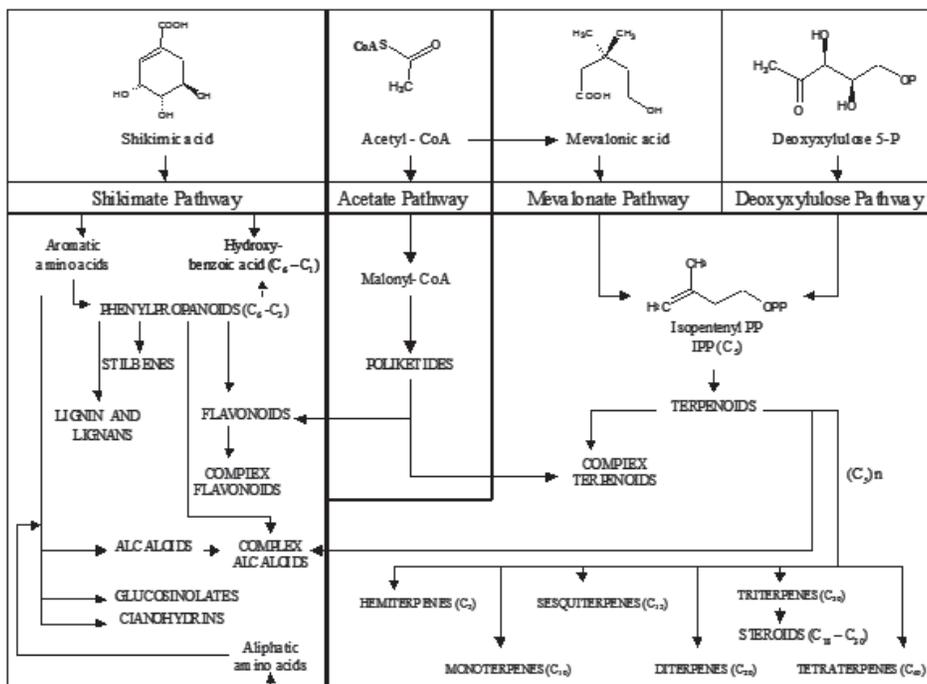
## **Jalur Asam mevalonat dan deoksisilulosa**

Asam mevalonik sendiri terbentuk dari tiga molekul asetil Ko-A, tetapi saluran jalur mevalonatasetat menjadi serangkaian senyawa yang berbeda daripada jalur asetat.

Deoksisilulosa pospat muncul dari kombinasi dua intermediet jalur glikolitik, yaitu asam piruvat dan gliseraldehida-3-fosfat.

Jalur fosfat mevalonat dan deoksisilulosa bersama-sama bertanggung jawab untuk biosintesis dari arah besar metabolit terpenoid dan steroid.





Gambar 2.4 Metabolit sekunder dari beberapa jalur biosintesis

### Latihan Soal

1. Jelaskan perbedaan antara metabolit primer dengan metabolit sekunder?
2. Berikan contoh senyawa metabolit sekunder dari jalur biosintesis asam asetat dan asam sikimat?
3. Jelaskan contoh-contoh fungsi senyawa metabolit sekunder bagi tumbuhan dan manusia?





### 3. Metode Ekstraksi, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan

#### Capaian Pembelajaran

Setelah mempelajari bab 3 ini mahasiswa dapat :

- Memahami dan menjelaskan perbedaan metode ekstraksi senyawa metabolit sekunder
- Memahami dan menjelaskan beberapa metode identifikasi secara kualitatif dan kuantitatif

Selain digunakan untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya, senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan memiliki banyak manfaat bagi manusia diantaranya sebagai obat, pestisida alamiah, pewarna makanan, aroma, kosmetika, dan pewangi. Biosintesis senyawa metabolit sekunder juga dipelajari untuk memperoleh informasi kimiawi terkait dengan proses pertumbuhan dan peningkatan kualitas suatu tumbuhan dalam bidang pertanian, perkebunan dan kehutanan.

Proses ekstraksi dan isolasi diperlukan untuk memisahkan dan mengambil senyawaan metabolit sekunder tersebut sehingga dapat diperoleh manfaatnya. Beberapa tahapan yang dapat dilakukan untuk memperoleh senyawa kimia metabolit sekunder tersebut meliputi metode pengumpulan sampel tumbuhan, pencucian sampel tumbuhan, pengeringan, dan metode ekstraksi dan isolasi tumbuhan.

#### 3.1 Perlakukan sampel tumbuhan

##### 3.1.1 Pengumpulan sampel tumbuhan

Sampel tumbuhan dapat diperoleh baik dari alam liar maupun dari herbarium. Ketika tumbuhan dikumpulkan dari alam liar, ada risiko bahwa sampel tumbuhan telah diidentifikasi secara tidak benar. Keuntungan utama dari tumbuhan yang diperoleh dari hutan liar adalah mereka tidak akan mengandung pestisida. Setelah tumbuhan dikumpulkan dari alam liar atau dari herbarium, sampel tumbuhan harus dibersihkan untuk mencegah atau meminimalisir terjadinya kerusakan senyawa kimia yang ada pada tumbuhan.

### **3.1.2 Pencucian sampel tumbuhan**

Setelah tahapan pengumpulan dilakukan, sampel tumbuhan harus dibersihkan dengan benar. Proses pembersihan mungkin melibatkan langkah-langkah berikut. Membersihkan, mencuci, mengupas atau mengupas daun dari batang. Pembersihan harus dilakukan dengan tangan untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.

### **3.1.3 Preparasi sampel tumbuhan**

Idealnya jaringan tumbuhan segar digunakan untuk analisis fitokimia, dilarutkan dalam alkohol mendidih untuk selanjutnya disimpan. Namun kadang-kadang sampel tumbuhan yang akan dipelajari tidak selalu dapat langsung diperoleh di daerah tempat analisis, bahkan berbeda pulau atau benua. Maka untuk mencegah terjadinya kerusakan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan, dilakukan pengeringan sampel.

Sampel tumbuhan seperti daun, kayu, akar, buah, dan bunga dapat diekstrak dari sampel tumbuhan segar atau sampel yang dikeringkan. Metode preparasinya seperti penggilingan/penghalusan juga berpengaruh terhadap pengawetan senyawa kimia tumbuhan dalam ekstrak.

#### **Sampel segar vs. sampel kering**

Kedua jenis sampel baik sampel segar maupun sampel yang dikeringkan, keduanya digunakan dalam kajian fitokimia dalam tumbuhan. Dalam kebanyakan kasus, sampel yang dikering lebih disarankan dengan memperhatikan pertimbangan waktu yang dibutuhkan dalam eksperimen. Interval waktu antara pemanenan dengan pekerjaan eksperimental maksimum pada jangka waktu 3 jam pada sampel segar dimana sampel segar mudah rusak dan mengalami penurunan kualitas yang lebih cepat dibandingkan dengan sampel kering.

#### **Sampel tumbuk vs. sampel serbuk halus**

Pengurangan ukuran partikel dapat meningkatkan kontak permukaan antara sampel dan pelarut ekstraksi. Metode tumbuk menghasilkan sampel yang lebih kecil dan kasar; Sementara itu, sampel serbuk memiliki partikel yang lebih homogen dan lebih kecil, yang mengarah ke kontak permukaan yang lebih baik dengan pelarut ekstraksi.



## Metode Pengeringan

Ada beberapa metode pengeringan yang dapat dilakukan terhadap sampel tumbuhan yaitu:

### a. *Pengeringan udara (Air-Drying)*

Pengeringan udara biasanya memakan waktu selama 3-7 hari hingga beberapa bulan bahkan satu tahun tergantung pada jenis sampel yang dikeringkan (misalnya daun atau biji). Sampel tumbuhan, biasanya daun tumbuhan dengan batang yang diikat bersama dan digantung untuk mengekspos tumbuhan ke udara pada suhu ambien. Metode pengeringan ini tidak memaksakan bahan tumbuhan kering menggunakan suhu tinggi; Oleh karena itu, senyawa yang tidak tahan panas dapat terjaga kualitasnya. Namun, pengeringan udara membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan dengan pengeringan *microwave* dan pengeringan beku serta dapat mengalami kontaminasi pada kondisi suhu yang tidak stabil.

### b. *Pengeringan microwave*

Pengeringan *microwave* menggunakan radiasi elektromagnetik yang memiliki medan listrik dan magnet. Medan listrik menyebabkan pemanasan simultan melalui rotasi dipolar; pelurusan pada medan listrik dari molekul yang memiliki momen dipol permanen atau induksi (misalnya pelarut atau sampel), dan induksi ionik, yang menghasilkan osilasi molekul. Osilasi menyebabkan tumbukan antar molekul dan menghasilkan pemanasan cepat dari sampel secara bersamaan. Metode ini dapat mempersingkat waktu pengeringan tetapi terkadang menyebabkan degradasi senyawa kimia dalam jaringan tumbuhan.

### c. *Pengeringan Oven*

Oven-pengeringan adalah metode pra-ekstraksi lain yang menggunakan energi panas untuk menghilangkan uap air dari sampel. Persiapan sampel ini dianggap sebagai salah satu proses termal termudah dan cepat yang dapat mempertahankan senyawa kimia tumbuhan. Waktu ekstraksi yang lebih pendek diperoleh dengan menggunakan metode ini.

### d. *Pengeringan Beku (Freeze Drying)*

Pengeringan beku adalah metode berdasarkan prinsip sublimasi. Sublimasi adalah proses ketika padatan diubah menjadi fase gas tanpa

memasuki fase cair. Sampel dibekukan pada  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hingga  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  sebelum liopilisasi untuk memantapkan cairan apapun (misalnya pelarut, kelembaban) disampel. Setelah pembekuan dalam semalam (12 jam), sampel segera diserbukkan untuk menghindari cairan beku dalam sampel dari meleleh. Mulut tabung uji atau wadah sampel dibungkus dengan jarum-poked-parafilm untuk menghindari hilangnya sampel selama proses. Beberapa waktu selanjutnya, sampel akan hilang dengan memercik ke dalam labu beku. Pengeringan beku menghasilkan kadar fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan udara karena sebagian besar senyawa kimia tumbuhan dijaga kondisinya dalam metode ini. Namun, pengeringan beku adalah metode pengeringan yang rumit dan mahal dibandingkan pengeringan udara biasa dan pengeringan *microwave*. Dengan demikian, penggunaan dibatasi untuk bahan yang halus, labil terhadap panas dan bahan bernilai tinggi.

### 3.2 Metode Ekstraksi Tumbuhan

#### a. Maserasi

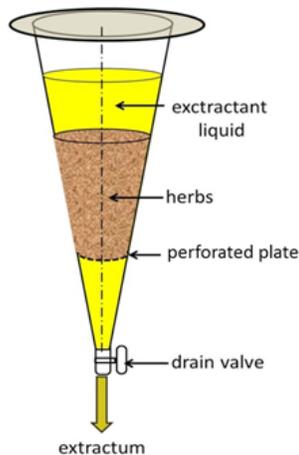
Dalam maserasi, bubuk kasar sampel tumbuhan disimpan dan dibiarkan mengalami kontak dengan pelarut dalam wadah tertutup untuk jangka waktu tertentu yang disertai dengan pengadukan hingga komponen sampel tumbuhan ada yang larut. Metode ini paling cocok untuk digunakan dalam kasus senyawa kimia tumbuhan yang tidak tahan panas (termolabil).



Gambar 3.1 Proses maserasi

## b. Perkolasi

Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam tumbuhan. Sebuah perkolator adalah wadah sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya. Sampel tumbuhan padat dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kira-kira 4 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya bagian atas perkolator ditutup. Pelarut ditambahkan hingga merendam sampel. Campuran sampel dan pelarut dapat dimaserasi lebih lanjut dalam wadah perkolator tertutup selama 24 jam. Saluran keluar perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut dapat ditambahkan sesuai kebutuhan, sampai ukuran perkolasi sekitar tiga perempat dari volume yang diperlukan dari produk jadi.

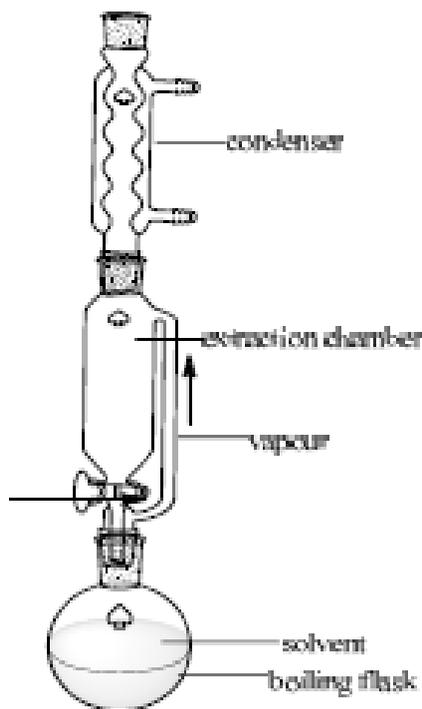


Gambar 3.2 Perkolator

## c. Ekstraksi soxhlet

Ekstraksi soxhlet hanya diperlukan apabila senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut, dan pengotor tidak larut dalam pelarut itu. Jika senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan yang tinggi dalam suatu pelarut maka suatu penyaringan sederhana dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dari zat yang tidak larut. Keuntungan dari sistem ini adalah proses ekstraksi cukup dilakukan dalam satu wadah dimana secara kontinyu pelarut yang terkondensasi akan menetes dan merendam sampel

tumbuhan dan membawa senyawa terlarut ke labu penampung. Metode ini tidak dapat digunakan untuk senyawa termolabile karena pemanasan yang berkepanjangan dapat menyebabkan degradasi senyawa.



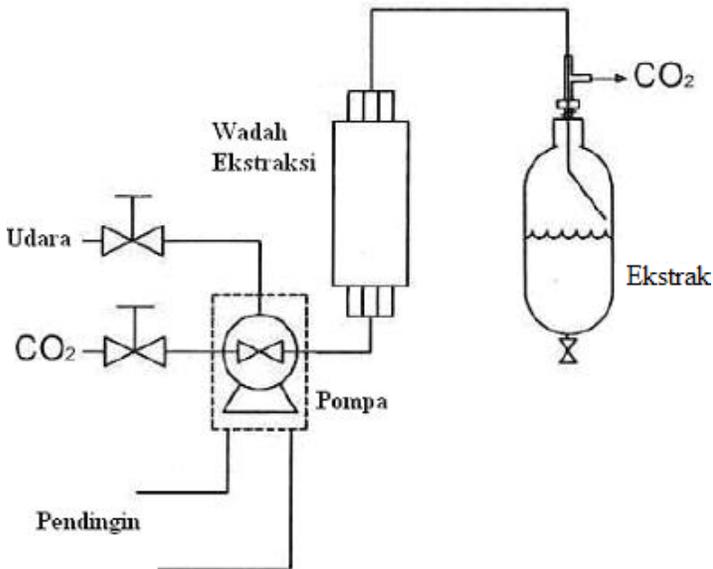
Gambar 3.3Alat ekstraksi soxhlet

#### d. Supercritical Fluid Extraction

Gas superkritis seperti karbon dioksida, nitrogen, metana, etana, etilen, nitrogen oksida, sulfur dioksida, propana, propilena, amonia dan sulfur heksafluorida digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif dalam tumbuhan. Sampel tumbuhan disimpan dalam bejana yang diisi dengan gas dalam kondisi yang terkendali seperti suhu dan tekanan. Senyawa aktif yang larut dalam gas terpisah ketika suhu dan tekanan lebih rendah. Faktor penting dari teknik ini adalah transfer massa zat terlarut dalam pelarut superkritis.

Secara umum, suhu dan tekanan memiliki pengaruh terbesar. Namun efek tekanannya lebih langsung. Ketika tekanan meningkat, kepadatan yang

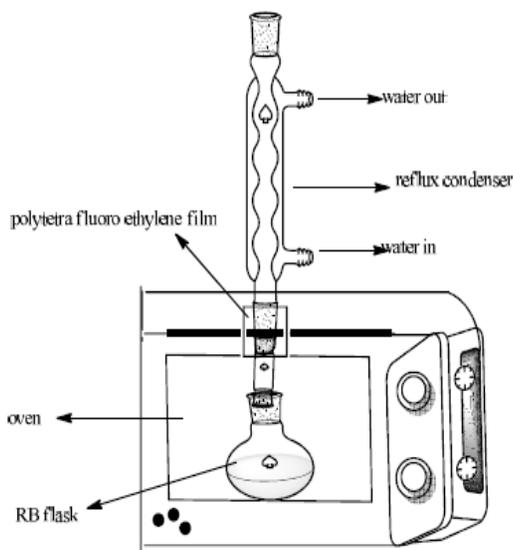
lebih tinggi dicapai oleh cairan superkritis. Dengan demikian densitas medium meningkat dan kelarutan zat terlarut akan meningkat. Untuk mendapatkan hasil yang lebih tinggi, proses harus dioptimalkan. Dengan menggunakan metodologi permukaan respons, parameter optimum dapat diperoleh.



Gambar 3.4 Supercritical Fluid Extraction (SFE)

#### e. Microwave-assisted extraction

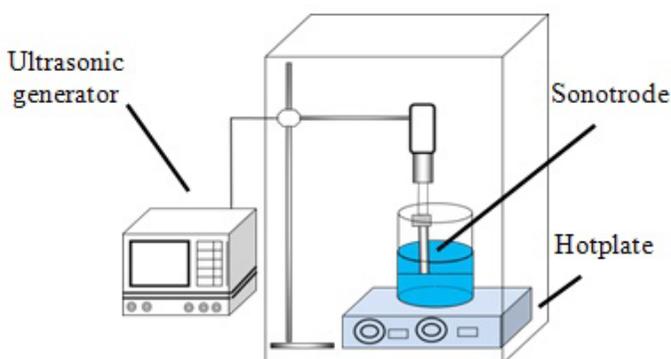
Dalam metode ini energi gelombang mikro (*microwave*) membantu pemisahan senyawa aktif dari sampel tumbuhan ke dalam pelarut. Gelombang mikro memiliki medan listrik dan magnet yang tegak lurus satu sama lain. Listrik yang dialirkan menghasilkan panas melalui rotasi dipolar dan konduksi ionik. Meningkatnya konstanta dielektrik pelarut, pemanasan yang dihasilkan semakin cepat. Berbeda dengan metode klasik, ekstraksi dengan bantuan *microwave* memanaskan seluruh sampel secara bersamaan. Selama ekstraksi, panas mengganggu ikatan hidrogen yang lemah karena rotasi dipol molekul dan migrasi ion terlarut meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sampel atau matriks.



Gambar 3.5 Reaktor Microwave-assisted extraction (MAE)

#### f. **Ultrasound-Assisted Extraction**

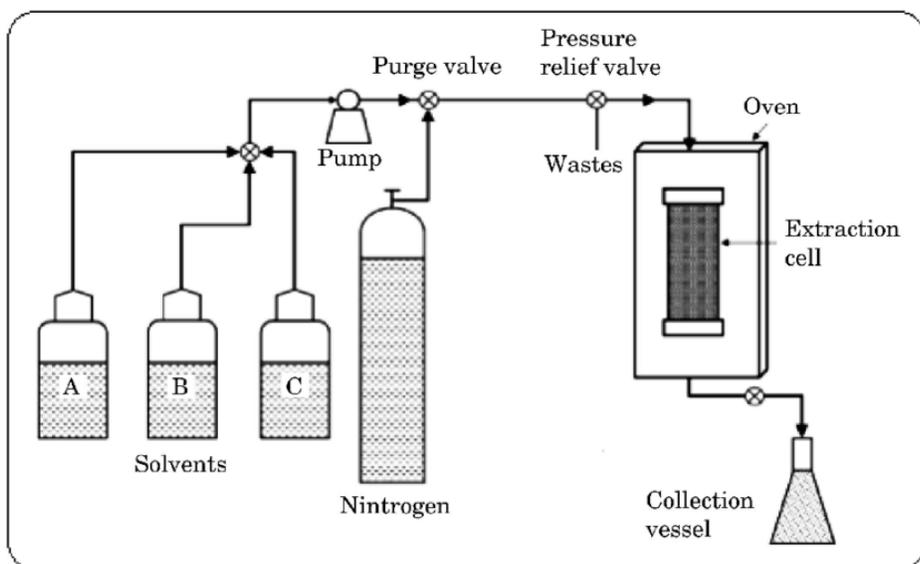
Ultrasound-Assisted Extraction adalah teknik canggih yang memiliki kemampuan mengekstraksi sejumlah besar senyawa bioaktif dalam waktu ekstraksi yang lebih pendek. Keuntungan utama dari teknik ini adalah meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks karena gangguan dinding sel yang dihasilkan oleh kavitas akustik. Dan juga ini mencapai pada suhu rendah dan karenanya ini lebih cocok untuk ekstraksi senyawa termal tidak stabil.



Gambar 3.6 Alat Ultrasound-Assisted Extraction

### g. Acelarated-assisted extraction

Dalam teknik ekstraksi pelarut dipercepat, pelarut digunakan pada suhu tinggi dan tekanan untuk menjaga pelarut dalam bentuk cair selama proses ekstraksi. Karena suhu tinggi kapasitas pelarut untuk melarutkan analit meningkat dan dengan demikian tingkat difusi meningkat. Selanjutnya, suhu yang lebih tinggi mengurangi viskositas dan pelarut dapat dengan mudah menembus pori-pori matriks. Pelarut bertekanan memungkinkan kontak lebih dekat dengan analit dan pelarut. Namun, metode ini menggunakan lebih sedikit waktu dan lebih sedikit jumlah pelarut untuk ekstraksi bahan aktif. Keuntungan dari metode ini adalah ekstraksi untuk ukuran sampel 1-100g dalam menit, pengurangan pelarut dramatis dan berbagai aplikasi dan penanganan matriks asam dan basa.



Gambar 3.7 Alat Acelarated-Assisted Extraction

### h. Enfleurasi

Enfleurasi adalah proses yang menggunakan lemak tak berbau yang padat pada suhu kamar untuk menangkap senyawa yang harum yang dikeluarkan oleh tumbuhan. Prosesnya bisa berupa enfleurasi dingin atau enfleurasi panas.

Ada dua jenis proses:

1. Dalam enfleurasi dingin, sebuah piring kaca berbingkai besar, yang disebut sasis, dilumuri dengan lapisan lemak hewani, biasanya lemak babi atau lemak (dari babi atau daging sapi, masing-masing), dan dibiarkan mengendap. Bahan tumbuhan, biasanya kelopak atau bunga utuh, kemudian ditempatkan pada lemak dan aromanya dibiarkan berdifusi ke dalam lemak selama 1-3 hari. Proses ini kemudian diulang dengan mengganti botani yang dihabiskan dengan yang segar sampai lemak telah mencapai tingkat saturasi aroma yang diinginkan. Prosedur ini dikembangkan di Prancis selatan pada abad ke-18 untuk produksi konsentrat bermutu tinggi.
2. Dalam enfleurasi panas, lemak padat dipanaskan dan materi botani diaduk menjadi lemak. Botani yang digunakan berulang kali tegang dari lemak dan diganti dengan bahan segar sampai lemak jenuh dengan aroma. Metode ini dianggap prosedur tertua yang diketahui untuk melestarikan zat aroma tumbuhan.

Dalam kedua kasus, setelah lemak jenuh dengan aroma, kemudian disebut "pomade enfleurage". Pomade enfleurage dapat langsung diperdagangkan, atau bisa dicuci lebih lanjut atau direndam dalam etanol untuk menarik molekul harum ke dalam alkohol. Alkohol kemudian dipisahkan dari lemak dan dibiarkan menguap, meninggalkan bagian mutlak dari sampel tumbuhan. Lemak yang terbuang biasanya digunakan untuk membuat sabun karena masih relatif harum.



Gambar 3.8 Proses enfleurasi

#### **i. Hidrodestilasi**

Penyulingan (distilasi) merupakan proses pemisahan komponen dapat berupa cairan atau padatan yang dibedakan berdasarkan titik didih dari masing-masing zat tersebut. Dalam industri minyak atsiri dikenal tiga macam metode penyulingan, yaitu:

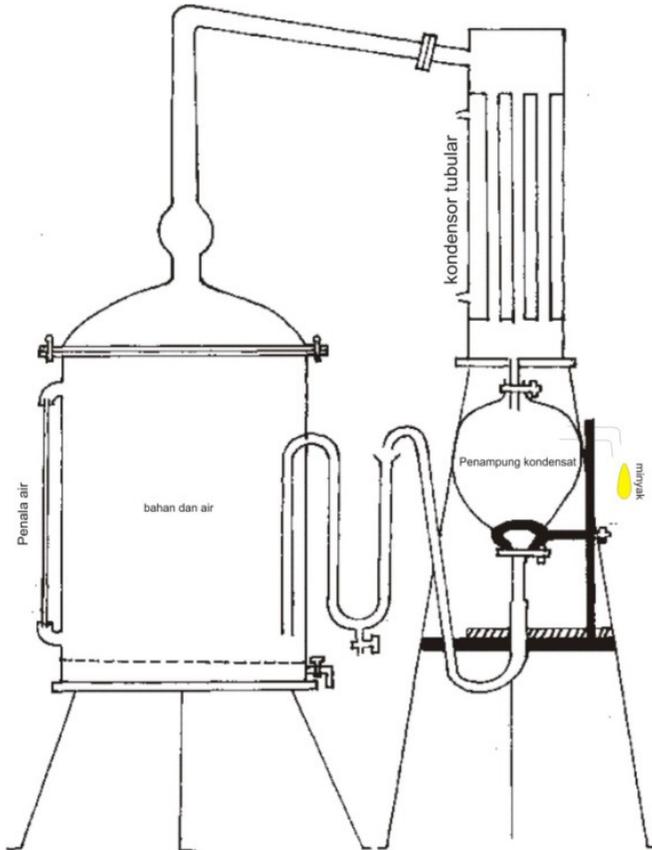
1. Distilasi air (*water distillation*).
2. Distilasi kukus (*steam and water distillation*).
3. Distilasi uap (*steam distillation*).

Ketiganya memiliki kekurangan dan kelebihan masing – masing pada proses penyulingan minyak atsiri.

#### **Distilasi air (rebus)**

Pada metode ini, bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air atau terendam secara sempurna tergantung pada bobot jenis dan jumlah bahan yang akan disuling. Ciri khas dari metode ini adalah kontak langsung antara bahan yang akan disuling dengan air mendidih.

Pada penyulingan dengan air yang menjadi fokus adalah jumlah air yang ada dalam ketel. Prakiraan waktu penyulingan dengan jumlah air perlu diperhitungkan dengan matang karena bila tidak diperhatikan maka akan terjadi gosong dan berdampak pada kualitas minyak.

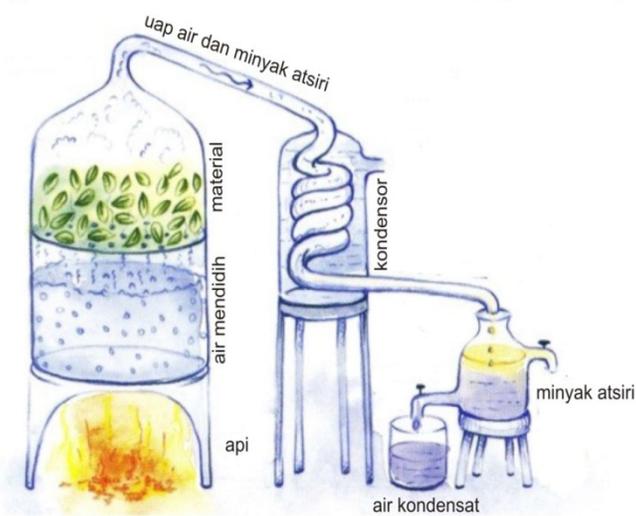


Gambar 3.9 Destilasi rebus

Biasanya penyulingan yang menggunakan distilasi air adalah bahan yang mudah menggumpal dan biasanya disuling dalam bentuk serbuk, lebih cocok untuk beberapa material dari kayu seperti massoi atau gaharu.

## Distilasi uap air (kukus)

Pada metode penyulingan ini, material diletakkan di atas rak – rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi sampai dengan batas dibawah sarangan.



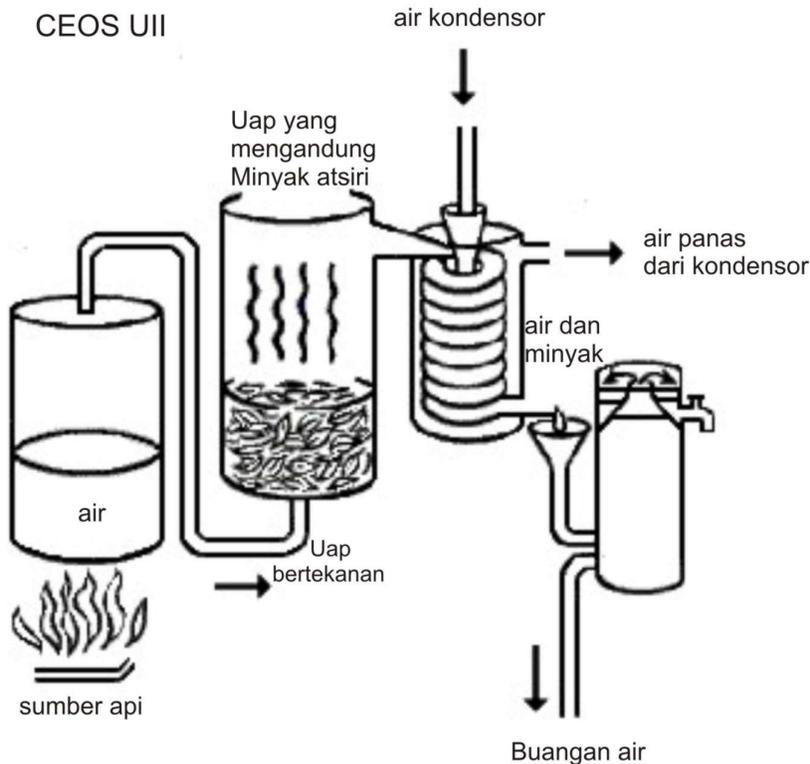
Gambar 3.10 Destilasi uap-air

Prinsip dasarnya seperti mengukus nasi. Material kontak dengan uap yang tidak terlalu panas namun jenuh yang dihasilkan dari air yang mendidih di bawah sarangan.

## Distilasi uap

Pada metode penyulingan ini, unit penyulingan terbagi atas 3 unit, ketel bahan baku, boiler, dan kondensor. Jenis penyulingan ini lebih modern daripada 2 jenis penyulingan air atau kukus.

Dapur uap dibentuk di dalam boiler dengan cara memanaskan air hingga tekanan tertentu yang ditunjukkan oleh manometer yang telah dipasang dalam boiler. Setelah tekanan uap yang diinginkan tercapai maka uap jenuh siap dialirkan ke dalam ketel bahan baku. Lebih cocok untuk menyuling bahan-bahan seperti dedaunan dan serpihan kayu.



Gambar 3.11 Destilasi uap

### 3.3 Metode Pemisahan dan Pemurnian Metabolit Sekunder Tumbuhan

Metode pemisahan dan pemurnian senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan adalah teknik yang telah mengalami perkembangan dalam beberapa tahun terakhir. Teknik modern ini menawarkan kemampuan untuk menyejajarkan pengembangan dan ketersediaan banyak metode *bioassay* canggih di satu sisi, dan menyediakan teknik isolasi, pemisahan, dan pemurnian yang tepat di sisi lain. Tujuannya ketika mencari senyawa bioaktif adalah menemukan metode yang tepat yang dapat menyaring bahan sumber untuk bioaktivitas seperti antioksidan, antibakteri, atau sitotoksitas, dikombinasikan dengan kesederhanaan, spesifisitas, dan kecepatan. Metode *in vitro* biasanya lebih diinginkan daripada *in vivo* karena eksperimen hewan

mahal, membutuhkan lebih banyak waktu, dan rentan terhadap kontroversi etis. Ada beberapa faktor yang membuat tidak mungkin untuk menemukan prosedur atau protokol akhir untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi molekul bioaktif tertentu.

Ini bisa disebabkan oleh berbagai bagian (jaringan) di sebuah pabrik, banyak yang akan menghasilkan senyawa yang sangat berbeda, di samping struktur kimia yang beragam dan sifat fisikokimia dari *phytochemicals* bioaktif. Baik pemilihan dan pengumpulan bahan tumbuhan dianggap sebagai langkah utama untuk mengisolasi dan mencirikan phytochemical bioaktif. Langkah selanjutnya melibatkan pengambilan informasi ethno-botani untuk membedakan molekul bioaktif yang mungkin. Ekstrak kemudian dapat dibuat dengan berbagai pelarut untuk mengisolasi dan memurnikan senyawa aktif yang bertanggungjawab untuk bioaktivitas.

Teknik kromatografi kolom dapat digunakan untuk isolasi dan pemurnian senyawa bioaktif. Instrumen yang dikembangkan seperti *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC) mempercepat proses pemurnian molekul bioaktif. Berbagai jenis teknik spektroskopi seperti UV-visible, Infrared (IR), Nuclear Magnetic Resonance (NMR), dan spektroskopi massa dapat mengidentifikasi senyawa yang telah dimurnikan.

Banyak molekul bioaktif telah diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan metode Kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom. Metode ini masih banyak digunakan karena kenyamanan, ekonomi, dan ketersediaannya dalam berbagai fase stasioner. Silika, alumina, selulosa, dan poliamida paling banyak digunakan untuk memisahkan senyawa kimia tumbuhan.

Bahan-bahan tumbuhan mengandung sejumlah besar fitokimia kompleks, yang membuat pemisahan yang baik menjadi sulit. Oleh karena itu, meningkatkan polaritas menggunakan beberapa fase seluler berguna untuk pemisahan bernilai tinggi. Kromatografi lapis tipis selalu digunakan untuk menganalisis fraksi senyawa dengan kromatografi kolom. Kromatografi kolom gel silika dan kromatografi lapis tipis (KLT) telah digunakan untuk pemisahan molekul bioaktif dengan beberapa alat analisis.

### 3.4 Metode Identifikasi Metabolit Sekunder Tumbuhan

Penentuan struktur molekul tertentu menggunakan data dari berbagai teknik spektroskopi seperti UV-visible, Infrared (IR), Nuclear Magnetic Resonance (NMR), dan spektroskopi massa. Prinsip dasar spektroskopi adalah melewatkan radiasi elektromagnetik melalui molekul organik yang menyerap sebagian radiasi, tetapi tidak semuanya. Dengan mengukur jumlah penyerapan radiasi elektromagnetik, spektrum dapat diproduksi. Spektrum spesifik untuk ikatan tertentu dalam suatu molekul. Tergantung pada spektrum ini, struktur molekul organik dapat diidentifikasi.

Para ilmuwan terutama menggunakan spektrum yang dihasilkan dari tiga atau empat wilayah — Ultraviolet (UV), Tampak (Visible), Inframerah (IR), gelombang radio, dan berkas elektron—untuk klarifikasi struktural.

#### Spektroskopi UV-Tampak

Spektroskopi UV-tampak dapat dilakukan untuk analisis kualitatif dan untuk identifikasi kelas tertentu dari senyawa dalam campuran murni dan biologis. Lebih disukai, spektroskopi UV-tampak dapat digunakan untuk analisis kuantitatif karena molekul-molekul aromatik adalah kromofor kuat dalam rentang UV. Senyawa alami dapat ditentukan dengan menggunakan spektroskopi UV-tampak. Senyawa fenolik termasuk anthocyanin, tanin, pewarna polimer, dan fenol membentuk kompleks dengan besi yang telah terdeteksi oleh spektroskopi ultraviolet-tampak (UV-Vis). Selain itu, teknik spektroskopi UV-Vis diketahui menjadi kurang selektif dalam memberikan informasi tentang komposisi kandungan polifenol total. Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk menentukan total fenolik ekstrak (280 nm), flavones (320 nm), asam fenolik (360 nm), dan total anthosianid (520 nm). Teknik ini tidak memakan waktu, dan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan teknik lain.

#### Spektroskopi inframerah

Beberapa frekuensi akan diserap ketika cahaya inframerah melewati sampel senyawa organik; Namun, beberapa frekuensi akan ditularkan melalui sampel tanpa terjadi penyerapan. Penyerapan inframerah terkait dengan perubahan vibrasi yang terjadi di dalam molekul ketika terkena radiasi inframerah. Oleh karena itu, spektroskopi inframerah pada dasarnya dapat

digambarkan sebagai spektroskopi vibrasi. Obligasi yang berbeda (C-C, C = C, C<sub>2</sub>C, C-O, C = O, O-H, dan N-H) memiliki frekuensi vibrasi yang beragam. Jika jenis-jenis ikatan ini ada dalam suatu molekul organik, mereka dapat diidentifikasi dengan mendeteksi pita penyerapan frekuensi karakteristik dalam spektrum inframerah.

*Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) adalah alat analisis resolusi tinggi untuk mengidentifikasi kandungan kimia dan menguraikan senyawa struktural. FTIR menawarkan investigasi yang cepat dan tidak rusak untuk ekstrak atau bubuk herbal sidik jari.

### **Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti – *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)**

Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (NMR) terkait dengan sifat-sifat magnetik dari inti atom tertentu; terutama inti atom hidrogen, proton, karbon, dan isotop karbon. Spektroskopi NMR telah memungkinkan banyak peneliti untuk mempelajari molekul dengan merekam perbedaan antara berbagai inti magnetik, dan dengan demikian memberikan gambaran yang jelas tentang apa posisi inti-inti ini dalam molekul. Selain itu, ia akan menunjukkan atom-atom mana yang ada di kelompok tetangga. Pada akhirnya, itu dapat menyimpulkan berapa banyak atom yang hadir di masing-masing lingkungan. Beberapa upaya telah dilakukan di masa lalu dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif atau semi preparatif, kromatografi cair, dan kromatografi kolom untuk mengisolasi masing-masing fenol, struktur yang ditentukan selanjutnya oleh NMR secara *off-line*.

### **Spektrometri Massa untuk Identifikasi Senyawa Kimia**

Molekul organik dibombardir dengan elektron atau laser dalam spektrometri massa dan dengan demikian diubah menjadi ion bermuatan, yang sangat energik. Spektrum massa adalah plot dari kelimpahan relatif ion terfragmentasi terhadap rasio massa / muatan ion-ion ini. Menggunakan spektrometri massa, massa molekul relatif (berat molekul) dapat ditentukan dengan akurasi tinggi dan rumus molekul yang tepat dapat ditentukan dengan pengetahuan tentang tempat-tempat di mana molekul telah terfragmentasi. Dalam karya sebelumnya, molekul bioaktif dari empulur diisolasi dan dimurnikan dengan ekstraksi pelarut bioaktivitas yang dipandu, kromatografi kolom, dan HPLC. Teknik UV-visible, IR, NMR, dan spektroskopi massa digunakan

untuk mengkarakterisasi struktur molekul bioaktif. Selanjutnya, molekul dapat dihidrolisis dan turunannya dicirikan.

Spektrometri massa memberikan informasi yang melimpah untuk elusidasi struktural senyawa ketika tandem mass spectrometry (MS) diterapkan. Oleh karena itu, kombinasi HPLC dan MS memfasilitasi identifikasi senyawa kimia yang cepat dan akurat dalam ramuan obat, terutama ketika standar murni tidak tersedia. Baru-baru ini, LC/MS telah banyak digunakan untuk analisis senyawa fenolik. Ionisasi elektropray (ESI) adalah sumber yang disukai karena efisiensi ionisasi yang tinggi untuk senyawa fenolik.

### **Latihan Soal**

1. Jelaskan prinsip kerja teknik-teknik ekstraksi konvensional (maserasi, perkolasi, ekstraksi soxhlet) serta kelebihan dan kelemahannya!
2. Jelaskan prinsip kerja teknik-teknik ekstraksi modern (MAE, AAE, SFE) serta kelebihan dan kelemahannya!
3. Jelaskan kegunaan spektroskopi massa dan NMR dalam identifikasi struktur senyawa metabolit sekunder!





## 4. Senyawa Fenolik

### Capaian Pembelajaran

Setelah mempelajari bab 4 ini mahasiswa dapat :

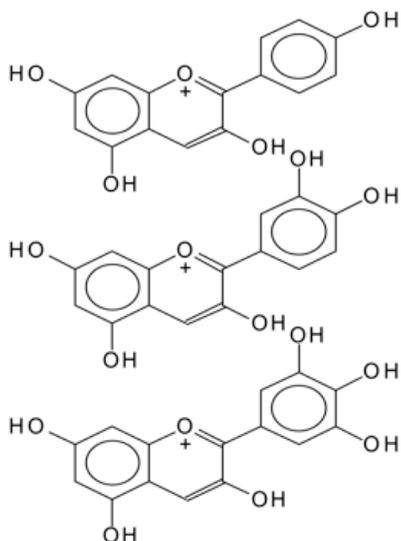
- Memahami dan menjelaskan pengertian senyawa fenolik dan klasifikasinya
- Memahami dan menjelaskan metode ekstraksi dan identifikasi senyawa fenolik

### 4.1 Pengertian Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan dengan karakteristik memiliki cincin aromatic yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi (OH).

Dalam tumbuhan, kelompok senyawa ini memiliki beberapa fungsi yaitu:

- Pembangun dinding sel (lignin)
- Pigmen bunga (antosianin)
- Pengendali tumbuh (flavonol)
- Pertahanan (flavonoid)
- Menghambat dan memacu perkecambahan (fenol sederhana)
- Bau-bauan (vanilin, metil salisilat)



Pelargonidin



Cyanidin



Delphinidin



Gambar 4.1 Beberapa jenis senyawa antosianin dalam buah-buahan

Bila ditinjau dari jalur biosintesisnya, senyawa fenolik dapat dibedakan atas dua jenis senyawa utama yaitu senyawa fenolik yang berasal dari jalur asam asetat mevalonat dan jalur asam sikimat. Kelompok senyawa fenolik yang berasal dari jalur asam asetat mevalonat adalah senyawa poliketida dan senyawa fenolik yang berasal dari jalur asam asetat adalah fenil propanoid. Ditemukan juga senyawa fenolik yang berasal dari kombinasi dua jalur biosintesis ini yaitu senyawa flavonoid.

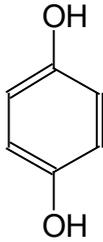
Sifat dan ciri dari senyawa fenolik diantaranya:

- Cenderung mudah larut dalam pelarut polar
- Bila murni, tak berwarna
- Jika kena udara akan teroksidasi menimbulkan warna gelap
- Membentuk kompleks dengan protein
- Sangat peka terhadap oksidasi enzim
- Mudah teroksidasi oleh basa kuat
- Menyerap sinar UV-Vis

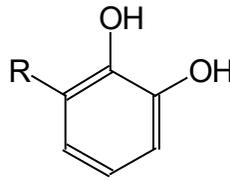
Senyawa fenolik dibagi menjadi menjadi beberapa kelompok yaitu fenol sederhana dan asam fenolat, fenilpropanoid, flavonoid, dan tannin.

### A. Fenol sederhana dan asam fenolat

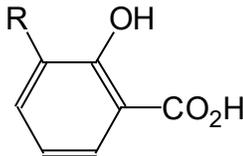
Senyawa fenolik dapat dalam bentuk paling sederhana namun jarang terdapat terdapat dalam tumbuhan. Hidrolisis jaringan membebaskan asam fenolat larut dalam eter. Fenol bebas jarang terdapat dalam tumbuhan, kecuali hidrokuinon



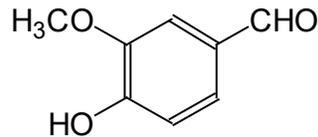
hidrokuinon



R = H, katekol  
R = OH, pirogallol



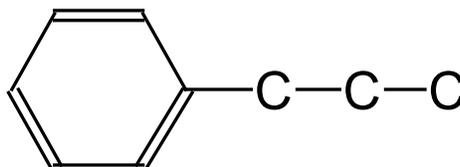
R = H, asam salisilat  
R = OH, asam protokatekuat



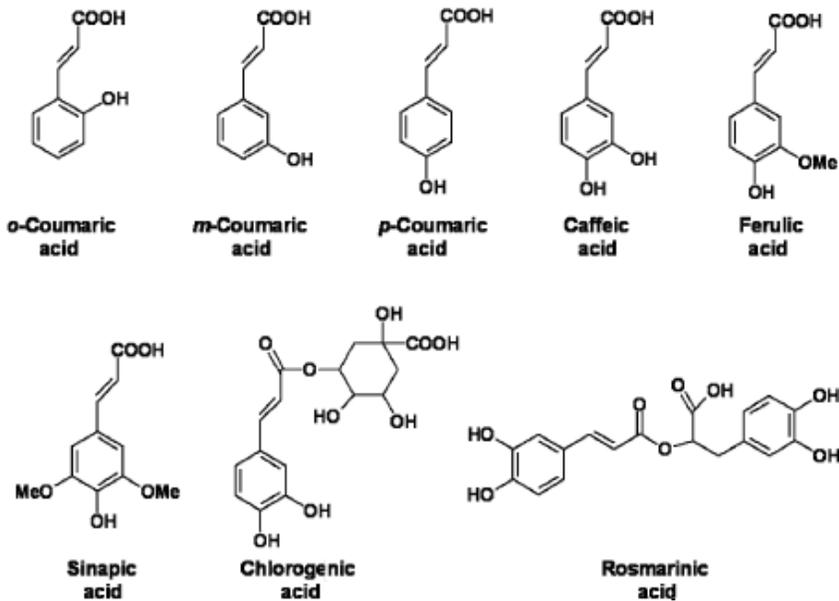
vanillin

### B. Fenilpropanoid

Fenilpropanoid merupakan senyawa fenolik yang memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari cincin benzene (C6) yang terikat pada ujung rantai karbon propana (C3).



Kelompok senyawa ini banyak ditemukan di tumbuhan tingkat tinggi. Senyawa ini merupakan turunan asam amino protein aromatis yaitu fenil alanin. Senyawa asam hidroksisinamat merupakan senyawa golongan fenil propanoid yang paling banyak tersebar di alam. Contoh senyawa fenil propanoid lainnya adalah hidroksikumarin, fenil propana, dan kumarin.

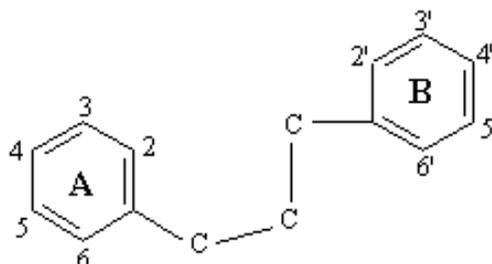


Gambar 4.2 Beberapa senyawa turunan asam hidroksisinamat suatu fenil propanoid

### C. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya.

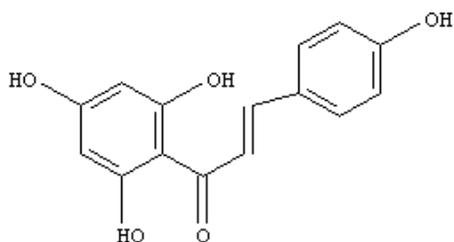
Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>.



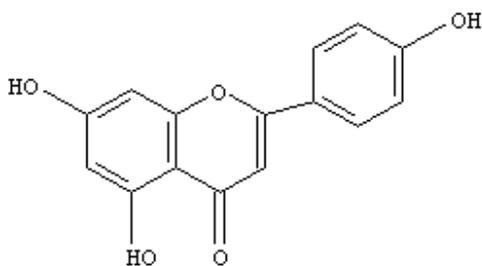
Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan tumbuhan telah diidentifikasi, diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani anthos=bunga, kyanos, biru tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat di bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lain, misalnya buah tertentu, batang, daun dan bahkan akar. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola.

Berdasarkan strukturnya, flavonoid dapat dikelompokkan sebagai berikut:

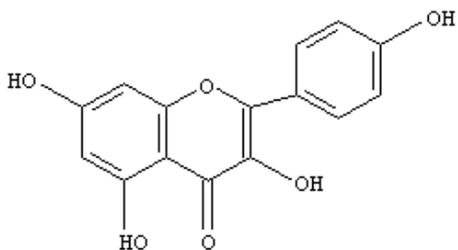
a. Kalkon



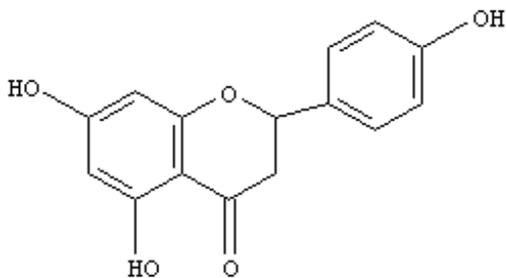
b. Flavon



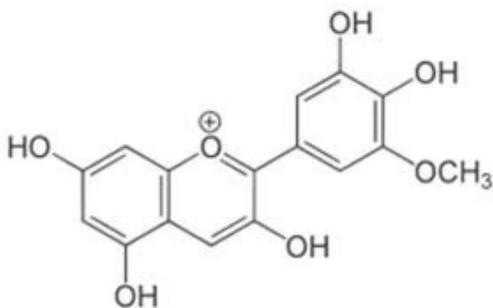
c. Flavonol



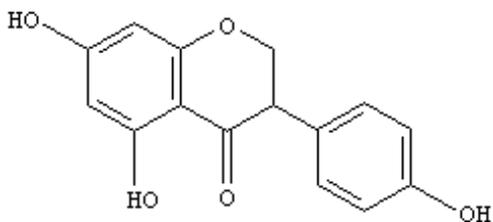
d. Flavanon



e. Antosianin



f. Isoflavon



## D. Tanin

Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid.

Tanin (dari bahasa Inggris *tannin*, dari bahasa Jerman Hulu Kuno *tanna*, yang berarti "pohon ek" atau "pohon berangan" pada mulanya merujuk pada penggunaan bahan *tannin* nabati dari pohon ek untuk menyamak belulang

(kulit mentah) hewan agar menjadi masak yang awet dan lentur (penyamakan). Namun kini pengertiannya meluas, mencakup berbagai senyawa polifenol berukuran besar yang mengandung cukup banyak gugus hidroksil dan gugus lainnya yang sesuai (misalnya gugus karboksil) membentuk ikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul yang lain.

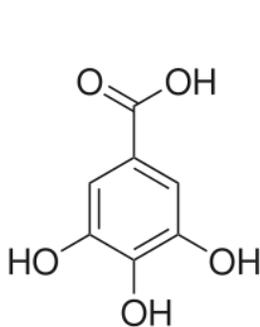
Senyawa-senyawa Tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan. Senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsa oleh herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dalam metabolisme tumbuhan.

Tanin memiliki berat molekul berkisar antara 500 sampai 3000 (ester asam galat) dan lebih besar dari 20.000 (proantosianidin.)

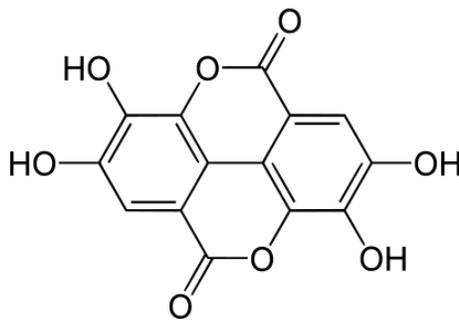
Tanin dikelompokkan menjadi dua bentuk senyawa yaitu:

### 1. Tanin Terhidrolisis

Tanin dalam bentuk ini adalah tannin yang terhidrolisis oleh asam atau enzim menghasilkan asam galat dan asam elagat. Secara kimia, tannin terhidrolisis dapat merupakan ester atau asam fenolat. Asam galat dapat ditemukan dalam cengkeh sedangkan asam elagat ditemukan dalam daun *Eucalyptus*. Senyawa tannin bila direaksikan dengan feri klorida akan menghasilkan perubahan warna menjadi biru atau hitam.



Asam galat

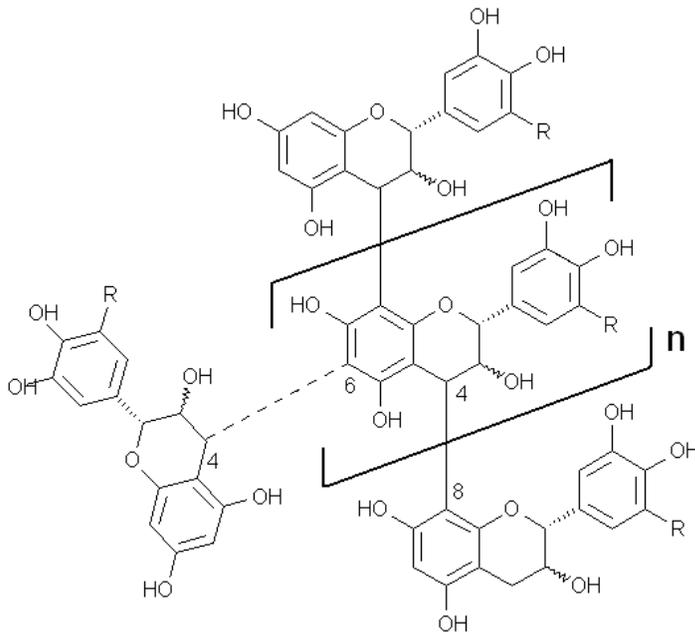


asam elagat

### 2. Tannin terkondensasi

Tanin jenis ini resisten terhadap reaksi hidrolisis dan biasanya diturunkan dari senyawa flavonol, katekin, dan flavan-3,4-diol. Pada penambahan asam atau enzim, senyawaan ini akan terdekomposisi menjadi plobapen. Pada proses destilasi, tannin terkondensasi berubah menjadi katekol, oleh karenanya sering disebut sebagai tannin katekol. Tanin jenis ini dapat ditemukan dalam kayu

pohon kina dan daun teh. Tanin terkondensasi akan menghasilkan senyawa berwarna hijau ketika ditambahkan dengan ferri klorida.



## 4.2 Metode Ekstraksi Senyawa Fenolik

### A. Fenol sederhana dan asam fenolat

- Hidrolisis dalam suasana asam dengan HCl 2M selama 30 menit (mendidih)
- Hidrolisis dalam suasana basa dengan NaOH 2M selama 4 jam dan selanjutnya diasamkan sebelum ekstraksi (suhu kamar)
- Ekstraksi dengan eter

### B. FENILPROPANOID

- Diekstrak dalam suasana asam atau basa
- Isolasi dengan eter dan EtAc

### C. FLAVONOID

- Dapat diekstraksi dengan etanol 70%

## 4.3 Metode Identifikasi Senyawa Fenolik

### A. Fenol sederhana dan asam fenolat

- KLT silika gel (asam asetat- $\text{CHCl}_3$  dan Etil asetat-benzena); selulosa MN 300 (benzena-MeOH-asam asetat dan asam asetat-air)
- Deteksi dengan UV dengan pereaksi Folin-Ciocalteu, pereaksi Gibs, uap  $\text{NH}_3$ , Vanilin-HCl
- GC-MS
- HPLC

### B. FENILPROPANOID

#### Identifikasi

- Kromatografi Lapis Tipis (sesulosa)
- Kromatografi kertas
- Spektrofotometer UV-Vis

### C. FLAVONOID

- Warna berubah dengan penambahan basa atau amonia
- Diidentifikasi dengan KLT (BAA-HAc 5%) spektrofotometer UV-Vis (pereaksi geser)

### Latihan Soal

1. Jelaskan dan gambar kerangka dasar struktur senyawa fenolik (asam fenolat, fenil propanoid, flavonoid dan tanin)!
2. Jelaskan metode ekstraksi umum untuk memisahkan senyawa fenolik dari tumbuhan!
3. Jelaskan metode skrining fitokimia yang khas untuk senyawa fenolik!





## 5. Alkaloid

### Capaian Pembelajaran

Setelah mempelajari bab 5 ini mahasiswa dapat :

- Memahami dan menjelaskan pengertian senyawa alkaloid dan klasifikasinya
- Memahami dan menjelaskan metode ekstraksi dan identifikasi senyawa alkaloid

### 5.1 Pengertian Alkaloid

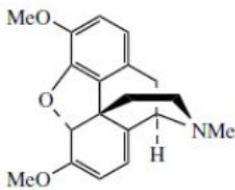
Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Golongan senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil.

Definisi yang tepat dari istilah 'alkaloid' (mirip alkali) agak sulit karena tidak ada batas yang jelas antara alkaloid dan amina kompleks yang terjadi secara alami. Alkaloid khas yang berasal dari sumber tumbuhan, senyawa ini bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) dan mereka biasanya memiliki aktivitas fisiologis yang pada manusia atau hewan lainnya.

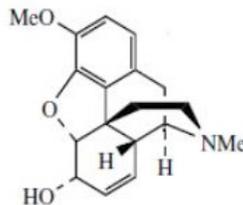
Pada tahun 1803, alkaloid semi-murni telah diisolasi oleh Derosne dan pada tahun 1805 Serturner mengisolasi alkaloid opium (*Papaver somniferum*).



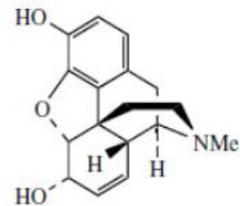
Thebaine



Codeine



Morphine



Gambar 5.1 Senyawa-senyawa alkaloid yang terkandung dalam getah Opium

Alkaloid pertama yang disintesis adalah coniine dari *Conium maculatum* pada tahun 1886. Strychnine, Emetine, Brucine, Piperine, Caffeine, Quinine, Cinchonine dan Colchicine alkaloid adalah landasan dari semua yang telah terjadi dalam kimia alkaloid hingga hari ini. Sebagian besar alkaloid berasal dari amina oleh dekarboksilasi asam amino.

Isolasi alkaloid pertama kali tercatat dimulai pada abad kesembilan belas bersamaan dengan dikenalnya proses perkolasi untuk ekstraksi obat dari tumbuhan. pada tahun 1803, seorang Apoteker Prancis bernama Derosne melakukan isolasi senyawa alkaloid yang kemudian dikenal sebagai narkotika dan diikuti oleh Sertürner yang menyelidiki lebih lanjut senyawa morfin dari tumbuhan opium (1806, 1816). Setelah itu beberapa jenis alkaloid lainnya juga telah berhasil diisolasi diantaranya strychnine (1817), emetine (1817), brucine (1819), piperine (1819), caffeine (1819), quinine (1820), colchicine (1820) dan coniine (1826). Coniine adalah alkaloid pertama yang diketahui struktur kimianya (Schiff, 1870) dan berhasil disintesis oleh Ladenburg pada tahun 1889. Alkaloid lainnya, seperti colchicine, baru ditemukan dan dijelaskan struktur



kimianya setelah satu abad berikutnya. Perkembangan metode ekstraksi, isolasi dan instrumentasi yang modern sangat memudahkan penyelidikan. Pada paruh kedua abad ke-20, alkaloid sangat menonjol dalam pencarian obat dari bahan tumbuhan untuk aktivitas antikanker. Aktivitas fisiologis alkaloid lain diantaranya untuk anestesi, obat penenang, stimulan.

### ***Sifat umum alkaloid***

Kebanyakan alkaloid memiliki rasa pahit, bersifat basa lemah, dan sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam pelarut organik non polar seperti dietil eter, kloroform dan lain-lain. Beberapa alkaloid memiliki warna seperti berberin yang berwarna kuning dan garam sanguinarine dengan tembaga berwarna merah. Alkaloid akan terdekomposisi oleh panas kecuali strychnine dan caffeine. Secara wujud kebanyakan alkaloid berbentuk padatan kristal dan sedikit diantaranya merupakan padatan amorf.

Alkaloid pada dasarnya merupakan senyawa yang bersifat basa dengan keberadaan atom nitrogen dalam strukturnya, Asam amino berperan sebagai senyawa pembangun dalam biosintesis alkaloid. Kebanyakan alkaloid mengandung satu inti kerangka piridin, quinolin, dan isoquinolin atau tropan dan bertanggungjawab terhadap efek fisiologis pada manusia dan hewan. Rantai samping alkaloid dibentuk atau merupakan turunan dari terpena atau asetat. Alkaloid memiliki sifat basa dan bertindak sebagai senyawa basa dalam suatu reaksi. Campuran alkaloid dengan suatu asam akan membentuk garam kristalin tanpa membentuk air. Pada umumnya alkaloid berbentuk padatan kristal seperti pada senyawa atropine. Beberapa alkaloid seperti lobeline atau nikotin berbentuk cairan.

Alkaloid memiliki kelarutan yang khas dalam pelarut organik. Golongan senyawa ini mudah larut dalam alkohol dan sedikit larut dalam air. Garam alkaloid biasanya larut dalam air. Di alam, alkaloid ada di banyak tumbuhan dengan proporsi yang lebih besar dalam biji dan akar dan seringkali dalam kombinasi dengan asam nabati. Senyawa alkaloid memiliki rasa yang pahit.

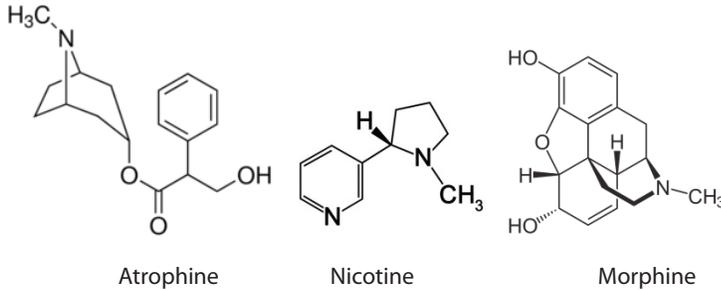
### ***Klasifikasi alkaloid***

Jika dibandingkan dengan kelas lain yang terjadi secara alami, tidak ada klasifikasi struktur yang seragam untuk alkaloid. Klasifikasi alkaloid berdasarkan pada kerangka karbonnya meliputi:

### 1. Alkaloid sebenarnya (True alkaloid)

Alkaloid jenis ini memiliki kerangka cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen. Biosintesis alkaloid jenis ini berasal dari asam amino-asam amino.

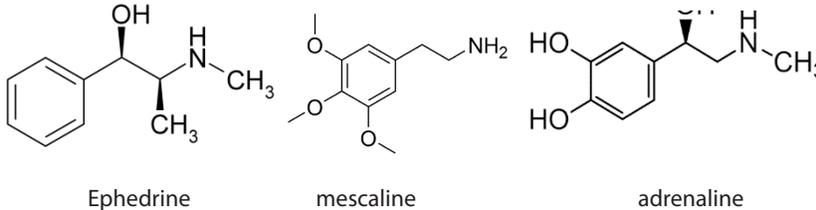
Contoh: Atrophine, Nicotine, Morphine



### 2. Protoalkaloid

Alkaloid jenis ini tidak memiliki cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen dan merupakan turunan dari asam amino

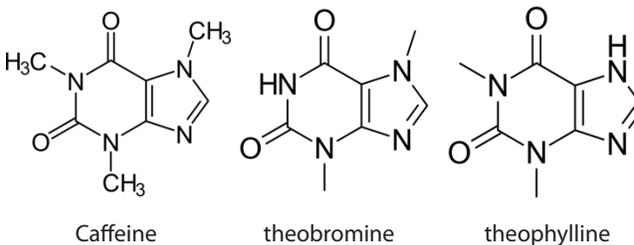
Contoh: Ephedrine, mescaline, adrenaline



### 3. Pseudoalkaloid

Alkaloid jenis ini mengandung cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen, namun bukan merupakan turunan dari asam amino

Contoh: Caffeine, theobromine, theophylline

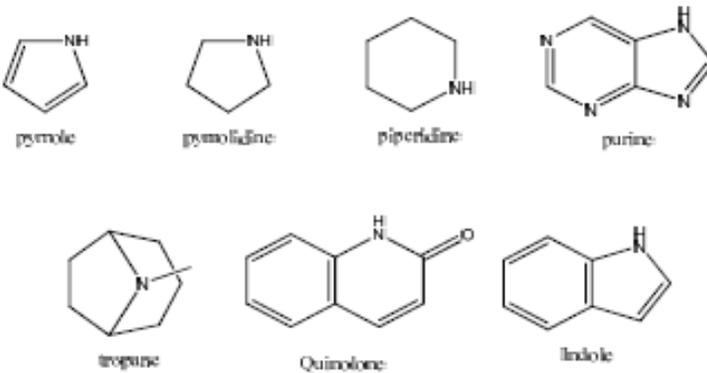


Selain klasifikasi di atas, alkaloid dapat diklasifikasikan dengan beberapa faktor yaitu berdasarkan biosintesisnya, berdasarkan kerangka struktur kimia, berdasarkan farmakologi, dan berdasarkan taksonomi.

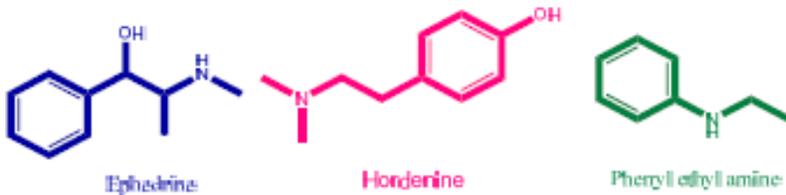
Biosynthetic classification	Chemical classification	Pharmacological classification	Taxonomic classification
<ul style="list-style-type: none"> <li>Indole</li> <li>Piperidine</li> <li>Pyrrolidine</li> <li>Phenylethylamine</li> <li>Imidazole</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tropane</li> <li>Quinoline</li> <li>Purine</li> <li>Diterpene</li> <li>Steroidal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Morphine</li> <li>Quinine</li> <li>Lobeline</li> <li>Aconitine</li> <li>Ergonovine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cannabinaceous</li> <li>Rubiaceous</li> <li>Solanaceous</li> </ul>

Secara umum alkaloid dikelompokkan dalam 2 bagian yaitu (i) heterosiklik (ii) non heterosiklik.

Alkaloid heterosiklik



Alkaloid non heterosiklik



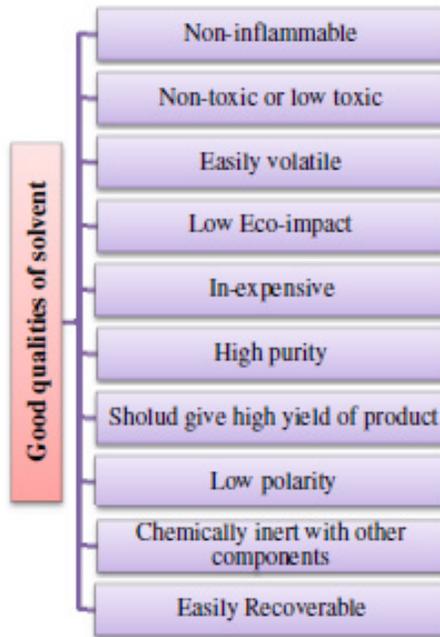
## 5.2 Metode Ekstraksi Alkaloid

### ***Persiapan sampel***

Bahan tumbuhan segar yang digunakan dalam proses ekstraksi. Namun pada umumnya bahan yang digunakan merupakan bahan tumbuhan yang telah dikeringkan. Metode pengeringan harus dalam keadaan yang terkontrol dengan pengeringan udara tanpa penggunaan temperatur tinggi. Bahan tumbuhan yang kering ini dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Sampel tumbuhan dapat digiling menjadi bentuk serbuk kering untuk dapat memperoleh kontak efektif yang maksimum antara pelarut dengan alkaloid dalam jaringan tumbuhan. Untuk tumbuhan yang memiliki kandungan minyak dan lemak seperti biji dan kernel, maka komponen kimia non-alkaloid ini harus dihilangkan dengan ekstraksi soxhlet dengan pelarut non-polar yang sesuai seperti n-heksana dan petroleum eter.

### ***Pemilihan pelarut***

Pelarut memiliki peran yang penting dalam langkah ekstraksi dan pemilihannya tergantung pada jenis bahan tumbuhan. Secara umum alcohol, etil asetat, kloroform dan air digunakan sebagai pelarut. Alkohol digunakan dalam tahap *pretreatment* untuk menghilangkan kandungan klorofil dan impuritis. Pelarut harus memiliki sifat tertentu seperti toksisitas yang rendah, mudah penggunaan dan penyimpanannya, dan inert. Pelarut yang baik harus memiliki sifat-sifat berikut:



### ***Ekstraksi alkaloid***

Alkaloid dalam suatu tumbuhan memiliki struktur kimia yang beragam dan dalam jumlah yang banyak. Oleh karenanya tidak mudah mengidentifikasi alkaloid dalam tumbuhan hanya dengan metode kromatografi tunggal. Selain itu luasnya kelarutan alkaloid dalam beberapa pelarut juga menjadi kerumitan tersendiri. Beberapa langkah yang dapat dilakukan untuk melakukan ekstraksi alkaloid diantaranya adalah:

1. Deteksi adanya alkaloid dalam ekstrak tumbuhan  
 Deteksi awal adanya senyawa alkaloid dapat dilakukan dengan menambahkan pereaksi warna alkaloid ke dalam ekstrak tumbuhan.
2. Proses ekstraksi  
 Berdasarkan sifat kebiasaannya, pada umumnya alkaloid diekstrak dari tumbuhan dengan menambahkan pelarut alcohol yang diasamkan dengan suatu asam lemah (HCl 1 M atau asam asetat 10%). Penambahan asam akan menyebabkan alkaloid berubah dalam bentuk garamnya yang dalam pelarut alcohol berair. Selanjutnya larutan alcohol dipisahkan dari komponen ekstrak yang tidak larut. penambahan basa lemah tetes

per tetes seperti ammonia atau ammonium hidroksida ke dalam larutan alcohol menyebabkan garam alkaloid kembali menjadi alkaloid semula yang tidak larut dalam larutan berair. Ekstraksi menggunakan pelarut non polar seperti kloroform menyebabkan alkaloid berpindah dari fase air ke fase pelarut organic. Selanjutnya pelarut organic diuapkan sehingga diperoleh alkaloid kasar.

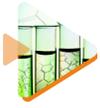
### **5.3 Metode Identifikasi Alkaloid**

Alkaloid kasar yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan disemprot dengan beberapa pereaksi alkaloid yaitu:

- a. Pereaksi Dragendorff, hasil positif memberikan warna kuning kecoklatan dengan latar belakang warna kuning dari pereaksi
- b. Pereaksi Iodoplatinat, hasil positif memberikan warna yang beragam
- c. Pereaksi Marquis, hasil positif memberikan warna kuning hingga ungu

#### **Latihan Soal**

1. Jelaskan dan gambar kerangka dasar struktur senyawa alkaloid!
2. Jelaskan metode ekstraksi umum untuk memisahkan senyawa alkaloid dari tumbuhan!
3. Jelaskan metode skrining fitokimia yang khas untuk senyawa alkaloid!



## 6. Terpenoid

### Capaian Pembelajaran

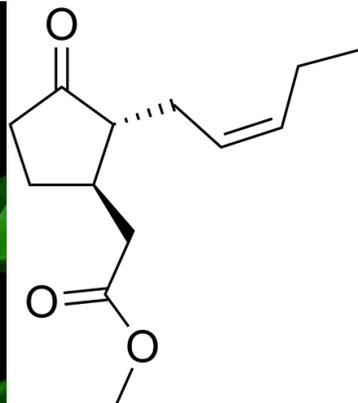
Setelah mempelajari bab 6 ini mahasiswa dapat :

- Memahami dan menjelaskan pengertian senyawa terpenoid dan klasifikasinya
- Memahami dan menjelaskan metode ekstraksi dan identifikasi senyawa terpenoid

### 6.1 Pengertian Terpenoid

Senyawa terpena merupakan kelompok senyawa organik hidrokarbon yang melimpah yang dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Terpenoid juga dihasilkan oleh serangga. Senyawaan ini pada umumnya memberikan bau yang kuat dan dapat melindungi tumbuhan dari herbivora dan predator.

Terpenoid juga merupakan komponen utama dalam minyak atsiri dari beberapa jenis tumbuhan dan bunga. Minyak atsiri digunakan secara luas untuk wangi-wangian parfum, dan digunakan dalam pengobatan seperti aromaterapi.



Gambar 6.1 Metil jasmonat, suatu monoterpenoid dalam kelopak bunga melati

Terpena merupakan komponen utama dalam minyak turpentine. Nama "terpena" berasal dari kata turpentine (terpentine). Senyawaan terpena juga

merupakan salah satu senyawa pembangun utama dalam biosintesis. Sebagai contoh, steroid merupakan turunan dari triterpene squalene.

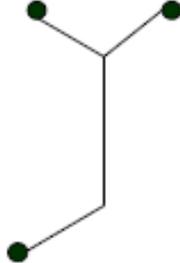
### Aturan isoprena

Terdapat sekitar 30 ribu jenis senyawa terpena yang telah diemukan. Struktur dasar senyawa terpena merupakan residu 2 metilbutana atau lebih tepatnya atau sering disebut sebagai unit isoprene,  $(C_5)_n$ . Aturan ini dicetuskan oleh Ruzicka dan Wallach. Dekomposisi termal terpenoid memberikan isoprena sebagai salah satu produk sehingga oleh Otto Wallach disimpulkan bahwa terpenoid dapat dibangun dari unit isoprena. Aturan isoprena menyatakan bahwa molekul terpenoid dibangun dari dua atau lebih unit isoprene.

Senyawa terpena disebut juga sebagai isoprenoid. Di alam, senyawa terpena didominasi sebagai gugus hidrokarbon, alkohol, glikosida, eter, aldehida, keton, asam karboksilat dan esternya

Lebih lanjut, Ingold (1921) mengusulkan bahwa unit isoprena bergabung dalam terpenoid melalui model 'kepala ke ekor'.

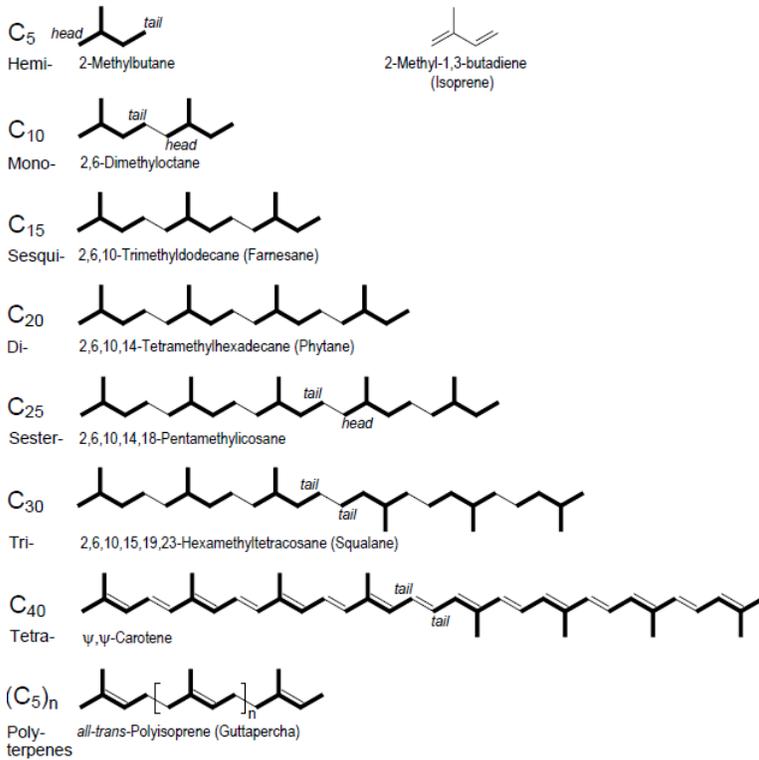
Aturan isoprena khusus menyatakan bahwa molekul terpenoid dibangun dari dua atau lebih unit isoprena yang bergabung dengan gaya 'kepala ke ekor'.



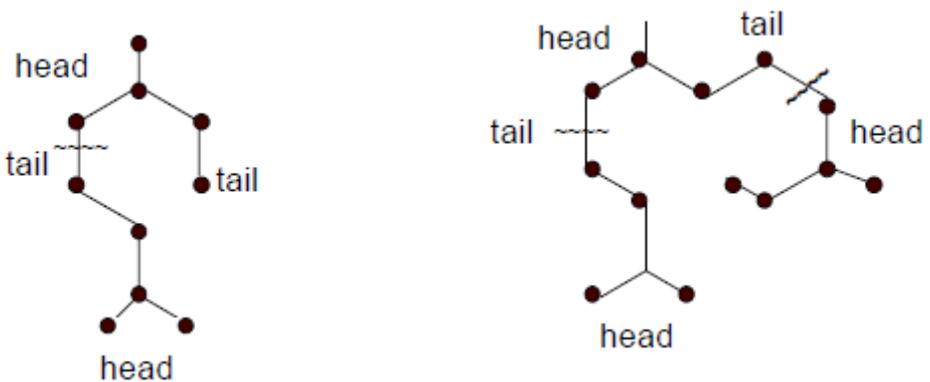
Tetapi aturan ini hanya dapat digunakan sebagai prinsip pemandu dan bukan sebagai aturan baku. Misalnya karotenoid bergabung dengan ekor ke ekor di pusatnya dan ada juga beberapa terpenoid yang kandungan karbonnya bukan kelipatan lima.

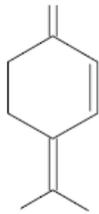
Yang membedakan antara hemi- ( $C_5$ ), mono- ( $C_{10}$ ), sesqui- ( $C_{15}$ ), di- ( $C_{20}$ ), sester- ( $C_{25}$ ), tri- ( $C_{30}$ ), tetraterpenes ( $C_{40}$ ) dan polyterpenes ( $C_5$ )<sup>n</sup> dengan  $n > 8$  adalah jumlah subunit 2-methylbutane (isoprene).



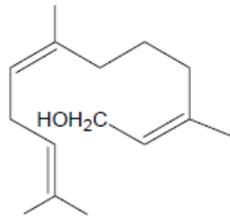


Bagian isopropil dari 2-methylbutane didefinisikan sebagai kepala, dan residu etil sebagai ekor. Dalam mono-, sesqui-, di- dan sesterterpena, unit isoprena dihubungkan satu sama lain dari kepala-ke-ekor.



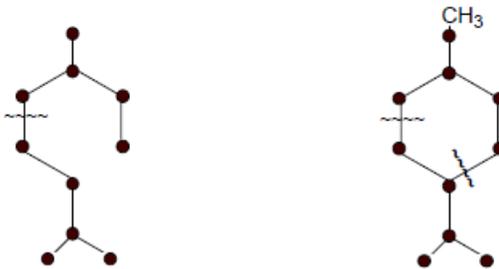


Myrcene  
(monoterpene)



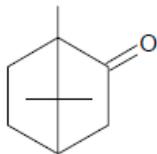
Farnesol (Sesquiterpene)

Aturan ini membatasi jumlah struktur yang mungkin dalam menutup rantai terbuka ke struktur cincin. Dengan demikian rantai terbuka monoterpenoid memunculkan hanya satu kemungkinan monoterpenoid monosiklik yaitu struktur p-cymene.

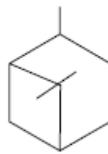


P-cymene structure

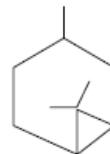
Monoterpenod bisiklik mengandung enam anggota dan tiga anggota cincin. Dengan demikian penutupan sepuluh rantai monoterpenoid terbuka karbon memberikan tiga struktur bisiklik yang mungkin.



Camphor  
(6+5) system



Pinane  
(6+4) system



Carane  
(6+3) System

## Karakteristik Terpenoid

Sebagian besar terpenoid tidak berwarna, merupakan cairan yang memiliki bau, memiliki berat jenis yang lebih ringan daripada air, mudah menguap dengan adanya uap air panas. Sedikit diantaranya berwujud padat

seperti camphor. Seluruh senyawa terpenoid dapat larut dalam pelarut organik dan biasanya tidak larut dalam air. Kebanyakan terpenoid bersifat optik aktif.

Struktur senyawa terpenoid merupakan alil siklik, beberapa diantaranya merupakan senyawa tak jenuh dengan satu atau lebih ikatan rangkap. Konsekuensinya senyawa mudah mengalami reaksi adisi dengan hydrogen, halogen, asam dan lain-lain. Sejumlah produk adisinya memiliki sifat antiseptic.

Terpenoid mudah mengalami reaksi polimerisasi dan dehidrogenasi serta mudah teroksidasi oleh agen pengoksidasi. Pada pemanasan, kebanyakan terpenoid menghasilkan isoprene sebagai salah satu produknya.

<i>Number of isoprene units</i>	<i>Carbon number</i>	<i>Name or class</i>	<i>Main types and occurrence</i>
1	C <sub>5</sub>	isoprene	detected in <i>Hamamelis japonica</i> leaf
2	C <sub>10</sub>	monoterpenoids	monoterpenes in plant essential oils (e.g. menthol from mint) monoterpene lactones (e.g. nepetalactone)
3	C <sub>15</sub>	sesquiterpenoids	tropolones (in gymnosperm woods) sesquiterpenes in essential oils sesquiterpene lactones (especially common in Compositae)
4	C <sub>20</sub>	diterpenoids	abscisins (e.g. abscisic acid) diterpene acids in plant resins gibberellins (e.g. gibberellic acid)
6	C <sub>30</sub>	triterpenoids	sterols (e.g. sitosterol) triterpenes (e.g. $\beta$ -amyrin) saponins (e.g. yamogenin) cardiac glycosides
8	C <sub>40</sub>	tetraterpenoids	carotenoids* (e.g. $\beta$ -carotene)
n	C <sub>n</sub>	polyisoprene	rubber, e.g. in <i>Hevea brasiliensis</i>

## 6.2 Metode Ekstraksi Terpenoid

Metode ekstraksi yang umum dilakukan untuk terpenoid adalah semua metode ekstraksi menggunakan pelarut eter, petroleum eter, atau aseton.

Terpenoid dalam bentuk minyak atsiri baik mono- dan sesquiterpena dipisahkan menggunakan metode klasik seperti hidrodestilasi.

## 6.3 Metode Identifikasi Terpenoid

### Reagen Liebermann-Buchard

Pembentukan cincin coklat mengindikasikan adanya pitosterol

### Uji Salkowski

Penampakan warna kuning emas mengindikasikan adanya triterpen

### Uji Tembaga asetat

Pembentukan warna hijau emerald mengindikasikan adanya diterpen

### Metode Kedde

Hasil akan menunjukkan warna ungu.

### Metode Keller-Killiani

Hasil positif jika terlihat cincin merah bata menjadi biru atau ungu

### Antimon(III)klorida

Berpendar pada panjang gelombang 360 nm.

### p-anisaldehida / asam sulfat

Hasil yang terlihat spot berwarna ungu, biru, merah abu-abu atau hijau

### Timah(IV)klorida

Periksa dengan sinar UV pada panjang gelombang tampak dan besar.

### Vanilin / asam sulfat

Pembentukan warna merah-ungu mengindikasikan terpenoid

### Asam Fosfat

Untuk deteksi sterol, steroid

### Asam trifluoroasetat

Untuk deteksi steroid.

## Latihan Soal

1. Jelaskan dan gambar kerangka dasar struktur senyawa terpenoid!
2. Jelaskan metode ekstraksi umum untuk memisahkan senyawa terpenoid dari tumbuhan!
3. Jelaskan metode skrining fitokimia yang khas untuk senyawa terpenoid!





## 7. Poliketida

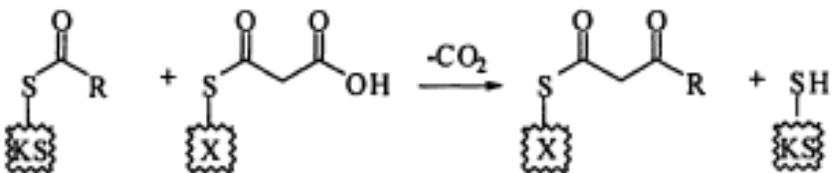
### Capaian Pembelajaran

Setelah mempelajari bab 7 ini mahasiswa dapat :

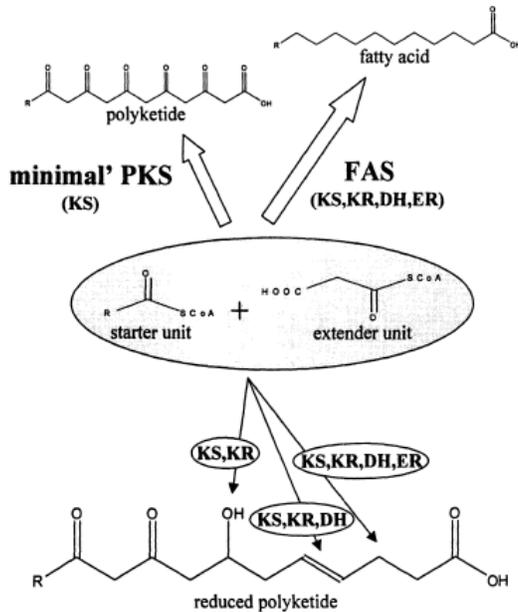
- Memahami dan menjelaskan pengertian senyawa poliketida dan klasifikasinya
- Memahami dan menjelaskan metode ekstraksi dan identifikasi senyawa poliketida

### 7.1 Pengertian Poliketida

Poliketida merupakan senyawa metabolit sekunder yang mengandung gugus karbonil dan gugus metilen yang tersusun secara selang-seling (beta-poliketone). Biosintesis poliketida dimulai dengan terjadinya reaksi kondensasi sebuah unit starter (asetil CoA atau propionil CoA) dengan sebuah unit penyambung (pada umumnya malonil CoA atau metil malonil CoA, dilanjutkan dengan reaksi dekarboksilasi unit penyambung. Kondensasi dekarboksilatif berulang menghasilkan pemanjangan rantai karbon poliketida, dan modifikasi tambahan seperti ketoreduksi, dehidratasi, dan enoilreduksi juga dapat terjadi.



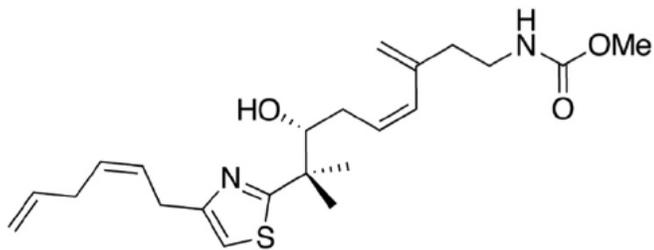
Unit starter                      unit penyambung



Gambar 7.1 Biosintesis poliketida

Poliketida berasal dari kata “poli” yang berarti banyak dan ketida yang menunjukkan adanya ketida ( $-\text{CH}_2\text{COCO}$ ). Hal ini dikarenakan suatu poliketida ditandai dengan dimilikinya pola berulang suatu ketida  $-\text{[CH}_2\text{CO]}_n$  dalam rangkaian strukturnya.

Walaupun sebagian besar poliketida diproduksi oleh mikroba (bakteri dan fungi), poliketida dan turunannya juga ditemukan di makhluk hidup lainnya seperti dalam tumbuhan (misalnya, flavonoid), serangga (misalnya, hydroxy-acetophenones), moluska (misalnya, haminol), spons (misalnya, mycothiazole), alga (misalnya, bromoallene acetogenins), lumut kerak (misalnya, asam usnat), dan crinoid (misalnya, polyhydroxyanthraquinone).

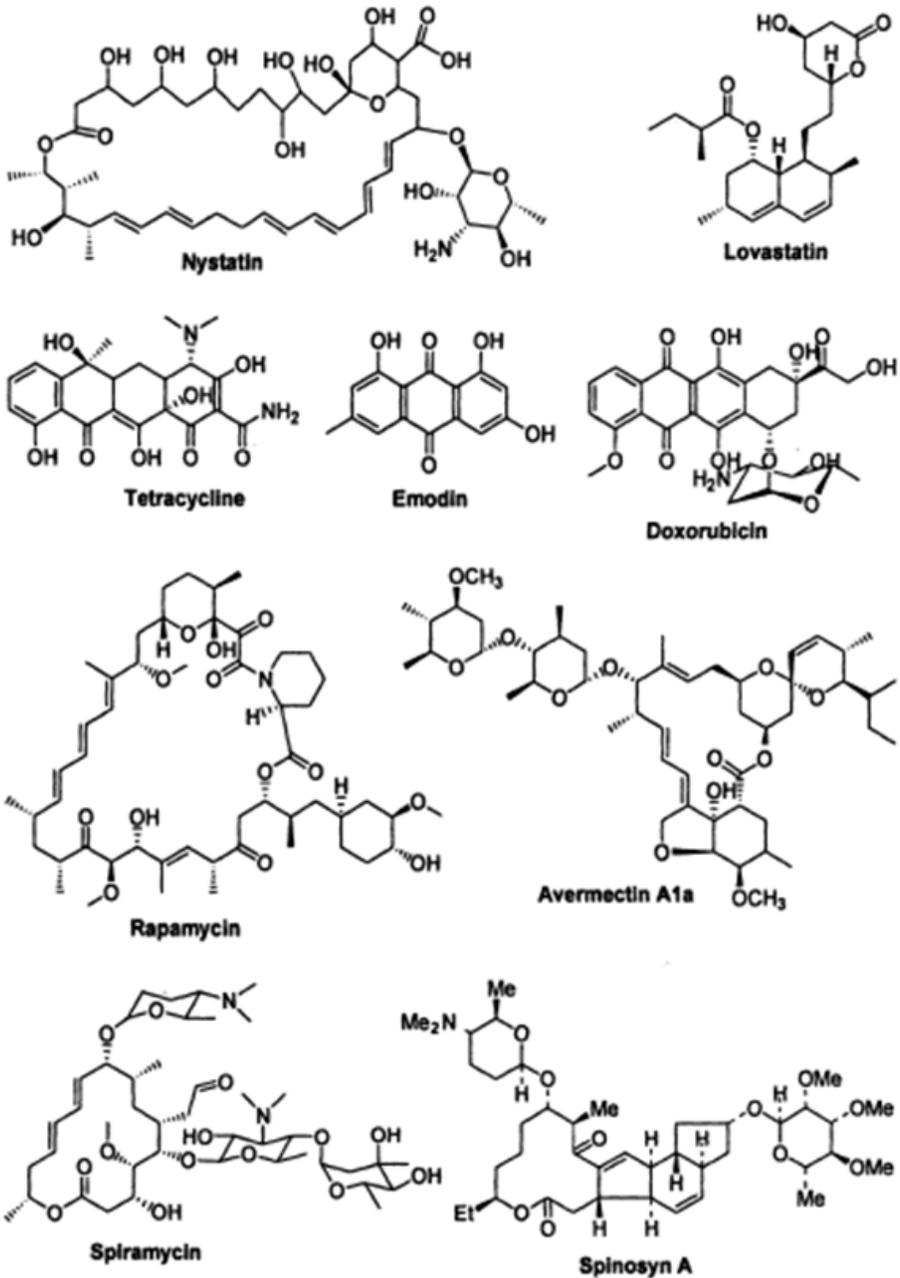


Gambar 7.2 Senyawa mycothiazole, suatu poliketida yang terdapat dalam sponge

Secara keseluruhan, poliketida mewakili kelas bahan alam terbesar dan paling beragam dalam struktur dan fungsi. Kelas-kelas senyawa yang berbeda telah dikelompokkan berdasarkan fitur struktural umum, namun karena keragamannya yang sangat besar, skema klasifikasi terpadu belum muncul. Salah satu perbedaan utama yang telah diketahui adalah kelompok senyawa-senyawa yang berasal dari rantai poliketon yang tidak tereduksi yang sebagian besar aromatik, dan kelompok di mana gugus karbonil sebagian besar berkurang.

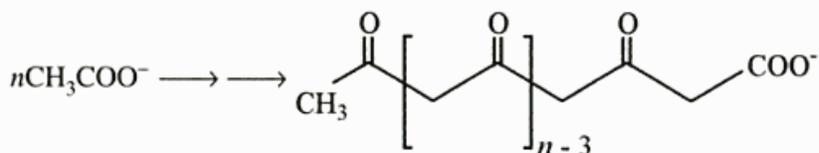
Poliketida dan turunannya telah menjadi pusat perhatian karena kemampuannya sebagai antibiotik dan agen terapi baru. Sekitar 1% dari 5000 hingga 10.000 poliketida telah diketahui aktivitas biologisnya dan 205 diantaranya telah diproduksi secara masal oleh industry farmasi. Beberapa contoh antibiotik turunan poliketida diantaranya tetracycline, erythromycin,

nystatin, avermectin, and spiramycin, agen antikanker doxorubicin, agen hypocholesterol lovastatin, and immunosuppressant rapamycin.



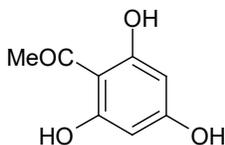
Gambar 7.3 Beberapa senyawa poliketida

Secara umum senyawa poliketida memiliki struktur  $\text{CH}_3[\text{CH}_2\text{CO}]_n\text{COOH}$  yang disebut ketida atau poli-beta-keto. Berdasarkan struktur poliketida tersebut, secara trivial poliketida memiliki nama poliketida atau alkan poli-on. Sedangkan secara IUPAC diberi nama polialkanon.



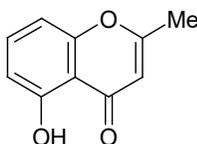
### Pengelompokan poliketida:

Turunan asilfloroglusinol



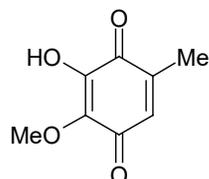
floroasetofenon

Turunan kromon



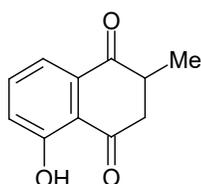
5-hidroksi-2-metilkromon

Turunan benzokuinon



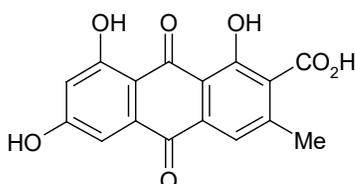
fumigatin

Turunan naftakuinon



plumbagin

Turunan antrakuinon



endokrosin

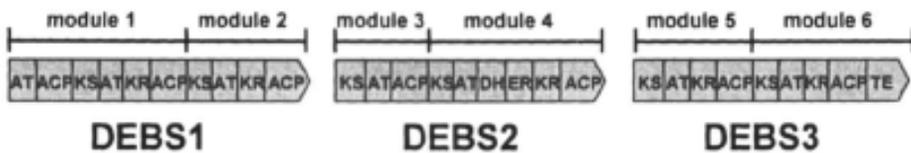
Gambar 7.4 Pengelompokan poliketida berdasarkan strukturnya

### Sumber-sumber Poliketida

Poliketida banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan karena dapat diisolasi dari tumbuhan-tumbuhan yang ada di sekitar kita. Poliketida dapat diisolasi dari mikroba, jamur *Aspergillus terreus*, tomat, jagung dan invertebrate yang jumlahnya cukup besar. Poliketida adalah keluarga besar metabolit

sekunder dengan struktur yang beragam dan aktivitas biologis. Banyak dari mereka yang secara klinis senyawa penting seperti anti-biotik, anti-jamur, dan obat anti-kanker. Biosintesis poliketida dikatalisis oleh enzim yang disebut polyketide Sintase (PKSS). Rantai karbon dari poliketida dibentuk melalui kondensasi *decarboxylative* bertahap unit asil-thioester menggunakan kelompok terkoordinasi PKS domain. Gen yang mengkode PKS biasanya bergerombol dengan unsur-unsur tambahan dan peraturannya pada genom dan produknya diklasifikasikan ke dalam tipe I, II, dan III tergantung pada organisasi domainnya.

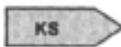
### Type I (erythromycin A):



### Type II (actinorhodin):



### Type III (tetrahydroxychalcone)



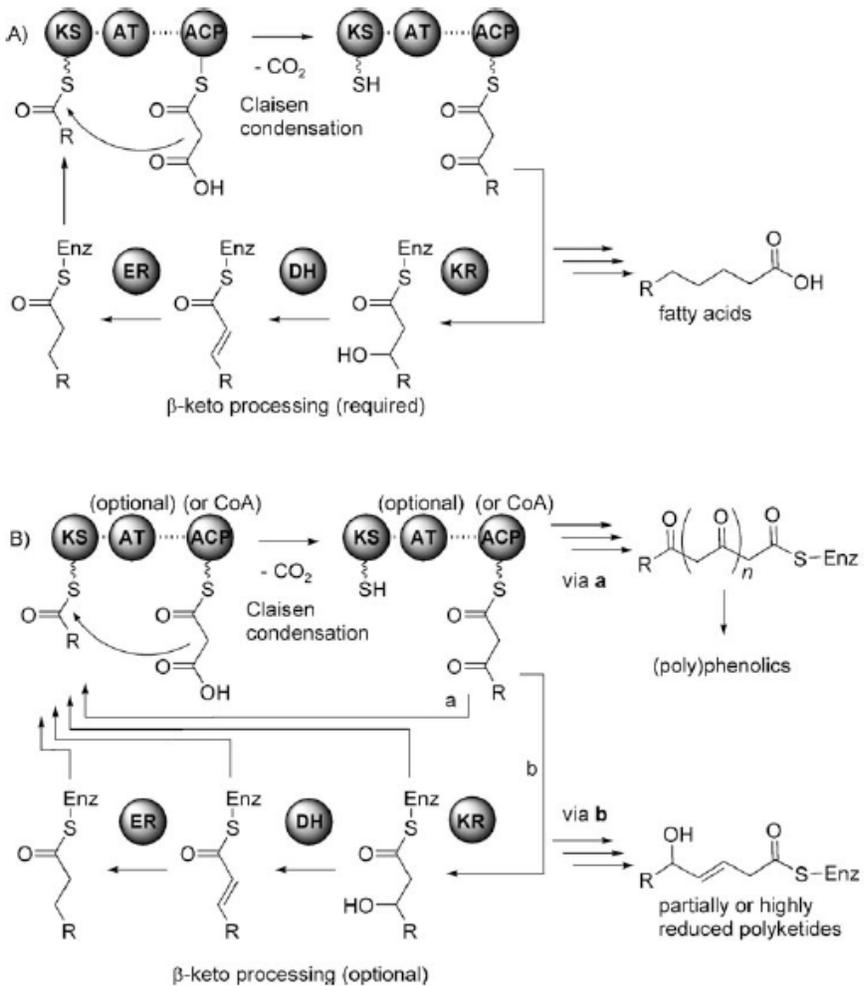
Gambar 7.5 Klasifikasi genom dan produk dalam biosintesis poliketida

### Biosintesis poliketida

Penelitian bidang biosintesis dimulai pada tahun 1953 oleh Birch dan Donovan. Peneliti tersebut mengusulkan jalur biosintesis baru untuk poliketida yang menggunakan mekanisme serupa dengan mekanisme biosintesis asam

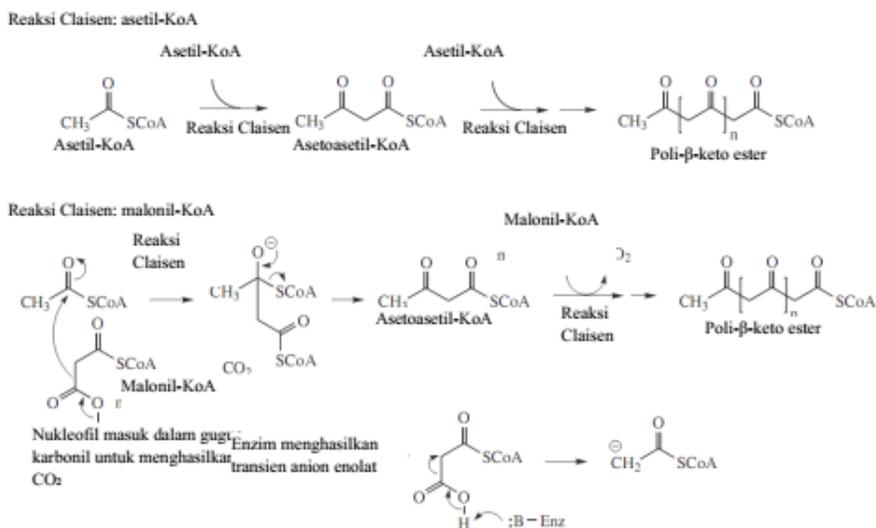
lemak. Hipotesisnya dikenal sebagai hipotesis poliasetat yang menyatakan bahwa "poliketida dibentuk oleh hubungan kepala-ke-ekor unit asetat, diikuti oleh siklisasi dengan reaksi aldol atau dengan asilasi fenol". Pembentukan rantai poli-beta-keto dapat digambarkan sebagai sederet reaksi Claisen.

Poliketida tersebut diproduksi melalui kondensasi bertahap yang sederhana dari prekursor asam karboksilat yang menyerupai biosintesis asam lemak. Biosintesis tersebut dilakukan oleh enzim Polyketide synthetase (PKSs). Selain senyawa di atas, contoh poliketida lainnya antara lain aflatoxin, diskodermolida, antibiotik poliena, makrolida dan tetrasiklin.



Gambar 7.6 Proses kondensasi dalam biosintesis poliketida

Proses perpanjangan biosintesis poliketida terjadi pada  $C_2$  poliketida dan berlangsung secara kondensasi Claisen. Bentuk aktif dari unit  $C_2$  ini adalah Asetil KoA dan Malonil KoA (dari karboksilasi asetil KoA). Jadi, 2 molekul asetil-KoA dapat ikut serta dalam reaksi Claisen membentuk asetoasetil-KoA, kemudian reaksi dapat berlanjut sampai dihasilkan rantai poli-beta-keto.



Gambar 7.7 Reaksi Claisen dalam biosintesis poliketida

Kegunaan senyawa-senyawa poliketida yaitu:

1. Sebagai antibiotik. Golongan yang sering dimanfaatkan diantaranya golongan makrolida (eritromisin, azitromisin, klaritromisin, roksitromisin), golongan ketolida (telitromisin), golongan tetrasiklin (doksisisiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin).
2. Sebagai obat kolesterol (anti kolesterol), misalnya senyawa lovastatin.
3. Sebagai anti jamur, misalnya senyawa amfoterisin.
4. Sebagai anti kanker, misalnya senyawa epotilon.

## 7.2 Metode Ekstraksi Poliketida

Pada umumnya senyawa poliketida bersifat nonpolar sehingga dapat dipisahkan menggunakan pelarut yang nonpolar seperti n-heksana, kloroform, metilenklorida, dan etil asetat. Pemisahan dapat dilakukan dengan beberapa tahapan ekstraksi dan metode pemisahan. Misalnya dimulai dengan

melakukan maserasi atau perkolasi menggunakan pelarut alcohol (methanol atau ethanol). Ekstrak kasar yang diperoleh selanjutnya dapat dipisahkan menggunakan metode *vacuum liquid chromatography* dan kromatografi kolom atau kromatografi lapis tipis preparatif. Metode yang lebih modern juga dapat digunakan misalnya menggunakan HPLC preparatif.

### **Latihan Soal**

1. Jelaskan dan gambar kerangka dasar struktur senyawa poliketida!
2. Jelaskan metode ekstraksi umum untuk memisahkan senyawa poliketida dari tumbuhan!

# Glikosida

## Capaian Pembelajaran

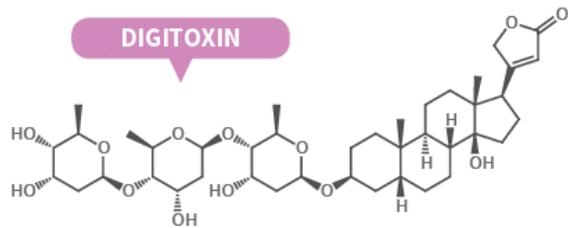
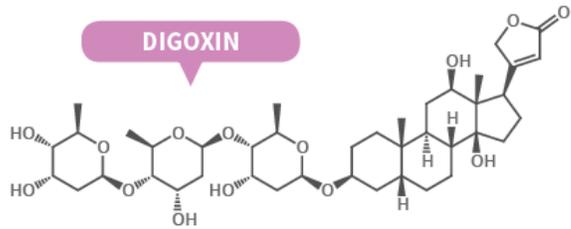
Setelah mempelajari bab 8 ini mahasiswa dapat :

- Memahami dan menjelaskan pengertian senyawa glikosida dan klasifikasinya
- Memahami dan menjelaskan metode ekstraksi dan identifikasi senyawa glikosida

## 7.3 Pengertian Glikosida

Glikosida adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Glikosida memainkan peranan penting dalam sistem hidup suatu organisme. Beberapa tumbuhan menyimpan senyawa-senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa-senyawa kimia ini akan dapat kembali aktif dengan bantuan enzim hidrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap untuk digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan digunakan dalam pengobatan.





Gambar 7.8 Senyawa digoxin dan digitoxin, dua senyawa glikosida jantung yang terdapat dalam tumbuhan *Digitalis purpurea*

Bagian gula suatu glikosida terikat pada atom C anomerik membentuk ikatan glikosida. Glikosida dapat terikat oleh atom O- (O-glikosida), N- (glikosida amin), S- (thioglikosida), C- (C-glikosida). Bagian gula suatu glikosida disebut sebagai glikon, dan bagian bukan gula disebut sebagai aglikon atau genin. Glikon dapat terdiri dari gula tunggal (monosakarida) atau beberapa unit gula (oligosakarida).

Amygdalin merupakan glikosida yang pertama kali diidentifikasi oleh kimiawan berkebangsaan Perancis, Pierre Robiquet dan Antoine Boutron-Charlard pada tahun 1830.

Tumbuhan memiliki banyak jenis enzim yang dapat membentuk dan memutus ikatan glikosida. Enzim paling dalam reaksi pemutusan adalah glikosida hidrosilasi, dan enzim paling penting dalam sintesis glikosida adalah glikosiltransferase.

## ***Klasifikasi Glikosida***

Glikosida diklasifikasikan berdasarkan jenis glikon, jenis aglikon dan jenis ikatan glikosidanya

### ***Klasifikasi berdasarkan glikon***

Apabila gugus glikon suatu glikosida adalah glukosa maka molekulnya dinamakan sebagai glukosida,

Apabila gugus glikon suatu glikosida adalah fruktosa maka molekulnya dinamakan sebagai fruktosida,

Apabila gugus glikon suatu glikosida adalah asam glukuronat maka molekulnya dinamakan sebagai glukuronida dan sebagainya.

Dalam tubuh, senyawa racun seringkali terikat oleh asam glukuronat untuk meningkatkan kelarutannya dalam air menghasilkan glukuronida yang dapat tereksresikan dari dalam tubuh.

### ***Klasifikasi berdasarkan ikatan glikosida.***

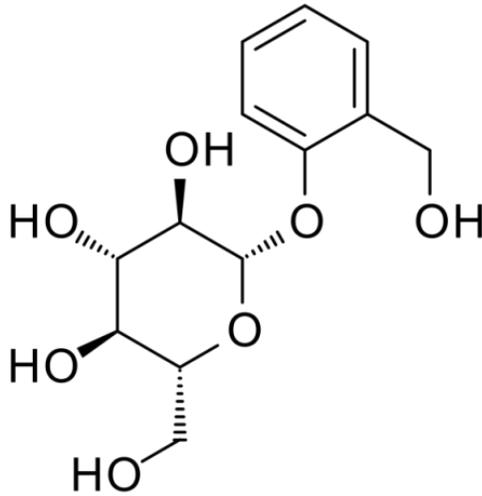
Berdasarkan letak ikatan glikosida, di bawah atau di atas dari struktur datar molekul gula, maka glikosida dapat diklasifikasikan sebagai alfa-glikosida (bawah) atau beta-glikosida (atas). Beberapa enzim seperti alfa-amilase hanya dapat menghidrolisis ikatan-alfa.

### ***Klasifikasi berdasarkan aglikon***

Glikosida juga diklasifikasikan berdasarkan senyawa aglikon alamiahnya. Klasifikasi ini banyak digunakan untuk tujuan keimunan biokimia dan farmakologi.

#### **A. Glikosida alkohol (Alcoholic glycosides)**

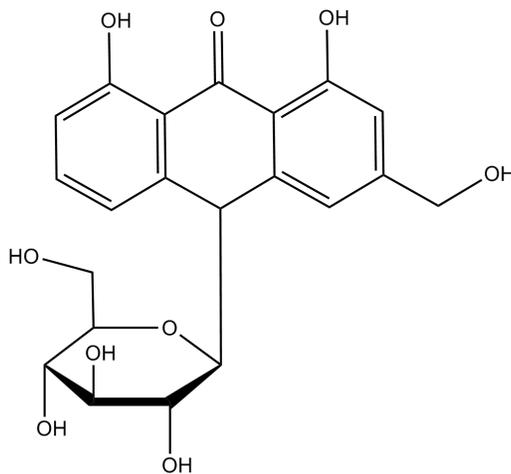
Contoh glikosida alkohol adalah salicin yang dapat ditemukan dalam genus *Salix*. Salicin dalam tubuh diubah menjadi asam salisilat yang berkaitan erat dengan senyawa aspirin yang memiliki efek analgesic, antipiretik, dan antiinflamasi.



*Salicin*

### B. Glikosida antraquinon (Anthraquinone glycosides)

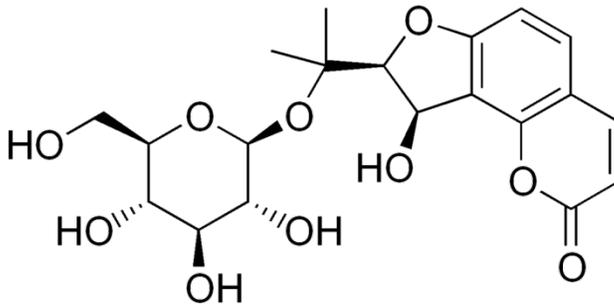
Glikosida jenis ini mengandung gugus aglikon yang merupakan turunan antraquinon. Glikosida jenis ini memiliki aktivitas laksatif (pencahar). Senyawa ini banyak ditemukan dalam semua tumbuhan dikotil. Glikosida ini juga ditemukan dalam tumbuhan monokotil yaitu pada family Liliaceae. Aloin merupakan contoh glikosida turunan antraquinon.



*Aloin*

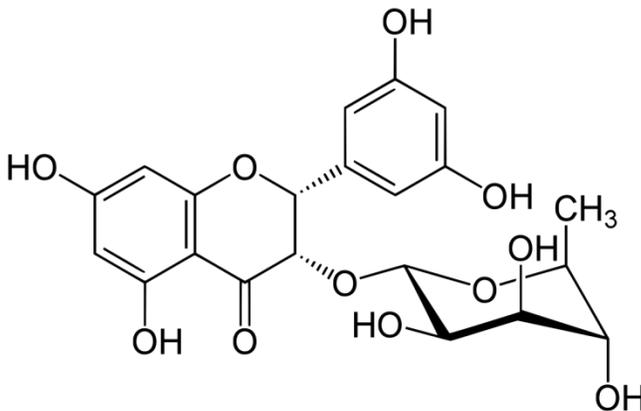
### C. Glikosida Kumarin (Coumarin glycosides)

Contoh dari glikosida kumarin adalah apterin yang dilaporkan memiliki aktivitas melebarkan arteri koroner serta memblokir saluran kalsium. Glikosida coumarin lainnya diperoleh dari daun kering tumbuhan *Psoralea corylifolia*.



### D. Glikosida Kromon (Chromone glycosides)

Contohnya adalah smitilbin



*Smitilbin*

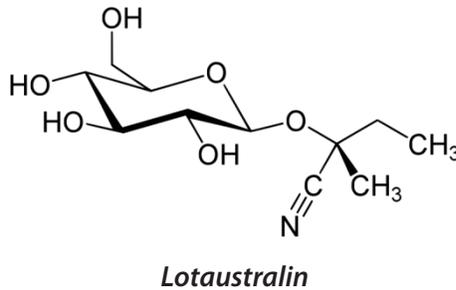
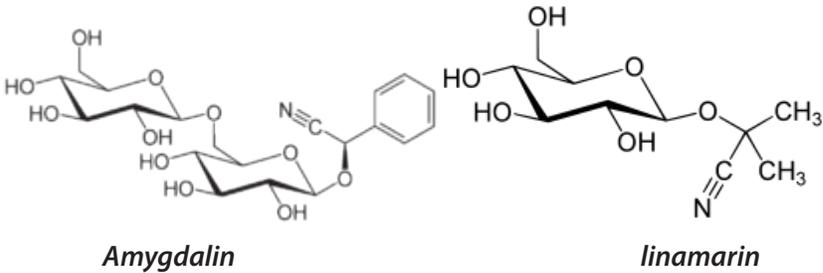
### E. Glikosida Sianogenik (Cyanogenic glycosides)

Dalam klasifikasi ini aglikon mengandung gugus cyanohydrin. Tumbuhan menyimpan glikosida sianogenik dalam vakuola, namun pada saat tumbuhan mendapat serangan dari luar lingkungan, maka tumbuhan akan melepaskan glikosida sianogenik dan mengaktifkan dengan bantuan enzim dalam sitoplasma. Enzim akan memutus gula pada molekul glikosida diikuti dengan terbentuknya struktur cyanohydrin dan melepaskan racun hydrogen sianida. Peristiwa ini disebut sebagai sianogenesis. Sianogenesis



adalah salah satu mekanisme yang dapat berfungsi pada tumbuhan sebagai alat pelindung terhadap pemangsa seperti herbivora. Kadar glikosida sianogenik yang dihasilkan tergantung pada usia dan variasi tumbuhan, serta faktor lingkungan.

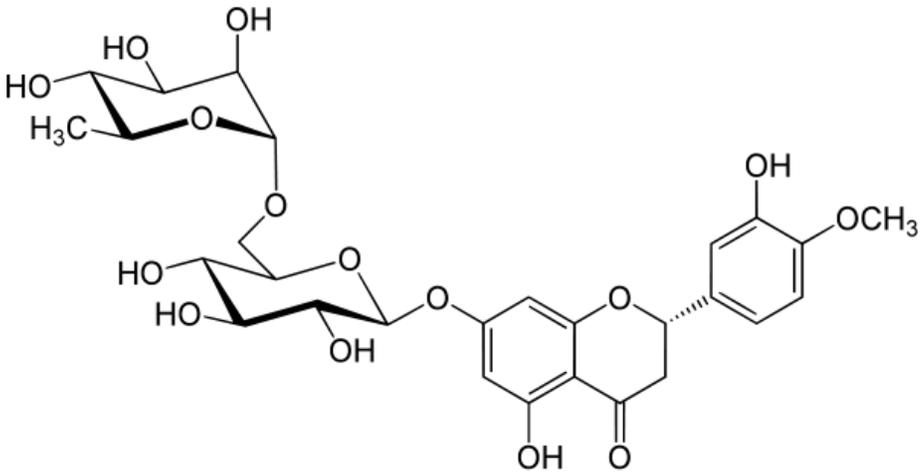
Contoh senyawa glikosida sianogenik adalah amygdalin dan prunasin yang menyebabkan rasa pahit pada pohon almond. Spesies lainnya yang menghasilkan glikosida sianogenik adalah sorgum (dhurrin), singkong (linamarin dan lotaustralin), talas, gadung, kacang koro (*Mucuna pruriens*).



Amygdalin dan senyawa sintesis turunan laetrile diketahui memiliki potensi sebagai obat untuk penyakit kanker.

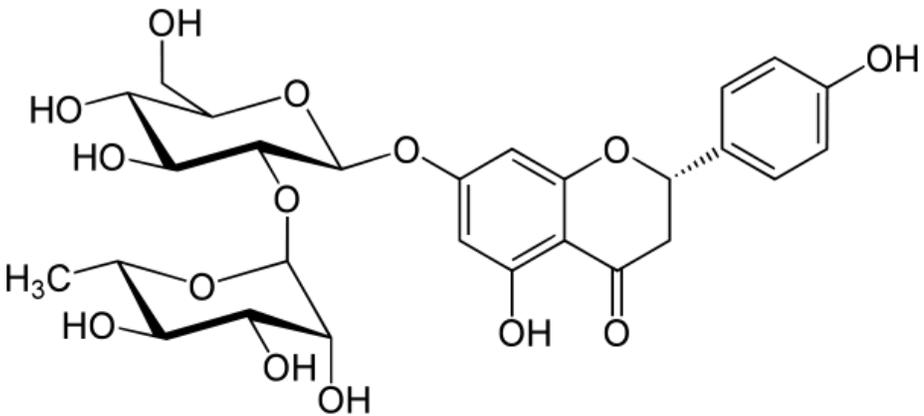
#### F. Glikosida flavonoid (Flavonoid glycosides)

Aglikon jenis glikosida ini adalah flavonoid. Contoh glikosida flavonoid diantaranya adalah: Hesperidin (aglikon: Hesperetin, glikon: Rutinose)



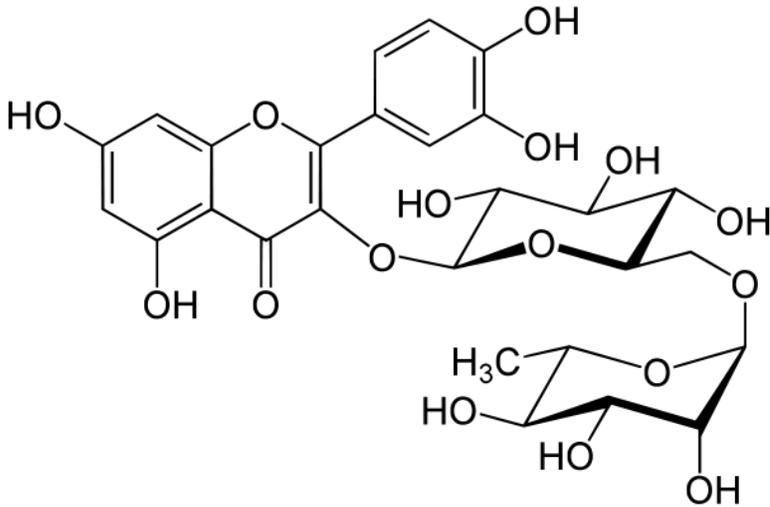
*Hesperidin*

Naringin (aglikon: Naringenin, glikon: Rutinose)



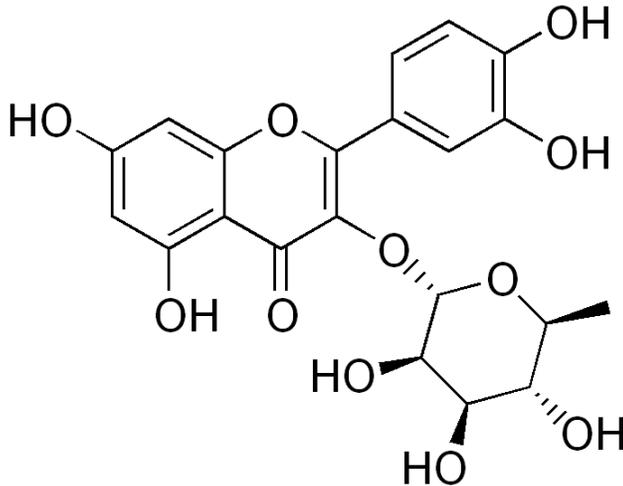
*Naringin*

Rutin (aglikon: Quercetin, glikon: Rutinose)



*Rutin*

Quercitrin (aglikon: Quercetin, glikon: Rhamnosa)

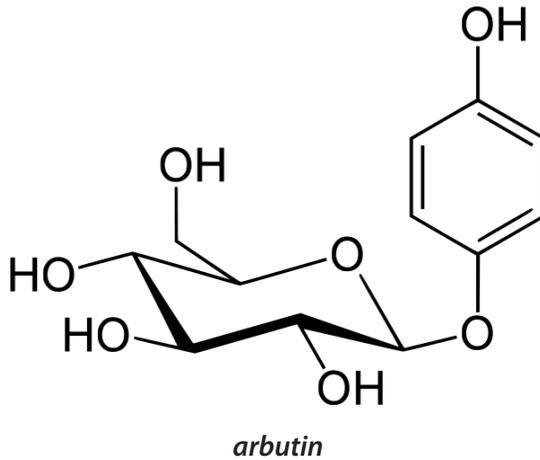


*Quercitrin*

Kebanyakan efek paling penting dari flavonoid adalah sebagai antioksidan. Senyawaan ini juga diketahui dapat mengurangi kerapuhan pembuluh kapiler.

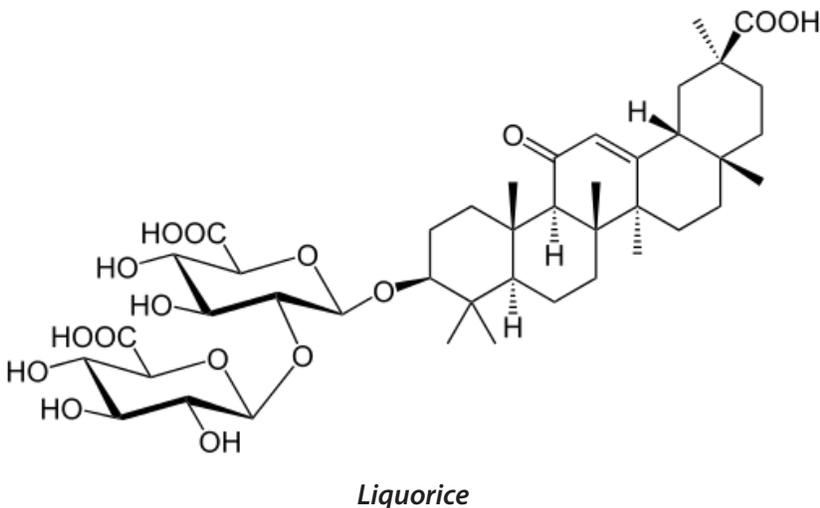
### G. Glikosida fenolik (Phenolic glycosides)

Dalam hal ini aglikonnya merupakan suatu struktur fenolik sederhana. Contohnya adalah arbutin yang ditemukan dalam Bearberry (*Arctostaphylos uvaursi*). Senyawa ini memiliki efek antiseptic pada kandung kemih.

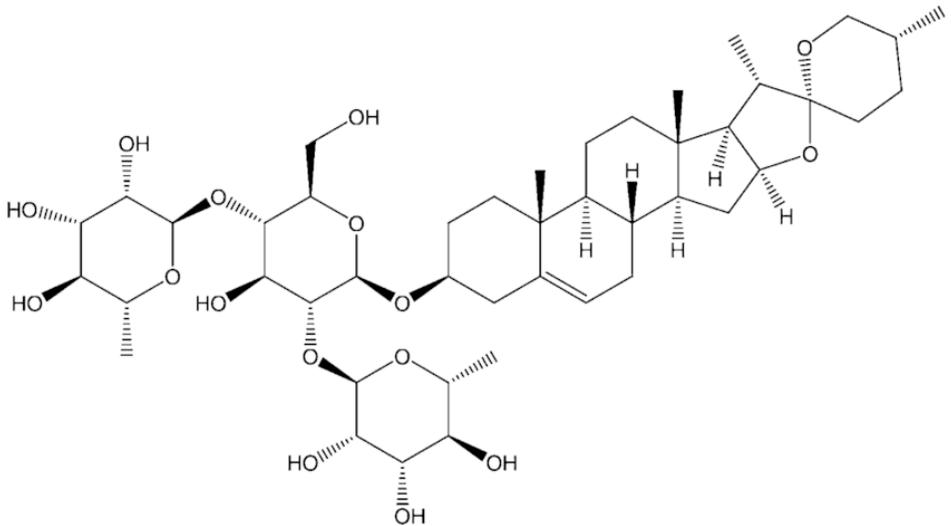


### H. Saponin

Senyawaan ini memberikan efek pembentukan gelembung yang permanen pada saat digojok bersama air. Senyawaan ini juga menyebabkan terjadinya hemolysis pada sel darah merah. Contoh senyawa glikosida saponin adalah liquorice. Senyawa ini memiliki aktivitas ekspektoran, dan anti-inflamasi.

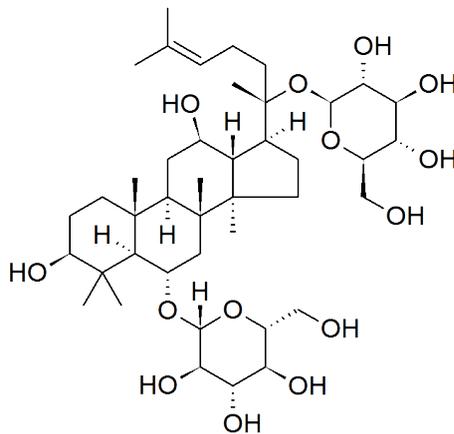


Senyawa diosgin yang merupakan glikosida dari saponin steroid diosgenin adalah suatu *starting material* penting dalam menghasilkan suatu senyawa semi-sintetik glucocorticoid dan steroid hormone sebagai progesterone.



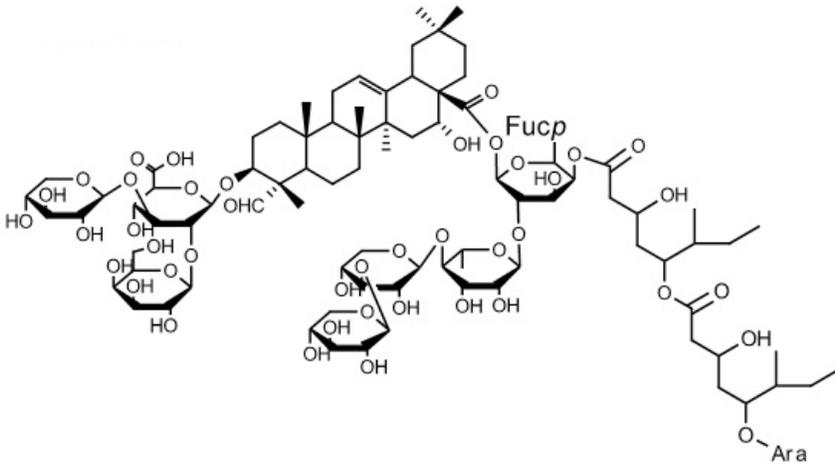
**Dioscin**

Senyawa ginsenosida adalah glikosida triterpenoid dari saponin (*Panax Ginseng* C. A. Meyer-Chinese ginseng) and *Panax quinquefolius* (American Ginseng).



**Ginsenosida**

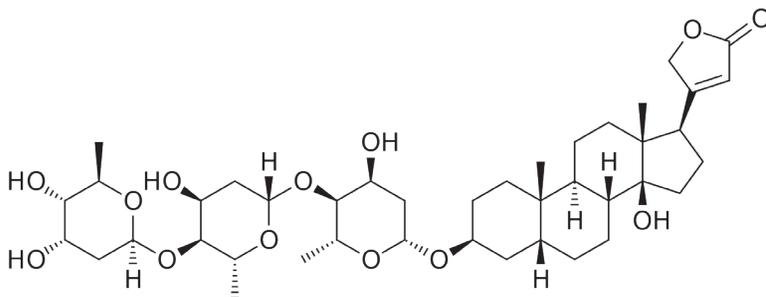
Secara umum, penggunaan istilah saponin dalam kimia organik tidak disarankan, karena banyak konstituen tumbuhan dapat menghasilkan busa, dan banyak triterpene-glikosida bersifat amphipolar dalam kondisi tertentu, bertindak sebagai surfaktan. Penggunaan saponin yang lebih modern dalam bioteknologi adalah sebagai adjuvant dalam vaksin: Quil A dan turunannya QS-21, diisolasi dari kulit *Quillaja saponaria* Molina, untuk menstimulasi baik respon imun Th1 dan produksi sitotoksik T-limfosit (CTLs) terhadap antigen eksogen membuat mereka ideal untuk digunakan dalam subunit vaksin dan vaksin yang diarahkan melawan patogen intraseluler serta untuk vaksin kanker terapeutik tetapi dengan efek samping hemolisis yang telah disebutkan sebelumnya.



QS-21

### I. Glikosida steroid (Steroidal glycosides) atau glikosida jantung

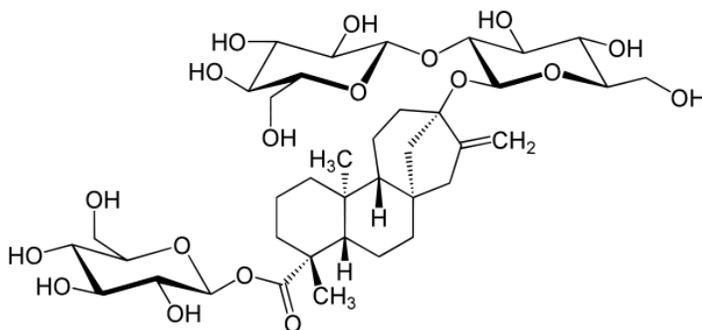
Aglikon pada glikosida ini adalah steroid. Glikosida jenis ini dapat ditemukan dalam tumbuhan *Digitalis*, *Scilla*, and *Strophanthus*. Senyawa ini digunakan dalam pengobatan penyakit jantung seperti gagal jantung kongestif dan arrhythmia. Contoh dari glikosida steroid adalah digitoxin.



*Digitoxin*

### J. Glikosida steviol (Steviol glycosides)

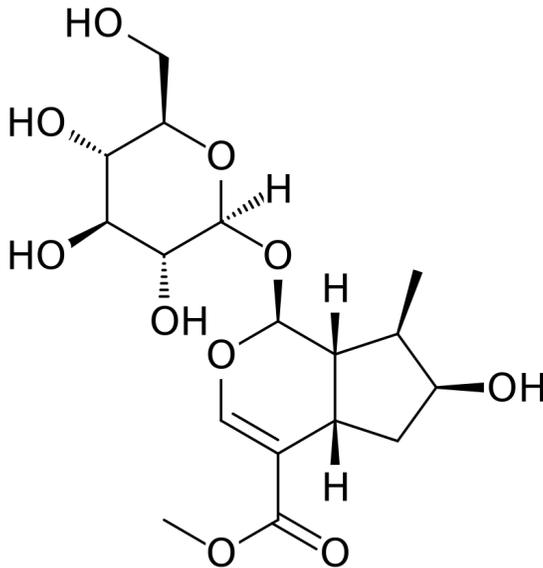
Glikosida yang manis ini ditemukan dalam tumbuhan stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) memiliki tingkat kemanisan 40-300 kali dibandingkan pemanis sukrosa. Glikosida utama dalam stevia yaitu steviosida and rebaudiosida A, digunakan sebagai pemanis alamiah di beberapa negara. Glikosida ini memiliki aglikon yang dinamakan steviol. glukosa atau kombinasi rhamnosa-glukosa berikatan pada bagian akhir aglikon membentuk senyawaan yang berbeda.



*Steviol*

### K. Glikosida Iridoid (Iridoid glycosides)

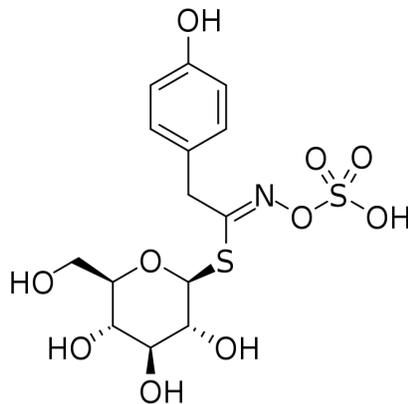
Glikosida ini mengandung gugus iridoil, contohnya adalah aucubin, geniposidic acid, theviridosida, Loganin, Catalpol.



*Loganin*

### L. Thioglikosida

Seperti namanya, glikosida ini mengandung atom sulfur.. Contohnya meliputi sinigrin, yang ditemukan dalam black mustard, and sinalbin, dalam white mustard.



*Sinalbin*

## **7.4 Metode Ekstraksi Glikosida**

Metode ekstraksi untuk senyawa glikosida mengikuti metode ekstraksi yang berlaku untuk masing-masing jenis aglikonnya.

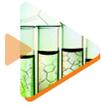
## **7.5 Metode Identifikasi Glikosida**

Glikosida dapat diidentifikasi secara kualitatif menggunakan pereaksi warna diantaranya:

### **Latihan Soal**

1. Jelaskan dan gambar kerangka dasar struktur senyawa glikosida!
2. Jelaskan metode ekstraksi umum untuk memisahkan senyawa glikosida dari tumbuhan!
3. Jelaskan metode skrining fitokimia yang khas untuk senyawa glikosida!





## 8. Suplemen: Pembuatan Reagen untuk Skrining Fitokimia

Untuk skrining secara kualitatif, ada beberapa metode standar yang biasa digunakan untuk mengenali adanya gugus fungsi tertentu

### Alkaloid

Untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid, ekstrak terlebih dahulu dilarutkan dalam HCl dan disaring. Selanjutnya filtrat yang dihasilkan diuji dengan beberapa reagen berikut.

#### **Uji Mayer**

Tambahkan setetes atau dua tetes reagen Mayer pada sejumlah kecil filtrat. Pemberian reagen dilakukan pada sisi tabung reaksi. Warna putih atau kuning keruh menunjukkan adanya alkaloid pada ekstrak yang diuji tersebut.

#### **Cara membuat Reagen Mayer:**

Larutkan 1,36 gram Merkuri klorida dalam 60 ml aquades dan 5 gram potasium iodida dengan 10 ml aquades.

Campurkan kedua larutan tersebut, tambahkan air distilasi sampai volume campuran mencapai 100 mL.

#### **Uji Wagner**

Beberapa tetes reagen Wagner ditampahkan melalui dinding tabung reaksi berisi sejumlah kecil filtrat ekstrak. Warna coklat kemerahan menunjukkan hasil positif adanya alkaloid

#### **Cara membuat Reagen tes Wagner (Iodo-potassium Iodida)**

Larutkan 2 gram iodium dan 6 gram potasium iodida dalam 100 ml air destilasi

#### **Uji Hager**

Uji Hager dilakukan dengan menambahkan reagen Hager pada filtrat. Adanya alkaloid ditandai dengan pembentukan warna kuning pada campuran tersebut.

## **Cara membuat Reagen Hager**

Reagen Hager dibuat dengan cara melarutkan 1 gram asam pikrat dalam 100 ml aquades

## **Iodoplatinat**

Reagen iodoplatinat dibuat dengan melarutkan 0,15 gram Kalium kloroplatina dan 3 gram Kalium iodida ke dalam 100 ml larutan asam hidroklorida

## **Reagen semprot untuk alkaloid**

### **Asam iodoplatinat**

Asam Iodoplatinat dibuat dengan melarutkan 3 mL asam kloroplatinat (hidrogen hexakloroplatinat) ke dalam 100 ml air. Di tempat lain, larutkan 6 gram Kalium Iodida dalam 100 mL air. Kemudian campur kedua larutan tersebut.

### **Dragendorff spray**

Larutan 1: larutkan 7 gram bismut nitrat dan 20 gram asam tartarat dalam 80 ml aquades

Larutan 2: larutkan 16 gram Kalium Iodida dalam 40 ml aquades.

Larutan stok: campur larutan 1 dan 2 dengan perbandingan volume 1 : 1. Larutan ini stabil beberapa minggu di dalam lemari pendingin.

Prosedur kerja: campurkan 10 gram asam tartarat, 50 ml aquades dan 5 ml larutan stok membentuk larutan. Gunakan untuk menyemprot

### **Formaldehida / asam sulfat**

Campurkan 37% formaldehid dengan asam sulfat pekat dengan perbandingan 1:10. Gunakan untuk menyemprot segera setelah meletakkan plat dalam chamber. Tidak diperlukan pemanasan. Hasilnya akan nampak spot dengan berbagai warna

### **Formaldehid /asam Fosfat**

Larutkan 0,03 gram formaldehid ke dalam 100 mL asam fosfat 85%, aduk menggunakan stirer dalam temperatur ruang. Larutan ini stabil selama beberapa minggu. Gunakan untuk menyemprot plat.

### **Asam nitrat / etanol**

Campurkan 50 tetes asam nitrat 65% ke dalam 100 mL etanol (bisa juga menggunakan konsentrasi yang lebih pekat). Jika diperlukan panaskan sampai 120 derajat celcius untuk beberapa waktu. Gunakan larutan ini untuk *spray*.

## Senyawa fenolik dan Flavonoid

### **Uji Reagen Alkali**

Pengujian dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan NaOH. Perubahan warna menjadi kuning pekat menandakan adanya flavonoid  
Cara lain dalam uji ini adalah menambahkan larutan amonium hidroksida 10% ke dalam ekstrak yang terlarut dalam sejumlah aquades. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning fluorescence

### **Uji Pb Asetat**

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dalam aquades. Kemudian ditambahkan 3 ml Pb asetat 10%. Perubahan larutan menjadi putih keruh menandakan adanya fenol.

### **Uji Gelatin**

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dalam 50 ml aquades. Kemudian tambahkan 2 ml larutan gelatin yang mengandung 10% NaCl. Campuran berwarna putih menandakan adanya senyawa fenolik.

### **Uji Ferri klorida**

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 ml aquades. Tambahkan beberapa tetes ferri klorida 5% netral. Warna hijau pekat menandakan adanya senyawa fenolik

### **Uji Magnesium dan reduksi asam hidroklorida**

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 ml alkohol. Masukkan potongan kecil pita magnesium dan HCl pekat beberapa tetes. Jika ada perubahan warna dari pink menjadi merah tua, menandakan adanya flavanol glikosida antimon (III) klorida

Semprot plat dengan larutan jenuh dari 25 gram antimon (III) klorida dalam kloroform. Panaskan pada suhu 100 derajat celsius selama 10 menit. Dengan cahaya UV, lihat spot fluoresen di panjang gelombang 360 nm

## **Reagen semprot untuk flavonoid dan senyawa fenolik**

### **Aluminium klorida**

Larutkan 1 gram aluminium klorida dalam 100 ml etanol 95%. Gunakan untuk menyemprot. Hasil terlihat dari warna kuning fluoresen dengan cahaya UV (360 nm)

### **Emerson (4-aminoantipirin/kalium heksasioferat)**

Untuk mendeteksi fenol

Larutan 1 : larutkan 1 gram aminiantipirin (4-aminophenazon) ke dalam 100 ml etanol 80%

Larutan 2 : larutkan 4 gram kalium heksasioferat(III) ke dalam 50 ml aquades. Tambahkan etanol sampai volume mencapai 100 ml

Prosedur kerja: semprot plat dengan larutan 1, keringkan 5 menit dengan udara hangat. semprot dengan larutan 2, keringkan kembali selama 5 menit. Tempatkan plat dalam chamber berisi uap amonia (larutan amonia 25%). pastikan lapisan tidak kontak dengan lartan amonia. Akan terlihat warna merah-orange naik menjadi spot pink salmon

### **P-Anisaldehyd / asam sulfat**

Campurkan 5 ml p-anisaldehyd ke dalam 50 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat 97%. Gunakan selalu larutan baru untuk menyemprot plat. Panaskan pada suhu 105 derajat celcius sampai spot terlihat. Latar belakang plat bisa dibuat lebih terang dengan semprotan uap air. Spot yang terlihat bisa berwarna ungu, biru, merah, abu-abu atau hijau

### **Reaksi Boute**

Untuk mendeteksi fenol. Keringkan dan panaskan plat kromatogram. Letakan plat panas dalam chamber yang berisi uap  $\text{NO}_2$  (dari asam nitrat pekat) selama 3 – 10 menit. Kemudian diuapi dengan uap  $\text{NH}_3$  (dari amonia pekat)

### **Reagen Chloranil**

Untuk mendeteksi fenol, semprot plat dengan larutan yang terbuat dari 1 gram tetrakloro-p-bonzoquinon dalam 100 ml toluen

## **Chloramine-T**

Larutkan 5 gram reagen dan 0,5 gram NaOH ke dalam 100 ml aquades. Digunakan untuk mendeteksi senyawa fenolik

## **DDQ**

Reagen DDQ (Diklorodisianobenzoquinon) dibuat dengan melarutkan 2 gram 2,3-dikloro-5,6-disiano-1,4-benzoquinon ke dalam 100 ml aquades. Digunakan untuk menyemprot plat mendeteksi fenol

## **2,6 dikloroquinon**

Larutkan 1,0 gram 2,6-dikloroquinon-4-kloroimida ke dalam 100 ml metanol. Untuk mendeteksi fenol, semprot plat dengan larutan baru. Kemudian panaskan pada suhu 110 derajat celcius selama 10 menit dan uapi dengan uap  $\text{NH}_3$

## **Etanolamina difenilborat**

Larutan 1 : larutkan 1 gram etanolamin difenilborat dalam 100 ml metanol

Larutan 2 : larutkan 5 gram polietilen glikol dalam 100 ml etanol

Prosedur kerja: untuk mendeteksi flavonoid, semprot plat dengan larutan 1 kemudian semprot dengan larutan 2. Amati dengan UV di panjang gelombang 365 nm

## **Reagen Fast Blue B**

Larutkan 0,5 gram Fast Blue B (tetraazotized di-o-anisidin) dalam aseton/ aquades (9:1, v/v). Selalu gunakan larutan baru.

Semprot plat dua kali dengan larutan tersebut. Lalu semprot berkali kali dengan larutan 0,1M NaOH. Hasil: Senyawa Cannabinoid ditunjukkan dengan berubahnya warna menjadi merah tua/ungu.

## **Feri klorida / asam sulfat**

Larutkan 2 gram  $\text{FeCl}_3$  dalam 83 ml n-butanol dan 15 ml asam sulfat pekat.

Gunakan larutan tersebut untuk menyemprot KLT. Panaskan pada suhu 110°C selama 5 – 30 menit.

Cek hasilnya setiap 5-10 menit untuk melihat adanya warna atau spot fluoresens di panjang gelombang 254 nm dan 360 nm. Pengamatan bisa diteruskan sampai spot menjadi berwarna coklat, abu-abu atau hitam.

### **Feri klorida – Kalium ferisianida**

Larutkan 3 gram Feri klorida dan 3 gram Kalium ferisianida ke dalam 100 ml 2M asam hidroklorida. Digunakan untuk mendeteksi senyawa fenolik dan amina aromatik

### **Reagen Gibb**

Untuk mendeteksi fenol. Larutkan 3 gram 2,6-dibromo-N-kloro-p-benzoquinon imina dalam 100 ml metanol atau toluen

### **Pb tetraasetat (Lead tetraacetate)**

Larutan 1: larutkan 2 gram Pb tetraasetat ke dalam 100 ml asam asetat glasial  
Larutan 2: larutkan 1 gram 2,7-dikloroflouresen dalam 100 ml etanol  
Campurkan larutan 1 dan 2 masing-masing 5 ml, dan tambahkan toluene kering sampai 200 ml. Larutan reagen ini hanya stabil selama 2 jam

### **Tetrasianoetilen (reagen TCNE)**

Untuk mendeteksi fenol. Larutkan 0,5 – 1 gram tetrasianoetilen ke dalam diklorometan atau toluen. Gunakan untuk menyemprot plat. Panaskan pada suhu 100 derajat celcius dalam waktu singkat.

### **Reagen TNF (trinitrofluorenon)**

Larutkan 2 gram 2,4,7-trinitrofluorenon dalam 100 ml toluen. Gunakan untuk menyemprot plat.

### **O-Tolidin, diazotized**

Larutan Tolidin : campurkan 5 gram o-tolidin dan 14 ml asam hidroklorida ke dalam 100 ml aquades

Larutan nitrat : larutkan 10 gram natrium nitrat dalam 100 ml aquades. Selalu siapkan larutan baru.

Campur 20 ml larutan tolidin dan 20 ml larutan nitrat pada suhu 0 derajat celcius sambil diaduk konstan. Larutan penyemprot ini stabil hanya 2-3 jam. Setelah penyemprotan, diperlukan beberapa waktu sampai spot berwarna terbentuk.

### **Asam p-toluensulfonik**

Untuk mendeteksi steroid dan flavonoid

Larutkan 20 mg asam p-toluensulfonik dalam kloroform. Gunakan untuk menyemprot plat. Lalu panaskan beberapa saat pada suhu 100 derajat celcius. Amati spot dengan UV pada panjang gelombang besar.



## **Deteksi Terpenoid**

### **Reagen Liebermann-Buchard**

Tambahkan 1 ml kloroform pada ekstrak kemudian disaring. Pisahkan filtratnya. Tambahkan 1 ml asam asetat anhidrat pada filtrat. Didihkan dan dinginkan pada suhu 0 derajat celcius. Kemudian tambahkan 1 tetes asam sulfat pekat. Pembentukan cincin coklat mengindikasikan adanya pitosterol

### **Uji Salkowski**

Ekstrak ditambah kloroform kemudian disaring. Pisahkan filtrat dan tambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat pada filtrat tersebut. Kocok dan biarkan pada posisi berdiri. Penampakan warna kuning emas mengindikasikan adanya triterpen

### **Uji Tembaga asetat**

Ekstrak dilarutkan dalam air. Tambahkan 3-4 tetes larutan tembaga asetat. Pembentukan warna hijau emerald mengindikasikan adanya diterpen

### **Metode Kedde**

yaitu dengan cara menguapkan sampel sampai kering kemudian menambahkan 2 mL kloroform, lalu dikocok dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 2 bagian, A dan B. Filtrat A sebagai blangko, dan filtrat B ditambah 4 tetes reagen Kedde. Hasil akan menunjukkan warna ungu.

### **Metode Keller-Killiani**

yaitu dengan menguapkan 2 mL sampel, dan mencucinya dengan heksana sampai heksana jernih. Residu yang tertinggal dipanaskan diatas penangas air kemudian ditambahkan 3 mL pereaksi  $FeCl_3$  dan 1 mL  $H_2SO_4$  pekat. Hasil positif jika terlihat cincin merah bata menjadi biru atau ungu

### **Antimon(III)klorida**

Untuk mendeteksi terpen, steroid, steroid glukosida  
Semprot plat dengan larutan jenuh dari 25 gram antimon(III)klorida dalam

kloroform. panaskan pada suhu 100 derajat celcius selama 10 menit, lakukan pengamatan pada panjang gelombang 360 nm.

### **p-anisaldehyda / asam sulfat**

untuk deteksi fenol, steroid dan terpen.

Larutkan 0,5 ml p-anisaldehyd dalam campuran 50 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat.

Gunakan larutan baru untuk menyemprot plat. Panaskan pada suhu 105 derajat celcius sampai terlihat spot. Semprotan uap air bisa membuat latar belakang plat lebih terang sehingga spot lebih terlihat.

Hasil yang terlihat spot berwarna ungu, biru, merah abu-abu atau hijau

### **Timah(IV)klorida**

Untuk deteksi triterpen, sterol, steroid, fenol dan polifenol.

Larutkan 10 ml timah(IV)klorida ke dalam campuran 80 ml kloroform dan 80 ml asam asetat glasial. Gunakan larutan ini untuk menyemprot plat. Panaskan pada suhu 100 derajat celcius selama 5-10 menit. Dan periksa dengan sinar UV pada panjang gelombang tampak dan besar.

### **Vanilin / asam sulfat**

Untuk deteksi steroid

Larutkan 1 gram vanilin dalam 100 ml asam sulfat pekat. Gunakan untuk menyemprot plat. Keringkan pada suhu 120 derajat celcius sampai terbentuk warna secara maksimal.

Formulasi yang lain adalah 0,5 gram vanilin dalam campuran 80 ml asam sulfat dan 20 ml etanol.

Reagen ini hanya dapat digunakan untuk KLT berbahan gipsum dengan alas kaca.

### **Asam Fosfat**

Untuk deteksi sterol, steroid

Campurkan 50 ml asam fosfat pekat dengan 50 ml aquades. Semprot plat dengan larutan tersebut sampai lapisan terlihat transparan. Kemudian panaskan pada suhu 10 derajat celcius selama 10-15 menit.

## **Asam trifluoroasetat**

Untuk deteksi steroid.

Larutkan 1 gram asam trifluoroasetat dalam 100 ml kloroform. semprot plat dengan larutan tersebut, kemudian panaskan pada suhu 120 derajat celcius selama 5 menit.

## Glikosida

### **Difenilamina**

Untuk deteksi glikosida, glikolipid

Larutkan 5 gram difenilamina dalam 50 ml etanol. Tambahkan 40 ml asam klorida pekat dan 10 ml asam asetat glasial. Semprotkan pada plat dan tutup dengan plat kaca yang lain. Panaskan pada suhu 110 derajat celcius selama 30-40 menit sampai terbentuk spot yang terlihat. spot biru menunjukkan adanya glikolipid

### **Timbal tetraasetat / 2,7-diklorofluoresen**

Larutan 1: larutkan 2 gram Pb tetraasetat ke dalam 100 ml asam asetat glasial

Larutan 2: larutkan 1 gram 2,7-diklorofluoresen dalam 100 ml etanol

Campurkan larutan 1 dan 2 masing-masing 5 ml, dan tambahkan toluene kering sampai 200 ml. Larutan reagen ini hanya stabil selama 2 jam

### **Orcinol (reagen Bial)**

Untuk deteksi glikosida dan glikolipid

Larutkan 0,1 gram orcinol dalam 40,7 ml HCl pekat. Tambahkan 1 ml 1% feri(III) klorida dan larutkan dengan aquades sampai volume menjadi 100 ml.

Semprot plat dan panaskan pada suhu 80 derajat celcius selama 90 menit. Adanya glikolipid akan menghasilkan spot berwarna ungu.

### **Asam fosfat – bromida**

Untuk mendeteksi digitalis glikosida

Larutan 1: 10% asam fosfat encer

Larutan 2 : campurkan 2 ml larutan jenuh kalium bromida, 2 ml larutan jenuh kalium bromat dan 2 ml 25% asam hidroklorida

Prosedur kerja: semprot plat dengan larutan 1. Panaskan pada suhu 120 derajat celcius selama 12 menit. Digitalis glikosida seri B, D, dan E akan menunjukkan fluoresens pada panjang gelombang UV.

Lanjutkan dengan memanaskan lagi pada suhu 120 derajat celcius dan semprotkan sedikit larutan 2. Glikosida seri A menunjukkan warna oranye, seri C ditunjukkan dengan pendar fluoresens berwarna abu-abu hijau sampai abu-abu biru pada cahaya UV

## **Tetranitro difenil**

Untuk deteksi cardiac glikosida

Larutan 1: larutan jenuh 2,3',4,4'-tetranitrodifenil dalam toluen

Larutan 2: larutkan 10 gram kalium hidroksida dalam campuran 50 ml aquades dan 50 ml metanol

Prosedur kerja: semprot plat dengan larutan 1, keringkan pada suhu ruang, kemudian semprot dengan larutan 2. Hasil positif akan terlihat bila terbentuk spot berwarna biru.

## **Difenilamina**

Untuk deteksi glikosida, glikolipid

Larutkan 5 gram difenilamina dalam 50 ml etanol. Tambahkan 40 ml asam klorida pekat dan 10 ml asam asetat glasial. Semprotkan pada plat dan tutup dengan plat kaca yang lain. Panaskan pada suhu 110 derajat celcius selama 30-40 menit sampai terbentuk spot yang terlihat. spot biru menunjukkan adanya glikolipid

## Referensi

- Banu, K.S. and Catrine, L. (2015). General Techniques Involved in Phytochemical Analysis, *International Journal of Advanced Research in Chemical Science (IJARCS) Volume 2, Issue 4*
- De Silva, G. O., Theekshana, A., Abeyesundara and Aponso, M. M. W. (2017). Extraction methods, qualitative and quantitative techniques for screening of phytochemicals from plants, *American Journal of Essential Oils and Natural Products*; 5(2): 29-32
- Dewick, P.M., (2009). *Medicinal Natural Product, A Biosynthetic Approach*, 3<sup>rd</sup> Edition, John Wiley and Son
- Harborne, J.B., (1987). *Phytochemical Methods*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, Penerbit ITB, Bandung
- Hostettmann, K., Marston, A. and Hostettmann, M. (1998). *Preparative Chromatography Techniques: Applications in Natural Product Isolation*, Springer Verlag Berlin Heidelberg New York
- Julianto, T.S. (2016). *Minyak Atsiri Bunga Indonesia*, Deepublish, Yogyakarta
- Marby, J.T., Markham, K.R., Thomas, M.B., 1970. *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer Verlag, Berlin
- Markham, K.R., (1988). *Techniques of Flavonoids Identification*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung
- Ribera, A.E. and Zuñiga, G. (2012). Induced plant secondary metabolites for phytopatogenic fungi control: a review, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12 (4), 893-911
- Robinson, T., (1991). *The Organic Constituents of Higher Plants*, 6<sup>th</sup>Ed., Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. (2011). Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol.1, Issue 1, 98-106



Pande, A. and Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2014; 2 (5)

## Glosari

Metabolit;  
senyawa hasil metabolisme

Maserasi;  
metode pemisahan senyawa aktif tidak tahan panas dari sampel tumbuhan yang dilakukan dengan cara direndam dalam pelarut yang sesuai dalam jangka waktu tertentu

Ekstraksi Soxhlet; metode pemisahan senyawa aktif dari sampel tumbuhan menggunakan pelarut yang mengalami kontak secara kontinyu menggunakan set ekstraktor soxhlet

Kromatografi;  
metode pemisahan campuran senyawa berdasarkan distribusinya terhadap fase gerak dan fase diam

Fenolik;  
suatu senyawa metabolit sekunder yang mengandung 1 atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik

Terpenoid;  
suatu senyawa metabolit sekunder yang terbentuk dari unit-unit kerangka isoprena

Alkaloid;  
senyawa metabolit sekunder bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik)

Poliketida;  
senyawa metabolit sekunder yang mengandung gugus karbonil dan gugus metilen yang tersusun secara selang-seling (beta-poliketona)

Glikosida

senyawa metabolit sekunder yang terbentuk dari ikatan antara suatu glikon dan aglikon

# Index

## A

alkaloid 11, 14, 40, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 84, 85

Alkaloid 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 84

alumina 31

antibiotik 14, 62, 67

asam amino 11, 38, 40, 45, 47

asam fenolat 37, 41, 42, 43

Asetil KoA 14, 66

## B

biosintesis 11, 12, 13, 14, 15, 36, 46, 53, 65, 66, 67

## E

Ekstraksi 17, 20, 22, 42, 49, 50, 51, 56, 67, 82

Enfleurasi 25

enzim 4, 12, 36, 41, 64, 65, 69, 70, 71, 73

## F

Fenilpropanoid 37

fenolik 11, 14, 20, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 77, 87, 88, 89, 90

fitokimia v, 1, 18, 31

flavonoid 35, 36, 37, 38, 39, 61, 74, 76, 87, 88, 89, 91

Flavonoid 38, 39, 74, 87

fotosintesis 11, 14

## H

Hidrodestilasi 27

HPLC 31, 34, 43, 67

## I

Identifikasi 17, 32, 33, 43, 51, 57, 82

Isolasi 17, 42, 45

## **J**

Jalur asam asetat 13

Jalur asam mevalonat 14

Jalur asam sikimat 13

## **K**

kromatografi kolom 31, 33, 34, 67

## **L**

lemak 14, 25, 26, 49, 65

## **M**

metabolit sekunder v, 1, 11, 13, 15, 17, 18, 30, 35, 44, 60, 64, 69

microwave 19, 23

## **N**

NMR 31, 32, 33, 34

## **P**

Pemurnian 30

Pencucian 18

pengeringan 17, 18, 19, 20, 49

Pengumpulan 17

penyaringan 22

penyerbukan v, 1

perkolasi 21, 45, 67

Perkolasi 21

protein 4, 36, 38, 40, 41

## **S**

senyawa organik 32, 52

serangan 73

serangga v, 1, 4, 12, 52, 61

silika 31, 43

spektroskopi massa 31, 32, 34

Supercritical 22, 23

## **T**

Tanin 40, 41

termolabile 22

terpenoid 11, 14, 52, 53, 55, 56, 57

## **U**

Ultrasound 24

ultraviolet 4, 32

UV-visible 31, 32, 34

## **W**

Warna 43, 84, 87







UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

