

# **KONSEP DAN TEORI FITOKIMIA**

**Noveri Rahmawati  
Agung Wibawa Mahatva Yodha  
Karmilah  
Nur Rezky Khairun Nisaa  
Wiwit Denny Fitriana  
Hasrawati Bahar  
Jefry Wijaya  
Khoirul Ngibad  
Aliyah Fahmi  
Ismail Marzuki**



**GET PRESS INDONESIA**

# KONSEP DAN TEORI FITOKIMIA

## **Penulis :**

Noveri Rahmawati  
Agung Wibawa Mahatva Yodha  
Karmilah  
Nur Rezky Khairun Nisaa  
Wiwit Denny Fitriana  
Hasrawati Bahar  
Jefry Wijaya  
Khoirul Ngibad  
Aliyah Fahmi  
Ismail Marzuki

## **ISBN :**

**Editor :** Ari Yanto., M.Pd

**Penyunting :** Tri Putri Wahyuni,S.Pd

**Desain Sampul dan Tata Letak :** Atyka Trianisa, S.Pd

**Penerbit :** GET PRESS INDONESIA

Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022

## **Redaksi :**

Jln. Palarik Air Pacah No 26 Kel. Air Pacah  
Kec. Koto Tangah Kota Padang Sumatera Barat  
Website : [www.getpress.co.id](http://www.getpress.co.id)  
Email : adm.getpress@gmail.com

Cetakan pertama, Januari 2024

Hak cipta dilindungi undang-undang  
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan  
dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

## **KATA PENGANTAR**

Segala Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT dalam segala kesempatan. Sholawat beriring salam dan doa kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW. Alhamdulillah atas Rahmat dan Karunia-Nya penulis telah menyelesaikan Buku Konsep Dan Teori Fitokimia ini.

Buku ini membahas Pendahuluan Fitokimia, Skrining Fitokimia, Ekstraksi kandungan senyawa, Penetapan kadar kelompok senyawa kimia tanaman obat, Pemisahan, Aplikasi Kromatografi dalam pemisahan kelompok senyawa kimia tanaman obat, Pemurnian, Identifikasi golongan Fenolat dan flavonoid, Identifikasi Golongan Alkaloid, Identifikasi Golongan Antrakuinon.

Proses penulisan buku ini berhasil diselesaikan atas kerjasama tim penulis. Demi kualitas yang lebih baik dan kepuasan para pembaca, saran dan masukan yang membangun dari pembaca sangat kami harapkan.

Penulis ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dalam penyelesaian buku ini. Terutama pihak yang telah membantu terbitnya buku ini dan telah mempercayakan mendorong, dan menginisiasi terbitnya buku ini. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi masyarakat Indonesia.

Padang, Januari 2024

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                                                            |            |
|----------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>KATA PENGANTAR .....</b>                                                | <b>i</b>   |
| <b>DAFTAR ISI .....</b>                                                    | <b>ii</b>  |
| <b>DAFTAR GAMBAR .....</b>                                                 | <b>vii</b> |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                                  | <b>ix</b>  |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN FITOKIMIA.....</b>                                    | <b>1</b>   |
| 1.1 Pendahuluan .....                                                      | 1          |
| 1.2 Fitokimia .....                                                        | 1          |
| 1.2.1 Metabolit primer dan sekunder tumbuhan .....                         | 3          |
| 1.2.2 Metoda umum isolasi senyawa kimia pada tumbuhan .....                | 5          |
| 1.3 Prospek fitokimia di masa depan .....                                  | 9          |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                        | 11         |
| <b>BAB 2 SKRINING FITOKIMIA .....</b>                                      | <b>13</b>  |
| 2.1 Pendahuluan .....                                                      | 13         |
| 2.1.1 Pemilihan Bahan Tanaman .....                                        | 13         |
| 2.1.2 Persiapan Ekstrak Tumbuhan .....                                     | 13         |
| 2.1.3 Uji Fisikokimia .....                                                | 13         |
| 2.1.4 Uji Kualitatif Senyawa .....                                         | 13         |
| 2.1.5 Teknik Kromatografi.....                                             | 14         |
| 2.1.6 Dokumentasi .....                                                    | 14         |
| 2.1.7 Tindakan Keamanan .....                                              | 14         |
| 2.2 Uji Kualitatif Senyawa .....                                           | 14         |
| 2.2.1 Pengujian Alkaloid dengan Reagen Dragendorff atau Reagen Mayer ..... | 15         |
| 2.2.2 Uji Flavonoid dengan Uji Shinoda atau Uji Ferric Chloride .....      | 16         |
| 2.2.3 Uji Tannin dengan Uji Ferric Chloride atau Uji Gelatin.....          | 18         |
| 2.2.4 Uji Saponin dengan Uji Busa atau Uji Hemolisis .....                 | 19         |
| 2.2.5 Uji Saponin dengan Uji Busa atau Uji Hemolisis .....                 | 21         |
| 2.2.6 Uji Steroid dengan Uji Liebermann-Burchard.....                      | 22         |
| 2.2.7 Uji Glikosida dengan Uji Legal .....                                 | 23         |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                        | 26         |
| <b>BAB 3 EKSTRAKSI KANDUNGAN SENYAWA.....</b>                              | <b>29</b>  |
| 3.1 Pendahuluan .....                                                      | 29         |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2 Prinsip Ekstraksi .....                                                                       | 30 |
| 3.3 Metode Ekstraksi .....                                                                        | 31 |
| 3.3.1 Maserasi .....                                                                              | 31 |
| 3.3.2 Perkolasi .....                                                                             | 32 |
| 3.3.3 Refluks.....                                                                                | 33 |
| 3.3.4 Soxhlet.....                                                                                | 34 |
| 3.3.5 Digesti .....                                                                               | 35 |
| 3.3.6 Infusi .....                                                                                | 35 |
| 3.3.7 Dekoksi .....                                                                               | 35 |
| 3.3.16 Ekstraksi dengan Alkohol (Fermentasi).....                                                 | 35 |
| 3.3.17 Ekstraksi kontinu lawan arah ( <i>Counter current</i> ) .....                              | 36 |
| 3.3.18 Ekstraksi dengan Gelombang Ultrasonik ( <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> ).....       | 36 |
| 3.3.19 Ekstraksi dengan Medan Listrik berdenyut ( <i>Pulsed-electric field extraction</i> ) ..... | 36 |
| 3.3.20 Ekstraksi dengan Enzim ( <i>Enzyme assisted extraction</i> ) .....                         | 37 |
| 3.3.21 Ekstraksi dengan Gelombang Mikro ( <i>Microwave assisted extraction</i> ) .....            | 37 |
| 3.3.22 Ekstraksi dengan Pelarut Bertekanan ( <i>Pressurized-liquid extraction</i> ) .....         | 38 |
| 3.3.23 Ekstraksi dengan Fluida Superkritik ( <i>Supercritical fluid extraction</i> ).....         | 38 |
| 3.3.24 Ekstraksi Minyak Atsiri .....                                                              | 39 |
| 3.4 Penentuan Pelarut Ekstraksi.....                                                              | 41 |
| 3.6 Penguapan dan Pengeringan Ekstrak .....                                                       | 42 |
| 3.6.1 Penguapan Ekstrak.....                                                                      | 42 |
| 3.6.2 Pengeringan Ekstrak .....                                                                   | 43 |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                                               | 45 |

## **BAB 4 PENETAPAN KADAR KELOMPOK SENYAWA**

|                                     |           |
|-------------------------------------|-----------|
| <b>KIMIA TANAMAN OBAT.....</b>      | <b>47</b> |
| 4.1 Pendahuluan .....               | 47        |
| 4.2 Teknik Analisis .....           | 51        |
| 4.3 Metode Analisis .....           | 52        |
| 4.3.1 Spektrofotometer Uv-Vis ..... | 52        |
| 4.3.2 Kromatografi gas.....         | 55        |

|                                                                                                      |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3.3 HPLC .....                                                                                     | 59        |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                                                  | 64        |
| <b>BAB 5 PEMISAHAN.....</b>                                                                          | <b>67</b> |
| 5.1 Tujuan Pemisahan .....                                                                           | 67        |
| 5.2 Peran Pemisahan dalam Fitokimia .....                                                            | 69        |
| 5.3 Pemisahan untuk Isolasi Senyawa Secara Murni .....                                               | 71        |
| 5.3.1 Metode Ekstraksi.....                                                                          | 71        |
| 5.4 Metode Kromatografi.....                                                                         | 75        |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                                                  | 78        |
| <b>BAB 6 APLIKASI KROMATOGRAFI DALAM<br/>PEMISAHAN KELOMPOK SENYAWA KIMIA<br/>TANAMAN OBAT .....</b> | <b>79</b> |
| 6.1 Pendahuluan .....                                                                                | 79        |
| 6.2 Metode Pemisahan.....                                                                            | 79        |
| 6.3 Jenis- Jenis Kromatografi Kaitannya dengan<br>Pemisahan Senyawa Tanaman Obat.....                | 81        |
| 6.4 Tanaman Obat.....                                                                                | 83        |
| 6.4.1 Definisi.....                                                                                  | 83        |
| 6.5 Analisis Tanaman obat.....                                                                       | 85        |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                                                  | 87        |
| <b>BAB 7 PEMURNIAN .....</b>                                                                         | <b>89</b> |
| 7.1 Pendahuluan .....                                                                                | 89        |
| 7.2 Ekstraksi.....                                                                                   | 90        |
| 7.3 Kromatografi.....                                                                                | 90        |
| 7.4 Kromatografi Cair.....                                                                           | 93        |
| 7.4.1 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC).....                                                   | 93        |
| 7.4.2 HPLC Preparatif ( <i>Preparative HPLC</i> ) .....                                              | 93        |
| 7.5 Destilasi.....                                                                                   | 93        |
| 7.6 Kristalisasi.....                                                                                | 94        |
| 7.6.1 Langkah-langkah Kristalisasi Senyawa Bahan<br>Alam.....                                        | 94        |
| 7.6.2 Faktor-faktor yang Memengaruhi Kristalisasi .....                                              | 95        |
| 7.7 Filtrasi .....                                                                                   | 96        |
| 7.8 Penguapan Pelarut.....                                                                           | 97        |
| 7.8.1 Pertimbangan dan Perhatian.....                                                                | 97        |
| 7.9 Spektroskopi .....                                                                               | 98        |

|                                                            |            |
|------------------------------------------------------------|------------|
| 7.10 Diagram Proses Pemisahan dan Pemurnian                |            |
| Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan .....             | 99         |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                        | 100        |
| <b>BAB 8 IDENTIFIKASI GOLONGAN FENOLAT</b>                 |            |
| <b>DAN FLAVONOID.....</b>                                  | <b>101</b> |
| 8.1 Pendahuluan .....                                      | 101        |
| 8.2 Senyawa Fenolik dan Flavonoid.....                     | 102        |
| 8.2.1 Struktur dan Klasifikasi.....                        | 102        |
| 8.2.2 Keberadaan di Alam.....                              | 102        |
| 8.2.3 Aktivitas Biologis.....                              | 103        |
| 8.2.4 Implikasi Kesehatan.....                             | 103        |
| 8.3 Identifikasi Kualitatif Senyawa Fenolik dan            |            |
| Flavonoid.....                                             | 103        |
| 8.3.1 Skrining Fitokimia.....                              | 104        |
| 8.3.2 Teknik Kromatografi.....                             | 105        |
| 8.3.3 Teknik Spektroskopi UV-Vis.....                      | 105        |
| 8.3.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) .....        | 106        |
| 8.4 Identifikasi Kuantitatif Senyawa Fenolik dan           |            |
| Flavonoid.....                                             | 106        |
| 8.4.1 Metode Spektrofotometri .....                        | 106        |
| 8.4.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) .....        | 107        |
| 8.4.3 Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS) .       | 108        |
| 8.5 Sumber Tanaman Khusus Senyawa Fenolik dan              |            |
| Flavonoid.....                                             | 108        |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                        | 111        |
| <b>BAB 9 IDENTIFIKASI GOLONGAN ALKALOID .....</b>          | <b>115</b> |
| 9.1 Pendahuluan .....                                      | 115        |
| 9.2 Klasifikasi alkaloid .....                             | 118        |
| 9.2.1 Klasifikasi ditetapkan berdasarkan biogenesis .....  | 118        |
| 9.2.2 Klasifikasi ditetapkan berdasarkan struktur          |            |
| cincin .....                                               | 120        |
| 9.3 Cara identifikasi alkaloid dengan Skrining Fitokimia.. | 125        |
| 9.3.1 Pembuatan Reagen Identifikasi Alkaloid .....         | 125        |
| 9.3.2 Prosedur Umum Skrining Alkaloid.....                 | 127        |
| 9.4 Metode ekstraksi dan pemurnian .....                   | 128        |
| 9.4.1 Metode ekstraksi.....                                | 128        |
| 9.4.2 Degradasi kimia .....                                | 128        |

|                                                                                        |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 9.4.3 Tindakan pencegahan yang harus diambil<br>selama proses ekstraksi.....           | 129        |
| 9.4.4 Ekstraksi dengan pelarut (ekstraksi cair-cair<br>atau ekstraksi padat-cair)..... | 129        |
| 9.5 Teknik identifikasi dan kuantifikasi .....                                         | 129        |
| 9.5.1 Teknik kromatografi .....                                                        | 130        |
| 9.5.2 Kromatografi adsorpsi.....                                                       | 130        |
| 9.5.3 Kromatografi partisi .....                                                       | 130        |
| 9.5.4 Kromatografi pertukaran ion .....                                                | 130        |
| 9.5.5 Kromatografi afinitas.....                                                       | 130        |
| 9.5.6 Kromatografi eksklusi ukuran .....                                               | 131        |
| 9.5.7 Kromatografi kertas .....                                                        | 131        |
| 9.5.8 Kromatografi lapis tipis.....                                                    | 131        |
| 9.5.9 Kromatografi kolom .....                                                         | 131        |
| 9.5.10 Kromatografi gas .....                                                          | 132        |
| 9.5.11 Kromatografi cair kinerja tinggi .....                                          | 132        |
| 9.5.12 Kromatografi lapis tipis kinerja tinggi .....                                   | 132        |
| 9.5.13 Kromatografi laminar kinerja optimal .....                                      | 133        |
| 9.5.14 Spektroskopi inframerah transformasi Fourier..                                  | 133        |
| 9.5.15 Spektroskopi resonansi magnetik nuklir .....                                    | 134        |
| 9.5.16 Spektrometri massa.....                                                         | 134        |
| 9.5.17 Kadar yang terdapat pada makanan/tanaman....                                    | 134        |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                                    | 136        |
| <b>BAB 10 IDENTIFIKASI GOLONGAN ANTRAKUINON .....</b>                                  | <b>141</b> |
| 10.1 Pendahuluan .....                                                                 | 141        |
| 10.2 Identifikasi senyawa golongan Antrakuinon.....                                    | 142        |
| 10.3 Sumber senyawa golongan antrakuinon.....                                          | 149        |
| 10.4 Sintesis senyawa golongan antrakuinon .....                                       | 152        |
| 10.5 Kegunaan senyawa golongan antrakuinon .....                                       | 154        |
| DAFTAR PUSTAKA.....                                                                    | 158        |
| <b>BIODATA PENULIS</b>                                                                 |            |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gambar 1.1.</b> Korelasi beberapa bidang yang terkait fitokimia .....                                                                              | 2  |
| <b>Gambar 1.2.</b> Asam kaurenoat dan prolin merupakan metabolit primer, sedangkan asam abietik dan asam pipekolat merupakan metabolit sekunder ..... | 4  |
| <b>Gambar 1.3.</b> Metabolit primer dan sekundeR tumbuhan.....                                                                                        | 5  |
| <b>Gambar 1.4.</b> Tahapan umum isolasi senyawa dari tumbuhan.....                                                                                    | 7  |
| <b>Gambar 1.5.</b> Tumbuhan <i>Papaver somniferum</i> dan struktur morfin .....                                                                       | 8  |
| <b>Gambar 3.1.</b> Gambaran proses ekstraksi sederhana .....                                                                                          | 30 |
| <b>Gambar 3.2.</b> Perkolasi .....                                                                                                                    | 33 |
| <b>Gambar 3.3.</b> Reflux .....                                                                                                                       | 34 |
| <b>Gambar 3.4.</b> Soxhletasi .....                                                                                                                   | 34 |
| <b>Gambar 3.5.</b> Alat ekstraksi dengan gelombang ultrasonik.....                                                                                    | 36 |
| <b>Gambar 3.6.</b> Reaktir Mikrowave-Assisted extraction .....                                                                                        | 37 |
| <b>Gambar 3.7.</b> Supercritical-fluid extraction .....                                                                                               | 38 |
| <b>Gambar 3.8.</b> Destilasi air .....                                                                                                                | 40 |
| <b>Gambar 3.9.</b> (a) Destilasi uap-air; (b) Destilasi Uap.....                                                                                      | 40 |
| <b>Gambar 3.10.</b> alat rotary evaporator .....                                                                                                      | 43 |
| <b>Gambar 3.11.</b> skematik alat <i>freeze dryer</i> .....                                                                                           | 44 |
| <b>Gambar 4.1.</b> Mekanisme kerja instrument spektrofotometri. ....                                                                                  | 54 |
| <b>Gambar 4.2.</b> Gambar GC ( <i>Gas Chromatograph</i> ).....                                                                                        | 57 |
| <b>Gambar 4.3.</b> Mekanisme kerja instrument HPLC .....                                                                                              | 61 |
| <b>Gambar 7.1.</b> Proses Maserasi.....                                                                                                               | 90 |
| <b>Gambar 7.2.</b> Kromatogram Hasil KCV Ekstrak MeOH <i>B.macrophylla</i> .....                                                                      | 92 |
| <b>Gambar 7.3.</b> Alat Destilasi Uap .....                                                                                                           | 94 |
| <b>Gambar 7.4.</b> Kristal Metil Galat.....                                                                                                           | 96 |
| <b>Gambar 7.5.</b> Alat <i>Rotatory Evaporator</i> .....                                                                                              | 98 |
| <b>Gambar 7.6.</b> Alat NMR.....                                                                                                                      | 98 |

|                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Gambar 7.7.</b> Diagram Proses proses Pemisahan,<br>Pemurninaan dan Analisis Metabolit<br>Sekunder ..... | 99  |
| <b>Gambar 9.1.</b> Struktur kimia beberapa alkaloid.....                                                    | 116 |
| <b>Gambar 9.2.</b> Struktur kimia dasar inti tropana alkaloid .....                                         | 120 |
| <b>Gambar 9.3.</b> Struktur kimia sederhana pirolizidin.....                                                | 120 |
| <b>Gambar 9.4.</b> Struktur kimia piperidin.....                                                            | 121 |
| <b>Gambar 9.5.</b> Struktur kimia quinoline .....                                                           | 121 |
| <b>Gambar 9.6.</b> Struktur kimia isoquinolin.....                                                          | 122 |
| <b>Gambar 9.7.</b> Struktur kimia indol.....                                                                | 123 |
| <b>Gambar 9.8.</b> Struktur kimia steroid.....                                                              | 123 |
| <b>Gambar 9.9.</b> Struktur kimia imidazol.....                                                             | 124 |
| <b>Gambar 9.10.</b> Struktur kimia purin .....                                                              | 124 |
| <b>Gambar 9.11.</b> Struktur kimia pirolidin.....                                                           | 124 |
| <b>Gambar 10.1.</b> Struktur molekul antrakuinon.....                                                       | 141 |
| <b>Gambar 10.2.</b> Kromatogram ekstrak n-heksan<br>Ketapang.....                                           | 149 |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabel 1.1.</b> Metode ekstraksi modern.....                                                              | 6  |
| <b>Tabel 1.2.</b> Senyawa obat dari tumbuhan.....                                                           | 8  |
| <b>Tabel 3.1.</b> Sifat fisik dan kimia pelarut organik yang<br>sering digunakan ekstraksi bahan alam ..... | 41 |



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN FITOKIMIA**

*Oleh Noveri Rahmawati*

### **1.1 Pendahuluan**

Indonesia merupakan negara yang memiliki potensi kekayaan hayati yang sangat tinggi. Potensi ini sangat memerlukan pemberdayaan yang tidak luput pada kajian prospektif pada sumber daya alam dengan kearifan lokal daerah. Penggunaan sumber daya alam lokal saat ini masih pada taraf empiris dan perlu dikembangkan secara massive untuk kemajuan bangsa dan negara (Andriani, Meirista and Yulion, 2023). Pemanfaatan tumbuhan sebagai tumbuhan obat dan ramuan, sudah diyakini dan diakui melalui penelitian ilmiah (Maulana *et al.*, 2023).

Tumbuhan merupakan sumber obat-obatan yang berguna dalam pengobatan berbagai penyakit dan kondisi manusia. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan bahwa hingga 80% populasi dunia bergantung pada tumbuhan untuk layanan kesehatan utama mereka (Hasan *et al.*, 2021; Rahmawati *et al.*, 2023). Pemanfaatan tumbuhan sebagai upaya mendukung kebijakan WHO, tidak terlepas dari peranan ilmu fitokimia yang diawali dari adanya pemanfaatan kearifan lokal dan dilakukan saintifikasi terhadap tumbuhan tersebut. Uraian lengkap tentang senyawa kimia pada tumbuhan dan tahapan isolasi akan diuraikan pada modul ini.

### **1.2 Fitokimia**

Fitokimia adalah studi tentang bahan kimia yang dihasilkan oleh tanaman, khususnya metabolit sekunder, yang disintesis untuk pertahanan diri terhadap serangga, hama, patogen, herbivora, paparan sinar UV dan bahaya lingkungan (Pengelly and Bone, 2020). Fitokimia merupakan bagian penting dari sejumlah disiplin ilmu. Ada terdapat kontroversi dan spekulasi mengenai peran fitokimia di dalam sains. Beberapa ilmuwan berpendapat bawa

fitokimia merupakan sub bidang botani dan ilmuwan kimia yang lain berpendapat bahwa fitokimia menjadi bagian dari bahan kimia makanan dan obat karena penerapannya yang luas dalam penemuan obat.

Secara kategoris, fitokimia adalah titik tumpu dan aspek dari banyak biosains dan akan sulit untuk ditentukan secara tunggal sebagai ilmu yang berdiri sendiri. Misalnya, fitokimia adalah bagian penting dari Botani Sistematis, Taksonomi, Etnobotani, Konservasi biologi, Genetika Tumbuhan dan Metabolomik, Ilmu Evolusioner dan Tumbuhan Patologi. Bidang Farmasi dan Farmakognosi, Komplementer dan Pengobatan Alternatif, Etnomedis, Biokimia, Mikrobiologi, Bioinformatika dan Kimia Komputasi menggunakan pengetahuan fitokimia dalam penemuan senyawa bioaktif. Bidang bioteknologi dan proses rekayasa, ilmu gizi dan pangan, kimia organik, menggunakan pengetahuan fitokimia dalam menghasilkan produk alami dengan meningkatkan kandungan fitokimia. Dalam kendali pencemaran lingkungan, pengetahuan fitokimia sangat penting dalam penerapan teknik bioremediasi seperti fitoremediasi untuk membersihkan zat berbahaya. Korelasi beberapa bidang yang terkait fitokimia dapat dilihat pada Gambar 1.1.



**Gambar 1.1.** Korelasi beberapa bidang yang terkait fitokimia (Pengelly and Bone, 2020)

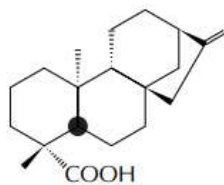
### **1.2.1 Metabolit primer dan sekunder tumbuhan**

Berdasarkan asal usul biosintetiknya, produk alami tumbuhan dapat dibagi menjadi tiga kelompok utama: terpenoid, alkaloid, dan fenilpropanoid. Semua terpenoid, termasuk metabolit primer dan lebih dari 25.000 senyawa sekunder diturunkan dari isopentenil prekursor lima karbon difosfat (IPP). 12.000 atau lebih yang diketahui merupakan alkaloid, mengandung satu atau lebih atom nitrogen, pada prinsipnya dibiosintesis dari asam amino. 8000 atau lebih fenolik senyawa dibentuk melalui salah satu cara tersebut jalur asam shikimat atau jalur malonat/ jalur asetat.

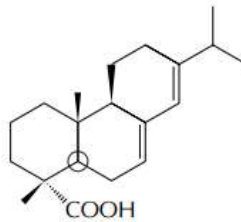
Metabolit primer dan sekunder sulit dibedakan berdasarkan molekul prekursor, struktur kimia, atau asal usul biosintetik. Misalnya, metabolit primer dan sekunder ditemukan pada diterpen (C<sub>20</sub>) dan triterpen (C<sub>30</sub>). Pada diterpen, asam kaurenoik dan asam abietic dibentuk berdasarkan reaksi enzimatik yang serupa (Gambar 1.2); yang pertama merupakan perantara penting dalam sintesis giberelin, yaitu, hormon pertumbuhan yang ditemukan di semua tanaman, sedangkan yang terakhir adalah komponen resin. Demikian pula, prolin, asam amino esensial yang diklasifikasikan sebagai metabolit primer, sedangkan analog C<sub>6</sub> asam pipikolat dianggap sebagai alkaloid dan ini adalah produk alami. Bahkan lignin, polimer struktural penting dari kayu dan nomor dua setelah selulosa sebagai zat organik yang paling melimpah pada tumbuhan, dan dianggap sebagai produk alami bukan suatu metabolit primer (Dehelean *et al.*, 2021; Gupta *et al.*, 2022; Munggari *et al.*, 2022).

Primary metabolite

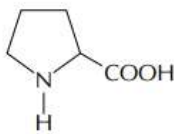
Secondary metabolite



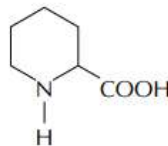
Kaurenoic acid



Abietic acid



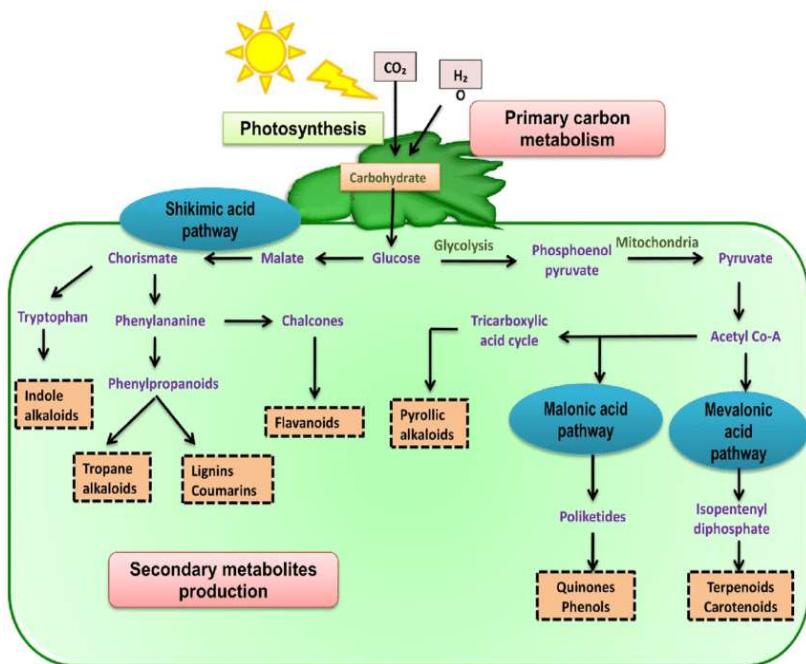
Proline



Pípecolic acid

**Gambar 1.2.** Asam kaurenoat dan prolin merupakan metabolit primer, sedangkan asam abietik dan asam pípekolat merupakan metabolit sekunder (Dehelean *et al.*, 2021)

Secara umum, metabolit primer dibedakan dengan metabolit sekunder berdasarkan keterlibatannya dalam pertumbuhan organisme. Metabolit primer merupakan metabolit yang terlibat erat dalam pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi organisme. Metabolit sekunder adalah senyawa yang tidak terlibat langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan normal namun memiliki beberapa fungsi ekologis di dalam tubuh. Metabolit sekunder adalah molekul organik kecil yang berasal dari metabolit primer selama emboli tumbuhan; yang memiliki massa molekul kurang dari 3000 da (Twaij and Hasan, 2022). Jalur biosintesis metabolit primer dan sekunder, dapat dilihat pada Gambar 1.3.



**Gambar 1.3.** Metabolit primer dan sekunder tumbuhan (Khare *et al.*, 2020)

### 1.2.2 Metoda umum isolasi senyawa kimia pada tumbuhan

Secara alamiah, bahan aktif selalu berada bersama-sama dengan senyawa yang lain di dalam jaringan dan sel tanaman. Produk ekstraksi yang dihasilkan dari proses ekstraksi jaringan tanaman dapat berupa cairan yang tidak murni, semisolid atau serbuk yang diperuntukkan bagi pemakaian luar ataupun oral. Senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan, secara umum dapat diperoleh dengan menggunakan metoda berikut :

1. Ekstraksi
2. Isolasi dan analisis

Pemilihan teknik ekstraksi bergantung pada bagian tanaman yang akan diekstraksi dan bahan aktif yang diinginkan. Oleh karena itu, sebelum ekstraksi dilakukan perlu diperhatikan keseluruhan tujuan melakukan ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat sangatlah penting untuk keberhasilan penelitian tumbuhan obat. Teknik tradisional seperti maserasi, perkolasi, dan ekstraksi soxhlet

biasanya digunakan pada penelitian skala kecil. Namun, saat ini telah digunakan teknik ekstraksi modern yang lebih efisien dan selektif (Tabel 1.1).

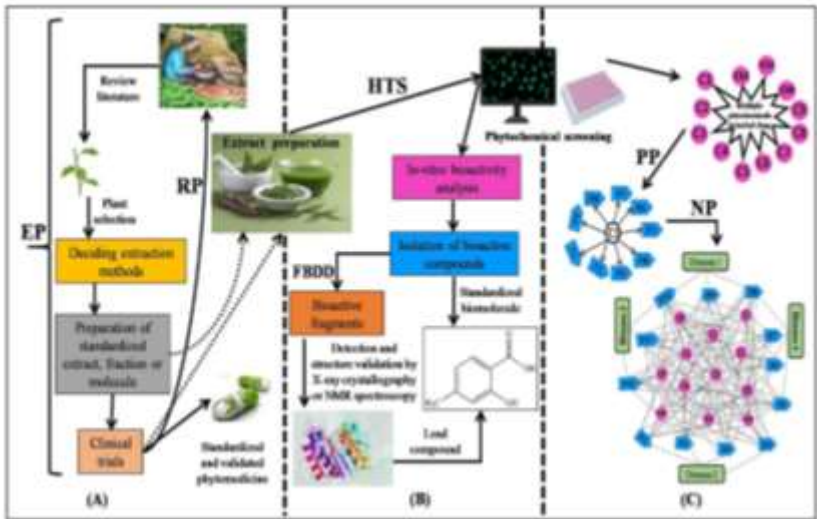
**Tabel 1.1.** Metode ekstraksi modern

|   |                                             |
|---|---------------------------------------------|
| 1 | <i>Microwave-Assisted Extraction (MAE)</i>  |
| 2 | <i>Ultrasound-Assisted Extraction (UAE)</i> |
| 3 | <i>Pressurized Liquid Extraction (PLE)</i>  |
| 4 | <i>Supercritical Fluid Extraction (SFE)</i> |
| 5 | <i>Enzyme-Assisted Extraction</i>           |

(Rohit Saxena, 2023)

Setelah ekstraksi, senyawa yang diisolasi perlu diekstraksi lebih lanjut dikarakterisasi dan dianalisis (Gambar 1.4). Berbagai metode digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur senyawa bioaktif:

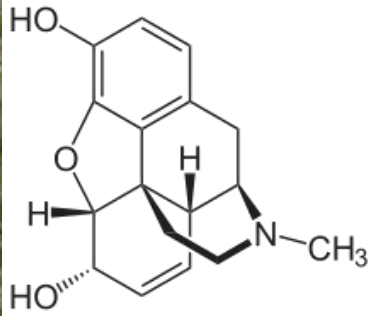
1. Teknik Kromatografi  
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) dan Kromatografi Gas (GC) umumnya digunakan untuk pemisahan, identifikasi, dan kuantifikasi senyawa bioaktif. Teknik-teknik ini menawarkan sensitivitas, selektivitas, dan akurasi yang tinggi.
2. Teknik Spektroskopi  
Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir (NMR) dan Spektrometri Massa (MS) sering digunakan untuk penjelasan struktur dan identifikasi senyawa bioaktif. Teknik-teknik ini memberikan informasi tentang komposisi kimia dan sifat senyawa (Liu *et al.*, 2020).



**Gambar 1.4.** Tahapan umum isolasi senyawa dari tumbuhan (Nasim, Sandeep and Mohanty, 2022)

### 1.2.3 Senyawa obat hasil isolasi dari tumbuhan

Tumbuhan merupakan kekayaan alam yang memiliki berbagai efek terapeutik dan terus menerus dieksplorasi dalam rangka pengembangan obat baru. Penemuan obat baru diawali pada tahun 1803, dengan ditemukannya morfin, yang berasal dari *Papaver somniferum*. *Papaver somniferum* adalah tumbuhan berbunga dari family Papaveraceae. Tumbuhan ini merupakan sumber bahan baku dari opium dan biji candu, serta merupakan tanaman hias yang memiliki nilai ekonomi di mana tumbuhan ini biasanya dikembangkan di taman. Sebaran asli dari tumbuhan ini dimungkinkan berada di pesisir timur Laut Tengah, tetapi tidak bisa dipastikan dikarenakan tumbuhan ini sudah disebar dan dikembangkan di wilayah lain sejak zaman kuno.



**Gambar 1.5.** Tumbuhan *Papaver somniferum* dan struktur morfin

Di Asia, sekitar 70.000 tanaman herbal telah digunakan untuk pengobatan. Beberapa produk alami yang berasal dari tumbuhan dapat dilihat pada Tabel 1.2.

**Tabel 1.2.** Senyawa obat dari tumbuhan

| <b>Tumbuhan asal</b>              | <b>Senyawa</b>                                 | <b>Efek Terapi</b>                                   |
|-----------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>Molekul tunggal</b>            |                                                |                                                      |
| <i>Hyperian perfortum</i>         | Hypericin                                      | Induksi kematian sel                                 |
| <i>Lithospermum erythrorhizon</i> | Shikonin                                       | Induksi kematian sel                                 |
| <i>Scutellaria baicalensis</i>    | Wogonine                                       | Induksi kematian sel                                 |
| <i>Piper nigrum</i>               | Piperine                                       | Kanker                                               |
| <b>Obat fitofarmasi</b>           |                                                |                                                      |
| <i>Berberis vulgaris L</i>        | Berberine, jatrorrhizine, palmatine, ceptisine | Antidiabetes, antikanker, Antibakteri, antiinflamasi |
| <i>Cinchona spp</i>               | Quinine                                        | Antimalaria                                          |
| <i>Silybum marianum</i>           | Silymarin                                      | Hepatoprotektor                                      |
| <i>Taxus brevifolia</i>           | Taxol                                          | Kanker payudara dan rahim                            |
| <i>Coleus forskohlii</i>          | Forskolin                                      | Antiglaucoma                                         |
| <i>Galanthus nivalis</i>          | Galantamine                                    | Alzheimer                                            |

| <b>Tumbuhan asal</b>              | <b>Senyawa</b> | <b>Efek Terapi</b> |
|-----------------------------------|----------------|--------------------|
| <i>Artemisia glabella</i>         | Arglabin       | Anti-tumor         |
| <i>Genista tinctoria L</i>        | Genistein      | Antikanker         |
| <i>Curcuma longa L.</i>           | Curcumin       | Antioksidan        |
| <i>Azadirachta indica A. Juss</i> | Azadirachtin   | Antimikroba        |
| <i>Panax ginseng</i>              | Ekstrak        | Antikanker         |
| <i>Althaea ofcinalis</i>          | Ekstrak        | Antiinflamasi      |
| <i>Punica granatum</i>            | Ekstrak        | Antidiare          |
| <i>Averrhoa carambola</i>         | Ekstrak        | Antidepresi        |
| <i>Ganoderma lucidum</i>          | Ekstrak        | Antiasma           |
| <i>Trigonella foenum</i>          | Trigonelline   | Antidiabetes       |
| <i>Capsicum annuum</i>            | Capsaicin      | Antiinflamasi      |

(Nasim, Sandeep and Mohanty, 2022)

### 1.3 Prospek fitokimia di masa depan

Saat ini, sebagian besar masyarakat menggunakan obat baik untuk preventif maupun kuratif. WHO menyatakan bahwa pengobatan tradisional kedokteran/etnomedis masih digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Hampir 70% populasi bergantung pada praktik pengobatan ini. Penduduk pada daerah terpencil dan daerah semi-perkotaan di seluruh dunia masih bergantung pada produk asal tanaman. Standardisasi dan kualitas pengendalian merupakan faktor penting dalam formulasi etnomedisinal. Saat ini, para ahli fitokimia menerapkan teknik modern untuk melestarikan dan memelihara standar dan kualitas produk tanaman tersebut.

Temuan oleh ahli fitokimia melalui investigasi penelitian yang mendukung formulasi etnomedisinal yang digunakan oleh suku setempat. Beberapa senyawa kimia yang berasal dari tanaman sudah menjalani uji klinis dan beberapa di antaranya sedang dalam tahap uji praklinis. Demikian pula, penelitian terus difokuskan pada pengembangan produk baru yang dikombinasikan dengan senyawa alami dari etnomedis. Para peneliti mengidentifikasi keanekaragaman senyawa kimia yang mengarah pada formulasi obat baru terhadap patogen yang resistan terhadap banyak obat

(Aderibigbe, 2021; Aprely, Misfadhila and Asra, 2021; Dehelean *et al.*, 2021).

## DAFTAR PUSTAKA

- Aderibigbe, B.A. 2021. 'Drug Discovery'.
- Andriani, L., Meirista, I. and Yulion, R. 2023. 'Pengelolaan Sumber Daya Alam di Indonesia : Potensi dan Kebijakan Pemerintah untuk Dukungan Produk Bahan Alam dengan Daya Antibakteri. Natural Resources Management in Indonesia : Potential and Government Policy to Support Natural Material Products with An', 7, pp. 1733–1749.
- Aprely, K.J., Misfadhila, S. and Asra, R. 2021. 'A Review: The Phytochemistry, Pharmacology and Traditional Use of Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb)', *EAS Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(1), pp. 21–25. Available at: <https://doi.org/10.36349/easjpp.2021.v03i01.004>.
- Dehelean, C.A. *et al.* 2021. 'Drug Discovery and Alternative Therapy', *Molecules*, 1096, pp. 1–29.
- Gupta, K.J. *et al.* 2022. 'Nitric oxide regulation of plant metabolism', *Molecular Plant*, 15(2), pp. 228–242. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.12.012>.
- Hasan, M.K. *et al.* 2021. 'Phytochemistry, pharmacological activity, and potential health benefits of *Glycyrrhiza glabra*', *Heliyon*, 7(6). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07240>.
- Khare, S. *et al.* 2020. 'Plant secondary metabolites synthesis and their regulations under biotic and abiotic constraints', *Journal of Plant Biology*, 63(3), pp. 203–216. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12374-020-09245-7>.
- Liu, P. *et al.* 2020. 'Structure Selectivity of Alkaline Periodate Oxidation on Lignocellulose for Facile Isolation of Cellulose Nanocrystals', *Angewandte Chemie - International Edition*, 59(8), pp. 3218–3225. Available at: <https://doi.org/10.1002/anie.201912053>.
- Maulana, R. *et al.* 2023. 'Studi Etnobotani Tumbuhan Obat Di Kawasan Wisata Air Terjun Desa Riamau Kecamatan Wawo Kabupaten Bima', *JUSTER: Jurnal Sains dan Terapan*, 2(1), pp. 45–55.

- Munggari, I.P. *et al.* 2022. 'Current Research of Phytochemical, Medicinal and Non-Medicinal Uses of *Uncaria gambir* Roxb.: A Review', *Molecules*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27196551>.
- Nasim, N., Sandeep, I.S. and Mohanty, S. 2022. 'Plant-derived natural products for drug discovery: current approaches and prospects', *Nucleus (India)*, 65(3), pp. 399–411. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13237-022-00405-3>.
- Pengelly, A. and Bone, K. 2020. *Introduction to Phytochemistry, The Constituents of Medicinal Plants*. Available at: <https://doi.org/10.4324/9781003117964-1>.
- Rahmawati, N. *et al.* 2023. 'Cytotoxic Activity Screening of Various *Uncaria* Spp Plants on T47d Breast Cancer Cells', *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(1), pp. 2218–2221. Available at: <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v7i1.19>.
- Rohit Saxena. 2023. 'Exploring Approaches for Investigating Phytochemistry: Methods and Techniques', *Medalion Journal: Medical Research, Nursing, Health and Midwife Participation*, 4(2), pp. 65–73. Available at: <https://doi.org/10.59733/medalion.v4i2.76>.
- Twaij, B.M. and Hasan, M.N. 2022. 'Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses', *International Journal of Plant Biology*, 13(1), pp. 4–14. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>.

# **BAB 2**

## **SKRINING FITOKIMIA**

*Oleh Agung Wibawa Mahatva Yodha*

### **2.1 Pendahuluan**

Skrining fitokimia adalah serangkaian uji laboratorium yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan menentukan keberadaan berbagai senyawa bioaktif dalam ekstrak tumbuhan. Senyawa-senyawa ini, yang dikenal sebagai fitokimia, berkontribusi pada sifat terapeutik dan aktivitas biologis tumbuhan obat. Skrining fitokimia penting untuk memahami potensi manfaat kesehatan dan aplikasi dari ekstrak tumbuhan. Berikut adalah gambaran umum tentang proses skrining fitokimia:

Langkah-langkah dan Uji yang Umum Dilakukan:

#### **2.1.1 Pemilihan Bahan Tanaman**

Pilih tumbuhan atau bagian tumbuhan yang umumnya dikenal memiliki sifat obat atau menarik perhatian karena potensinya dalam mengandung senyawa fitokimia.

#### **2.1.2 Persiapan Ekstrak Tumbuhan**

Ekstrak senyawa fitokimia dari bahan tanaman menggunakan pelarut yang sesuai, seperti etanol, metanol, atau air. Metode ekstraksi melibatkan maserasi, perkolasi, atau destilasi.

#### **2.1.3 Uji Fisikokimia**

Lakukan serangkaian uji fisikokimia, seperti indeks bias, rotasi optik, dan densitas, untuk menentukan sifat-sifat fisik dari ekstrak tumbuhan.

#### **2.1.4 Uji Kualitatif Senyawa**

Gunakan uji kualitatif untuk mendeteksi keberadaan kelas-kelas senyawa tertentu, seperti:

1. Alkaloid: Gunakan Reagen Dragendorff atau Reagen Mayer.

2. Flavonoid: Gunakan uji reagen Shinoda atau uji reagen aluminium.
3. Tannin: Lakukan uji dengan reagen besi(III) klorida.
4. Saponin: Gunakan uji busa atau uji pengendapan.
5. Terpenoid: Lakukan uji Salkowski atau uji Liebermann-Burchard.
6. Steroid: Gunakan uji Liebermann-Burchard.

### **2.1.5 Teknik Kromatografi**

Terapkan teknik kromatografi, seperti Kromatografi Lapis Tipis (TLC) atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC), untuk pemisahan dan identifikasi senyawa secara lebih rinci.

### **2.1.6 Dokumentasi**

Catat semua langkah-langkah, hasil uji, dan observasi dengan rinci. Dokumentasi yang baik memfasilitasi reproduksibilitas dan referensi masa depan.

### **2.1.7 Tindakan Keamanan**

Selalu patuhi tindakan keamanan laboratorium saat menangani bahan kimia dan ekstrak tumbuhan.

Skrining fitokimia memberikan informasi berharga tentang komposisi kimia dari ekstrak tumbuhan, membimbing penelitian lebih lanjut terkait aplikasi terapeutik dan pengembangan produk alami.

## **2.2 Uji Kualitatif Senyawa**

Uji kualitatif senyawa adalah serangkaian metode laboratorium yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan atau jenis senyawa kimia dalam suatu sampel. Tujuan dari uji kualitatif ini adalah untuk mendapatkan informasi awal tentang komposisi kimia suatu substansi tanpa memerlukan pengukuran kuantitatif yang mendalam. Berikut adalah beberapa uji kualitatif umum yang digunakan untuk mengidentifikasi berbagai kelas senyawa:

### **2.2.1 Pengujian Alkaloid dengan Reagen Dragendorff atau Reagen Mayer**

Pengujian alkaloid dengan menggunakan Reagen Dragendorff atau Reagen Mayer adalah uji kualitatif umum yang digunakan dalam skrining fitokimia. Alkaloid adalah kelompok senyawa yang mengandung nitrogen dan sering ditemukan dalam tumbuhan. Berikut adalah gambaran singkat tentang prosedur pengujian menggunakan Reagen Dragendorff atau Reagen Mayer:

#### **Bahan-Bahan**

1. Ekstrak Tumbuhan: Disiapkan dari bahan tanaman yang dipilih.
2. Reagen Dragendorff:
  - a. Komposisi: Larutan potassium bismuth iodide.
  - b. Persiapan: Dapat dibeli atau disiapkan di laboratorium.
3. Reagen Mayer:
  - a. Komposisi: Larutan potassium mercuric iodide.
  - b. Persiapan: Dapat dibeli atau disiapkan di laboratorium.
4. Tabung Reaksi
5. Pipet
6. Air Destilasi

#### **Prosedur**

1. Persiapan Ekstrak Tumbuhan  
Ekstrak alkaloid dari bahan tanaman menggunakan pelarut yang sesuai (misalnya, etanol atau metanol). Konsentrasikan ekstrak jika diperlukan.
2. Pengujian Reagen Dragendorff
  - a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.
  - b. Tambahkan beberapa tetes Reagen Dragendorff ke dalam ekstrak.
  - c. Amati perubahan warna. Pembentukan endapan berwarna oranye atau coklat kemerahan menunjukkan keberadaan alkaloid.
3. Pengujian Reagen Mayer
  - a. Ambil bagian lain dari ekstrak tanaman dalam tabung reaksi yang berbeda.

- b. Tambahkan beberapa tetes Reagen Mayer ke dalam ekstrak.
  - c. Amati munculnya endapan berwarna krim atau kuning. Pembentukan endapan ini menunjukkan keberadaan alkaloid.
4. Pengujian Kontrol
- Lakukan uji kontrol menggunakan pelarut saja (tanpa ekstrak tanaman) dengan Reagen Dragendorff dan Reagen Mayer untuk memastikan bahwa reaksi yang diamati spesifik terhadap ekstrak tanaman.
5. Interpretasi
- Hasil positif (pembentukan endapan) dalam uji Reagen Dragendorff atau Reagen Mayer menunjukkan kemungkinan keberadaan alkaloid dalam ekstrak tanaman.
6. Catatan
- Intensitas warna dan jenis endapan yang terbentuk dapat bervariasi tergantung pada jenis alkaloid yang hadir.
7. Tindakan Keamanan
- Patuhi tindakan keamanan laboratorium standar saat menangani reagen dan ekstrak tanaman.

Uji kualitatif ini merupakan langkah awal dalam mengidentifikasi alkaloid dalam ekstrak tanaman tertentu. Konfirmasi lebih lanjut dan analisis rinci mungkin melibatkan uji atau teknik kromatografi untuk pemahaman yang lebih komprehensif terkait profil alkaloid.

### **2.2.2 Uji Flavonoid dengan Uji Shinoda atau Uji Ferric Chloride**

Pengujian flavonoid dengan menggunakan uji Shinoda atau uji ferric chloride adalah metode kualitatif umum yang digunakan dalam skrining fitokimia. Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik yang sering ditemukan dalam tumbuhan dan dikenal memiliki sifat antioksidan. Berikut adalah gambaran singkat tentang prosedur pengujian menggunakan uji Shinoda atau uji ferric chloride:

## **Bahan-Bahan**

1. Ekstrak Tumbuhan: Disiapkan dari bahan tanaman yang dipilih.
2. Larutan HCl (Asam Klorida)  
Komposisi: Larutan asam klorida dengan konsentrasi tertentu.
3. Larutan Pelarut Etanol  
Komposisi: Etanol atau metanol.
4. Uji Shinoda  
Persiapan: Campurkan ekstrak tumbuhan dengan larutan HCl dan lalu tambahkan larutan pelarut etanol.
5. Uji Ferric Chloride  
Komposisi: Larutan besi(III) klorida.

## **Prosedur Uji Shinoda**

1. Campurkan Ekstrak dengan HCl dan Etanol
  - a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.
  - b. Tambahkan beberapa tetes larutan HCl.
  - c. Kemudian, tambahkan larutan pelarut etanol.
  - d. Amati perubahan warna yang terjadi.
2. Interpretasi  
Perubahan warna menjadi merah atau merah keunguan menunjukkan kemungkinan keberadaan flavonoid.

## **Prosedur Uji Ferric Chloride**

1. Tambahkan Ferric Chloride
  - a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.
  - b. Tambahkan beberapa tetes larutan besi(III) klorida ke dalam ekstrak.
2. Amati Perubahan Warna:  
Perubahan warna, seperti warna biru atau hijau, menunjukkan kemungkinan keberadaan flavonoid.
3. Interpretasi  
Warna yang muncul dapat bervariasi tergantung pada jenis flavonoid yang hadir.

#### 4. Tindakan Kontrol:

Lakukan uji kontrol dengan menggunakan larutan HCl atau etanol saja untuk memastikan bahwa perubahan warna yang diamati spesifik terhadap ekstrak tanaman.

#### 5. Tindakan Keamanan

Patuhi tindakan keamanan laboratorium saat menangani bahan kimia dan ekstrak tumbuhan.

Uji Shinoda dan uji ferric chloride memberikan indikasi awal terkait keberadaan flavonoid dalam ekstrak tanaman. Uji ini merupakan langkah awal dalam skrining fitokimia yang lebih komprehensif.

### **2.2.3 Uji Tannin dengan Uji Ferric Chloride atau Uji Gelatin**

Pengujian tannin dengan menggunakan uji ferric chloride atau uji gelatin adalah metode kualitatif yang umum digunakan dalam skrining fitokimia. Tannin adalah senyawa fenolik kompleks yang sering ditemukan dalam tumbuhan dan dapat memberikan efek penyamakan. Berikut adalah gambaran singkat tentang prosedur pengujian menggunakan uji ferric chloride atau uji gelatin

#### **Bahan-Bahan**

1. Ekstrak Tumbuhan: Disiapkan dari bahan tanaman yang dipilih.
2. Larutan Ferric Chloride  
Komposisi: Larutan besi(III) klorida dengan konsentrasi tertentu.
3. Larutan Gelatin:  
Komposisi: Larutan gelatin dalam air.

#### **Prosedur Uji Ferric Chloride**

1. Tambahkan Ferric Chloride
  - a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.
  - b. Tambahkan beberapa tetes larutan besi(III) klorida ke dalam ekstrak.
  - c. Amati perubahan warna yang terjadi.

## 2. Interpretasi

Pembentukan warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan kemungkinan keberadaan tannin.

### **Prosedur Uji Gelatin**

#### 1. Campurkan dengan Larutan Gelatin:

- a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.
- b. Tambahkan beberapa tetes larutan gelatin ke dalam ekstrak.
- c. Biarkan larutan istirahat selama beberapa waktu.

#### 2. Amati Pembekuan

Perhatikan apakah terjadi pembekuan atau endapan gelatin. Pembentukan endapan menunjukkan kemungkinan keberadaan tannin.

#### 3. Interpretasi

Pembentukan endapan gelatin mengindikasikan keberadaan tannin dalam ekstrak tanaman.

#### 4. Tindakan Kontrol

Lakukan uji kontrol dengan menggunakan larutan besi(III) klorida atau gelatin saja untuk memastikan bahwa perubahan yang diamati spesifik terhadap ekstrak tanaman.

#### 5. Tindakan Keamanan

Patuhi tindakan keamanan laboratorium saat menangani bahan kimia dan ekstrak tumbuhan.

Uji ferric chloride dan uji gelatin memberikan indikasi awal terkait keberadaan tannin dalam ekstrak tanaman. Meskipun metode ini bersifat kualitatif, mereka merupakan langkah awal yang bermanfaat dalam skrining fitokimia.

### **2.2.4 Uji Saponin dengan Uji Busa atau Uji Hemolisis**

Pengujian saponin dengan menggunakan uji busa atau uji hemolisis adalah metode kualitatif yang umum digunakan dalam skrining fitokimia. Saponin adalah senyawa yang dapat menghasilkan busa dan memiliki kemampuan menghancurkan membran sel darah merah. Berikut adalah gambaran singkat

tentang prosedur pengujian menggunakan uji busa atau uji hemolisis.

### **Bahan-Bahan**

1. Ekstrak Tumbuhan: Disiapkan dari bahan tanaman yang dipilih.
2. Larutan Sabun (Soap Solution):  
Komposisi: Larutan sabun yang dapat dibuat dengan mencampurkan deterjen ringan dengan air.

### **Prosedur Uji Busa**

1. Campurkan dengan Larutan Sabun
  - a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.
  - b. Tambahkan beberapa tetes larutan sabun.
  - c. Guncangkan larutan dengan cepat.
2. Amati Pembentukan Busa  
Perhatikan apakah terjadi pembentukan busa yang stabil dan tahan lama.
3. Interpretasi  
Pembentukan busa yang banyak menunjukkan kemungkinan keberadaan saponin dalam ekstrak tanaman.

### **Prosedur Uji Hemolisis**

1. Persiapkan Larutan Eritrosit (Sel Darah Merah):
  - a. Ambil darah merah dan cuci dengan larutan garam fisiologis.
  - b. Suspensikan sel darah merah dalam larutan garam fisiologis hingga mendapatkan larutan eritrosit.
2. Campurkan dengan Ekstrak Tumbuhan  
Campurkan larutan eritrosit dengan sejumlah kecil ekstrak tanaman.
3. Amati Hemolisis  
Amati apakah terjadi hemolisis, yaitu pecahnya sel darah merah dan pelepasan hemoglobin.
4. Interpretasi  
Hemolisis yang terjadi menunjukkan kemungkinan keberadaan saponin dalam ekstrak tanaman.

#### 5. Tindakan Kontrol

Lakukan uji kontrol dengan menggunakan larutan sabun atau larutan eritrosit saja untuk memastikan bahwa perubahan yang diamati spesifik terhadap ekstrak tanaman.

#### 6. Tindakan Keamanan

Patuhi tindakan keamanan laboratorium saat menangani bahan kimia dan ekstrak tumbuhan.

Uji busa dan uji hemolisis memberikan indikasi awal terkait keberadaan saponin dalam ekstrak tanaman. Meskipun metode ini bersifat kualitatif, mereka merupakan langkah awal yang berguna dalam skrining fitokimia.

### 2.2.5 Uji Saponin dengan Uji Busa atau Uji Hemolisis

Pengujian terpenoid dengan menggunakan uji Salkowski adalah metode kualitatif umum yang digunakan dalam skrining fitokimia. Terpenoid adalah kelompok senyawa yang terdapat dalam minyak atsiri dan memiliki berbagai manfaat dalam bidang kesehatan dan industri. Berikut adalah gambaran singkat tentang prosedur pengujian menggunakan uji Salkowski.

#### **Bahan-Bahan**

1. Ekstrak Tumbuhan: Disiapkan dari bahan tanaman yang dipilih.
2. Larutan Asam Sulfat (Sulfuric Acid)  
Komposisi: Larutan asam sulfat pekat.

#### **Prosedur Uji Salkowski**

1. Campurkan dengan Larutan Asam Sulfat
  - a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.
  - b. Tambahkan beberapa tetes larutan asam sulfat pekat ke dalam ekstrak.
2. Amati Perubahan Warna  
Perhatikan perubahan warna yang terjadi setelah penambahan larutan asam sulfat.

### 3. Interpretasi

Perubahan warna menjadi merah atau merah keunguan menunjukkan kemungkinan keberadaan terpenoid dalam ekstrak tanaman.

### 4. Tindakan Kontrol

Lakukan uji kontrol dengan menggunakan larutan asam sulfat pekat saja untuk memastikan bahwa perubahan yang diamati spesifik terhadap ekstrak tanaman.

### 5. Tindakan Keamanan

Patuhi tindakan keamanan laboratorium saat menangani bahan kimia dan ekstrak tumbuhan.

Uji Salkowski memberikan indikasi awal terkait keberadaan terpenoid dalam ekstrak tanaman. Meskipun metode ini bersifat kualitatif, ini merupakan langkah awal yang berguna dalam skrining fitokimia. Perubahan warna yang diamati disebabkan oleh reaksi antara terpenoid dalam ekstrak dengan asam sulfat, membentuk senyawa yang menunjukkan warna karakteristik.

## 2.2.6 Uji Steroid dengan Uji Liebermann-Burchard

Pengujian steroid dengan menggunakan uji Liebermann-Burchard adalah metode kualitatif yang umum digunakan dalam skrining fitokimia. Steroid adalah kelompok senyawa yang memiliki struktur dasar yang sama dan berperan penting dalam berbagai fungsi biologis. Berikut adalah gambaran singkat tentang prosedur pengujian menggunakan uji Liebermann-Burchard.

### Bahan-Bahan

1. Ekstrak Tumbuhan: Disiapkan dari bahan tanaman yang dipilih.
2. Larutan Asam Asetat (*Acetic Acid*)  
Komposisi: Larutan asam asetat glasial.

### Prosedur Uji Liebermann-Burchard

1. Campurkan dengan Larutan Asam Asetat
  - a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.

- b. Tambahkan beberapa tetes larutan asam asetat glasial ke dalam ekstrak.
  - c. Panaskan campuran dengan hati-hati.
2. Amati Perubahan Warna  
Perhatikan perubahan warna yang terjadi setelah pemanasan.
3. Interpretasi  
Perubahan warna yang mencolok, seperti warna biru atau hijau, menunjukkan kemungkinan keberadaan steroid dalam ekstrak tanaman.
4. Tindakan Kontrol  
Lakukan uji kontrol dengan menggunakan larutan asam asetat glasial saja untuk memastikan bahwa perubahan yang diamati spesifik terhadap ekstrak tanaman.
5. Tindakan Keamanan  
Patuhi tindakan keamanan laboratorium saat menangani bahan kimia dan ekstrak tumbuhan.

Uji Liebermann-Burchard memberikan indikasi awal terkait keberadaan steroid dalam ekstrak tanaman. Meskipun metode ini bersifat kualitatif, ini merupakan langkah awal yang berguna dalam skrining fitokimia. Perubahan warna yang diamati disebabkan oleh reaksi antara steroid dalam ekstrak dengan asam asetat glasial, membentuk senyawa yang menunjukkan warna karakteristik.

### **2.2.7 Uji Glikosida dengan Uji Legal**

Pengujian glikosida dengan menggunakan uji Legal adalah metode kualitatif yang umum digunakan dalam skrining fitokimia. Glikosida adalah senyawa yang terdiri dari bagian gula (glukosa atau gula lainnya) yang terikat pada bagian non-gula, seperti aglikon. Berikut adalah gambaran singkat tentang prosedur pengujian menggunakan uji Legal.

#### **Bahan-Bahan**

1. Ekstrak Tumbuhan: Disiapkan dari bahan tanaman yang dipilih.
2. Larutan Asam Klorida (Hydrochloric Acid)

Komposisi: Larutan asam klorida dengan konsentrasi tertentu.

3. Larutan Natrium Nitrit (Sodium Nitrite)

Komposisi: Larutan natrium nitrit dengan konsentrasi tertentu.

4. Larutan Amonium Hidroksida (Ammonium Hydroxide)

Komposisi: Larutan amonium hidroksida dengan konsentrasi tertentu.

5. Larutan Tannic Acid

Komposisi: Larutan asam tannat.

### **Prosedur Uji Legal**

1. Campurkan dengan Larutan Asam Klorida:

a. Ambil sejumlah kecil ekstrak tanaman dalam tabung reaksi.

b. Tambahkan beberapa tetes larutan asam klorida.

2. Tambahkan Natrium Nitrit

Tambahkan beberapa tetes larutan natrium nitrit ke dalam campuran.

3. Tambahkan Amonium Hidroksida

Tambahkan beberapa tetes larutan amonium hidroksida ke dalam campuran.

4. Amati Perubahan Warna

Perhatikan perubahan warna yang terjadi setelah penambahan larutan amonium hidroksida.

5. Tambahkan Larutan Tannic Acid

Tambahkan beberapa tetes larutan tannic acid ke dalam campuran.

6. Amati Perubahan Warna Akhir

Perhatikan perubahan warna akhir setelah penambahan larutan tannic acid.

7. Interpretasi

Perubahan warna yang terjadi menunjukkan kemungkinan keberadaan glikosida dalam ekstrak tanaman.

8. Tindakan Kontrol

Lakukan uji kontrol dengan menggunakan larutan asam klorida, natrium nitrit, amonium hidroksida, dan tannic acid

saja untuk memastikan bahwa perubahan yang diamati spesifik terhadap ekstrak tanaman.

9. Tindakan Keamanan

Patuhi tindakan keamanan laboratorium saat menangani bahan kimia dan ekstrak tumbuhan.

Uji Legal memberikan indikasi awal terkait keberadaan glikosida dalam ekstrak tanaman. Meskipun metode ini bersifat kualitatif, ini merupakan langkah awal yang bermanfaat dalam skrining fitokimia. Perubahan warna yang diamati disebabkan oleh reaksi antara glikosida dalam ekstrak dengan larutan asam klorida, natrium nitrit, amonium hidroksida, dan tannic acid.

Skrining fitokimia adalah bahwa melalui serangkaian uji laboratorium yang dilakukan, kita dapat mengidentifikasi keberadaan sejumlah kelas senyawa kimia dalam ekstrak tumbuhan tertentu. Metode skrining fitokimia melibatkan penggunaan berbagai reagen dan teknik uji kualitatif untuk mengungkapkan keberadaan alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, steroid, glikosida, dan senyawa lainnya.

Hasil positif pada uji-uji ini memberikan petunjuk awal tentang potensi aktivitas biologis dan kandungan kimia yang dimiliki oleh tumbuhan tersebut. Sebagai contoh, pembentukan endapan pada uji ferric chloride atau gelatin dapat menunjukkan keberadaan tannin, sedangkan perubahan warna pada uji Salkowski dapat mengindikasikan keberadaan terpenoid.

Meskipun skrining fitokimia memberikan gambaran kasar tentang komposisi kimia suatu tumbuhan, interpretasi yang lebih mendalam dan analisis yang lebih rinci seringkali memerlukan teknik kromatografi dan spektroskopi yang lebih lanjut. Kesimpulan ini menekankan pentingnya uji kualitatif dalam memahami potensi fitokimia suatu tumbuhan dan membimbing penelitian lebih lanjut terkait pemanfaatan dan aplikasi senyawa-senyawa tersebut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azwinda NN. 2015. A Review on the Extraction Method Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal and Aromatic Plants*. 4(3):1-6.
- Dhanani T, Shah S, Gajbhiye NA, Kumar S. 2017. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*. 10:1193-1199.
- Emran TB, Mir MN, Rahman A, Zia Uddin, Islam M. 2015. Phytochemical, Antimicrobial, Cytotoxic, Analgesic and Anti-inflammatory Properties of *Azadirachta indica*: A Therapeutic Study. *Journal of Bioanalysis and Biomedicine*. 12:1-7.
- Evans WC. 2009. *Trease and Evans Pharmacognosy*. 16th Edn. Saunders Elsevier. 135-415.
- Ezeonu CS, Ejikeme CM. 2016. Qualitative and Quantitative Determination of Phytochemical Contents of Indigenous Nigerian Softwoods. *New Journal of Science*. 1-9.
- Kocabas A. 2017. Ease of Phytochemical Extraction and Analysis from Plants. *Anatolian Journal of Botany*. 1(2):26-31.
- Njoku OV, Obi C. 2009. Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 3(11):228-233
- Raaman N. 2006. *Phytochemical Techniques*. New India Publishing Agency, New Delhi. 19-24.
- Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. 2013. Phytochemistry of Medicinal Plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(6):168-182.
- Shaikh, J.R, dan Patil, MK. 2020. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*. 8(2): 603-608.
- Sheel R, Nisha K, Kumar J. Preliminary Phytochemical Screening of Methanolic Extract of *Clerodendron infortunatum*. *IOSR Journal of Applied Chemistry*. 2014; 7(1):10-13.

- Silva GO, Abeysundara AT, Aponso MM. 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.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 1(1):98- 106.



# BAB 3

## EKSTRAKSI KANDUNGAN SENYAWA

*Oleh Karmilah*

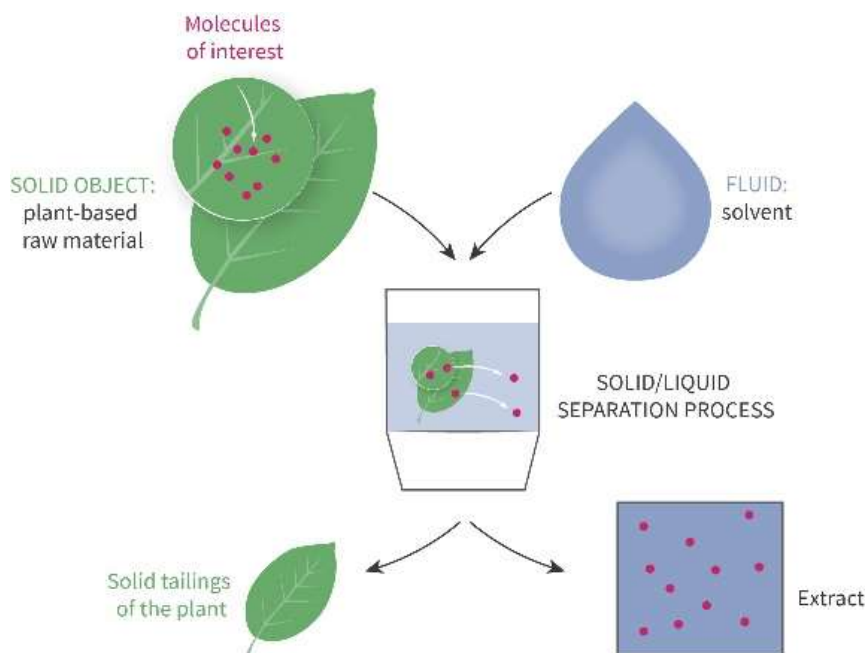
### 3.1 Pendahuluan

Bahan alamiah yang digunakan dalam berbagai tujuan berada bersama-sama dengan bahan-bahan lain yang tidak dibutuhkan dan tercampur di dalam jaringan dan sel. Salah satu cara untuk mendapatkan manfaat dari kandungan bahan alam adalah mengambil sari dengan cara penarikan senyawa melalui metode ekstraksi (Lulli Hanni Endarini, 2016). Ekstraksi atau penyarian adalah proses pemisahan bahan dari campurannya atau pemisahan bahan dari ampasnya secara kimia atau fisika dengan menggunakan bahan penyari yang sesuai (Mukhtarini, 2014).

Dalam parameter standar umum ekstrak, ekstraksi merupakan langkah awal dalam mengisolasi bahan alam umumnya pada tumbuhan dan hewan yang digunakan sebagai senyawa target yang berkhasiat (RI, 2000). Ekstraksi ini umumnya merupakan ekstraksi dengan pelarut yang sesuai atau ekstraksi padatan-cairan (*Solid-liquid extraction*) yaitu melibatkan zat padat yang mengandung zat terlarut (senyawa target) dan zat cair sebagai bahan penyari untuk melarutkan senyawa target. Selain itu terdapat ekstraksi cairan-cairan (*liquid-liquid extraction*) yaitu pengambilan senyawa pada bahan cair atau yang sudah terlarut sebelumnya dengan cara mencampurkan dengan pelarut lain yang bersifat *immiscible* dengan pelarut awal, sehingga senyawa target dapat terlarutkan pada pelarut baru. Metode ini disebut dengan fraksinasi (Nugroho, 2017). Selain ekstraksi dengan menggunakan cairan sebagai penyari, ada bahan penyari yang digunakan tidak berupa cairan sebagai pelarut tetapi berupa bahan lain, seperti gas karbondioksida pada metode ekstraksi *Supercritical fluid Extraction* (SFE), dll (dibahas pada sub-subbab metode ekstraksi).

## 3.2 Prinsip Ekstraksi

Prinsip dasar ekstraksi yaitu dimulai dengan proses pembukaan jaringan atau dinding sel dengan perlakuan (metode ekstraksi tertentu), dilanjutkan dengan proses penarikan bahan (senyawa target) menggunakan bahan penyari yang sesuai (Nugroho, 2017). Kecuali dinyatakan lain, bahan penyari yang digunakan berupa cairan yaitu pelarut organik atau air. Proses penarikan senyawa dengan pelarut terjadi karena adanya kontak langsung antara bahan dan pelarut berdasarkan prinsip kedekatan sifat kepolaran dari senyawa dan pelarut yang terjadi secara dinamik yaitu pelarut akan berpenetrasi dan masuk ke dalam sel melarutkan senyawa-senyawa dan mengeluarkan atau memisahkan senyawa dari biomassa penghasilnya (Nugroho, 2017). Contoh sederhana dilihat pada gambar 3.1. Ekstraksi Tumbuhan (Willian and Pardi, 2022).



**Gambar 3.1.** gambaran proses ekstraksi sederhana

(Sumber : <https://www.berkem.com/en/expertise-en/plant-extraction>)

### **3.3 Metode Ekstraksi**

Tahapan ekstraksi kandungan senyawa pada bahan yaitu:

1. Pemilihan bahan dengan memastikan keaslian bahan yang akan diekstrak. Untuk bahan tumbuhan sebaiknya berasal dari satu tempat, sebab sumber tumbuhan yang berbeda, akan mempengaruhi kandungan senyawa.
2. Preparasi bahan yaitu sebelum diekstraksi, bahan umumnya dibuat simplisia kering dengan langkah-langkah sortasi basah, pencucian, penirisan, pengecilan ukuran, pengeringan, sortasi kering, dan penyerbukan.
3. Proses ekstraksi yaitu penarikan kandungan senyawa dengan menggunakan pelarut yang sesuai dan metode yang tepat, yang dilanjutkan dengan Filtrasi, evaporasi, ekstrak

Pemilihan teknik atau metode ekstraksi harus memperhatikan jenis bahan, sifat senyawa yang akan ditarik, dan peralatan yang tersedia. Secara umum, metode ekstraksi diklasifikasikan dalam 2 jenis yaitu (Lulli Hanni Endarini, 2016):

1. Ekstraksi sederhana (teknik ekstraksi konvensional): metode dingin yaitu proses ekstraksi berlangsung secara dingin atau tidak melibatkan pemanasan. Metode ini terdiri dari maserasi dan perkolasi. Metode panas yaitu ekstraksi yang melibatkan pemanasan dalam prosesnya. Metode terdiri dari reflux, sokhletasi, infusa, dekok, digesti, destilasi. Metode lainnya yaitu ekstraksi dengan alkohol teknis secara fermentasi, dan ekstraksi kontinyu secara lawan arah.
2. Ekstraksi modern (teknik non konvensional): ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik, ekstraksi berbantu medan listrik, ekstraksi berbantu enzim, ekstraksi berbantu gelombang mikro, ekstraksi dengan cairan pelarut bertekanan, ekstraksi dengan fluida superkritik, dan ekstraksi dengan proses fitonik,

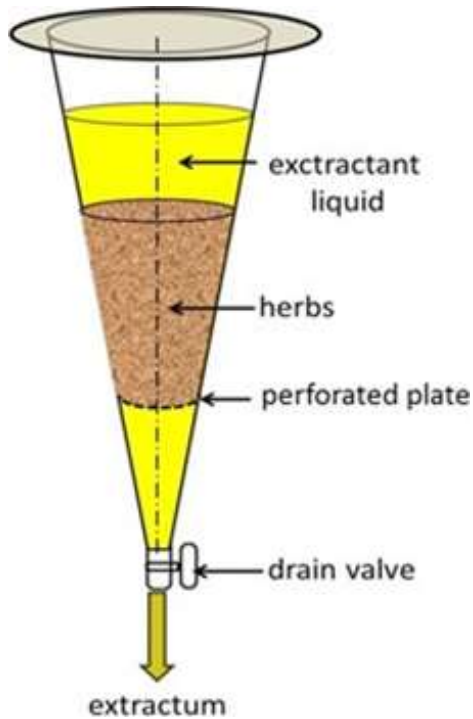
#### **3.3.1 Maserasi**

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara perendaman bahan utuh atau yang telah dikeringkan dan digiling ke dalam pelarut yang sesuai dalam

bejana tertutup rapat. Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam pada temperatur ruangan (kamar) dengan pengadukan berkali-kali (Lulli Hanni Endarini, 2016). Pengadukan secara kontinyu juga dapat dilakukan untuk mempercepat proses ekstraksi. Proses ekstraksi dihentikan ketika telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel, kemudian dilanjutkan pemisahan campuran dari ampas dengan cara penyaringan dan pengepressan. Untuk meningkatkan rendemen, dilakukan remaserasi yaitu pengulangan penambahan pelarut yang sama pada sisa/ampas hasil ekstraksi. Remaserasi dilakukan karena adanya kemungkinan pada saat kesetimbangan konsentrasi tercapai, masih ada sisa kandungan senyawa yang tertinggal pada bahan. Remaserasi dilakukan 2 sampai 3 kali atau hingga warna maserat menyerupai warna pelarut.

### **3.3.2 Perkolasi**

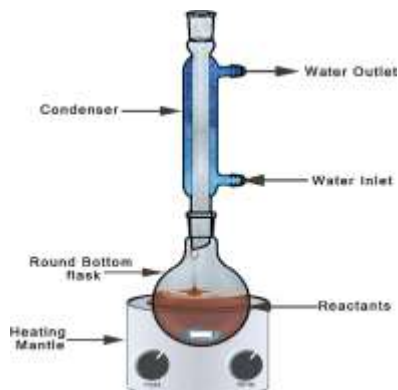
Perkolasi adalah ekstraksi dengan cara pelarut dialirkan melalui serbuk simplisia dalam percolator dengan pelarut yang selalu baru. Metode perkolasi diperuntukan pada senyawa yang memiliki tingkat kelarutan yang tinggi. Prosesnya terdiri dari tahap pengembangan bahan yaitu sampel yang telah diserbukan dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai selama  $\pm 4$  jam dalam tangki tertutup. Tahap maserasi antara yaitu dimasukan sampel yang telah dibasahi ke dalam percolator ditambahkan pelarut hingga merendam bahan, dibiarkan termaserasi selama 24 jam secara tertutup. Tahap penetesan/penampungan ekstrak yaitu dikeluarkan cairan perkolat melalui bukaan katub bagian bawah perkolator bersamaan dengan dialirkan pelarut baru pada sampel secara kontinu melalui bagian atas perkolator, dilakukan secara terus menerus sampai diperoleh perkolat 1-5 kali jumlah bahan (*exhaustive extraction*) (RI, 2000).



**Gambar 3.2.** Perkolasi  
(Sumber : Julianto, 2019)

### 3.3.3 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut yang volatil pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. (Hanani, 2015). Refluks artinya pelarut yang di-*recycle* secara kontinu melalui perkondesasian berulang pada kondensor. Prinsipnya yaitu pelarut akan menguap pada suhu tinggi akan didinginkan pada kondensor dan turun kembali ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali hingga diperoleh penyarian yang sempurna (RI, 2000).



**Gambar 3.3. Reflux**  
(Sumber : Aditha *et al.*, 2016)

### 3.3.4 Soxhlet

Soxhletasi adalah ekstraksi dengan suhu didih pelarut dengan penyaringan berulang. Prinsipnya yaitu bahan dan pelarut berada ditempat yang terpisah dengan temperatur yang berbeda pada rangkain alat soxhlet. Pelarut yang dididihkan pada suhu tinggi akan menguap dan terkondensasi dan jatuh kedalam bagian sampel secara terus-menerus dengan jumlah pelarut yang relatif konstan. Setelah beberapa saat, larutan ekstrak akan mencapai volume tertentu dan terpompa mengalir menuju bagian labu soxhlet (Nugroho, 2017).



**Gambar 3.4. Soxhletasi**  
(Sumber :Danielsen *et al.*, 2021)

### **3.3.5 Digesti**

Digesti merupakan modifikasi metode maserasi yaitu ekstraksi dengan pengadukan kontinu (kinetik) pada temperatur suhu sedang (40-50°C). Digesti biasa juga disebut ekstraksi metode pemasakan dengan pemanasan secara perlahan selama proses dekantasi. Dengan menggunakan sedikit panas, dapat meningkatkan efisiensi pelarut dalam mengekstrak senyawa aktif. Digesti diperuntukkan untuk senyawa yang tahan pada suhu di atas suhu kamar tetapi tidak diperbolehkan untuk senyawa yang rusak pada suhu tinggi (>60°C) (Lulli Hanni Endarini, 2016).

### **3.3.6 Infusi**

Infusi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 96-98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96°C). Bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih. Metode ini umumnya diperuntukkan bahan tumbuhan yang bersifat lunak seperti bunga dan daun (Hanani, 2015).

### **3.3.7 Dekoksi**

Dekoksi adalah ekstraksi dengan metode infus dengan pelarut air pada temperatur 96-98°C selama  $\geq 30$  menit dihitung setelah suhu mencapai 96°C. Rangkain alat yang digunakan dan prinsip ekstraksi sama dengan metode infusa. Hanya saja lama / waktu ekstraksi yang berbeda. Dekok umumnya diperuntukkan bahan tumbuhan yang bersifat keras seperti biji, batang, kulit batang, dll (Hanani, 2015).

### **3.3.16 Ekstraksi dengan Alkohol (Fermentasi)**

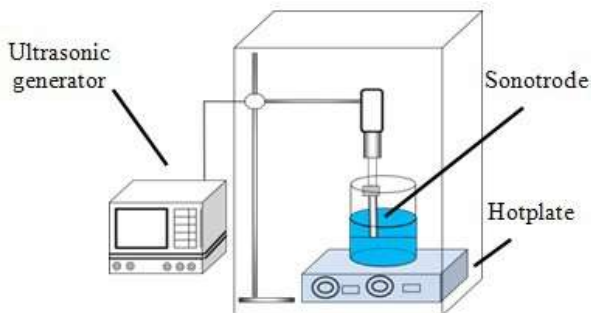
Ekstraksi dengan teknis fermentasi adalah dilakukan dengan cara merendam bahan dalam waktu tertentu hingga terjadi fermentasi dan pembentukan alkohol secara insitu. Pada waktu bersamaan, terjadi proses ekstraksi kandungan senyawa dari bahan. Alkohol yang terbentuk juga berfungsi sebagai pengawet. Wadah fermentasi yang digunakan berupa tangki logam, tong kayu, porselin, bejana berbahan tanah liat. Teknik ini umumnya digunakan pada skala industri dalam produksi bahan aktif dari tanaman obat.

### 3.3.17 Ekstraksi kontinu lawan arah (*Counter current*)

Ekstraksi lawan arah serupa dengan metode perkolasi, tetapi simplisia dibuat bergerak berlawanan arah dengan pelarut dalam suatu ekstraktor. Semakin lama ekstrak bergerak, semakin pekat ekstrak yang diperoleh. Cara ini banyak digunakan pada ekstraksi skala besar.

### 3.3.18 Ekstraksi dengan Gelombang Ultrasonik (*Ultrasound Assisted Extraction*)

Ekstraksi dengan gelombang ultrasonik adalah cara penyarian dengan bantuan gelombang ultrasonik pada frekuensi 20-2000 kHz. Adanya gelombang ultrasonik dengan mekanisme kompresi dan ekspansi, permeabilitas dinding sel meningkat dan isi sel keluar. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat, dan lama proses ultrasonik (RI, 2000).



**Gambar 3.5.** Alat ekstraksi dengan gelombang ultrasonik  
(Sumber : Julianto, 2019)

### 3.3.19 Ekstraksi dengan Medan Listrik berdenyut (*Pulsed-electric field extraction*)

Ekstraksi dengan cara ini prinsipnya adalah adanya denyutan medan listrik akan merakstruktur membran sel untuk mempermudah keluarnya kandungan senyawa dari matriks, berdasarkan karakteristik dipol pada molekul membran, maka potensial listrik akan memisahkan molekul senyawa dalam membran sel. Efektivitas teknik ini dipengaruhi oleh kekuatan medan listrik, jumlah denyutan listrik, suhu dan karakteristik bahan yang diektrak. Teknik ini mampu mengurangi degradasi pada

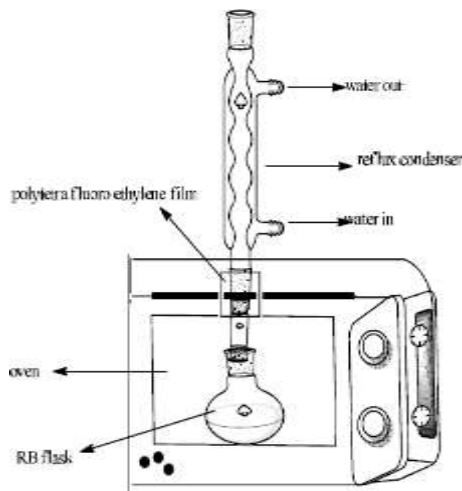
senyawa yang tidak tahan panas, rendemen ekstrak meningkat, dan waktu yang digunakan sedikit.

### 3.3.20 Ekstraksi dengan Enzim (*Enzyme assisted extraction*)

Teknik ini umumnya digunakan untuk mengekstraksi minyak pada biji-bijian. Kandungan senyawa yang tidak terjangkau pada ekstraksi konvensional, dapat dihidrolisis dengan bantuan enzim untuk membantu melepaskan senyawa yang terikat oleh hidrogen dan ikatan hidrofobik, dengan demikian tingkat pencapaian penyarian lebih tinggi dan jumlah rendemen meningkat.

### 3.3.21 Ekstraksi dengan Gelombang Mikro (*Microwave assisted extraction*)

Ekstraksi ini merupakan tehnik penyarian untuk berbagai jenis bahan, menggunakan pelarut cair dengan bantuan gelombang mikro (2450 MHz). Listrik yang dialirkan menghasilkan panas melalui rotasi dipolar dan konduksi ionik sehingga memanaskan seluruh sampel secara bersamaan. Teknik ini lebih selektif dalam mengekstraksi bahan organik yaitu baik digunakan untuk penyarian senyawa yang bersifat dipol-polar.



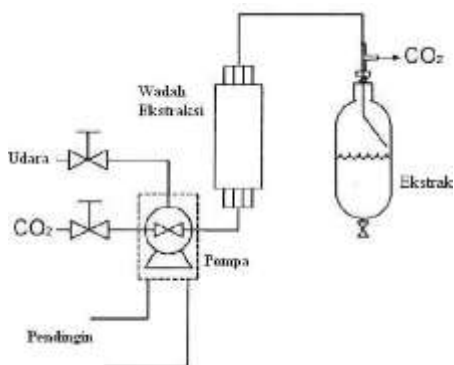
**Gambar 3.6.** Reaktir Mikrowave-Assisted extraction  
(Sumber : Julianto, 2019)

### 3.3.22 Ekstraksi dengan Pelarut Bertekanan (*Pressurized-liquid extraction*)

Ekstraksi dengan pelarut bertekanan merupakan pengembangan metode perkolasi tetapi teknik ekstraksi ini menambahkan tekanan dan meningkatkan dalam meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Pada prinsipnya, adanya suhu tinggi perlu diberi tekanan tinggi agar pelarut tetap berupa cairan meskipun berada pada suhu lebih tinggi daripada titik didihnya. Suhu tinggi bertekanan ini akan mempercepat proses kelarutan senyawa dalam pelarut, sehingga laju ekstraksi lebih tinggi dibandingkan dengan metode lain. Penggunaan pelarut yang sedikit (Nugroho, 2017).

### 3.3.23 Ekstraksi dengan Fluida Superkritik (*Supercritical fluid extraction*)

Ekstraksi ini menggunakan gas superkritis sebagai bahan penyari seperti Karbondioksida, nitrogen, metana, etana, etilen, nitrogen oksida, sulfur dioksida, propana, propilen, amonia, dan sulfur heksafluorida. Penggunaan gas bertekanan tinggi baik digunakan untuk mengekstrak minyak atsiri, atau senyawa yang bersifat mudah menguap dan termolabil. Penggunaan karbondioksida ( $\text{CO}_2$ ) lebih dianjurkan karena bersifat inert, toksisitasnya rendah, tidak mudah terbakar pada kondisi superkritis (Hanani, 2015).



**Gambar 3.7.** Supercritical-fluid extraction  
(Sumber : Julianto, 2019)

### 3.3.24 Ekstraksi Minyak Atsiri

Teknik penyarian minyak atsiri dapat dilakukan 3 metode yaitu :

1. Metode pengembangan (*Pressing*)

Metode *pressing* umumnya diperuntukan penyarian minyak atsiri pada biji, buah/kulit buah yang dilakukan secara manual (penekakanan manual menggunakan tangan) atau alat press. Pada prosesnya adanya pengepresan, sel-sel yang mengandung minyak akan pecah, dan minyak termasuk kandungan air akan keluar kepermukaan bahan (Aryani, Noorcahyati and Arbainsyah, 2020).

2. Metode Ekstraksi

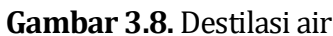
Metode ini sama dengan ekstraksi pada umumnya (konvensional) yaitu penyarian minyak atsiri dengan bantuan pelarut organik yang mudah menguap. Terdapat dua cara penyarian dengan teknik ini yaitu ekstraksi dengan pelarut non volatil (teknik infleurasi), dan ekstraksi dengan pelarut volatil (perendaman bahan atau secara maserasi. Enfleurasi adalah metode penyarian minyak atsiri dengan menggunakan lemak tak berbau sebagai bahan penyari. Metode ini dilakukan pada suhu kamar untuk menangkap senyawa harum yang dikeluarkan oleh tumbuhan. Senyawa yang keluar dari bahan akan berdifusi ke dalam lemak selama 1-3 hari. Prosesnya berupa enfleurasi dingin (menggunakan lemak hewani) dan enfleurasi panas (menggunakan lemak tumbuhan)

3. Metode Penyulingan (destilasi)

Destilasi merupakan cara ekstraksi kandungan senyawa menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) menggunakan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial kandungan senyawa menguap dengan fase uap / air secara kontinu, terkondensasi dan terdestilasi menjadi destilat air yang memisah sempurna atau memisah sebagian (Hanani, 2015). Destilasi air (*Hydrodestillation*) atau destilasi dengan perebusan yaitu bahan kontak langsung dengan air mendidih atau terendam sempurna, kandungan senyawa menguap bersamaan dengan uap air. Destilasi uap-air (*Hydro-Steam destillation*) atau destilasi pengukusan yaitu

Diagram illustrating the distillation process:

- Thermometer**: Measures the temperature of the vapor.
- Clamp**: Holds the flask in place.
- Distillation flask**: The flask containing the liquid to be distilled.
- Condenser**: A tube through which the vapor passes, cooled by water.
- Cooling water**: Water that circulates around the condenser to cool it.
- Condensed water**: The liquid that has been cooled and is dripping from the condenser.
- Cold water**: Water that is used to cool the condenser.
- Receiving flask**: The flask that collects the condensed liquid.
- Distilled water**: The final product of the distillation process.
- Steam**: The vapor rising from the salt water.
- Salt water**: The liquid being distilled.
- Bunsen burner**: The heat source for the distillation.
- Clamped stand**: The stand that holds the flask and condenser.



(Sumber : <https://cdn.britannica.com/50/72150-050->



(Sumber : Julianto, 2019)

### 3.4 Penentuan Pelarut Ekstraksi

Keberhasilan ekstraksi, selain pemilihan metode yang tepat, juga dipengaruhi penetapan pelarut. Pemilihan jenis pelarut perlu diperhatikan sifat fisika kimia seperti indeks polaritas, konstanta dielektrik, titik didih, viskositas, dan kelarutan dalam air. Polaritas pelarut mulai dari yang bersifat non-polar hingga polar seperti heksan, petroleum eter, benzene, kloroform, metanol, etanol, hingga apabila diperlukan menggunakan air. Hal ini karena sangat mempengaruhi efektifitas ekstraksi dan nilai rendemen (Kurniawati, Maftuch and Hariati, 2016). Syarat pelarut harus dapat melarutkan zat yang diinginkan di dalam suatu bahan berdasarkan prinsip *Like dissolved like*.

**Tabel 3.1.** Sifat fisik dan kimia pelarut organik yang sering digunakan ekstraksi bahan alam

| Pelarut      | Indeks Polaritas | Titik Didih (°C) | Konstanta dielektrik | Kelarutan dalam Air (%) |
|--------------|------------------|------------------|----------------------|-------------------------|
| n-heksan     | 0,0              | 69               | 2,0                  | 0,001                   |
| diklorometan | 3,1              | 40               | 9,1                  | 1,6                     |
| n-butanol    | 3,9              | 118              | 18                   | 7,81                    |
| Isopropanol  | 3,9              | 82               | 18                   | 100                     |
| n-propanol   | 4,0              | 97               | 20                   | 100                     |
| Kloroform    | 4,1              | 61               | 4,8                  | 0,815                   |
| Etil asetat  | 4,4              | 77               | 6,0                  | 8,7                     |
| Aseton       | 5,1              | 56               | 21                   | 100                     |
| Metanol      | 5,1              | 65               | 33                   | 100                     |
| Etanol       | 5,2              | 79               | 30                   | 100                     |
| Aquades      | 9,0              | 100              | 80                   | 100                     |

Sumber:(Nugroho, 2017)

## 3.6 Penguapan dan Pengeringan Ekstrak

### 3.6.1 Penguapan Ekstrak

Umumnya hasil penyarian ekstrak masi berupa bentuk cair, karena masi bercampur dengan cairan penyari. Untuk mendapatkan seyawa kimia yang bebas pelarut, maka dilakukan pemisahan antara komponen kimia yang terekstrak dan pelarutnya. Penguapan atau evaporasi ekstrak adalah proses pemisahan ekstrak dari pelarutnya dengan metode tertentu. Penguapan disebut juga proses pemekatan dimana tujuannya adalah untuk memperoleh ekstrak yang lebih pekat sehingga konsentrasi senyawa yang diperoleh lebih besar serta memudahkan penyimpanan. Penguapan sering dilakukan sebelum proses ekstraksi lebih lanjut seperti tahap fraksinasi.

Proses pemekatan dapat dilakukan dengan beberapa metode atau cara yaitu:

1. Cara sederhana yaitu menggunakan penangas air. Disarnkan untuk menguapkan ekstrak dengan pelarut yang memiliki titik didih yang tinggi. Cara ini memiliki kelebihan, mudah, praktis, dan ekonomis, namun memiliki kekurangan yaitu membutuhkan waktu lama sehingga terjadi kemungkinan senyawa dapat terurai.
2. Penggunaan oven yaitu menggunakan alat oven dengan suhu yang bisa dikendalikan. Cara ini digunakan untuk ekstrak dengan kadar air yang sedikit. Cara ini memiliki kelebihan suhu dapat diatur sehingga dapat disesuaikan dengan titik didih pelarut dalam ekstrak
3. Penguapan putar yaitu penguapan dengan alat *Rotary evaporator*. Cara ini dapat dilakukan dengan suhu rendah (40-50°C). Pada prinsipnya penguapan putar dibantu dengan alat vakum udara sehingga titik didih pelarut lebih rendah. Kelebihannya yaitu penguapan berlangsung dengan cepat sehingga kemungkinan terjadinya penguraian yang termolabil dapat dihindari

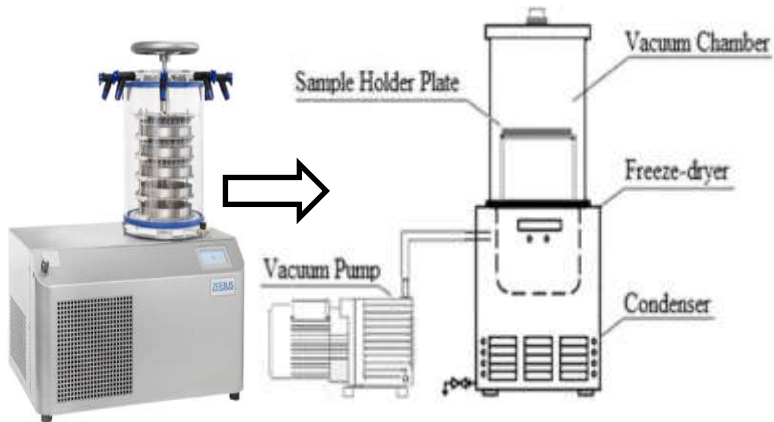


**Gambar 3.10.** alat rotary evaporator  
(Sumber : Schnyder and Sciences, 2014)

### 3.6.2 Pengeringan Ekstrak

Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari ekstrak sehingga menghasilkan serbuk, masa kering-rapuh. Pengeringan ekstrak dilakukan bertujuan untuk menjaga stabilitas senyawa. Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil penguapan dapat dikeringkan dengan menggunakan beberapa cara (metode) yaitu:

1. Pengeringan sederhana yaitu menggunakan penangas air dan aliran udara panas. Cara ini ekonomis namun sulit dilakukan untuk pelarut air
2. Pengeringan beku suhu rendah (*freeze dryer*)
3. Pengeringan semprot suhu tinggi (*spray dryer*)



**Gambar 3.11.** skematik alat *freeze dryer*  
(Sumber: Taskin, 2020)

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditha, S. K. *et al.* 2016. "Aqueous based reflux method for green synthesis of nanostructures: Application in CZTS synthesis," *MethodsX*, 3, pp. 35–42. doi: 10.1016/j.mex.2015.12.003.
- Aryani, F., Noorcahyati and Arbainsyah. 2020. "Pengenalannya atsiri (Melaleuca cajuputi)," *Jurusan Teknologi Pertanian Pliteknik Pertanian Negeri Samarinda*, pp. 1–38.
- Danielsen, S. P. O. *et al.* 2021. "Molecular Characterization of Polymer Networks," *Chemical Reviews*, 121(8), pp. 5042–5092. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c01304.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. II. Edited by A. H. Thereseia Veronica Dwinita Hadinata. Jakarta: EGC.
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia*, Jakarta penerbit buku kedokteran EGC.
- Kurniawati, I., Maftuch and Hariati, A. M. 2016. "Penentuan Pelarut dan Lama Ekstraksi Terbaik Pada Teknik Maserasi Gracilaria sp. Serta Pengaruhnya Terhadap Kadar Air dan Rendemen," *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 7(2), pp. 72–77. Available at: <http://www.samakia.aperiki.ac.id/index.php/JSAPI/article/view/106>.
- Lulli Hanni Endarini, I. M. S. 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia*. I. Edited by A. S. Aris Suryana. Jakarta Selatan: Pusdik SDM Kesehatan.
- Mukhtarini. 2014. "Mukhtarini, 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif,' J. Kesehat., vol. VII, no. 2, p. 361, 2014.," *J. Kesehat.*, VII(2), p. 361. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>.
- Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*, Lambung Mangkurat University Press.
- RI, D. K. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan*. Jakarta: Departemen Kesehatan.

- Schnyder, A. and Sciences, G. 2014. "In vitro and in vivo Drug Targeting using Biotinylated Immunoliposomes Drug Targeting using Biotinylated Immunoliposomes zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel," (October).
- Taskin, O. 2020. "Evaluation of Freeze Drying for Whole, Half Cut and Puree Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.)," *Heat and Mass Transfer/Waerme- und Stoffuebertragung*, 56(8), pp. 2503–2513. doi: 10.1007/s00231-020-02867-0.
- Willian, N. and Pardi, P. 2022. *Buku Ajar Pemisahan Kimia*. I. Umrah Press.

# **BAB 4**

## **PENETAPAN KADAR KELOMPOK SENYAWA KIMIA TANAMAN OBAT**

*Oleh Nur Rezky Khairun Nisaa*

### **4.1 Pendahuluan**

Dalam ranah ilmu kimia hayati, telaah terhadap senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman telah menjadi fokus utama penelitian ilmiah. Senyawa-senyawa ini, yang terbentuk sebagai respons terhadap lingkungan, memiliki peran penting dalam melindungi tanaman dari berbagai tantangan seperti serangan patogen, herbivora, dan variasi lingkungan. Keanekaragaman struktural dan fungsi dari senyawa metabolit sekunder menciptakan kerangka kerja yang kompleks dan menarik untuk penelitian akademis. Dalam konteks ini, penetapan kadar senyawa metabolit sekunder menjadi aspek kritis, mengingat dampaknya pada pemahaman mendalam terhadap bioaktivitas dan potensi pemanfaatan dalam bidang kesehatan dan industri.

Penetapan kadar senyawa metabolit sekunder pada tanaman memerlukan pendekatan analitik yang canggih dan tepat. Metode ini tidak hanya melibatkan ekstraksi yang efisien dari material tanaman, tetapi juga teknik analisis instrumental yang presisi. Dalam literatur ilmiah, berbagai metode kromatografi, seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dan kromatografi lapis tipis (TLC), bersama dengan spektroskopi massa dan spektroskopi nuklir magnetik (NMR), telah digunakan secara luas untuk mengidentifikasi dan mengukur kadar senyawa metabolit sekunder.

Pentingnya penetapan kadar senyawa metabolit sekunder tak hanya terletak pada kerumitan analisisnya, tetapi juga pada relevansinya dalam konteks biologis dan farmakologis. Sebagai contoh, dalam tanaman obat, kadar senyawa metabolit sekunder dapat memberikan indikasi tentang potensi terapeutiknya. Oleh

karena itu, penelitian yang berkelanjutan dan tidak hanya untuk mencari metode analisis yang akurat, tetapi juga menggali potensi aplikatif dari senyawa-senyawa tersebut.

Tanaman, sebagai produsen utama senyawa metabolit sekunder, menawarkan sumber daya alam yang melimpah bagi peneliti untuk didalami. Dari hutan hujan yang eksotis hingga taman herbal yang familiar, setiap tanaman dapat menjadi subjek potensial untuk studi kadar senyawa metabolit sekunder. Penelitian di lapangan melibatkan pencarian terhadap tanaman-tanaman yang kaya senyawa-senyawa bioaktif, serta upaya untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa-senyawa tersebut.

Dalam bab ini, kita akan membahas beragam aspek terkait penetapan kadar senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Kita juga akan mengulas tentang teknik-teknik analisis terkini, tantangan metodologis, dan implikasi biologis dari hasil-hasil penelitian terbaru.

Dengan demikian, buku ini dirancang untuk menjadi sumber rujukan yang komprehensif bagi para akademisi, peneliti, dan mahasiswa yang tertarik dalam eksplorasi dunia senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Kami berharap bahwa buku ini akan memberikan wawasan mendalam dan merangsang semangat penelitian di bidang ini, menciptakan dialog ilmiah yang mengarah pada pemahaman lebih baik tentang peran dan potensi senyawa metabolit sekunder dalam kehidupan tanaman dan aplikasinya dalam berbagai disiplin ilmu.

Senyawa metabolit sekunder pada tanaman telah menjadi fokus penelitian yang mendalam dalam dunia ilmu hayati dan kedokteran. Pada tingkat molekuler, tanaman memproduksi senyawa metabolit sekunder sebagai respons terhadap tekanan lingkungan, interaksi dengan organisme lain, dan untuk melindungi diri mereka sendiri. Fenomena ini menciptakan kerangka kerja yang kompleks dan menarik yang dapat dieksplorasi untuk memberikan pemahaman yang lebih baik tentang potensi penggunaan tanaman dalam pengobatan. Senyawa-senyawa ini memiliki sifat biokimia yang unik dan bervariasi, yang mengarah pada spektrum aktivitas biologis yang luas dan potensi aplikasi terapeutik.

Di antara kelompok senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tanaman, alkaloid adalah salah satunya. Kelompok ini melibatkan senyawa-senyawa seperti morfin, nikotin, dan kinin, yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Misalnya, morfin, yang ditemukan dalam opium poppy (*Papaver somniferum*), memiliki sifat analgesik yang kuat dan telah digunakan untuk meredakan rasa sakit selama berabad-abad. Senyawa ini dan sejenisnya menunjukkan bahwa tanaman memiliki potensi untuk menyediakan agen-agen farmakologis yang memiliki dampak signifikan pada kesehatan manusia.

Seiring dengan kemajuan teknologi analitik, kita sekarang dapat menjelajahi keragaman senyawa metabolit sekunder dengan lebih mendalam. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC), Kromatografi Gas (GC), dan teknik spektrometri massa telah memungkinkan kita untuk mengidentifikasi dan mengukur kadar senyawa dengan tingkat ketelitian yang belum pernah terjadi sebelumnya. Dengan pendekatan ini, kita dapat melihat bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder pada tanaman tidak hanya memiliki struktur kimia yang menarik, tetapi juga dapat memberikan kontribusi signifikan pada pengobatan modern.

Kelompok senyawa yang juga menarik adalah terpenoid, yang mencakup minyak atsiri, steroid, dan karotenoid. Misalnya, minyak atsiri yang ditemukan dalam tanaman aromatik dan obat-obatan seperti lavender, peppermint, dan chamomile memiliki sifat antimikroba, antiinflamasi, dan relaksasi yang dapat mendukung pengobatan alternatif. Begitu pula, karotenoid yang memberikan warna pada banyak buah dan sayuran juga menawarkan manfaat kesehatan, termasuk sebagai antioksidan yang melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan radikal bebas.

Tidak hanya senyawa-senyawa tersebut bermanfaat secara langsung dalam pengobatan, tetapi juga memegang peran penting dalam pengembangan obat-obatan modern. Proses isolasi dan identifikasi senyawa dari tanaman, seperti yang diilustrasikan oleh penelitian terhadap tanaman obat Cinchona yang menghasilkan kinin, memberikan dasar bagi sintesis senyawa-senyawa farmakologis yang lebih canggih. Pengembangan obat dari senyawa metabolit sekunder tanaman juga mencakup penelitian terhadap

alkaloid vinblastine dan vincristine dari tanaman obat tertentu, yang telah menjadi komponen utama dalam pengobatan kanker.

Pentingnya senyawa metabolit sekunder pada tanaman dalam pengobatan terletak pada kemampuannya untuk memberikan solusi yang beragam terhadap berbagai kondisi medis. Misalnya, flavonoid, kelompok senyawa fenolik yang umum ditemukan pada tanaman, memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan. Studi terkini menunjukkan bahwa flavonoid dapat membantu melindungi jantung, mengurangi risiko diabetes, dan bahkan memiliki potensi antikanker. Oleh karena itu, pemahaman mendalam tentang senyawa-senyawa ini dapat membuka pintu untuk pengembangan terapi yang lebih efektif dan lebih aman.

Di samping itu, penelitian terbaru juga menyoroti peran senyawa metabolit sekunder pada tanaman dalam konteks neuroproteksi dan kesehatan otak. Sejumlah senyawa, termasuk flavonoid, terpenoid, dan asam lemak omega-3, telah menunjukkan potensi untuk meningkatkan fungsi kognitif dan melindungi otak dari penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson. Pengembangan obat-obatan yang bersumber dari tanaman ini menjanjikan pilihan pengobatan yang inovatif dan berpotensi memberikan dampak positif pada kesehatan mental dan neurologis manusia.

Dalam menggali potensi senyawa metabolit sekunder pada tanaman untuk pengobatan, kita juga harus mengakui kontribusi penting tumbuhan obat tradisional dari berbagai budaya. Penggunaan tanaman obat dalam sistem pengobatan tradisional telah terbukti efektif selama berabad-abad, dan pemahaman tradisional ini dapat memberikan petunjuk berharga dalam pengembangan obat-obatan modern. Tanaman obat seperti ginseng, curcumin, dan ginkgo biloba telah menjadi subjek penelitian yang intensif karena potensi mereka dalam meningkatkan kesehatan dan mengatasi berbagai masalah medis.

Namun, dalam mengeksplorasi senyawa metabolit sekunder pada tanaman untuk pengobatan, kita juga dihadapkan pada sejumlah tantangan. Salah satunya adalah kompleksitas struktural dan kimia dari senyawa-senyawa ini, yang sering kali melibatkan struktur molekuler yang rumit. Teknik analisis yang diperlukan

untuk isolasi dan identifikasi senyawa-senyawa ini memerlukan tingkat keahlian dan peralatan yang canggih. Selain itu, faktor ekologis dan variabilitas genetik dalam populasi tanaman dapat mempengaruhi kadar dan jenis senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan.

## **4.2 Teknik Analisis**

Analisis kadar senyawa metabolit sekunder adalah suatu proses yang kompleks dan kritis dalam penelitian kimia organik dan farmasi. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan oleh organisme sebagai respons terhadap lingkungannya, dan seringkali memiliki aktivitas biologis yang signifikan. Teknik analisis ini memiliki peran penting dalam menentukan kehadiran, kuantitas, dan karakteristik senyawa metabolit sekunder, yang pada gilirannya mendukung pemahaman mendalam tentang fungsi dan potensi aplikasi biologisnya.

Salah satu teknik utama dalam analisis kadar senyawa metabolit sekunder adalah kromatografi. Kromatografi merupakan metode pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan afinitasnya terhadap fase diam dan fase gerak. Kromatografi gas (GC) dan kromatografi cair (LC) sering digunakan dalam konteks ini. Dalam GC, senyawa diuapkan dan dipisahkan berdasarkan sifat volatilitasnya, sementara dalam LC, senyawa dilarutkan dalam fase gerak cair dan dipisahkan berdasarkan interaksi dengan fase diam. Pemilihan antara GC dan LC tergantung pada sifat senyawa yang akan dianalisis.

Setelah pemisahan, deteksi senyawa dapat dilakukan dengan berbagai metode, termasuk spektrometri massa (MS) dan detektor ultraviolet (UV). Spektrometri massa memberikan informasi tentang massa molekul dan struktur senyawa, sedangkan detektor UV dapat memberikan informasi tentang adanya ikatan rangkap ganda atau gugus fungsional tertentu. Kombinasi GC-MS dan LC-MS telah menjadi standar dalam analisis metabolit sekunder karena kemampuannya untuk memberikan informasi komprehensif tentang identifikasi dan kuantifikasi senyawa.

Validasi metode adalah tahap kritis dalam analisis kadar senyawa metabolit sekunder. Ini melibatkan serangkaian percobaan

untuk memastikan bahwa metode yang digunakan memberikan hasil yang akurat, andal, dan dapat diulang. Parameter validasi melibatkan presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi, dan batas kuantifikasi. Validasi ini memastikan bahwa data yang dihasilkan dapat diandalkan dan dapat diterima dalam konteks ilmiah.

## **4.3 Metode Analisis**

### **4.3.1 Spektrofotometer Uv-Vis**

Spektrofotometer UV-Visibel merupakan metode spektroskopik yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik pada rentang ultra violet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm). Distribusi elektron dalam molekul organik umumnya terdiri dari orbital elektron pi ( $\pi$ ), sigma ( $\sigma$ ), dan elektron tak berpasangan ( $n$ ). Ketika molekul tersebut terpapar radiasi elektromagnetik, terjadi pemindahan elektron ke tingkat energi yang lebih tinggi yang dikenal sebagai orbital elektro antibonding.

Metode spektrofotometri UV-Vis merupakan pendekatan yang umum digunakan dalam analisis kadar senyawa metabolit sekunder. Dalam konteks ini, spektrofotometri UV-Vis memanfaatkan interaksi antara senyawa metabolit sekunder dengan radiasi elektromagnetik pada rentang ultraviolet (UV) dan tampak (Vis). Prinsip dasar metode ini adalah bahwa senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu akan menunjukkan perubahan absorbansi yang proporsional terhadap konsentrasinya. Dengan menggunakan spektrofotometer, intensitas cahaya yang melewati sampel dibandingkan dengan intensitas cahaya yang masuk, dan hasilnya direkam sebagai absorbansi pada suatu panjang gelombang tertentu.

Pentingnya pemilihan panjang gelombang yang tepat dalam spektrofotometri UV-Vis terletak pada fakta bahwa setiap senyawa memiliki karakteristik serapan yang unik. Oleh karena itu, pemilihan panjang gelombang yang sesuai akan meningkatkan spesifisitas analisis terhadap senyawa metabolit sekunder tertentu. Proses ini memungkinkan identifikasi dan kuantifikasi senyawa secara akurat dalam sampel yang kompleks.

Metode spektrofotometri UV-Vis tidak hanya menghadirkan keunggulan dalam kemudahan pelaksanaan dan hasil yang cepat,

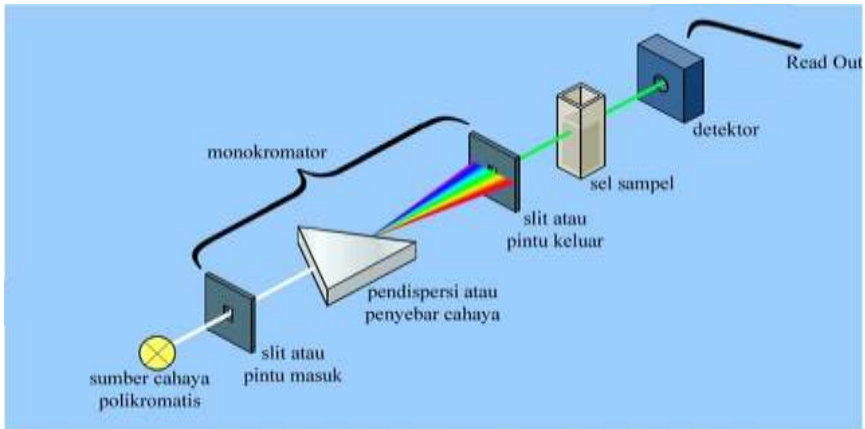
tetapi juga memungkinkan analisis secara kuantitatif dengan ketelitian yang baik. Meskipun demikian, beberapa keterbatasan juga perlu diperhatikan, terutama ketika sampel mengandung banyak senyawa yang menyerap pada panjang gelombang yang serupa. Dalam situasi ini, metode ini mungkin kurang spesifik dan memerlukan konfirmasi lebih lanjut menggunakan teknik analisis tambahan.

Dalam penggunaan spektrofotometri UV-Vis untuk analisis kadar senyawa metabolit sekunder, tahapan validasi metode menjadi esensial. Validasi melibatkan penentuan parameter seperti presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi, dan batas kuantifikasi. Tahapan ini memastikan bahwa metode analisis yang dikembangkan dapat memberikan hasil yang dapat diandalkan dan konsisten, serta dapat diaplikasikan secara luas dalam berbagai konteks penelitian. Prinsip dasar spektrofotometri adalah berdasarkan penyerapan cahaya atau energi radiasi oleh larutan tertentu. Cahaya, sebagai bentuk energi radiasi, memiliki karakteristik sebagai gelombang dan partikel. Energi radiasi ini terdiri dari berbagai gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang yang beragam.

Flavonoid umumnya menunjukkan absorpsi pada rentang panjang gelombang 200-600 nm. Beberapa flavonoid tertentu mungkin memiliki  $\lambda_{\text{max}}$  pada panjang gelombang yang lebih spesifik, tergantung pada gugus fungsional mereka. Sebagai contoh, kaempferol dapat memiliki  $\lambda_{\text{max}}$  sekitar 266 nm, sedangkan quercetin dapat menunjukkan  $\lambda_{\text{max}}$  sekitar 369 nm. Panjang gelombang maksimum untuk alkaloid dapat sangat bervariasi tergantung pada jenis dan struktur kimianya. Contohnya, alkaloid kinin dapat menunjukkan  $\lambda_{\text{max}}$  sekitar 220 nm, sementara morfin dapat memiliki absorpsi maksimum pada panjang gelombang sekitar 280 nm.

Terpenoid umumnya menyerap pada panjang gelombang yang lebih tinggi, terutama pada rentang 200-300 nm. Contoh terpenoid seperti karotenoid dapat menunjukkan absorpsi maksimum pada panjang gelombang sekitar 450-500 nm. Saponin cenderung menyerap pada panjang gelombang yang lebih rendah, di

kisaran 200-300 nm. Panax ginseng saponin, sebagai contoh, dapat menunjukkan  $\lambda_{\text{max}}$  pada sekitar 203 nm.



**Gambar 4.1.** Mekanisme kerja instrument spektrofotometri.

Fungsi masing-masing bagian:

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.
  - a. UV menggunakan lampu deuterium atau disebut juga heavy hydrogen
  - b. VIS menggunakan lampu tungsten yang sering disebut lampu wolfram
  - c. UV-Vis menggunakan photodiode yang telah dilengkapi monokromator
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang, yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar diatas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenal satu sampel.
3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel, UV, VIS, dan UV-Vis menggunakan kuvet sebagai tempat sampel, kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas. Namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silica memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan

- plastic dapat menyerap UV, sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Kuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.
4. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
  5. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

Prinsip penentuan spektrofotometer UV-Vis adalah aplikasi dari Hukum Lambert-Beer, yakni dengan penentuan absorbansi dari larutan sampel yang diukur.

$$A = -\log T = -\log I_t / I_o = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Dimana :

A = Absorbansi dari sampel yang akan diukur

T = Transmittansi

$I_o$  = Intensitas sinar masuk

$I_t$  = Intensitas sinar yang diteruskan

$\epsilon$  = Koefisien ekstinggi

b = Tebal kuvet yang digunakan

C = Konsentrasi dari sampel

Adapun mekanisme kerja dari spektrofotometri yaitu polikromatik cahaya difokuskan ke celah pintu masuk monokromator, yang dengan selektif mengirimkan sebuah pita cahaya, cahaya ini lalu melewati area sampel ke detector. Absorbansi sampel didapatkan dengan mengukur intensitas cahaya yang sampai pada detector tanpa sampel (kosong) dan membandingkan dengan intensitas cahaya yang mencapai detector setelah melalui sampel.

#### **4.3.2 Kromatografi gas**

Metode kromatografi gas (GC) memainkan peran integral dalam analisis kadar senyawa metabolit sekunder, menawarkan keunggulan tertentu dalam pemisahan senyawa volatil. Dalam GC, senyawa-senyawa yang terlarut dalam fase gas dialirkan melalui kolom kromatografi yang panjang, di mana pemisahan terjadi berdasarkan perbedaan afinitas senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Keuntungan utama GC adalah kemampuannya untuk

menangani senyawa yang memiliki titik didih rendah hingga sedang, sehingga ideal untuk senyawa volatil yang sering ditemukan dalam senyawa metabolit sekunder.

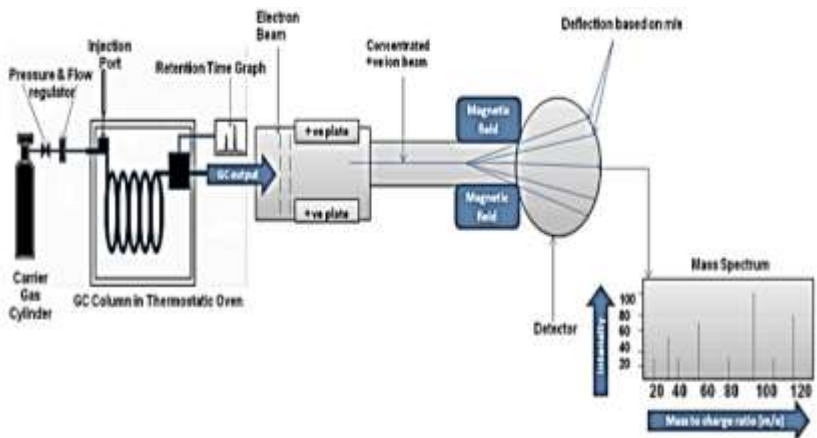
Kolom kromatografi dalam GC dapat beragam jenis, seperti kolom kapiler yang sangat umum digunakan. Penggunaan fase diam yang tepat dan optimalisasi parameter kondisi analisis, seperti suhu dan laju aliran gas pembawa, memungkinkan pemisahan senyawa dengan tingkat resolusi yang tinggi. Keberhasilan GC dalam pemisahan senyawa volatil menjadikannya teknik analisis yang luas digunakan dalam penelitian metabolit sekunder, terutama untuk senyawa yang bersifat uap atau menguap.

Detektor yang sering digunakan dalam GC mencakup detektor ionisasi nyala (FID), detektor pemancar elektron (ECD), dan detektor massa (MS). Detektor ionisasi nyala, seperti FID, mendeteksi senyawa berdasarkan jumlah ion yang dihasilkan selama pembakaran senyawa. Detektor pemancar elektron dapat digunakan untuk senyawa yang memiliki afinitas tinggi terhadap elektron, sedangkan GC-MS mengintegrasikan GC dengan detektor massa, menyediakan identifikasi senyawa yang lebih spesifik berdasarkan analisis massa molekul dan fragmen senyawa. Sebagai metode analisis yang tangguh, GC membutuhkan sampel dalam bentuk gas atau uap, oleh karena itu, proses derivatisasi mungkin diperlukan untuk mengubah senyawa menjadi bentuk yang dapat menguap lebih baik. Selain itu, GC mungkin kurang efektif dalam memisahkan senyawa yang lebih nonpolar atau termolabil, dan pemanasan selama analisis dapat menyebabkan degradasi senyawa tertentu.

Pentingnya validasi metode tidak boleh diabaikan dalam pengembangan analisis GC untuk senyawa metabolit sekunder. Parameter validasi termasuk presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi, dan batas kuantifikasi. Validasi ini penting untuk memastikan keandalan dan reproduktivitas hasil analisis, serta untuk memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk interpretasi data.

Dengan kemampuannya untuk memisahkan senyawa volatil dengan ketelitian yang tinggi, GC telah terbukti sangat berharga

dalam analisis kadar senyawa metabolit sekunder. Kecepatan analisis, sensitivitas, dan spesifisitas detektor yang tersedia dalam GC menjadikannya alat yang efektif untuk mengidentifikasi dan mengukur konsentrasi senyawa dalam sampel yang kompleks. Oleh karena itu, GC terus menjadi salah satu metode utama dalam penelitian metabolit sekunder, memberikan kontribusi yang signifikan terhadap pemahaman lebih lanjut tentang keberagaman dan potensi biologis senyawa tersebut dalam sistem biologis.



**Gambar 4.2.** Gambar GC (*Gas Chromatograph*)

Mekanisme kerja kromatografi gas yaitu dalam silinder baja bertekanan tinggi dialirkan melalui kolom yang berisi fasa diam. Cuplikan berupa campuran yang akan dipisahkan, biasanya dalam bentuk larutan, disuntikkan ke dalam aliran gas tersebut. Kemudian cuplikan dibawa oleh gas pembawa ke dalam kolom dan di dalam kolom terjadi proses pemisahan. Komponen-komponen campuran yang telah terpisahkan satu-persatu meninggalkan kolom. Suatu detektor diletakkan di ujung kolom untuk mendeteksi jenis maupun jumlah tiap komponen campuran. Hasil pendeteksian direkam dengan rekorder dan dinamakan kromatogram yang terdiri dari beberapa peak. Seperti telah dijelaskan di depan, jumlah peak yang dihasilkan menyatakan jumlah komponen (senyawa) yang terdapat dalam campuran. Bila suatu kromatogram terdiri dari 5 peak maka terdapat 5 senyawa atau 5 komponen dalam campuran tersebut. Sedangkan luas peak bergantung kepada kuantitas suatu komponen

dalam campuran. Karena peak-peak dalam kromatogram berupa segitiga maka luasnya dapat dihitung berdasarkan tinggi dan lebar peak tersebut

Kromatografi gas (GC) adalah teknik analisis yang efektif untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa-senyawa tertentu, termasuk flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Meskipun GC lebih umum digunakan untuk senyawa-senyawa volatil, beberapa senyawa dalam kelompok yang disebutkan di atas dapat dianalisis dengan memperhatikan kondisi operasional dan metode khusus. Flavonoid umumnya memiliki struktur yang kompleks dan cenderung kurang volatil. Sehingga, sebagian besar waktu, GC tidak menjadi pilihan utama untuk analisis flavonoid. Metode pemisahan yang lebih baik seringkali dicapai dengan teknik kromatografi cair, seperti HPLC.

GC sering digunakan untuk analisis alkaloid tertentu yang memiliki sifat volatil. Metode derivatisasi mungkin diperlukan untuk meningkatkan volatilitas alkaloid sebelum analisis. Deteksi GC sering melibatkan detektor massa (GC-MS) untuk memberikan informasi lebih lanjut tentang identifikasi senyawa. Terpenoid sering memiliki struktur yang sesuai dengan analisis GC. Pemisahan dapat dilakukan dengan menggunakan kolom non-polar, seperti kolom fase terbalik, dan fase gerak yang cocok. Deteksi yang umum digunakan termasuk detektor massa (MS) atau detektor ionisasi nyala (FID).

Saponin, seringkali memiliki struktur yang kompleks dan polar, dapat sulit untuk dianalisis dengan GC. Namun, beberapa saponin yang lebih volatil dapat dianalisis dengan GC-MS setelah proses derivatisasi untuk meningkatkan volatilitas. Penting untuk dicatat bahwa GC lebih cocok untuk senyawa-senyawa dengan sifat volatil dan termasuk dalam kelompok senyawa apolar. Oleh karena itu, dalam beberapa kasus, analisis menggunakan teknik kromatografi cair atau metode analisis lainnya mungkin lebih tepat untuk senyawa-senyawa tertentu dalam kelompok flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin.

### 4.3.3 HPLC

Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) telah menjadi salah satu teknik analisis yang paling penting dan luas digunakan dalam studi kadar senyawa metabolit sekunder. HPLC menawarkan keunggulan dalam pemisahan senyawa-senyawa kompleks dan beragam, serta memberikan kemampuan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi senyawa dengan tingkat presisi dan sensitivitas yang tinggi.

Pada dasarnya, HPLC melibatkan penggunaan kolom kromatografi yang dipadatkan, dimana sampel yang terlarut dalam fase cair disuntikkan ke dalam sistem. Fase diam dan fase gerak yang dipilih akan mempengaruhi pergerakan dan pemisahan senyawa selama proses kromatografi. Fase gerak biasanya disirkulasikan melalui kolom dengan tekanan tinggi, yang memungkinkan pergerakan cepat senyawa-senyawa tersebut dan mempercepat waktu analisis.

Salah satu keunggulan utama HPLC adalah kemampuannya untuk menangani senyawa dengan berbagai tingkat polaritas dan massa molekul. Fase diam kolom kromatografi dapat dipilih secara khusus untuk memenuhi kebutuhan analisis, termasuk fase terbalik (reversed phase), normal phase, dan fase bersifat ionik. Kemampuan untuk beradaptasi dengan sifat kimia yang bervariasi ini menjadikan HPLC sangat fleksibel dan sesuai untuk berbagai macam senyawa metabolit sekunder.

Detektor yang digunakan dalam HPLC sangat bervariasi dan dapat dipilih berdasarkan kebutuhan analisis. Detektor UV-Vis umumnya digunakan untuk analisis kuantitatif, dimana deteksi dilakukan berdasarkan absorbansi cahaya ultraviolet atau tampak oleh senyawa-senyawa di dalam sampel. Detektor fluoresensi, yang mendeteksi emisi fluoresensi dari senyawa-senyawa tertentu, sering digunakan untuk meningkatkan sensitivitas analisis. Selanjutnya, penggunaan detektor massa (MS) dapat memberikan informasi yang lebih spesifik tentang massa molekul dan struktur senyawa, meningkatkan kemampuan identifikasi.

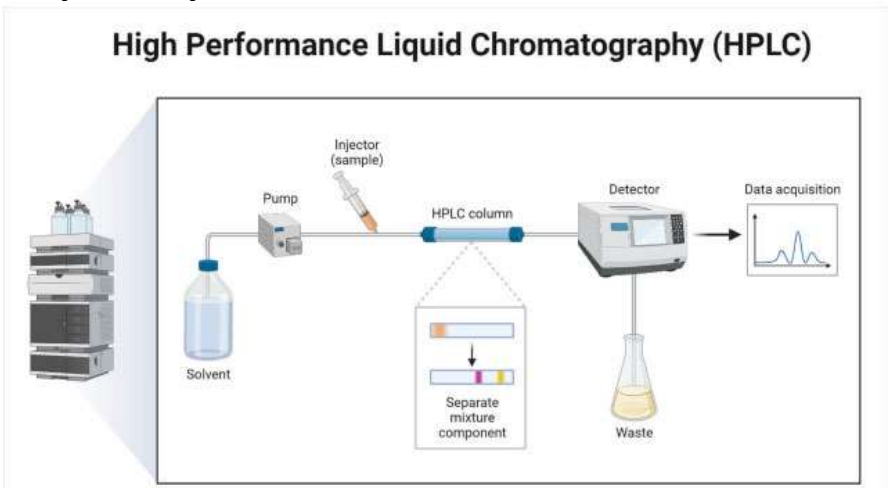
Dalam aplikasi praktis, HPLC seringkali diintegrasikan dengan teknik-teknik preparatif, yang memungkinkan isolasi senyawa-senyawa tertentu dari campuran kompleks. Hal ini terutama penting ketika penelitian berkaitan dengan pemurnian senyawa metabolit sekunder untuk penelitian lebih lanjut atau pengembangan obat. Pada tahap pengembangan metode analisis HPLC, validasi merupakan langkah penting untuk memastikan bahwa metode tersebut memberikan hasil yang akurat dan dapat diandalkan. Parameter validasi melibatkan presisi, akurasi, linearitas, batas deteksi, dan batas kuantifikasi. Proses validasi ini memastikan bahwa metode HPLC dapat diaplikasikan secara konsisten dalam berbagai situasi dan memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk interpretasi data.

Meskipun HPLC memiliki banyak keunggulan, pemilihan kondisi analisis dan parameter operasional perlu dioptimalkan untuk memperoleh hasil yang optimal. Hal ini melibatkan pemilihan fase diam yang sesuai, pengaturan suhu kolom, laju alir fase gerak, dan tekanan sistem. Pemilihan kondisi ini dapat memengaruhi pemisahan senyawa dan waktu analisis.

Dalam penggunaannya pada analisis senyawa metabolit sekunder, HPLC telah menunjukkan keberhasilan yang signifikan. Banyak senyawa yang memiliki aktivitas biologis dan potensi farmakologis ditemukan dalam senyawa metabolit sekunder, dan HPLC menjadi alat yang sangat efektif untuk mengeksplorasi dan memahami profil senyawa-senyawa tersebut. Kemampuan untuk mengidentifikasi senyawa secara spesifik dan mengukur konsentrasinya dengan tingkat sensitivitas yang tinggi menjadikan HPLC teknik analisis yang tak tergantikan dalam penelitian metabolit sekunder.

Sebagai contoh, dalam penelitian fitokimia, HPLC telah digunakan secara luas untuk menganalisis ekstrak tanaman dan menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder tertentu, seperti alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Hasil dari analisis ini dapat memberikan wawasan mendalam tentang keberagaman senyawa dalam tanaman, sekaligus mendukung pengembangan tanaman sebagai sumber bahan aktif dalam obat-obatan tradisional atau modern.

Penerapan kromatografi cair dalam analisis senyawa metabolit sekunder memberikan wawasan yang mendalam tentang profil senyawa dalam sampel. Informasi ini dapat digunakan untuk identifikasi senyawa, pemantauan perubahan konsentrasi selama perkembangan biologis atau kondisi pertumbuhan tertentu, dan evaluasi potensi aktivitas biologis dari senyawa tersebut. Metode kromatografi cair (LC) menjadi alat yang sangat berguna dalam pemisahan dan analisis senyawa-senyawa seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan saponin. LC memungkinkan pemisahan senyawa-senyawa ini berdasarkan afinitas mereka terhadap fase diam dan fase gerak, memberikan resolusi yang tinggi dalam analisis kompleks sampel.



**Gambar 4.3.** Mekanisme kerja instrument HPLC

Pemisahan flavonoid dengan LC dapat melibatkan kolom fase terbalik (reversed-phase) dengan fase gerak yang bersifat hidrofobik. Panjang rantai karbon pada fase gerak dapat disesuaikan untuk mempengaruhi retensi flavonoid. Deteksi sering dilakukan dengan menggunakan detektor UV pada panjang gelombang yang sesuai dengan sifat absorpsi flavonoid. Pemisahan alkaloid dapat dilakukan menggunakan kolom fase terbalik atau fase normal, tergantung pada polaritas alkaloid tertentu. Metode fase terbalik seringkali lebih umum karena dapat mengatasi kebanyakan

alkaloid. Deteksi dapat dilakukan dengan menggunakan detektor UV atau detektor massa untuk identifikasi yang lebih spesifik.

Terpenoid umumnya bersifat hidrofobik, sehingga kolom fase terbalik sering digunakan dalam pemisahan. Fase gerak yang umum digunakan adalah campuran metanol dan air atau campuran asetonitril dan air. Deteksi dapat dilakukan menggunakan detektor UV atau detektor massa, tergantung pada kebutuhan analisis. Pemisahan saponin pada LC juga sering melibatkan penggunaan kolom fase terbalik. Sifat hidrofobik dari banyak saponin memungkinkan retensi yang baik pada kolom ini. Metanol atau asetonitril sering digunakan sebagai fase gerak. Deteksi biasanya dilakukan dengan detektor UV atau detektor massa.

Keberhasilan HPLC juga terlihat dalam penelitian tentang senyawa-senyawa bioaktif dari mikroorganisme. Dalam penelitian ini, HPLC digunakan untuk menganalisis ekstrak mikroba dan mengidentifikasi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi antimikroba, antitumor, atau aktivitas biologis lainnya. Penerapan HPLC juga luas dalam bidang farmasi, di mana teknik ini digunakan untuk menguji kualitas dan kuantitas senyawa-senyawa aktif dalam formulasi obat. Dalam industri makanan dan minuman, HPLC digunakan untuk menguji keamanan pangan, melacak senyawa-senyawa bioaktif, dan memantau proses fermentasi.

Penggunaan HPLC tidak terbatas pada senyawa tertentu atau aplikasi khusus, melainkan mencakup berbagai senyawa metabolit sekunder dari berbagai sumber. Keberagaman senyawa yang dapat dianalisis melalui HPLC mencakup alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, saponin, dan sejumlah senyawa lain dengan aktivitas biologis yang signifikan. Metode HPLC telah membuktikan dirinya sebagai alat analisis yang tak tergantikan dalam studi kadar senyawa metabolit sekunder. Keunggulannya dalam pemisahan senyawa kompleks, fleksibilitas dalam penyesuaian dengan berbagai sifat kimia senyawa, serta sensitivitas dan spesifisitas tinggi dalam deteksi, menjadikan HPLC menjadi teknik analisis yang sangat efektif dan dapat diandalkan. Penerapan HPLC dalam penelitian metabolit

sekunder telah memberikan kontribusi besar terhadap pemahaman kita tentang bioaktivitas senyawa-senyawa tersebut dan mendukung pengembangan berbagai aplikasi dalam berbagai bidang, termasuk farmasi, fitokimia, dan ilmu pangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Rochman, A., 2021, Analisis farmasi dengan kromatografi cair. UGM PRESS.
- Handayani, T. W., Yusuf, Y., & Tandi, J., 2020, Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis, KOVALEN: Jurnal Riset Kimia, 6(3), 230-238.
- Harborne, J. B., 1989, Methods in plant biochemistry, Volume 1. Plant phenolics, Academic Press Ltd.
- Idroes, R., Suhendra, R., & Idroes, G. M., 2018, Kromatografi Gas: Waktu Mati dan Indeks Retensi Kovats. Syiah Kuala University Press.
- Jubahar, J., Astuti, Y., & Suharti, N., 2017, Penetapan kadar vitamin C dari buah cabe rawit (*Capsicum frutescens* L.) dengan metode Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Jurnal Farmasi Higea, 7(2), 208-217.
- Khaldun, I., 2018, Kimia Analisa Instrumen: Buku untuk mahasiswa. Syiah Kuala University Press.
- Leba, M. A. U., 2017, Buku Ajar: Ekstraksi dan real kromatografi, Deepublish.
- Meyer, V. R., 2013, Practical high-performance liquid chromatography. John Wiley & Sons.
- Nisaa, N. R. K., Malik, A., & Handayani, V. (2023), Analisis Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Pisang Cavendish (*Musa paradisiaca* var. Sapientum) Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis: Analysis of Total Flavonoids in the Ethanol Extract of Cavendish Banana Peel (*Musa paradisiaca* var. Sapientum) Using the Spectrophotometry Uv-Vis Method, Jurnal Sains dan Kesehatan, 5(2), 212-217.
- Nugroho, A., 2017, Teknologi Bahan Alam. Buku Ajar. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin.
- Rubiyanto, D., 2016, Teknik dasar kromatografi, Deepublish.
- Rubiyanto, D., 2017, Metode Kromatografi: Prinsip Dasar, Praktikum dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi. Deepublish.
- Saifudin, A., 2014, Senyawa alam metabolit sekunder teori, konsep, dan teknik pemurnian. Deepublish.

- Saputri, A. D. S., & Sa'ad, M, 2023, Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Fraksi Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 6(1), 51-58.
- Suoth, E. J., & Farm, M. 2022, SPEKTROFOTOMETRI DAN KROMATOGRAFI. Penerbit Lakeisha.
- Weckwerth, W. (Ed.), 2008, *Metabolomics: methods and protocols* (Vol. 358), Springer Science & Business Media.



# BAB 5

## PEMISAHAN

*Oleh Wiwit Denny Fitriana*

### 5.1 Tujuan Pemisahan

Pemisahan fitokimia berkaitan erat dengan analisis senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan. Pemisahan senyawa-senyawa ini menjadi penting karena tanaman mengandung berbagai jenis bahan kimia alami, termasuk alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenol, dan senyawa-senyawa lain yang memiliki potensi farmakologis dan aktivitas biologis tertentu. Beberapa tujuan kunci pemisahan dalam fitokimia melibatkan:

Pemisahan bertujuan mengidentifikasi senyawa-senyawa aktif atau komponen utama dalam tanaman yang berkontribusi pada sifat-sifat farmakologis atau aktivitas biologis tertentu. Hal ini membantu dalam memahami potensi terapeutik atau efek kesehatan dari ekstrak tanaman. Identifikasi senyawa aktif dalam konteks fitokimia adalah proses menentukan dan memahami sifat serta struktur kimia dari senyawa-senyawa tertentu yang terkandung dalam tanaman dan berkontribusi pada efek biologis atau aktivitas farmakologis tertentu. Identifikasi senyawa aktif merupakan langkah kunci dalam memahami potensi terapeutik dari tanaman obat dan membuka pintu untuk pengembangan obat baru atau produk kesehatan berbasis tumbuhan. Berikut adalah beberapa langkah utama dalam identifikasi senyawa aktif:

1. Ekstraksi dan Pemisahan: Identifikasi dimulai dengan ekstraksi senyawa-senyawa kimia dari tanaman menggunakan pelarut tertentu. Metode ekstraksi yang efektif dan pemisahan menggunakan teknik kromatografi membantu dalam mendapatkan campuran senyawa yang lebih murni. Ekstraksi merujuk pada suatu teknik yang diterapkan dalam proses pemisahan komponen dari campuran dengan menggunakan berbagai pelarut sebagai agen pemisah (Aprillah, 2016). Metode ini merupakan salah

satu pendekatan dalam pemisahan kimia yang bertujuan untuk memisahkan atau mengekstrak satu atau lebih komponen atau senyawa dari sampel dengan menggunakan pelarut khusus (Leba, 2017). Secara umum, efektivitas ekstraksi dapat ditingkatkan dengan memastikan bahwa serbuk simplisia memiliki kontak yang lebih luas dengan pelarut. Oleh karena itu, kehalusan serbuk simplisia memiliki dampak positif terhadap hasil ekstraksi (Febriana dan Oktavia, 2019). Berbagai metode ekstraksi tersedia, dan setiap metode memiliki keunggulan masing-masing.

2. Analisis Spektroskopis: Metode spektroskopi seperti spektroskopi UV-Vis, inframerah (IR), dan nuklir magnetik resonansi (NMR) digunakan untuk mendapatkan informasi spektrum dari senyawa-senyawa tersebut. Setiap senyawa memiliki tanda tangan spektrum yang dapat membantu mengidentifikasi gugus fungsi dan karakteristik kimia mereka.
3. Kromatografi Massa (MS): Teknik ini memungkinkan penentuan massa molekuler senyawa dan fragmentasi mereka. Kromatografi massa membantu dalam menentukan bobot molekuler dan memberikan petunjuk tentang struktur senyawa.
4. Penentuan Struktur Molekuler: Dengan memadukan data dari berbagai teknik analisis, peneliti dapat mencoba menentukan struktur molekuler yang akurat dari senyawa aktif. NMR adalah teknik yang sangat berguna untuk menentukan susunan atom dan ikatan dalam molekul.
5. Pengujian Aktivitas Biologis: Setelah identifikasi, senyawa-senyawa aktif diuji untuk aktivitas biologis mereka. Pengujian ini melibatkan uji *in vitro* atau *in vivo* untuk mengevaluasi efek potensial senyawa pada sistem biologis, seperti kemampuannya untuk menghambat enzim tertentu atau menunjukkan aktivitas antioksidan, antimikroba, atau antiinflamasi.
6. Kuantifikasi dan Profiling: Identifikasi tidak hanya melibatkan penentuan keberadaan senyawa aktif tetapi juga kuantifikasi relatif mereka dalam sampel. Ini melibatkan

- teknik analisis kuantitatif seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) atau kromatografi gas (GC).
7. Validasi dan Reproduksiabilitas: Hasil identifikasi harus divalidasi untuk memastikan keakuratan dan reproduktibilitas. Hal ini melibatkan pengujian ulang metode identifikasi pada sampel yang berbeda dan verifikasi oleh penelitian independen.

Identifikasi senyawa aktif adalah langkah kritis dalam memahami potensi terapeutik tanaman obat. Proses ini memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang bertanggung jawab atas efek farmakologis tertentu, membuka pintu untuk pengembangan obat baru atau formulasi produk kesehatan yang lebih efektif.

## **5.2 Peran Pemisahan dalam Fitokimia**

Metode pemisahan memainkan peran kritis dalam analisis fitokimia dengan memberikan sarana untuk mendapatkan pemahaman yang mendalam tentang komposisi kimia tumbuhan. Metode pemisahan ini membantu para peneliti dalam mendapatkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan, mengisolasi mereka secara murni, dan kemudian menganalisis struktur serta aktivitas biologisnya. Berikut adalah beberapa peran utama metode pemisahan dalam analisis fitokimia:

1. Ekstraksi Senyawa dari Tumbuhan:  
Peran: Sebelum melakukan analisis fitokimia, senyawa-senyawa kimia harus diekstraksi dari bahan tanaman. Metode ekstraksi membantu memisahkan senyawa-senyawa tersebut dari matriks kompleks tumbuhan.  
Teknik yang Digunakan: Metode ekstraksi menggunakan pelarut tertentu seperti pelarut organik atau air untuk mengekstraksi senyawa-senyawa dari bahan tanaman.
2. Pemisahan Senyawa dari Campuran:  
Peran: Tanaman seringkali mengandung campuran kompleks senyawa-senyawa. Metode pemisahan seperti

kromatografi dan elektroforesis membantu memisahkan senyawa-senyawa tersebut untuk analisis lebih lanjut.

Teknik yang Digunakan: Kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC), kromatografi gas (GC), elektroforesis kapiler, dan teknik pemisahan lainnya digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam campuran.

3. Analisis Kuantitatif dan Kualitatif:

Peran: Setelah pemisahan, metode analisis kuantitatif dan kualitatif digunakan untuk menentukan konsentrasi relatif dan identifikasi senyawa-senyawa dalam sampel.

Teknik yang Digunakan: Kromatografi, spektroskopi (UV-Vis, IR, NMR), dan deteksi massa spektrometri (MS) digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa secara kuantitatif dan kualitatif.

4. Isolasi Senyawa Aktif:

Peran: Metode pemisahan membantu dalam isolasi senyawa-senyawa aktif atau komponen utama yang bertanggung jawab atas aktivitas biologis atau efek terapeutik dari tanaman.

Teknik yang Digunakan: Kromatografi preparatif dan teknik isolasi lainnya digunakan untuk mendapatkan senyawa-senyawa aktif secara murni.

5. Identifikasi Struktur Senyawa:

Peran: Setelah pemisahan dan isolasi, metode identifikasi struktur membantu dalam menentukan struktur kimia dari senyawa-senyawa tersebut.

Teknik yang Digunakan: Spektroskopi (NMR, IR, UV-Vis), kromatografi massa (MS), dan teknik analisis lainnya membantu dalam identifikasi struktural.

6. Validasi Metode Analisis:

Peran: Validasi metode memastikan keakuratan dan keandalan hasil analisis. Ini sangat penting dalam penelitian

fitokimia yang menghasilkan data yang digunakan dalam pemahaman ilmiah dan potensi pengembangan obat.

Teknik yang Digunakan: Parameter validasi termasuk spesifisitas, linearitas, ketelitian, batas deteksi, dan batas kuantifikasi, yang dievaluasi untuk memastikan keandalan metode analisis.

#### 7. Studi Kasus dan Aplikasi Praktis:

Peran: Metode pemisahan digunakan dalam studi kasus untuk mengaplikasikan prinsip-prinsip analisis fitokimia dalam penelitian terapan.

Teknik yang Digunakan: Pemilihan metode pemisahan yang sesuai dengan tujuan studi kasus dan kebutuhan analisisnya.

### **5.3 Pemisahan untuk Isolasi Senyawa Secara Murni**

Proses pemisahan bertujuan untuk mengisolasi senyawa-senyawa tertentu secara murni dari campuran kompleks dalam ekstrak tanaman. Ini memungkinkan peneliti untuk melakukan karakterisasi struktural yang akurat dan memahami sifat fisikokimia dari senyawa tersebut.

#### **5.3.1 Metode Ekstraksi**

Ada berbagai metode yang dapat digunakan untuk melakukan ekstraksi, dan setiap metode memiliki kelebihan dan kelemahannya masing-masing. Proses pemilihan metode dilakukan dengan mempertimbangkan sifat-sifat senyawa yang akan diekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, dan ketersediaan alat yang tersedia. Beberapa istilah umum yang sering digunakan dalam proses ekstraksi melibatkan konsep seperti ekstrak (yaitu, pelarut yang diterapkan untuk ekstraksi), rafinat (yaitu, larutan senyawa atau bahan yang menjadi objek ekstraksi), dan linarut (yaitu, senyawa atau substansi yang diinginkan yang larut dalam rafinat). Pemilihan metode ekstraksi sangat tergantung pada jenis, sifat fisik, dan sifat kimia dari senyawa yang akan diekstraksi. Pemilihan pelarut juga bergantung pada polaritas senyawa yang dicari, dengan rentang dari yang nonpolar hingga polar, sering kali dikenal sebagai ekstraksi bertahap. Pelarut yang digunakan dapat

dimulai dari heksana dan petroleum eter, kemudian berkembang menjadi kloroform atau diklometana, diikuti dengan alkohol, methanol, dan akhirnya, jika diperlukan, menggunakan air. Simplisia dikumpulkan dan dibersihkan dari kontaminan melalui proses pemilahan (penyaringan simplisia lain yang digunakan) atau pencucian. Idealnya, dalam melakukan ekstraksi pada simplisia, sebaiknya menggunakan bahan yang segar, namun, karena beberapa keterbatasan umumnya menggunakan bahan yang telah dikeringkan.

Berikut metode ekstraksi yang sering digunakan

### **1. Soxhlet Ekstraksi**

Prinsip dasar dari metode ini adalah penggunaan siklus pemanasan dan pendinginan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa dari sampel padat atau semi-padat. Sampel ditempatkan dalam sokhlet, dan pelarut (biasanya pelarut organik) dipanaskan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa ke dalam pelarut. Pelarut kemudian mengalir melalui siphon ke wadah, dan siklus ini terus berlanjut hingga senyawa-senyawa terekstraksi sepenuhnya. Metode Soxhlet merupakan teknik ekstraksi yang melibatkan penggunaan pelarut yang segar, umumnya dilaksanakan dengan menggunakan perangkat khusus untuk mencapai ekstraksi yang konsisten, dibantu oleh pendingin balik (Hanan, 2015). Pemanasan menyebabkan pelarut bergerak ke atas, dan setelah mencapai atas, akan mengalami kondensasi oleh pendingin udara, membentuk tetesan-tetesan yang kemudian terkumpul. Sirkulasi berulang akan terjadi, menciptakan proses ekstraksi yang efektif. Sirkulasi yang berulang-ulang ini akan menghasilkan penyarian yang optimal. Dalam melaksanakan proses ekstraksi, penting untuk memilih pelarut dengan cermat, terutama karena pelarut yang efektif dapat memberikan hasil yang lebih baik. Pelarut yang ideal untuk ekstraksi adalah yang memiliki daya larut yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi. Daya larut ini berkaitan dengan polaritas pelarut dan polaritas senyawa yang akan diekstraksi (Yurleni, 2018).

## **2. Maserasi**

Metode ini melibatkan perendaman bahan tanaman dalam pelarut selama periode waktu tertentu. Proses ini memungkinkan senyawa-senyawa larut dalam pelarut untuk berdifusi ke dalam pelarut, membentuk ekstrak. Setelah perendaman, ekstrak dapat dipisahkan dari bahan padat dengan penyaringan atau pemerasan. Maserasi merupakan metode ekstraksi simplisia yang digunakan untuk bahan atau simplisia yang tidak dapat diolah dengan panas, di mana bahan tersebut direndam dalam pelarut tertentu selama jangka waktu tertentu. Proses maserasi dijalankan pada suhu ruang, sekitar 20-30°C, untuk mencegah penguapan pelarut yang berlebihan karena faktor suhu, dan mencakup pengadukan selama 15 menit untuk mencampurkan bahan dan pelarut (Yennie dan Elystia, 2013). Dalam proses maserasi, serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari, yang dapat menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel. Sebagai hasilnya, larutan yang terkonsentrasi akan didorong keluar oleh tekanan (Rochani, 2009). Proses ini berulang dan menyebabkan terjadinya keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Kinetik merupakan metode ekstraksi seperti maserasi yang melibatkan pengadukan, sementara digesti adalah varian maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruang, yaitu sekitar 40-60°C.

## **3. Ultrasonnik**

Dalam ultrasonikasi, gelombang ultrasonik diterapkan pada sampel yang dilarutkan dalam pelarut. Gelombang ultrasonik menciptakan getaran dan mikroaliran dalam larutan, meningkatkan efisiensi ekstraksi. Metode ini berguna untuk ekstraksi senyawa-senyawa yang kurang larut dalam pelarut biasa. Ekstraksi ultrasonik menggunakan gelombang ultrasonik pada rentang frekuensi 20-2000 KHz untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel, yang kemudian mengakibatkan pelepasan isi sel. Frekuensi getaran memiliki dampak signifikan

pada hasil ekstraksi, sehingga metode ini jauh lebih cepat dibandingkan dengan metode konvensional. Gelombang elektronik menyebabkan medium yang dilalui mengalami getaran, dan penggunaan gelombang ultrasonik memberikan pengadukan intensif selama proses ekstraksi (Sari dkk., 2012).

#### **4. Pressurized Liquid Extraction (PLE) atau Accelerated Solvent Extraction (ASE):**

Teknik ini menggabungkan tekanan dan suhu tinggi untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Sampel ditempatkan dalam sel ekstraksi, dan pelarut (sering kali pelarut organik) dialirkan melalui sampel di bawah tekanan dan suhu tinggi untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang diinginkan.

#### **5. Refluks**

Refluks merupakan teknik ekstraksi yang diterapkan pada titik didih pelarut, dengan durasi waktu tertentu dan menggunakan jumlah pelarut yang relatif tetap, yang dibantu oleh pendingin balik. Tujuannya adalah untuk mencapai hasil penyarian yang lebih efektif atau optimal, dan umumnya, proses refluks diulang beberapa kali (sekitar 3-6 kali) terhadap residu awal. Pendekatan ini memungkinkan dekomposisi senyawa yang tidak stabil terhadap panas (Nirwana, 2019).

#### **6. Maserasi**

Maserasi adalah metode ekstraksi simplisia atau bahan tumbuhan yang melibatkan perendaman bahan tersebut dalam pelarut tertentu selama periode waktu tertentu. Proses ini dilakukan pada suhu ruang untuk mencegah penguapan pelarut yang berlebihan. Pada umumnya, selama proses maserasi, bahan simplisia direndam dalam cairan penyari, memungkinkan zat aktif larut dan menyusup ke dalam rongga sel. Dengan adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dan di luar sel, larutan yang terpekat didorong keluar, menciptakan keseimbangan konsentrasi. Proses ini dapat diulang berulang-ulang untuk mencapai penyarian yang optimal.

Proses maserasi ini dilaksanakan pada suhu ruang, berkisar antara 20-30°C, untuk menghindari penguapan pelarut yang berlebihan karena pengaruh suhu, sambil melakukan pengadukan selama 15 menit agar bahan dan pelarut dapat bercampur secara merata (Yennie dan Elystia, 2013). Pada saat maserasi, serbuk simplisia direndam dalam cairan penyari, yang kemudian menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel. Oleh karena itu, larutan yang terkonsentrasi akan didorong keluar, menghasilkan keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Kinetik adalah cara ekstraksi, seperti maserasi yang dilakukan dengan pengadukan, sementara digesti adalah varian maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruang, yaitu sekitar 40-60°C.

## **5.4 Metode Kromatografi**

Kromatografi adalah sebuah teknik pemisahan yang digunakan dalam analisis kimia dan biokimia untuk memisahkan campuran komponen menjadi fraksi yang terpisah. Teknik ini bekerja berdasarkan perbedaan laju pergerakan suatu zat terlarut dalam fase gerak dan fase diam. Berikut adalah penjelasan umum mengenai teknik pemisahan kromatografi:

1. Prinsip Dasar:
  - a. Kromatografi memanfaatkan dua fase: fase gerak (mobile phase) dan fase diam (stationary phase).
  - b. Fase gerak adalah cairan atau gas yang mengalir melewati fase diam, membawa senyawa-senyawa untuk dipisahkan.
  - c. Fase diam adalah substrat atau media yang diam, tempat senyawa-senyawa dapat berinteraksi secara berbeda sehingga mempengaruhi kecepatan pergerakan mereka.
2. Jenis-Jenis Kromatografi:
  - a. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC): Menggunakan cairan

sebagai fase gerak dan kolom berisi fase diam untuk pemisahan senyawa.

- b. Kromatografi Gas (Gas Chromatography, GC): Menggunakan gas sebagai fase gerak dan kolom berisi fase diam untuk memisahkan senyawa.
- c. Kromatografi Lapis Tipis (Thin-Layer Chromatography, TLC): Menggunakan lapisan tipis pada permukaan padat sebagai fase diam untuk pemisahan.

3. Proses Pemisahan:

- a. Senyawa-senyawa dalam campuran akan berinteraksi dengan fase diam dan fase gerak.
- b. Senyawa-senyawa yang berinteraksi lebih kuat dengan fase diam akan bergerak lebih lambat dan tertinggal, sementara senyawa-senyawa yang berinteraksi lebih kuat dengan fase gerak akan bergerak lebih cepat.

4. Deteksi dan Analisis

- a. Setelah senyawa-senyawa terpisah, mereka biasanya dideteksi menggunakan detektor khusus, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, atau detektor massa, tergantung pada jenis kromatografi yang digunakan.
- b. Data hasil deteksi dapat diinterpretasikan untuk mengidentifikasi dan mengukur konsentrasi senyawa-senyawa dalam campuran.

5. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pemisahan:

- a. Jenis fase diam yang digunakan.
- b. Komposisi dan sifat fisik fase gerak.
- c. Suhu dan tekanan operasi.
- d. Panjang dan diameter kolom.
- e. Interaksi antara senyawa-senyawa dalam campuran.

6. Aplikasi Kromatografi:

- a. Digunakan dalam berbagai bidang seperti analisis farmasi, analisis makanan, kimia forensik, dan riset biokimia.
- b. Mendukung pemisahan, identifikasi, dan analisis kuantitatif senyawa-senyawa dalam berbagai sampel.

### **Prinsip Dasar Ekstraksi:**

1. **Pelarut yang Tepat:** Pemilihan pelarut sangat penting dan bergantung pada sifat-sifat senyawa yang diinginkan. Pelarut organik seperti etanol, metanol, atau kloroform sering digunakan untuk ekstraksi senyawa hidrofobik, sedangkan air atau campuran air dengan pelarut organik digunakan untuk senyawa hidrofilik.
2. **Prinsip Kelarutan:** Prinsip dasar ekstraksi didasarkan pada kelarutan senyawa-senyawa tertentu dalam pelarut tertentu. Pelarut dipilih sedemikian rupa sehingga senyawa-senyawa yang diinginkan larut dengan baik, dan ekstraksi dapat mencapai hasil yang maksimal.
3. **Pengontrolan Suhu dan Waktu:** Pengontrolan suhu dan waktu ekstraksi sangat penting. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan degradasi senyawa-senyawa, sedangkan waktu ekstraksi yang cukup dibutuhkan untuk memastikan transfer yang efisien dari senyawa-senyawa ke dalam pelarut.
4. **Pilihan Metode:** Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada sifat sampel, jenis senyawa yang diinginkan, dan kebutuhan analisis. Metode ekstraksi yang berbeda dapat memberikan hasil yang berbeda dalam hal rendemen dan kualitas ekstrak. Hasil rendemen tergantung dari pelarut yang dipilih (Fitriana dkk., 2021)

Pemahaman mendalam terhadap prinsip dasar ekstraksi sangat penting untuk merancang metode ekstraksi yang efektif dan memastikan bahwa senyawa-senyawa yang diinginkan dapat diperoleh dengan efisien dari bahan tanaman.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aprilah, I. 2016. Ekstraksi Antioksidan Lycopene dari Buah Tomat (*Hylocereus Undatus*) Menggunakan Pelarut Etanol-Heksan (Doctoral dissertation, Politeknik Negeri Sriwijaya).
- Febriana, F., & Oktavia, A. I. 2019. Perbedaan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Daun Kejibeling (*Strobilanthus crispus* L. Blume) Hasil Metode Maserasi dan Perkolasi (Doctoral dissertation, Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang).
- Fitriana, W. D., Istiqomah, S. B. T., Putri D.A., Ersam T., Purnomo, A.S., Nurlatifah, Fatmawati, S. 2021. Antibacterial and Toxicity Activities of Indonesian Herbal Medicine Extracts Used for Postpartum Treatment. HAYATI Journal of Biosciences, Vol. 28 No. 3, July pp 232-239.
- Hanan, Endang. 2015. Analisis Fitokimia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Leba, M. A. U. 2017. Buku Ajar Ekstraksi dan Real Kromatografi. Yogyakarta: CV Budi Utama.
- Nirwana, p. C. 2019. Studi o-metilasi pada Sintesis Senyawa 1-metoksi Naftalen Dengan Variasi Jumlah Mol Dimetil Karbonat (dmc) dan Variasi Waktu Refluks Berbasis Green Chemistry.
- Rochani, N. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimianya (Doctoral dissertation, Univerversitas Muhammadiyah Surakarta).
- Sari, D. K., Wardhani, D. H., & Prasetyaningrum, A. (2012). Pengujian Kandungan Total Fenol *Kappahycus alvarezzi* dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Suhu dan Waktu. Prosiding SNST Fakultas Teknik, 1(1).
- Yennie, E., & Elystia, S. 2013. Pembuatan Pestisida Organik Menggunakan Metode Ekstraksi dari Sampah Daun Pepaya dan Umbi Bawang Putih. Jurnal Dampak, 10(1), 46-59.
- Yurleni, Y. 2018. Penggunaan Beberapa Metode Ekstraksi Pada Rimpang Curcuma Untuk Memperoleh Komponen Aktif Secara Kualitatif. Biospecies, 48-56.

# **BAB 6**

## **APLIKASI KROMATOGRAFI DALAM PEMISAHAN KELOMPOK SENYAWA KIMIA TANAMAN OBAT**

*Oleh Hasrawati Bahar*

### **6.1 Pendahuluan**

Kromatografi adalah metode pemisahan kimia berdasarkan perbedaan distribusi zat dalam fase padat dan fase gerak. Tujuan kromatografi biasanya untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam suatu campuran. Pemisahan dengan kromatografi dapat dilakukan dengan mudah dan cepat hanya dengan menggunakan peralatan yang relatif sederhana (Fasya, 2018).

Berdasarkan jenis fase gerak dan mekanisme pemisahannya kromatografi dapat dibagi menjadi beberapa jenis. Jika ditinjau dari fase geraknya meliputi kromatografi cair, kromatografi gas, kromatografi adsorpsi, dan kromatografi partisi. Jika ditinjau dari mekanismenya meliputi kromatografi pertukaran ion dan kromatografi gel. Jika ditinjau dari fase diamnya berupa kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi kertas (Dwiwarso, 2017).

Dewasa ini, bahan alam menjadi daya tarik peneliti untuk melakukan riset terkait kandungan zat aktif yang memiliki banyak khasiat terutama sebagai bahan obat-obatan/tanaman obat. Lingkungan yang tidak kondusif /suhu berubah ubah menyebabkan banyak kemungkinan penyakit yang muncul sebagai salah satu dampak yang ditimbulkan. Oleh karena itu tanaman obat menjadi alternatif pengobatan yang saat ini sangat dibutuhkan.

### **6.2 Metode Pemisahan**

Ada berbagai metode pemisahan yang digunakan dalam kimia dan ilmu terkait untuk memisahkan komponen-

komponen dari campuran. Berikut adalah beberapa metode pemisahan yang umum digunakan:

**1. Destilasi Sederhana**

Metode ini digunakan untuk memisahkan komponen-komponen cair dari campuran berdasarkan perbedaan titik didihnya. Distilat yang dihasilkan dikondensasi kembali menjadi bentuk cair.

**2. Destilasi Fraksinasi**

Destilasi fraksinasi adalah varian dari destilasi yang digunakan untuk memisahkan campuran cair yang lebih kompleks dengan lebih dari dua komponen. Proses ini memanfaatkan perbedaan titik didih fraksinya.

**3. Kromatografi Kertas**

Kromatografi kertas melibatkan migrasi komponen-komponen campuran melalui kertas yang bersifat menyerap air. Komponen-komponen tersebut dapat dipisahkan berdasarkan kecepatan migrasi dan afinitas terhadap kertas.

**4. Kromatografi Lapis Tipis (TLC)**

Metode ini mirip dengan kromatografi kertas, tetapi menggunakan lapisan tipis berbahan dasar silika atau alumina sebagai medium pemisahan. Komponen-komponen dipisahkan berdasarkan perbedaan afinitas mereka terhadap lapisan tipis.

**5. Kromatografi Kolom**

Kromatografi kolom melibatkan pemisahan komponen-komponen campuran berdasarkan perbedaan afinitas terhadap fase diam di dalam kolom. Kromatografi kolom dapat menggunakan fase diam polar atau non-polar tergantung pada sifat-sifat komponen campuran.

**6. Elektroforesis**

Elektroforesis adalah metode pemisahan yang memanfaatkan perbedaan muatan listrik komponen-komponen campuran. Komponen-komponen tersebut bergerak melalui medium berdasarkan gaya elektrostatis yang diterapkan.

## **7. Ekstraksi Cair-Cair**

Metode ekstraksi cair-cair digunakan untuk memisahkan komponen-komponen campuran berdasarkan perbedaan kelarutan mereka dalam dua fase cair yang tidak bercampur. Salah satu fase biasanya air, sementara yang lainnya dapat berupa pelarut organik.

## **8. Kromatografi Gas (GC)**

Kromatografi gas memisahkan komponen-komponen campuran berdasarkan perbedaan afinitas terhadap fase gas yang bergerak melalui kolom. Deteksi dapat dilakukan dengan detektor massa atau detektor lainnya.

## **9. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)**

HPLC adalah metode pemisahan yang menggunakan kolom cair tinggi untuk memisahkan komponen-komponen campuran berdasarkan afinitas terhadap fase gerak cair yang ditekan melalui kolom.

## **10. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan Deteksi Massa (HPLC-MS)**

Kombinasi HPLC dengan deteksi massa memungkinkan identifikasi dan karakterisasi yang lebih lanjut dari komponen-komponen campuran.

Setiap metode pemisahan memiliki kelebihan dan kelemahan tertentu, dan pemilihan metode tergantung pada sifat-sifat campuran yang akan dipisahkan dan tujuan analisisnya. Pemahaman yang baik tentang karakteristik masing-masing metode membantu peneliti dan analis memilih pendekatan yang paling sesuai untuk tugas tertentu.

## **6.3 Jenis- Jenis Kromatografi Kaitannya dengan Pemisahan Senyawa Tanaman Obat**

### **1. Kromatografi Kromatofori Cair-Tinggi (HPLC)**

HPLC digunakan secara luas untuk pemisahan senyawa-senyawa tanaman obat. Ini melibatkan penggunaan kolom berisi fase diam dan fase gerak cair yang ditekan melalui kolom dengan tekanan tinggi. Dalam pemisahan senyawa-senyawa tanaman obat, HPLC dapat digunakan untuk menganalisis

senyawa-senyawa aktif, seperti alkaloid, flavonoid, dan terpenoid.

2. Kromatografi Lapis Tipis (TLC)

TLC adalah metode kromatografi yang sederhana dan cepat. Dalam pemisahan senyawa tanaman obat, TLC dapat digunakan untuk memonitor kemurnian ekstrak atau fraksi dan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa spesifik. Setelah pengembangan lapis tipis, zona-zona dapat diambil untuk analisis lebih lanjut.

3. Kromatografi Gas (GC)

GC umumnya digunakan untuk senyawa-senyawa yang mudah menguap. Pada tanaman obat, GC dapat digunakan untuk menganalisis minyak atsiri dan senyawa-senyawa volatil lainnya. Ini dapat memberikan informasi tentang profil kimia dan kualitas tanaman obat.

4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPTLC)

HPTLC adalah varian dari TLC yang menggunakan lapisan tipis yang lebih halus dan teknik deteksi yang lebih canggih. Metode ini dapat memberikan resolusi yang lebih baik dan sensitivitas yang lebih tinggi dalam pemisahan senyawa-senyawa tanaman obat.

5. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dengan Deteksi Massa (HPLC-MS)

Kombinasi HPLC dengan deteksi massa (HPLC-MS) memungkinkan identifikasi lebih lanjut dan karakterisasi senyawa-senyawa tanaman obat. Teknik ini sering digunakan untuk penentuan struktur senyawa-senyawa kompleks yang ditemukan dalam tanaman obat.

6. Kromatografi Affinitas

Kromatografi afinitas dapat digunakan untuk pemisahan senyawa berdasarkan interaksi khusus, misalnya, interaksi antara senyawa bioaktif dan protein tertentu dalam tanaman obat.

7. Kromatografi Kolom Terbalik

Dalam kromatografi kolom terbalik, fase diam memiliki sifat hidrofobik. Metode ini dapat digunakan untuk pemisahan

senyawa-senyawa yang lebih polar, seperti asam fenolat dan flavonoid.

Aplikasi kromatografi dalam pemisahan senyawa tanaman obat sangat penting untuk memahami komposisi kimia tanaman tersebut, menentukan kemurnian, serta mengidentifikasi dan memahami potensi efek terapeutiknya. Metode kromatografi ini membantu ilmuwan dan peneliti dalam studi tanaman obat dan pengembangan obat-obatan yang berasal dari sumber alam tersebut.

## **6.4 Tanaman Obat**

Tanaman obat merujuk kepada tanaman yang mengandung senyawa-senyawa kimia yang memiliki potensi untuk digunakan dalam pengobatan atau perawatan kesehatan manusia. Tanaman obat telah digunakan sejak zaman kuno oleh berbagai budaya sebagai sumber obat-obatan tradisional. Berikut adalah beberapa poin penjelasan mengenai tanaman obat:

### **6.4.1 Definisi**

Tanaman obat adalah tanaman yang mengandung senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan atau perawatan kesehatan. Senyawa-senyawa ini dapat memiliki efek farmakologis yang bermanfaat dalam merawat atau mengobati penyakit.

#### **1. Kandungan Kimia**

Tanaman obat mengandung berbagai senyawa kimia yang dapat berperan dalam pengobatan. Ini termasuk alkaloid, flavonoid, terpenoid, glikosida, tanin, dan senyawa-senyawa lain yang memiliki aktivitas biologis.

#### **2. Pemanfaatan Tradisional**

Tanaman obat telah digunakan oleh berbagai masyarakat secara turun-temurun sebagai bagian dari sistem pengobatan tradisional. Pengetahuan ini seringkali diwariskan dari generasi ke generasi dan terintegrasi dalam praktik-praktik kesehatan lokal.

### **3. Pengembangan Obat Modern**

Banyak senyawa obat modern berasal dari tanaman obat. Melalui penelitian dan pengembangan, senyawa-senyawa dari tanaman obat telah diisolasi, dipelajari, dan disintesis untuk digunakan dalam industri farmasi.

### **4. Klasifikasi Tanaman Obat**

Tanaman obat dapat diklasifikasikan berdasarkan bagian tanaman yang digunakan (daun, akar, batang, bunga), atau berdasarkan sifat-sifat kimia utama yang dimilikinya. Beberapa tanaman obat yang terkenal termasuk ginseng, echinacea, ginkgo biloba, dan chamomile.

### **5. Aktivitas Farmakologis**

Tanaman obat dapat memiliki berbagai aktivitas farmakologis, seperti antiinflamasi, antimikroba, analgesik, antipiretik, dan antioksidan. Ini membuatnya bermanfaat dalam mengobati atau meredakan gejala penyakit.

### **6. Ekstraksi dan Pengolahan**

Untuk memanfaatkan senyawa-senyawa dalam tanaman obat, seringkali diperlukan proses ekstraksi menggunakan pelarut. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dapat digunakan langsung atau diolah lebih lanjut menjadi berbagai bentuk obat seperti kapsul, sirup, atau salep.

### **7. Konservasi dan Perlindungan**

Beberapa tanaman obat berisiko mengalami kepunahan karena eksploitasi yang berlebihan. Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan praktik-praktik konservasi dan perlindungan untuk memastikan kelangsungan tanaman obat dan pelestarian keanekaragaman hayati.

Tanaman obat memiliki peran penting dalam berbagai sistem pengobatan, baik tradisional maupun modern. Penelitian terus dilakukan untuk memahami lebih lanjut potensi tanaman obat dan mengembangkan terapi baru berdasarkan sumber daya alam ini.

## 6.5 Analisis Tanaman obat

Analisis tanaman obat menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) merupakan metode yang umum digunakan dalam menentukan kandungan senyawa-senyawa aktif dalam tanaman tersebut. HPLC dapat memberikan pemisahan yang tinggi dan sensitivitas yang baik, memungkinkan identifikasi dan kuantifikasi senyawa-senyawa kompleks dalam ekstrak tanaman. Berikut adalah contoh analisis tanaman obat menggunakan HPLC:

### **Contoh:**

#### **Analisis Kandungan Flavonoid pada Ekstrak Daun Ginkgo Biloba**

**Tujuan:** Menganalisis kandungan flavonoid pada ekstrak daun Ginkgo biloba menggunakan metode HPLC.

#### **Langkah-langkah:**

##### **1. Persiapan Sampel:**

- a. Daun Ginkgo biloba dikeringkan dan diekstraksi dengan menggunakan pelarut seperti metanol.
- b. Ekstrak kemudian dipekatkan dan disiapkan dalam pelarut yang sesuai untuk injeksi HPLC.

##### **2. Pemisahan HPLC:**

- a. Sampel disuntikkan ke dalam sistem HPLC dengan menggunakan kolom pemisahan yang sesuai, biasanya kolom fase terbalik (C18).
- b. Pelarut atau fase gerak yang digunakan tergantung pada sifat-sifat senyawa yang akan dianalisis.
- c. Gradient elusi dapat digunakan untuk meningkatkan pemisahan antar senyawa.

##### **3. Deteksi:**

- a. Detektor UV-Vis sering digunakan untuk deteksi senyawa-senyawa dalam tanaman obat. Pada contoh ini, deteksi dilakukan pada panjang gelombang yang sesuai untuk flavonoid, biasanya sekitar 254 nm atau 360 nm.
- b. Puncak-puncak kromatogram merepresentasikan waktu retensi dan intensitas absorbansi masing-masing senyawa.

#### **4. Identifikasi dan Kuantifikasi:**

- a. Senyawa dalam sampel dapat diidentifikasi dengan membandingkan waktu retensi dan spektrum UV-Vis dengan senyawa standar yang dianalisis pada kondisi yang sama.
- b. Kuantifikasi dilakukan dengan mengukur area di bawah puncak kromatogram dan membandingkannya dengan kurva kalibrasi yang dibuat menggunakan standar yang diketahui konsentrasinya.

**Hasil:** Analisis HPLC menghasilkan kromatogram yang menunjukkan puncak-puncak yang mewakili berbagai flavonoid dalam ekstrak Ginkgo biloba. Dengan menggunakan teknik ini, kita dapat menentukan kandungan relatif dan absolut dari masing-masing senyawa tersebut.

#### **Manfaat:**

1. Identifikasi dan kuantifikasi senyawa-senyawa aktif dalam tanaman obat.
2. Menentukan tingkat kemurnian dan konsistensi dalam produksi ekstrak tanaman obat.
3. Membantu dalam pengembangan dan pemantauan formulasi produk-produk yang berbasis tanaman obat.

Penting untuk dicatat bahwa kondisi analisis (kolom, fase gerak, detektor, dll.) akan bervariasi tergantung pada senyawa senyawa spesifik yang akan dianalisis dalam tanaman obat tertentu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anna Pratima Nikalje., Dileep Bhosale. 2017. A Handbook of Chromatography.Scholars Press.
- Dragull K, Beck JJ. 2012. Isolation of Natural Products by Ion Exchange Methods. *Methods in Molecular Biology*; 864 189-219.
- Dufresne C. 1998. Isolation by Ion Exchange Methods. In *Natural Products Isolation* Connell RJP. New Jersey: Humana Press;
- Fedor Macasek., James D. Navratil. 1992. *Separation Chemistry*. University of Warwick.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hill, New York.
- Harborne, J. B., Mabry, T. J., & Mabry, H. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer.
- Maulana Azad. 2012. *Textbook of Separation Processes*. National Institute of Technology, Bhopal, India & CUNY, New York, USA
- Wagner, H., & Xiao, P. 2011. *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines: Thin-Layer and High Performance Liquid Chromatography of Chinese Drugs*. Springer.
- Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., & Kowalska, T. 2010. *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis*. CRC Press.
- Svendsen, J. 2016. *Modern Phytochemical Methods*. Springer.
- Sigurdsson, S. Th. 2017. *Chromatography of Alkaloids*. Elsevier.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. 2010. *High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC): Principle, Instrumentation, and Applications*. Springer.



# BAB 7

## PEMURNIAN

*Oleh Jefry Wijaya*

### 7.1 Pendahuluan

Sejak abad ke tujuh belas para kimiawan telah dapat memisahkan berbagai jenis senyawa dari sumber-sumber organik, baik dari tumbuhan, mikroorganisme, dan organisme laut. Hal ini mulai mengakhiri kepercayaan dunia magis/mitos ke ilmu pengetahuan modern, dan diantara para ilmuwan sangat antusias untuk menguak sifat-sifat yang sebenarnya yang diperoleh dari bahan alam hingga saat ini (Sastrohamidjojo, 1995, Achmad, 1986).

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis terbesar kedua di dunia, dan memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Sekitar 30.000 spesies tumbuhan ada di hutan tropis Indonesia. Dari jumlah tersebut sekitar 9.600 spesies diketahui berkhasiat obat dan hanya sekitar 200 yang telah terdaftar digunakan dalam industri sebagai bahan baku obat tradisional. Sekitar 15 persen dilaporkan telah diteliti secara fitokimia. Sementara itu, tumbuhan yang telah diuji aktivitas biologisnya baru sekitar 6 persen (Susidarti, 2017, Herdiani 2012, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011). Permasalahan dalam pengembangan industri obat tradisional menjadi produk fitofarmaka adalah proses pemisahan, pemurnian dan analisis metabolit sekunder hasil isolasi.

Pemurnian senyawa bahan alam merupakan salah satu tahapan penting dan melibatkan serangkaian langkah-langkah untuk mengisolasi metabolit sekunder dari campuran kompleks. Berikut adalah beberapa metode umum yang digunakan dalam pemurnian senyawa bahan alam adalah ekstraksi, kromatografi, destilasi, kristalisasi, filtrasi selanjutnya dianalisis/dikarakterisasi menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan/atau spektrometri massa.

## 7.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran (Bernasconi dkk., 1995). Metode umum pada ekstraksi adalah maserasi, perkolasi, dan ekstraksi Soxhlet. Ekstraksi merupakan tahapan awal dalam pemurninaan senyawa bahan alam. Selain itu, ekstraksi cair-cair juga sering digunakan dalam tahapan pemurnian suatu senyawa bahan alam. Senyawa dipisahkan berdasarkan kelarutannya dalam dua pelarut yang tidak bercampur (biasanya air dan pelarut organik).

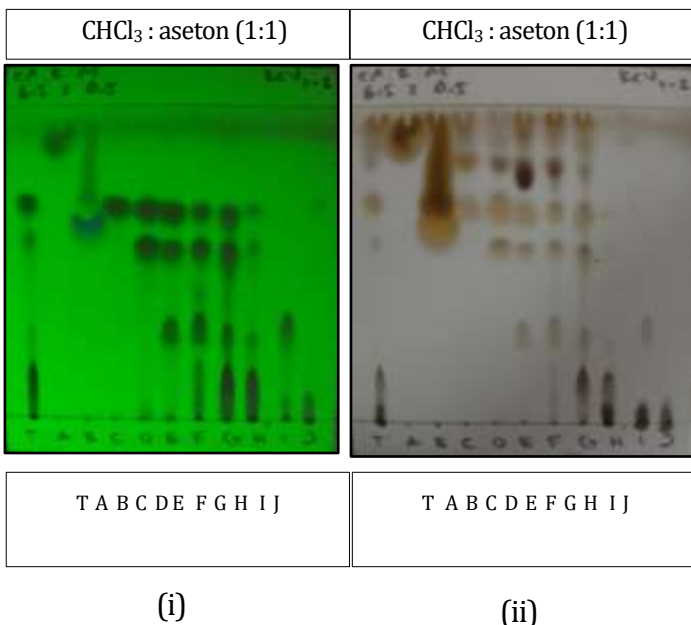


**Gambar 7.1.** Proses Maserasi  
(Sumber : Wijaya, dkk., 2022)

## 7.3 Kromatografi

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah suatu teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan dan menganalisis senyawa dalam campuran. Metode ini memanfaatkan perbedaan afinitas antara senyawa-senyawa dalam campuran terhadap fase diam (*stationary phase*) dan fase bergerak (*mobile phase*). KLT pada umumnya menjadi bagian dalam pemurnian senyawa karena proses KLT yang relatif cepat dan ekonomis untuk menganalisis komposisi

- campuran sebelum pemurnian lebih lanjut. Selain itu, KLT dilakukan untuk mempertimbangkan eluen yang akan digunakan pada saat tahapan pemisahan selanjutnya.
2. Kromatografi kolom adalah suatu metode pemisahan yang menggunakan kolom silinder sebagai tempat untuk memisahkan komponen-komponen campuran berdasarkan perbedaan afinitas terhadap fase diam dan fase bergerak dengan adanya gaya gravitasi dan tekanan atmosfer menyebabkan terjadi pemisahan senyawa berdasarkan kepolaran dan ukuran senyawa. Proses ini sering digunakan untuk pemurnian senyawa-senyawa organik dalam skala laboratorium atau preparatif.
  3. Kromatografi Flash (*Flash Chromatography*). Kromatografi ini memiliki kemiripan dengan kromatografi kolom, tetapi pada kromatografi ini menggunakan tekanan tinggi untuk mempercepat proses pemisahan.
  4. Kromatografi Cair Vakum (KCV): pemisahan menggunakan vakum untuk mempercepat proses pemisahan, prinsip pemisahan ini mirip dengan kromatografi flash. Pada umumnya KCV digunakan untuk memisahkan sampel dalam jumlah besar dan digunakan sebelum menggunakan kromatografi kolom.



**Gambar 7.2.** Kromatogram Hasil KCV Ekstrak MeOH *B.macrophylla*. (i) di Bawah Sinar UV ( $\lambda_{254nm}$ ); (ii) Setelah Disemprot dengan Penampak Noda Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.  
(Sumber : Wijaya, 2018)

Keuntungan Kromatografi Cair Vakum:

1. Kecepatan Elusi yang Tinggi  
Tekanan vakum membantu mempercepat pergerakan fase gerak melalui kolom kromatografi, menghasilkan kecepatan elusi yang lebih tinggi.
2. Efisiensi Pemisahan yang Lebih Baik  
Karena pergerakan yang lebih cepat, kromatografi cair vakum dapat memberikan pemisahan yang lebih baik dalam waktu yang lebih singkat.
3. Penghematan Waktu  
Pemisahan yang lebih efisien dapat menghemat waktu analisis, yang penting dalam lingkungan laboratorium yang seringkali membutuhkan hasil yang cepat.

## **74 Kromatografi Cair**

### **7.4.1 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)**

Teknik kromatografi cair yang lebih canggih yang memberikan resolusi tinggi dan pemisahan cepat.

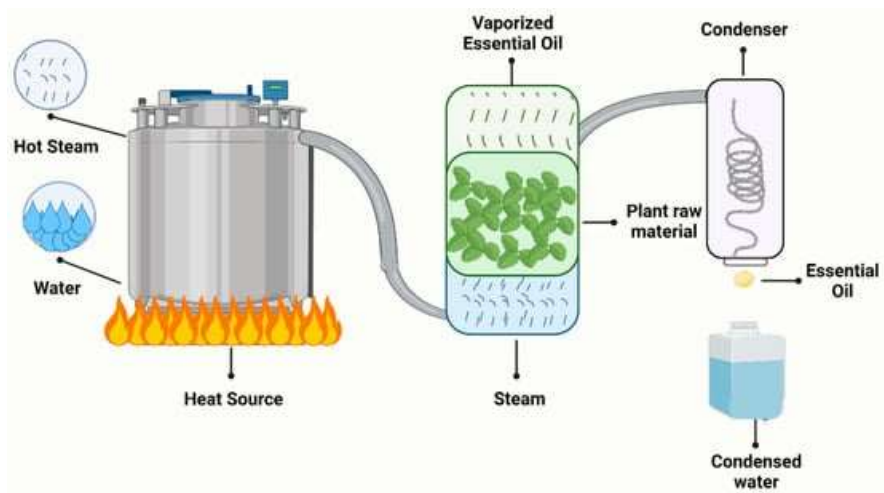
### **7.4.2 HPLC Preparatif (*Preparative HPLC*)**

Versi HPLC yang digunakan untuk tujuan pemurnian dan isolasi senyawa dalam jumlah besar. Dalam HPLC preparatif, prinsip dasar pemisahan tetap sama dengan HPLC analitis, namun, perbedaannya terletak pada skala operasi dan jumlah sampel yang diolah. Proses ini membantu memurnikan senyawa dari campuran yang kompleks, dan kemudian senyawa yang diinginkan dapat diisolasi dengan cara yang efisien.

## **7.5 Destilasi**

Pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan titik didih sampel. Beberapa teknik destilasi yang digunakan dalam proses pemisahan dan pemurnian senyawa yaitu:

1. Destilasi sederhana, campuran dipanaskan dalam labu destilasi, dan uap yang terbentuk kemudian dikondensasikan kembali menjadi cairan dalam kondensor. Cairan hasil kondensasi disebut destilat dan seringkali memiliki komposisi yang lebih banyak akan komponen yang memiliki titik didih lebih rendah.
2. Destilasi uap menggunakan uap air untuk mengeluarkan komponen-komponen volatil dari campuran. Proses ini sering digunakan dalam ekstraksi minyak atsiri dari tumbuhan.



**Gambar 7.3.** Alat Destilasi Uap  
(Sumber: Tongnuanchan dan Benjakul, 2014)

## 7.6 Kristalisasi

Pembentukan kristal dari larutan jenuh. Senyawa dilarutkan dalam pelarut, kemudian dipanaskan untuk membentuk larutan jenuh. Saat larutan didinginkan, senyawa tersebut mengkristal dan dapat dipisahkan dari larutan. Kristalisasi yang berulang dapat meningkatkan kemurnian senyawa.

### 7.6.1 Langkah-langkah Kristalisasi Senyawa Bahan Alam:

#### 1. Pemilihan Pelarut

Pilih pelarut yang cocok untuk senyawa tertentu yang ingin dikristalisasi. Pelarut yang umum digunakan melibatkan kombinasi air, etanol, metanol, atau campuran pelarut organik.

#### 2. Pembuatan Larutan

Larutkan senyawa bahan alam dalam pelarut dengan pemanasan atau pengadukan. Jumlah pelarut yang digunakan harus cukup untuk melarutkan senyawa pada suhu tinggi, dan sebagian besar senyawa tersebut kemudian akan terlepas saat larutan mendingin.

### 3. Pemfilteran

Jika larutan mengandung partikel tidak larut atau kotoran lainnya, lakukan pemfilteran untuk menghilangkan zat-zat tersebut.

### 4. Pengendapan dan Pendinginan

Larutan kemudian didiamkan untuk membiarkan senyawa mengendap. Pada saat yang sama, larutan didinginkan secara perlahan. Kristal-kristal akan mulai terbentuk karena senyawa mengendap dari larutan yang jenuh.

### 5. Pemisahan Kristal

Setelah kristalisasi terbentuk, pisahkan kristal dari larutan menggunakan teknik seperti penyaringan atau sentrifugasi. Kristal yang terbentuk harus dibersihkan dari sisa pelarut atau kontaminan lainnya.

### 6. Pencucian Kristal

Cuci kristal dengan pelarut bersih untuk menghilangkan sisa-sisa larutan yang menempel pada permukaan kristal.

### 7. Pengeringan

Keringkan kristal dengan cara menghilangkan pelarut yang tersisa. Proses pengeringan dapat dilakukan dengan membiarkan kristal mengering di udara terbuka atau menggunakan metode seperti penyaringan vakum atau pengeringan dengan gas inert.

## **7.6.2 Faktor-faktor yang Memengaruhi Kristalisasi:**

### 1. Pemilihan Pelarut

Pelarut yang dipilih harus mampu melarutkan senyawa pada suhu tinggi dan memungkinkan kristal untuk mengendap saat didinginkan.

### 2. Kecepatan Pendinginan

Kecepatan pendinginan dapat memengaruhi ukuran dan bentuk kristal. Pendinginan yang lambat cenderung menghasilkan kristal yang lebih besar.

3. Pemilihan Metode Pendinginan:

Metode pendinginan perlahan atau metode penguapan pelarut dapat memberikan hasil kristalisasi yang berbeda.



**Gambar 7.4.** Kristal Metil Galat  
(Sumber : dokumentasi pribadi)

## 7.7 Filtrasi

Filtrasi adalah proses pemisahan partikel padat dari cairan atau larutan. Pemisahan senyawa padat dari cairan menggunakan kertas saring dan corong, untuk meningkatkan kecepatan filtrasi dapat menggunakan tekanan vakum pada saat pemisahan dan pemurnian senyawa.

Jenis-jenis Filtrasi :

1. Filtrasi Gravitasi

Filtrasi ini dilakukan dengan memanfaatkan gaya gravitasi untuk mengalirkan cairan melalui medium penyaring (seperti kertas saring atau kaca pori-pori kecil). Ini adalah metode filtrasi yang sederhana dan umum digunakan dalam skala laboratorium.

2. Filtrasi Vakum

Filtrasi vakum melibatkan penggunaan tekanan vakum untuk mempercepat aliran cairan melalui medium penyaring. Metode

ini sering digunakan untuk mempercepat proses filtrasi dan meningkatkan efisiensi.

### 3. Filtrasi Tekanan

Filtrasi tekanan melibatkan penggunaan tekanan positif untuk mendorong cairan melalui penyaring. Ini dapat dilakukan dengan menggunakan pompa tekanan atau perangkat khusus.

### 4. Filtrasi Sentrifugal

Filtrasi sentrifugal menggunakan gaya sentrifugal untuk memisahkan padatan dari cairan. Sampel ditempatkan dalam wadah berputar, dan partikel-partikel berat terdorong ke tepi untuk kemudian dipisahkan.

## 7.8 Penguapan Pelarut

Penguapan pelarut bertujuan untuk memisahkan pelarut dari senyawa bahan alam yang dimurnikan untuk diproses lebih lanjut atau disimpan. Penguapan pelarut dapat menggunakan *rotatory evaporator*.

### 7.8.1 Pertimbangan dan Perhatian

#### 1. Panas dan Keamanan

Beberapa senyawa atau pelarut mungkin mudah terbakar atau memiliki titik didih yang rendah. Oleh karena itu, perlu memperhatikan keamanan saat melakukan penguapan pelarut.

#### 2. Pemilihan Metode Penguapan

Metode penguapan yang dipilih tergantung pada sifat pelarut, senyawa-senyawa yang terlibat, dan kondisi. Penguapan vakum sering digunakan untuk mengurangi suhu penguapan dan mempercepat proses.

#### 3. Pemantauan Proses

Proses penguapan perlu dipantau secara cermat untuk menghindari *over-evaporation* atau kerugian senyawa-senyawa yang diinginkan.



**Gambar 7.5.** Alat *Rotatory Evaporator*

(Sumber : dokumentasi pribadi, Laboratorium Kimia Organik Universitas Pattimura)

## 7.9 Spektroskopi

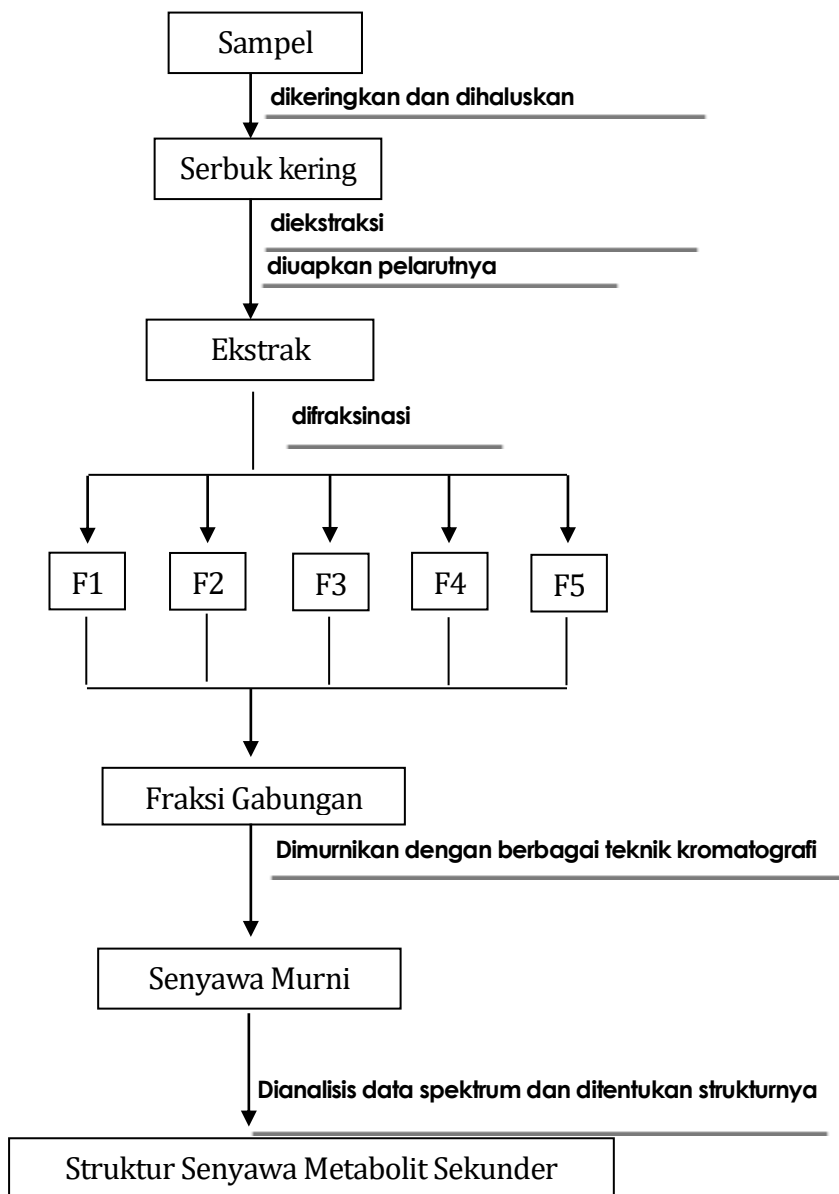
Setelah memperoleh senyawa murni untuk mengidentifikasi dan mengkonfirmasi struktur senyawa tersebut dapat menggunakan alat Resonansi Magnetik Inti (NMR), spektrometri massa, difraksi sinar-X, atau metode lainnya.



**Gambar 7.6.** Alat NMR

(Sumber : dokumentasi pribadi, Laboratorium Institut Teknologi Bandung)

## 7.10 Diagram Proses Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan



**Gambar 7.7.** Diagram Proses proses Pemisahan, Pemurninaan dan Analisis Metabolit Sekunder

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta: Penerbit Karunika Jakarta.
- Bernasconi, G., Gerster, H., Hauser, H., Stauble, H., Schneiter. 1995. *Teknologi Kimia Bagian 2*. (Terjemahan Handojo, L). Jakarta: Pradnya Paramita.
- Herdiani, E. 2012. Potensi Tanaman Obat Indonesia. <http://www.bbpp-lembang.info/index.php/arsip/artikel/artikel-pertanian/585-potensi-tanaman-obat-indonesia>.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Integrasi Pengobatan Tradisional Dalam Sistem Kesehatan Nasional. <http://www.depkes.go.id/article/print/1706/integrasi-pengobatan-tradisional-dalam-sistem-kesehatan-nasional.html>.
- Sastrohamidjojo, H. 1995. Sintesis Bahan Alam. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Susidarti, R. A., 2017. Ribuan Tanaman Herbal di Indonesia Belum Dimanfaatkan Secara Optimal. <https://www.ugm.ac.id/id/berita/13165-ribuan.tanaman.herbal.di.indonesia.belum.dimanfaatkan.secara.optimal>.
- Tongnuanchan, P.; Benjakul, S. 2014. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *J. Food Sci.*, 79, R1231–R1249.
- Wijaya, J. (2018), *Metabolit sekunder dari biji gandaria (Bouea macrophylla) dan uji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel murin leukemia P-388*, Tesis Program Magister, Institut Teknologi Bandung.
- Wijaya, J., Siahaya, P. G., Samloy, K. D., Geslauw M. A. 2022. *Potensi Kulit Batang Gandaria (Bouea macrophylla) Sebagai Antikanker dan Implementasinya pada Mata Kuliah Bioorganik*. Ambon: Laporan Penelitian Universitas Pattimura.

# **BAB 8**

## **IDENTIFIKASI GOLONGAN FENOLAT DAN FLAVONOID**

*Oleh Khoirul Ngibad*

### **8.1 Pendahuluan**

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan fitokimia penting yang ditemukan pada tanaman yang dikenal karena sifat antioksidan dan potensi manfaat kesehatannya. Identifikasi senyawa tersebut menjadi penting untuk berbagai tujuan, termasuk penelitian farmasi dan analisis makanan. Pembahasan singkat mengenai identifikasi golongan fenolik dan flavonoid dijelaskan sebagai berikut:

1. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan molekul fitokimia berukuran besar dengan sifat antioksidan yang umum ditemukan pada tumbuhan (Tungmunnithum et al., 2018). Senyawa fenolik dan flavonoid berperan penting dalam melindungi tanaman dari stres oksidatif dan memberikan berbagai manfaat kesehatan manusia.
2. Teknik analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak tumbuhan meliputi: Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan spektrometri massa (Tamsin et al., 2023).
3. Identifikasi kualitatif melibatkan isolasi dan karakterisasi komponen ekstrak tumbuhan untuk mengetahui keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid. KLT sering digunakan untuk tujuan tersebut karena KLT memungkinkan peneliti untuk memvisualisasikan dan mengkonfirmasi keberadaan senyawa tersebut dalam ekstrak.
4. Analisis kuantitatif mengukur konsentrasi senyawa fenolik dan flavonoid dalam sampel. KCKT adalah metode yang

banyak digunakan untuk mengukur senyawa fenolik dan flavonoid karena dapat memberikan data konsentrasi yang akurat (N. F. Rahman et al., 2021).

5. Peneliti mungkin fokus pada sumber tumbuhan tertentu untuk mengidentifikasi dan mengukur senyawa fenolik dan flavonoid. Misalnya, flavonoid telah diidentifikasi dalam ekstrak umbi pisang melalui hasil analisis yang positif (Andini et al., 2023)

Identifikasi gugus fenolik dan flavonoid pada tanaman melibatkan kombinasi metode analisis kualitatif dan kuantitatif. Senyawa-senyawa tersebut menarik karena sifat antioksidan dan potensi manfaat kesehatannya sehingga identifikasinya penting dalam berbagai bidang penelitian.

## **8.2 Senyawa Fenolik dan Flavonoid**

### **8.2.1 Struktur dan Klasifikasi**

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan kelompok beragam metabolit sekunder alami yang ditemukan pada tumbuhan. Senyawa fenolik dan flavonoid dikenal karena berbagai efek biologis dan khasiatnya yang meningkatkan kesehatan. Senyawa fenolik dicirikan oleh adanya cincin aromatik yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil (-OH) yang terikat. Senyawa fenolik dapat diklasifikasikan menjadi beberapa subkelompok, termasuk asam fenolik (misalnya asam ferulat), stilbenes (misalnya resveratrol), dan lignan (misalnya resinol secoisolar). Di sisi lain, senyawa flavonoid merupakan subkelompok senyawa fenolik dengan struktur khas yang terdiri dari kerangka 15 karbon yang tersusun dalam tiga cincin (A, B, dan C). Subkelas flavonoid yang umum termasuk flavon, flavonol, flavanon, flavanol (katekin), antosianin, dan isoflavon (Panche et al., 2016).

### **8.2.2 Keberadaan di Alam**

Senyawa fenolik tersebar luas di dunia tumbuhan dan terdapat di berbagai bagian tumbuhan, antara lain: daun, batang, buah, dan biji. Senyawa fenolik tersebut berperan penting dalam melindungi tanaman terhadap tekanan lingkungan dan patogen. Di

sisi lain, senyawa flavonoid banyak ditemukan pada buah-buahan, sayuran, biji-bijian, kulit kayu, akar, batang dan bunga. Senyawa flavonoid tersebut mempunyai kontribusi terhadap pewarnaan banyak jaringan tanaman dan bertindak sebagai antioksidan yang melindungi tanaman terhadap kerusakan oksidatif (Musdalipah et al., 2021).

### **8.2.3 Aktivitas Biologis**

Senyawa fenolik memiliki sifat antioksidan yang membantu menetralkan radikal bebas berbahaya dalam tubuh. Selain itu, senyawa fenolik juga memiliki efek anti-inflamasi, anti-kanker dan pelindung jantung. Resveratrol, yang ditemukan dalam anggur dan anggur merah, dikenal karena potensi manfaatnya bagi kardiovaskular. Di sisi lain, senyawa flavonoid dikenal sebagai antioksidan dan dikaitkan dengan berbagai manfaat kesehatan. Senyawa flavonoid memiliki sifat anti-inflamasi, antivirus dan antikanker. Kuersetin merupakan flavonol yang ditemukan dalam apel dan bawang Bombay memiliki efek meningkatkan kekebalan tubuh (M. M. Rahman et al., 2022).

### **8.2.4 Implikasi Kesehatan**

Konsumsi makanan kaya fenolik dikaitkan dengan penurunan faktor risiko penyakit kronis, seperti: penyakit jantung dan kanker. Sifat antioksidannya berkontribusi terhadap kesehatan secara keseluruhan. Di sisi lain, senyawa flavonoid dikenal karena perannya dalam meningkatkan kesehatan jantung, mengurangi risiko stroke, dan meningkatkan fungsi kognitif. Senyawa flavonoid juga dipelajari potensinya dalam mencegah penyakit yang berkaitan dengan usia (M. M. Rahman et al., 2022).

## **8.3 Identifikasi Kualitatif Senyawa Fenolik dan Flavonoid**

Identifikasi kualitatif senyawa fenolik dan flavonoid merupakan langkah penting dalam memahami komposisi kimia bahan tanaman. Berbagai metode dan pengujian dilakukan untuk memastikan keberadaan senyawa bioaktif tersebut. Beberapa

teknik identifikasi kualitatif senyawa fenolik dan flavonoid akan dijelaskan pada pembahasan di bawah ini.

### **8.3.1 Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia merupakan langkah pertama dalam identifikasi kualitatif. Skrining fitokimia mencakup beberapa uji kimia untuk mendeteksi keberadaan golongan senyawa tertentu, termasuk senyawa fenolik dan flavonoid. Beberapa uji dalam skrining fitokimia antara lain (Sankhalkar et al., 2016):

1. Uji Tanin

Tanin merupakan senyawa fenolik yang terdapat pada tumbuhan. Keberadaannya dapat dipastikan dengan pengujian, seperti: uji besi klorida, yang menghasilkan warna hitam kebiruan dengan adanya tanin.

2. Uji Phlobatnin

Seperti tanin, phlobatin juga merupakan senyawa fenolik. Untuk mendeteksinya dapat menggunakan uji asam klorida yang memberikan warna merah.

3. Uji Saponin

Saponin merupakan glikosida dan keberadaannya dapat dideteksi dengan adanya busa ketika dikocok dengan air.

4. Uji Flavonoid

Berbagai uji dapat digunakan untuk mendeteksi flavonoid, seperti tes Shinoda dan tes natrium hidroksida. Flavonoid seringkali menghasilkan perubahan warna yang khas bila terkena reagen tertentu.

Beberapa contoh skrining fitokimia yang dilakukan oleh peneliti adalah sebagai berikut:

1. Uji fitokimia pada ekstrak metanol daun zodia (*Evodia suaveolens*). Hasil yang diperoleh adalah ekstrak metanol daun tanaman zodia (*Evodia suaveolens*) mengandung golongan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dan tanin (Ngibad et al., 2019).
2. Skrining fitokimia pada ekstrak etanol tumbuhan daun bunga matahari (*Helianthus annuus*) dan anting-anting (*Acalypha indica* Linn). Hasil uji fitokimia dengan reagen menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% daun bunga

- matahari mengandung senyawa tanin sedangkan tanaman anting-anting mengandung senyawa flavonoid (Ngibad, 2019).
3. Skrining fitokimia pada rebusan daun kemangi dan daun salam. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa padadaun kemangi dan daun salam terdapat senyawa flavonoid (Nirmala et al., 2019).

### **8.3.2 Teknik Kromatografi**

Meskipun studi fitokimia memberikan informasi awal, metode kromatografi memungkinkan identifikasi kualitatif yang lebih tepat. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode yang banyak digunakan untuk isolasi dan identifikasi senyawa fenolik dan flavonoid. Metode KLT melibatkan penempatan sampel pada pelat KLT yang kemudian dikembangkan menggunakan sistem pelarut. Senyawa tersebut bermigrasi dan membentuk titik – titik yang dapat dibedakan dengan nilai  $R_f$  (faktor retensi) yang unik, yang memungkinkan identifikasi senyawa (Sankhalkar et al., 2016).

Penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak campuran herbal yang dilakukan menggunakan metode KLT. Ekstrak dianalisis menggunakan metode KLT. Ekstrak cair pada konsentrasi dan ukuran partikel optimum yang diselidiki dengan metode kolorimetri dianalisis selanjutnya menggunakan KLT. Sampel diencerkan dalam labu takar 10 mL hingga mencapai 2% sampel. Standar kuersetin diencerkan juga dalam air menggunakan labu takar 10 mL. Setelah itu, sampel dan standarnya dihomogenisasi menggunakan sonikator selama 30 menit. Kemudian disaring. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah butanol-asam asetat-air dengan perbandingan 4:1:5 (v/v). Identifikasi zat ekstrak sesuai dengan faktor retensi ( $R_f$ ) (Tristantini et al., 2019)

### **8.3.3 Teknik Spektroskopi UV-Vis**

Spektroskopi UV-Vis dapat menghasilkan sidik jari spektral senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid sering kali memiliki puncak serapan yang khas di wilayah UV-Vis, sehingga membantu dalam identifikasinya (Sankhalkar et al., 2016).

### 8.3.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Meskipun biasanya digunakan untuk analisis kuantitatif, namun juga dapat digunakan untuk deteksi kualitatif. Dengan membandingkan waktu retensi dan spektrum UV-Vis maksimum sampel dengan senyawa acuan, keberadaan senyawa fenolik dan flavonoid spesifik dapat dipastikan. Singkatnya, identifikasi kualitatif senyawa fenolik dan flavonoid melibatkan kombinasi skrining fitokimia, teknik kromatografi (misalnya KLT) dan metode spektroskopi (misalnya spektroskopi UV-Vis dan NMR). Bersama-sama, metode ini memberikan informasi berharga tentang keberadaan dan sifat senyawa bioaktif dalam bahan tanaman (Mizzi et al., 2020).

## 8.4 Identifikasi Kuantitatif Senyawa Fenolik dan Flavonoid

Analisis kuantitatif senyawa fenolik dan flavonoid merupakan aspek penting dalam penelitian kimia tanaman. Senyawa bioaktif tersebut dikenal karena berbagai efek kesehatannya sehingga pengukuran yang akurat sangatlah penting. Beberapa metode analisis kuantitatif untuk senyawa fenolik dan flavonoid dijelaskan di bawah ini.

### 8.4.1 Metode Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah teknik umum untuk mengukur senyawa fenolik dan flavonoid. Metode tersebut melibatkan pengukuran serapan panjang gelombang tertentu yang sesuai dengan senyawa berikut (Pandey *et al.*, 2022) (Sankhalkar *et al.*, 2016):

#### 1. Uji Folin-Ciocalteu

Reagen Folin-Ciocalteu banyak digunakan untuk memperkirakan kandungan total fenolik. Reagen Folin-Ciocalteu tersebut bereaksi dengan senyawa fenolik membentuk kompleks biru dengan serapan yang dapat diukur pada panjang gelombang 750 nm. Kuantifikasi sering kali dilakukan menggunakan kurva kalibrasi dengan standar fenolik yang diketahui.

## 2. Uji Aluminium Klorida

Metode ini digunakan untuk mengukur flavonoid. Aluminium klorida bereaksi dengan flavonoid, menghasilkan pembentukan kompleks berwarna kuning dengan serapan biasanya diukur pada 415 nm. Kurva kalibrasi dengan standar flavonoid yang diketahui digunakan untuk kuantifikasi.

Beberapa penelitian tentang identifikasi fenolik dan flavonoid secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri antara lain:

1. Pengukuran kadar fenolik dan kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun jati cina (*Senna alexandrina*) (Ngibad, 2023).
2. Pengukuran kadar flavonoid, dan fenolik total cangkang kerang mutiara (*Pinctada maxima*) (Ngibad, Muadifah, et al., 2023).
3. Pengukuran kandungan fenolik total pada ekstrak metanol dan n-heksana dari kulit buah markisa ungu (Ngibad, Herawati, et al., 2023).
4. Penentuan kandungan flavonoid ekstrak etanol dan etil asetat kulit buah markisa ungu (Aisyah et al., 2022).
5. Penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol kulit buah markisa ungu (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) (Nofita et al., 2022).
6. Pengukuran kandungan fenolik total daun zodia (*Evodia suaveolens*) (Ngibad et al., 2022).

### 8.4.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)

HPLC adalah teknik analisis yang ampuh untuk kuantifikasi senyawa fenolik dan flavonoid secara tepat. HPLC fase terbalik biasanya digunakan untuk memisahkan dan mengukur senyawa fenolik dan flavonoid. Sampel disuntikkan ke dalam kolom kromatografi, dan senyawa dielusi berdasarkan polaritasnya. Deteksi sering dilakukan dengan menggunakan detektor UV-Vis. Kuantifikasi dilakukan dengan membandingkan luas atau ketinggian puncak dengan standar yang diketahui (Du et al., 2018).

### **8.4.3 Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS)**

LC-MS menggabungkan kemampuan pemisahan HPLC dengan spektrometri massa, memungkinkan identifikasi dan kuantifikasi senyawa fenolik dan flavonoid. Spektrometri massa memberikan informasi berat molekul, meningkatkan spesifisitas (Yang et al., 2016).

Dalam analisis kuantitatif, kurva kalibrasi sangatlah penting. Larutan standar dengan konsentrasi yang diketahui dianalisis, dan hubungan linier antara konsentrasi dan respons (absorbansi atau luas puncak) ditetapkan. Hal ini memungkinkan kuantifikasi sampel yang tidak diketahui berdasarkan responsnya. Analisis kuantitatif senyawa fenolik dan flavonoid melibatkan berbagai teknik, antara lain spektrofotometri, HPLC, LC-MS, dan uji kolorimetri. Metode ini memungkinkan para peneliti mengukur dan mengukur senyawa bioaktif ini secara akurat, sehingga memfasilitasi pemahaman yang lebih mendalam tentang keberadaan dan konsentrasinya dalam bahan tanaman.

## **8.5 Sumber Tanaman Khusus Senyawa Fenolik dan Flavonoid**

Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada berbagai jenis tanaman. Kedua senyawa telah menarik banyak perhatian karena berbagai aktivitas biologis dan potensi manfaat kesehatannya. Beberapa sumber tanaman tertentu yang kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid antara lain:

### **1. Buah beri**

Buah beri, termasuk stroberi, blueberry, raspberry, dan blackberry, dikenal karena kandungan fenolik dan flavonoidnya yang tinggi. Senyawa ini berkontribusi pada warna cerah buah beri dan memberikan sifat antioksidan. Antosianin, sejenis flavonoid, banyak terdapat pada buah beri dan telah dikaitkan dengan berbagai manfaat kesehatan, termasuk kesehatan jantung dan fungsi kognitif (Zhang *et al.*, 2022).

2. Buah jeruk

Buah jeruk seperti jeruk, lemon dan grapefruits mengandung banyak flavonoid, terutama flavanon seperti hesperidin dan naringin. Senyawa ini memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi dan dikaitkan dengan penurunan risiko penyakit kronis (Zhang et al., 2022).

3. Daun teh (*Camellia sinensis*)

Teh, khususnya teh hijau, kaya akan flavonoid yang disebut katekin. Epigallocatechin gallate (EGCG) adalah katekin yang dipelajari secara luas dalam teh hijau, dikenal karena antioksidannya yang kuat dan potensi manfaat kesehatan, termasuk pengelolaan berat badan dan kesehatan jantung (Du et al., 2018).

3. Biji kakao

Biji kakao merupakan sumber flavonoid yang dikenal dengan nama flavanol. Epicatechin dan catechin merupakan flavanol yang banyak ditemukan pada kakao. Cokelat hitam dan produk kakao mengandung senyawa ini dan telah dikaitkan dengan peningkatan kesehatan jantung dan suasana hati, serta efek lainnya (Du et al., 2018).

4. Anggur merah

Anggur, khususnya anggur merah, banyak mengandung senyawa fenolik, seperti resveratrol, stilbene. Resveratrol telah mendapat perhatian karena potensi efek kardioprotektif dan antioksidannya. Ini adalah unsur penting dalam anggur merah dan konsumsi dalam jumlah sedang telah dikaitkan dengan manfaat kesehatan (Sun et al., 2023).

5. Minyak Zaitun

Minyak zaitun, khususnya minyak zaitun extra virgin, dikenal dengan konsentrasi senyawa fenolik seperti oleuropein dan hidroksitirosol. Fenolik ini berkontribusi

terhadap khasiat kesehatan minyak zaitun, termasuk efek anti-inflamasi dan kardioprotektif (Cosme et al., 2020).

Sumber tumbuhan yang kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid tertentu menawarkan manfaat kesehatan yang unik. Dimasukkannya makanan-makanan ini ke dalam makanan manusia dapat menyediakan sumber alami senyawa bioaktif yang telah dikaitkan dengan beberapa efek menguntungkan bagi kesehatan. Para peneliti terus menyelidiki potensi aplikasi terapeutik dari senyawa ini dalam pencegahan dan pengobatan penyakit kronis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S. D., & Ngibad, K. 2022. Determination of flavonoid content of ethanol and ethyl acetate extract from purple passion fruit peel. *Jurnal Pijar Mipa*, 17(5), 696–700.
- Andini, A., Sari, M. I., Raharjo, S. J., & Anneke, A. 2023. Analysis and identification of flavonoid compounds in kepok banana corm extract (*musa paradisiaca* L). *Jurnal Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam LLDikti Wilayah 1 (JUMPA)*, 3(2), 65–71.
- Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J., & Garrido, M. 2020. Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. In *Antioxidants* (Vol. 9, Issue 12). <https://doi.org/10.3390/antiox9121263>
- Du, K., Li, J., Guo, X., Li, Y., & Chang, Y. 2018. Quantitative Analysis of Phenolic Acids and Flavonoids in *Cuscuta chinensis* Lam. by Synchronous Ultrasonic-Assisted Extraction with Response Surface Methodology. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018, 6796720. <https://doi.org/10.1155/2018/6796720>
- Mizzi, L., Chatzitzika, C., Gatt, R., & Valdramidis, V. 2020. HPLC Analysis of Phenolic Compounds and Flavonoids with Overlapping Peaks. *Food Technology and Biotechnology*, 58(1), 12–19. <https://doi.org/10.17113/ftb.58.01.20.6395>
- Musdalipah, M., Tee, S. A., Karmilah, K., Sahidin, S., Fristiody, A., & Yodha, A. W. M. 2021. Total phenolic and flavonoid content, antioxidant, and toxicity test with bslt of meistera chinensis fruit fraction from Southeast Sulawesi. *Borneo Journal of Pharmacy*, 4(1), 6–15.
- Ngibad, K. 2019. Phytochemical Screening of Sunflower Leaf (*Helianthus annuus*) and Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) Plant Ethanol Extract. *Borneo Journal of Pharmacy*, 2(1), 24–30.
- Ngibad, K. 2023. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, KADAR FENOLIK, DAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN JATI CINA (*Senna alexandrina*). *Lantanida Journal*, 11(1), 24–35.

- Ngibad, K., Herawati, D., Aisyah, S. D., Triarini, L. J., & Pratama, M. R. F. 2023. Total Flavonoid, Total Phenolic contents and Antioxidant activity of Methanol and n-hexane extract from purple passion fruit peel. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 16(3), 1247–1253.
- Ngibad, K., & Lestari, L. P. 2019. Uji FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN ZODIA (*Evodia suaveolens*). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 11(2), 161–168.
- Ngibad, K., & Lestari, L. P. 2022. *Aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total daun zodia (evodia suaveolens)*. Insight Mediatama.
- Ngibad, K., Muadifah, A., & Sukmawati, D. A. N. 2023. Aktivitas Antioksidan , Kadar Flavonoid , dan Fenolik Total Cangkang Kerang Mutiara ( *Pinctada maxima* ). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 9(1), 55–62.
- Nirmala, F., Zumaroh, K., Donatomo, N. A., & Ngibad, K. 2019. Kombinasi Rebusan Daun Salam dan Kemangi dalam Menurunkan Kadar Asam Urat Mus musculus: Combination Of Bay And Basil Leaves To Decrease The Mus Musculus Uric Acid Levels. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 2(1), 109–115.
- Nofita, S. D., Ngibad, K., & Rodli, A. F. 2022. Determination of percentage yield and total phenolic content of ethanol extract from purple passion (*Passiflora edulis f. edulis* Sims) fruit peel. *Jurnal Pijar Mipa*, 17(3), 309–313. <https://doi.org/10.29303/jpm.v17i3.3461>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pandey, L. K., & Sharma, K. R. 2022. Analysis of Phenolic and Flavonoid Content,  $\alpha$ -Amylase Inhibitory and Free Radical Scavenging Activities of Some Medicinal Plants. *TheScientificWorldJournal*, 2022, 4000707. <https://doi.org/10.1155/2022/4000707>

- Rahman, M. M., Rahaman, M. S., Islam, M. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M. A., Alghamdi, S. Q., Alruwaili, A. S., Hossain, M. S., Ahmed, M., Das, R., Emran, T. B., & Uddin, M. S. 2022. Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/molecules27010233>
- Rahman, N. F., Nursamsiar, N., Megawati, M., Handayani, H., & Soares, C. A. M. 2021. Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Kembang Bulan Leaves (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 57–65.
- Sankhalkar, S., & Vernekar, V. 2016. Quantitative and Qualitative Analysis of Phenolic and Flavonoid Content in *Moringa oleifera* Lam and *Ocimum tenuiflorum* L. *Pharmacognosy Research*, 8(1), 16–21. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.171095>
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. 2023. Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants—Natural Health Products for Human Health. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 4). <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Tamsin, A. H. N., Batubara, I., Ridwan, T., & Aziz, S. A. 2023. PHENOLIC AND FLAVONOID PRODUCTION, PHYTOCHEMICAL PROFILE, AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF *Adenostemma platyphyllum* AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF HYDROPONIC SOLUTIONS. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 16(1), 59–70.
- Tristantini, D., & Jessica, A. 2019. Determination of flavonoid content of mixed herbs extract using colorimetric method and thin layer chromatography (TLC). *AIP Conference Proceedings*, 2092(1).
- Tungmunthum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. 2018. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*, 5(3), 93. <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>

- Yang, Y., Sun, X., Liu, J., Kang, L., Chen, S., Ma, B., & Guo, B. 2016. Quantitative and Qualitative Analysis of Flavonoids and Phenolic Acids in Snow Chrysanthemum (*Coreopsis tinctoria* Nutt.) by HPLC-DAD and UPLC-ESI-QTOF-MS. In *Molecules* (Vol. 21, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/molecules21101307>
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. 2022. A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, 17(1), 1934578X211069721. <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>

# BAB 9

## IDENTIFIKASI GOLONGAN ALKALOID

*Oleh Aliyah Fahmi*

### 9.1 Pendahuluan

Salah satu kelas basa organik yang mengandung nitrogen alami adalah alkaloid; alkaloid terkenal termasuk morfin, strychnine, kina, efedrin, dan nikotin. Alkaloid biasanya ditemukan pada tumbuhan, terutama dalam famili tumbuhan berbunga tertentu. Faktanya, diperkirakan seperempat tanaman tingkat tinggi mengandung alkaloid, beberapa ribu jenisnya telah ditemukan. Secara umum, suatu spesies hanya mengandung beberapa jenis alkaloid. Ini berbeda dengan jamur ergot (*Claviceps*) dan opium poppy (*Papaver somniferum*), yang masing-masing mengandung sekitar 30 jenis alkaloid.

Alkaloid berfungsi apa pada tumbuhan belum diketahui. Meskipun ada bukti yang menunjukkan bahwa zat-zat tersebut mungkin melakukan fungsi biologis tertentu, ada dugaan bahwa zat-zat tersebut hanyalah sisa dari proses metabolisme tumbuhan. Konsentrasi alkaloid pada beberapa tanaman meningkat sebelum pembentukan benih dan kemudian turun ketika benih matang, yang menunjukkan bahwa alkaloid mungkin berperan dalam proses ini. Alkaloid juga dapat melindungi beberapa jenis serangga dari merusak tanaman.

Alkaloid memiliki struktur kimia yang sangat berbeda. Dalam kebanyakan kasus, alkaloid memiliki setidaknya satu atom nitrogen dalam struktur jenis amina—yaitu, mereka mengambil atom hidrogen dari amonia dan menggabungkannya dengan gugus hidrogen-karbon yang disebut hidrokarbon. Dalam reaksi asam-basa, atom nitrogen tertentu dapat bertindak sebagai basa. Karena zat tersebut bereaksi dengan asam untuk membentuk garam, seperti alkali anorganik, namanya awalnya disebut alkaloid. Kebanyakan alkaloid terdiri dari satu atau lebih atom nitrogen dalam cincin atom yang disebut sistem siklik. Nama alkaloid

biasanya diakhiri dengan akhiran "-ine", yang menunjukkan bahwa alkaloid tersebut termasuk dalam kategori kimia amina. Sebagian besar alkaloid adalah padatan kristal yang tidak berwarna yang tidak mudah menguap dalam bentuknya yang murni. Selain itu, mungkin terasa pahit.



**Gambar 9.1.** Struktur kimia beberapa alkaloid (sumber Britannica, 2023)

Pengaruh fisiologis dari alkaloid yang beragam, baik yang diinginkan maupun tidak diinginkan menyebabkan ketertarikan pada mereka pada manusia dan hewan lainnya. Bahan kimia ini telah digunakan sejak zaman kuno, tetapi penelitian ilmiah tentangnya harus menunggu perkembangan kimia organik karena struktur kompleks alkaloid baru tidak dapat diuraikan sebelum kita memahami basa organik sederhana. Morfin, unsur aktif kuat dari opium poppy, adalah alkaloid pertama yang diisolasi dan dikristalisasi pada sekitar tahun 1804.

Struktur kimia alkaloid sering menjadi dasar klasifikasi alkaloid. Misalnya, alkaloid indole adalah alkaloid yang memiliki sistem cincin yang disebut indole. Atas dasar ini, golongan utama alkaloid termasuk terpenoid, steroid, isokuinolin, indol, kuinolin, pirolidin, piridin, tropan, dan pirolizidin. Sebagai alternatif, alkaloid dapat dikategorikan berdasarkan sistem biologis di mana mereka ditemukan. Misalnya, alkaloid opium ditemukan pada pohon opium (*Papaver somniferum*). Karena ada hubungan kuat antara jenis kimia alkaloid dan distribusi biologisnya, sistem klasifikasi ganda ini agak membingungkan.

Alkaloid memiliki berbagai efek obat. Morfin adalah obat yang sangat efektif untuk mengobati rasa sakit, tetapi sifat adiktifnya membatasi manfaatnya. Kodein, turunan metil eter dari morfin dalam opium poppy, adalah analgesik yang sangat baik dan hampir tidak membuat ketagihan. Alkaloid tertentu meningkatkan detak jantung dan pernafasan. kuinidin, yang diperoleh dari tanaman *Cinchona*, digunakan untuk mengobati aritmia, yang merupakan istilah untuk irama detak jantung yang tidak teratur. Setelah rangsangan, banyak alkaloid dapat menyebabkan depresi pernafasan yang parah. Obat lobeline (*Lobelia inflata*) lebih aman dan berguna secara klinis dalam hal ini. Ergonovin, yang berasal dari jamur *Claviceps purpurea*, dan efedrin, yang berasal dari spesies *Efedra*, berfungsi untuk menyempit pembuluh darah.

Banyak alkaloid yang mempunyai sifat anestesi lokal, meskipun secara klinis jarang digunakan untuk tujuan ini. Kokain (*Erythroxylum coca*) adalah anestesi lokal yang sangat manjur. kina (spesies *Cinchona*) merupakan agen antimalaria kuat yang dulunya merupakan obat pilihan untuk mengobati penyakit tersebut, meskipun sebagian besar telah digantikan oleh obat sintetis yang kurang beracun dan lebih efektif. Alkaloid tubocurarine adalah bahan aktif dalam racun panah Amerika Selatan, curare (diperoleh dari *Chondrodendron tomentosum*), dan digunakan sebagai pelemas otot dalam pembedahan. Dua alkaloid, vincristine dan vinblastine (*Catharanthus roseus*, sebelumnya *Vinca rosea*), banyak digunakan sebagai agen kemoterapi dalam pengobatan berbagai

Sekelompok molekul yang sangat besar disebut alkaloid. Mereka semua adalah senyawa sekunder dan kumpulan berbagai biomolekul dan unsur yang berasal dari asam amino atau transaminasi. Kelompok kimia yang sangat berbeda ini diklasifikasikan berdasarkan asam amino yang membawa atom nitrogen dan bagian kerangkanya. Alkaloid yang berasal dari sumber yang sama atau memiliki inti dasar yang sama mungkin melakukan aktivitas dan jalur biosintesis yang berbeda. Mereka termasuk l-lisin, asam nikotinat, l-ornitin, asam antranilat atau asetat, l-histidin, dan l-fenilalanin. Indole, tropane, dan isoquinoline adalah alkaloid yang sangat penting, selain jenis alkaloid lainnya. Mereka digunakan di seluruh dunia dalam kehidupan sehari-hari.

Selain itu, alkaloid dapat berasal dari hewan melalui proses endogen atau eksogen.

Alkaloid adalah kumpulan bahan kimia alami yang biasanya terdiri dari atom nitrogen basa. Mereka juga mungkin mengandung beberapa senyawa netral atau asam lemah (Manske dan Holmes, 2014; McNaught dan McNaught, 1997). Beberapa senyawa sintetik juga disebut sebagai alkaloid (Lewis, 1998). Ada kemungkinan bahwa alkaloid terdiri dari belerang selain karbon, nitrogen, atau hidrogen. Jarang sekali, alkaloid terdiri dari brom, fosfor, atau klor (Knunyants dan Zefirov, 1988).

Ada banyak jenis makhluk yang dapat membentuk metabolit sekunder ini, seperti tumbuhan, hewan, jamur, dan bakteri. Mereka dimurnikan dari ekstrak kasarnya melalui ekstraksi asam-basa karena berbagai efek farmakologisnya, seperti antikanker, antimalaria, anestesi, dan stimulan (Ziegler dan Facchini, 2008).

Ahli kimia Jerman Carl F. W. Meissner pertama kali menggunakan istilah "alkaloid" pada tahun 1819, berasal dari kata Arab al-qali, yang dikaitkan dengan tanaman asal mula soda (Croteau et al., 2000). Sejauh ini, sekitar 12.000 alkaloid telah diidentifikasi dari berbagai genera kingdom tumbuhan. Alkaloid adalah struktur dengan berat molekul rendah yang membentuk sekitar 20% metabolit sekunder nabati. Alkaloid sebagian besar berbentuk padat dan diketahui ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (Kaur dan Arora, 2015).

## **9.2 Klasifikasi alkaloid**

### **9.2.1 Klasifikasi ditetapkan berdasarkan biogenesis**

Alkaloid menggambarkan keragaman yang besar tidak hanya dalam asal botani dan biokimia tetapi juga dalam struktur dan tindakan farmakologis. Dalam hubungan ini, berbagai sistem klasifikasi dimungkinkan. Dari persepsi struktural, alkaloid dapat diklasifikasikan berdasarkan prekursor molekulnya, struktur, dan asal usulnya, atau berdasarkan jalur biologis yang digunakan untuk memperoleh molekul tersebut.

Ada tiga jenis utama alkaloid: (1) alkaloid sejati, (2) protoalkaloid, dan (3) pseudoalkaloid. Alkaloid dan protoalkaloid

sejati dihasilkan dari asam amino, sedangkan pseudoalkaloid tidak berasal dari senyawa tersebut.

### **1. Alkaloid sejati**

Alkaloid jenis ini dibuat dengan berbagi cincin heterosiklik yang mengandung nitrogen dan berasal dari asam amino. Mereka sangat aktif secara biologis dan sangat reaktif. Banyak di antaranya berbentuk kristal, berkonjugasi dengan asam dan membentuk garam yang larut dalam air. Kecuali nikotin, cairan berwarna coklat, hampir semua alkaloid asli memiliki rasa padat dan pahit (Aniszewski, 2007).

Ada tiga bentuk keberadaannya pada tumbuhan: dalam keadaan bebas, sebagai N-oksida, atau sebagai garam. Alkaloid sejati berasal dari berbagai asam amino, seperti l-lisin, l-ornitin, l-histidin, dan l-fenilalanin/l-tirosin (Dewick, 2002; Pelletier, 1999). Kokain, morfin, dan kina adalah alkaloid alam yang umum.

### **2. Protoalkaloid**

Alkaloid jenis ini mengandung atom nitrogen yang berasal dari asam amino tetapi bukan bagian dari sistem cincin heterosiklik. l-Triptofan dan l-tirosin adalah prekursor utama alkaloid jenis ini. Kelompok kecil ini secara struktural terdiri dari alkaloid sederhana. Yohimbine, mescaline, dan hordenine adalah alkaloid utama jenis ini. Mereka digunakan dalam berbagai gangguan kesehatan, termasuk penyakit mental, nyeri, dan neuralgia.

### **3. Pseudoalkaloid**

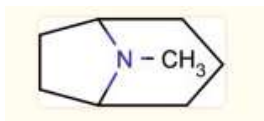
Kerangka karbon dasar pseudoalkaloid tidak berasal langsung dari asam amino; sebaliknya, mereka dihubungkan dengan jalur asam amino yang mana mereka berasal melalui reaksi aminasi atau transaminasi dari pendahulu atau pascakursor asam amino. Prekursor non-asam amino juga dapat menghasilkan pseudoalkaloid. Mereka bisa berasal dari fenilalanin atau asetat. Capsaicin, kafein, efedrin adalah contoh pseudoalkaloid yang sangat umum.

### 9.2.2 Klasifikasi ditetapkan berdasarkan struktur cincin

Klasifikasi ditetapkan berdasarkan struktur cincin. Berdasarkan keberadaan inti heterosiklik dasar dalam strukturnya, ini adalah klasifikasi yang paling komprehensif.

#### 1. Alkaloid tropana

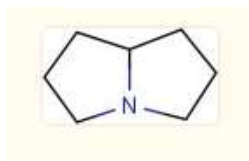
Semua alkaloid dalam kategori ini memiliki inti tropana (kerangka C<sub>4</sub>N). Mereka termasuk dalam keluarga Solanaceae dan sangat umum. Mereka berasal dari acetoacetate dan ornithine. Prekursor alkaloid jenis ini adalah pirolin, berdasarkan strukturnya. Kebanyakan dari mereka adalah ester mono, di, dan trihydroxytropine dengan pengaturan hidroksilasi yang berbeda. Karena efek farmakologisnya yang signifikan, kokain, atropin, skopolamin, dan turunannya telah dipelajari secara luas sejak abad ke-19.



**Gambar 9.2.** Struktur kimia dasar inti tropana alkaloid  
(Sumber Dey et al 2020)

#### 2. Alkaloid pirolizidin

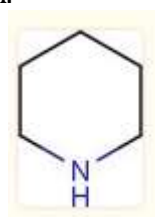
Inti pirolizidin adalah ciri khas alkaloid ini. Mereka berasal dari keluarga tanaman Asteraceae dan Fabaceae. Mayoritas alkaloid pirolizidin ditemukan pada tanaman dalam bentuk N-oksida, yang kehilangan fungsinya selama proses isolasi. Karena efek toksik alkaloid, terutama menyebabkan kerusakan hati, mereka telah mempelajarinya secara menyeluruh. Hewan yang memakan alkaloid ini tidak akan memakannya karena mereka masuk ke dalam rantai makanan.



**Gambar 9.3.** Struktur kimia sederhana pirolizidin (Dey, 2020)

### 3. Alkaloid piperidin

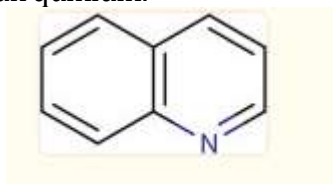
Sistem cincin dasar alkaloid piperidin terdiri dari inti piperidin. Ciri utama alkaloid piperidin asli adalah senyawa monocycle dengan inti C<sub>5</sub>N. Ciri khas alkaloid piperidin adalah baunya. Mereka menyebabkan neurotoksisitas yang bertahan lama. Banyak di antaranya tumbuh. Piperidin adalah alkaloid turunan lisin, tetapi beberapa alkaloid piperidin juga berasal dari asetat, atau asetoasetat, dengan cara yang mirip dengan alkaloid pirolidin sederhana. Salah satu alkaloid penting dalam kategori ini adalah lobelin.



**Gambar 9.4.** Struktur kimia piperidin (Sumber Dey et al., 2020)

### 4. Alkaloid quinolin

Jenis alkaloid yang mengandung inti kuinolon ini diperoleh secara eksklusif dari kulit tanaman kina. Tetapi berbagai kuinolin heteroaromatik sederhana juga diisolasi dari berbagai sumber laut (4,8-quinolinediol dari tinta cephalopoda dan 2-heptyl-4-hydroxyquinoline dari pseudomonad laut). Alkaloid utama dari kelompok spesifik ini adalah sinkonin, sinkonidin, kina, dan quinidin.



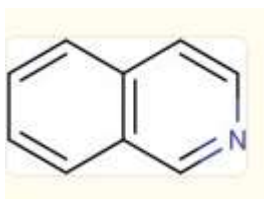
**Gambar 9.5.** Struktur kimia quinoline (Sumber Dey et al., 2020)

### 5. Alkaloid isoquinolin

Alkaloid isoquinolin adalah kelompok alkaloid yang sangat besar yang sebagian besar ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Hanya sejumlah kecil dari kelompok ini juga merupakan alkaloid laut isoquinoline. Inti isoquinoline adalah

karakteristik struktural utama. Beberapa sifat obat alkaloid ini termasuk antivirus, antijamur, antikanker, antioksidan, antispasmodik, dan penghambat enzim. Alkaloid isoquinoline utama, morfin dan kodein, sangat dipelajari. Alkaloid ini berasal dari fenilalanin atau tirosin. Mereka berasal dari 3,4-dihydroxytryptamine, pendahulu dopamin yang terikat dengan keton atau aldehida. Selanjutnya, grup alkaloid ini dikategorikan sebagai berikut:

Alkaloid isoquinolin sederhana (misalnya salsoline, mimosamycin), alkaloid benzyloisoquinoline (misalnya reticuline, imbricatine), alkaloid bisbenzyloisoquinoline (misalnya fumaricine), alkaloid manzamine (misalnya manzamine a), alkaloid pseudobenzyloisoquinoline (misalnya polikarpin, ledecorine), alkaloid secobisbenzyloisoquinoline (misalnya, baluchistanamine), alkaloid bisbenzyloisoquinoline yang mengandung satu ikatan eter (misalnya, dauricine), alkaloid bisbenzyloisoquinoline yang mengandung dua ikatan eter (misalnya, berbamine), alkaloid bisbenzyloisoquinoline yang hanya mengandung ikatan aril (misalnya, pisopowe gigi ), alkaloid bisbenzyloisoquinoline yang mengandung satu ikatan aromatik dan satu atau dua ikatan eter (misalnya, rodiasine).

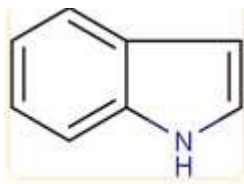


**Gambar 9.6.** Struktur kimia isoquinolin (Sumber Dey et al., 2020)

## 6. Alkaloid Indol

Ini adalah kelompok alkaloid triptofan terbesar dan paling menarik. Kelompok alkaloid penting ini mencakup turunan triptamin sederhana, karbazol (yang rantai etanaminnya telah dihilangkan), berbagai alkaloid yang menggabungkan satu atau lebih residu prenil dengan triptamin, dan alkaloid lain yang terjadi integrasi unit monoterpenoid atau

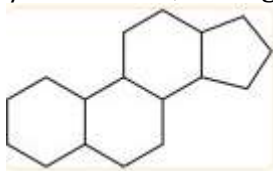
diterpenoid biasa. Studi penelitian klasik telah dilakukan pada alkaloid dari sumber asal dan jamur, meskipun keragaman struktural bervariasi dari sumber terestrial ke laut. Ciri khas alkaloid ini adalah polihalogenasi. Mereka selanjutnya diklasifikasikan sebagai berikut: alkaloid indole sederhana, bisindoles, alkaloid triptamin sederhana, alkaloid siklotriptamin, kuinazolinokarbazol alkaloid, alkaloid  $\beta$ -karbolin, alkaloid karbazol, alkaloid indolonaphthyridin, alkaloid ergot.



**Gambar 9.7.** Struktur kimia indol (Sumber Dey et al., 2020)

## 7. Alkaloid steroid

Ciri khas alkaloid jenis ini adalah sistem cincin fenantren 1,2-siklopentana. Alkaloid steroid biasanya berasal dari tumbuhan tinggi seperti Liliaceae, Solanaceae, Apocynaceae, dan Buxaceae, tetapi ada juga yang berasal dari amfibi. Berbagai jenis aminopregnana adalah jenis yang paling sederhana dari berbagai sub tipe alkaloid ini. Alkaloid steroid lainnya adalah jenis salamandra, jenis jerveratrum, jenis spirosolane, jenis solanidine, jenis cerveratrum, tipe conanine, tipe Buxus, tipe pregnane sefalostatin/ritterazines, berbagai alkaloid steroid.

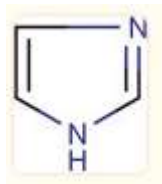


**Gambar 9.8.** Struktur kimia steroid (Sumber Dey et al., 2020)

## 8. Alkaloid imidazol

Ciri khas alkaloid jenis ini adalah struktur cincin imidazol. Cincin alkaloid imidazol ini tidak termasuk dalam prosedur transformasi struktur karena sebelumnya dibuat pada tahap prekursor. Jenis alkaloid ini memiliki banyak model

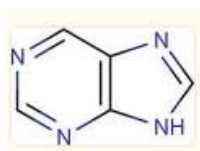
struktur, terutama alkaloid laut dan mikroba. Mereka menunjukkan banyak aktivitas biologis dan potensi farmasi. Secara farmasi, alkaloid imidazol yang paling penting adalah pilokarpin.



**Gambar 9.9.** Struktur kimia imidazol (Sumber Dey et al., 2020)

## 9. Alkaloid purin

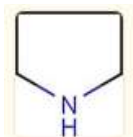
Purin adalah basa nitrogen nukleotida, yang membentuk DNA dan RNA. Ini terdiri dari gula pentosa dan cincin purin, serta basa pirimidin lainnya. Sebagian besar alkaloid purin adalah alkaloid tanaman, seperti kafein, teofilin, dan teobromin. Namun, mereka juga dapat berasal dari organisme laut dengan purin tersubstitusi (seperti Phidolopin) dan berbagai alkaloid terpenoid purin, seperti garis umur, dan lain-lain.



**Gambar 9.10.** Struktur kimia purin (Sumber Dey et al., 2020)

## 10. Alkaloid pirolidin

Inti alkaloid pirolidin (kerangka C<sub>4</sub>N) adalah inti pirolidin. Tumbuhan mengandung banyak alkaloid pirolidin. Jenis alkaloid ini termasuk hygrine (yang disintesis dari ornithine), ficine (di mana cincin pirolidin terikat pada inti flavon), dan brevicolline (di mana ia terikat pada unit karbolin).



**Gambar 9.11.** Struktur kimia pirolidin (Sumber Dey et al., 2020)

Metabolit sekunder tumbuhan adalah beragam molekul aktif biologis yang memiliki berbagai tindakan farmakologis seperti antimikroba, stimulan, analgesik, anthelmintik, antikoagulan, antijerawat, dan antioksidan. Senyawa sintetik yang berbeda menunjukkan potensi aktivitas biologis secara in vitro dan in vivo dan berbagai formulasi obat yang ada juga dikembangkan untuk meningkatkan profil keamanan. Terlepas dari perkembangan teknologi ini, manusia dari hampir semua budaya telah secara efisien menggunakan senyawa yang berasal dari tumbuhan untuk mengantisipasi dan menangani berbagai gangguan kesehatan selama berabad-abad (Dey et.al., 2020)

## **9.3 Cara identifikasi alkaloid dengan Skrining Fitokimia**

### **9.3.1 Pembuatan Reagen Identifikasi Alkaloid**

1. Pembuatan Pereaksi Meyer
  - a. Larutan 1 yaitu ( $1,358\text{g HgCl}_2 + 60\text{ ml akuades}$ )
  - b. Larutan 2 yaitu ( $5\text{g KI} + 10\text{ mL akuades}$ ).

Prosedur Pembuatan:

- a. Dituangkan larutan yang pertama kedalam larutan yang kedua
- b. diencerkan dengan menggunakan aquades sampai batas pada labu ukur 100 mL
- c. Dihomogenkan dan disimpan dalam botol coklat

Catatan: Pereaksi Mayer merupakan pereaksi untuk hampir semua alkaloida dengan membentuk endapan putih dalam suasana sedikit asam.

2. Pembuatan Pereaksi Wagner  
Pereaksi Wagner dibuat dengan cara:
  - a. 5ml aquadest dipipet
  - b. Lalu ditambahkan 2,5g iodin dan 2 g kalium iodida
  - c. lalu dilarutkan dan diencerkan dengan aquadest menjadi 100 ml dalam labu takar.

- d. Dihomogenkan dan disimpan

Catatan: Pereaksi ini berwarna coklat

### 3. Pembuatan Pereaksi Dragendorff

Pereaksi Dragendorff dibuat dengan cara:

- a. Dibuat larutan Bismuth nitrat (0,8g bismuth subnitrat + 10mL asam asetat + 40mL aquadest)
- b. Larutan ini dicampur dengan larutan KI (8g KI + 20mL aquadest)
- c. Dihomogenkan dan disimpan

Catatan: Sebelum digunakan, 1 mL campuran ini diencerkan dengan 2,3 mL campuran (20 ml asam asetat glasial +100 ml aquadest). Pereaksi ini berwarna jingga.

Cara kedua pembuatan Pereaksi Dragendorff yaitu:

- a. 8g  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dilarutkan dalam 30% b/v  $\text{HNO}_3$
- b. 27,2g KI dilarutkan dalam 50mL aquadest
- c. Lalu kedua larutan tersebut dicampurkan dan dibiarkan selama 24 jam
- d. Disaring lalu ditambah aquadest sampai volume keseluruhan campuran menjadi 100mL.

### 4. Pembuatan Larutan Pereaksi Bouchardat

Pereaksi Bouchardat memiliki persamaan dengan pereaksi Wagner karena menggunakan KI dan iodium sebagai reagen untuk identifikasi senyawa alkaloid.

Prosedur pembuatannya adalah sebagai berikut:

- a. 4g KI ditambahkan dengan aquadest secukupnya sampai larut
- b. 2g iodium ditambahkan dengan aquadest
- c. Dicampurkan larutan tersebut pada labu takar 100mL
- d. Dipenuhi hingga sampai tanda garis
- e. Dihomogenkan dan disimpan.

Catatan: Pereaksi ini akan berwarna coklat apabila sampel yang dianalisis mengandung senyawa alkaloid.

### 9.3.2 Prosedur Umum Skrining Alkaloid

1. Sebanyak 4g sampel kering ditambahkan kloroform secukupnya, kemudian ditambahkan 10mL amoniak dan 10mL kloroform.
2. Larutan disaring kedalam tabung reaksi dan filtratnya ditambahkan 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N.
3. Campuran dikocok dengan teratur dan dibiarkan beberapa menit sampai terbentuk 2 lapisan.
4. Lapisan atas dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung-tabung reaksi masing-masing
5. Di tambahkan beberapa tetes pereaksi alkaloid (pereaksi Meyer, Wagner, Dragendorff dan Bouchardatt) dalam masing-masing tabung dan diamati perbedaan warna serta endapan yang terbentuk.
  - a. Uji Meyer: Ditambahkan 2 - 3 tetes pereaksi Meyer dalam tabung reaksi. Jika alkaloid terdapat pada sampel, terbentuk endapan putih kusam
  - b. Uji Wagner: Diasamkan sampel ekstrak tumbuhan dengan asam klorida (1,5% v/v) dan ditambahkan beberapa tetes Reagen Wagner dalam tabung reaksi. Terbentuk endapan berwarna coklat kemerahan yang menunjukkan adanya alkaloid.
  - c. Uji Dragendorff: Ditambahkan HCl 2M ditambahkan hingga terjadi reaksi asam. Dalam campuran ini, 1ml pereaksi dragendorff telah ditambahkan. Jika alkaloid hadir dalam sampel ekstrak, terbentuk endapan merah jingga.
  - d. Uji Bouchardatt: Diasamkan sampel ekstrak tumbuhan dengan asam klorida (1,5% v/v) dan ditambahkan beberapa tetes Reagen Bouchardatt (dalam tabung reaksi. Terbentuk endapan berwarna coklat kemerahan yang menunjukkan adanya alkaloid (Garg & Garg., 2019).

## 9.4 Metode ekstraksi dan pemurnian

Tahapan awal adalah pemisahan senyawa dari campuran padatan atau cairan dengan pelarut yang tepat. Ekstraksi pula merupakan langkah awal dalam penemuan dan pengembangan obat pada kelompok tumbuhan tropana, indol, dan isokuinolin. Banyak teknik yang sudah mapan untuk mengekstrak alkaloid termasuk maserasi, infus, rebusan, perebusan dengan refluks, ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro (*microwave-assisted extraction/MAE*), ekstraksi dengan bantuan ultrasound (*ultrasound-assisted extraction/UAE*), ekstraksi cairan superkritis (*supercritical fluid extraction/SFE*), dan ekstraksi bertekanan ekskrement cair (*pressurized liquid extraction/PLE*).

### 9.4.1 Metode ekstraksi

Sebelum ekstraksi, jaringan tanaman dibersihkan dengan metode mekanis, termasuk mortar dan alu, grinding mill, dan mixer grinder. Misalnya, bahan lignifikasi tanaman dibekukan dan dihaluskan oleh nitrogen cair yang terkandung dalam lesung dan alu (Kirakosyan et al., 2016). Selain itu, sonicator digunakan untuk mengekstraksi produk tanaman yang ditanam melalui teknik kultur suspensi sel (Bhargavi et al., 2018).

Sebelum ekstraksi, jaringan tanaman dibersihkan dengan metode mekanis, termasuk mortar dan alu, grinding mill, dan mixer grinder. Misalnya, bahan lignifikasi tanaman dibekukan dan dihaluskan oleh nitrogen cair yang terkandung dalam lesung dan alu (Kirakosyan et al., 2016). Selain itu, sonicator digunakan untuk mengekstraksi produk tanaman yang ditanam melalui teknik kultur suspensi sel (Bhargavi et al., 2018).

### 9.4.2 Degradasi kimia

Berbagai jenis bahan kimia potensial digunakan untuk menghancurkan dinding sel. Matriks yang tidak larut, serta struktur molekul dinding sel, dapat diganggu oleh deterjen. Misalnya, Triton X-100, oktil glikosida, dan Tween-20 adalah beberapa deterjen nonionik. Deterjen ionik seperti natrium dodesil sulfat (SDS) (Bhargavi et al., 2018; Fabricant dan Farnsworth, 2001; Huie, 2002b).

#### **9.4.3 Tindakan pencegahan yang harus diambil selama proses ekstraksi**

Adanya panas yang berlebihan, bahan kimia tertentu, atau reaksi enzimatik di dalam sel dapat menyebabkan senyawa pecah. Sangat penting untuk memahami struktur penyangga bahan yang larut dalam air. Polivinil polipirrolidin yang tidak larut (PVPP) atau polivinil pirrolidin yang larut (PVP) dapat dinonaktifkan oleh polifenol karena kesalahan dalam kedua proses ekstraksi dan isolasi. Untuk menghilangkan kation divalen dari ekstrak, agen pengkelat seperti EDTA dapat ditambahkan. Bahan antibusa yang tepat digunakan untuk menekan busa. (Bhargavi et al., 2018; Fabricant dan Farnsworth, 2001; Huie, 2002b).

#### **9.4.4 Ekstraksi dengan pelarut (ekstraksi cair-cair atau ekstraksi padat-cair)**

Sel yang telah dihomogenisasi disimpan dalam pelarut ekstraksi selama waktu tertentu agar seluruh bagian sel mudah ditembus oleh pelarut. Kunci utama utama dari proses ekstraksi adalah mengetahui pelarut yang cocok dan pengaruh suhu. Metode ekstraksi yang ideal harus menghindari beberapa fenomena penting yang terkait dengan ketidakcocokan fisik. Fenomena penting ini meliputi dekomposisi, isomerisasi, atau polimerisasi. Parameter penting lainnya adalah stabilitas senyawa. Stabilitas suatu senyawa bergantung pada cahaya, panas, dan polaritas pelarut. Ekstraksi adalah teknik pemisahan senyawa yang diinginkan dari suatu matriks seperti pada kasus ekstraksi Soxhlet dan ekstraksi arus berlawanan (Bhargavi et al., 2018; Fabricant dan Farnsworth, 2001; Huie, 2002b; Pandey dan Tripathi, 2014).

### **9.5 Teknik identifikasi dan kuantifikasi**

Ada berbagai macam senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan turunan indole, isoquinoline, dan tropane. Karena beragamnya indeks polaritas, teknik pemisahan, serta identifikasi dan karakterisasi senyawa bioaktif, merupakan isu penting. Untuk isolasi komponen aktif telah diterapkan berbagai teknik analisis seperti KLT, HPTLC, kromatografi kertas, kromatografi kolom (CC), kromatografi gas (GC), kromatografi

laminar kinerja optimal (OPLC), dan HPLC. Setelah itu, dilakukan isolasi. senyawa digunakan untuk penjelasan struktur serta aktivitas biologis (Sasidharan et al., 2011).

#### **9.5.1 Teknik kromatografi**

Prinsip dari teknik ini adalah pemisahan. Teknik pemisahan komponen aktif didasarkan pada ukuran, bentuk, dan muatannya (Coskun, 2016). Pada saat analisis dengan kromatografi, analit terdapat dalam suatu larutan dan dipindahkan melalui fase padat yang berfungsi sebagai bahan pengayak. Dalam hal ini, kromatografi kertas dan lapis tipis adalah teknik yang ideal untuk menghasilkan data kualitatif dan kuantitatif.

#### **9.5.2 Kromatografi adsorpsi**

Prinsip kromatografi adsorpsi adalah interaksi antara zat terlarut dan fase diam. Situs aktif fase diam dipisahkan oleh ikatan nonkovalen, interaksi nonpolar, gaya Van der Waals, dan interaksi hidrofobik. Komponen yang terikat secara longgar akan dielus lebih dahulu oleh fase gerak.

#### **9.5.3 Kromatografi partisi**

Dalam metode ini, molekul dipisahkan berdasarkan interaksi antara dua fase cair yang tidak dapat bercampur. Nama lain dari kromatografi ini adalah kromatografi cair/cair.

#### **9.5.4 Kromatografi pertukaran ion**

Prinsip aktif metode ini adalah pemisahan ion dan komponen polar berdasarkan sifat listrik komponen tersebut (Rathore dan Gupta, 2012).

#### **9.5.5 Kromatografi afinitas**

Dalam metode ini, pemisahan bergantung pada interaksi antara pasangan zat yang berinteraksi seperti makromolekul dan substratnya, kofaktor, efektor alosterik, atau inhibitor. Pada saat kromatografi, campuran komponen dilewatkan melalui kolom dengan bantuan fase gerak. Zat yang mempunyai afinitas lebih besar terhadap ligan dilewatkan dengan lambat dan zat yang mempunyai

afinitas lebih kecil dielus dengan cepat karena ikatannya lebih sedikit dengan suatu legenda. Buffer yang memiliki rentang pH lebar atau kekuatan ionik yang meningkat digunakan untuk mengelusi analit.

#### **9.5.6 Kromatografi eksklusi ukuran**

Dalam kromatografi jenis ini, pemisahan molekul didasarkan pada ukuran tanpa interaksi kimia apa pun. Ini juga diberi label sebagai kromatografi permeasi gel dan kromatografi saringan molekuler.

#### **9.5.7 Kromatografi kertas**

Pada teknik ini pemisahan dilakukan pada kertas saring sederhana. Keuntungan lain dari teknik ini adalah kemampuan reproduksi nilai  $R_f$  (faktor retensi) yang ditentukan di atas kertas. Dalam kromatografi ini, kertas saring digunakan sebagai fase diam (Singh, 2017b). Sampel diaplikasikan pada bagian bawah kertas saring. Kertas saring ini disimpan dalam ruang kromatografi dengan pelarut. Pelarut bersama dengan molekul terlarut dijalankan oleh aksi kapiler. Kapasitas pergerakan pelarut tergantung pada porositas kertas.

#### **9.5.8 Kromatografi lapis tipis**

Kromatografi lapis tipis (TLC) merupakan teknik yang lebih sensitif, fleksibel, dan cepat dibandingkan kromatografi kertas (Bele dan Khale, 2011). Prinsip aktif dari teknik adsorpsi ini. Oleh karena itu disebut kromatografi adsorpsi. Dalam hal ini sampel dipisahkan berdasarkan adsorpsi pada permukaan adsorben padat yang menempel pada pelat. Pemisahan ini terutama didasarkan pada senyawa dengan berat molekul rendah. Beberapa jenis adsorben digunakan untuk kromatografi ini (Fried, 2005).

#### **9.5.9 Kromatografi kolom**

Prinsip aktif CC adalah adsorpsi. Bahan diencerkan dengan fase gerak dan melewati fase diam. Senyawa yang memiliki afinitas lebih besar terhadap fase diam akan bergerak lambat dan molekul dengan afinitas lebih sedikit akan terelus terlebih dahulu. Fraksi

bahan elusi dapat lebih pekat dibandingkan larutan awal yang diaplikasikan pada kolom.

#### **9.5.10 Kromatografi gas**

Kromatografi ini hanya cocok untuk senyawa yang mudah menguap. Fase gas dan cair digunakan untuk tujuan ini. Fase gas digunakan sebagai fase gerak dan cairan bertindak sebagai fase diam (Eiceman, 2002). Laju migrasi bergantung pada distribusi spesies kimia dalam fase gas. Jika pendistribusiannya 100% ke fasa diam cair maka tidak akan bermigrasi sama sekali. Jika sebaran spesies sebagian terjadi pada kedua fase tersebut, maka spesies tersebut akan bermigrasi dengan kecepatan sedang. Sampel awalnya diuapkan dan disuntikkan pada kolom kromatografi dan kemudian melewati kolom melalui aliran fase gerak gas inert. Fase diam tetap berada di dalam kolom (Pravallika, 2016).

#### **9.5.11 Kromatografi cair kinerja tinggi**

HPLC adalah teknik analisis yang paling banyak digunakan untuk pemisahan serta penentuan zat terlarut organik dan anorganik dalam sampel apa pun, terutama biologi, farmasi, makanan, lingkungan, industri, dll. Prinsip aktif kromatografi jenis ini adalah adsorpsi. Pemisahan suatu senyawa bergantung pada interaksi antara senyawa polar dan nonpolar yang tersusun rapat di dalam kolom dan fasa berjalan. Dalam industri farmasi dan industri makanan, fase diam bersifat nonpolar dan fase gerak bersifat polar (Thammana, 2016).

#### **9.5.12 Kromatografi lapis tipis kinerja tinggi (Attimarad et al., 2011; Modi et al., 2016)**

Prinsip aktif kromatografi lapis tipis kinerja tinggi (HPTLC) adalah pemisahan molekul berdasarkan lapisan kinerja tinggi dengan deteksi dan akuisisi data. Dalam kromatografi ini, pelat pra-pelapis digunakan dengan ukuran partikel 5–7  $\mu\text{m}$  dan ketebalan lapisan 150–200  $\mu\text{m}$ . Kemanjuran pemisahan yang lebih baik bergantung pada pengurangan ukuran partikel. Ukuran partikel kecil meningkatkan efisiensi pelapisan.

### **9.5.13 Kromatografi laminar kinerja optimal (Bryson dan Papillard, 2004; Ingle dkk., 2017)**

Teknik ini dikaitkan dengan TLC dan HPTLC. Ini digunakan sebagai alat analitis dan preparatif dalam bidang penelitian sekaligus analitis. Ini adalah teknik pemisahan yang lebih efisien berdasarkan antarmuka yang ramah pengguna dan resolusi HPLC dengan kapasitas kromatografi flash dan KLT multidimensi.

Seperti teknik kromatografi lainnya, tekanan tinggi diterapkan pada fase gerak cair melalui fase diam, seperti silika atau media fase terikat (C8, C18, amino, siano, diol, dan penukar ion). Struktur kolomnya adalah tipe planar datar. Tekanan kolom yang digunakan sampai 50 bar dengan kecepatan linier konstan fase gerak oleh pompa.

Fitokimia tidak lain hanyalah sejumlah besar senyawa metabolik turunan indole, isoquinoline, dan tropane sekunder yang ditemukan pada tanaman. Berbagai senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan, telah diidentifikasi melalui berbagai metode deteksi, yang dibahas sebagai berikut dan ini merupakan alat penting dalam analisis senyawa bioaktif.

### **9.5.14 Spektroskopi inframerah transformasi Fourier**

Spektroskopi inframerah transformasi Fourier (FTIR) adalah instrumen penting untuk penjelasan gugus fungsi yang ada dalam ekstrak tumbuhan. Ini juga membantu dalam penentuan struktur konstituen aktif ekstrak turunan indole, isoquinoline, dan tropane (Hazra et al., 2007; Eberhardt et al., 2007). Teknik preparasi sampel FTIR berbeda. Sampel cair sekitar satu tetes ditempatkan di antara dua pelat natrium klorida. Satu tetes ini menghasilkan film tipis.

Kalium bromida (KBr) digunakan untuk analisis sampel padat. Kadang-kadang, metilen klorida juga digunakan untuk melarutkan sampel padat dan sejumlah kecil larutan kemudian dipindahkan ke pelat reflektansi total yang dilemahkan tinggi (HATR) dan persentase transmitansi dicatat dengan bantuan spektrum.

#### **9.5.15 Spektroskopi resonansi magnetik nuklir (Exarchou et al., 2001; Heyman dan Meyer, 2012; Schripsema, 2010)**

Resonansi magnetik nuklir (NMR) adalah salah satu alat berharga untuk pengukuran sifat fisik, kimia, dan biologis ekstrak tumbuhan turunan indole, isoquinoline, dan tropane. Ada dua jenis teknik analisis NMR yang digunakan untuk elusidasi struktur tumbuhan. Molekul tumbuhan dengan struktur rumit dapat dicapai melalui teknik NMR dua dimensi. Jika tidak, dalam kasus umum, teknik satu dimensi digunakan secara rutin. Untuk penjelasan struktur molekul zat padat, digunakan spektroskopi NMR keadaan padat. C-NMR digunakan untuk mengidentifikasi jenis karbon yang ada dalam suatu senyawa, sedangkan H-NMR digunakan untuk mencari sifat hidrogen suatu senyawa.

#### **9.5.16 Spektrometri massa (Altemimi et al., 2017; Kumar, 2017; Rammohan et al., 2016)**

Spektrometri massa (MS) adalah teknik paling populer dan ampuh untuk analisis kualitatif dan kuantitatif turunan indole, isoquinoline, dan tropane. Penerapan teknik ini adalah elusidasi struktur serta mengidentifikasi sifat fisik dan kimia turunan indol, isoquinoline, dan tropane. Berat molekul juga ditentukan dengan bantuan spektrometri massa. Alat ini banyak digunakan untuk elusidasi struktur senyawa organik, sequencing peptida atau oligonukleotida.

#### **9.5.17 Kadar yang terdapat pada makanan/tanaman**

Kehadiran fitokonstituen dalam makanan atau tanaman bergantung pada lokasi geografisnya. Misalnya, reserpin biasanya terdapat pada sekitar 0,10%–0,16% ekstrak alami. Selain hyoscyamine dan scopolamine, yang merupakan alkaloid tropane utama yang ditemukan di bagian hijau spesies *Datura*, berbagai alkaloid tropane lainnya juga ditemukan pada konsentrasi yang lebih rendah. Persentase alkaloid bervariasi antar spesies. Sekitar 30 alkaloid tropane berbeda telah ditemukan di seluruh jaringan (terutama akar) tanaman, kecuali kapsul dan bagian kayu pada akar dan batang beberapa spesies *Datura* seperti, *D. stramonium* var.

stramonium, D. stramonium var. godronii, D. ceratocaula, D. stramonium var. tatula, dll (Dey et al., 2020).

## DAFTAR PUSTAKA

- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. 2017. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4), 42.
- Attimarad, M., Ahmed, K. M., Aldhubaib, B. E., & Harsha, S. 2011. High-performance thin layer chromatography: A powerful analytical technique in pharmaceutical drug discovery. *Pharmaceutical methods*, 2(2), 71-75.
- Bele, A. A., & Khale, A. 2011. An overview on thin layer chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2), 256.
- Bhargavi, G., Nageswara Rao, P., & Renganathan, S. (2018, March). Review on the Extraction Methods of Crude oil from all Generation Biofuels in last few Decades. In *IOP conference series: materials science and engineering* (Vol. 330, p. 012024). IOP Publishing.
- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2023, May 21). *alkaloid*. *Encyclopedia Britannica*.  
<https://www.britannica.com/science/alkaloid>
- Bryson, N., & Papillard, D. 2004. An introduction to OPLC. *LC• GC Europe*, 2. Coskun, O. 2016. Separation techniques: chromatography. *Northern clinics of Istanbul*, 3(2), 156.
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., Dash, S., & Kim, H. S. 2020. Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 505-567.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00015-9>
- Eberhardt, T. L., Li, X., Shupe, T. F., & Hse, C. Y. 2007. Chinese Tallow Tree (*Sapium Sebiferum*) utilization: Characterization of extractives and cell-wall chemistry. *Wood and Fiber Science*, 319-324.
- Eiceman, G. A. 2006. Instrumentation of gas chromatography. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*.

- Exarchou, V., Troganis, A., Gerothanassis, I. P., Tsimidou, M., & Boskou, D. 2001. Identification and quantification of caffeic and rosmarinic acid in complex plant extracts by the use of variable-temperature two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(1), 2-8.
- Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives*, 109(suppl 1), 69-75.
- Garg, P., & Garg, R. 2019. Phytochemical screening and quantitative estimation of total flavonoids of *Ocimum sanctum* in different solvent extract. *Pharma Innov J*, 8(2), 16-21. Manske dan Holmes, 2014;
- Hazra, K. M., Roy, R. N., Sen, S. K., & Laskar, S. 2007. Isolation of antibacterial pentahydroxy flavones from the seeds of *Mimusops elengi* Linn. *African journal of Biotechnology*, 6(12).
- Heyman, H. M., & Meyer, J. J. M. 2012. NMR-based metabolomics as a quality control tool for herbal products. *South African Journal of Botany*, 82, 21-32.
- Huie, C. W. 2002. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 373, 23-30.
- Ingle, K. P., Deshmukh, A. G., Padole, D. A., Dudhare, M. S., Moharil, M. P., & Khelurkar, V. C. 2017. Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 32-36.
- Kirakosyan, A., Noon, K. R., McKenzie, M., Cseke, L. J., & Kaufman, P. B. 2016. Isolation and Purification of Metabolites. *Handbook of Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine*, 386-399.
- Knunyants I., Zefirov N. Sov. Entsikl.; Moscow: 1988. Chemical Encyclopedia.

- Kumar, B. R. 2017. Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). *Journal of pharmaceutical analysis*, 7(6), 349-364.
- Lewis, R. A. 1998. *Lewis' dictionary of toxicology*. CRC press.
- McNaught, A. D. 1997. *Compendium of chemical terminology* (Vol. 1669). Oxford: Blackwell Science.
- Ziegler, J., & Facchini, P. J. 2008. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 735-769.
- Modi, V., Bhatkar, S., & Prajapati, P. (2016). A REVIEW ON VARIOUS APPLICATIONS OF HIGH PERFORMANCE THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (HPTLC) IN PHARMACEUTICALS. *International Journal of Innovative Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(4), 384-407.
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115-119.
- Pravallika, S. (2016). Gas chromatography: a mini review. *Res. Rev. J. Pharm. Anal*, 5(2).
- Rammohan, B., Samit, K., Chinmoy, D., Arup, S., Amit, K., Ratul, S., ... & Tuhinadri, S. (2016). Human cytochrome P450 enzyme modulation by *Gymnema sylvestre*: a predictive safety evaluation by LC-MS/MS. *Pharmacognosy magazine*, 12(Suppl 4), S389.
- Rathore, K. S., & Pinky, G. (2012). An overview on ion exchange chromatography. *IJARPB*, 1(1), 55-64.
- Sasidharan, S., Darah, I., & Jain, K. (2008). In Vivo. and In Vitro. Toxicity Study of *Gracilaria changii*. *Pharmaceutical biology*, 46(6), 413-417.
- Schripsema, J. (2010). Application of NMR in plant metabolomics: techniques, problems and prospects. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 21(1), 14-21.
- Sherma, J., & Fried, B. (2005). Thin layer chromatographic analysis of biological samples. A review. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 28(15), 2297-2314.

- Singh, S. 2017. A review on paper chromatography. *J. Drug Disc. Therap*, 5, 23-25.
- Thammana, M. 2016. A review on high performance liquid chromatography (HPLC). *Res Rev J Pharm Anal RRJPA*, 5(2), 22-28.



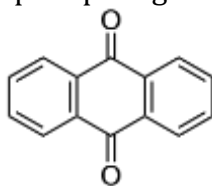
# BAB 10

## IDENTIFIKASI GOLONGAN ANTRAKUINON

*Oleh Ismail Marzuki*

### 10.1 Pendahuluan

Antrakuinon sering ditulis antrasenedion atau ada juga yang menulis dioxoantrasen. Penulisan tersebut didasarkan pada jenis tanaman sumber senyawa kimia ini. Antrakuinon merupakan golongan senyawa organik jenis aromatik dengan rumus  $C_{14}H_8O_2$ . Berdasarkan struktur molekulnya, antrakuinon mirip dengan antrasena yang teroksidasi, sehingga sering disebut sebagai turunan antrasena. Kuinon merupakan golongan senyawa organik merupakan turunan senyawa aromatik, seperti naftalena, benzena atau naftalena, dengan mengubah molekul metil  $-CH$  menjadi kelompok keton  $-C(=O)-$  dengan penataan ulang satu molekul aromatik, sehingga membentuk struktur dione siklik yang terkonjugasi. Golongan senyawa kuinon meliputi banyak senyawa jenis heterosiklik (IUPAC, 2014). Secara sederhana struktur molekulnya ilustrasikan seperti pada gambar 101.



**Gambar 10.1.** Struktur molekul antrakuinon  
(Sumber: IUPAC, 2014)

Antrakuinon memiliki beberapa isomer mencakup beberapa turunan kuinon, namun nama antrakuinon dipilih didasarkan pada isomer, 9,10-antrakuinon, sedangkan jika mengacu pada aturan penamaan Internasional IUPAC, ditulis dengan sebutan 9,10-dioxoanthracene, dimana terdapat gugus keto yang terletak pada

tengah siklik heksana dan diapit kiri dan kanan dengan molekul aromatik benzena (IUPAC, 2014; Setyawaty, 2014). Antrakuinon merupakan material alam sebagai salah satu komponen beberapa zat warna dan juga sering digunakan sebagai bahan pemutihan pulp pada industri kertas. Antrakuinon dijumpai sebagai padatan kuning, bentuk kristalin, sukar larut dalam air (sifat khas senyawa aromatik), sehingga mudah larut dalam pelarut organik keadaan panas dan juga pelarut basa. Sebagian kecil bagian yang dapat larut dalam etanol keadaan suhu rendah dan larut hanya 2,25 % dalam 100 ml etanol mendidih. Antrakuinon ditemukan di alam sebagai mineral hoelite. Antrakuinon, juga dapat ditulis dioxoantrasena dan juga dapat ditulis antrasenadion (Kang, dkk., 2017).

Antrakuinon pada dekade tahun 2000an mulai diproduksi baik dalam bentuk semi sintetis maupun sintetis, dilakukan dengan metode rekayasa kimiawi menyisipkan komponen atau molekul tertentu sebagai target yang menghasilkan senyawa sejenis antrakuinon sintetis. Biasanya hasil rekayasa kimiawi menghasilkan senyawa antrakuinon sintetis atau sebagai senyawa turunan antrakuinon yang memiliki sifat pewarna yang lebih kuat dibandingkan antrakuinon alaminya (Luo, dkk., 2016).

## **10.2 Identifikasi senyawa golongan Antrakuinon**

Antrakuinon dapat dikategorikan sebagai senyawa golongan glikosida, (Constantinou, 2003). Ciri fisik antrakuinon adalah senyawa berbentuk kristal memiliki titik leleh agak tinggi. Antrakuinon agak mudah mengalami hidrolisis. Senyawa ini dan turunannya umumnya ditemukan tampak berwarna kuning, ada juga warna merah sindur atau oranye. Identifikasi antrakuinon biasanya dengan mereaksikan dengan pereaksi Borntraeger, karena dapat memberikan hasil reaksi dengan warna khas. Jika antrakuinon direaksikan dengan larutan amonia ( $\text{HN}_3$ ), menghasilkan warna merah, sebagai petunjuk adanya senyawa antrakuinon dan warna kuning untuk turunan antrakuinon, berupa diantron dan antron. Antron adalah bagian dari turunan antrakuinon yang tidak mengalami oksidasi dari senyawa antrakuinon, sedangkan produk reaksi yang terdiri atas dua unit antron disebut diantron (Sindora, dkk., 2017).

Senyawa antrakuinon juga dapat diidentifikasi metode konvensional kualitatif menggunakan larutan basa 10% KOH terlarut dalam metanol. Metode identifikasi ini merupakan cara uji fitokimia terhadap antrakuinon. Cara identifikasinya, filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan larutan basa 10% KOH terlarut dalam methanol (Mirsyah, 2022). Jika tampak warna kuning atau kuning kecoklatan menunjukkan adanya komponen antrakuinon. Identifikasi komponen antrakuinon dalam suatu ekstrak dari simplisia dapat dilakukan menggunakan metode kromatografi jenis lapis tipis. Pada metode ini digunakan fase gerak berupa mix toluene-etil-asam asetat rasio (75 : 24 : 1) v/v yang sebelumnya telah dijenuhkan. Sedangkan fase diamnya menggunakan lempeng silika gel GF 254 nm, atau sebagai tempat untuk menotolkan sampel ekstrak. Metode ini dengan membandingkan nilai Rf dan RHf lalu dibandingkan dengan nilai yang sama zat murninya (Rudiyansyah, 2012; Mohanlall, dkk., 2011). Perhitungan nilai HRf dan Rf, menggunakan rumus.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempu zat pelarut}}{\text{jarak yang ditempu fase gerak}}$$

$$RHF = R_f \times 100$$

Terakuinon merupakan turunan antrakuinon yang merupakan golongan glikosida, dapat ditemukan pada daun mengkudu dengan nilai RHF antara 85 – 90 atau Rf pada range 0,80 – 0,92. Metode kualitatif untuk identifikasi antrakuinon menggunakan pereaksi basa KOH, amonia atau reaksi Borntraeger dan identifikasi metode kromatografi lapis tipis penting dilakukan, bertujuan untuk identifikasi awal. Jika hasil uji diduga mengandung antrakuinon, maka dapat dilakukan dengan kromatografi kertas untuk pemisahan dan mendapatkan komponen golongan antrakuinon mendekati murni berupa isolat (Sari, dkk., 2018a; 2018b).

Identifikasi senyawa antrakuinon termasuk golongan senyawa lainnya biasanya dimulai dengan ekstraksi. Metode ekstraksi cukup banyak, tinggal disesuaikan dengan target yang akan di capai, jenis sampel yang akan diekstraksi, termasuk pemilihan pelarut yang sesuai (Ulfah, dkk., 2018). Ekstraksi

merupakan aktivitas yang didasarkan pada pemahaman ilmiah bertujuan mengambil/ memisahkan senyawa tertentu dari tumbuhan, hewan maupun objek lainnya menggunakan pelarut yang sesuai. Aktivitas ekstraksi yang baik, tepat dan berhasil guna dapat dilakukan dengan persiapan yang matang. Mencapai hal tersebut, maka direkomendasikan untuk menguasai teknik-teknik ekstraksi dengan membaca beberapa buku referensi tentang ekstraksi, misalnya Parameter Standar Umum Ekstrak. Jika ekstraksi yang dilakukan objek tentang tumbuhan, maka hendaknya dilengkapi wawasan dengan membaca referensi tentang farmakope herbal (Ulfah, dkk., 2018)

Tahapan ekstraksi umumnya mengikuti alur , yaitu:

1. Seleksi tumbuhan untuk sampel dengan memperhatikan beberapa hal, antara lain: a) Ketepatan tumbuhan yang diperoleh, dapat dilakukan dengan melakukan determinasi pada tempat-tempat yang resmi, seperti pada pusat penelitian, pusat studi, maupun badan pemerintah; b) Usahakan sampel tumbuhan yang di ambil adalah berasal pada satu tempat, karena sampling pada tempat yang berbeda-beda dapat mempengaruhi kandungan kimia atau komposisi zat yang terkandung di dalamnya (Mutrikah, dkk., 2018)
2. Preparasi sampel/bahan, dilakukan dengan melaksanakan beberapa prosedur, diantaranya bahan dicuci, dikeringkan untuk menghilangkan kandungan air dan mencegah jamur atau parasit lainnya, lalu dicacah. Kandungan air tanaman berpotensi menyebabkan reaksi kimia/enzimatik sehingga rentan terbentuk senyawa baru. Stabilitas kandungan kimia tanaman saat dikeringkan tetap harus diperhatikan. Bahan yang sudah dicacah/dipotong, kemudian di oven dengan suhu yang agak rendah untuk menghindari rusaknya komponen kimia yang terkandung. Selanjutnya bahan diserbukkan. Setelah kering, kemudian permukaan sampel/bahan diperluas dengan cara diserbukkan, agar kontak dengan pelarut maksimal. Hal ini juga bertujuan untuk meningkatkan efektivitas ekstraksi (Purba, dkk., 2021).
3. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi; a). Pelarut yang digunakan harus sesuai tingkat kepolaran golongan senyawa yang menjadi

target. Pelarut dipilih tidak toksik, apalagi jika penelitian yang dilakukan untuk kepentingan pengobatan, sehingga pelarut yang digunakan umumnya golongan alkohol untuk menarik sebagian besar komponen kimia bahan, misalnya metanol, etanol. Penggunaan pelarut air untuk tujuan mendapatkan ekstrak komponen kimia polar atau dapat pula dengan model modifikasi campuran air-etanol perbandingan tertentu (Mirsyah, dkk., 2021).

4. Pemilihan metode, dapat dilakukan dengan cara konvensional dan modern. Metode konvensional, misalnya: maserasi, refluks, perkolasi dan soxhletasi. Soxhletasi merupakan salah satu metode pemisahan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia/zat padat, dilakukan dengan cara menyaring berulang menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ini lebih hemat dalam penggunaan pelarut dan potensi kerusakan jaringan bahan dapat diminimalkan karena tidak langsung terkena panas seperti metode refluks (Manek dkk., 2019).

Perkolasi salah satu metode ekstraksi mirip dengan maserasi. Kemudian serbuk simplisia dialiri pelarut yang baru (pelarut tidak mengalami siklus), sedangkan metode maserasi dilakukan dengan merendam serbuk bersama pelarut, dilakukan dengan cara serbuk simplisia direndam bersama dengan pelarut selama beberapa jam, tergantung kepadatan bahan, namun umumnya dilakukan dalam waktu 1x24 jam; 2x24 jam.... bahkan ada yang sampai dua pekan. Prinsip maserasi adalah pengalihan komponen kimia dalam bahan/simplisia ke pelarut karena perbedaan konsentrasi, sehingga maserasi biayanya dilakukan dengan perendaman 2 – 3 kali dan pelarut diganti dengan yang baru untuk memaksimalkan pengambilan komponen kimia dari simplisia (Sari, dkk., 2018a).

Ekstraksi metode modern dengan superkritikal karbondioksida menggunakan sonikator atau mungkin microwave. Keuntungan ekstraksi metode modern terletak pada proses pengerjaan/ekstraksinya lebih cepat karena menggunakan energi tinggi dan juga mengurangi limbah.

5. Tahap penyaringan. Hasil penyaringan 1, 2, 3, dan seterusnya, kemudian digabung menjadi satu lalu dihomologasikan dan

dikentalkan menggunakan Rotary evaporator jika pelarut yang digunakan adalah jenis yang mudah menguap seperti etanol, namun jika pelarut selain golongan alkohol, maka biasanya menggunakan metode Freeze dry. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk menentukan rendemen. Biasanya setelah diperoleh ekstrak kental, umumnya dilakukan standarisasi ekstrak, yang merupakan parameter kualitatif dan kuantitatif terhadap senyawa aktif atau senyawa yang memiliki sifat dan kandungan kimia yang khas (Marzuki, 2016).

Identifikasi golongan komponen kimia pada ekstrak dapat dilakukan dengan proses:

1. Metode kromatografi lapis tipis (KLT). Metode KLT umumnya memiliki komponen utama berupa fase diam, fase gerak, chamber, kontrol/pembanding, berupa Plat KLT silika gel F254 yang dilapisi senyawa fluorosence, sehingga ketika disinari dengan sinar UV 254 atau 366. Silika menghasilkan sinar berpendar sedangkan spot sampel meredam. Silika dapat berpendar akibat adanya fluorescence dan senyawanya redam. Penggunaan UV 366 memiliki mekanisme kerja, yaitu komponen kimia dapat berpendar jika mendapat sinar lalu sinar tersebut diserap dan silika akan redam. Prinsip kerjanya: Silika diaktifkan dengan cara dipanaskan, disiapkan fase gerak, lalu ditotolkan (.
2. Parameter identifikasi komponen kimia dengan menentukan nilai  $R_f$ , yaitu perbandingan jarak elusi spot sampel dengan jarak elusi fase gerak. Spot atau noda dapat divisualisasikan menggunakan sinar tampak UV, akibat terjadinya reaksi dari penyemprotan dan oksigen di udara.
3. Pemilihan fase gerak berdasarkan sifat kepolaran. Selain diujikan dengan pembanding, dapat pula dilakukan dengan uji golongan. Uji golongan biasanya dilakukan dengan mereaksikan plat KLT dengan reagen, sesuai golongan senyawanya. Beberapa uji golongan KLT yang biasa dilakukan, antara lain: golongan flavonoid menggunakan  $AlCl_3$  dan uap amoniak. Golongan Alkaloid menggunakan dragendorff, sedangkan golongan terpenoid biasanya menggunakan aldehyd asam sulfat dan untuk senyawa golongan Fenolik menggunakan  $FeCl_3$ . Penyimpanan

ekstrak hendaknya pada suhu dingin  $\pm 4^{\circ}\text{C}$  atau suhu yang lebih rendah (Mirsyah, dkk., 2022).

Identifikasi senyawa antrakuinon juga dapat dilakukan dengan menggunakan metode analisis menggunakan instrumen seperti Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS), adalah suatu metode analisis yang mengkombinasikan dua fitur, yaitu kromatografi gas dan spektrometri massa, bertujuan dalam mengidentifikasi komponen-komponen kimia yang berbeda dalam sampel uji (Kurnia, dkk., 2021). Aplikasi GC-MS mencakup deteksi komposisi obat, investigasi kejadian kebakaran, analisis pencemaran lingkungan, investigasi adanya bahan peledak, analisis komponen makanan termasuk rasa. Secara umum dapat dikatakan bahwa identifikasi menggunakan GC-MS adalah identifikasi komponen kimia dalam sampel yang tidak diketahui. GC–MS juga dapat digunakan dalam keamanan bandara untuk mendeteksi zat di bagasi atau pada manusia. Selain itu, teknologi GC-MS juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi jejak elemen dalam bahan yang sebelumnya sudah dianggap telah terurai dan sudah tidak dapat diidentifikasi lagi (Mirsyah, dkk., 2022).

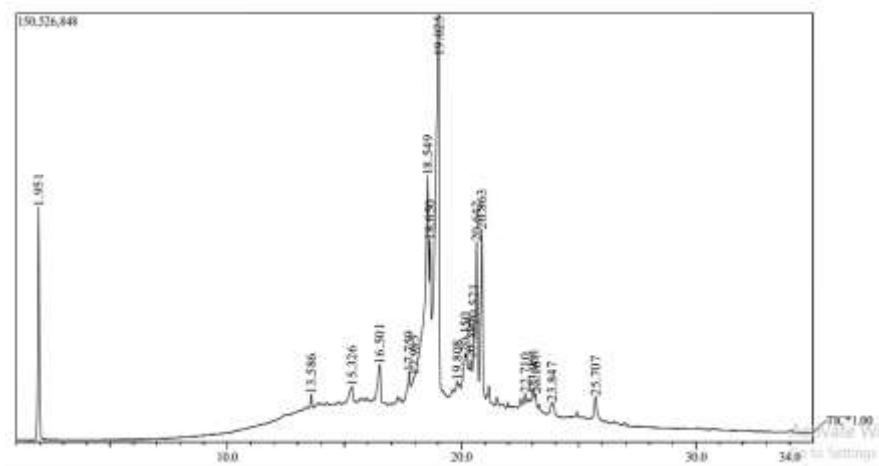
GC–MS sangat cocok digunakan untuk mengidentifikasi senyawa kimia dalam suatu simplisia seperti antrakuinon dalam suatu bahan seperti tanaman, serangga dan mikroorganisme. Aplikasi GC-MS dalam identifikasi komponen kimia kurang berhasil guna jika dioperasikan pada suhu tinggi di atas  $300^{\circ}\text{C}$ , yang digunakan saat injeksi pada port injeksi GC–MS, karena dapat menimbulkan degradasi termal terhadap molekul yang diinjeksi, akibatnya dapat menghasilkan pengukuran produk degradasi, dan bukan molekul sebenarnya dicari (Pratama, dkk., 2020).

Identifikasi senyawa antrakuinon dalam suatu sampel seperti tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia*) atau dengan nama lain *Morinda bruceata*. Tahapan identifikasi antrakuinon pada daun mengkudu dilakukan dengan diawali pengambilan sampel daun mengkudu yang sesuai, yakni daun matang dan sehat. Pengambilan sampel sebaiknya dilakukan pada pagi, sebelum matahari meninggi, yakni antara jam 09-11 pagi. Daun mengkudu dibersihkan, kemudian di keringkan pada suhu kamar. Setelah dianggap kering,

maka daun mengkudu di cacah, lalu ditimbang kira-kira 100 gram. Sampel tersebut di maserasi menggunakan 500 mL etanol 70 %. Maserasi dilakukan selama 5 hari. Setiap hari diaduk. Kemudian dipisahkan residu dan filtrat atau sering disebut ekstrak encer. Ekstrak encer mengkudu selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator, diperoleh ekstrak kental (Sindora,, dkk., 2017).

Tahapan selanjutnya adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan sifat polar. Karena antrakuinon termasuk senyawa non polar, maka digunakan pelarut non polar seperti dietil-eter, n-heksan, kloroform dan pelarut polar lainnya. Pada uraian ini, dipilih pelarut n-heksan. Dilakukan dengan memasukkan sejumlah  $\pm 1$  g, ekstrak kental ke dalam corong pisah, kemudian di masukkan 5 mL n-heksan, cikocok berulang sampai semua ekstrak dipastikan larut seluruhnya. Diamkan, hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas adalah pelarut n-heksan yang diperkirakan juga mengandung komponen kimia non polar termasuk antrakuinon. Ekstrak n-heksan ini siap di analisis menggunakan instrumen GC-MS (Mirsyah, dkk., 2022).

Running GC-MS akan menghasilkan kromatogram yang di dalamnya memberikan beberapa informasi, seperti waktu retensi (RT) setiap komponen yang terdeteksi, kelimpahan setiap komponen melalui tinggi puncak kromatogram, luas area komponen, persen area, tingkat kemiripan senyawa dan bahkan nama komponen kimia yang terekam. Setiap komponen kimia yang terekam memiliki berat molekul yang berbeda. Komponen dengan berat molekul rendah, memiliki RT yang rendah pula, sehingga pada kromatogram akan terlihat deretan komponen kimia berurut mulai dari RT terendah hingga RT tertinggi identik dengan BM rendah ke BM yang tinggi. Sedangkan tinggi puncak mengambarak kelimpahan komponen kimia tersebut dibandingkan dengan seluruh komponen yang ada. Tinggi rendahnya puncak menggambarkan tinggi rendahnya kelimpahan komponen kimia. Ilustrasi ini akan memberikan gambaran bahwa urutan tinggi puncak tidak tersusun berdasarkan BM, melainkan berdasarkan kelimpahan, Oleh karena itu kemungkinan tinggi puncak sangat bervariasi (Mirsyah, dkk., 2022; Marzuki, 2016). Detail dari uraian ini dapat dilihat pada kromatogram GC-MS berikut:



**Gambar 10.2.** Kromatogram ekstrak n-heksan Ketapang.

### 10.3 Sumber senyawa golongan antrakuinon

Turunan senyawa golongan kuinon adalah 1,4-benzokuinon atau dapat juga ditulis sikloheksadienon, dengan sebutan umum 'kuinon'. Contoh lain turunan kuinon adalah 1,2-benzokuinon, senyawa ini merupakan senyawa jenis ortho-kuinon, termasuk 1,4-naftokuinon dan 9,10-antrakuinon (Setyawaty, dkk., 2014).

Tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.) termasuk salah satu kelompok tanaman yang mengandung senyawa antrakuinon. Populasi lidah buaya sangat melimpah pada negara tropis dan subtropis termasuk Indonesia. Indonesia salah satu negara kepulauan dengan kekayaan flora sangat melimpah dan bervariasi, dimana terdapat ± 7.000 spesies dikategorikan tanaman berpotensi obat karena memiliki beragam khasiat. Keanekaragaman hayati tersebut, diikuti pula pula dengan keanekaragaman kimiawi seperti senyawa metabolit sekunder, salah satunya adalah kuinon. Isolasi komponen kimia yang diduga mengandung senyawa turunan kuinon telah banyak dilakukan. Metode ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi dengan pelarut tertentu sering menjadi pilihan untuk mendapatkan komponen kimia tertentu termasuk antrakuinon (Smitha & Vadivel, 2019).

Beberapa riset yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa isolat dari beberapa jenis tanaman, seperti mengkudu, aloe vera,

bisbul, termasuk tanaman *ceratothera triloba* dan *hedyotis caudatifolia* menunjukkan adanya aktivitas tampak pada teridentifikasinya respon positif terhadap bahan uji spesifik. Hasil ini menunjukkan bahwa tanaman-tanaman seperti disebutkan di atas mengandung senyawa antrakuinon atau golongan kuinon. Secara struktur terlihat bahwa kuinon merupakan turunan senyawa fenol yang memperlihatkan aktivitas farmakologis dan biologis diantaranya diantaranya sebagai antimalaria, antibakteri, antijamur, antikanker dan antioksidan (Mutrikah, Santoso, & Syauqi, 2018). Kuinon dibagi dalam 4 kelompok yaitu; naftokuinon, benzokuinon, antrakuinon, dan kuinon golongan isoprenoid (Kamaruddin, dkk., 2021; Setyawaty, dkk., 2014).

Identifikasi kelompok senyawa kuinon pada suatu tanaman dapat dilakukan dengan proses pemisahan komponen menggunakan pelarut tertentu berdasarkan kesamaan kepolaran atau dikatakan metode fraksinasi. Metode fraksinasi yang sering dilakukan adalah kromatografi. Kromatografi cair datar diantaranya KLT dan KKT atau kromatografi yang menggunakan kolom seperti KKG dan KCV sering menjadi pilihan untuk memperoleh ekstrak dari tanaman yang diduga mengandung komponen kimia golongan antrakuinon (Emelda, dkk., 2022).

Indonesia sangat kaya tumbuhan obat, termasuk tanaman yang diduga mengandung senyawa golongan kuinon dan turunannya, seperti naftokuinon dan antrakuinon. Hasil identifikasi pada *Hedyotis cauda tifolia* diyakini mengandung senyawa turunan kuinon, yaitu jenis antrakuinon. Demikian pula pada tanaman Lidah Buaya, mengkudu juga mengandung senyawa antrakuinon. Kelompok senyawa kuinon lainnya ditemukan pada bisbul yang diduga mengandung naftokuinon. Skrining fitokimia senyawa kuinon dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi NaOH (Burhan, dkk., 2021; Priastomo, dkk., 2021).

Isolasi senyawa kuinon dan turunannya dari berbagai tanaman didasarkan pada berbagai aktivitas biologis dan farmakologis yang ditunjukkan dan sebagai informasi penting bagi kehidupan manusia, sehingga pada tanaman yang telah diidentifikasi mengandung senyawa golongan kuinon diharapkan dapat dieksplorasi lebih dalam agar memberikan kontribusi bagi

kehidupan yang memungkinkan dapat diolah untuk menghasilkan material bahan baku obat tertentu baik sebagai herbal maupun sebagai obat lainnya (Marzuki, 2019).

Tumbuhan idat merupakan salah satu tumbuhan yang telah diidentifikasi memiliki khasiat obat khususnya jenis herbal alami. Tumbuhan ini dikenal oleh masyarakat di Bangka Belitung dengan nama lokal pucuk idat. Pucuk idat termasuk dalam famili Hypericaceae, umumnya hidup dirawa atau pada genangan air dan dataran rendah (Gabriela, dkk., 2020). Tanaman ini juga dapat ditemukan di hutan pada beberapa daerah di kepulauan Bangka Belitung. Karakterisasi senyawa antrakuinon dari ekstrak tanaman Idat, yang difraksinasi menggunakan tiga eluen yang berbeda, menggunakan sistem pelarut rasio etil asetat : n-heksan : metanol (8 : 2 : 0,5). Pada kromatogram dengan metode KLT, menunjukkan senyawa A ditunjukkan pada fraksi A dan fraksi B menunjukkan karakter adanya senyawa antrakuinon. Identifikasi senyawa antrakuinon yang dilakukan dengan penggunaan pereaksi NaOH 10%, menunjukkan bahwa pada fraksi A dan B, masing-masing mengandung senyawa antrakuinon. Identifikasi ini diperkuat dengan kromatogram yang tampak pada FT-IR, menunjukkan bahwa senyawa antrakuinon terdapat pada ekstrak tanaman Idat (Baud, dkk., 2014).

Jenis tanaman lainnya yang juga diduga mengandung senyawa golongan kuinon adalah Mengkudu. Bagian tanaman mengkudu yang memiliki kemampuan mengobati penyakit, bahkan diduga mampu mencegah beberapa jenis penyakit apabila rutin mengkonsumsi buah tanaman ini. Beberapa literatur menjelaskan bahwa daun mengkudu juga memiliki berkhasiat obat. Daun mengkudu teridentifikasi mengandung senyawa antrakuinon yang memiliki fungsi sebagai anti kanker dan anti bakteri. Identifikasi komponen antrakuinon pada mengkudu dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (Marzuki, 2019). Sampel yang diekstraksi adalah daun mengkudu tua dan kering dengan terlebih dahulu dicacah hingga halus. Sampel bobot  $\pm 75$  gram. Sampel ini selanjutnya diekstrak menggunakan 100 mL etanol 96% dalam Erlenmeyer tertutup dan dishaker selama 5 hari. Filtrat diambil setiap hari dilakukan secara manual cara pemerasan. Setiap

pemerasan juga di lakukan penggantian pelarut untuk memaksimalkan pemisahan komponen target (Burgos, dkk., 2020).

#### **10.4 Sintesis senyawa golongan antrakuinon**

Antrakuinon dapat diperoleh dengan cara semisintetis atau juga sintesis. Sintesis anrtakuinon dilakukan melalui reaksi reaksi Diels-Alder dan asilasi Friedel-Crafts dengan penambahan katalis spesifik yang sesuai. Reaksi Diels-Alder, dengan mereaksikan senyawa 1,4-naftakuinon dan 1,3-dien yang diikuti dehidrogenasi, diperoleh antrakuinon. Pada sintesis senyawa turunan antrakuinon ini, yang dilakukan dengan menggunakan ftalat anhidrida dan juga vanilil alkohol melalui reaksi asilasi Friedel-Craft dan penambahan katalis BF<sub>3</sub> (Jumiarni, dkk., 2017).

Sintesis antrakuinon metode reaksi asilasi Friedel-Craft dilakukan secara refluks pada suhu 95 0C. Selama reaksi berlangsung dilakukan pengadukan kontinu selama 4 jam. Setiap 1 jam pengadukan produk sintetik antrakuinon dianalisis menggunakan metode KLT setiap jam. Produk yang dihasilkan, selanjutnya diekstraksi dengan etil asetat (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>COOH), lalu dimurnikan dengan menggunakan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG), kemudian analisis dilanjutkan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Isolat antrakuinon yang dihasilkan diidentifikasi secara fitokimia sederhana dengan menggunakan reagen semprot KOH 10%. Biasanya produk isolat yang diperoleh berupa zat bubuk berwarna kuning dengan bobot ± 0,6 mg atau setara dengan rendemen ± 0,21 %. Pada uji fitokimia menggunakan plat KLT dan reagen penyemprot berupa larutan KOH 10 %, produk tampak berwarna jingga keunguan, sebagai diindikasikan senyawa turunan antrakuinon (Mirsyah, dkk., 2022).

Antrakuinon merupakan golongan senyawa turunan aromatik didasarkan pada struktur molekul sebagai 9,10-anthracenedione. Umumnya antrakuinon di alam merupakan zat pigmen pada yang banyak dijumpai pada serangga, jamur, bakteri dan beberapa jenis tumbuhan. Senyawa antrakuinon sudah dikenal sejak dahulu, karena memang populasi tumbuhan yang mengandung senyawa ini cukup banyak demikian pula bahwa senyawa antrakuinon dapat dijumpai pada serangga dan pada

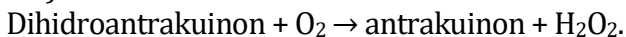
mikroorganisme (Rudiyansyah, dkk., 2012). Sintesis antrakuinon didorong oleh pemanfaatan yang luas, khususnya pemanfaatan sebagai bahan pewarna dan juga dapat digunakan dalam pengobatan. Pengobatan tradisional menggunakan tanaman yang mengandung antrakuinon umumnya dilakukan dengan seduhan dan rebusan apabila materialnya berupa batang, kulit dan daun (Ulfah, dkk., 2018).

Terdapat beberapa model sintesis yang potensial sebagai produk perindustrian untuk menghasilkan 9,10-antrakuinon, misalnya reaksi oksidasi antrasena dengan bahan pengoksidasi berupa kromium(VI). Reaksi irreversibel Friedel-Crafts antara benzena dengan anhidrida ftalika, dan  $\text{AlCl}_3$  sebagai katalisator, dapat menghasilkan produk antara berupa o-benzoil benzoat (Kurnia, dkk., 2021). Reaksi ini harus disetting sedemikian rupa dengan memodifikasi tekanan, temperatur dan pelibatan katalis, sehingga reaksi berlangsung dalam satu arah menuju ke produk. Rekayasa kondisi reaksi dilakukan bertujuan untuk menghasilkan produksi target berupa antrakuinon (Sari, dkk., 2018a).

Reaksi irreversibel metode Diels-Alder untuk menghasilkan antrakuinon menggunakan bahan utama berupa naphthoquinone dan butadiena diikuti reaksi dehidrogenasi oksidatif. Pembentukan dimerisasi stirena yang memungkinkan dilangsungkan dalam suasana asam agar diperoleh zat antara 1,3-diphenylbutane. Sintesis antrakuinon juga dapat dilakukan dengan metode Rickert-Alder, sebuah respon atas reaksi atau proses retro-Diels-Alder (Ulfah, dkk., 2018).

Beberapa turunan antrakuinon yang merupakan isomer berbeda dengan antrakuinon telah berhasil disintesis, seperti 1,2-, 1,4- dan 2,6-antrakuinon. Meskipun produk turunan antrakuinon ini memiliki pemanfaatan yang masih terbatas. Produk turunan antrakuinon ini merupakan cara sintesis yang umum, dan tergolong sederhana karena hanya dengan mensubstitusi satu atau lebih atom hidrogen dengan atom lain, sehingga dihasilkan produk turunan yang mana, produk sintesis turunan dari antrakuinon ini memiliki peran dan kegunaan yang luas dalam kehidupan masyarakat (Marzuki, 2016).

Antrakuinon adalah reaksi redoks, dengan mekanisme tidak dapat balik. Reaksi ini dapat terjadi ditandai dengan adanya perpindahan elektron. Antrakuinon dapat mengoksidasi polisakarida pada rantai ujung sehingga terjadi penurunan konsentrasi polisakarida dalam pulpa, yaitu berupa selulosa dan hemiselulosa, yang merupakan zat yang dapat terdegradasi alkali (Sari, dkk., 2018b). Antrakuinon berupa 9,10-dihidroksi antrasena. Senyawa ini dapat bereaksi dengan lignin, sehingga lignin tersebut terdegradasi, menyebabkan kelarutan dalam air dapat ditingkatkan, sehingga semakin mudah membersihkan dibandingkan pulpa, karena kadar lignin yang rendah. Proses ini memberikan peningkatan hasil dan sekaligus menekan terbentuknya pulpa dalam range sempit 1–3%. Aplikasi industri senyawa golongan kuinon dapat digunakan untuk memproduksi hidrogen peroksida. Reaksi yang terjadi adalah 2-Alkyl Anthraquinone dihidrogenasi menghasilkan hidroquinon atau juga disebut quinizarins, kemudian mentransfer molekul  $H_2$  membentuk reaksi dengan oksigen (Luo, dkk., 2016).



Cara ini, memberi manfaat beberapa miliar kilogram  $H_2O_2$  diproduksi setiap tahunnya. Turunan kuinon juga merupakan molekul biologis aktif yang sudah umum dikenal. Antrakuinon dapat berfungsi sebagai akseptor elektron dalam rantai transpor elektron seperti pada proses fotosintesis yang kemudian disebut plastokuinon atau filokuinon yang berlangsung sebagai reaksi respirasi aerobik. Filokuinon yang dihasilkan juga dikenal sebagai Vitamin K1, mirip dengan yang digunakan oleh hewan untuk membantu membentuk protein tertentu. Proses ini terjadi pada reaksi pembekuan darah, pembentukan tulang, dan proses sejenis lainnya (Mohanlall, dkk., 2011).

## **10.5 Kegunaan senyawa golongan antrakuinon**

Antrakuinon merupakan elemen antioksidan stabil yang memiliki sifat pembawa warna, umumnya warna kekuningan atau kadang kehijauan dan sebagian melaporkan berwarna keunguan. Elemen warna ini sudah lazim dimiliki berbagai jenis tanaman dan

juga buah. Senyawa umumnya diekstraksi untuk tujuan pemanfaatan pewarna tekstil (Manek, dkk., 2019).

Antrakuinon bahan pewarna, juga dapat digunakan dalam pelunturan pulpa pada industri pembuatan kertas. Antrakuinon merupakan sediaan kuning, bentuk hablur, sangat sedikit bagian yang dapat larut dalam air, namun larut baik meskipun tidak sempurna jika digunakan pelarut organik yang digunakan dalam keadaan panas. Pada industri kertas 9,10-Antrakuinon digunakan sebagai material tambahan untuk menghambat terbentuknya pulpa kertas melalui proses reaksi alkali seperti kraft, sulfit beralkali atau dengan Soda-AQ (Pattola, dkk., 2020). Kegunaan antrakuinon sudah sangat luas, baik pemanfaatan dalam bidang farmasi, industri, maupun sebagai reagen pada reaksi kimia tertentu. Beberapa kegunaan antrakuinon yang sudah banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari, antaranya:

### ***Antrakuinon sebagai obat***

Kuinon alami maupun sintetik menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologi, bahkan beberapa turunan lainnya menunjukkan aktivitas anti tumor. Hal ini menyebabkan antrakuinon banyak klaim sebagai obat herbal untuk obat golongan pencahar (sennosides), antimikroba dan antiparasit (Marzuki, dkk., 2021).

### ***Pewarna alami***

Banyak pewarna baik alami maupun buatan. Antrakuinon yang diperoleh dari tanaman dapat digunakan sebagai pewarna alami karena merupakan pigmen pembawa sifat warna kuning hingga ungu (Zaman, dkk., 2020).

### ***Reagen dalam kimia organik***

Senyawa benzokuinon dalam kimia organik sebagai agen pengoksidasi. Golongan kuinon yang merupakan pengoksidasi kuat misalnya 2,3-dikloro-5,6-dicyano-1,4-benzokuinon, dikenal sebagai DDQ dan chloranil. Kedua jenis zat ini selain dimanfaatkan dalam sejumlah industri, senyawa antrakuinon alami lazim digunakan

dalam beberapa terapi pengobatan modern dan pengobatan herbal (Marzuki, 2016).

### ***Membantu Kinerja Pencernaan***

Antrakuinon diketahui mampu mengatasi masalah konstipasi dan fungsi laksatif, sehingga membantu memperbaiki komposisi bakteri sehat pada sistem pencernaan. Memiliki kemampuan menarik lebih banyak air masuk ke dalam feses. Manfaat lain antrakuinon yang berkaitan dengan pencernaan yakni mampu mengaktifkan gerakan peristaltik dari usus yang membantu mendorong terjadinya gerakan sisa makanan dan feses (Manek, dkk., 2019).

### ***Sebagai Anti Inflamasi***

Senyawa antrakuinon dapat difungsikan sebagai senyawa anti inflamasi, karena kemampuannya relatif kuat untuk membantu melawan serangan bakteri patogen dan jamur. Senyawa antrakuinon juga diketahui dapat meningkatkan kinerja sel T dan sel B untuk imunitas tubuh yang penting dapat membantu melawan infeksi. Senyawa antrakuinon juga dapat mempengaruhi kinerja metabolisme tubuh, kinerja sistem regeneratif sel, dapat melindungi sistem pernapasan (Burhan, dkk., 2021).

### ***Membantu Mengatasi Arthritis***

Antrakuinon memiliki kemampuan meredakan nyeri sendi. Memiliki kinerja sebagai anti inflamasi dan membantu proses perbaikan sel. Beberapa kemampuan dari antrakuinon sebagai bahan obat, sehingga banyak ditemukan produk herbal yang diekstrak dari lidah buaya sebagai bahan pengobatan (Mutrikah, dkk., 2018).

Antrakuinon pada lidah buaya dapat membantu memperbaiki kerusakan sendi arthritis. Kemampuan kompleks antrakuinon dapat penyembuhan luka dan peradangan. Senyawa antrakuinon juga diketahui efektif mengatasi terbentuknya peradangan pada usus dan lambung (Sari, dkk., 2019).

### ***Zat Anti Kanker***

Senyawa antrakuinon juga diketahui dapat meningkatkan kinerja sel T dan sel B. Kemampuan ini mengakibatkan fungsi imunitas tubuh meningkat, sehingga dapat digunakan dalam pembentukan sel kanker

Senyawa antrakuinon, selain memiliki banyak manfaat terutama sebagai pewarna alami dan juga fungsi obat, ternyata ditemukan gejala efek samping terhadap tubuh dari antrakuinon (Emelda, dkk., 2022).

### ***Bagaimana dengan Efek Samping Antrakuinon?***

Senyawa antrakuinon dicurigai memiliki sejumlah risiko terhadap kesehatan. Efek samping antrakuinon diduga berkaitan dengan perubahan metabolisme tubuh, sehingga dapat dirasakan bila senyawa ini dikonsumsi dalam dosis dan komposisi yang tidak sesuai peruntukannya.

Efek samping terhadap kesehatan tubuh dari senyawa antrakuinon khususnya untuk senyawa ini yang dihasilkan secara sintetik. Antrakuinon sintetis atau buatan yang didapat dari proses reaksi kimia dipastikan memiliki dampak negatif terhadap kesehatan (Constantinou, dkk., 2003).

Ada efek samping senyawa antrakuinon dikhawatirkan memiliki dampak kurang baik terhadap tubuh karena diduga dapat memicu masalah terkait dengan fungsi dan kinerja hati termasuk tekanan terhadap fungsi ginjal. Dugaan ini dicemaskan karena dapat memicu terjadinya inflamasi pada ginjal dan hati. Dugaan ini didasarkan pada kinerja senyawa antrakuinon dalam menarik air ke dalam sistem pencernaan, sehingga dapat menyebabkan ketidakseimbangan elektrolit tubuh (Purba, dkk., 2021)

Jika keseimbangan cairan elektrolit dalam tubuh terganggu, maka aliran air menuju ke sistem ekskresi dan penyaringan pada ginjal juga dapat terganggu, akibatnya dapat menyebabkan terbentuknya senyawa toksik serta menumpuknya residu metabolisme tubuh yang seyogyanya dikeluarkan dari tubuh melalui urin, namun mungkin tidak terjadi melainkan dapat terendap dalam ginjal (Burgos, dkk., 2020).

## DAFTAR PUSTAKA

- Baud, Grace S., Sangi, Meiske S., & Koleangan, Harry S. J. 2014. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol batang tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains*, 14 (2), 106. <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/JIS/article/view/6065/5627>
- Burgos, F., Gabriela, J., Rosado, A., Jos, dkk., 2020. Anthelmintic Activity of Extracts and Active Compounds from Diospyros anisandra on Ancylostoma caninum, Haemonchus placei and Cyathostomins. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 675. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.565103>
- Burhan, A., Kamaruddin, M., Ahmad, R., Marzuki, I., & Misriyani. 2021. Anticancer and Cytotoxic Potentials of Vernonia amygdalina Delile on WiDr Cell Lines. *Phytopharmacol. Res. J.* 1(1), 1-7 . [http://repository.unimus.ac.id/5394/1/2021NOv\\_Anticancer%2Band%2BCytotoxic%2BPotentials](http://repository.unimus.ac.id/5394/1/2021NOv_Anticancer%2Band%2BCytotoxic%2BPotentials)
- Constantinou, A. I., Mehta, R., & Husband, A. 2003. Phenoxodiol, a novel isoflavone derivative, inhibits 7,12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA)-induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *European Journal of Cancer*, 39, 1012-1018
- Emelda, A., Sukmawati, Dongke, A. L., & Marzuki, I. 2022. Anti-Inflammatory Activity of Water Extract of Talinum paniculatum. (Jact). Gaertn Leaves on Wistar Rat . *IOP Conf. Series: Earth and Env. Science*, 1041, 012073. 10.1088/1755-1315/1041/1/012073
- Gabriela, Michella, C., Rawung, Dekie, & Ludong, & Maya, M. 2020. Pengaruh Penambahan Maltodekstrin pada Pembuatan Minuman Instan Serbuk Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Buah Pala (*Myristica fragrans* H.). *Cocos*, 7(7), 1-8 <https://doi.org/10.35791/cocos.v7i7.31313>

- International Union of Pure and Applied Chemistry (2014). *Nomenclature of Organic Chemistry: IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013*. The Royal Society of Chemistry. m/s. 724. doi:10.1039/9781849733069. ISBN 978-0-85404-182-4.
- Jumiarni, Wa Ode & Komalasari, O. 2017. Inventory of Medicines Plant as Utilized by Muna Tribe in Kota Wuna Settlement. *Majalah Obat Tradisional*, 22(1), 45-56. <https://www.neliti.com/publications/180824/inventory-of-med>
- Kamaruddin, M., Marzuki, I., Burhan, A., & Ahmad, R. 2021. *Screening acetylcholinesterase inhibitors from marine-derived actinomycetes by simple chromatography*, *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 679, 012011. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/679/1/012011>
- Kang, S., Zhao, X., Yue, L., & Liu, L. 2017. Main anthraquinone components in Aloe vera and their inhibitory effects on the formation of advanced glycation end-products. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13160. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13160>
- Kurnia, K. A., Widyatamaka, S. Q., Paujiah, S., & Prayuda, E.M. 2021. Isolasi senyawa turunan kuinon dari tanaman. *Syntax Idea*, 3, (6) 1361-1369. <https://doi.org/10.46799/syntax-idea.v3i6.1275>.
- Luo, P., Su, J., Zhu, Y., Wei, J., Wei, W., & Pan, W. 2016. A new anthraquinone and eight constituents from *Hedyotis caudatifolia* Merr. et Metcalf: isolation, purification and structural identification. *Natural Product Research*, 30(19), 2190-2196. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1160231>
- Manek, M. N., Boro, M. T., & Ruma, M. T. L. 2019. Identifikasi Jenis-Jenis Tumbuhan Berkhasiat Obat Di Desa Lookeu Kecamatan Tasifeto Barat Kabupaten Belu. *Jurnal Biotropikal Sains*, 16(1), 64-77. file:///C:/Users/asus/Downloads/1246-Article%20Text-1941-1-10-20190722%20(1).pdf

- Marzuki, I., Vinolina, N. S., Harahap, R., dkk. 2021. *Budidaya Tanaman Sehat secara Organik*, Medan, Sumatera Utara: Yayasan Kita Menulis
- Mirsyah, M., Marzuki, I., & Gala, S. 2022. Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Daun Katapangg (*Terminalia catappa*) Berdasarkan Perbandingan Metode Ekstraksi. *Al-Kimia*, 10(1), 70-83. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v10i1.25457>
- Mohanlall, Viresh, Steenkamp, Paul, & Odhav, B. 2011. Isolation and characterization of anthraquinone derivatives from *Ceratotheca triloba* (Bernh.) Hook. f. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), 3132-3141. <http://www.academicjournals.org/JMPR>
- Mutrikah, Mutrikah, Santoso, Hari, & Syauqi, A. 2018. Profil Bioaktif pada Tanaman Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dan Beluntas (*Pluchea indica* Less). *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 4(1), 15-21. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v4i1.143>
- Pattola, Nur, A., Atmadja, T. F., dkk. 2020. *Gizi, Kesehatan dan Penyakit*. Medan, Sumatera Utara: Yayasan Kita Menulis,
- Pratama, I., Purwitasari, I., Marzuki, & Mercy. 2020. Biosynthesis And Characterization of Silver Nanoparticles Using Cacao (*Theobroma cacao* L) Skin Extract. *Marina Chimica Acta*, 13(2), 73-78. <https://doi.org/10.20956/ica.v13i2.11602>
- Priastomo, Y., Sitorus, E., Widodo, D., dkk. 2021. *Ekologi Lingkungan*, Medan, Sumatera Utara: Yayasan Kita Menulis,
- Purba, D. H., Marzuki, I., Dailami, M. dkk. 2021. *Biokimia*. Medan, Sumatera Utara: Yayasan Kita Menulis,
- Rudiyansyah, Lang, CL., Gusrizal & Alimuddin, A. H. 2012. Senyawa antrakuinon yang bersifat antioksidan dari kayu akar tumbuhan mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Bulletin of the Indonesian Society of Natural Product Chemistry*, 12(1), 9-13.
- Sari, Novita, Apridamayanti, Pratiwi, & Sari, R. 2018a. Penentuan Nilai MIC Ekstrak Etanol Kulit Lidah Buaya (*Aloe vera* Linn) Terhadap Isolat Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Resisten Antibiotik. *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains*, 7(2), 219-232. <https://doi.org/10.31571/saintek.v7i2.1062>

- Sari, Rafika, Apridamayanti & Pratiwi. 2018b. Penentuan Nilai FICI Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* (L.) Burm. f) dan Gentamisin Sulfat Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 4(3), 132-142. <https://doi.org/10.7454/psr.v4i3.3695>
- Setyawaty, Ismunandar1, & Ngaeni, ANQ. 2014. *Identifikasi Senyawa Antraquinon pada Daun Mengkudu (Morinda citrifolia L) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis*. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian LPPM UMP, ISBN 978-602-14930-3-8
- Sindora, Gloria, Allimudin, A. H. & Harlia. 2017. Identifikasi Golongan Senyawa Antraquinon Pada Fraksi Kloroform Akar Kayu Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, L). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(1), 37-41. file:///C:/Users/asus/Downloads/17979-52998-1-PB.pdf
- Smitha, V. & Vadivel, V. 2019. Phytochemical screening for active compounds in *Ceratopteris thalictroides* (L.) Brogn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3), 3556-559. <https://www.phytojournal.com/archives/2019.v8.i3.8568/phytochemical-screening-for-active-compounds-in-ltemgtceratop>
- Ulfah, Sulistiana, Alimuddin, A. H., & Wibowo, M. A., 2018. Sintesis Senyawa Turunan Antraquinon Menggunakan Vanilil Alkohol Dan Ftalat Anhidrida. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(2), 25-32  
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/25067>
- Zaman, N., Purba, D. W., Marzuki, I dkk., 2020. *Ilmu Usaha Tani*, Medan, Sumatera Utara: Yayasan Kita Menulis



## BIODATA PENULIS



**Apoteker, Noveri Rahmawati, S.Si., M.Farm.**

Dosen Program Studi Farmasi

Fakultas MIPA dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Riau

Penulis lahir di Pekanbaru tanggal 10 November 1977. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Farmasi Fakultas MIPA dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau. Menyelesaikan pendidikan S1 dan S2 pada Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang. Saat ini Penulis menempuh Pendidikan Doktor Farmasi di Universitas Andalas Padang, dengan konsentrasi Biologi Farmasi. Penulis menekuni penelitian *drug discovery* dari genus *Uncaria* dan melakukan pengujian aktivitas antikankernya.

## **BIODATA PENULIS**



### **Karmilah, S. Farm., M. Si**

Staf dosen D3 Farmasi Politeknik Bina Husada Kendari

Karmilah lahir di Lendeo tanggal 13 Desember 1985. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi D3 Farmasi Politeknik Bina Husada Kendari sejak tahun 2012 hingga sekarang. Sejak tahun 2013, Penulis aktif dalam menulis artikel ilmiah nasional dan internasional dalam bidang penelitian Farmakologi dan Farmasi bahan alam, dan hingga saat ini penulis bertanggungjawab dan sebagai koordinator pada penyusunan Modul Praktikum Farmasi Bahan Alam di Lingkup Politeknik Bina Husada Kendari. Sejak tahun 2022 penulis juga aktif menulis Buku kolaborasi ber ISBN bidang Farmakologi dan Bahan Alam. Hingga saat ini penulis telah memperoleh 6 HKI dari Penulisan Buku Ber ISBN.

## BIODATA PENULIS



**Nur Rezky Khairun Nisaa, S. Farm., M. Si**  
Dosen Universitas Mulawarman

Lahir di Kota Kendari tanggal 10 Desember 1993. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 Ilmu Farmasi di Universitas Muslim Indonesia (2015) kota Makassar kemudian melanjutkan pendidikan jenjang S2 di Universitas Hasanuddin Makassar (2020) di Fakultas Farmasi dengan peminatan Herbal Medicine.

Saat ini penulis merupakan salah satu dosen di Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman sejak tahun 2022 dengan bidang keilmuan Biologi Farmasi. Penulis berfokus dalam bidang pencarian dan pengembangan obat tradisional, farmakognosi, fitokimia dan beberapa kali terlibat dalam penelitian tanaman obat tradisional yang salah satunya telah dimuat dalam buku "Penerapan Teknologi Tepat Guna Pembuatan Kapsul Herbal Terstandar Mahoni Sebagai Kandidat Antidiabetes".

Email Penulis: nrkhairunnisaa77@farmasi.unmul.ac.id

## BIODATA PENULIS



**Wiwit Denny Fitriana, M.Si.**

Dosen Program Studi Matematika

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Pesantren Tinggi Darul Ulum

Penulis menyelesaikan studi Sarjana dan Magister Kimia di Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Penulis merupakan peneliti di bidang Kimia Organik Bahan Alam yang berguna untuk kesehatan dan obat tradisional. Produk riset yang telah dihasilkan dan mendapat perlindungan Hak Kekayaan Intelektual (HKI) diantaranya Jamu Post Partum (setelah melahirkan) dan Jam tangan kesehatan untuk Haji dan Umroh. Selain itu hasil riset juga telah dipublikasikan baik pada seminar internasional, jurnal internasional bereputasi dan jurnal nasional. Penulis juga mendapatkan berbagai penghargaan sebagai Dosen Berprestasi dan Dosen Berinovasi oleh Rektor Unipdu. Penulis dapat dihubungi melalui email [wiwitdenny@mipa.unipdu.ac.id](mailto:wiwitdenny@mipa.unipdu.ac.id)

## BIODATA PENULIS



**Hasrawati Bahar, S.Si., M.Pd.**

Dosen Program Studi Kimia  
Universitas Syekh Yusuf Al Makassar Gowa

Penulis lahir di Ujung Pandang tanggal 04 Februari 1987. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Kimia, Universitas Syekh Yusuf Al Makassar Gowa. Menyelesaikan pendidikan D3 pada Akademi Kimia Analisis Bogor (AKA Bogor) Tahun 2009, melanjutkan Program S1 pada Jurusan Kimia Sekolah Tinggi MIPA Bogor (STMIPA Bogor) Tahun 2012 serta melanjutkan S2 pada Pendidikan Kimia Universitas Negeri Makassar (UNM) Tahun 2018. Penulis menekuni bidang menulis dimulai Tahun ini yaitu tahun 2023 dengan Judul karya Cell and Metabolism, Dan Buku ini selanjutnya adalah karya Kedua nya.

Menjadi Orang yang bermanfaat dan memberikan efek positif bagi orang lain /masyarakat adalah harapannya. Beribadah adalah tujuan Hidupnya.

Demikian Riwayat Hidup penulis untuk sekedar diketahui, semoga bermanfaat.

## **BIODATA PENULIS**



**Jefry Wijaya, S.Pd., M.Si.**

Dosen Program Studi Pendidikan Kimia  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Pattimura

Penulis lahir di Ambon tanggal 7 Juni 1991. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pattimura. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Program Studi Pendidikan Kimia, Universitas Pattimura dan melanjutkan S2 pada Jurusan Kimia, Institut Teknologi Bandung. Penulis menekuni bidang kimia organik bahan alam. Sejak tahun 2018 penulis aktif mengajar pada mata kuliah Kimia Organik 1, Kimia Organik 2, Kimia Organik Lanjut, Kimia Minyak Atsiri, Kimia Bahan Alam, Dasar-dasar Kimia Organik, Mekanisme Reaksi Organik, Kimia Organik Metabolit Sekunder, Penentuan Struktur Senyawa Bahan Alam, Bioorganik dan Kimia Kewirausahaan.

## **BIODATA PENULIS**



**Khoirul Ngibad, S.Si., M.Si.**  
Dosen Program Studi D3 TLM  
Fakultas Ilmu Kesehatan

Lulus Program Sarjana di Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang tahun 2013, lulus Program Magister di Program Studi Magister Kimia Universitas Brawijaya Tahun 2015. Saat ini merupakan dosen tetap Program Studi D3 TLM (Teknologi Laboratorium Medis) Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Maarif Hasyim Latif Sidoarjo. Mengampu mata kuliah Kimia Air dan Kimia Makanan Minuman. Telah menulis Buku Ajar Kimia Air I, Buku Pedoman Praktikum Kimia Air, dan Buku Pedoman Praktikum Kimia Makanan Minuman. Selain itu, penulis juga pernah sebagai ketua LPPM (Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat) sejak tahun 2019 sampai 2023. Penulis sekarang mendapat tugas tambahan sebagai Wakil Rektor III Bidang Kemahasiswaan, Kreativitas, PMB dan Alumni.

## **BIODATA PENULIS**



**Aliyah Fahmi S.Si, M.Si**

Dosen Kimia di Universitas Efarina, Pematang Siantar

Ketertarikan penulis terhadap ilmu kimia sejalan dengan studi Penulis yang berkaitan dengan Ilmu Kimia. Penulis memulai perkuliahan pada program studi D3 Analis Kimia di Universitas Sumatera Utara, yang dilanjutkan S1 Kimia pada tahun 2005 s/d 2007. Penulis kemudian melanjutkan perkuliahan pada jenjang magister di tahun 2014 s/d 2016 dan menjadi Dosen Kimia di Universitas Efarina, Pematang Siantar. Penulis ditempatkan di Fakultas Kesehatan, tepatnya di Program Studi D3 Analis Kesehatan atau Analis Teknik Laboratorium Medik. Saat ini, Penulis sedang dalam studi S3 terkait Ilmu Kimia. Beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh Penulis didanai oleh LPDP dan Kemenristek DIKTI. Selain menjadi Peneliti, Penulis juga aktif menulis buku dengan harapan dapat memberikan kontribusi positif bagi bangsa dan negara Indonesia. Email Penulis: [aliyahfahmi0984@gmail.com](mailto:aliyahfahmi0984@gmail.com)

## BIODATA PENULIS



**Dr. Ir. Ismail Marzuki, S.Si., M.Si**  
Dosen Program Studi Teknik Kimia  
Fakultas Teknik Universitas Fajar

Penulis lahir di Kabere, 03 Juli 1973. Pendidikan formal yang telah diikuti SD Negeri 19 Kabere Tahun 1980-1986, SMP Negeri Kabere Tahun 1986-1989, dan SMA Negeri 1 Enrekang 1989-1992. Gelar sarjana Sains (kimia) disandang tahun 1999, di Jurusan Kimia FMIPA UNHAS, dan gelar Magister Sains (M.Si) Tahun 2003. Menyelesaikan program Doktor pada Bulan Januari tahun 2016, Program Pascasarjana UNHAS. Pendidikan Profesi Insinyur disandang Tahun 2022 pada PPI Fak. Teknik Unhas. Karir sebagai akademisi dimulai tahun 2000 hingga sekarang. Status PNS (Dosen) diperoleh pada Tahun 2005, pada unit kerja Kopertis (L2dikti) Wil. IX Sulawesi. Jabatan struktural yang pernah disandang, yakni: Direktur Akademi Analis Kimia Yapika Makassar, (Tahun 2002-2008), Ketua I Bidang Akademik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Yapika Makassar (Tahun 2008-2012). Ketua Stikes Bina Mandiri Gorontalo (Tahun 2014-2015), Di mutasi ke Universitas Fajar (UNIFA) Tahun 2015, Prodi home base Teknik Kimia. Tugas tambahan yang diamanatkan pada UNIFA adalah Pemred Jurnal *Techno Entrepreneur Acta* (2016-2020), Ketua Unit Pusat Karir UNIFA (Tahun 2016-2018), Ketua Lembaga Penjaminan Mutu Internal UNIFA, (2019-2020), Dekan Fakultas Pascasarjana Universitas Fajar, (2020-2022). Jabatan saat ini (2022-sekarang) sebagai Deputy Rektor 1 Bidang Akademik dan Kerjasama UNIFA.

Sejak pandemik Chovid-19 dan masa pemulihan dengan kebiasaan hidup baru bergabung dalam komunitas Yayasan Kita Menulis, hingga saat ini telah menulis 37 judul Bab dan 13 judul buku sebagai penulis utama dan penulis tunggal. Aktif menulis artikel ilmiah yang dipublikasikan pada jurnal Internasiolan Indeks Scopus, WoS, penulis Blog, dan Penulis Opini yang di publikasikan pada media cetak Koran Nasional (Koran Fajar).