



**MODUL BIOTEKNOLOGI BAHAN ALAM
(IBT 452)**



**DISUSUN OLEH
ADRI NORA S.SI M.SI
0313129101**

Universitas
Esa Unggul

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
FAKULTAS ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ESA UNGGUL
2021**

KATA PENGANTAR

Modul pembelajaran kuliah Bioteknologi Bahan Alam adalah petunjuk pelaksanaan perkuliahan yang harus dilaksanakan dan dapat dijadikan bahan acuan oleh mahasiswa Program Studi Bioteknologi Universitas Esa Unggul semester 3

Diharapkan dengan adanya modul pembelajaran ini mahasiswa lebih banyak mampu untuk belajar mandiri dan memahami lebih jauh tentang mata kuliah bioteknologi bahan alam

Akhir kata, penyusun mengucapkan terima kasih kepada dosen-dosen Program Studi Bioteknologi atas masukannya terhadap modul ini sehingga modul pembelajaran ini dapat terbentuk.

Penyusun



Adri Nora S.Si M.Si

MODUL 1

PENGANTAR BIOTEKNOLOGI BAHAN ALAM

Metabolit Primer

A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan tentang Bioteknologi Bahan Alam
2. Menjelaskan tentang metabolit primer
3. Menjelaskan tentang jalur biosintesis senyawa bahan alam

B. Uraian dan Contoh

Pada awal bab ini akan diperkenalkan terlebih dahulu tentang bioteknologi bahan alam. Bioteknologi bahan alam akan mempelajari tentang metabolit sekunder yang banyak terdapat di tumbuhan, bakteri, dan jamur baik yang terdapat di laut maupun di daratan. Metabolit sekunder sendiri telah banyak dipelajari oleh para ilmuwan dan terbagi menjadi kelompok-kelompok tertentu dimana setiap senyawa memiliki fungsi yang berbeda-beda.

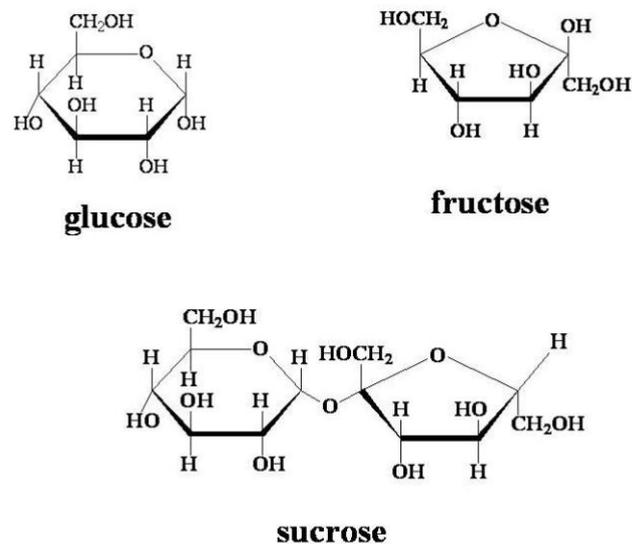
Saat ini metabolit sekunder yang berhasil diisolasi telah banyak dan telah banyak diujicobakan sebagai antibakteri, antikanker, antijamur, antioksidan, dll. Beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut ternyata berpotensi untuk dijadikan obat-obat tersebut, namun kendalanya adalah senyawa-senyawa yang dihasilkan kadang hanya sedikit oleh karena itu diperlukan modifikasi secara genetik terhadap penghasil metabolit sekunder tersebut agar dapat menghasilkan lebih banyak senyawa metabolit sekunder. Modifikasi secara genetik tersebut merupakan pekerjaan para ilmuwan yang berkecimpung dalam bidang bioteknologi, oleh karena itu mempelajari tentang senyawa-senyawa metabolit sekunder sangat penting dalam bidang bioteknologi.

Beragamnya senyawa bahan alam yang ditemukan adalah salah satu pertimbangan untuk mempelajari senyawa tersebut lebih lanjut dalam suatu mata kuliah tersendiri. Semua organisme memerlukan senyawa-senyawa organik yang banyak jumlahnya untuk bertahan hidup, tumbuh, dan berkembang biak. Mereka memerlukan energi

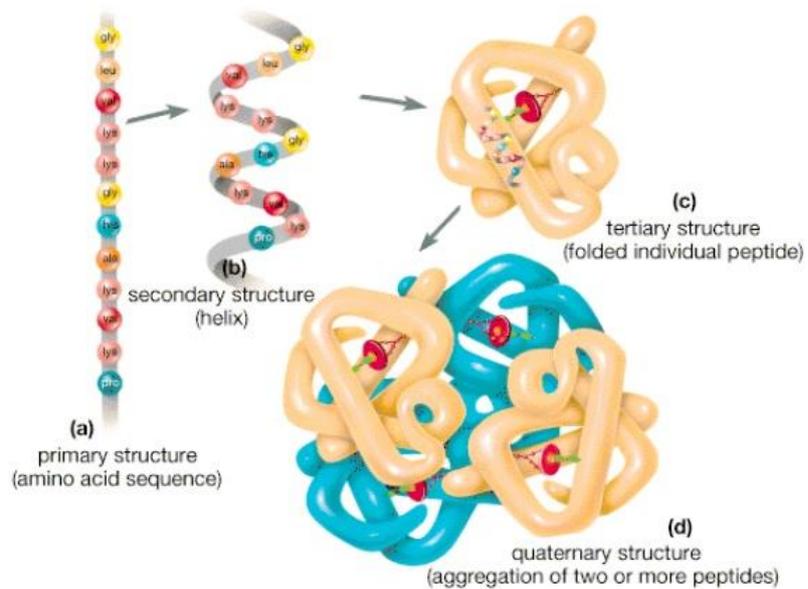
yang dibutuhkan dalam bentuk ATP dan mereka juga membutuhkan kebutuhan senyawa-senyawa organik untuk membentuk jaringan di dalam sel. Adanya hubungan yang terintegrasi dengan baik antara enzim dan reaksi kimia yang terstruktur dibutuhkan dalam pembentukan energi dan jaringan. Hal tersebut dapat disebut dengan metabolisme dan jalur yang terlibat dalam metabolisme disebut dengan jalur metabolisme. Berdasarkan fungsi dan proses terbentuknya, senyawa alam dibagi menjadi dua kelompok yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder.

1. Metabolit Primer

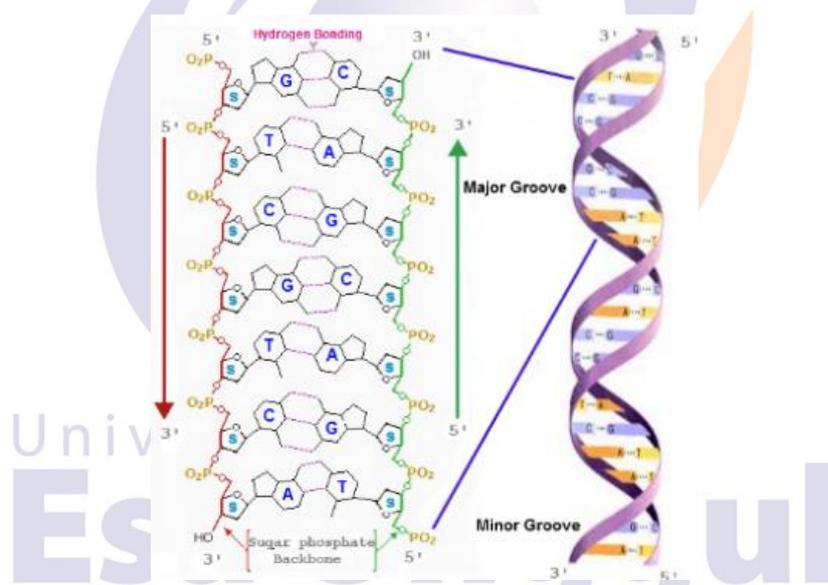
Beberapa molekul penting dalam kehidupan adalah karbohidrat, protein, lemak, dan asam nukleat. Selain lemak, molekul-molekul tersebut merupakan suatu polimer. Karbohidrat tersusun dari beberapa senyawa gula, protein terbentuk dari beberapa asam amino, dan asam nukleat terbentuk dari beberapa nukleotida.



Gambar 1 Karbohidrat



Gambar 2 Protein



Gambar 3 Asam Nukleat

Organisme memiliki kapasitas yang beragam dalam mensintesis dan mengubah suatu senyawa kimia. Contohnya, tumbuhan sangat efisien dalam mensintesis senyawa organik melalui reaksi fotosintesis dari senyawa anorganik yang ditemukan di dalam lingkungan, sementara organisme lainnya seperti hewan dan mikroorganisme untuk mendapatkan senyawa yang dibutuhkan dalam tubuh dengan cara mengonsumsi

tumbuhan. Banyak jalur metabolisme bergantung pada material yang telah diubah menjadi lebih sederhana dari konsumsi makanan.

Walaupun beragamnya karakteristik dari organisme hidup, jalur modifikasi dan sintesis dari karbohidrat, protein, lemak, dan asam nukleat sangat penting dalam setiap organisme, dengan sedikit perbedaan. Proses tersebut menjelaskan pentingnya unit-unit dari organisme hidup yang dijelaskan dalam metabolisme primer, dimana senyawa-senyawa yang terlibat dalam jalur metabolisme tersebut dinamakan metabolit primer. Degradasi dari karbohidrat dan gula diproses melalui suatu jalur yang dikenal sebagai jalur glikolisis dan siklus krebs. Dalam jalur tersebut energi dilepaskan dari senyawa organik melalui reaksi oksidasi. Proses oksidasi asam lemak dalam degradasi lemak disebut dengan beta oksidasi yang juga menghasilkan energi. Organisme aerobik mampu mengoptimasi proses tersebut dengan menambahkan proses lainnya yang disebut dengan proses fosforilasi oksidatif. Protein yang masuk ke dalam tubuh akan diubah menjadi asam amino, tetapi jumlah asam amino yang dibutuhkan dalam tiap organisme berbeda-beda tergantung kebutuhan masing-masing. Banyak organisme yang hanya mampu mensintesis asam amino yang hanya dibutuhkan untuk sintesis protein. Asam amino yang tidak disintesis yang disebut dengan asam amino esensial, harus di dapatkan dari sumber lainnya.

C. Latihan

1. Apa yang dimaksud dengan metabolit primer?
2. Apakah lemak termasuk ke dalam polimer?
3. Mengapa penting untuk mempelajari senyawa bahan alam?

D. Jawaban

1. Metabolit primer adalah senyawa yang dihasilkan oleh organisme hidup yang penting pada proses metabolisme
2. Tidak, lemak bukan polimer
3. Karena senyawa bahan alam sangat beragam bentuknya dan memiliki fungsi yang berbeda-beda dan dapat bermanfaat bagi kehidupan

Metabolit Sekunder

A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan tentang metabolit sekunder
2. Mengenali kerangka dari metabolit sekunder
3. Menjelaskan tentang jalur biosintesis metabolit sekunder

B. Uraian dan Contoh

Pada tumbuhan, saat terkena hujan atau panas tidak mungkin dapat menghindar atau lari untuk berteduh, tetapi tumbuhan tersebut mampu mengeluarkan atau menghasilkan senyawa tertentu yang dapat melindungi dirinya dari pengaruh hujan atau panas. Senyawa yang dimaksud adalah metabolit sekunder. Metabolit sekunder hanya ditemukan dalam organisme tertentu atau sekelompok organisme tertentu dan merupakan ciri khas dari individu tertentu. Metabolit sekunder tidak dihasilkan setiap saat tetapi biasanya dihasilkan dalam keadaan tertentu. Dalam banyak kasus, fungsi dan manfaat dari metabolit sekunder pada organisme bahkan belum diketahui. Beberapa metabolit sekunder kadang dihasilkan sebagai senyawa racun sebagai pertahanan terhadap predator, kemudian untuk menarik perhatian bagi spesies lainnya dan juga dapat menjadi agen pewarna untuk menarik atau memperingati spesies lainnya. Dapat disimpulkan walaupun memiliki fungsi yang berbeda-beda atau bahkan berbahaya, metabolit sekunder memiliki peran yang penting dalam setiap organisme. Adanya fungsi yang beragam inilah yang menyediakan data farmakologis dari senyawa alam. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa makanan yang dikonsumsi manusia dapat menjadi sesuatu yang menyenangkan dan menjadi sesuatu yang berbahaya jika semua tanaman, binatang, dan jamur jika memproduksi senyawa yang sama.

Dengan adanya definisi tentang metabolit sekunder di atas, dapat disimpulkan bahwa metabolit primer dan metabolit sekunder merupakan senyawa yang berbeda dan memiliki fungsi yang berbeda. Perbedaan metabolit primer dan sekunder dapat dilihat dari tabel di bawah ini:

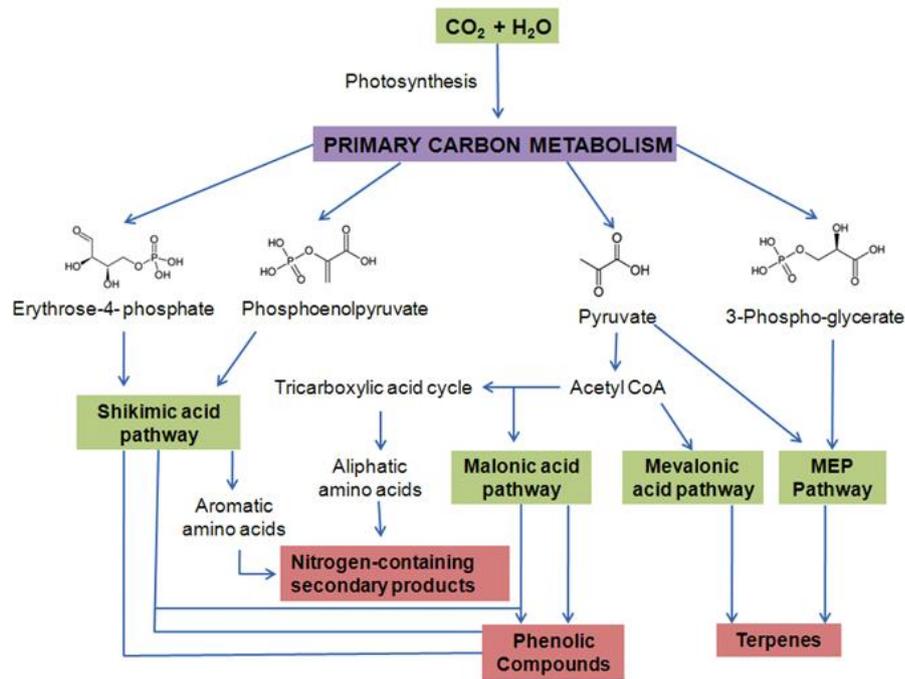
Tabel 1 Perbedaan Metabolit Primer dan Sekunder

	Metabolit Primer	Metabolit Sekunder
Distribusi	Merata dalam setiap organisme	Tidak merata dalam organisme
Fungsi	Universal, antara lain sumber energi dan pertumbuhan	Ekologis, antara lain penarik serangga, pertahanan
Struktur	Perbedaannya kecil	Berbeda-beda
Produksi	Diproduksi dalam jumlah banyak dan mudah di ekstraksi	Diproduksi dalam jumlah sedikit dan sulit di ekstraksi
Fisiologis	Berkaitan dengan struktur molekul dari organisme	Tidak berkaitan dengan struktur molekul

Pemanfaatan metabolit sekunder akhir-akhir ini semakin berkembang pesat terutama dalam bidang kesehatan dan kosmetik. Selain itu, adanya kesulitan dalam mengidentifikasi tumbuhan berdasarkan morfologi dalam ilmu taksonomi tumbuhan, maka muncul identifikasi tumbuhan berdasarkan genetic dan berdasarkan kandungan metabolit sekunder yang disebut dengan kemotaksonomi. Hasil dari kemotaksonomi dapat diterapkan dalam penentuan senyawa marker untuk spesie atau genus tertentu. Adanya hasil tersebut sangat membantu dalam mengawasi obat-obat herbal, contohnya jika senyawa X merupakan marker dari tumbuhan A, maka apabila ada suatu obat herbal menggunakan tumbuhan A, maka senyawa X harus ada dalam tumbuhan tersebut. Jika senyawa X tidak terkandung dalam tumbuhan A, maka obat herbal tersebut tidak menggunakan tumbuhan A.

Metabolit sekunder terbentuk dari metabolit primer melalui berbagai macam jalur metabolisme yang disesuaikan dengan tujuan dan kondisi dari lingkungan tumbuhan tersebut tumbuh. Dari jalur metabolisme metabolit primer, dapat terlihat bahwa

beberapa metabolit yang terlibat dalam proses fotosintesis, glikolisis, siklus krebs diambil dan dialihkan ke dalam jalur metabolisme lainnya untuk menghasilkan senyawa intermediet dalam pembentukan metabolit sekunder. Oleh karena itu, dapat terlihat dengan jelas batas antara metabolit sekunder dan metabolit primer. Berikut adalah hubungan metabolit primer dan metabolit sekunder.

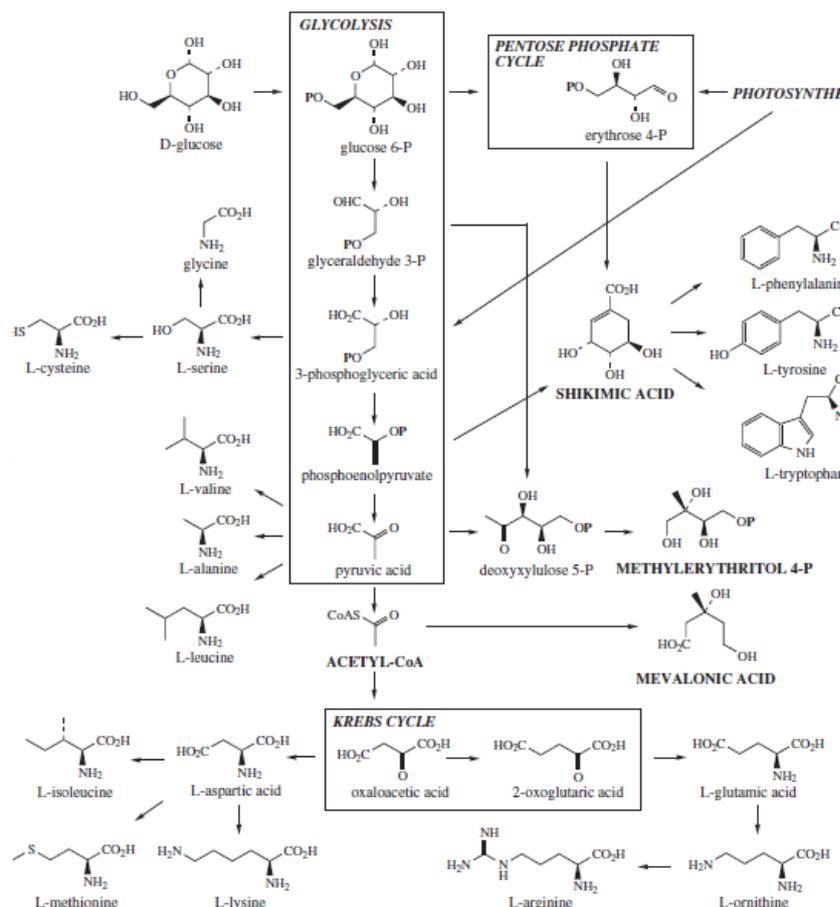


Gambar 4 Hubungan Metabolit Primer dan Sekunder

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa senyawa-senyawa yang digunakan untuk membuat metabolit sekunder dihasilkan dari proses metabolisme utama. Jumlah senyawa intermediet yang dibutuhkan sangat sedikit dan dari jumlah yang sedikit tersebut dapat terbentuk berbagai macam metabolit sekunder. Senyawa antara yang paling penting dalam proses biosintesis metabolit sekunder adalah asetil koenzim A, asam sikimat, asam mevalonate, dan metileritritol fosfat. Senyawa-senyawa tersebut digunakan dalam jalur biosintesis dari senyawa bahan alam. Asetil ko-a merupakan senyawa yang terbentuk dari reaksi dekarboksilasi oksidatif dari jalur glikolisis. Selain itu, asetil ko-a juga dihasilkan dari beta oksidasi asam lemak. Asam sikimat terbentuk dari kombinasi fosfoenolpiruvat dan eritrosa 4-fosfat. Asam mevalonate sendiri terbentuk dari tiga molekul asetil ko-a, sementara metileritritol fosfat terbentuk dari asam piruvat dan gliseraldehid 3-fosfat yang merupakan senyawa

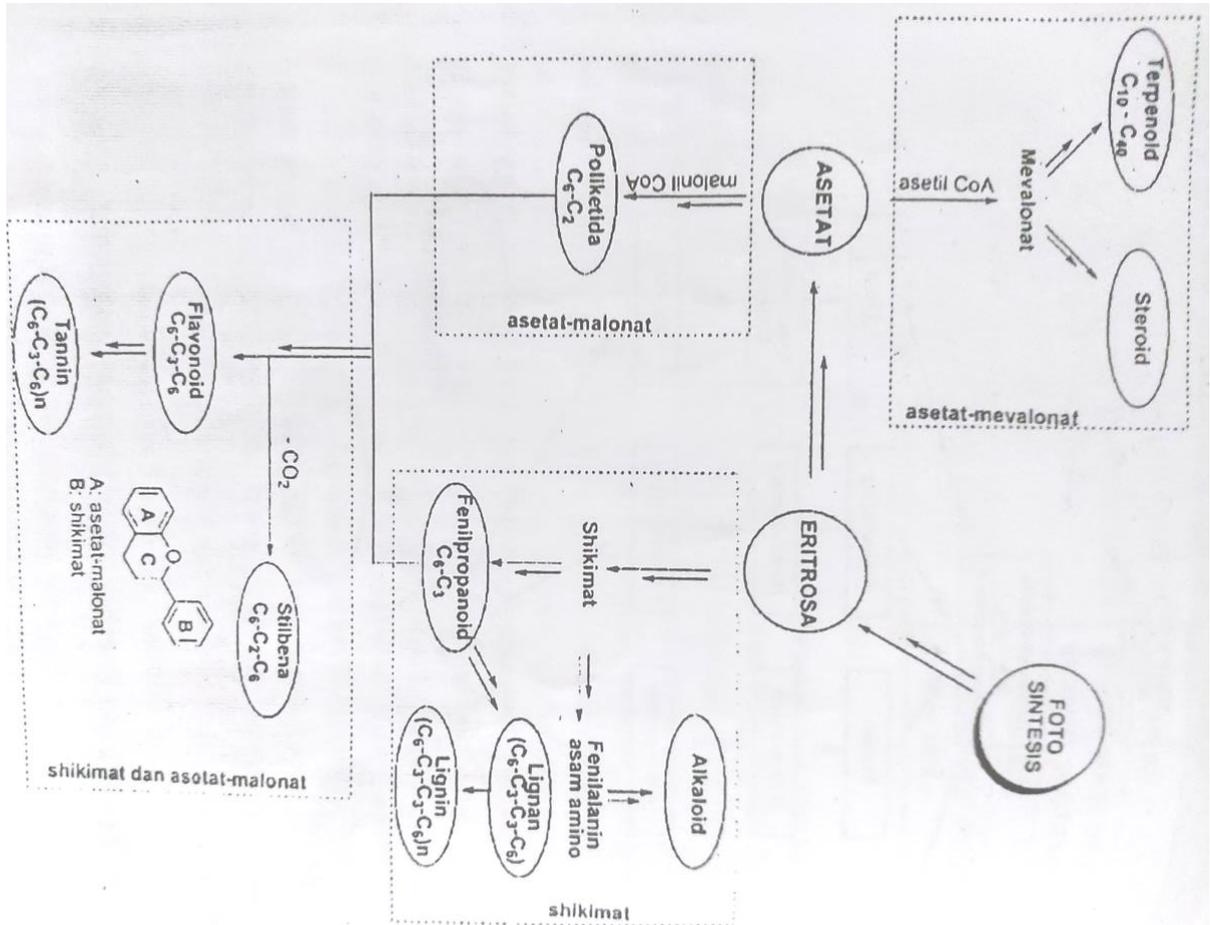
intermediet dari proses glikolisis. Selain keempat senyawa di atas, beberapa asam amino juga diperlukan untuk membentuk senyawa metabolit sekunder, seperti fenilalanin, tirosin, triptofan, ornitin, dan lisin. Reaksi pembentukkan senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat pada gambar 5.

Dari senyawa-senyawa antara tersebut, maka muncul beberapa jalur biosintesis dari senyawa metabolit sekunder. Senyawa asetil ko-a yang dihasilkan dari proses glikolisis menjadi prekursor untuk pembentukkan dua jalur biosintesis yaitu jalur **malonate-asetat** dan jalur **mevalonate-asetat**. Asam sikimat yang dihasilkan dari fosfoenol piruvat merupakan prekursor untuk jalur biosintesis dari jalur **asam sikimat**. Asam mevalonate merupakan prekursor untuk jalur biosintesis mevalonate-asetat, sementara metileritritol fosfat merupakan prekursor untuk jalur biosintesis **mevalonate-asetat**. Kemudian terdapat satu jalur biosintesis lainnya yang dimana prekursornya merupakan gabungan dari jalur asam sikimat dan malonate-asetat. Jalur biosintesis ini dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 5 Pembentukkan Senyawa Antara

Gambar 6 Jalur Biosintesis Metabolit Sekunder



Dari jalur biosintesis tersebut dapat disimpulkan bahwa ada empat jalur biosintesis dari metabolit sekunder.

1. Jalur Asetat-malonat yang menghasilkan senyawa golongan poliketida
2. Jalur Asetat-Mevalonat yang menghasilkan senyawa terpenoid dan steroid
3. Jalur Asam sikimat yang menghasilkan senyawa fenilpropanoid, lignin, dan alkaloid
4. Jalur Sikimat dan Asetat-Mevalonat yang menghasilkan senyawa flavonoid, tannin, dan stilbene

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan memiliki variasi yang berbeda-beda. Tiap spesies dari tumbuhan menghasilkan senyawa tertentu yang berfungsi sebagai markernya. Tidak hanya pada tumbuhan, senyawa metabolit sekunder juga banyak ditemukan pada organisme yang hidup di laut. Indonesia kaya akan hutannya

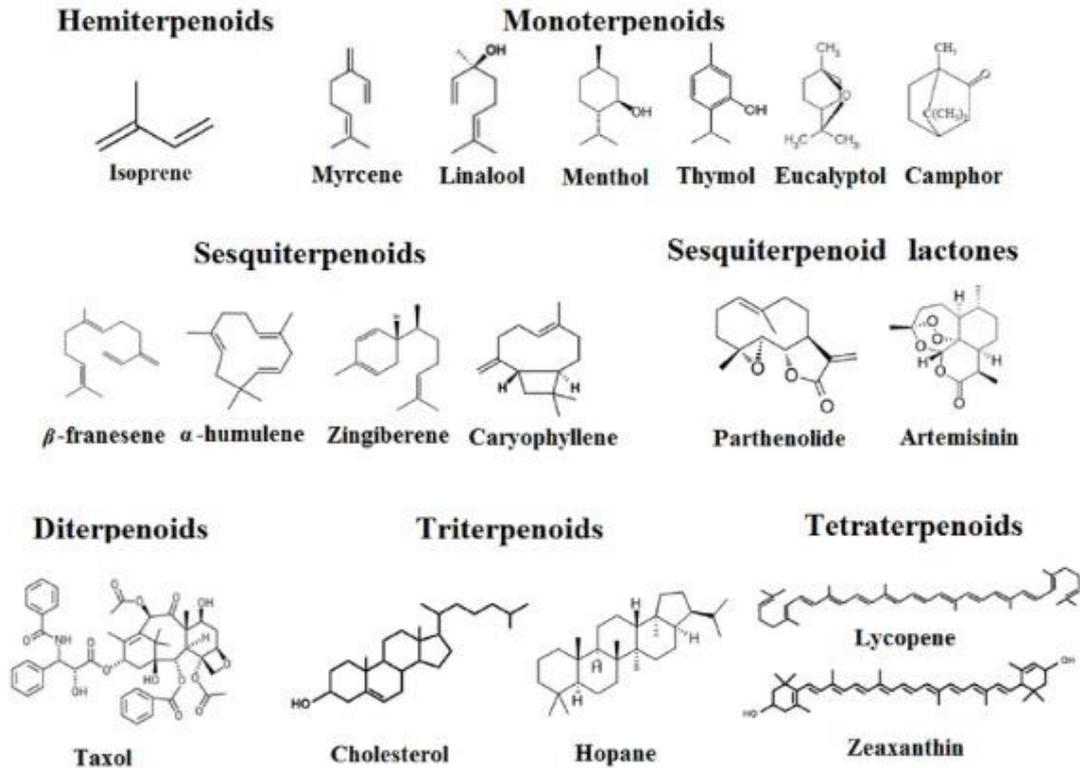
dan banyak tumbuhan yang ada di Indonesia belum dieksplorasi sama sekali, apalagi organisme yang berada di dalam lautan di Indonesia. Belum banyak penelitian yang mengeksplorasi senyawa metabolit sekunder yang ada pada organisme bawah laut. Biasanya organisme bawah laut menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang lebih beragam. Semakin ekstrim kondisi suatu organisme maka biasanya metabolit sekunder yang dihasilkan bentuknya akan semakin beragam dan unik. Oleh karena itu, Indonesia memiliki potensi yang sangat besar akan kekayaan senyawa metabolit sekunder.

Tanaman dalam satu genus atau family biasanya memiliki kesamaan senyawa metabolit sekunder yang diproduksinya, dimana berfungsi sebagai karakter dari family atau genus dari tanaman tersebut secara kimia. Untuk organisme bawah laut sendiri belum banyak referensi yang ditemukan tentang metabolit sekunder, tetapi penggolongan senyawa metabolit sekundernya kurang lebih sama dengan tanaman. Jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan sangat berpengaruh terhadap faktor lingkungan dimana tumbuhan tersebut tumbuh. Berbagai cara telah dilakukan untuk mempelajari keragaman senyawa metabolit sekunder, salah satunya adalah pengelompokan senyawa metabolit sekunder tersebut. Berikut akan dibahas kerangka-kerangka dari senyawa metabolit sekunder berdasarkan penggolongannya.

- Metabolit sekunder dari Jalur Asetat-Mevalonat

1. Terpenoid

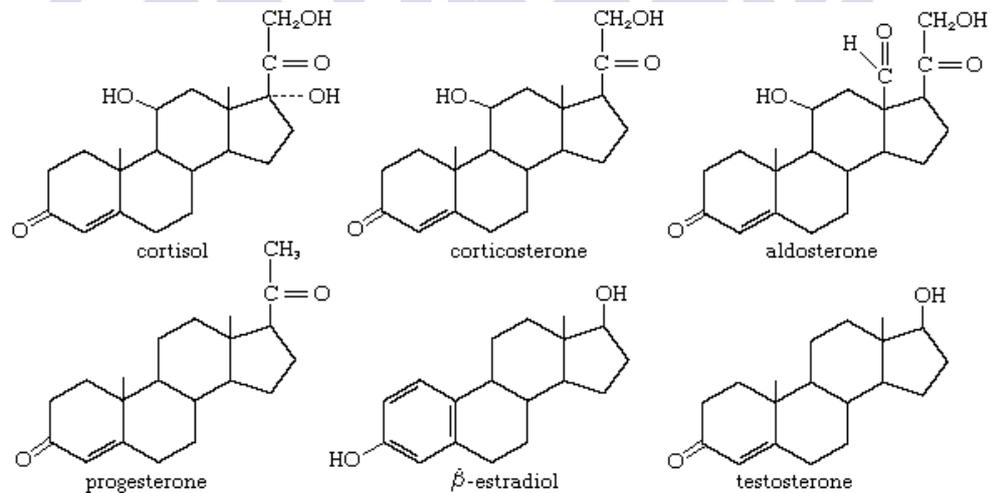
Terpenoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang masuk ke dalam jalur asetat-mevalonat dimana senyawa ini memiliki keteraturan dalam strukturnya. Terpenoid dibangun dari dua atau lebih unit isoprene yang saling berikatan dari kepala ke ekor. Hal ini merupakan ciri khas dari senyawa golongan terpenoid. Karena terdiri dari unit isoprene maka senyawa terpenoid memiliki jumlah atom C kelipatan dari 5. Berikut adalah kerangka dari senyawa terpenoid



Gambar 7 Kerangka Terpenoid

2. Steroid

Steroid adalah senyawa modifikasi dari senyawa terpenoid golongan triterpene. Senyawa steroid yang paling umum adalah senyawa kolesterol. Strukturnya dapat dilihat pada gambar di bawah ini

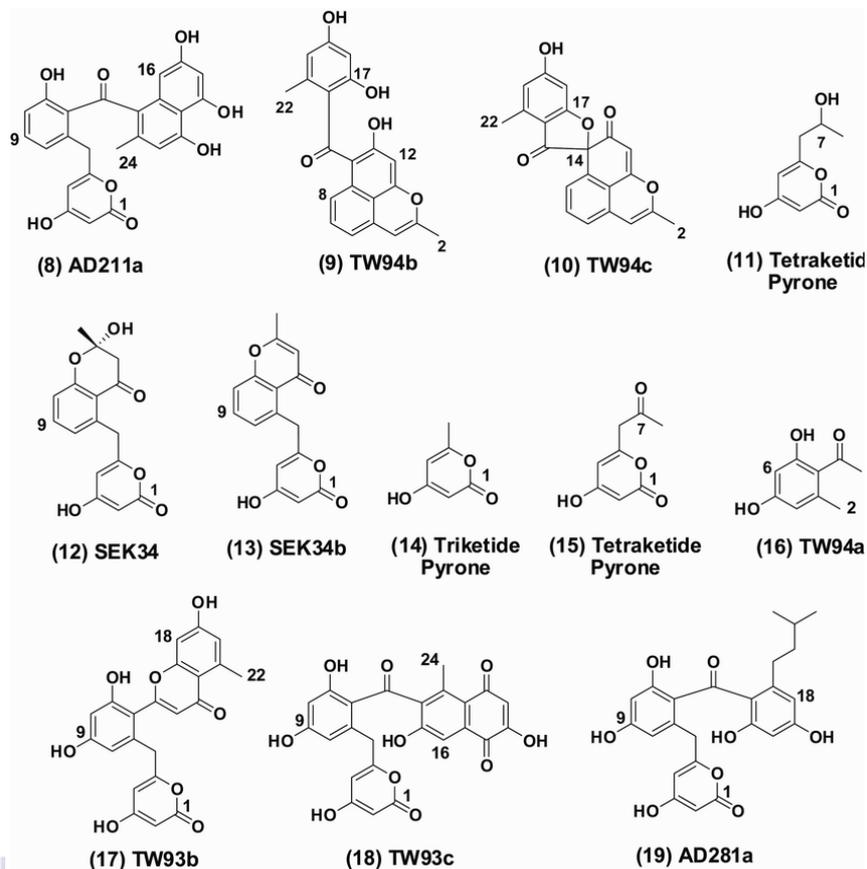


Gambar 8 Kerangka Steroid

- Metabolit sekunder dari Jalur Asetat-Malonat

1. Poliketida

Senyawa yang terbentuk dari jalur ini salah satunya adalah poliketida dimana senyawa induk penyusunnya adalah poli β -keto ester. Poliketida memiliki susunan kerangka karbon C6-C2. Berikut adalah kerangka senyawa poliketida



Gambar 8 Kerangka Poliketida

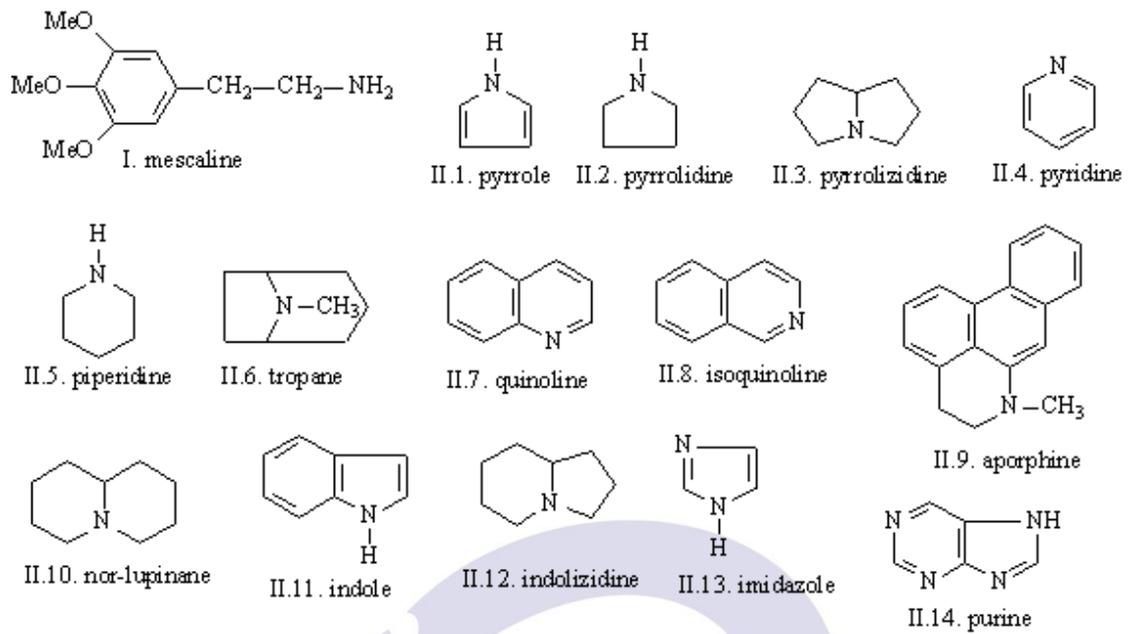
- Metabolit sekunder dari Jalur Sikimat

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki basa nitrogen.

Golongan ini banyak sekali ditemukan di dalam tumbuhan dan sedikit sekali ditemukan di dalam mikroorganisme atau hewan. Ada banyak cara dalam mengklasifikasikan alkaloid karena sangat beragamnya senyawa alkaloid.

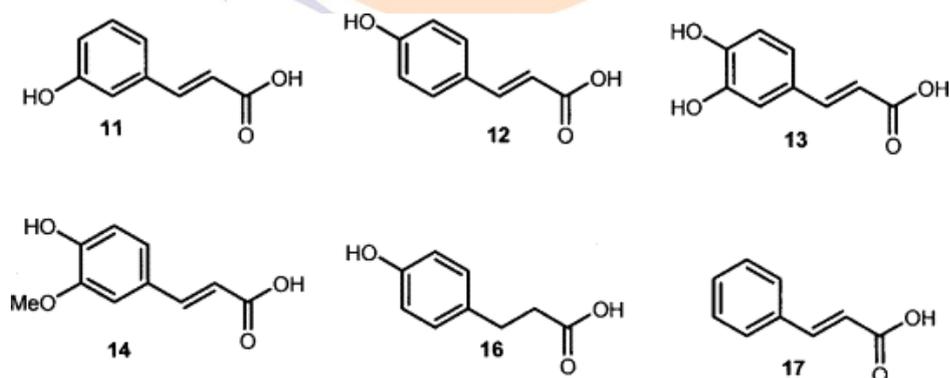
Berikut adalah kerangka alkaloid



Gambar 9 Kerangka Alkaloid

2. Fenil propanoid

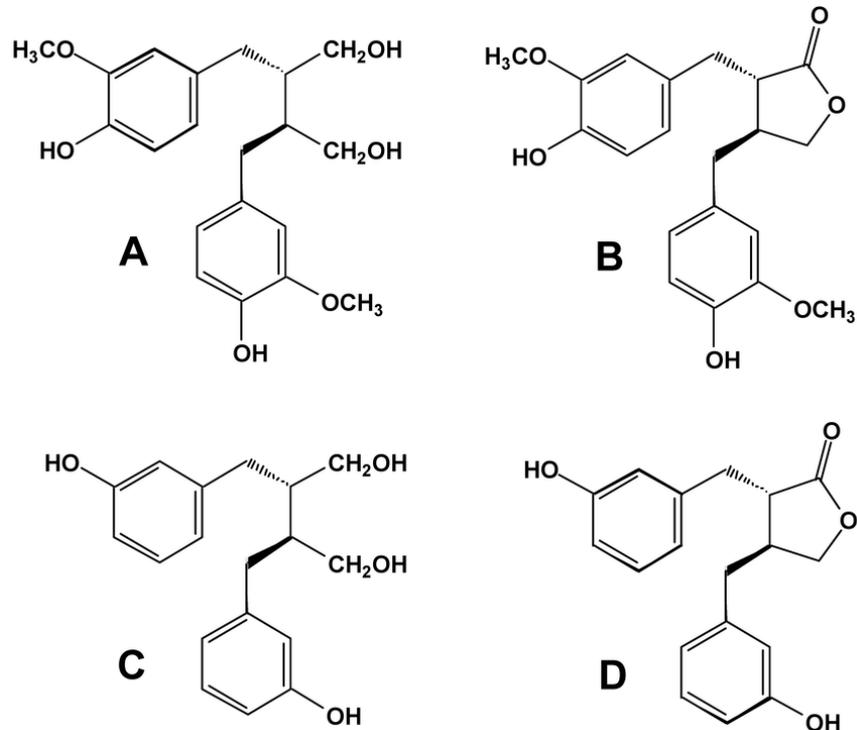
Senyawa golongan fenil propanoid memiliki kerangka C₆-C₃ yang termasuk ke dalam jalur asam sikimat. Turunan dari senyawa fenil propanoid akan menghasilkan senyawa lignan. Berikut adalah struktur dari senyawa fenil propanoid



Gambar 10 Kerangka Fenil Propanoid

3. Lignan

Lignan memiliki kerangka atom karbon yaitu C6-C3-C6-C3 atau merupakan senyawa dimer dari fenil propanoid. Berikut adalah kerangka dari senyawa lignan

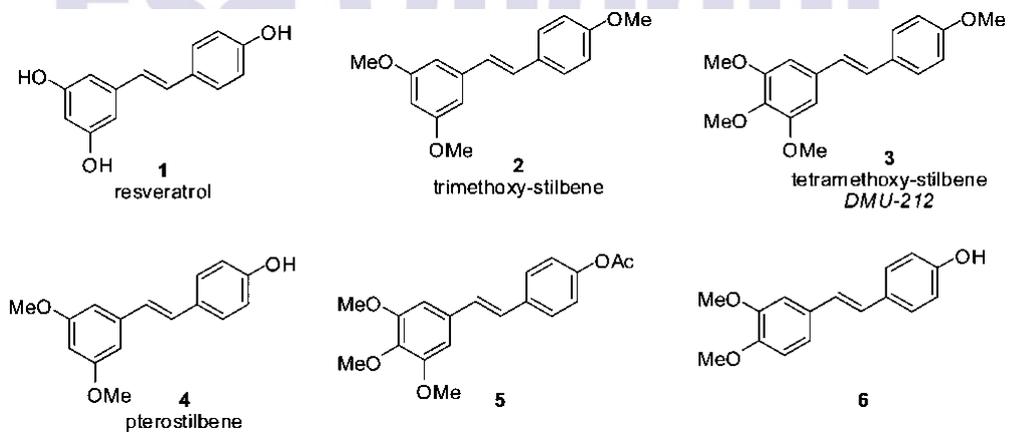


Gambar 11 Kerangka Lignan

- Metabolit sekunder dari Jalur Sikimat-Asetat-Malonat

1. Stilben

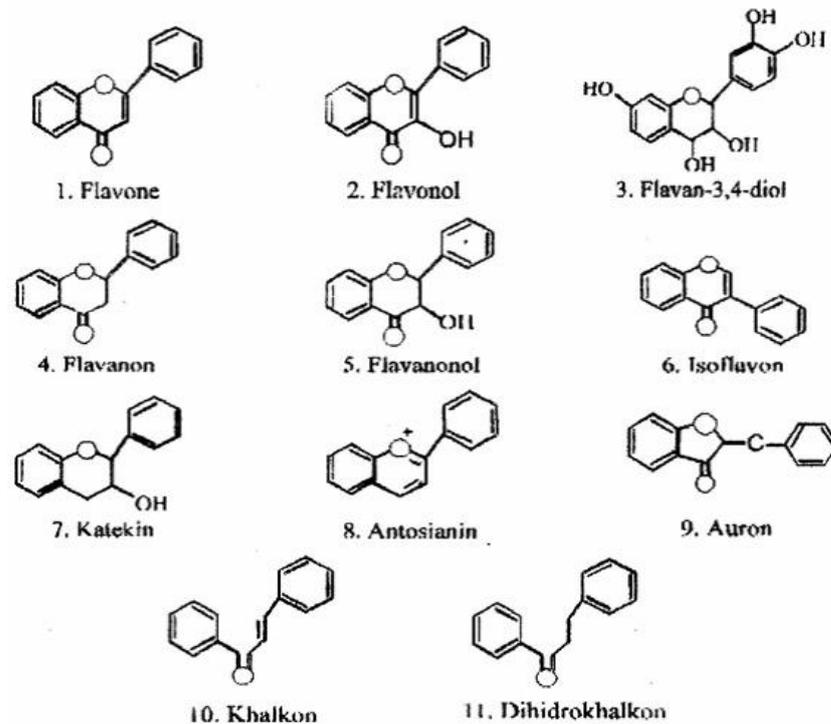
Stilben adalah kelompok senyawa yang memiliki kerangka atom karbon C6-C2-C6. Berikut adalah kerangka senyawa stilben



Gambar 12 Kerangka Lignan

2. Flavonoid

Flabonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang ditemukan di alam dan biasanya berfungsi sebagai zat warna. Flavonoid memiliki kerangka karbon C6-C3-C6. Berikut adalah kerangka flavonoid



Gambar 13 Kerangka Flavonoid

C. Latihan

1. Jelaskan yang dimaksud dengan senyawa metabolit sekunder!
2. Sebutkan fungsi dari senyawa metabolit sekunder!
3. Sebutkan 4 senyawa antara yang penting untuk menjadi prekursor dari pembentuk jalur biosintesis metabolit sekunder!

D. Jawaban

1. Metabolit sekunder adalah senyawa yang merupakan turunan dari senyawa metabolit primer yang tidak esensial pada pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang berbeda-beda di setiap organisme
2. Fungsinya dapat sebagai pertahanan diri, penarik spesies lainnya, sebagai racun, dan sebagai obat

3. Asetil-koa, asam sikimat, asam mevalonate, asam malonate, dan metileritritol fosfat

E. Daftar Pustaka

Dewick, Paul M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd ed, London

Saifudin, Azis.2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder. Deepublish: Yogyakarta



MODUL 2

MANFAAT & REAKSI DASAR PEMBENTUKKAN METABOLIT SEKUNDER

MANFAAT METABOLIT SEKUNDER

C. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan tentang manfaat metabolit sekunder
2. Menjelaskan kerugian metabolit sekunder
3. Menjelaskan asal dari metabolit sekunder

D. Uraian dan Contoh

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan oleh tumbuhan, bersifat tidak esensial, yang berfungsi untuk melindungi dirinya dari pengaruh lingkungan. Metabolit sekunder biasanya hanya ditemukan pada filogenetik atau famili tertentu yang akhirnya dapat dijadikan marker untuk tumbuhan tersebut. Metabolit sekunder berbeda dengan metabolit primer dimana metabolit primer ditemukan di semua organisme hidup karena sangat penting untuk metabolisme.

Dari dulu hingga sekarang, manusia telah bergantung kepada alam untuk memenuhi kebutuhan dasar seperti, makanan, rumah, baju, transportasi, dan obat. Tumbuhan memiliki peran yang sangat besar di dalam pengobatan. Penggunaan tumbuhan sebagai tanaman obat merupakan salah satu pilihan yang banyak dipilih karena kemudahan untuk mendapatkan, ketersediaan yang terbatas dari obat-obatan yang diimpor, dan juga kepercayaan terhadap tanaman obat yang sangat besar dimana jauh dari efek samping dan memiliki hasil yang lebih baik.

Berdasarkan WHO (world Health Organization), semua tumbuhan yang mengandung senyawa yang dapat digunakan untuk terapi obat atau dapat menjadi prekursor untuk pembuatan obat baru dinamakan tanaman obat. Tanaman obat hingga sekarang masih

digunakan di berbagai belahan dunia untuk mengobati penyakit infeksius seperti diare, panas, dan juga untuk kebersihan gigi. WHO juga melaporkan 80% dari populasi penduduk di negara berkembang masih bergantung kepada tanaman obat sebagai dasar pengobatan. Oleh karena itu, penelitian tentang tanaman obat masih sangat diperlukan.

Selain tumbuhan, mikroba baik yang ada di darat dan laut adalah salah satu sumber utama dari prekursor obat. Berbagai macam obat penting yang digunakan dalam terapi obat seperti antibiotik, statin, dan taksol merupakan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang didapatkan dari hasil isolasi dan pemurnian pada tumbuhan dan mikroba. Metabolit sekunder pada tumbuhan sendiri memiliki fungsi secara general yaitu:

1. Berperan pada dua strategi resistensi yaitu pada label struktur dan menginduksi antibiotik
2. Melindungi tumbuhan dari gangguan herbivora dan menghindari infeksi yang disebabkan oleh patogen mikroba
3. Menarik serangga dan hewan yang mampu membantu penyerbukan tanaman
4. Sebagai agen kompetisi antar tumbuhan
5. Memberikan kontribusi yang penting antara tumbuhan dan lingkungannya

Sepanjang tahun 1981-2010, 4,4% dari 1355 buah obat-obatan yang beredar di dunia berasal dari pemurnian bahan alam dan pada obat kanker, 74% obat yang digunakan pada terapi obat berasal dari ekstraksi senyawa bahan alam atau modifikasi senyawa bahan alam. Apabila digabungkan dengan senyawa tiruan, vaksin, ekstrak, maka kontribusi dari senyawa bahan alam dalam obat-obatan lebih dari 50%. Oleh karena itu, terlihat jelas bahwa senyawa bahan alam sangat berperan dalam penyediaan obat.

Untuk sampai pada tahap menjadi obat yang dapat dipakai dan diproduksi secara komersil, pemurnian senyawa metabolit sekunder bukan pekerjaan final tetapi diperlukan tahap-tahap selanjutnya. Hanya sekitar 5% senyawa bahan alam yang dimurnikan dan bisa langsung dipakai untuk obat, kebanyakan senyawa bahan alam dimodifikasi lebih lanjut kembali. Untuk mendapatkan senyawa bahan alam yang murni juga bukan pekerjaan yang mudah dan memerlukan banyak sekali ekstrak dari

tumbuhan. Sebagai contoh, untuk mendapatkan 10mg senyawa flavonoid dari tumbuhan *Artocarpus fretessi* memerlukan batang tumbuhan sekitar 2kg.

Produksi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan juga sangat terbatas dan tidak langsung berpartisipasi dalam metabolisme pertumbuhan tumbuhan. Dalam beberapa tahun terakhir, telah terjadi perubahan yang sangat besar dalam produksi senyawa metabolit sekunder dimana produksi senyawa bahan alam tidak lagi dilakukan secara manual akan tetapi menggunakan teknologi kultur jaringan. Senyawa metabolit sekunder yang didapatkan dari kultur jaringan lebih mudah untuk diproduksi dalam kondisi steril dari salah satu bagian tumbuhan seperti batang, daun, akar, dan juga meristem dimana ekstrak yang didapatkan lebih banyak. Produksi metabolit sekunder secara in-vitro pada suspensi tumbuhan juga telah banyak dilaporkan dari tanaman obat. Dari jumlah total senyawa metabolit sekunder yang telah ditemukan, 33000 merupakan senyawa terpenoid, 16000 senyawa alkaloid, dan 8182 adalah flavonoid.

Senyawa metabolit sekunder telah memainkan peran yang sangat besar dalam penemuan obat dan pengembangannya. Isolasi senyawa metabolit sekunder yang pertama kali dilakukan adalah isolasi senyawa alkaloid yaitu morfin, yang akhirnya dikomersialkan oleh Merck pada tahun 1827. Kemudian, produksi semi-sintesis obat aspirin yang memiliki bahan dasar salicin yang diisolasi dari *Salix alba* di komersialisasikan oleh Bayer pada tahun 1899. Adanya penemuan-penemuan tersebut kemudian menjadikan para peneliti berlomba-lomba untuk mengisolasi senyawa alam dan memproduksi obat-obatan dari senyawa alam seperti kokain, kodein, digitoksin, quinin, dan pilocarpine. Beberapa senyawa metabolit sekunder aktif yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 1 Senyawa metabolit sekunder dan Fungsinya

Drug/Chemical	Plant Source	Plant Part	Family	Action/Clinical Use
Acetyldigoxin	<i>Digitalis lanata</i>	Leaf	Plantaginaceae	Cardiotonic
Aconitine	<i>Aconitum napellus</i>	Root	Ranunculaceae	Analgesic, antipyretic, poisoning
Adonidin	<i>Adonis vernalis</i>	Flower	Ranunculaceae	Cardiotonic
Aescin (Escin)	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Seed	Sapindaceae	Anti-inflammatory, vasoprotective
Ajmaline	<i>Rauwolfia serpentina</i>	Root	Apocynaceae	Circulatory disorders
Allicin	<i>Allium sativum</i>	Bulb	Alliaceae	Arteriosclerosis, high cholesterol, heart disease, hypertension, antimicrobial
Allyl isothiocyanate	<i>Brassica nigra</i>	Seed	Brassicaceae	Rubefacient, fumigant
Andrographolide	<i>Andrographis paniculata</i>	Stem and Leaf	Acanthaceae,	Anticancer, rheumatoid arthritis, antipyretic
Anisodamine, Anisodine	<i>Anisodus tanguticus</i>	Root	Solanaceae	Anticholinergic, circulatory shock
Arcoline	<i>Areca catechu</i>	Seed (nut)	Arecaceae	Anthelmintic, laxative, boosts cognitive function
Artemisinin	<i>Artemisia annua</i>	Aerial parts	Asteraceae	Antimalaria
Asiaticoside	<i>Centella asiatica</i>	Aerial parts	Umbelliferae	Vulnerary
Atropine, Hyoscyamine, Scopolamine	<i>Atropa belladonna</i>	Root and Leaf	Solanaceae	Anticholinergics, poisoning
Berberine	<i>Berberis vulgaris</i>	Root and Bark	Berberidaceae	Dysentery, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic, lowers cholesterol level
Bromelain	<i>Ananas comosus</i>	Fruit and Stem	Bromeliaceae	Anti-inflammatory, debridement, indigestion
Caffeine	<i>Coffea arabica</i>	Seed	Rubiaceae	CNS and metabolic stimulant
Camphor	<i>Cinnamomum camphora</i>	Wood	Lauraceae	Cough, neurodermatitis, fungal infections
Camptothecin	<i>Camptotheca acuminata</i>	Bark and	Comaceae	Anticancer

Universitas
Esa Unggul

Casanthranol	<i>Rhamnus purshiana</i>	Bark	Rhamnaceae	Laxative
Cocaine	<i>Erythroxylum coca</i>	Leaf	Erythroxylaceae	Local anaesthetic
Colchicine	<i>Colchicum autumnale</i>	Corm	Liliaceae	Gout (also called gouty arthritis)
Convallatoxin	<i>Convallaria majalis</i>	Flower and Leaf	Asparagaceae	Cardiotonic
Curcumin	<i>Curcuma longa</i>	Rhizome	Zingiberaceae	Choleretic, anti-inflammatory, antioxidant alzheimer's disease, arthritis
Cynarin	<i>Cynara scolymus</i>	Leaf	Asteraceae	Improves liver and gall bladder functions
Digitoxin, Digoxin (Digitalis or Digitalin)	<i>Digitalis purpurea and other Digitalis species</i>	Leaf	Plantaginaceae	Cardiotonic
Diosgenin	<i>Dioscorea species</i>	Tuber	Dioscoreaceae	Anovulatory, contraceptive
Emetine	<i>Cephaelis ipecacuanha</i>	Root	Rubiaceae	Emetic, antiprotozoal
Ephedrine	<i>Ephedra sinica and other members of Ephedra</i>	Stem	Ephedraceae	Sympathomimetic, decongestant, hypotension
Eucalyptol (Cineole)	<i>Eucalyptus globulus</i>	Leaf	Myrtaceae	Expectorant, flavoring agent
Galantamine	<i>Galanthus caucasicus</i>	Bulb and Flower	Amaryllidaceae	Alzheimer's disease, memory impairment
Ginkgolide	<i>Ginkgo biloba</i>	Root bark and Leaf	Ginkgoaceae	Dementia, cardiovascular and cerebrovascular diseases
Ginsenoside (Panaxoside)	<i>Panax (ginseng) species</i>	Root	Araliaceae	Heart disease, dyspepsia, aphrodisiac, diabetes, boosts immune system, memory and energy
Glaucine	<i>Glaucium flavum</i>	Root	Papaveraceae	Antitussive, bronchodilator
Glaziovine	<i>Ocotea glaziovii</i>	Bark and Leaf	Lauraceae	Antidepressant
Glycyrrhizin	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Root	Fabaceae	Demulcent, expectorant, flavoring agent for drugs
Guggulsterone	<i>Commiphora wightii</i>	Resin	Burseraceae	Antihyperlipidemic
Harpagoside	<i>Harpagophytum procumbens</i>	Tuber and Root	Pedaliaceae	Analgesic, Rheumatism
Humulene	<i>Humulus lupulus</i>	Cone	Cannabaceae	Analgesic, anti-inflammatory
Lycopene	<i>Tomatoes, other fruits and vegetables</i>			Cancer prevention, heart disease, arteriosclerosis
Menthol	<i>Mentha species</i>	Leaf	Lamiaceae	Rubefacient
Methyl salicylate	<i>Gaultheria procumbens</i>	Leaf	Ericaceae	Lumbago, sciatica, rheumatism
Morphine, Codeine	<i>Papaver somniferum</i>	Latex of immature seed pod	Papaveraceae	Analgesic, antitussive
Nicotine	<i>Nicotiana tabacum</i>	Leaf	Solanaceae	Insecticide

Papain	<i>Carica papaya</i>	Fruit	Caricaceae	Indigestion, skin and wound care, lowers blood pressure
Papaverine	<i>Papaver somniferum</i>	Latex of immature seed pod	Papaveraceae	Visceral spasm, blood vessel relaxant
Parthenolide	<i>Tanacetum parthenium</i>	Flower and Fruit	Asteraceae	Migraine headache
Physostigmine (Eserine)	<i>Physostigma venenosum</i>	Seed	Fabaceae	Glaucoma, Alzheimer's disease
Pilocarpine	<i>Pilocarpus species</i>	Leaf	Rutaceae	Dry mouth, glaucoma
Podophyllotoxin (Podophyllin)	<i>Podophyllum peltatum</i>	Rhizome	Berberidaceae	Anticancer, purgative, genital wart
Pyrethrin	<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	Flower	Compositae	Insecticide
Quinine, Quinidine	<i>Cinchona species</i>	Bark	Rubiaceae	Antimalarial, antipyretic
Quisqualic acid	<i>Quisqualis indica</i>	Seed	Combretaceae	Anthelmintic
Rescinnamine	<i>Rauwolfia species</i>	Root	Apocynaceae	Antihypertensive
Reserpine, Deserpidine	<i>Rauwolfia serpentina</i>	Root	Apocynaceae	Antihypertensive, tranquilizer
Ricinoleic acid	<i>Ricinus communis</i>	Seed	Euphorbiaceae	Purgative, anti-inflammatory
Sanguinarine	<i>Sanguinaria canadensis</i>	Rhizome	Papaveraceae	Dental plaque
Salicin (Aspirin)	<i>Salix alba</i>	Bark	Salicaceae	Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, prevents heart attack
Senoside (Senna)	<i>Senna alexandrina</i>	Leaf	Caesalpinioideae	Laxative
Silymarin	<i>Silybum marianum</i>	Seed	Asteraceae	Liver disease
Strychnine	<i>Strychnos nux-vomica</i>	Seed	Loganiaceae	CNS stimulant
Taxol (Paclitaxel)	<i>Taxus brevifolia</i>	Bark	Taxaceae	Antitumour/anticancer
Tetrahydrocannabinol (THC)	<i>Cannabis sativa</i>	Flower and Leaf	Cannabaceae	Antiemetic, psychoactive
Theobromine	<i>Theobroma cacao</i>	Seed	Malvaceae	Diuretic, myocardial stimulant, vasodilator
Thymol	<i>Thymus vulgaris</i>	Leaf	Lamiaceae	Antiseptic
Valerianic acid	<i>Valeriana officinalis</i>	Root	Caprifoliaceae	Sedative, hypnotic
Vasicine	<i>Adhatoda vasica</i>	Leaf	Acanthaceae	Antispasmodic, oxytocic
Vinblastine, Vincristine	<i>Catharanthus roseus</i>	Leaf	Apocynaceae	Anticancer, antileukemic, Hodgkin's disease
Xanthotoxin	<i>Ammi majus</i>	Leaf	Umbelliferae	Vitiligo

Dari tabel di atas terlihat bahwa banyak sekali senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari berbagai macam tumbuhan. Belum lagi metabolit sekunder yang ditemukan pada mikroba baik yang ada di darat dan di laut. Namun, walaupun banyak senyawa metabolit sekunder yang telah diisolasi dari tanaman obat, tanaman-tanaman obat tersebut mengalami kendala yang lainnya yaitu kepunahan. Hal ini sangat dimungkinkan terjadi karena semakin banyak populasi manusia yang

menghancurkan alam dan tidak diimbangi dengan penanaman kembali. Oleh karena itu, diperlukan usaha bersama antara pemerintah dan masyarakat untuk menjaga tanaman obat tersebut dengan menjadikan lingkungan tanaman tersebut tumbuh sebagai cagar budaya agar dapat dilestarikan dengan baik.

C. Latihan

1. Jelaskan fungsi metabolit sekunder pada tumbuhan!
2. Sebutkan senyawa metabolit sekunder yang pertama kali diisolasi!
3. Mengapa banyak negara berkembang masih bergantung pada tanaman obat?

D. Jawaban

1. Fungsi pada tumbuhan adalah
 - a. Berperan pada dua strategi resistensi yaitu pada label struktur dan menginduksi antibiotik
 - b. Melindungi tumbuhan dari gangguan herbivora dan menghindari infeksi yang disebabkan oleh patogen mikroba
 - c. Menarik serangga dan hewan yang mampu membantu penyerbukan tanaman
 - d. Sebagai agen kompetisi antar tumbuhan
 - e. Memberikan kontribusi yang penting antara tumbuhan dan lingkungannya
2. Morfin adalah senyawa metabolit sekunder yang pertama kali diisolasi
3. Karena keterbatasan obat-obat impor, mudah didapatkan, dan juga tidak memiliki efek samping dan memiliki hasil yang lebih baik

E. Daftar Pustaka

REAKSI DASAR PEMBENTUKKAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER

A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

1. Menjelaskan reaksi-reaksi dasar pembentukkan metabolit sekunder
2. Mengidentifikasi reaksi-reaksi dasar pembentukkan metabolit sekunder
3. Memberdakan reaksi-reaksi dasar pembentukkan metabolit sekunder

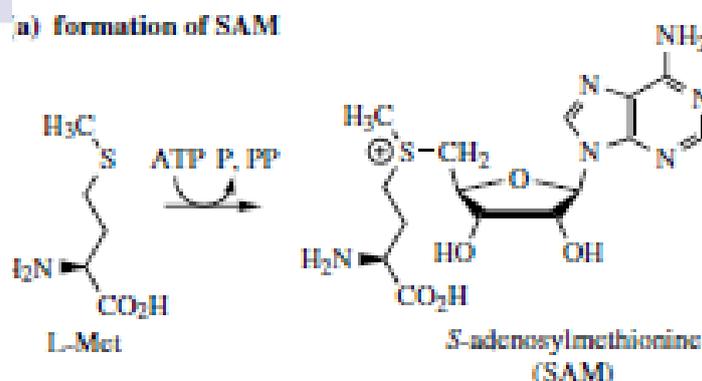
B. Uraian dan Contoh

Senyawa metabolit sekunder diproduksi dengan berbagai reaksi kimia yang dikatalisis oleh enzim. Enzim adalah molekul-molekul protein yang memiliki struktur kuarterner yang memiliki fungsi untuk mempercepat suatu reaksi kimia sehingga hasil yang didapatkan lebih efisien dan efektif dibandingkan tanpa enzim. Dalam beberapa kasus tertentu, kofaktor-kofaktor seperti NAD⁺, PLP, dan HSCoA sangat berpengaruh dalam transformasi senyawa-senyawa metabolit sekunder. Enzim memiliki pengaruh yang sangat besar dalam transformasi senyawa metabolit sekunder sehingga reaksi dapat dilakukan pada kondisi yang lebih bersahabat. Berikut adalah beberapa reaksi dasar dalam pembentukkan senyawa metabolit sekunder:

1. Reaksi Alkilasi

a. Pembentukkan SAM (S-Adenosilmetionin)

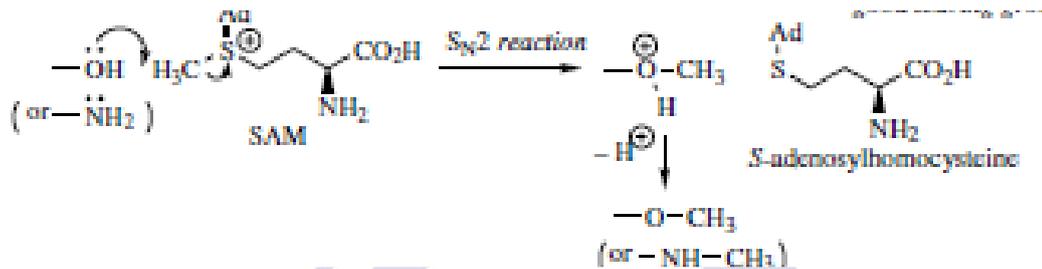
Atom belerang (S) pada SAM memiliki muatan parsial positif. Apabila atom ini mengikat gugus alkil (-CH₃) maka muatan parsial positif tersebut akan pindah ke alkil. Reaksi dapat dilihat pada gambit di bawah ini:



Gambar 1 Pembentuakan SAM

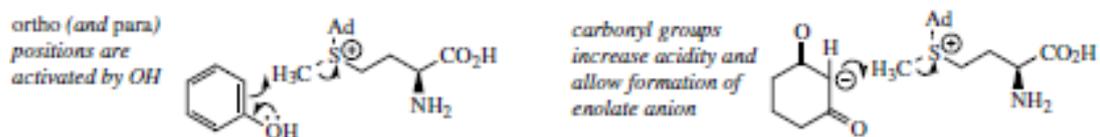
b. Reaksi alkilasi O- dan N- menggunakan SAM

Reaksi alkilasi O- dan N- adalah reaksi dimana alkil akan berikatan dengan O- atau N-. Dalam reaksi berikut SAM berperan sebagai sumber alkil yang bermuatan parsial positif. SAM akan melepaskan gugus metil untuk berikatan dengan O- yang bermuatan parsial negatif dan membentuk metoksi atau berikatan dengan N- yang juga bermuatan negative



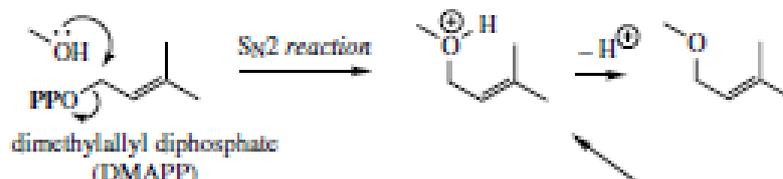
c. Reaksi C-alkilasi menggunakan SAM

Reaksi C-alkilasi adalah reaksi dimana alkil akan berikatan dengan C-. Sumber alkil didapatkan dari SAM



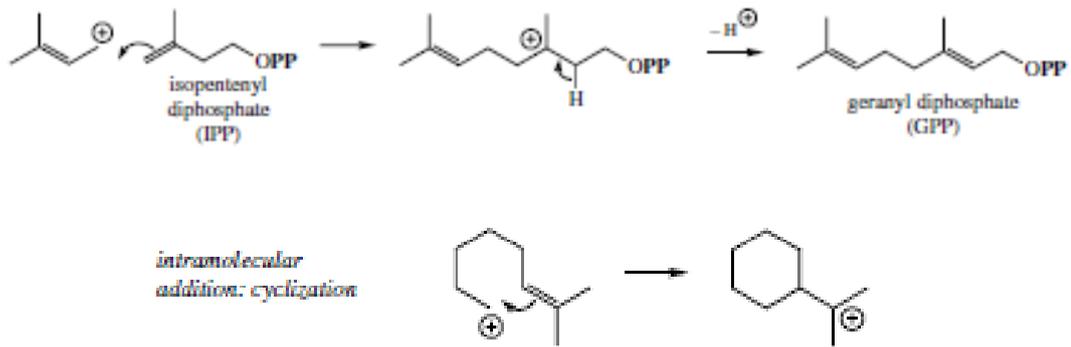
d. Reaksi O-alkilasi menggunakan DMAPP

Sumber alkil pada reaksi ini adalah dari DMAPP, dimana gugus alkil akan berikatan dengan O-.



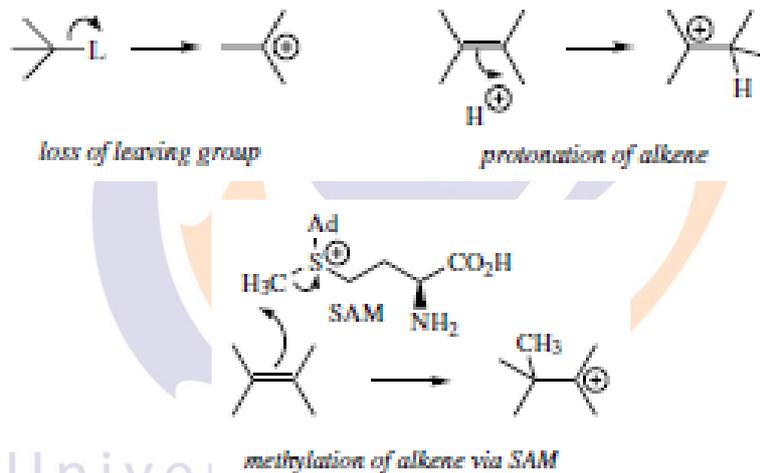
e. Reaksi adisi inter dan intra molecular

Reaksi adisi intermolecular adalah reaksi alkilasi (pembentukan ikatan baru antara C- dengan C-) yang terjadi pada dua senyawa. Sementara reaksi adisi intramolecular adalah reaksi alkilasi (biasanya adalah reaksi pembentukan siklik) dalam suatu senyawa.



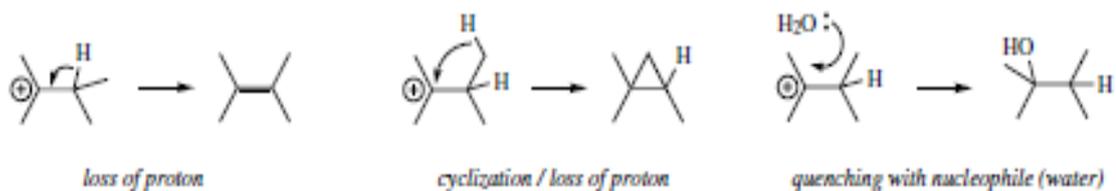
f. Pembentukan karbokation

Karbokation adalah atom C yang hanya berikatan pada tiga atom lainnya (seharusnya C- berikatan dengan empat atom lainnya) sehingga C- bermuatan positif. Pembentukan karbokation dapat terjadi dengan cara kehilangan gugus pergi, protonasi alkena, metilasi alkena menggunakan SAM



g. Penghilangan karbokation

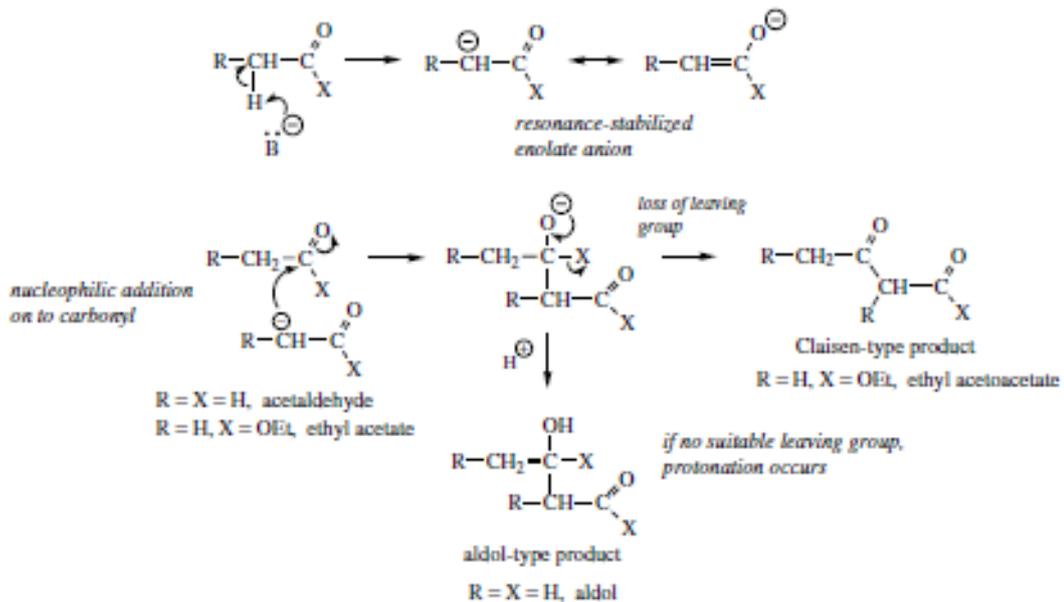
Penghilangan karbokation dapat dilakukan dengan cara pelepasan proton (H⁺), siklisasi, dan berikatan dengan H₂O



2. Reaksi Aldol dan Claisen

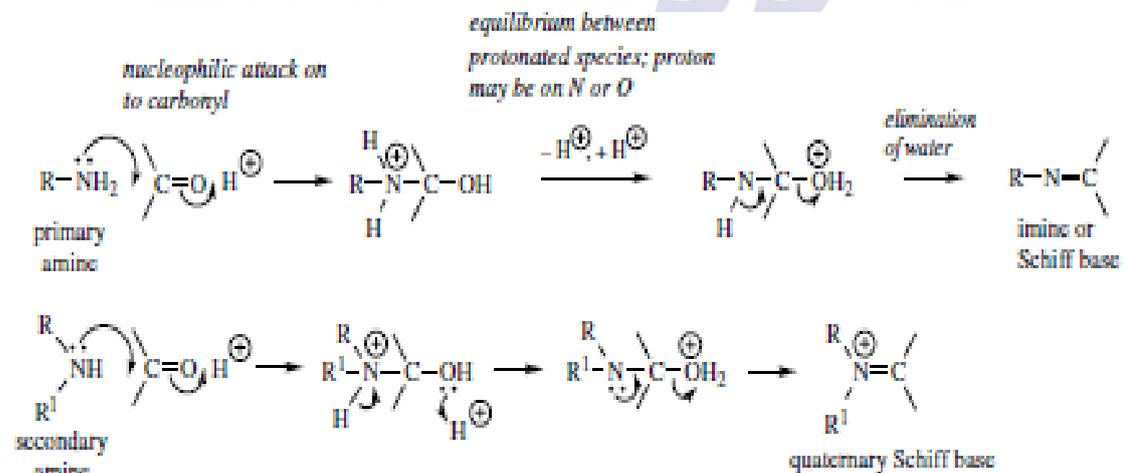
Reaksi aldol dan claisen adalah reaksi pembentukan ikatan karbon dengan karbon dimana reaksi ini dikatalisis oleh suatu basa. Dari reaksi ini akan dihasilkan dua tipe

produk yaitu tipe aldol dan tipe claisen. Reaksi ini akan terjadi tergantung pada kestabilan dari senyawa antara yaitu anion enolat, Produk yang dihasilkan pada reaksi ini bergantung kepada gugus pergi. Jika gugus pergi sulit untuk dilepaskan maka akan dihasilkan produk tipe aldol (terbentuk gugus -OH). Jika gugus pergi mudah untuk dilepaskan maka akan dihasilkan produk tipe claisen. Reaksi ini sangat penting di dalam biokimia untuk pengembangan senyawa metabolit primer dengan metabolit sekunder.



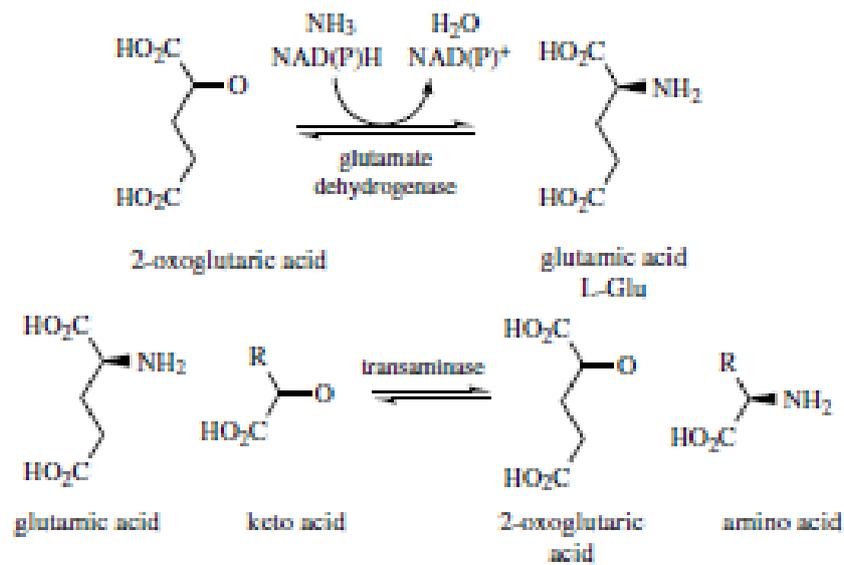
3. Pembentukan Basa Schiff

Pembentukan ikatan antara C- dengan N- biasanya dapat terjadi ketika adanya reaksi kondensasi (penggabungan) antara amina dengan aldehid atau keton. Pembentukan basa Schiff terjadi karena reaksi adisi yang dilanjutkan dengan eliminasi H₂O sehingga dihasilkan basa schiff.



4. Transaminasi

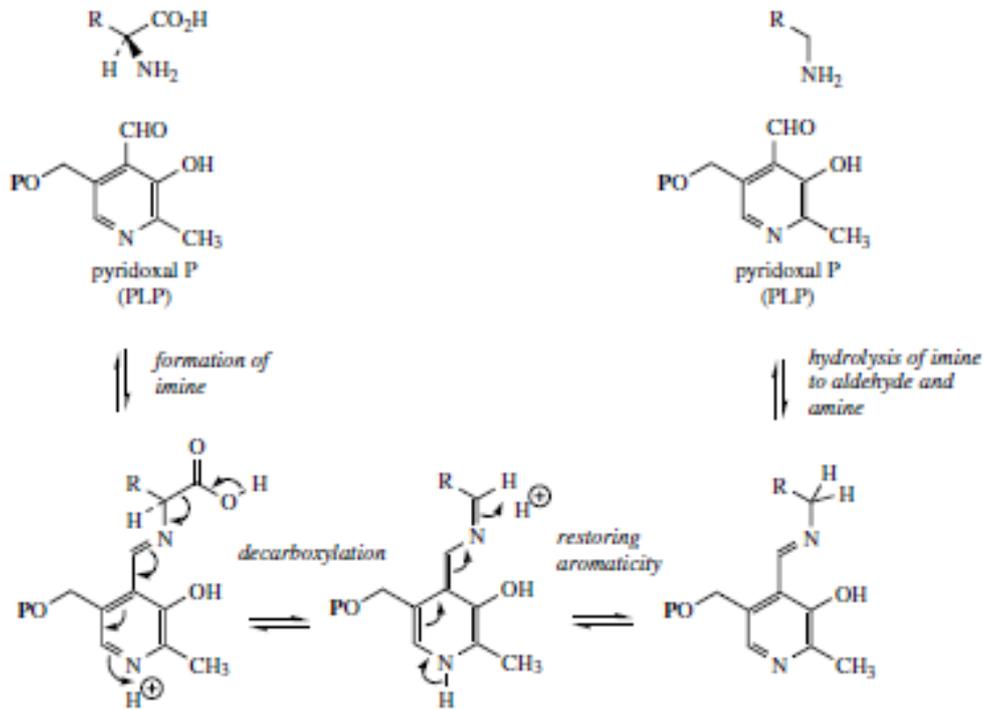
Transaminasi adalah reaksi pertukaran gugus amino dari suatu asam amino menjadi suatu asam keto dan reaksi ini menyediakan hampir semua proses pemberian gugus nitrogen dan penghilangan gugus nitrogen pada asam amino.



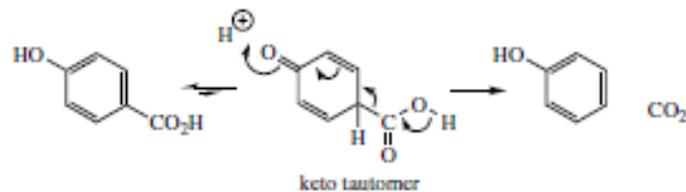
5. Dekarboksilasi

Reaksi dekarboksilasi adalah reaksi pelepasan satu atom karbon dalam bentuk molekul karbondioksida (CO₂). Banyak dari jalur biosintesis senyawa metabolit sekunder melibatkan reaksi dekarboksilasi. Karbon dioksida yang dilepaskan pada reaksi dekarboksilasi dapat berasal dari suatu asam amino, asam β-keto, dan asam α-keto.

a. Dekarboksilasi dari asam amino



b. Asam β-keto



6. Reaksi Oksidasi dan Reduksi

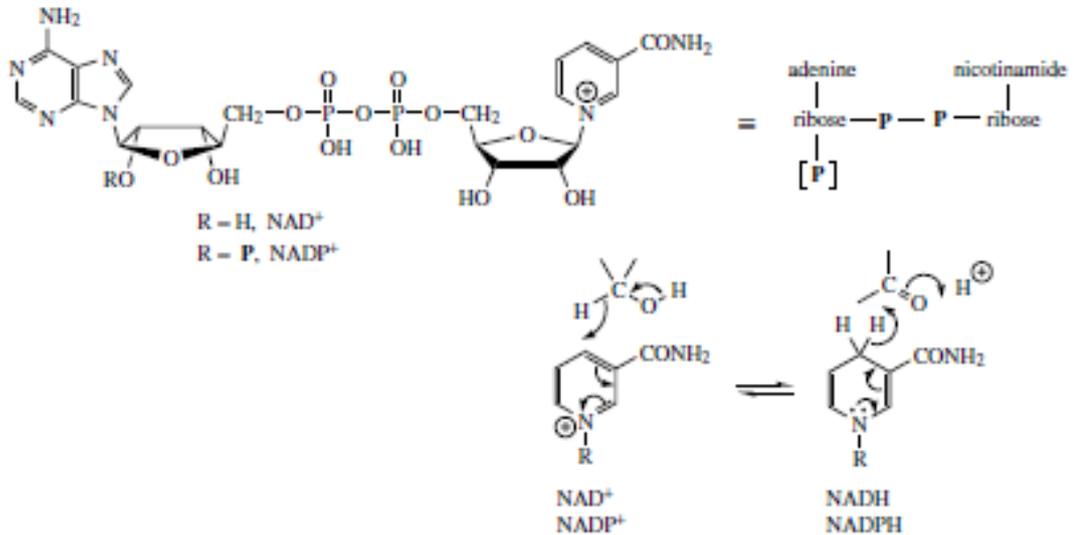
Reaksi reduksi dan oksidasi sangat erat kaitannya dengan adanya atom oksigen dan atom hidrogen, muatan atom dan elektron. Reaksi oksidasi dapat terjadi dengan adanya penambahan oksigen atau pengurangan atom hidrogen. Reaksi oksidasi juga dapat terjadi dengan adanya peningkatan muatan atom dan pelepasan elektron. Sementara reaksi reduksi adalah reaksi kebalikan dari reaksi oksidasi, dimana reaksi reduksi terjadi ketika atom hidrogen bertambah atau atom oksigen berkurang. Berikut adalah beberapa reaksi oksidasi dan reduksi yang sering terlibat dalam jalur biosintesis senyawa metabolit sekunder:

a. Dehydrogenase

Reaksi dehydrogenase sesuai dengan namanya adalah reaksi oksidasi dimana dua atom hidrogen dilepaskan dari suatu substrat dan diberikan kepada koenzim yang

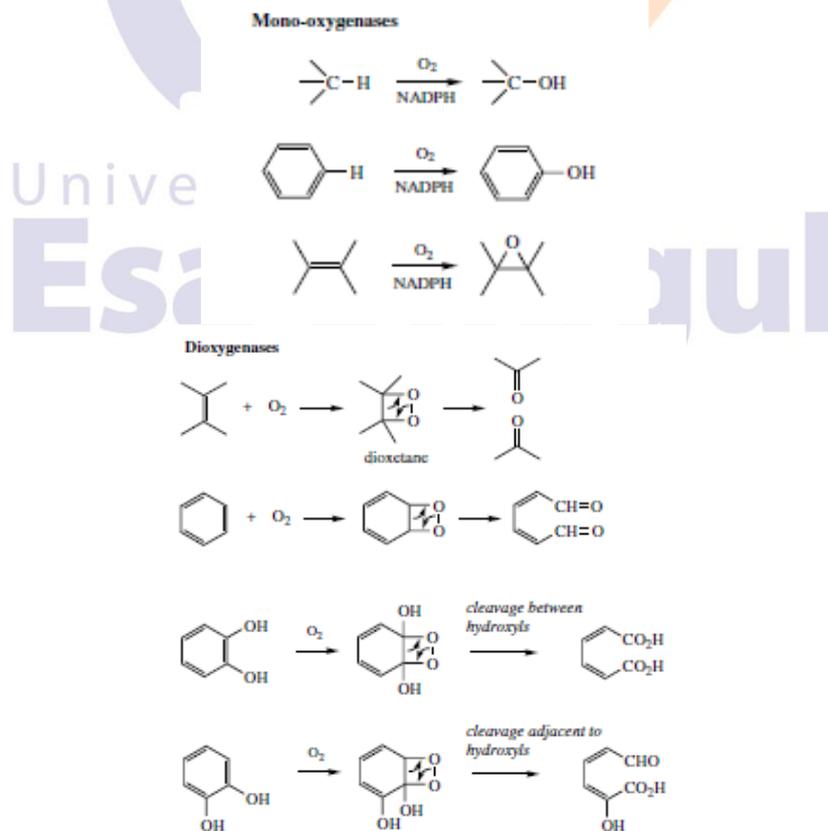
tepat. Koenzim yang menerima hidrogen akan mengalami reaksi reduksi. Koenzim yang biasa terlibat dalam reaksi ini adalah NAD^+ , NADP^+ , FAD .

Dehydrogenases: NAD^+ and NADP^+

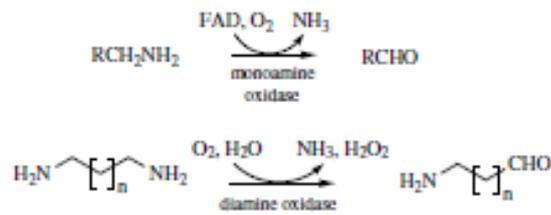


b. Oksigenasi

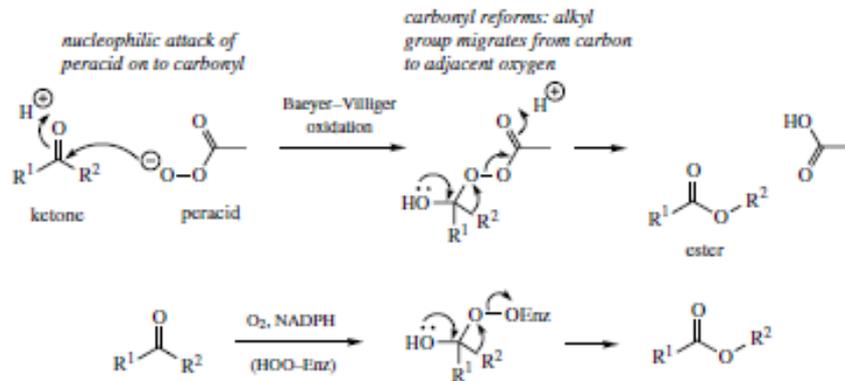
Reaksi oksigenasi termasuk ke dalam reaksi oksidasi dimana terdapat beberapa reaksi oksidasi yang sering terlibat dalam jalur biosintesis metabolit sekunder yaitu mono oksigenase, dioksigenasi, oksidasi amina, dan oksidasi Baeyer-Villager



Amine oxidases



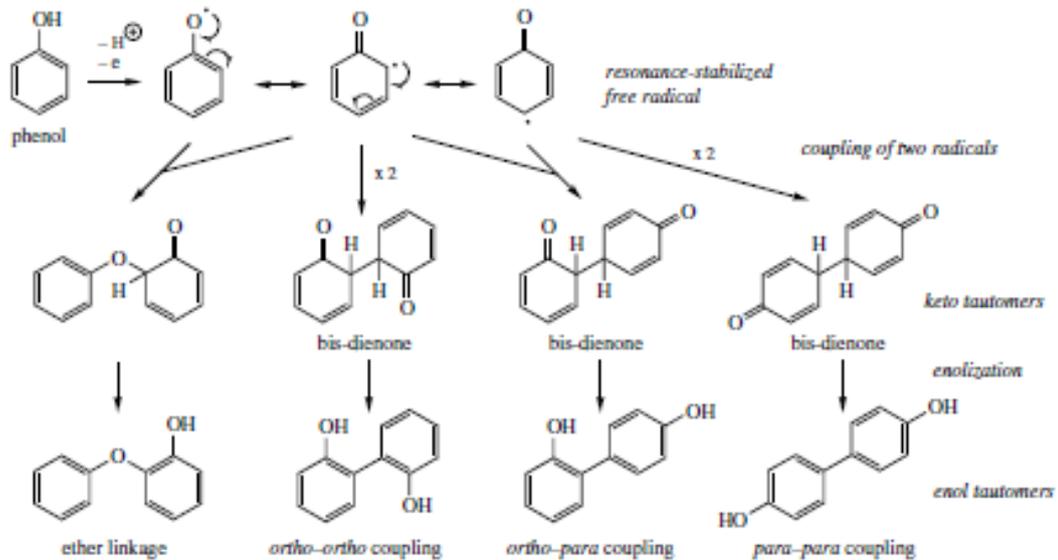
Baeyer-Villiger oxidations



7. Kopling Oksidatif fenolik

Banyak senyawa metabolit sekunder terbentuk dari hasil kopling atau penggabungan dua atau lebih senyawa fenolik melalui reaksi radikal.

Phenolic oxidative coupling

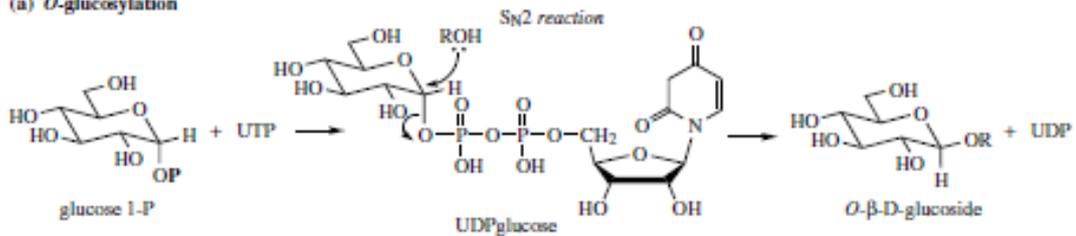


8. Reaksi Glukosilasi

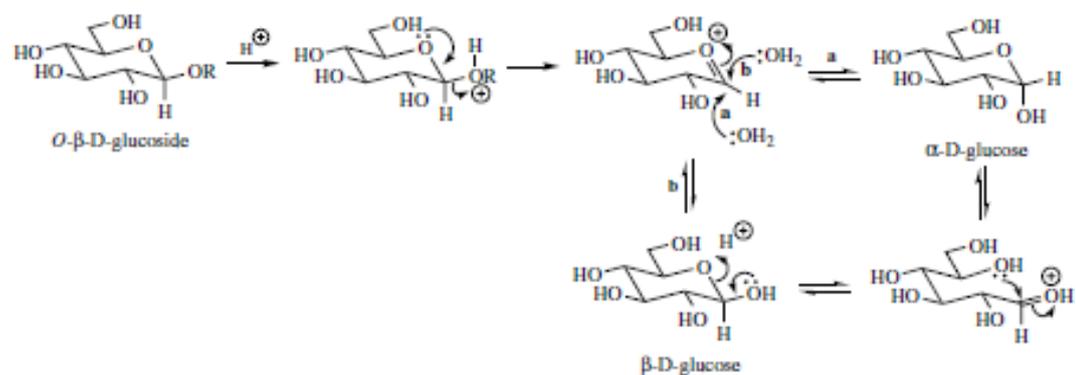
Reaksi glukosilasi adalah suatu proses terikatnya suatu glukosa pada atom atau senyawa pada senyawa metabolit sekunder. Biasanya dalam senyawa metabolit sekunder, glukosa berikatan dengan atom C, S, dan O.

Glycosylation reactions

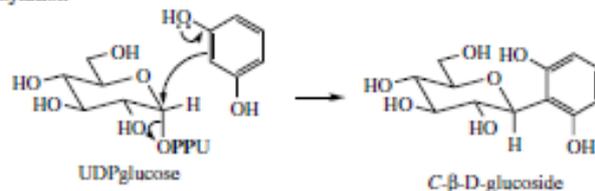
(a) O-glucosylation



(b) hydrolysis of O-glucosides



(c) C-glucosylation



C. Latihan

1. Sebutkan Fungsi Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan!
2. Apakah metabolit sekunder yang dikandung pada tiap tumbuhan sama?
3. Sebutkan reaksi-reaksi dasar yang terjadi pada biosintesis metabolit sekunder!

D. Jawaban

1. Fungsi metabolit sekunder dalam tumbuhan adalah
 - Berperan pada dua strategi resistensi yaitu pada label struktur dan menginduksi antibiotik
 - Melindungi tumbuhan dari gangguan herbivora dan menghindari infeksi yang disebabkan oleh patogen mikroba

- Menarik serangga dan hewan yang mampu membantu penyerbukan tanaman
 - Sebagai agen kompetisi antar tumbuhan
 - Memberikan kontribusi yang penting antara tumbuhan dan lingkungannya
2. Tidak sama karena metabolit sekunder pada tiap tumbuhan memiliki manfaat yang berbeda-beda tergantung lingkungan dimana tumbuhan itu tumbuh
 3. Reaksi transaminasi, reaksi oksida reduksi, reaksi alkilasi, reaksi aldol-claisen

E. Daftar Pustaka

Dewick, Paul M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd ed, London

Saifudin, Azis. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder. Deepublish: Yogyakarta



MODUL 3

TEKNIK ISOLASI DAN PEMURNIAN SENYAWA BAHAN ALAM

EKSTRAKSI

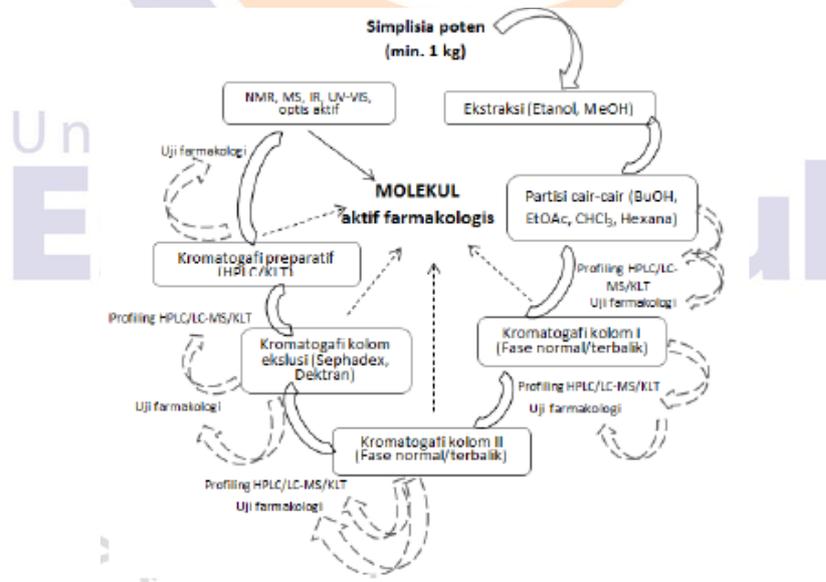
A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan tentang cara-cara isolasi metabolit sekunder
2. Menjelaskan tentang cara-cara ekstraksi
3. Memilih pelarut yang sesuai untuk isolasi metabolit sekunder

B. Uraian dan Contoh

Mengisolasi senyawa metabolit sekunder bukan merupakan pekerjaan yang mudah. Dibutuhkan pengetahuan tentang teknik isolasi dalam mengisolasi senyawa metabolit sekunder. Berikut adalah tahapan yang dilakukan dalam mengisolasi hingga memurnikan metabolit sekunder:



Gambar 1 Diagram Alir Isolasi Metabolit Sekunder

Untuk mampu mendapatkan senyawa metabolit sekunder, terlebih dahulu ada baiknya mempelajari cara-cara untuk mengekstraksi, menfraksinasi, mengisolasi, dan memurnikan metabolit sekunder. Dengan mengetahui cara untuk mengisolasi metabolit sekunder maka nantinya akan lebih mudah untuk mendapat metabolit sekunder.

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan, dimana satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen dipisahkan dengan menggunakan pelarut cair (solven) sebagai agen pemisah. Pada saat ekstraksi, pemilihan pelarut merupakan kunci utama dalam melakukan ekstraksi. Pelarut harus mampu mengekstraksi material yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Proses pemisahan dengan menggunakan ekstraksi terdiri dari tiga langkah utama yaitu:

- a. Penambahan sejumlah massa pelarut untuk dikontakkan dengan sampel melalui proses difusi
 - b. zat terlarut akan terpisah dari sampel dan larut oleh pelarut membentuk fasa ekstrak
- ### 3. Pemisahan fasa ekstrak dengan sampel

Ekstraksi dalam kaitannya dengan senyawa bahan alam adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan dengan menggunakan penyaring tertentu. Dari ekstraksi akan didapatkan ekstrak yaitu sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menark komponen-komponen kimia aktif yang terdapat pada tumbuhan atau mikroba. Saat ekstraksi, jumlah dan jenis senyawa aktif yang masuk ke dalam cairan pelarut sangat ditentukan oleh jenis pelarut yang digunakan dan meliputi dua fasa yaitu fasa pembilasan dan fasa ekstraksi. Pada fasa pembilasan, pelarut akan membilas komponen-komponen isi sel yang telah pecah pada proses penghancuran sebelumnya. Pada fasa ekstraksi, pertama akan terjadi pembengkakan dinding sel dan pelonggaran kerangka selulosa dinding sel sehingga pori-pori dinding sel menjadi melebar yang menyebabkan pelarut dapat masuk ke dalam sel. Kemudian, isi sel akan terlarut ke dalam pelarut yang sesuai dengan tingkat

kelarutannya dan berdifusi keluar akibat adanya gaya yang ditimbulkan karena perbedaan konsentrasi pelarut yang terdapat di dalam dan luar sel. Agar pelarut dapat menjangkau semua tempat di dalam sel maka sampel harus dihancurkan sampai halus terlebih dahulu. Serbuk yang terlalu halus akan menyebabkan larutan keruh atau terbentuk dispersi yang mengganggu kedua proses tersebut.

Secara umum, ekstraksi digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi cair-cair senyawa yang dipisahkan terdapat di dalam cairan, sementara pada ekstraksi padat-cair senyawa yang dipisahkan terdapat di dalam padatan.

- Metoda ekstraksi padat-cair

Dalam metoda ekstraksi ini, ada dua macam ekstraksi yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas

1. Ekstraksi cara dingin: Dalam metoda ini, pemanasan tidak dilakukan selama proses ekstraksi dengan tujuan supaya senyawa yang dicari tidak menjadi rusak karena ada beberapa senyawa yang akan rusak jika dilakukan pemanasan. Berikut adalah beberapa metoda ekstraksi cara dingin:

- a. Maserasi: maserasi adalah metoda ekstraksi dengan menggunakan pelarut diam atau dengan adanya pengadukan beberapa kali dalam suhu ruang. Dalam metoda ini, perendaman dapat dilakukan selama 24 jam atau lebih dari 24 jam. Jika dilakukan lebih dari 24 jam maka pelarut harus diganti tiap 24 jam dan pelarut yang diganti disimpan untuk selanjutnya dipekatkan. Biasanya metoda ini dilakukan tidak lebih dari tiga hari karena dalam waktu tiga hari semua senyawa bahan alam yang diinginkan telah terekstraksi dengan baik. Maserasi merupakan metoda ekstraksi yang sering dipakai karena sangat mudah dilakukan dan juga pelarutnya mudah didapat. Akan tetapi, metoda ini juga memiliki kelemahan yaitu waktu yang dibutuhkan ekstraksi cukup lama dan juga memerlukan pelarut yang tidak ramah lingkungan dalam jumlah besar.



Gambar 1 Maserasi

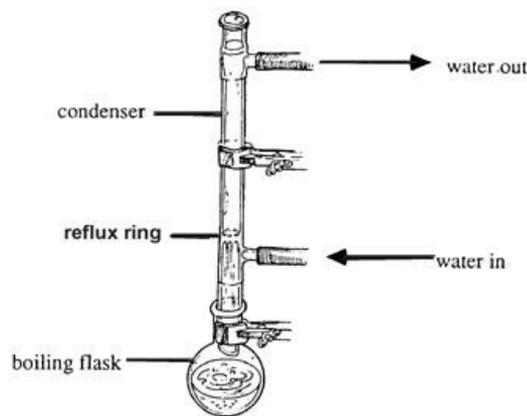
b. Perkolasi: Perkolasi adalah metoda ekstraksi dengan menyusun sampel di dalam bejana berbentuk segitiga, setelah itu pelarut akan dialiri dimana menggunakan pelarut yang selalu baru. Pelarut akan terus dialiri hingga tidak ada lagi senyawa yang tersisa pada sampel yang ditandai dengan warna pelarut yang tidak berwarna lagi. Metoda ini juga dilakukan pada suhu ruangan. Namun, metoda ini jarang sekali digunakan. Kelebihan dari metoda ini adalah tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan sampel dengan ekstrak karena pelarut terus dialiri, namun kekurangan dari metoda ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang tidak ramah lingkungan dalam jumlah besar dan prosesnya juga membutuhkan waktu yang lama. Selain itu, kekurangan lainnya adalah pada perkolasi tidak meratanya kontak antara sampel dengan pelarut.



Gambar 2 Perkolasi

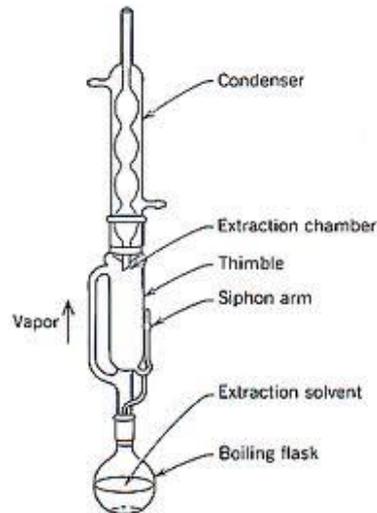
2. Ekstraksi cara panas: Dalam metoda ini ekstraksi dilakukan dengan cara pemanasan. Panas dapat membantu proses ekstraksi dibandingkan pada suhu ruang. Berikut adalah beberapa metoda ekstraksi cara panas:

a. Refluks: Metoda refluks merupakan metoda ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut yang digunakan selama waktu dan jumlah pelarut tertentu. Pada saat refluks, digunakan juga kondensor yang berfungsi untuk mendinginkan reaksi. Umumnya pada metoda refluks dilakukan pengulangan hingga tiga kali sampai lima kali. Kelebihan dari metoda inia adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan dapat diekstrak dengan metoda refluks. Kekurangan dari metoda ini adalah sampel yang digunakan tidak bisa banyak dan juga memakai pelarut yang cukup banyak



Gambar 3 Alat Refluks

b. Soxhlet: Metoda soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan biasanya dilakukan dengan menggunakan alat khusus sehingga ekstraksi dilakukan secara konstan dengan adanya pendingin baik (kondensor). Sampel padatan pada metoda ini disimpan dalam alat soxhlet dan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Pelarut kemudian menjadi dingin ketika melewati kondensor dan mengekstraksi sampel. Kelebihan pada metoda ini adalah proses ekstraksi berlangsung secara berkala dan memerlukan waktu yang relatif cepat. Sementara, metoda ini juga memiliki kelemahan yaitu dapat menyebabkan rusaknya senyawa bahan alam yang tidak tahan panas karena pemanasan dilakukan pada suhu tinggi.



Gambar 4 Alat Soxhletasi

Ekstraksi yang dilakukan di atas semuanya menggunakan pelarut, oleh karena itu pelarut adalah salah satu faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi. Faktor-faktor lain yang mempengaruhi ekstraksi adalah:

- a. Jenis pelarut: Jenis pelarut dapat mempengaruhi senyawa yang terekstrak, jumlah zat terlarut yang terekstrak dan kecepatan ekstraksi
- b. Suhu: Kenaikan suhu juga akan meningkatkan kecepatan jumlah zat terlarut ke dalam pelarut
- c. Rasio pelarut dan bahan baku: jika rasio pelarut-bahan baku besar maka akan memperbesar jumlah senyawa yang terlarut dan mengakibatkan laju ekstraksi akan semakin meningkat.
- d. Ukuran partikel: Laju ekstraksi juga akan meningkat jika ukuran partikel semakin kecil. Dalam kata lain, senyawa yang terekstrak akan lebih banyak jika ukuran sampel semakin kecil
- e. Pengadukan: Dengan adanya pengadukan dapat mempercepat terjadinya reaksi antara zat pelarut dan zat terlarut
- f. Lama waktu: Lamanya waktu ekstraksi akan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak karena kontak antara zat pelarut dan sampel menjadi lebih lama

Pelarut adalah benda cair atau gas yang mampu melarutkan padatan, cairan, atau gas dan menghasilkan sebuah larutan. Pelarut yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Sementara, pelarut yang biasa digunakan dalam

bahan senyawa alam adalah pelarut organik. Pelarut organik biasanya memiliki titik didih yang lebih rendah dari air dan juga lebih cepat menguap. Pemilihan pelarut adalah salah satu hal yang sangat penting dalam proses ekstraksi. Berikut adalah syarat pelarut yang dapat digunakan dalam ekstraksi:

1. Memiliki daya larut dan selektivitas terhadap zat terlarut yang tinggi
2. Bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan senyawa yang akan diekstrak
3. Pelarut tidak menyebabkan perubahan kimia pada senyawa yang akan diekstrak
4. Tidak menyebabkan emulsi
5. Tidak korosif
6. Tidak mudah terbakar
7. stabil secara kimia dan termal
8. Memiliki viskositas rendah, sehingga mudah dialirkan
9. Murah dan mudah didapat serta tersedia dalam jumlah banyak
10. Memiliki titik didih yang cukup rendah agar mudah diuapkan
11. Memiliki tegangan permukaan yang cukup rendah.

Dalam ekstraksi senyawa bahan alam, pelarut yang sering digunakan dalam mengekstraksi senyawa yang tidak diketahui strukturnya dan untuk tujuan skrining adalah metanol, etanol 70%, dan etanol 96%. Ketiga pelarut tersebut memiliki daya ekstraksi yang sangat besar sehingga senyawa metabolit sekunder dapat terekstrak dengan baik dalam tiga kali ekstraksi. Kemudian, apabila tujuannya adalah untuk fraksinasi atau pemurnian maka dapat menggunakan pelarut lainnya seperti butanol, etil asetat, kloroform, aseton, dan heksana yang merupakan pelarut yang memiliki sifat ekstraksi terbaik.

Sebelum melakukan isolasi dengan ekstraksi, ada baiknya memahami sifat-sifat sampel secara umum. Sampel yang akan digunakan dalam ekstraksi biasa disebut dengan simplisia. Hampir semua bagian pada tumbuhan dapat dijadikan simplisia. Ekstrak daun adalah ekstrak yang paling sulit untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder karena kompleksnya jaringan yang ada pada tumbuhan dan juga adanya klorofil yang memerlukan metoda tertentu untuk pemisahan. Biji atau rimpang tentunya lebih sederhana dan jauh lebih mudah untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder. Berikut adalah sifat-sifat bahan secara umum pada tumbuhan:

Organ	Keuntungan	Kerugian
<i>Daun</i>	<p>Biasanya organ daun memiliki ketersediaan material yang tinggi.</p> <p>Keragaman golongan metabolit sekunder di dalam daun bermacam-macam mulai dari yang non polar seperti steroid, triterpene. Semipolar seperti flavonoid hingga senyawa polar seperti polifenol dan glikosida atau terpenoid terhidroksilasi.</p>	<p>Kompleksitas jaringan dan matriks nabati paling kompleks dan kandungan kimia sangat beragam sehingga mempersulit pemisahan.</p> <p>Kandungan asam lemak tinggi sehingga paling sulit dalam preparasi.</p> <p>Defatting dengan pelarut heksan atau petroleum eter bisa dilakukan namun perlu diwaspadai kehilangan senyawa yg larut pada solven tersebut (depolarisasi).</p> <p>Cukup sulit mendapatkan isolat metabolit sekunder dalam jumlah banyak dan beragam.</p> <p>Jika isolasi metabolit sekunder maka harus berhati-hati adanya positif palsu yang disebabkan oleh asam lemak.</p>
<i>Buah</i>	<p>Matriks nabati dan jaringan sel tidak terlalu kompleks.</p> <p>Target metabolit semi polar mudah lebih mudah dipisahkan.</p>	<p>Pembuatan simplisia ribet karena harus diiris dirajang dan butuh waktu pengeringan lebih lama.</p> <p>Kandungan metabolit sekunder lebih rendah. Butuh bobot simplisia banyak.</p>

Universitas
Esa Unggul

Organ	Keuntungan	Kerugian
		<p>Kebanyakan berisi metabolit primer (karbohidrat) bersifat polar larut metanol atau air. Kromatografi fase normal atau terbalik tidak terlalu kompatibel dan bisa diaplikasikan.</p> <p>Keberadaan asam lemak kadang mengakibatkan positif palsu pada beberapa uji farmakologi yang bertarget protein/enzim</p>
Kayu	<p>Jaringan lebih sederhana dari daun</p> <p>Mudah mendapatkan senyawa semipolar seperti senyawa golongan fenil propanoid dan modifikasinya yakni lignan dan juga terpenoid kompleks. Tergantung spesies dan familinya jaringan kayu mengandung alkaloid.</p> <p>Biasanya adsorben untuk pemisahan dengan kolom silika dengan sistem solven kombinasi antara heksana dengan etil asetat.</p>	
Kulit buah	<p>Jaringan lebih sederhana dari daun.</p> <p>Mudah mendapatkan senyawa semi polar seperti xanton, polifenol dan terpenoid</p>	
Biji	<p>Jaringan termasuk paling sederhana</p> <p>Meskipun jaringan biji sering mengandung karbohidrat dan asam lemak. Dengan peng-ekstraksi etanol atau etil asetat atau diklorometana (CH_2Cl_2) karbohidrat akan minimal.</p> <p>Mudah mendapatkan senyawa golongan terpenoid, lignan</p>	

Organ	Keuntungan	Kerugian
<i>Bunga</i>	Mudah mendapatkan senyawa golongan piliifenol, flavonoid dan modifikasinya	Negatif palsu, hati-hati dengan senyawa berwarna yang mengganggu uji bioassay dengan metode kolorimetri
<i>Rimpang</i>	Matriks tidak kompleks dengan karbohidrat rendah Mudah mendapatkan senyawa golongan fenil propanoid, terpenoid seperti seskuiterpen atau diterpen dan polifenol glikosida	
<i>Propolis, sarang sarangga, bekatul, dan metabolit binatang</i>	Matriks dan residu nabati tidak kompleks	Kandungan kimia bervariasi tergantung geografi. Konsekuensinya bisa berbeda potensi aktifitas farmakologisnya.

Dalam isolasi senyawa metabolit sekunder ada tiga macam kuantitas metabolit sekunder yaitu:

- Senyawa utama: apabila ditemukan senyawa ini memiliki presentasi lebih besar dari 0,01% dari berat ekstrak simplisia (>100mg/kg simplisia)
- Senyawa minor: apabila ditemukan dalam presentasi kurang dari 0,01%-0,0001% (75-20mg/kg simplisia)
- Senyawa kelumit: apabila ditemukan dalam presentasi kurang dari 0,0001% (5-0,5 mg/kg simplisia)

C. Latihan

1. Apa yang dimaksud dengan ekstraksi?
2. Ada berapa jenis ekstraksi cair-cair?
3. Sebutkan tiga macam kuantitas senyawa metabolit sekunder!

D. Kunci Jawaban

1. Ekstraksi adalah Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan, dimana satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen dipisahkan dengan menggunakan pelarut cair (solven) sebagai agen pemisah
2. ada dua jenis
3. a. Senyawa utama: apabila ditemukan senyawa ini memiliki presentasi lebih besar dari 0,01% dari berat ekstrak simplisia (>100mg/kg simplisia)
- b. Senyawa minor: apabila ditemukan dalam presentasi kurang dari 0,01%-0,0001% (75-20mg/kg simplisia)
- c. Senyawa kelumit: apabila ditemukan dalam presentasi kurang dari 0,0001% (5-0,5 mg/kg simplisia)



FRAKSINASI DAN PEMURNIAN

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

4. Menjelaskan tentang cara-cara isolasi metabolit sekunder
5. Menjelaskan tentang cara-cara fraksinasi dan pemurnian

B. Uraian dan Contoh

Setelah mengetahui metoda-metoda yang digunakan dalam ekstraksi, maka pembahasan selanjutnya adalah tentang fraksinasi dan pemurnian. Ekstraksi merupakan langkah awal dalam mengisolasi senyawa metabolit sekunder. Ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk mengekstrak seluruh senyawa metabolit sekunder yang berpotensi untuk diisolasi. Jadi ketika melakukan ekstraksi jarang sekali hanya untuk mengisolasi senyawa tertentu karena memang senyawa yang akan diisolasi belum dapat ditentukan strukturnya.

Setelah melakukan ekstraksi maka tahap selanjutnya adalah fraksinasi dan pemurnian. Setelah didapatkan rendeman hasil ekstraksi yang maka rendeman tersebut selanjutnya akan dipekatkan dengan cara menguapkannya menggunakan rotary evaporator. Penguapan dilakukan hingga didapatkan ekstrak yang sangat pekat sekali. Ekstrak tersebut kemudian disebut dengan ekstrak kasar. Ekstrak kasar tersebut akan dilakukan skrining terlebih dahulu dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).



Gambar 1 Rotary Evaporator

Skринing dengan menggunakan KLT sangatlah berguna dalam menentukan apakah ekstrak tersebut potensial untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder. Jika tidak potensial maka lebih baik tidak dilanjutkan kembali. Jika potensial maka langkah selanjutnya adalah menentukan pelarut untuk digunakan dalam fraksinasi. Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu zat dari campuran zat tersebut dimana pemisahan dilakukan berdasarkan kepolarannya atau kelarutannya di dalam pelarut tertentu. Dalam fraksinasi terdapat berbagai metoda dan pemilihan metodenya berdasarkan pada beberapa faktor seperti sifat senyawa yang terdapat dalam ekstrak, kemanan, ketersediaan dan harga peralatan juga bahan yang akan digunakan. Dalam fraksinasi metoda yang sering digunakan adalah kromatografi.

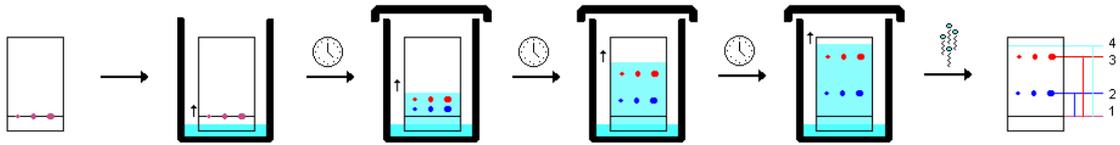
Kromatografi adalah teknik pemisahan zat dari campuran berdasarkan perbedaan migrasi komponen-komponen tersebut dari fase diam oleh fase gerak. Pemisahan ini dilakukan berdasarkan sifat senyawa yaitu:

1. Memiliki kelarutan yang berbeda terhadap suatu pelarut
2. Memiliki sifat kelarutan atau sifat untuk berikatan yang berbeda satu dengan lainnya dalam fasa diamnya
3. Memiliki sifat mudah menguap pada temperatur yang berbeda.

Di dalam kromatografi dikenal dengan fase diam dan fasa gerak. Fasa gerak dapat berupa cairan atau gas, sementara fasa diam dapat berupa butiran padat, butiran padat berongga, atau lapisan tipis cairan yang disangga oleh padatan. Berikut adalah jenis-jenis kromatografi yang sering digunakan dalam fraksinasi:

a. Kromatografi lapis tipis:

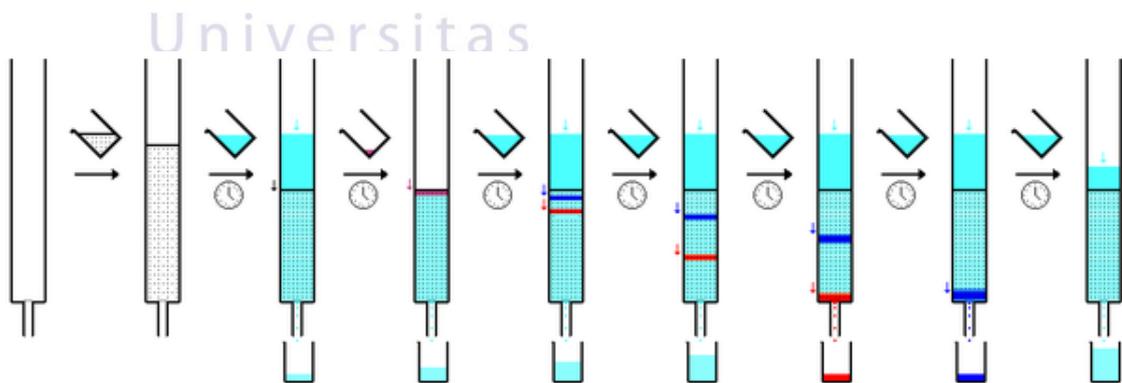
merupakan suatu teknik kromatografi yang digunakan untuk memisahkan campuran yang tidak volatil dimana fasa diamnya adalah plat dengan lapisan silika, dan fasa geraknya adalah larutan. Keuntungan menggunakan KLT adalah sederhana dan murah. Fasa gerak dalam KLT disebut juga dengan eluen. Pemilihan eluen berdasarkan pada polaritas senyawa dan biasanya merupakan campuran beberapa cairan yang berbeda polaritasnya agar dapat memisahkan senyawa polar dan nonpolar. Pemilihan eluen dilakukan berdasarkan trial and error.



Gambar 2 Proses KLT

b. Kromatografi kolom:

Kromatografi kolom adalah salah satu metoda yang digunakan untuk pemurnian senawa dari campuran dengan menggunakan kolom. Fasa gerak dalam kromatografi ini adalah campuran larutan (eluen) dimana pemilihan eluen berdasarkan hasil KLT yang harus dapat memisahkan dengan baik senyawa metabolit sekunder dalam ekstraknya. Sementara fasa gerak dalam kromatografi kolom adalah silika yang bersifat polar. Berdasarkan cara kerjanya ada dua metoda yaitu metoda kering dan metoda basah. Pada metoda kering, kolom diisi dengan fasa diam kering yang diikuti dengan penambahan fasa gerak yang disiramkan pada kolom hingga benar-benar basah. Pada metoda basah, bubuk silika disiapkan terlebih dahulu dengan mencampurkan eluen pada serbuk fasa diam dan dimasukkan secara perlahan ke dalam kolom. Kemudian eluen akan dituangkan pelan-pelan melewati kolom. Kekurangan dari metoda ini adalah pemisahan membutuhkan waktu yang lama, sementara kelebihanannya adalah metoda ini dapat memisahkan senyawa metabolit sekunder yang kepolarannya berdekatan



Gambar 3 Kromatografi Kolom

c. Kromatografi Vakum-Cair (KVC):

Merupakan salah satu metoda kromatografi yang memanfaatkan kolom yang berisi fasa diam dan aliran fasa geraknya dibantu dengan pompa vakum. Prinsipnya adalah

adsorpsi dan partisi yang dipercepat bantuannya dengan pompa vakum. Keuntungan dari menggunakan metoda ini adalah prosesnya cepat, senyawa tertarik secara sempurna, dan juga dapat menggunakan sampel yang cukup banyak. Kekurangan dari metoda ini adalah pemisahannya kurang maksimal karena senyawa yang ditampung dari hasil pemisahan masih bercampur sehingga dibutuhkan pemisahan lagi.



Gambar 4 Kromatografi Vakum-Cair (KVC)

d. Kromatografi Radial:

Kromatografi radial adalah salah satu teknik kromatografi yang memanfaatkan gaya sentrifugal. Kromatografi ini menggunakan rotor yang dimiringkan dan terdapat dalam ruang tertutup oleh plat kaca yang disebut kromatotron. Plat tersebut dipasang pada motor listrik dan diputar pada kecepatan 800rpm. Eluen dialirkan ke dalam kromatotron dan aliran eluen dapat diatur. Untuk mengetahui jalannya elusi maka proses elusi dapat dicek dengan menggunakan sinar UV. Fasa gerak yang digunakan dalam kromatografi ini adalah eluen sementara fasa diam yang digunakan dalam kromatografi radial adalah silika. Kelebihan pada kromatografi ini adalah waktu yang dibutuhkan tidak terlalu lama dan juga dapat memisahkan ekstrak dengan baik. Sementara kekurangannya adalah jika ada senyawa yang kepolarannya berdekatan maka akan sulit dipisahkan.

Gambar 5 Kromatografi Radial

C. Latihan

1. Apa yang dimaksud dengan fraksinasi?
2. Metoda apa yang sering digunakan pada fraksinasi?
3. Jelaskan tentang metoda kromatografi radial!

D. Kunci Jawaban

1. Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu zat dari campuran zat tersebut dimana pemisahan dilakukan berdasarkan kepolarannya atau kelarutannya di dalam pelarut tertentu.
2. Metoda yang sering digunakan KLT, Kromatografi kolom, kromatografi vakum cair, kromatografi radial
3. Kromatografi radial adalah salah satu teknik kromatografi yang memanfaatkan gaya sentrifugal. Kromatografi ini menggunakan rotor yang dimiringkan dan terdapat dalam ruang tertutup oleh plat kaca yang disebut kromatotron Plat tersebut dipasang pada motor listrik dan diputar pada kecepatan 800rpm. Eluen dialirkan ke dalam kromatotron dan aliran eluen dapat diatur. Untuk mengetahui jalannya elusi maka proses elusi dapat dicek dengan menggunakan sinar UV. Fasa gerak yang digunakan dalam kromatografi ini adalah eluen sementara fasa diam yang digunakan dalam kromatografi radial adalah silika.

E. Daftar Pustaka

- Dewick, Paul M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd ed, London
- Saifudin, Azis.2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder. Deepublish: Yogyakarta



Universitas
Esa Unggul

PEMURNIAN SENYAWA METABOLIT SEKUNDER

E. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

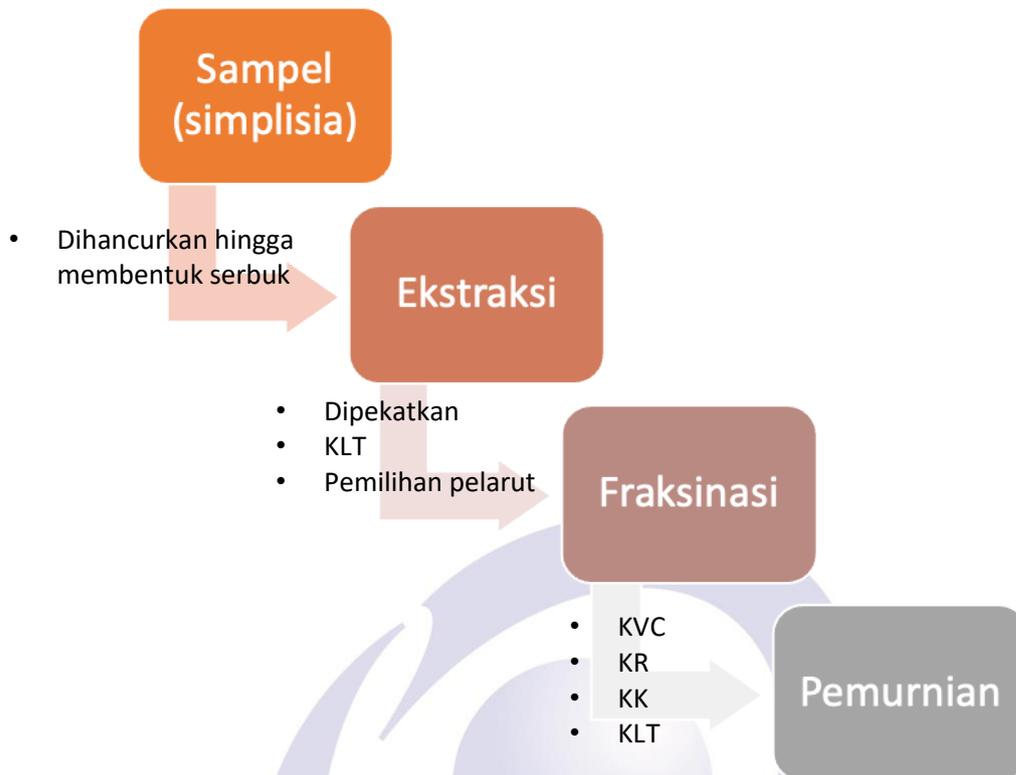
Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan teknik pemurnian senyawa metabolit sekunder
2. Memilih pelarut yang sesuai dalam pemurnian

F. Uraian dan Contoh

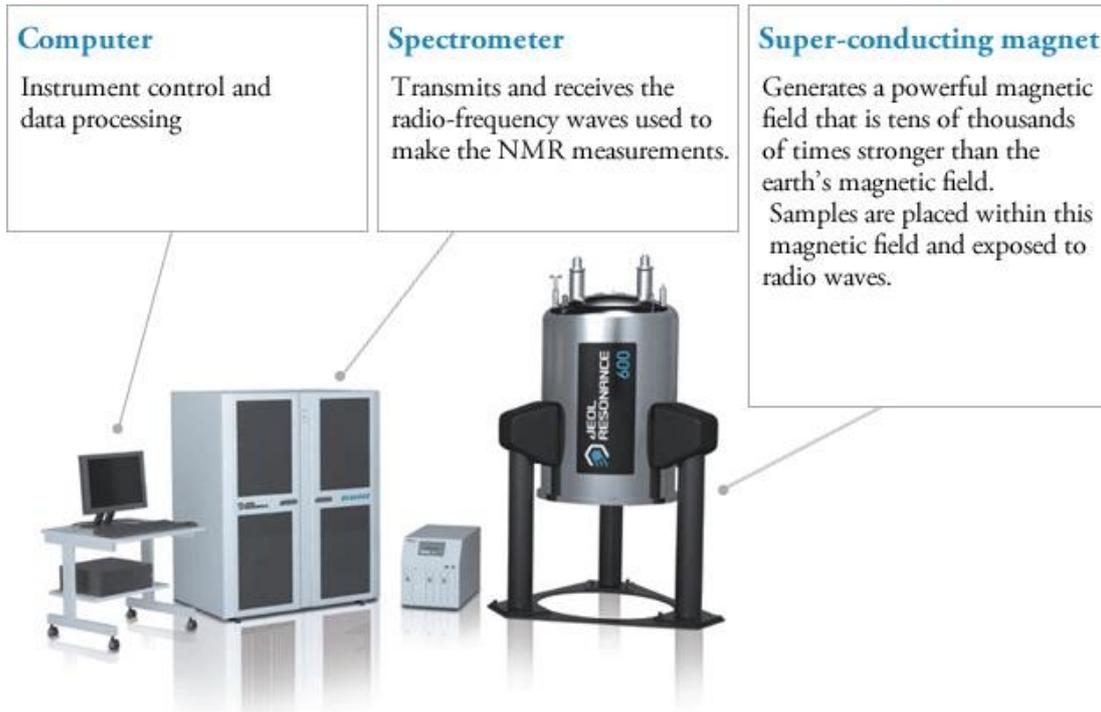
1. Pemurnian

Pada modul sebelumnya telah dibahas tentang ekstraksi dan fraksinasi untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder. Selanjutnya akan di bahas tentang teknik pemurnian senyawa metabolit sekunder. Setelah ekstraksi dilakukan, kemudian akan dilakukan skrining terlebih dahulu dengan menggunakan KLT yang berfungsi untuk melihat apakah sampel yang digunakan potensial dan untuk memilih pelarut yang tepat dalam fraksinasi. Kemudian, fraksinasi dilakukan dengan berbagai macam metoda kromatografi dan setiap selesai melakukan kromatografi, maka hasil yang didapatkan harus dicek menggunakan KLT. Dengan melihat hasil dari KLT, maka kita dapat mengambil langkah selanjutnya. Apakah hasil yang kita dapat dapat masuk ke dalam tahap pemurnian atau masih harus difraksinasi kembali. Jika dari hasil KLT hanya tersisa dua senyawa murni maka kita dapat langsung masuk ke tahap pemurnian. Berikut adalah rangkuman dari bagan kerja isolasi senyawa metabolit sekunder.



Gambar 1 Diagram alir isolasi senyawa bahan alam

Pemurnian adalah tahap terakhir dari senyawa bahan alam. Jika hasil KLT dari fraksinasi telah didapatkan 2 senyawa dengan perbedaan kepolaran berbeda jauh maka kromatografi radial dapat digunakan untuk memurnikan senyawa tersebut. Namun, apabila kepolarannya tidak berbeda jauh maka digunakan kromatografi kolom untuk memisahkan kedua senyawa tersebut. Setelah dilakukan pemurnian dan didapatkan senyawa murni maka senyawa murni tersebut dapat dipekatkan hingga semua pelarut menguap. Tahap selanjutnya adalah karakterisasi dari senyawa murni yang telah didapatkan. Karakterisasi menggunakan suatu alat yang bernama NMR (Nuclear Magnetic Resonance). NMR merupakan alat yang sangat penting dalam penentuan kerangka senyawa bahan alam yang berhasil diisolasi. Untuk karakterisasi dengan menggunakan NMR tidaklah murah karena pelarut yang digunakan dalam karakterisasi cukup mahal. Hasil dari NMR adalah spektrum-spektrum NMR yang akan diolah kembali dengan software tertentu. Penentuan struktur dengan membaca spektrum NMR tidaklah mudah, dibutuhkan satu mata kuliah tersendiri untuk mempelajari cara membaca spektrum NMR.



Gambar 2 Alat NMR

Setelah ditentukan struktur dari senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi maka tahap selanjutnya adalah melakukan pengujian terhadap senyawa metabolit sekunder tersebut. Pengujian yang dapat dilakukan ada berbagai macam, yaitu sebagai antioksidan, antibakteri, antifungi, antikanker, antidiabetes, antiinflamasi, dll. Selain pengujian di atas, senyawa metabolit sekunder juga dapat digunakan dalam bidang kosmetika, pangan, dll. Pengujian yang dilakukan tergantung dari tujuan awal dari isolasi dan juga dari literature yang ada.

C. Latihan

1. Apa metoda yang dapat digunakan untuk melakukan pemurnian?
2. Apa kepanjangan dari NMR?

D. Jawaban

1. Kromatografi kolom dan kromatografi radial
2. Nuclear Magnetic Resonance

MODUL 4

BIOTEKNOLOGI KELAUTAN

BIOTEKNOLOGI KELAUTAN

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Menjelaskan tentang manfaat bioteknologi kelautan
2. Menjelaskan tentang bioteknologi kelautan

B. Uraian dan Contoh

Indonesia adalah negara kepulauan dan kemaritiman yang paling besar yang diakui oleh dunia dimana 2/3 dari negara Indonesia adalah laut. Dengan besarnya laut Indonesia maka tentunya potensi laut yang ada di Indonesia juga sangat besar dan beragam. Hal ini terlihat dari ditemukannya banyak ikan di laut Indonesia yang hampir punah dan hanya terdapat di Indonesia. Akan tetapi, hingga saat ini potensi laut yang ada di Indonesia belum di eksplorasi dan dimanfaatkan secara maksimal baik oleh pemerintah dan para peneliti. Ada 11 sektor ekonomi kelautan yang dapat dioptimalkan lebih lanjut untuk mewujudkan kemajuan dan kemandirian Indonesia:

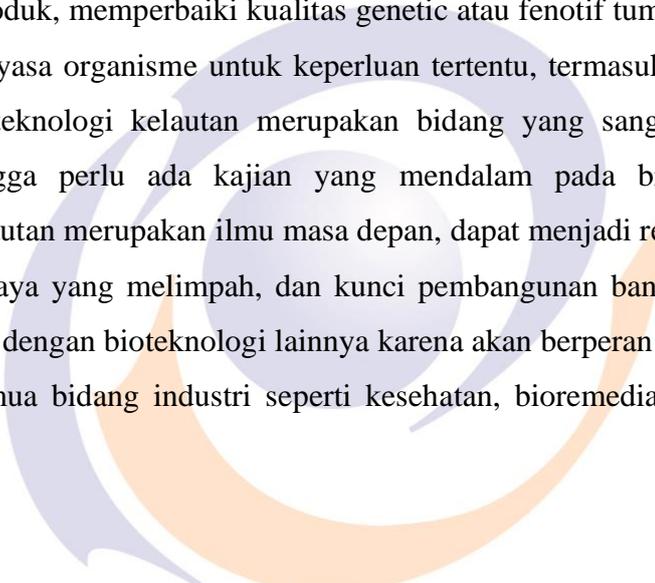
1. Perikanan tangkap
2. Perikanan budidaya
3. Industri pengolahan hasil perikanan
4. Industri bioteknologi kelautan
5. ESDM
6. Pariwisata bahari
7. Perhubungan laut
8. Sumberdaya pulau-pulau kecil
9. Garam
10. Industri dan jasa maritime
11. Sumberdaya non-konvensional

Potensi sumber daya kelautan yang ada di Indonesia tersebut dapat mencapai 7200 triliun per tahun dan dapat membuka lapangan kerja untuk 40 juta orang. Dari potensi

sumberdaya kelautan yang ada, industri bioteknologi kelautan adalah sektor industri yang sangat besar karena industri ini belum tersentuh oleh pembangunan.

1. Pengertian bioteknologi kelautan

Bioteknologi kelautan dapat diartikan sebagai semua aspek bioteknologi, baik secara langsung terkait dengan sistem perairan (laut dan tawar) atau yang berasal dari biologi perairan. Pengertian lainnya dari bioteknologi kelautan menurut Lundin dan Zilinskas adalah teknik penggunaan biota laut (seperti sel atau enzim) untuk membuat dan memodifikasi produk, memperbaiki kualitas genetic atau fenotif tumbuhan dan hewan laut, dan merekayasa organisme untuk keperluan tertentu, termasuk untuk perbaikan lingkungan. Bioteknologi kelautan merupakan bidang yang sangat potensial bagi Indonesia sehingga perlu ada kajian yang mendalam pada bidang ini karena bioteknologi kelautan merupakan ilmu masa depan, dapat menjadi revolusi ilmiah dan social, sumber daya yang melimpah, dan kunci pembangunan bangsa. Bioteknologi kelautan berbeda dengan bioteknologi lainnya karena akan berperan besar dan penting pada hampir semua bidang industri seperti kesehatan, bioremediasi, kosmetik, dan nutrasetika.



Universitas
Esa Unggul



Universitas

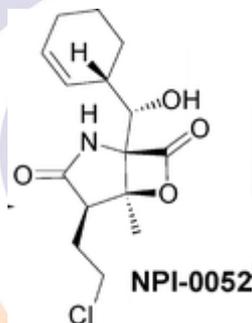
Esa Unggul

Industri bioteknologi secara garis besar dibagi dalam tiga keompok industri yaitu:

1. Ekstraksi senyawa bioaktif (metabolit sekunder) dari biota laut sebagai bahan dasar untuk industri makanan dan minuman, farmasi, kosmetik, cat, perekat, film, kertas, dll.
2. Rekayasa genetic terhadap spesies tumbuhan atau hewan untuk menghasilkan jenis tumbuhan atau hewan baru yang memiliki karakteristik genotif atau fenotif yang lebih unggul dibandingkan yang lainnya
3. Rekayasa genetic dari mikroorganismen sehingga mampu menetralkan bahan pencemar pada laut.

Sebenarnya, Indonesia memiliki potensi industri bioteknologi kelautan terbesar di dunia yang nilainya mencapai US\$50 milyar per tahunnya karena Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati laut terbesar di dunia, baik

Kemudian pada kelompok actinomycetes dari genus salinospora dapat menghasilkan salinosporamid A yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor irreversible proteasome20s dan telah memasuki uji klinis hanya dalam waktu 3 tahun sejak senyawa ini ditemukan. Dengan adanya perkembangan teknologi, maka semakin meningkatkan nilai dari bakteri laut, senyawa yang dihasilkan, dan gen-gen khusus yang dimilikinya. Adanya perkembangan alat-alat yang digunakan dalam mengisolasi senyawa metabolit sekunder dapat semakin mempermudah dalam mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder, bahkan dari beberapa jenis mikroba. Selain itu, penerapan genetika mikroba modern memungkinkan untuk mernacang organisme rekombinan yang dapat menghasilkan senyawa alami secara biosintesis rekombinasi dan biosintesis in-vitro menyeluruh.



Gambar 2 Salinosporamid A

Sebagian besar senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari sianobakteria laut berasal dari kelompok nostacales, dari genus *Lyngbya*, *Oscillatoria*, dan *Symploca*. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan berupa peptide yang telah diubah atau hibrida dari peptide –poliketida yang memiliki aktivitas antitumor. *Symploca sp* menghasilkan largazol dimana strukturnya mengandung tioester dan merupakan struktur baru dari bahan alami laut. Largazol memiliki aktivitas antipembelahan sel terhadap sel-sel epitel kelenjar susu dan sel-sel osterosarkoma fibroblastik yang menjadi sasaran sel-sel kanker. Ada juga senyawa koibamida yang dihasilkan oleh *Leptolyngbya sp* dari Panama dengan kandungan depsipeptida siklis yang kaya akan gugus N-metil dan memiliki aktivitas daya hambat terhadap pembelahan sel-sel kanker. Senyawa lipopeptida somostinamida A juga dapat dikembangkan sebagai antikanker dimana senyawa ini memicu apoptosis pada beberapa sel kanker manusia.



Gambar 3 Largazol

Pengembangan biosintesis dari kelompok sianobakteri menunjukkan kekuatan genetika mikroba untuk melakukan identifikasi asal muasal senyawa metabolit sekunder dan memanfaatkannya untuk menghasilkan produk-produk terapi baru. Deteksi kumpulan gen biosintesis dari genom DNA bakteri penghasil senyawa metabolit sekunder sangat menyita waktu dan biaya. Oleh karena itu, diperlukan teknik pengurutan genom untuk dapat memetakan seluruh genom agar lebih mudah dalam pencarian senyawa baru yang bermanfaat. Pengurutan genom dapat menjanjikan dihasilkannya galur-galur bakteri baru yang dapat mengarah pada penemuan dan penambangan kelompok gen biosintesis tersembunyi yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang belum pernah ditemukan.

Tantangan dalam penelitian metabolit sekunder pada bakteri laut adalah biaya yang sangat besar, kemudian tidak dapat dikulturkannya sebagian besar bakteri laut. Namun masalah tersebut telah diatasi dengan cara teknik metagenomik dan urutan gen. Teknik metagenomik mampu menghasilkan penemuan gen-gen baru yang menghasilkan produk-produk penting seperti lipase, selulase, amilase, kinitase, dan esterase. Tantangan lainnya adalah ketergantungan pada produksi senyawa metabolit sekunder dalam jumlah besar sehingga sulit untuk menghasilkan obat yang baru. Tantangan ini terjadi karena diperlukannya ketersediaan bakteri dalam jumlah besar.

b. Mikroalga

Mikroalga adalah salah satu organisme laut yang dapat dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi kelautan. Mikroalga dapat memberikan makanan yang mendukung hampir semua populasi hewan di laut. Sebagian besar kelas mikroalga dapat ditemui di laut dimana yang paling sering ditemukan adalah diatom (kelas Bacillariophyta)

dinoflagellate (kelas Dinophyta), alga hijau (kelas Chlorophyta), dan alga biru-hijau (Cyanophyta).

Mikroalga dapat menghasilkan berbagai macam senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas yang beragam. Proses yang harus dilewati meliputi mengkultur, memanen, dan memurnikan metabolit sekunder dari biomassa. Proses pemanenan biasanya menjadi lebih mahal daripada mengkulturkannya. Mikroalga merupakan bahan mentah untuk mendapatkan antioksidan dan sebagai bahan pangan fungsional. Bahkan ada senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti antibakteri, antivirus, dan antifungi dapat ditemukan pada mikroalga. *Spirulina platensis* adalah mikroalga yang mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Selain itu, *Dunaliella salina* juga dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan juga. Adanya sifat antioksidan diduga dihasilkan karena adanya kandungan beta-karoten dan isomer-isomernya. Beberapa jenis mikroalga lainnya yang memiliki sifat antioksidan dapat memicu apoptosis pada leukemia dan kanker pada kolon manusia.

Adanya peningkatan permintaan pasar terhadap nutrasetika dan suplemen, mendorong para peneliti untuk mencari organisme yang mampu tumbuh cepat dan menghasilkan senyawa-senyawa yang diinginkan. Oleh karena itu, mikroalga laut dipilih untuk dikembangkan karena memiliki berbagai macam manfaat dalam bidang nutrasetika.

Selain memiliki manfaat yang sangat besar, mikroalga juga mengandung senyawa metabolit sekunder yang beracun atau fikotoksin. Senyawa-senyawa ini dihasilkan utamanya oleh kelompok dinoflagellate dan sianobakteria, khususnya kelompok yang menyebabkan adanya ledakan populasi alga berbahaya. Ada 300 jenis mikroalga yang dapat menyebabkan ledakan populasi dan $\frac{1}{4}$ nya menghasilkan racun. Racun tersebut dapat berdampak pada kesehatan manusia dan hewan dengan dampak toksikologi seperti neurotoksisitas, hepatoksisitas, sitotoksisitas, dan dermatoksisitas.

Mikroalga juga diketahui memiliki senyawa antivirus yang harus diteliti lebih lanjut. Isolasi ekstrak senyawa-senyawa metabolit sekunder dari 600 sediaan sianobakteria memperlihatkan rata-rata 10% mampu menghambat infeksi seluler virus HIV-1, HIV-

2, dan sinitium. Senyawa sianovirin-N memperlihatkan aktivitas potensial virus terhadap HIV yaitu dengan menghambat interaksi antara glikoprotein gp120 virus dengan CD4. Senyawa ini sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat topical vagina yang dapat membunuh HIV.

Mikroalga juga menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki sifat antikanker. Senyawa baru klorosifolipida yang diisolasi dari *Poteriochromonas malhamensis* menunjukkan adanya kemampuan dalam menghambat kerja protein tirosin kinase. Makrolida sitofisin turunan poliketida yang diisolasi dari *Scytonema pseudohofmanni* juga menunjukkan kemampuan dalam menghambat berbagai sel mamalia, termasuk sel karsinoma mirip epidermis. Senyawa tersebut juga memperlihatkan mampu melawan leukemia limfositik dan karsinoma paru-paru yang ditanam secara intraperitoneal. *Nostoc sp* juga menghasilkan kriptofisin yang menunjukkan aktivitas sebagai antikanker yang potensial dan sitonemin yang berhasil diisolasi dari *Stigonema sp* dapat menghambat protein serin atau treonin kinase yang mampu memberikan aktivitas pembelahan sel dan peradangan.

c. Rumput laut

Rumput laut termasuk ke dalam kelompok makroalga dan sering digolongkan pada Thallophyta yang artinya tumbuhan tingkat rendah yang tidak dapat dibedakan struktur akar, batang, dan daunnya. Rumput laut dibedakan menjadi tiga kelompok berdasarkan pigmennya yaitu merah, coklat, dan hijau. Secara sistematis rumput laut dibagi ke dalam tiga kelas yaitu Rhodophyta, Chlorophyta, dan Phaeophyta

Di Indonesia, hingga saat ini pemanfaatan senyawa metabolit sekunder dari rumput laut yang memiliki nilai ekonomis sangat tinggi masih sangat sedikit sekali. Umumnya rumput laut banyak digunakan sebagai sumber agar dan karaginan atau digunakan sebagai campuran bahan makanan. Penelitian tentang senyawa metabolit sekunder dari rumput laut juga masih jarang sekali dilakukan oleh peneliti di Indonesia. Penelitian tentang skrining untuk mencari atau mendapatkan senyawa alami dari rumput laut yang memiliki aktivitas antibakteri juga sangat sedikit padahal penelitian ini sangat penting karena penggunaan antibiotik yang ada di pasaran sudah tidak dapat mengatasi tingkat resistensi dari bakteri patogen terhadap manusia.

Temuan tentang rumput laut yang mampu menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antimikroba tentunya akan menjadi nilai tambah untuk rumput laut dan juga memperlihatkan potensi yang sangat besar yang tersimpan di dalam laut Indonesia. Dengan hal ini, para pembudidaya dan masyarakat setempat dapat meningkatkan pendapatannya dengan membudidayakan rumput laut yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai antibakteri.

Pada kawasan pesisir Yogyakarta terdapat rumput laut yang diduga memiliki potensi yang sangat besar untuk dimanfaatkan kandungan senyawa alaminya. Beberapa penelitian awal tentang sifat antibiotic atau antimikroba dari beberapa rumput laut di pesisir Yogyakarta setidaknya telah memperlihatkan hasil awal yang menjanjikan. Diperkirakan ada 550 jenis rumput laut yang dijumpai di seluruh perairan laut Indonesia.

Rumput laut secara umum telah dimanfaatkan manusia sebagai sumber makan, sumber farmasi, dan nutrasetika. Contohnya pada rumput laut *Ochtodes secubdiramea* memiliki kandungan senyawa monoterpen berhalogen yang bermanfaat untuk pengobatan. Rumput laut merah *Callophycus serratus* memiliki sepuluh struktur molekul kimia baru yang sangat potensial untuk membunuh sel-sel kanker, bakteri, dan virus-HIV. Penelitian pada tahun 2012 dilaporkan menemukan dua metabolit sekunder baru yaitu senyawa ketosteroid baru bersamaan dengan tiga jenis sterol yang telah dikenal sebelumnya dan memperlihatkan aktivitas yang cukup baik terhadap kanker prostat. Metabolit sekunder lainnya yaitu klorobisindol dari *Caulerpa racemosa* dari Tiongkok yang diisolasi bersama kaulerpin dan dua turunan kaulerpin lainnya juga memiliki aktivitas sebagai antijamur. Kaulerpin sendiri juga dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antivirus yang potensial terhadap HSV tipe 1. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada kelompok Ochrophyta yang dilaporkan pada tahun 2012 didominasi oleh terpenoid dan fenolik yang pada Chlorophyta ditemukan senyawa-senyawa baru yang lebih sedikit.

Ekstrak rumput laut juga dilaporkan memiliki efek terhadap beberapa jenis hama tanaman pertanian. Tanaman pertanian yang diberikan ekstrak rumput laut memperlihatkan daya tahan yang lebih baik terhadap serangan jamur dan serangga

perusak, terutama *Myzus persicae* yang merusak tanaman kentang. Akan tetapi, penelitian dalam bidang peptisida ini tidak berkembang dengan baik karena telah banyak dihasilkan biopetisida dari berbagai tanaman darat dan mikroorganisme.

d. Invertebrata laut

Invertebrata laut merupakan kelompok hewan yang terdiri dari filum Protozoa, Cnidaria, Platyhelminthes, Nematelminthes, Annelida, Arthropoda, Mollusca, dan Echinodermata. Senyawa metabolit sekunder dari berbagai jenis invertebrate telah banyak digunakan dalam bidang farmasi dan agrokimia. Senyawa tersebut telah diisolasi dan memperlihatkan sifat yang khas dan struktur kimia yang belum dikenali sebelumnya dan memiliki aktivitas biologi tertentu. Jenis invertebrate seperti sponge, tunikata, dan byozoa memperlihatkan keragaman senyawa kimia yang sangat menarik para ahli bioteknologi. Senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut dimanfaatkan oleh invertebrata sebagai proses adaptasi dan mekanisme pertahanan diri.

Kajian senyawa metabolit sekunder dari laut baru dimulai sekitar 50 tahun lalu oleh Bergman dan Feeney pada tahun 1951 dimana kajian ini sangat jauh tertinggal dengan kajian metabolit sekunder pada tumbuhan di darat. Kendala utama dari kajian ini adalah pengumpulan sampel dimana diatasi dengan mengumpulkan sampel yang mudah diambil saat air laut surut. Invertebrata laut telah menjadi sumber aneka ragam metabolit sekunder dengan potensi yang sangat besar untuk pengembangan obat dan juga untuk eksploitasi dalam bidang bioteknologi. Namun tantangan terbesar dari penelitian ini adalah pasokan karena hewan invertebrate merupakan hewan yang menetap di dasar laut dan pertumbuhannya sangat lambat sehingga produksinya sangat sedikit. Oleh karena itu diperlukan bioteknologi untuk mengatasi masalah ini.

Bryostatin-1 merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat mengatasi leukimia, limfoma, melanoma tumor, kanker ovarium dan payudara. Bryostatin-1 bekerja terhadap jalur-jalur transduksi dengan mengikat tempat perlekatan pada sisi activator protein kinase-C. Sampai saat ini sudah ditemukan 18 jenis senyawa bryostatin. Selain itu, sampel *Bugula neritina* dari Amerika Utara telah berhasil diekstraksi senyawa metabolit sekundernya dan salah satu kandungannya adalah Bryostatin.

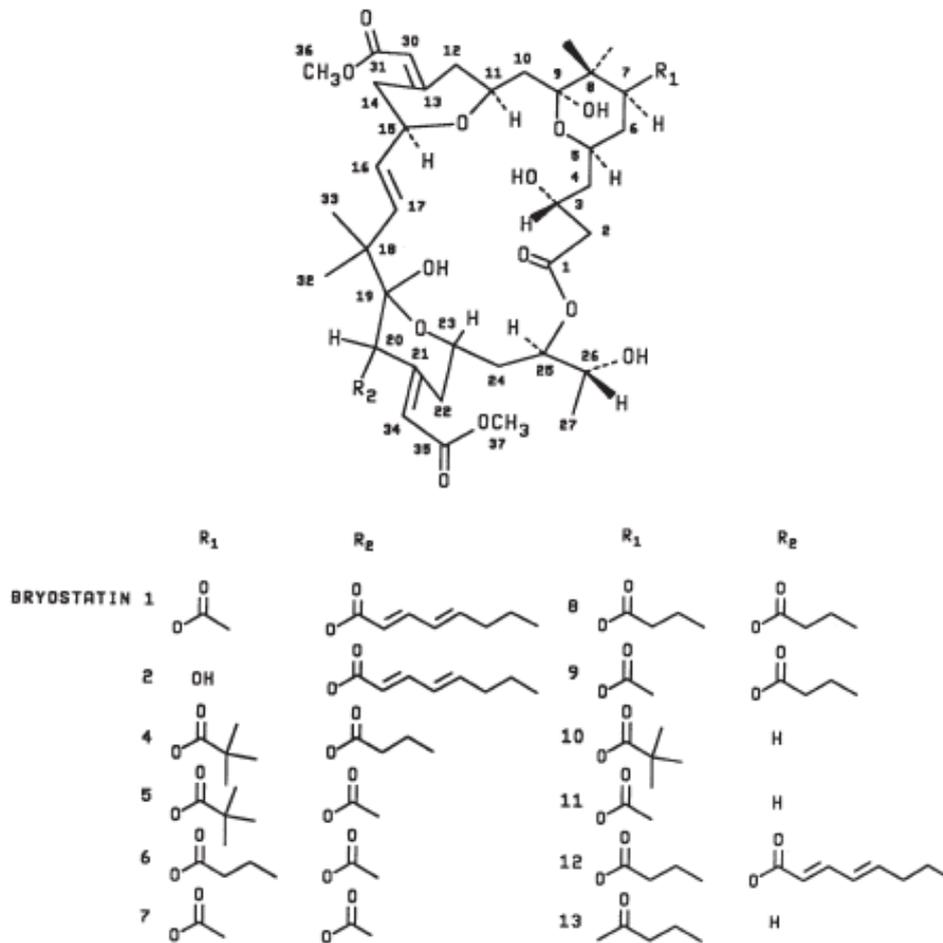


Fig. 1. Structures of bryostatins 1, 2, 4–13 and numbering system

Gambar 4 Senyawa Briostatine 1,2, 4-13

Spons merupakan kelompok organisme penyusun terumbu yang berhubungan erat dengan karpet bakteri, menyaring bakteri dari air laut sebagai makanannya, dan menjadi tempat tumbuh bagi berbagai macam populasi mikroorganisme. Spons juga diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas beragam. Senyawa poliketida diskodermolida diekstrak dari jenis *Discodermia dissolute* dan telah menunjukkan sifat antitumor. Kemudian ditemukan juga senyawa kalikulin A yang berhasil diisolasi dari *Discodermia calyx* yang memiliki aktivitas menghambat protein fosfatase II. Senyawa lainnya yaitu Swinholida A dapat menstabilkan tubulin dimer. Theonella sp memiliki kandungan senyawa siklotenamida yang juga memiliki sifat antitumor. Jenis spons *Apylisina aerophoba* yang hidup di laut mediterania dan samudra atlantik mengandung senyawa alkaloid

yaitu isoksazolin yang berikatan dengan brom dan aerofobin dan isofistlarin yang memiliki ciri-ciri dengan sifat langka.

Tabel 2 Ringkasan Senyawa Bahan Alam yang telah diidentifikasi

<i>Tahun</i>	<i>Fase preklinis dan klinis antikanker laut</i>	<i>Sifat Kimia dan Sintesis senyawa metabolit sekunder</i>	<i>Fase preklinis dan klinis farmakologi laut</i>
2006	136	779	183
2005	-	812	-
2004	150	716	166
2003	-	656	-
2002	97	677	106
2001	-	683	-
2000	143	869	78
1999	31	881	66
1998	35	841	67
Total	592	6914	666

Tanda - = data tidak tersedia

Teripang yang termasuk ke dalam hewan invertebrate laut juga menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Ekstrak metanol teripang *Stichopus hermannii* diketahui menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan bakteri uji lainnya. Dari keempat bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini, hanya E.coli yang tidak menunjukkan aktivitas terhadap ekstrak metabol teripang tersebut. Zona hambat pada bakteri *Bacillus subtilis* dengan menggunakan ekstrak tersebut adalah 16 mm atau 76,19% dari zona hambat ampisilin. Selain itu, teripang juga memiliki senyawa antitumor yang dan juga dapat digunakan sebagai obat HIV.

C. Contoh Soal

1. Apa yang dimaksud dengan bioteknologi kelautan?
2. Aktivitas biologis apa saja yang ditemukan pada senyawa metabolit sekunder dari laut?

D. Kunci Jawaban

1. Bioteknologi kelautan menurut Lundin dan Zilinskas adalah teknik penggunaan biota laut (seperti sel atau enzim) untuk membuat dan memodifikasi produk, memperbaiki kualitas genetic atau fenotif tumbuhan dan hewan laut, dan merekayasa organisme untuk keperluan tertentu, termasuk untuk perbaikan lingkungan.
2. Antitumor, antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, antivirus, anti HIV

E. Daftar Pustaka

- Dewick, Paul M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd ed, London
- Rahardjo, Boy. 2016. Bioteknologi Kelautan. Yogyakarta
- Saifudin, Azis. 2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder. Deepublish: Yogyakarta



MODUL 5 TERPENOID I

KERANGKA TERPENOID

A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Mengidentifikasi senyawa golongan terpenoid
2. Menjelaskan kerangka dari senyawa terpenoid
3. Menjelaskan manfaat dan biosintesis senyawa terpenoid

B. Uraian dan Contoh

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak dihasilkan oleh semua organisme. Tiap organisme menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda-beda dan dalam jumlah tertentu. Metabolit sekunder yang dihasilkan hingga saat ini jumlahnya sangat banyak dan tiap tahunnya senyawa baru terus menerus dihasilkan. Dengan banyaknya metabolit sekunder maka diperlukan metoda berfikir yang mampu mengakomodasi tentang asal usul metabolit sekunder tersebut. Oleh karena itu, pemahaman tentang biosintesis dari metabolit sekunder sangat diperlukan. Berikut adalah tujuan memahami biosintesis metabolit sekunder:

1. Biosintesis dapat berfungsi sebagai paradigma berfikir dan meringkas adanya hubungan antar senyawa satu dengan senyawa lainnya. Hal ini dibutuhkan karena banyaknya macam dari senyawa-senyawa metabolit sekunder
2. Adanya pemahaman tentang kerangka dan jalur biosintesis dari suatu golongan senyawa maka dapat digunakan untuk menentukan struktur kimia. Kerangka senyawa metabolit sekunder memiliki keteraturan pola dan memiliki bentuk yang seragam di dalam keragaman sehingga penentuan struktur sangat terbantu dengan keteraturan tersebut
3. Sebagai desain obat modern. Dengan memahami jalur biosintesis dan mekanisme penyakit dapat memnungkingkan desain obat dan hubungan kuantitatif struktur aktivitas berdasarkan pada interaksi penyakit dan target obat

4. Aspek selektifitas. Pemahaman akan biosintesis dapat membantu untuk memilih target dan meminimalkan senyawa biologis penyebab penyakit
5. Aplikasi bioteknologi untuk produksi. Melalui bioteknologi, kuantitas obat yang bermanfaat dapat diproduksi secara massal

Terpenoid merupakan salah satu golongan dari senyawa metabolit sekunder yang terbesar. Pada umumnya senyawa ini tidak larut dalam air karena bersifat nonpolar, ditemukan dalam bentuk minyak esensial, dan lipid yang disintesis dari asetil koa atay dari intermediet glikolisis melalui lintasan asam mevalonate. Senyawa-senyawa seskuiterpen yaitu asam ursolat yang ditemukan dalam berbagai tanaman dan bersifat penghambat kanker dan menurunkan gula darah. Kemudian asam betulinat yang juga ditemukan dalam berbagai tanaman termasuk dalam buah kayu putih bersifat sebagai antidiabetes. Azadiractin dari biji mimba adalah suatu senyaw ayang bersifat sebagai petisida dan juga berbagai macam parfum yang merupakan senyawa-senyawa golongan terpenoid. Terpenoid sendiri digolongkan berdasarkan jumlah unit penyusunnya yang memiliki kelipatan dari 5 karbon walaupun adanya modifikasi yang besar membuat terpenoid sulit untuk diidentifikasi.

Terpenoid adalah merupakan komponen-komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan disebut sebagai minyak atsiri. Minyak atsiri yang berasal dari bunga pada awalnya dikenal dari penentuan struktur secara sederhana, yaitu dengan perbandingan atom hidrogen dan atom karbon dari suatu senyawa terpenoid yaitu 8 : 5 dan dengan perbandingan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut adalah golongan terpenoid.

Minyak atsiri bukanlah senyawa murni akan tetapi merupakan campuran senyawa organik yang kadangkala terdiri dari lebih dari 25 senyawa atau komponen yang berlainan. Sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang hanya mengandung karbon dan hidrogen atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatik yang secara umum disebut terpenoid. Minyak atsiri adalah bahan yang mudah menguap sehingga mudah dipisahkan dari bahan-bahan lain yang terdapat dalam tumbuhan. Salah satu cara yang paling populer untuk memisahkan minyak atsiri dari jaringan tumbuhan adalah destilasi. Dimana, uap air dialirkan kedalam tumpukan jaringan tumbuhan sehingga minyak atsiri tersuling bersama-

sama dengan uap air. setelah pengembunan, minyak atsiri akan membentuk lapisan yang terpisah dari air yang selanjutnya dapat dikumpulkan.

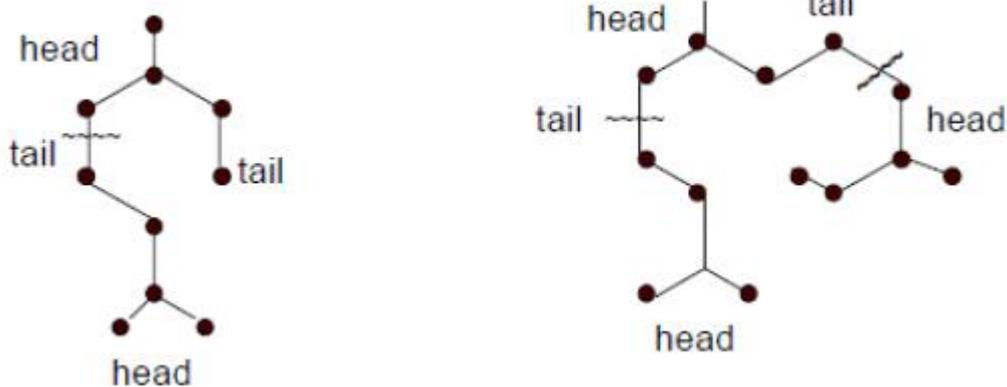
Frakasi yang paling mudah menguap biasanya terdiri dari golongan terpenoid yang mengandung 10 atom karbon. Fraksi yang mempunyai titik didih lebih tinggi biasanya terdiri dari terpenoid yang mengandung 15 atom karbon.

Sebagian besar terpenoid mempunyai kerangka karbon yang dibangun oleh dua atau lebih unit C-5 yang disebut unit isopren. Unit C-5 ini dinamakan demikian karena kerangka karbonnya sama seperti senyawa isopren.



Gambar 1 Unit Isoprena

Pada unit isoprene diatas, bagian isopropyl dari 2-metil butena dapat didefinisikan sebagai kepala dan bagian etil didefinisikan sebagai ekor. Dalam mono-, di-, dan sesterpena, unit dari isoprene berikatan satu dengan lainnya dari kepala ke ekor.



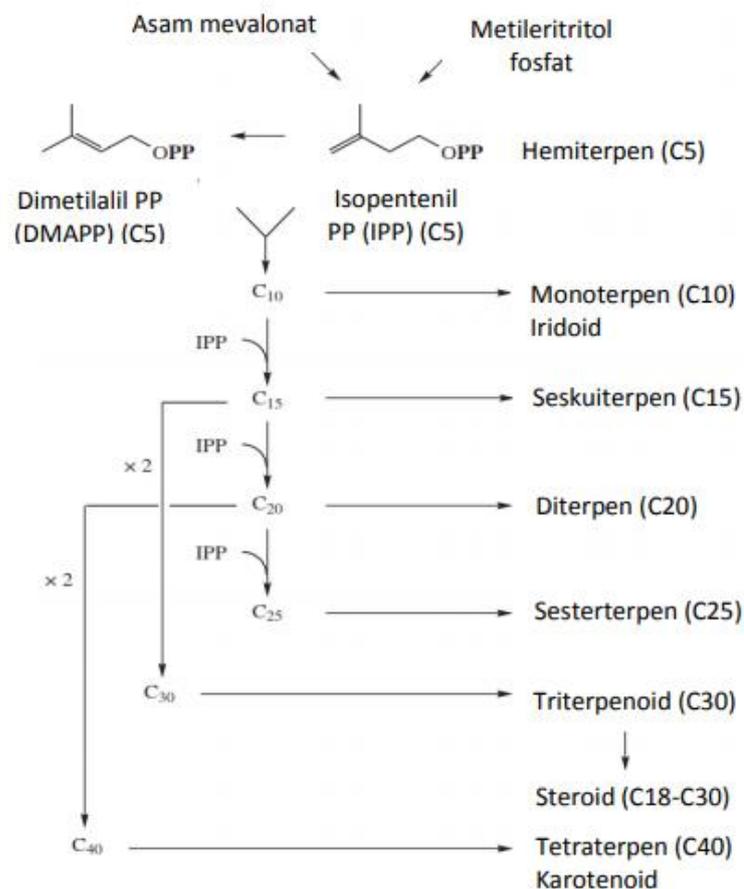
Gambar 2 Bagian Kepala dan ekor

Senyawa terpenoid dapat dikelompokkan sebagai berikut:

Tabel 1 Penggolongan Terpenoid

No	Jenis senyawa	Jumlah atom karbon	Sumber
1.	Monoterpenoid	10	Minyak atsiri
2.	Seskuiterenoid	15	Minyak atsiri
3.	Diterpenoid	20	Resin pinus
4.	Triterpenoid	30	Damar
5.	Tetraterpenoid	40	Zat warna karoten
6.	Politerpenoid	≥ 40	Karet alam

Berikut adalah cara pengelompokkan senyawa terpenoid berdasarkan jumlah atom:

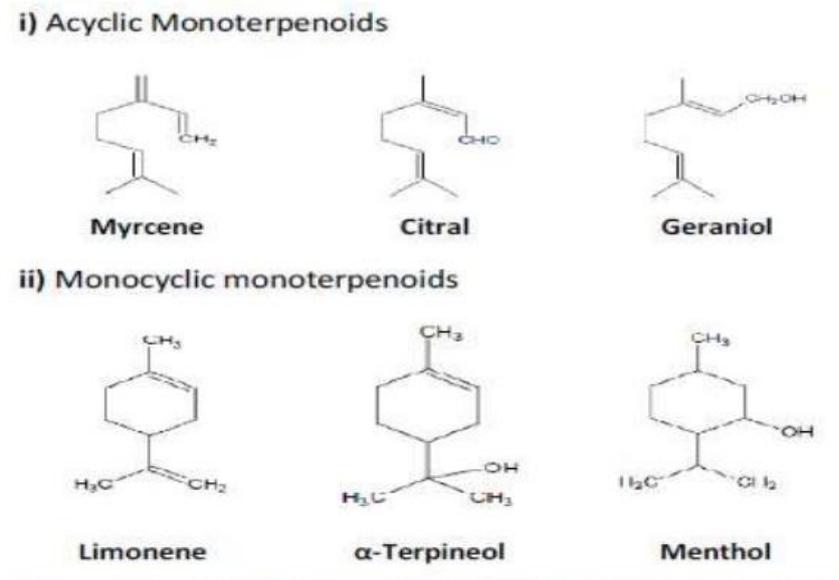


Gambar 3 Pengelompokkan terpenoid

a. Monoterpenoid

Monoterpenoid merupakan senyawa “essence” dan memiliki bau yang spesifik yang dibangun oleh 2 unit isopren atau dengan jumlah atom karbon 10. Lebih dari 1000 jenis senyawa monoterpenoid telah diisolasi dari tumbuhan tingkat tinggi, binatang laut, serangga dan binatang jenis vertebrata dan struktur senyawanya telah diketahui. Struktur dari senyawa monoterpenoid yang telah dikenal merupakan perbedaan dari 38 jenis kerangka yang berbeda, sedangkan prinsip dasar penyusunannya tetap sebagai penggabungan kepala dan ekor dari 2 unit isopren. Struktur monoterpenoid dapat berupa rantai terbuka dan tertutup atau siklik. Senyawa monoterpenoid banyak dimanfaatkan sebagai antiseptik, ekspektoran, spasmolitik dan sedatif. Disamping itu monoterpenoid yang sudah dikenal banyak dimanfaatkan sebagai bahan pemberi aroma makan dan parfum dan ini merupakan senyawa komersial yang banyak diperdagangkan.

Seperti senyawa organik bahan alam lainnya, monoterpenoida mempunyai kerangka karbon yang banyak variasinya. Oleh karena itu penetapan struktur merupakan salah satu bagian yang penting. Penetapan struktur monoterpenoida mengikuti suatu sistematisa tertentu yang dimulai dengan penetapan jenis kerangka karbon. Jenis kerangka karbon suatu monoterpen monosiklik antara lain dapat ditetapkan oleh reaksi dehidrogenasi menjadi suatu senyawa aromatik (aromatisasi). Penetapan struktur selanjutnya ialah menentukan letak atau posisi gugus fungsi dari senyawa yang bersangkutan didalam kerangka karbon tersebut. Posisi gugus fungsi dapat diketahui berdasarkan penguraian oksidatif. Cara lain adalah mengubah senyawa yang bersangkutan oleh reaksi-reaksi tertentu menjadi senyawa lain yang telah diketahui strukturnya. Berikut adalah beberapa contoh dari senyawa monoterpenoid:

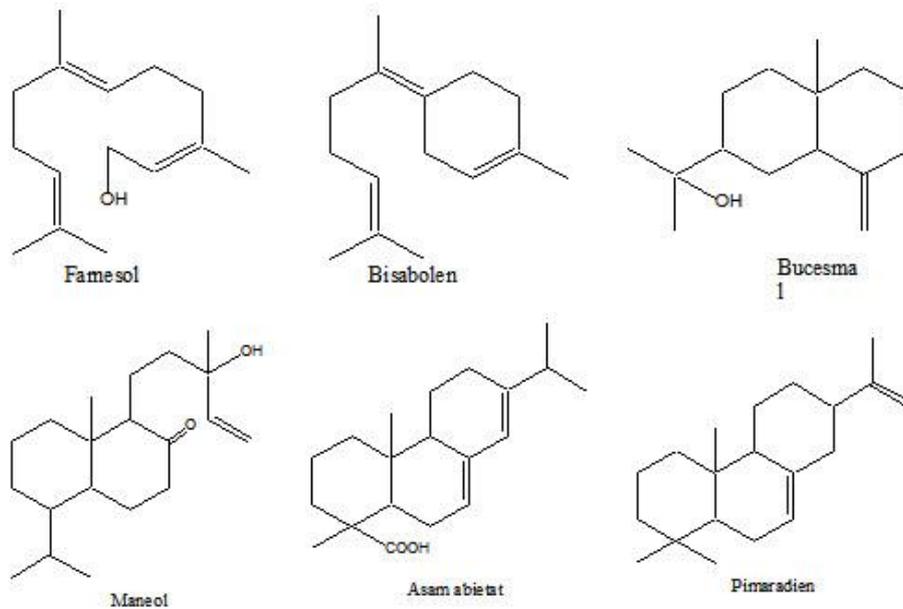


Gambar 4 Senyawa Monoterpenoid

b. Sesquiterpenoid

Sesquiterpenoid merupakan senyawa terpenoid yang dibangun oleh 3 unit isopren yang terdiri dari kerangka asiklik dan bisiklik dengan kerangka dasar naftalen. Senyawa sesquiterpenoid ini mempunyai bioaktivitas yang cukup besar, diantaranya adalah sebagai antifeedant, hormon, antimikroba, antibiotik dan toksin serta regulator pertumbuhan tanaman dan pemanis.

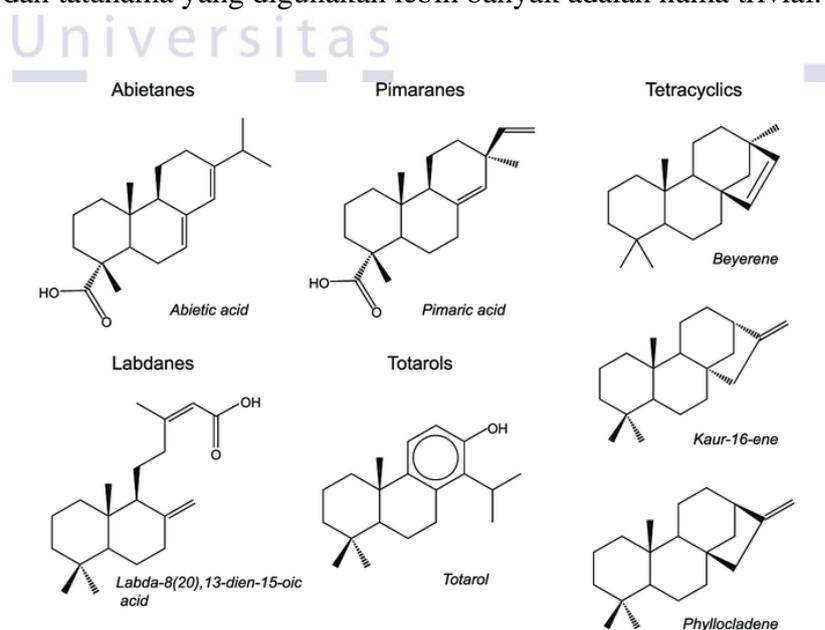
Senyawa-senyawa sesquiterpen diturunkan dari cis farnesil pirofosfat dan trans farnesil pirofosfat melalui reaksi siklisasi dan reaksi sekunder lainnya. Kedua isomer farnesil pirofosfat ini dihasilkan in vivo melalui mekanisme yang sama seperti isomerisasi antara geraniol dan nerol.



Gambar 5 Senyawa Seskuiterpenoid

c. Diterpenoid

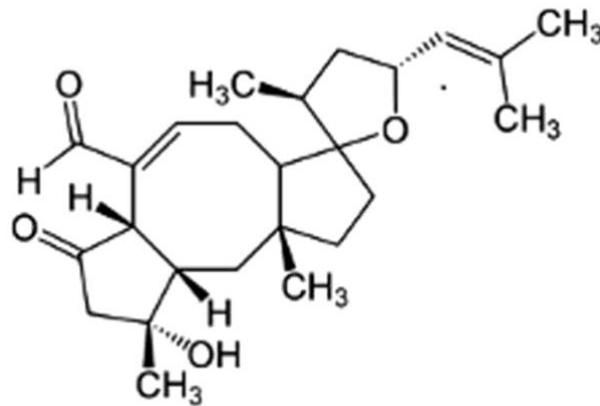
Senyawa diterpenoid merupakan senyawa yang mempunyai 20 atom karbon dan dibangun oleh 4 unit isopren. senyawa ini mempunyai bioaktifitas yang cukup luas yaitu sebagai hormon pertumbuhan tanaman, podolakton inhibitor pertumbuhan tanaman, antifeedant serangga, inhibitor tumor, senyawa pemanis, anti fouling dan anti karsinogen. Senyawa diterpenoid dapat berbentuk asiklik, bisiklik, trisiklik dan tetrasiklik dan tatanama yang digunakan lebih banyak adalah nama trivial.



Gambar 6 Senyawa Diterpenoid

d. Sesterpenoid

Sesterpenoid adalah senyawa golongan terpenoid yang paling sedikit variasinya. Senyawa kelompok sesterpenoid biasanya banyak ditemukan pada jamur dan organisme laut. Kelompok senyawa ini tersusun dari 25 atom karbon yang merupakan turunan dari geranilfarnesilpirofosfat. Berikut adalah contoh dari senyawa sesterpenoid



Gambar 7 Senyawa Sesterpenoid

e. Triterpenoid

Meupakan senyawa terpenoid yang memiliki 30 atom karbon. Kelompok ini merupakan turunan dari senyawa skualen. Lebih dari 4000 jenis triterpenoid telah berhasil diisolasi dengan lebih dari 40 jenis kerangka dasar yang sudah dikenal dan pada prinsipnya merupakan proses siklisasi dari skualen. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupaka 4 siklik 6 yang mempunyai gugus fungsi pada siklik tertentu. Sedangkan penamaan lebih disederhanakan dengan memberikan penomoran pada tiap atom karbon, sehingga memudahkan dalam penentuan substituen pada masing-masing atom karbon.

Struktur terpenoida yang bermacam ragam itu timbul sebagai akibat dari reaksi-reaksi sekunder berikutnya seperti hidrolisa, isomerisasi, oksidasi, reduksi dan siklisasi atas geranil-, farnesil- dan geranil-geranil pirofosfat. Beragamnya keragaman struktur dari triterpenoid maka untuk mempermudah, triterpenoid digolongkan berdasarkan biosintesisnya. Senyawa skualen yang membentuk triterpenoid akan membentuk kelompok turunan yang baru yaitu, turunan kation

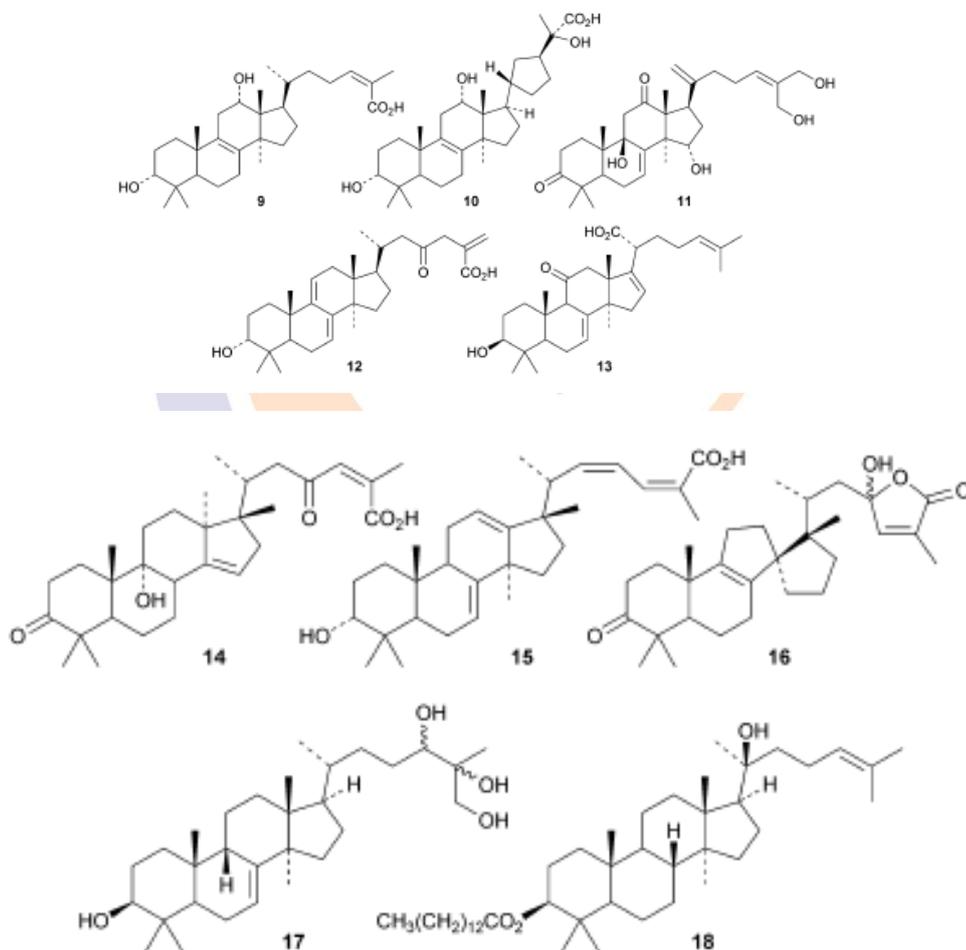
protosteril, kation damarenil, lanostane, lupine, oleanne, saponin, dan triterpene termodifikasi



Gambar 8 Senyawa Skualen

1. Kelompok lanostane

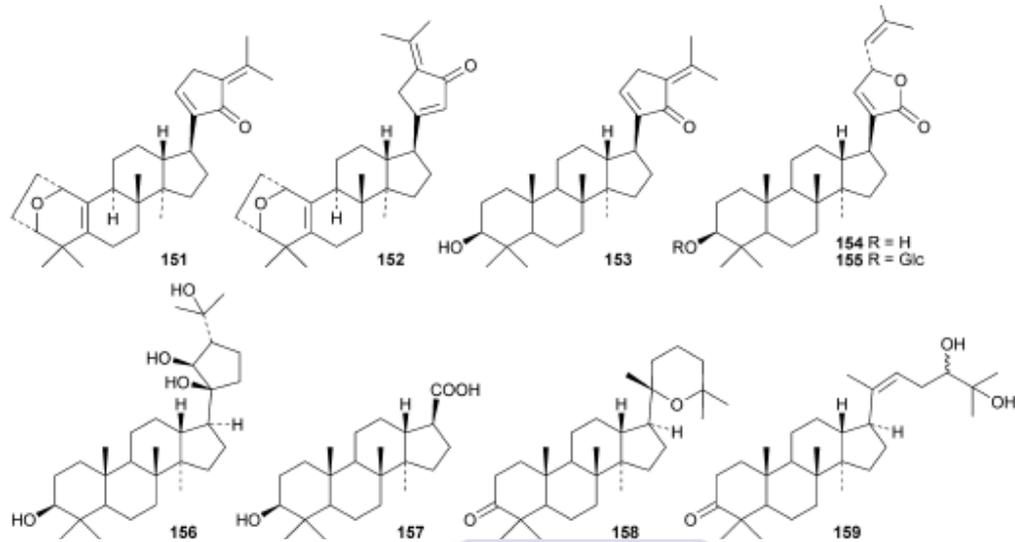
Senyawa metabolit sekunder ini pada golongan ini ditemukan pada jamur, tanaman *Schisandra glauca*, *Ganoderma lucidum*, *Abies nephrolepis*.



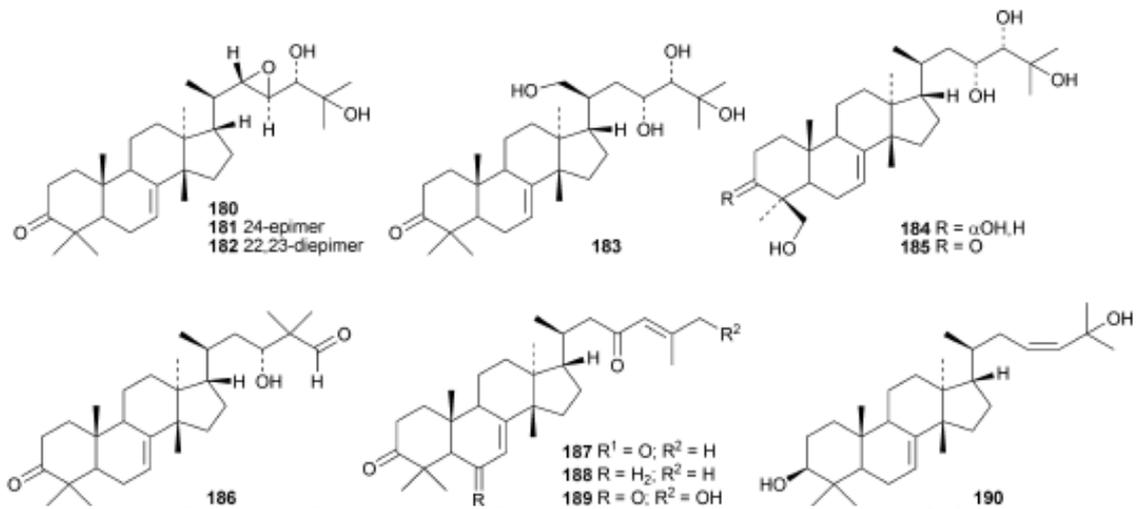
Gambar 9 Kelompok Lanostane

2. Kelompok damarane

Senyawa metabolit sekunder golongan damarane ditemukan pada *Gynostemma pentaphyllum*, *Gardenia aubryi*, *Panax ginseng*, *Gardenia collinsae*, *Ailanthus excels*, *Operculina turpenthum*.



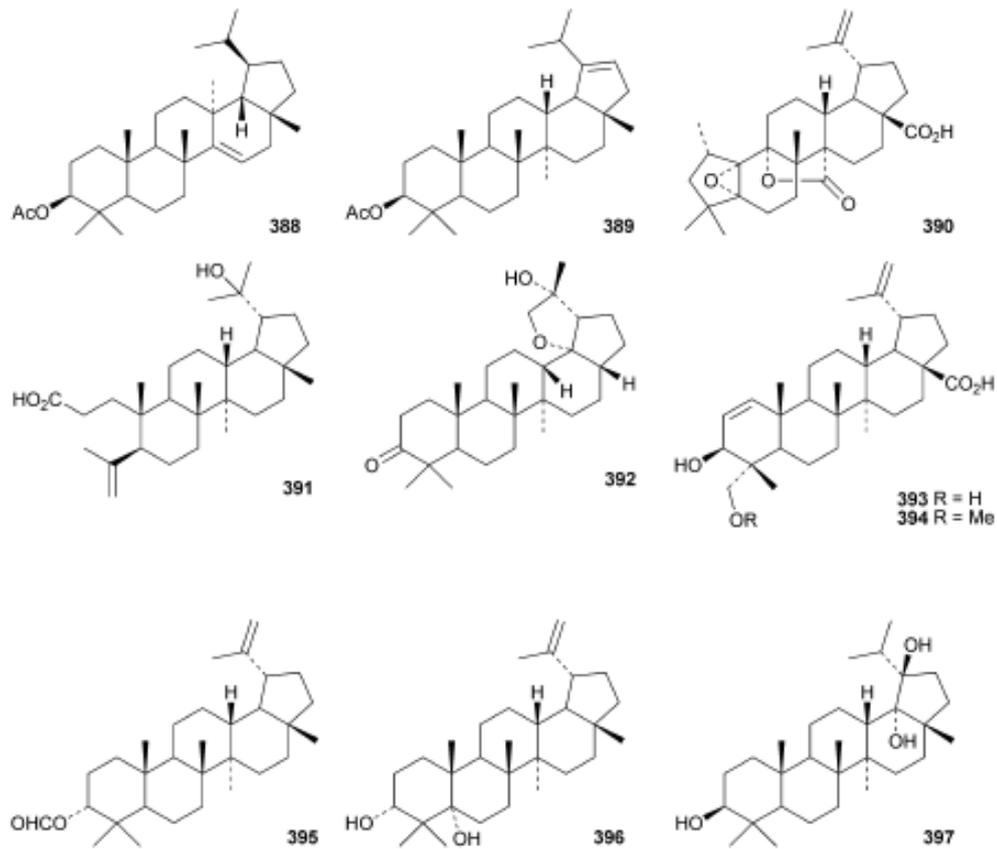
Gambar 10 Kelompok Damarane



Gambar 11 Kelompok Damarane

3. Kelompok Lupane

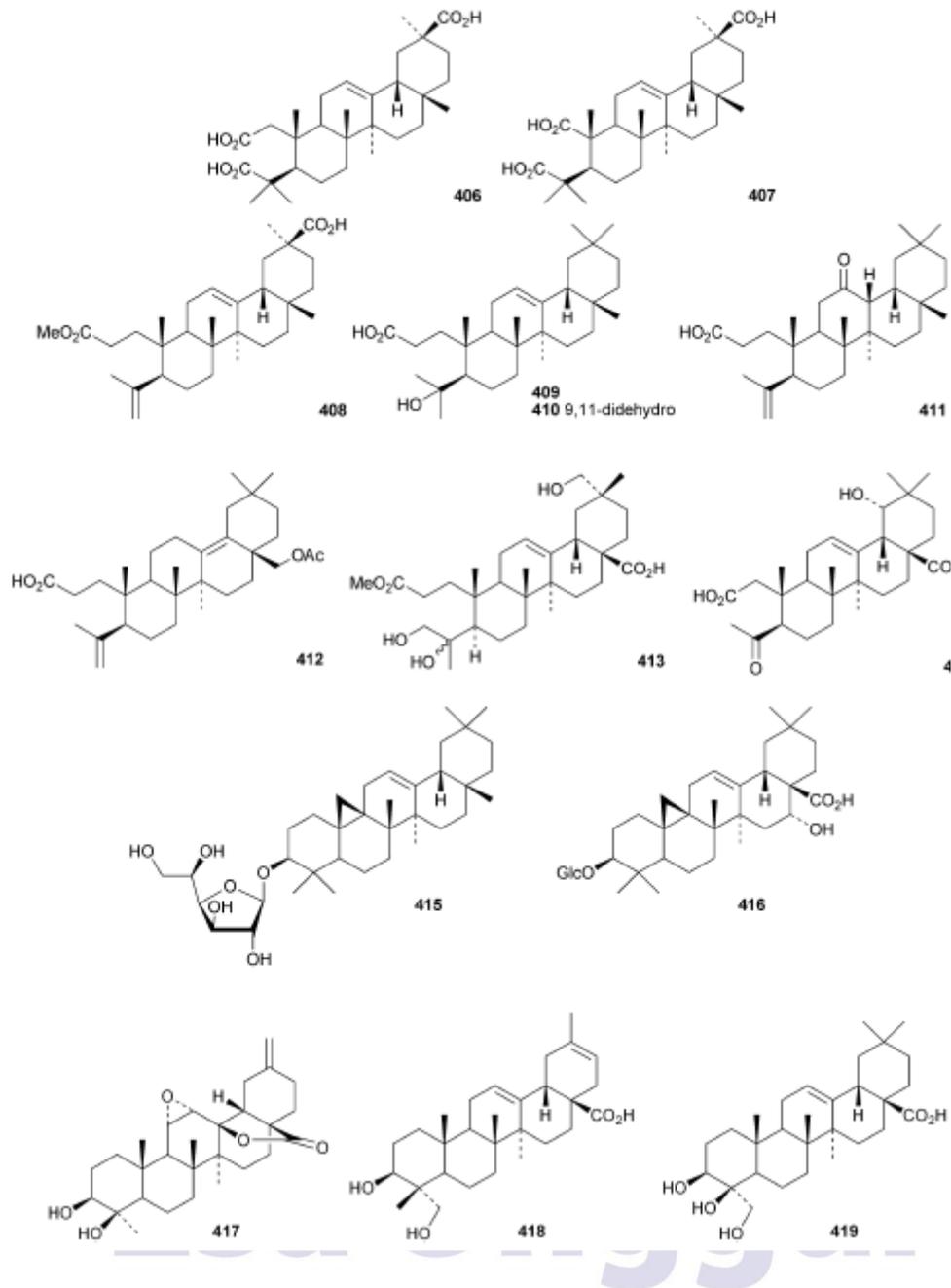
Merupakan senyawa metabolit sekunder turunan dari lupeol. Senyawa ini ditemukan pada *Dysoxylum hainanense*, *Liquidambar formosana*, *Sorbus cashmiriana*, *Garcinia tertiata*, *Pulsatilla chinensis*.



Gambar 12 Kelompok Lupane

4. Kelompok Oleanane

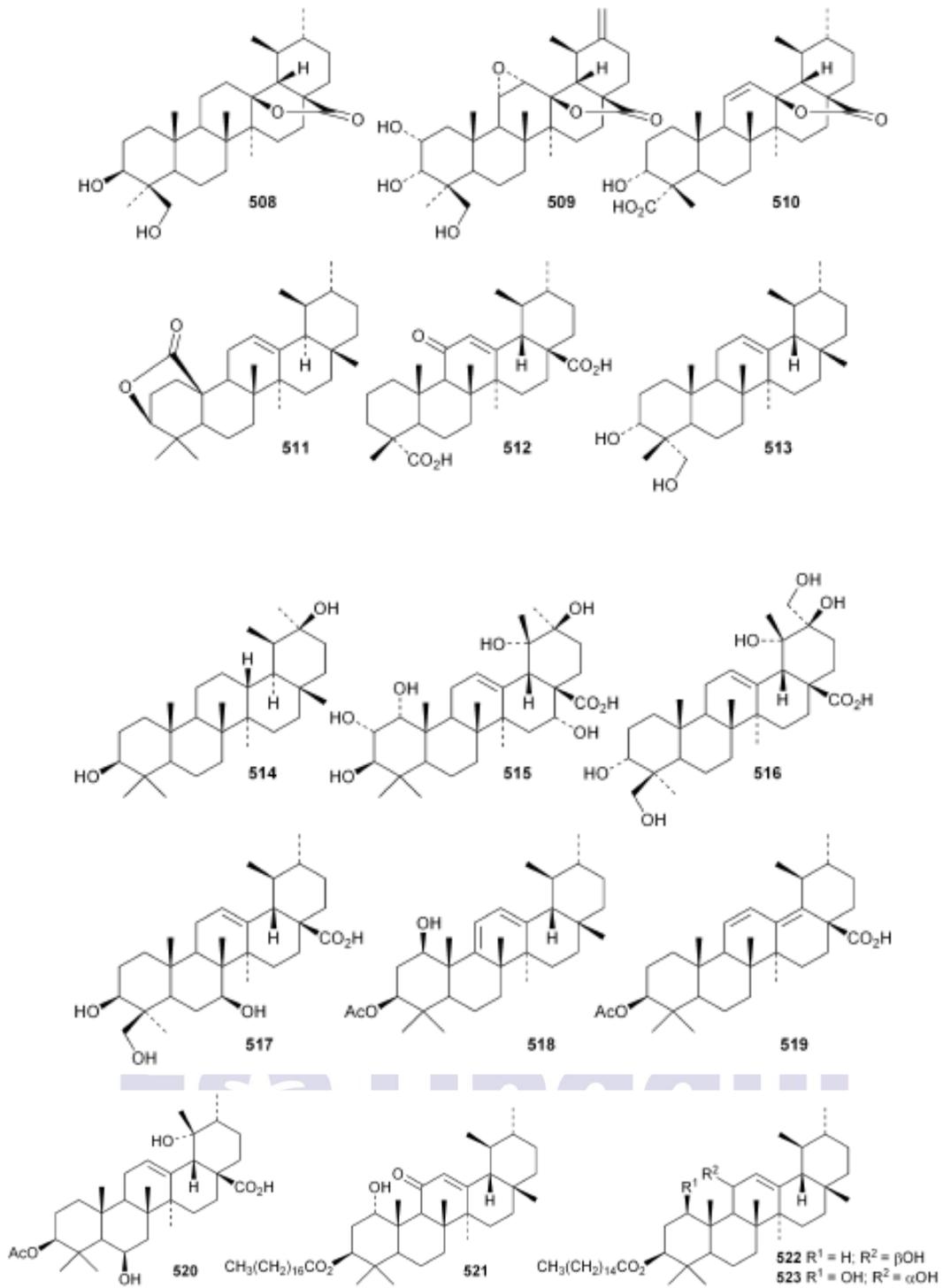
Merupakan senyawa metabolit sekunder turunan dari oleanane. Berhasil diisolasi dari *Dysoxylum hainanense*, *Terminalia ivorensis*, *Celestris australis*, *Fatsia polycarpa*.



Gambar 13 Kelompok Oleanane

5. Kelompok ursane

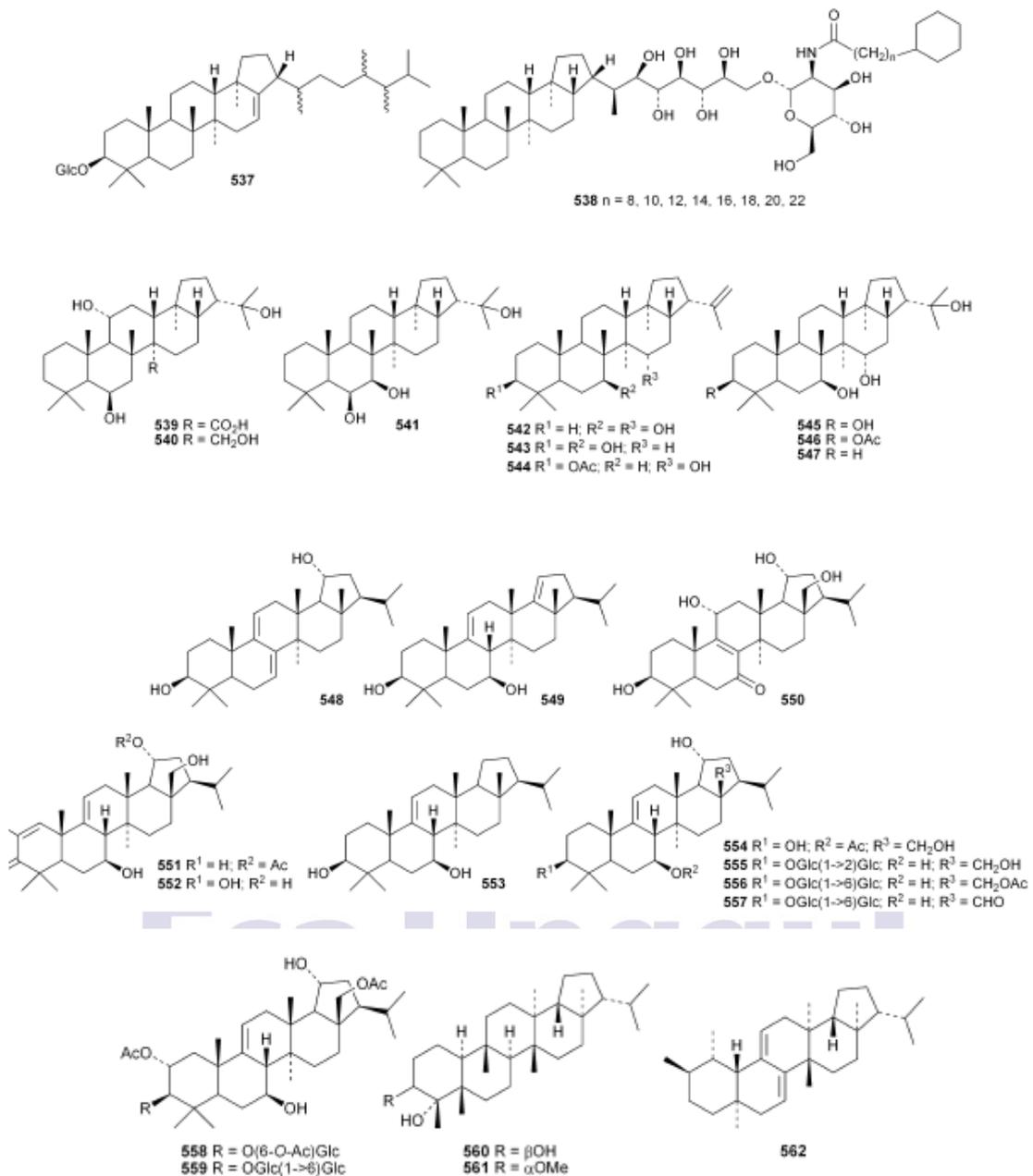
Merupakan senyawa metabolit sekunder turunan ursane. Berhasil diisolasi dari *Rosa laevigata*, *Calatropis procera*, *Isodon coetsa*, *Pedicularis kansuensis*, *Schefflera haptaphylla*.



Gambar 14 Kelompok Ursane

6. Kelompok Hopane

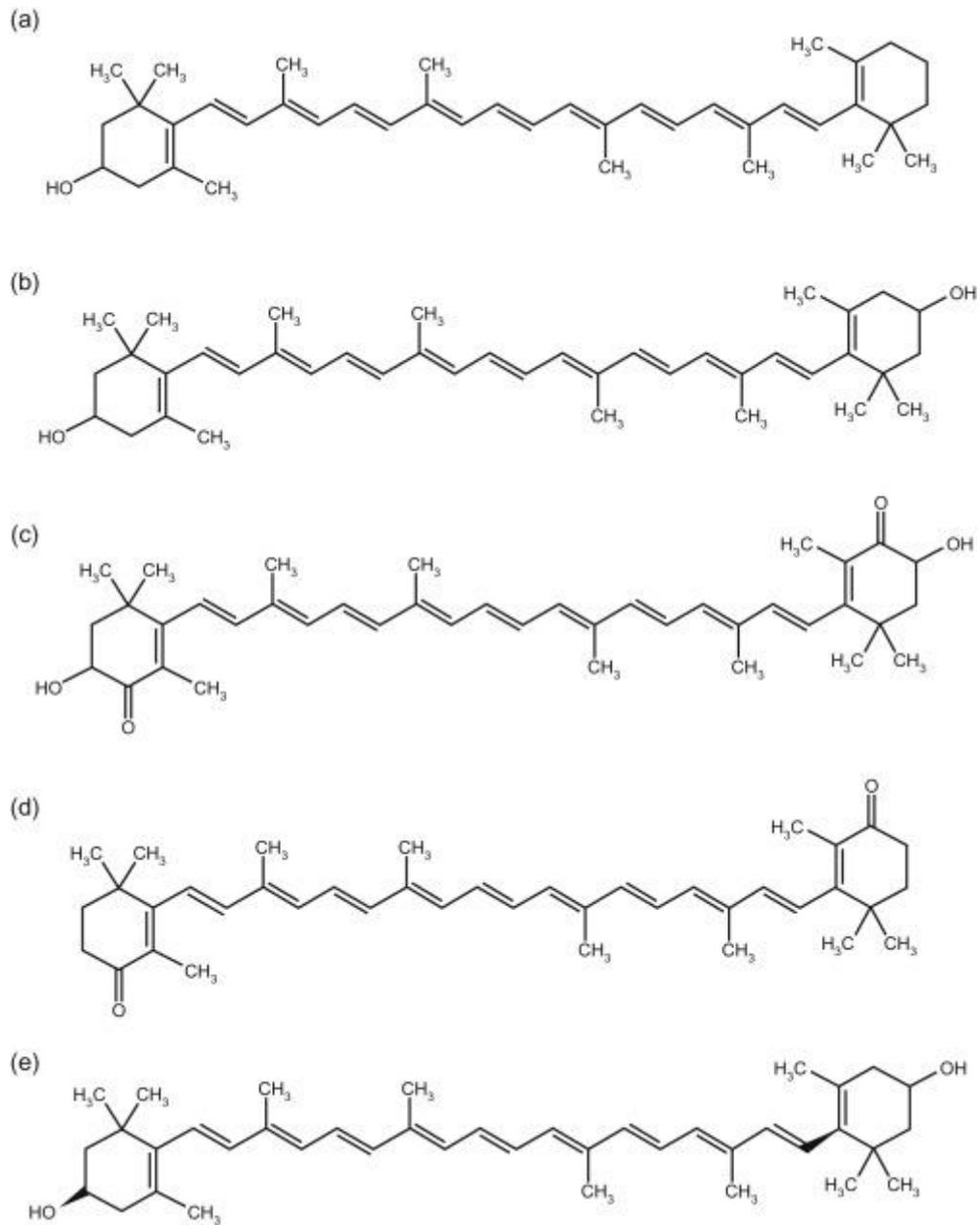
Merupakan senyawa turunan dari hopane. Ditemukan di *Celestris australis*, *Symplocos paniculata*, bakteri *Alicyclobacillus acidoterretris*.



Gambar 15 Kelompok Hopane

f. Tetraterpenoid

Tetraterpen adalah senyawa terpenoid yang memiliki 40 atom karbon dimana contoh senyawanya adalah kelompok karotenoid yang merupakan gabungan dari dua unit gernaalgeranilpirofosfat melalui ikatan ekor-ekor. Berikut adalah contoh senyawanya



Gambar 16 Senyawa Tetraterpenoid

C. Contoh Soal

1. Sebutkan pembagian golongan dari terpenoid?
2. Aktivitas biologis apa saja yang ditemukan pada senyawa-senyawa terpenoid?

D. Kunci Jawaban

1.

No	Jenis senyawa	Jumlah atom karbon	Sumber
1.	Monoterpenoid	10	Minyak atsiri
2.	Seskuiterpenoid	15	Minyak atsiri
3.	Diterpenoid	20	Resin pinus
4.	Triterpenoid	30	Damar
5.	Tetraterpenoid	40	Zat warna karoten
6.	Politerpenoid	≥ 40	Karet alam

2. Antioksidan, pestisida, antitumor.

E. Daftar Pustaka

Dewick, Paul M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd ed, London

Hill, Robert.A, D Conolly, Joseph. Triiterpenoids. *Natural Product*, 2013, **30**, 1028.

Saifudin, Azis.2014. Senyawa Alam Metabolit Sekunder. Deepublish: Yogyakarta

MODUL 6 TERPENOID II

BIOSINTESIS TERPENOID

G. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

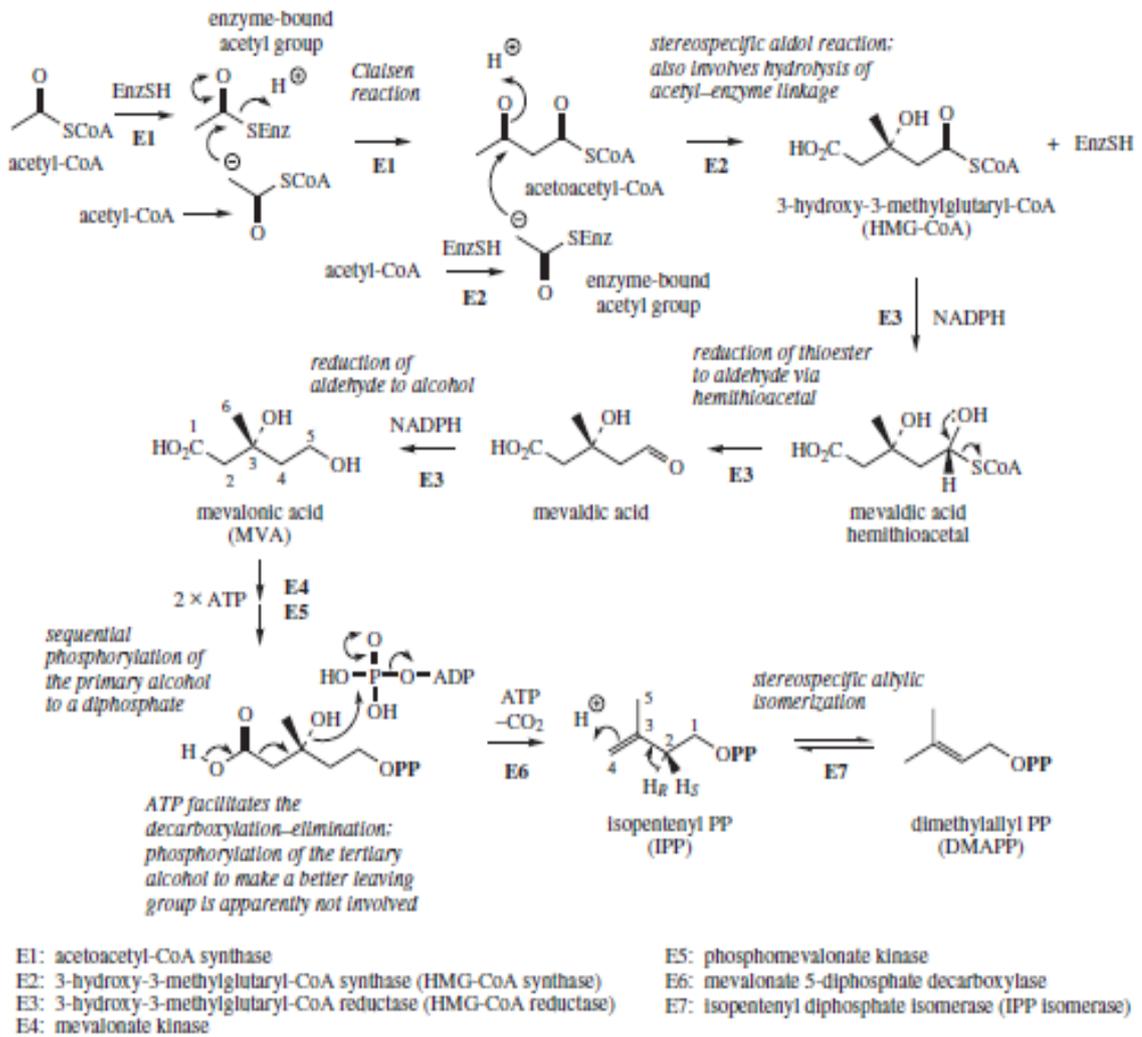
1. Mengidentifikasi senyawa golongan terpenoid
2. Menjelaskan kerangka dari senyawa terpenoid
3. Menjelaskan manfaat dan biosintesis senyawa terpenoid

H. Uraian dan Contoh

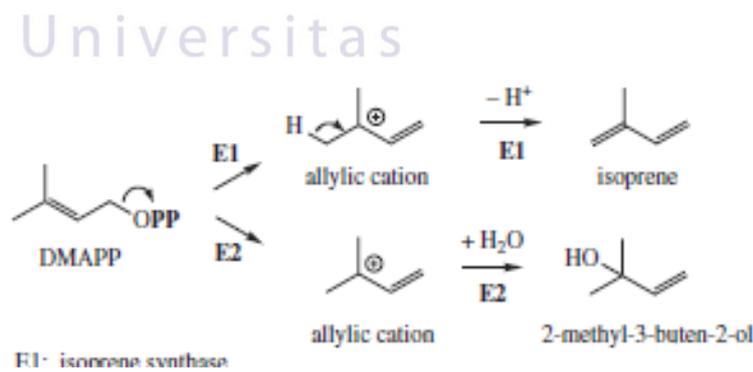
1. Biosintesis terpenoid

Terpenoid adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang sangat besar dan memiliki struktur senyawa yang sangat beragam yang merupakan turunan dari isoprene (C₅) yang bergabung dari kepala ke ekor. Hampir semua senyawa terpenoid tidak berwarna, merupakan cairan yang memiliki bau, dan memiliki berat jenis yang lebih ringan daripada air, dan menguap dengan adanya uap air panas. Beberapa diantara senyawa golongan terpenoid berwujud seperti kamper. Senyawa golongan terpenoid dapat larut di dalam pelarut organik namun tidak dapat larut di dalam air karena sifatnya yang nonpolar. Terpenoid sangat mudah mengalami polimerisasi dan dehidrogenasi dan juga sangat mudah teroksidasi oleh agen pengoksidasi. Saat proses pemanasan, senyawa terpenoid menghasilkan isoprene sebagai produk reaksinya.

Biosintesis dari terpenoid sendiri dimulai dari pembentukan isoprene. Isoprena diproduksi secara natural dan unit isoprene aktif diidentifikasi sebagai dimethylalil difosfat (DMAPP) dan isopentil difosfat (IPP). Isoprena dihasilkan dari reaksi claisen tiga unit asetil ko-a yang menghasilkan asam mevalonate dimana selanjutnya asam mevalonate membentuk DMAPP (Gambar 1) dan dehidrogenasi DMAPP menghasilkan isoprene (Gambar 2). Hal ini dapat terlihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 1 Biosintesis DMAPP

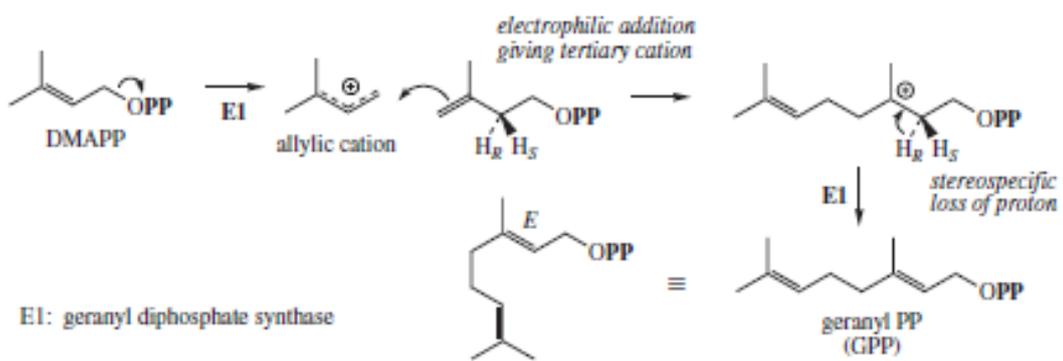


Gambar 2 Biosintesis Isopren

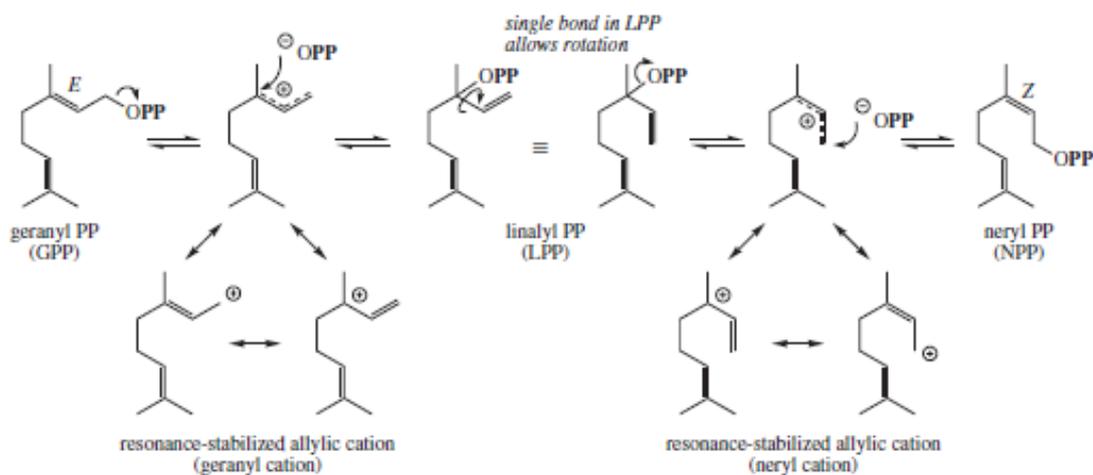
IPP dan DMAPP adalah intermediet hemiterpen yang reaktif dimana kedua unit tersebut berperan dalam modifikasi senyawa terpenoid. Mereka juga berfungsi sebagai agen alkilasi untuk pembentuk senyawa monoterpenoid. Isoprene adalah

senyawa yang mudah menguap yang dihasilkan dalam jumlah yang banyak dari tumbuhan seperti oaks, poplar, dan spruce.

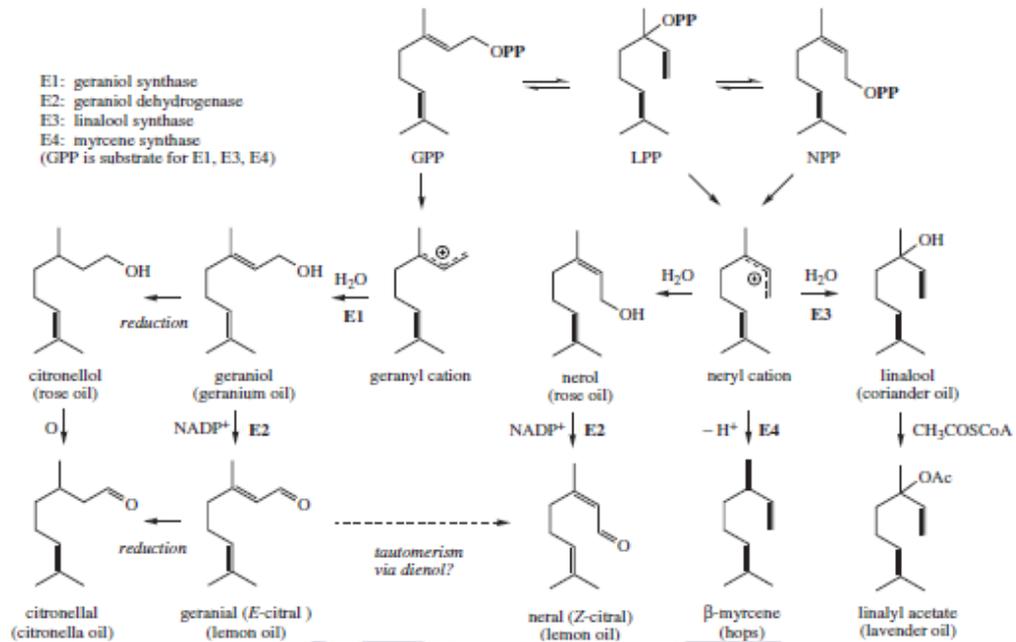
Senyawa monoterpenoid disintesis dari kombinasi IPP dan DMAPP yang dibantu oleh enzim untuk membentuk geranyl-PP. Ionisasi dari DMAPP akan menghasilkan kation alilik yang selanjutnya akan mengalami reaksi adisi dan diikuti dengan lepasnya proton membentuk GPP. GPP memiliki dua buah isomer (senyawa yang memiliki struktur sama tetapi bentuknya berbeda) yaitu linalil PP dan neril PP dimana kedua isomer tersebut yang menyebabkan banyaknya keragaman dari monoterpen. Monoterpen ditemukan dalam bentuk minyak yang mudah menguap dan banyak ditemukan dalam perfume dan perasa.



Gambar 3 Biosintesis GPP

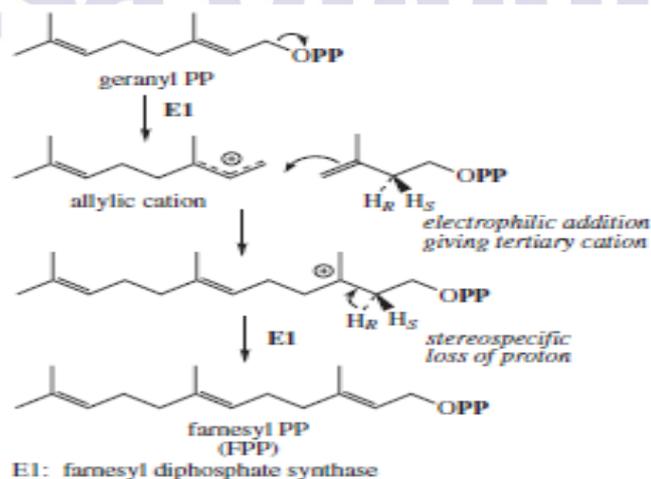


Gambar 4 Biosintesis linalil PP dan neril PP

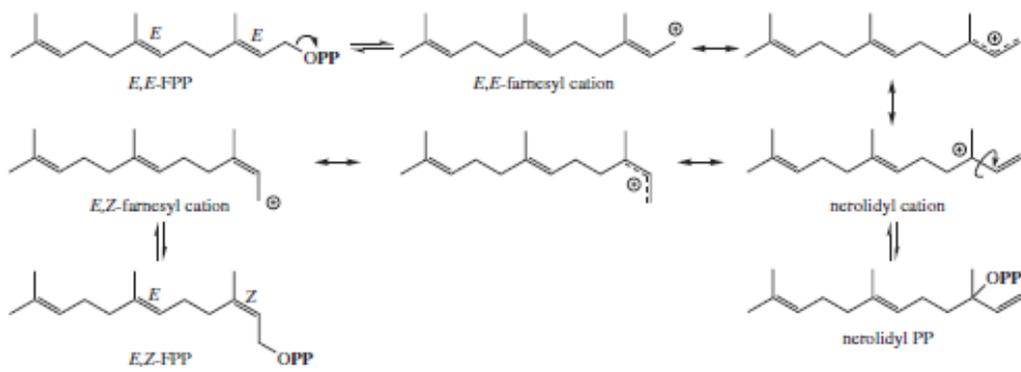


Gambar 5 Biosintesis Senyawa-Senyawa Monoterpenoid

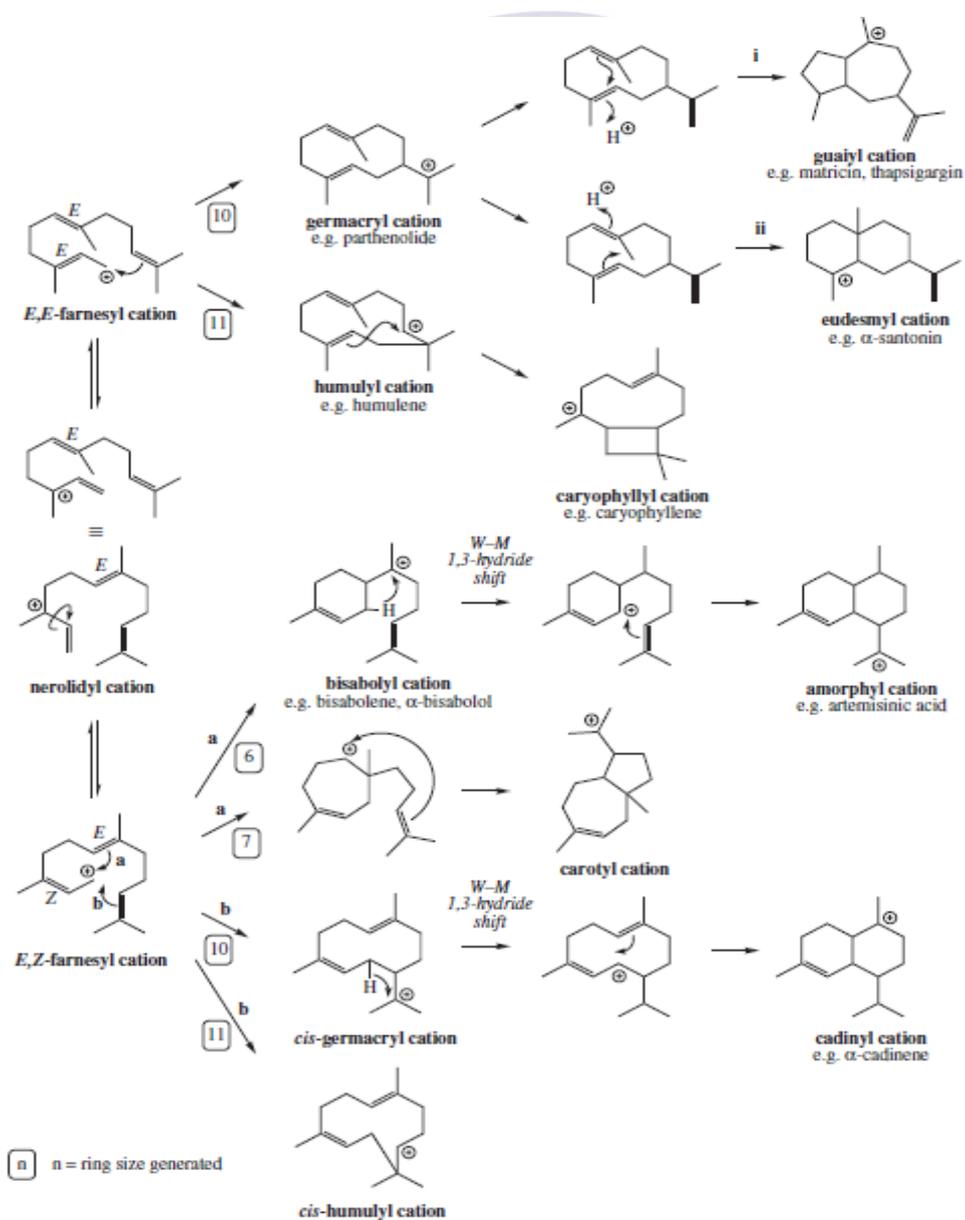
Sesquiterpen adalah senyawa yang terbentuk dari tiga unit isoprene. Sesquiterpen terbentuk dari penambahan satu unit IPP terhadap unit GPP dan menghasilkan satu unit farnesyl-PP (FPP). Senyawa FPP memiliki senyawa isomer yaitu *E,Z*-FPP dan nerolidil-PP yang dapat menghasilkan turunan senyawa sesquiterpen yang sangat beragam karena adanya perpanjangan ikatan dan penambahan ikatan rangkap. Selain itu dapat juga terbentuk berbagai macam struktur mono-, bi-, tri- siklik dari FPP. Modifikasi dari kerangka *E,Z*-FPP menghasilkan kation gualil, kation eudasmil, dan kation kariofilil. Adapun nerolidil menghasilkan kation senyawa turunan asam artimisinat, kation karotil, kation kadinil, kation *cis*-germakil, dan kation *cis*-humulil.



Gambar 6 Biosintesis FPP

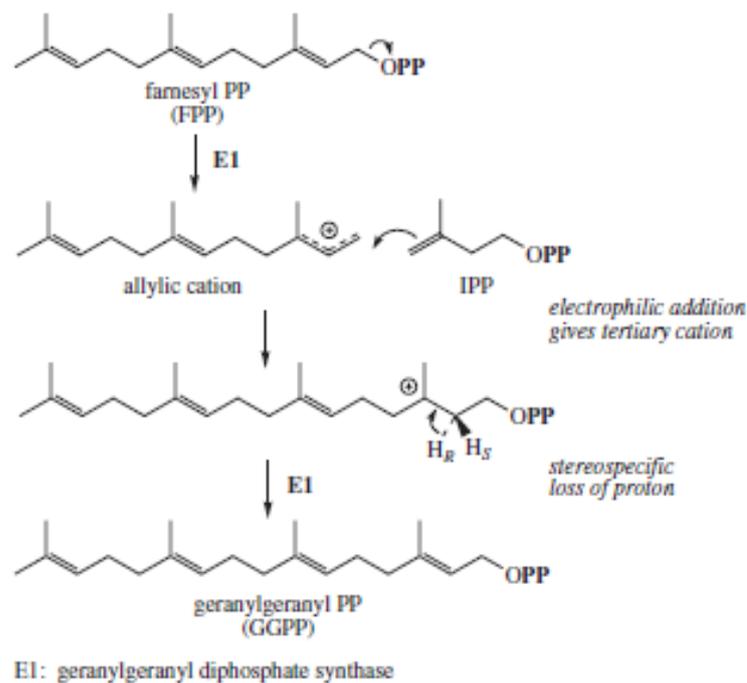


Gambar 7 Biosintesis E,Z-FPP dan Nerolidil-PP



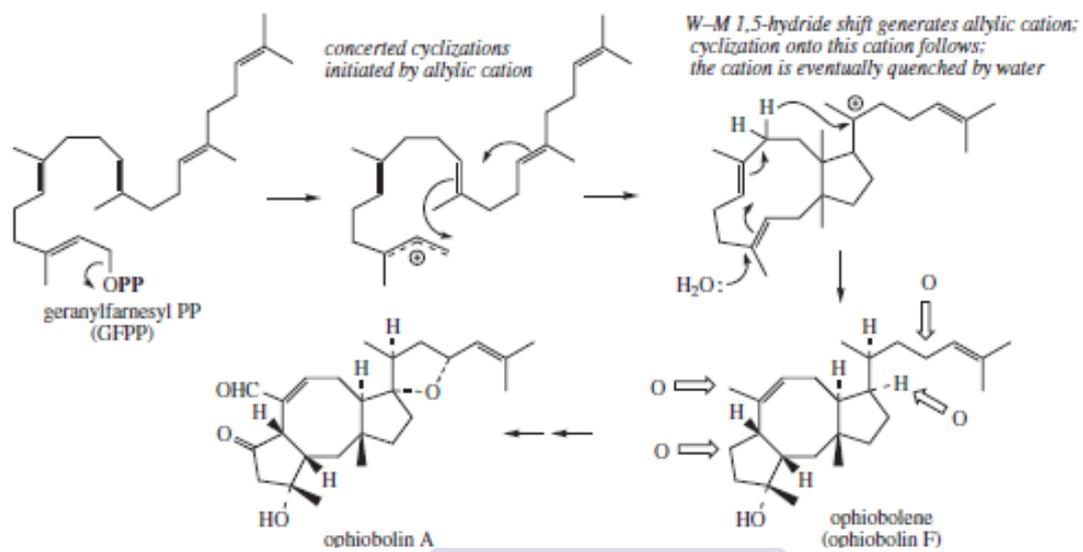
Gambar 8 Biosintesis senyawa-senyawa sesquiterpe

Diterpen adalah senyawa terpenoid yang terbentuk dari 4 unit isopren dimana terbentuk dari kondensasi kation farnesyl-PP dengan IPP dan diikuti pelepasan proton membentuk geranyl-geranyl-PP (GGPP). Senyawa-senyawa bahan alam golongan diterpenoid dapat dibedakan berdasarkan kerangka dasarnya yaitu kelompok turunan copalil-PP, forskolin, kation versitilil, kation casbena, dan senyawa-senyawa ginkgoloid.

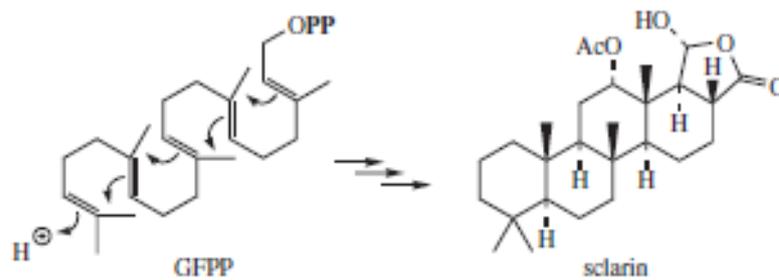


Gambar 9 Biosintesis GGPP

Sesterpen adalah senyawa terpenoid yang tersusun dari lima unit isopren. Walaupun sudah banyak senyawa sesterpen yang berhasil diidentifikasi, namun kebanyakan senyawa sesterpen ini ditemukan dari jamur dan organisme laut. Struktur dasar dari sesterpen adalah geranyl-farnesil-PP (GFPP) dimana modifikasi lebih lanjut dari senyawa ini menghasilkan senyawa turunan ofiobolen dan sklarin. Senyawa ofiobolen dan ofiobolin A adalah senyawa yang terbentuk dari reaksi siklisasi dari geranyl-farnesil-PP dalam tumbuhan pathogen *Helminthosporium maydis*. Ofiobolin A sendiri memiliki berbagai macam aktivitas biologis terhadap bakteri, jamur, dan nematode. Sklarin adalah sesterpen yang berasal dari laut dan terbentuk dari proses siklisasi yang berulang dari GFPP.

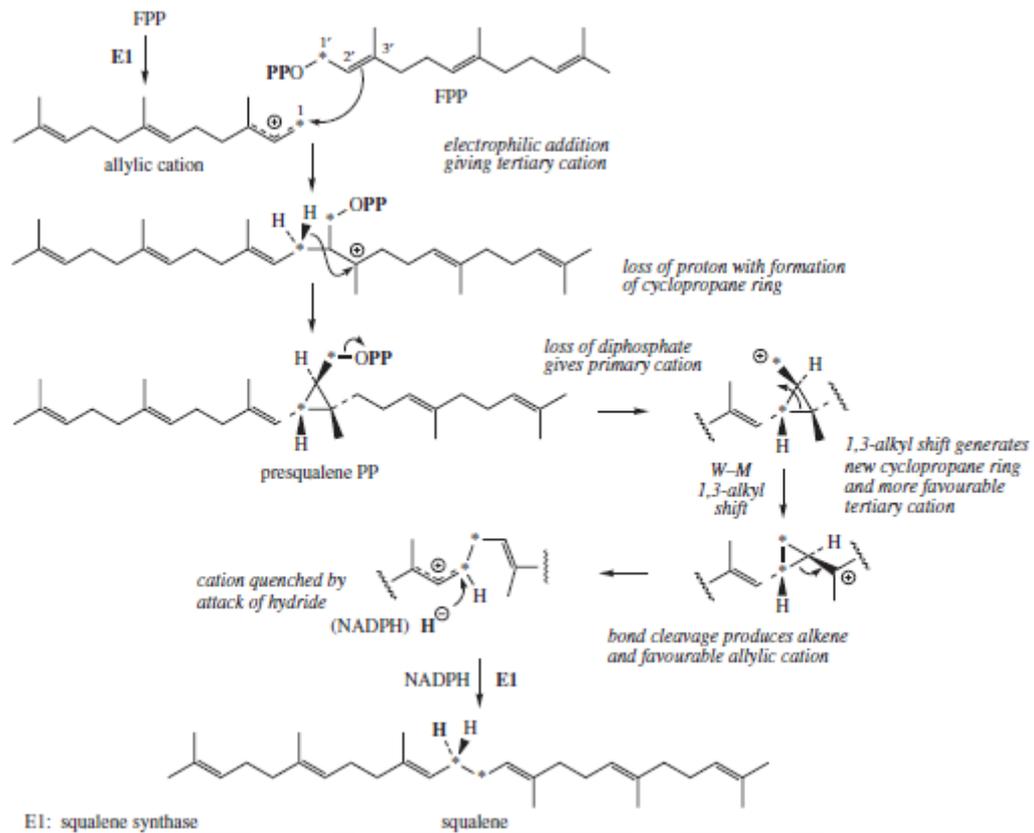


Gambar 10 Biosintesis Ophiobolin dan Ophiobolin A

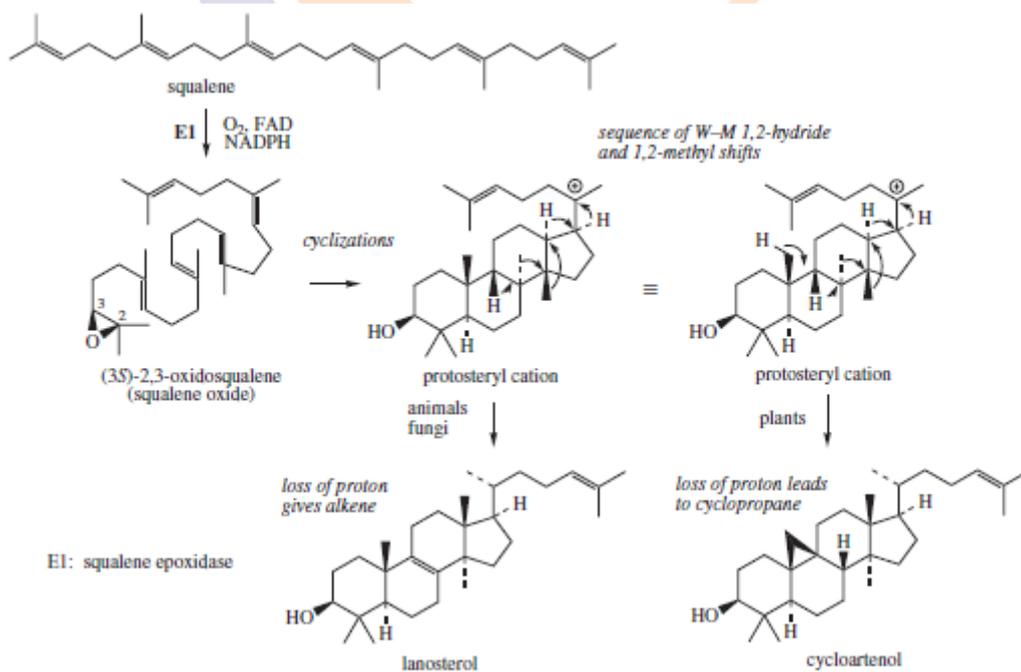


Gambar 10 Biosintesis Sklarin

Triterpen adalah senyawa terpenoid yang terbentuk dari 6 unit isoprene dimana biosintesis triterpene bukan melalui penambahan IPP terhadap sesterpen. Pembentukan triterpene terbentuk dari dua molekul FPP yang bergabung ekor-ke-ekor dan menghasilkan skualen. Skualen adalah hidrokarbon yang berhasil diisolasi dari minyak ikan hiu dan juga ditemukan pada hati tikus. Skualen merupakan prekursor dari pembentukan triterpenoid dan steroid. Oksidasi dari skualen menghasilkan skualen oksida. Siklisasi dan hidrogenasi skualen oksida membentuk dua kation yaitu kation damarenil dan kation protosteril.

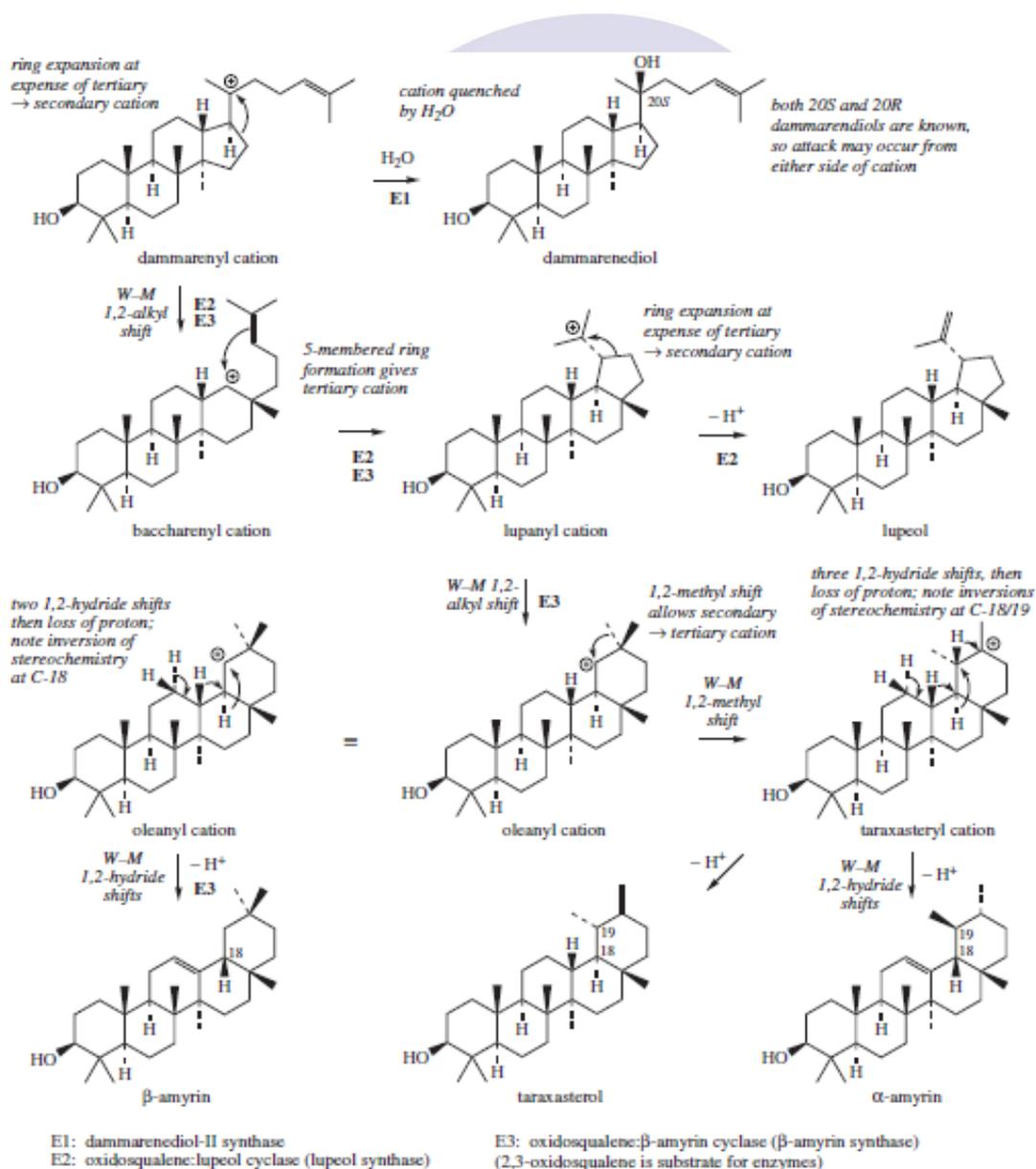


Gambar 11 Biosintesis Skualen



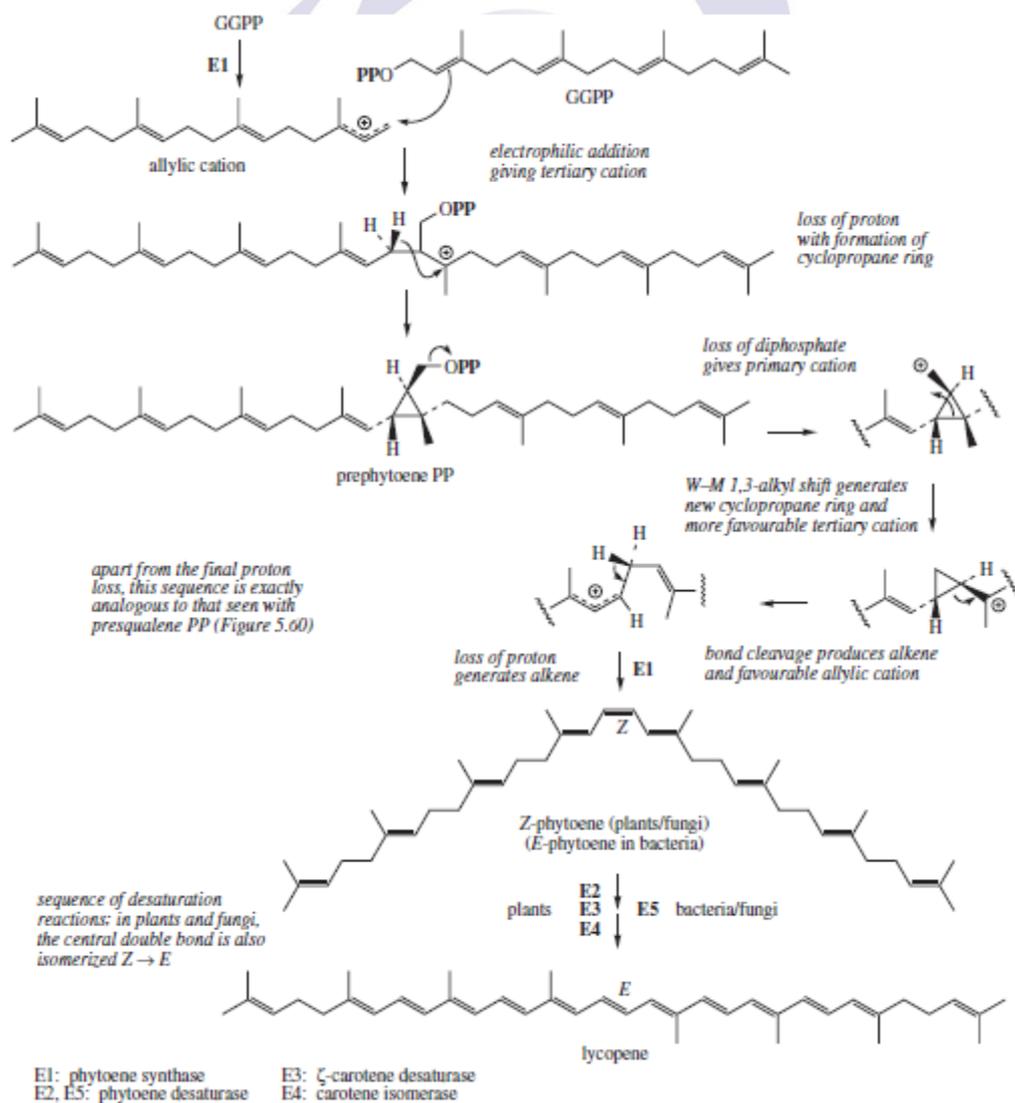
Gambar 12 Biosintesis Kation Protosteril

Keragaman dari triterpene semakin besar dengan modifikasi kation damarenil. Reaksi hidroksilasi dari kation damarenil akan membentuk damarenol. Penataan ulang Wagner-Meerwein dan siklisasi kation damarenil menghasilkan kation lupenil. Selanjutnya, dehidrogenasi dari kation lupenil akan menghasilkan lupeol. Penataan ulang Wagner-meerwein terhadap kation lupenil akan menghasilkan kation oleanyl dan kation taraksasteril. Penataan ulang Wagner-Meerwein terhadap kation oleanyl menghasilkan β - amirin, sedangkan taraksasterol dan α -amirin merupakan senyawa hasil reaksi dari deprotonasi dan penataan ulang Wagner-Meerwein dari kation taraksasteril.



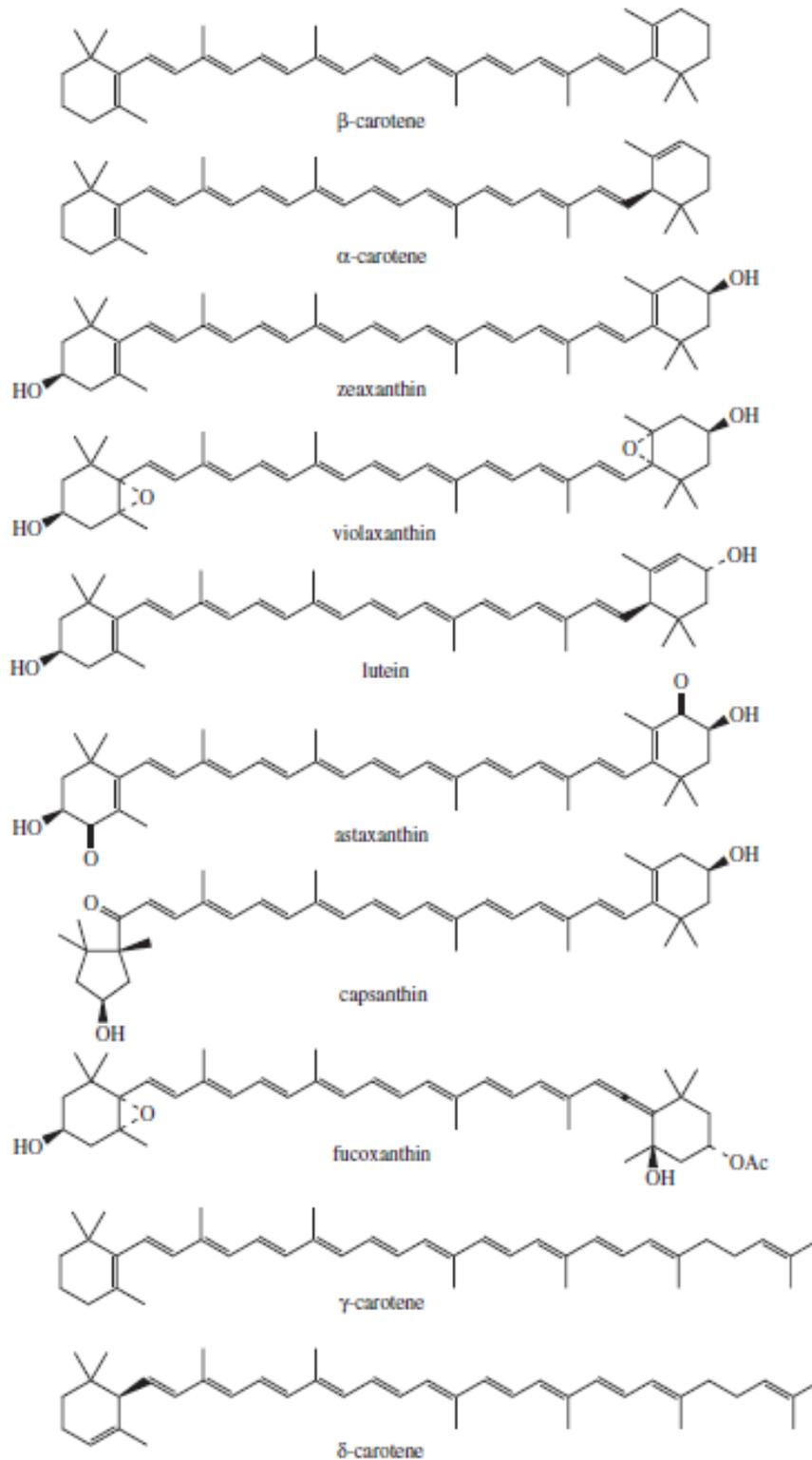
Gambar 13 Biosintesis Triterpenoid

Tetraterpenoid adalah senyawa golongan terpenoid yang terdiri dari 8 unit isoprene dimana hanya ada satu golongan senyawa dari tetraterpenoid yaitu karetenoid (walaupun dari golongan ini banyak sekali senyawa turunan yang dihasilkan). Senyawa golongan karetenoid memiliki peran pada proses fotosintesis tetapi juga ditemukan pada jaringan tumbuhan yang tidak melakukan proses fotosintesis, jamur, dan bakteri. Biosintesis dari senyawa ini terjadi dari penggabungan dua molekul geranylgeranyl difosfat (GGPP) dan membentuk senyawa fitoen. Senyawa fitoen yang ditemukan pada tanaman dan jamur biasanya merupakan fitoen dengan konfigurasi cis, sementara pada bakteri biasanya ditemukan fitoen dengan konfigurasi trans. Kemudian senyawa fitoen mengalami desaturasi (kehilangan ikatan hidrogen dan membentuk ikatan rangkap) hingga akhirnya membentuk senyawa likopen.



Gambar 14 Biosintesis Tetraterpenoid

Senyawa golongan karetenoid memiliki banyak turunan seperti zeaxantin, lutein, astasantin, capsantin, dll. Berikut adalah senyawa turunan dari karetenoid



Gambar 15 Senyawa Tetraterpenoid

2. Identifikasi terpenoid

Identifikasi terpenoid dapat dilakukan dengan berbagai macam cara. Berikut akan dijelaskan beberapa metoda yang digunakan untuk identifikasi terpenoid secara kualitatif.

a. Uji Liebermann-Buchard

Uji ini adalah untuk mengidentifikasi adanya kolesterol dengan penambahan asam asetat anhidrat ke dalam campuran. Adanya pembentukan cincin coklat mengindikasikan adanya kolesterol pada larutan tersebut

b. Uji Salkowski

Uji ini juga digunakan dalam penentuan adanya triterpene dalam suatu larutan. Mekanisme dari pengujian ini adalah ketika asam sulfat ditambahkan maka terterpen akan teroksidasi dan akan muncul warna kuning emas yang mengindikasikan adanya triterpene

c. Uji tembaga asetat

uji ini dilakukan untuk penentuan adanya diterpen. Pembentukan warna hijau emerald mengindikasikan adanya senyawa diterpen

d. Metode Keller-Killiani

Uji ini dilakukan dengan menampurkan sampel dengan pereaksi FeCl_3 dan asam sulfat pekat. Adanya cincin merah bata menjadi biru atau ungu maka mengindikasikan adanya terpenoid

3. Manfaat Terpenoid

Senyawa terpenoid memiliki banyak sekali manfaat. Berikut adalah manfaat dari senyawa terpenoid

a. Likopen

Likopen adalah pigmen utama yang memberikan warna merah pada beberapa buah-buahan seperti tomat, stroberi, jambu merah, bit, dan semangka. Likopen merupakan senyawa yang tahan pada proses memasak dan juga tidak mudah rusak. Selain sebagai pigmen, likopen juga berfungsi sebagai antikanker, antioksidan, mengatasi diabetes, mencegah osteoporosis, dan meningkatkan kualitas seksual. Selain pada buah-buahan likopen juga banyak terdapat pada sayur dan daging yang berwarna merah kekuningan seperti wortel, kerang-kerangan, lobster, dan ikan salmon. Likopen dapat bersinergi dengan vitamin C dan juga beta karoten untuk melawan berbagai jenis

kanker. Likopen telah teruji secara ilmiah sebagai antikanker, terutama kanker prostat, kolon, dan Rahim. Selain itu likopen juga berfungsi sebagai antioksidan yang bahkan lebih baik daripada vitamin A, vitamin C, dan vitamin E.

b. Alfa-karoten

termasuk ke dalam senyawa tetraterpenoid yang juga memiliki berbagai manfaat yaitu dapat mempunyai aktivitas vitamin A, dimana jika tubuh kekurangan vitamin A maka 53% dari alfa-karoten dapat diubah menjadi vitamin A. Alfa-karoten juga berfungsi untuk mengurangi resiko serangan jantung dan stroke pada usia lanjut, dimana alfa-karoten mampu mencegah oksidasi lemak sehingga mengurangi resiko terjadinya penyumbatan pembuluh darah. Alfa-karoten dalam bentuk bebas dari matriks bahan pangan akan lebih mudah dicerna dibandingkan yang terkandung di dalam matriks-matriks bahan pangan. Proses pemasakan juga dapat mengubah komponen trans pada alfa-karoten menjadi cis dan mudah diserap oleh tubuh. Akan tetapi, proses pengolahan yang terbaik agar alfa-karoten mudah diserap dan tidak mudah rusak adalah dengan menggunakan suhu tinggi dan waktu pengolahan yang singkat.

c. Limonen

Limonen adalah senyawa yang termasuk ke dalam golongan monoterpen dan ditemukan pada hampir semua minyak esensial dari buah citrus. Limonen memiliki dua bentuk optis aktif yaitu S(-)limonene dan R(+) limonene. R(+) limonene dan senyawa turunan limonene yang teroksidasi yaitu perilil alkohol telah dilakukan pengujian secara *in vivo* untuk melihat aktivitas antikanker (kulit, perut, neuroblastoma, dan leukimia). Dari hasil penelitian, senyawa-senyawa tersebut mampu mengubah ekspresi gen dan membawa sel pada keadaan apoptosis, cellular redifferentiation, dan menjadi regresi tumor. Dasar dari senyawa antitumor adalah mampu menghambat reaksi isoprenilasi pada tempat pengikatan protein GTP dan membantu sintesis pro-apoptosis protein. Senyawa-senyawa tersebut memperlihatkan secara efektif untuk menghambat inisiasi sel kanker pada hewan dan juga menghambat progress pertumbuhan dari tumor yang ada.

d. Mentol

Mentol adalah salah satu senyawa terpenoid yang berhasil diisolasi pada tanaman genus *mentha* atau yang lebih dikenal dengan tanaman peppermint. Mentol banyak diekstrak dalam bentuk kristal dari minyak tanaman peppermint liar di India, Asia Barat, Asia Tengah, Himalaya, Siberia, dan Amerika Utara. Mentol memiliki banyak

manfaat salah satunya adalah bersifat sebagai analgesic alami (Pereda nyeri) jika digunakan dalam bentuk lotion, gel, dan krim. Selain itu, mentol juga berfungsi sebagai antiperadangan dimana dapat digunakan pada otot-otot yang nyeri. Mentol yang terdapat pada salep akan bekerja dengan membuat kulit terasa dingin dan menjadi hangat.

e. Eugenol

Senyawa eugenol adalah komponen utama yang terkandung di dalam minyak cengkeh dengan kandungannya mencapai 70%. Di dalam eugenol terdapat gugus samping yaitu alil, fenol, dan metoksi dimana gugus-gugus samping tersebut memungkinkan eugenol menjadi bahan dasar sintesis berbagai senyawa turunan lainnya yang bernilai lebih tinggi seperti isoeugenol, eugenol asetat, metil eugenol, eugenol etil eter. Eugenol dan turunannya memiliki banyak sekali manfaat dalam berbagai bidang. Dalam bidang farmasi, eugenol memiliki fungsi sebagai analgesic, antiinflamasi, antispasmodil, stimulant, dan anestetik lokal. Dalam bidang makanan dan minuman, senyawa ini berfungsi sebagai zat aditif flavor pada produk minuman tidak beralkohol, eskrim, permen karet, dan produk lainnya. Pada industri pestisida, senyawa ini dapat menjadi bahan baku pestisida nabati dimana senyawa eugenol pada beberapa penelitian mampu mengendalikan nematode, jamur patogen, bakteri, dan serangga hama.

C. Contoh Soal

1. Jelaskan biosintesis awal dari senyawa terpenoid!
2. Jelaskan biosintesis senyawa diterpenoid!
3. Jelaskan cara-cara identifikasi senyawa terpenoid!

D. Kunci Jawaban

1. Biosintesis dari terpenoid sendiri dimulai dari pembentukan isoprene. Isoprena diproduksi secara natural dan unit isoprene aktif diidentifikasi sebagai dimethylalil difosfat (DMAPP) dan isopentil difosfat (IPP).
2. Diterpen adalah senyawa terpenoid yang terbentuk dari 4 unit isopren dimana terbentuk dari kondensasi kation farnesyl-PP dengan IPP dan diikuti pelepasan proton membentuk geranyl-geranyl-PP (GGPP)

3. Senyawa terpenoid dapat diidentifikasi secara kualitatif dengan menggunakan beberapa reaksi yaitu:

- a. Uji Liebermann-Buchard
- b. Uji Salkowski
- c. Uji tembaga asetat

E. Daftar Pustaka

Dewick, Paul M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd ed, London

Hill, Robert.A, D Conolly, Joseph. Triiterpenoids. *Natural Product*, 2013, **30**, 1028.

Ludwizcuk, A, dkk. Terpenoids. *Pharmacognosy*, 2017, Bulgaria



MODUL 7

STEROID DAN POLIKETIDA

STEROID

A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

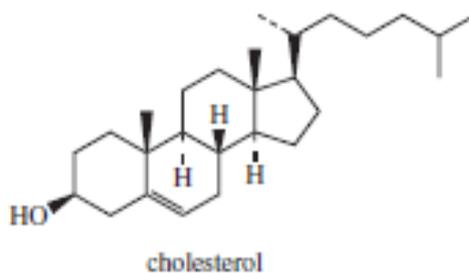
Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Mengidentifikasi senyawa golongan steroid
2. Menjelaskan kerangka dari senyawa steroid
3. Menjelaskan manfaat dan biosintesis senyawa steroid

B. Uraian dan Contoh

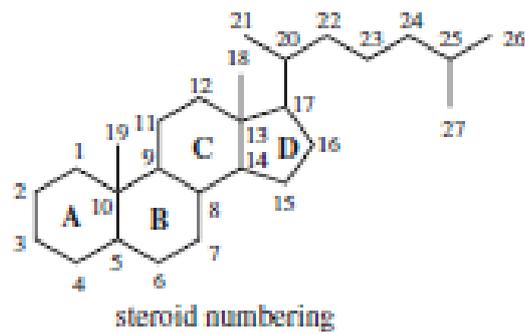
1. Kerangka steroid

Steroid adalah salah satu senyawa turunan triterpenoid yang termodifikasi dimana steroid memiliki sistem cincin tetrasiklik dari lanosterol tetapi kekurangan 3 gugus metil pada C-4 dan C-14. Kolesterol adalah salah satu struktur utama yang paling umum dari senyawa golongan steroid tetapi dengan modifikasi tertentu, terutama pada daerah gugus samping, mampu membuat senyawa golongan steroid memiliki berbagai macam senyawa turunan dan memiliki aktivitas biologis yang baik. Contohnya adalah sterol, steroidal saponin, cardioactive glycoside, kortikosteroid, dan hormon seks pada mamalia.



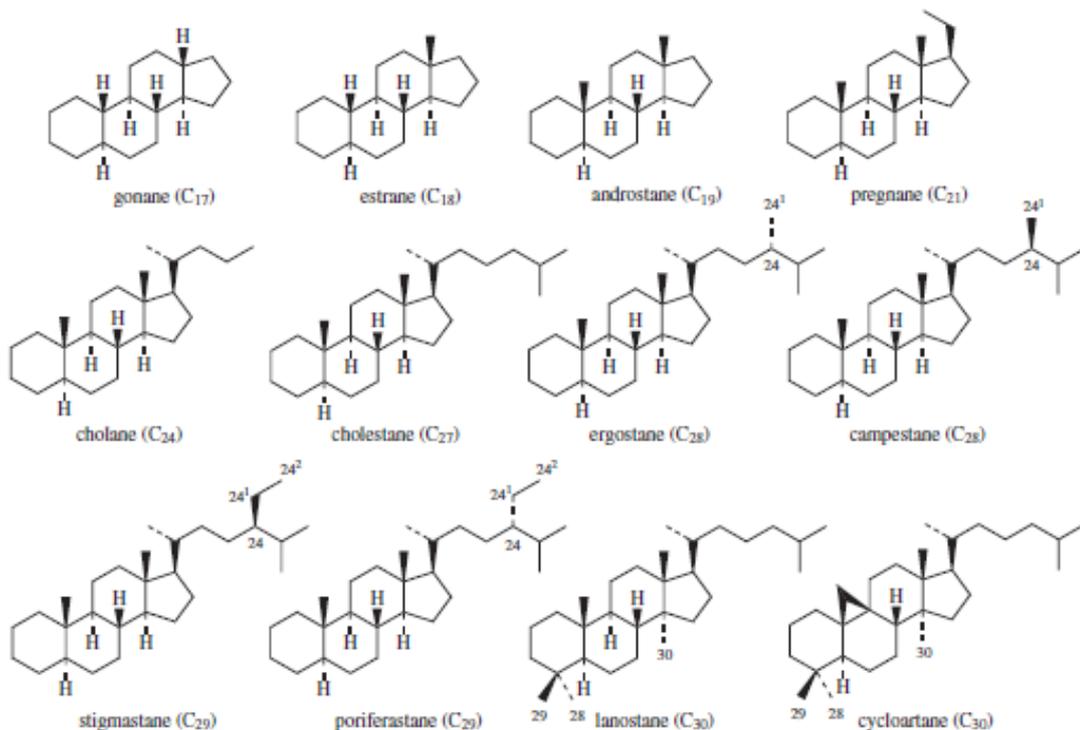
Gambar 1 Kerangka steroid

Dibawah ini merupakan cara penomoran dari senyawa golongan steroid:

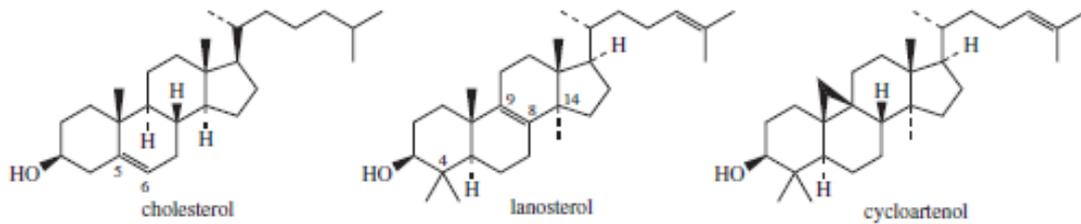


Gambar 2 Penomoran steroid

Dengan begitu banyaknya aktivitas biologis dari senyawa golongan steroid yang ditemukan, maka banyak senyawa steroid yang diisolasi secara natural maupun yang disintesis atau semi-sintesis, digunakan dalam pengobatan. Tata nama senyawa steroid sendiri tergantung pada kerangka struktur induknya yaitu gonane, estrane, androstan, prgenan, cholane, cholestane, ergostane, campestan, stigamstan, dan porifestane. Hidrokarbon triterpenoid yaitu lanostan dan sikloartan adalah senyawa triterpenoid yang memiliki penamaan yang mirip dengan senyawa steroid. Penamaan pada senyawa steroid cukup menambahkan ikatan rangkap (ene/yne) atau menambahkan suffix gugus fungsi pada penamaan utama senyawa steroid.



Gambar 3 Kerangka Induk Steroid

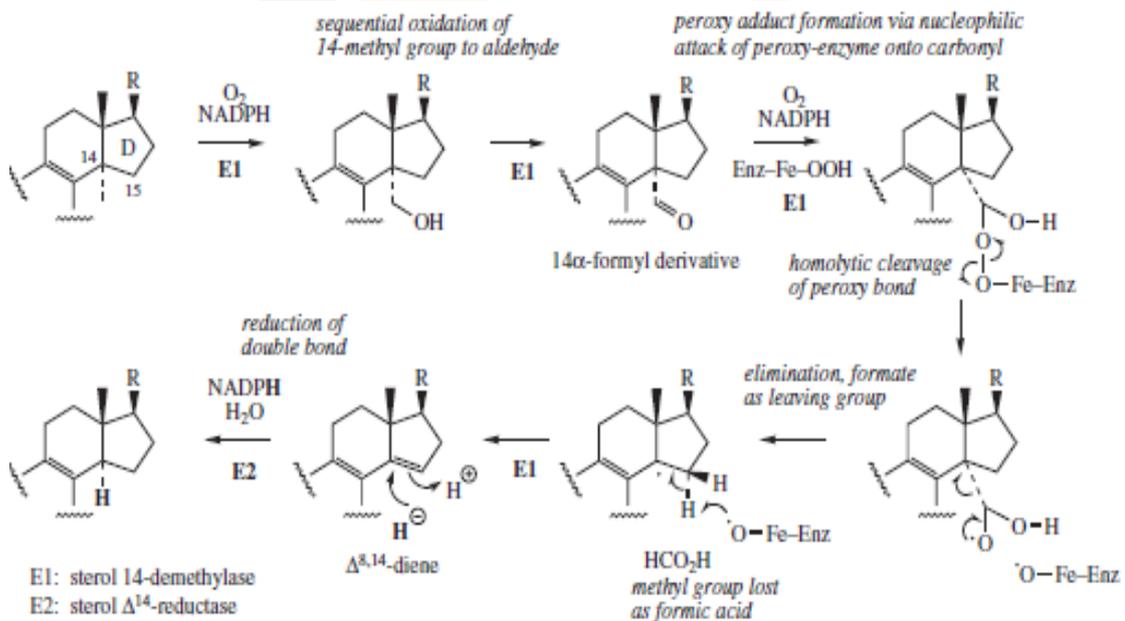


Gambar 4 Senyawa turunan steroid

2. Biosintesis Steroid

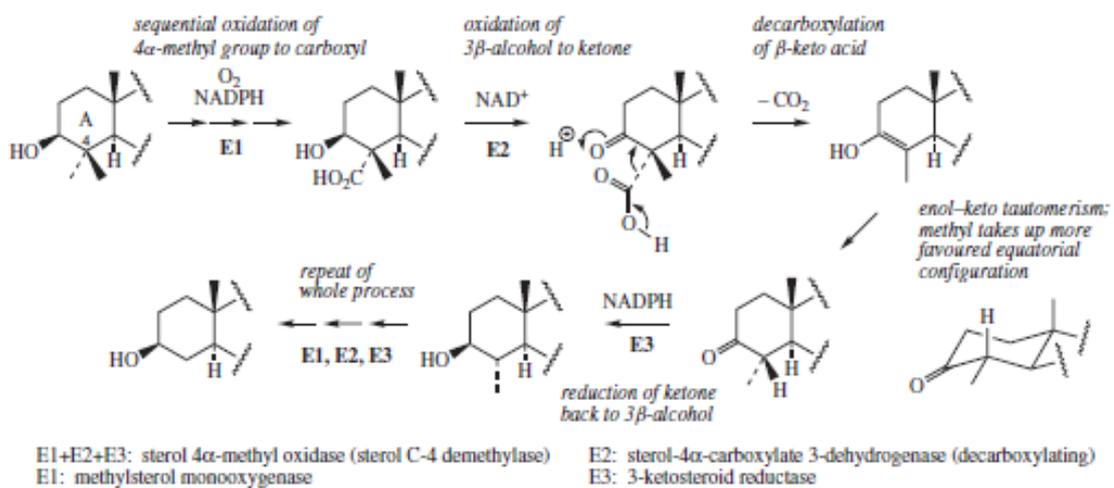
a. Kolesterol

Pada hewan, triterpenoid alkohol lanosterol diubah menjadi kolesterol, dimana dalam proses tersebut lanosterol kehilangan 3 gugus metil dalam reaksi reduksi ikatan rangkap dan juga perpindahan ikatan rangkap dari C8-C9 ke C5-C6. Reaksi yang terjadi ini berbeda-beda pada tiap organisme dimana reaksi bergantung pada transformasi individu dibandingkan dengan proses biosintesis utama. Reaksi yang terjadi tentunya dibantu dengan beberapa enzim yang terdapat dalam organisme tersebut. Berikut adalah salah satu tahapan dari reaksi transformasi lanosterol menjadi kolesterol yaitu penghilangan ikatan metil :



Gambar 5 Reaksi transformasi lanosterol menjadi kolesterol

Pada reaksi tersebut, reaksi yang pertama kali terjadi adalah reaksi oksidasi dibantu dengan NADPH yang menghasilkan gugus alkohol. Setelah itu terjadi reaksi oksidasi yang dilakukan secara kontinu hingga menghasilkan gugus aldehid. Gugus aldehid yang telah terbentuk kemudian akan dilepaskan yang dibantu oleh enzim tertentu dan menghasilkan ikatan karbon dengan hidrogen yang baru. Kemudian, akan terjadi reaksi eliminasi dan terbentuk ikatan rangkap pada C8-C14, hingga pada akhirnya ikatan rangkap tersebut akan direduksi kembali sehingga ikatan rangkap tersebut hilang.



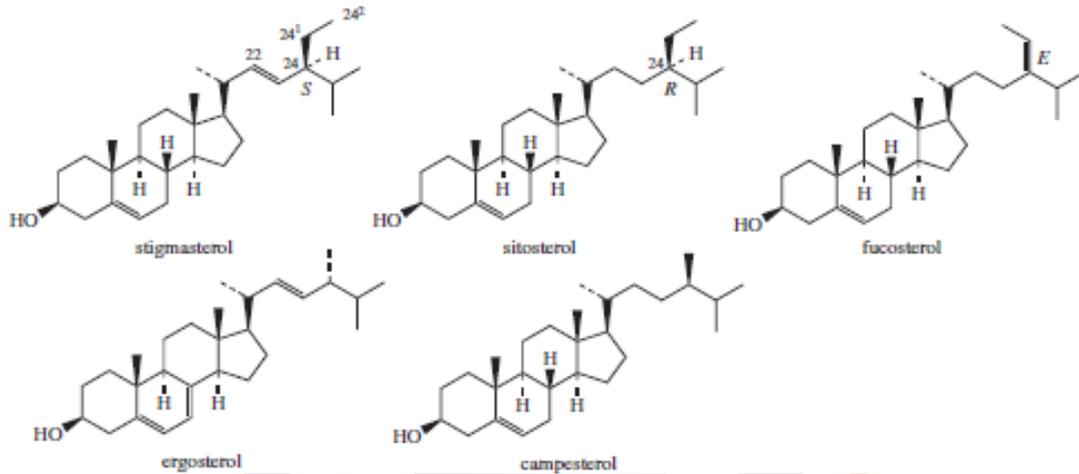
Gambar 6 Reaksi transformasi lanosterol menjadi kolesterol

Gambar diatas merupakan salah satu proses transformasi lanosterol menjadi kolesterol yaitu tahapan lanosterol kehilangan 2 gugus metil pada C-4. Reaksi diawali dengan reaksi oksidasi yang kontinu pada C-3 dan C-4 hingga menghasilkan gugus alkohol dan asam karboksilat dan dilanjutkan dengan reaksi dekarboksilasi menjadi β -keto acid. Reaksi dilanjutkan dengan tautomerisasi dan reduksi hingga akhirnya dua gugus metil pada C-4 hilang dari senyawa lanosterol.

b. Fitosterol

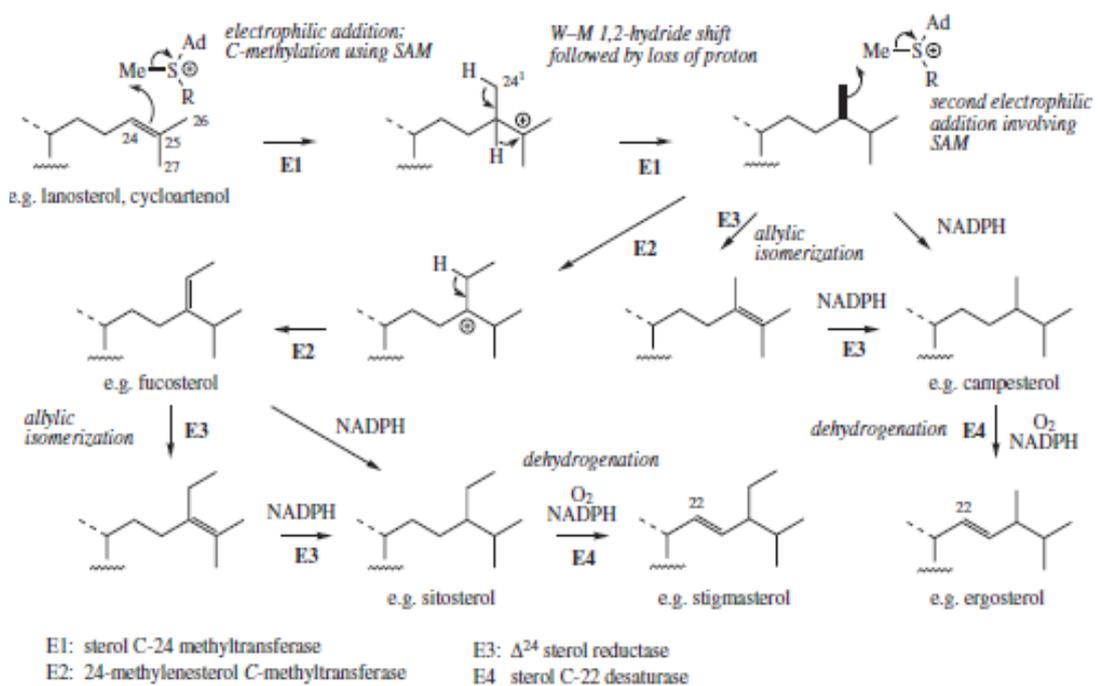
Fitosterol adalah senyawa golongan steroid yang banyak terdapat dalam tanaman. Sterol yang banyak ditemukan dalam tanaman adalah dalam bentuk kolesterol dimana kolesterol merupakan prekursor dalam pembentukan senyawa turunan steroid lainnya yaitu kortikosteroid dan hormone seks. Sterol utama pada tanaman, jamur,

dan alga diakarakterisasi dengan adanya penambahan satu atau dua karbon substituent pada gugus samping yang berikatan dengan C-24. Senyawa golongan ini antara lain adalah campesterol, sitosterol, fuksosterol, stigmasterol, dan ergosterol. Pada jamur ergosterol merupakan senyawa sterol yang paling dominan ditemukan.



Gambar 7 Senyawa turunan fitosterol

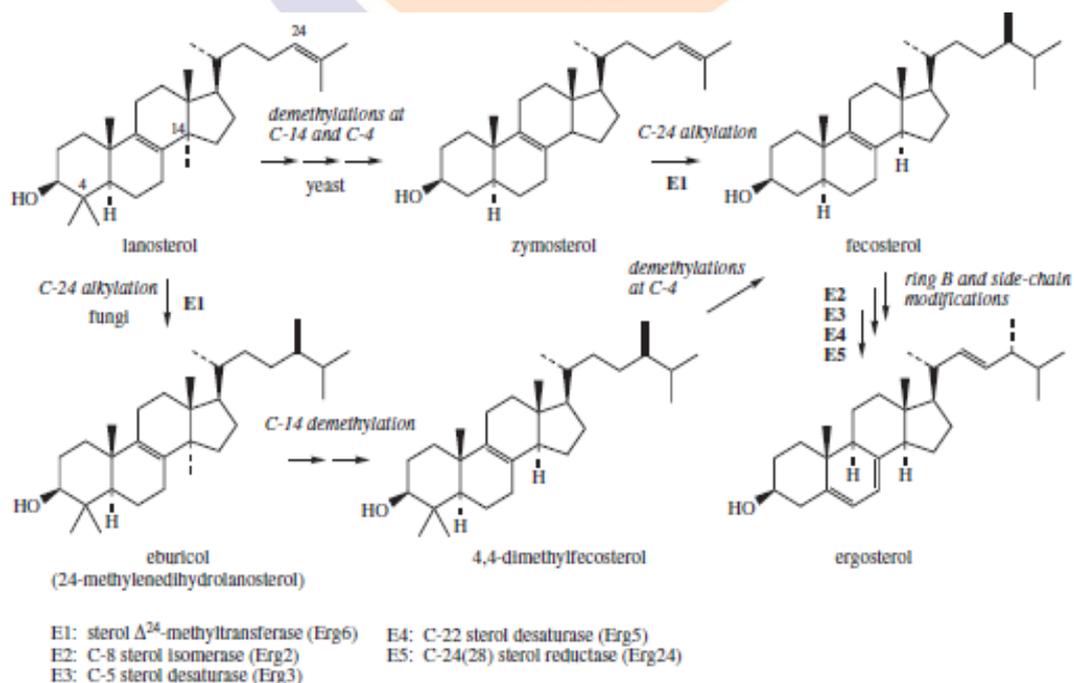
Berikut adalah salah satu reaksi pembentukan lanosterol menjadi sitosterol, stigmasterol, campesterol, fukosterol, dan ergosterol yaitu perpindahan ikatan rangkap:



Gambar 8 Reaksi transformasi lanosterol

Pada reaksi perpindahan ikatan rangkap ini diawali dengan reaksi adisi yaitu C-metilasi menggunakan SAM yang dilanjutkan dengan penataan ulang W-M dan menghasilkan proton yang lepas. Setelah itu, reaksi dilanjutkan dengan reaksi adisi dan menghasilkan tiga produk turunan yang baru dimana akan terbentuk senyawa fukosterol, sitosterol, stigmasterol, dan ergosterol.

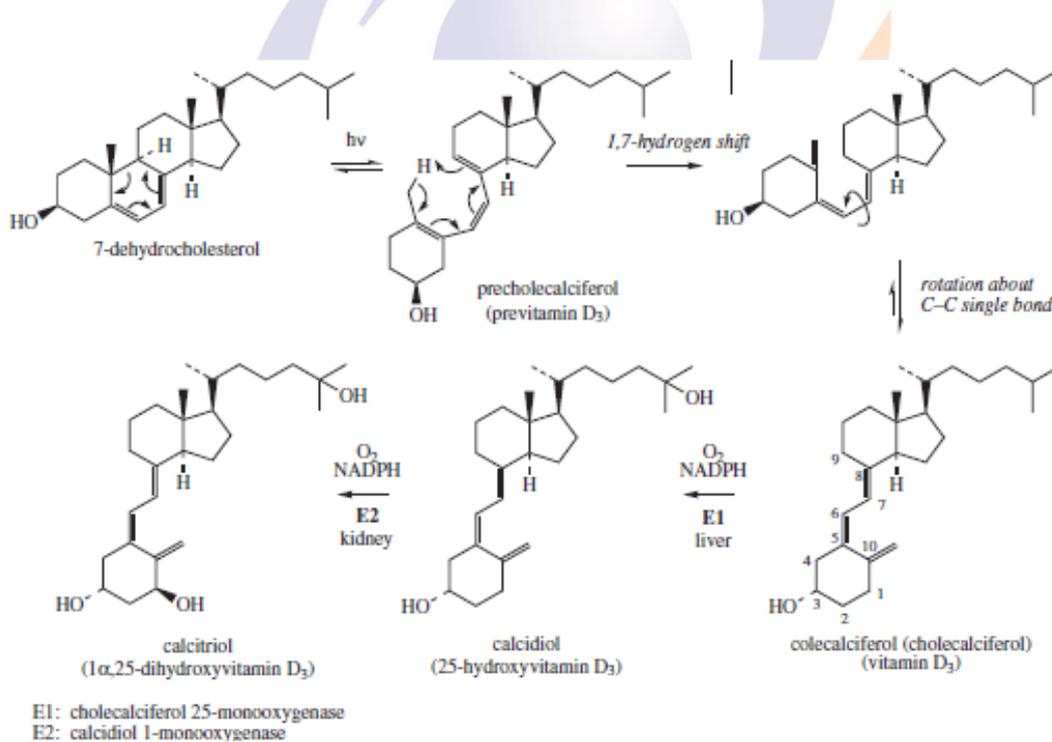
Jalur pembentukan sterol pada setiap organisme berbeda-beda dimana substrat yang digunakan pada reaksi alkilasi yang ditemukan adalah sikloartenol pada tanaman dan alga, namun substrat yang digunakan pada jamur adalah lanosterol. Hampir semua sterol jamur berasal dari lanosterol sehingga jarang sekali ditemukan variasi dari hasil transformasi. Jalur pembentukan ergosterol dari lanosterol dalam yeast dan jamur berbeda. Perbedaannya adalah pada yeast biasanya menghasilkan produk intermediat zymosterol tetapi pada jamur biasanya menghasilkan produk intermediat eburicol. Kedua jalur ini sama-sama menghasilkan senyawa fecosterol. Perbedaan lainnya adalah pada yeast terjadi reaksi demetilasi yang sama seperti pada mamalia, kemudian setelah itu terjadi reaksi alkilasi gugus samping. Sementara pada jamur, reaksi alkilasi gugus samping terjadi lebih dahulu dan dilanjutkan dengan reaksi demetilasi. Berikut adalah reaksi yang terjadi.



Gambar 9 Reaksi pembentukan ergosterol

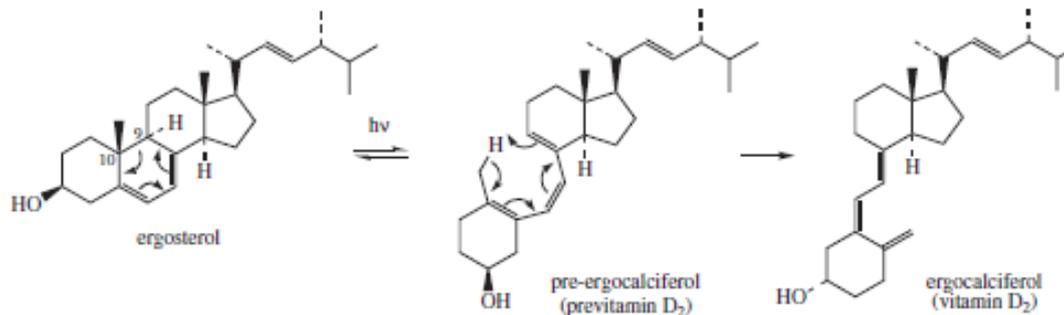
c. Vitamin D

Vitamin D3 termasuk kedalam kelompok steroid golongan sterol yang terbentuk secara fotokimia pada hewan dari 7-dehidrokolesterol yang dibantu oleh radiasi matahari pada kulit hewan. 7-dehidrokolesterol adalah senyawa prekursor dari pembentukan kolesterol dan reaksi fotokimia mampu membuka cincin pada 7-dehidrokolesterol hingga menghasilkan senyawa prekolecalciferol. Kemudian reaksi dilanjutkan dengan perpindahan 1,7-hidrogen yang menghasilkan senyawa kolecalciferol atau vitamin D3 dimana vitamin D3 secara manufaktur juga dihasilkan dengan cara yang sama. Pembentukan vitamin D2 (ergocalciferol) terbentuk dari ergosterol dengan cara yang sama dan ditemukan pada tanaman dan yeast. Vitamin D2 diproduksi secara manufaktur secara semi-sintetik dengan reaksi yang sama pada tanaman dengan menggunakan ergosterol dari yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Reaksi pembentukan vitamin D3 dan vitamin D2 dapat dilihat di bawah ini:



Gambar 10 Reaksi pembentukan vitamin D3

Vitamin D3 di dalam tubuh tidak dalam bentuk aktif dan ditemukan dalam bentuk terhidroksilasi menjadi calcidiol dan calcitriol. Colecalciferol dan calciterol juga banyak ditemukan pada beberapa spesies tanaman terutama pada family Solanaceae.



Gambar 11 Reaksi pembentukan vitamin D₂

2. Manfaat Senyawa Steroid

Senyawa steroid banyak sekali manfaatnya sebagai metabolit sekunder oleh karena itu senyawa ini banyak sekali diproduksi baik secara semisintesis atau sintesis. Steroid sendiri di dalam tubuh manusia berperan dalam menjaga keseimbangan garam, mengendalikan metabolisme, hormone, dan meningkatkan fungsi organ seksual. Tubuh manusia memproduksi steroid secara natural yang terlibat dalam proses metabolisme. Fitosterol adalah senyawa steroid yang terdapat dalam tanaman dan memiliki struktur mirip dengan kolesterol. Fitosterol adalah kolesterol rantai pendek dan berfungsi sebagai penghadang dari kolesterol jahat. Fitosterol sering disebut sebagai kolesterol baik atau HDL (High Density Lipoprotein) dimana fitosterol memiliki fungsi untuk mengikis dan membuang kolesterol jahat yang dapat menyumbat pembuluh darah dan mengirimnya kembali ke hati agar dihilangkan dari dalam tubuh. Selain itu, juga berfungsi untuk menghadang kolesterol jahat untuk mengendap serta melindungi dari aterosklerosis. Adanya pembentukan plak pada pembuluh darah menyebabkan penyempitan dimana hal ini dapat dipengaruhi dari berbagai faktor eksternal maupun internal. Fitosterol secara alami ditemukan dalam berbagai makanan seperti kacang-kacangan, udang, cumi, kepiting, alpukat, dan santan. Secara klinis, konsumsi makanan yang telah difortifikasi fitosterol terbukti menurunkan kadar kolesterol pada penderita hiperkolesterolemia. Kemudian, fitosterol mampu mengurangi risiko penyakit jantung koroner hingga 25%. Selain itu fitosterol juga memiliki aktivitas biologis sebagai antiangiogenik yaitu sebagai senyawa antikanker seperti pada kanker ovarium, kanker prostat, kanker payudara, dan kanker usus besar. Hal ini dimungkinkan karena fitosterol juga memiliki potensi antioksidan dan mampu menghambat tiroid.

C. Contoh Soal

1. Apa itu senyawa steroid?
2. Apa perbedaan fitosterol dan sterol?

D. Kunci Jawaban

1. Steroid adalah salah satu senyawa turunan triterpenoid yang termodifikasi dimana steroid memiliki sistem cincin tetrasiklik dari lanosterol tetapi kekurangan 3 gugus metil pada C-4 dan C-14.
2. Perbedaan fitosterol dan sterol adalah fitosterol merupakan senyawa steroid yang ditemukan dalam tumbuhan, sementara sterol ditemukan di dalam hewan.

E. Daftar Pustaka

Dewick, Paul M. 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd ed, London

Hill, Robert.A, D Conolly, Joseph. Triterpenoids. *Natural Product*, 2013, **30**, 1028.

Ludwizcuk, A, dkk. Terpenoids. *Pharmacognosy*, 2017, Bulgaria



POLIKETIDA

A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

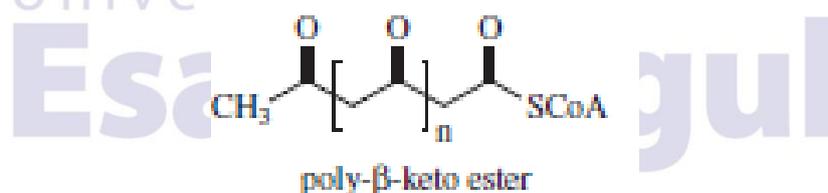
Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

4. Mengidentifikasi senyawa golongan poliketida
5. Menjelaskan kerangka dari senyawa poliketida
6. Menjelaskan manfaat dan biosintesis senyawa poliketida

B. Uraian dan Contoh

1. Kerangka poliketida

Poliketida adalah salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jalur asetat-malonat. Pada jalur asetat-malonat, selain senyawa poliketida dihasilkan juga senyawa asam lemak, prostaglandin, tromboksan, dan leukotriene. Senyawa induk dari poliketida adalah poli- β -ketoester. Poliketida berasal dari kata “poli” yang berarti banyak dan ketida menunjukkan adanya $-\text{CH}_2\text{COCOOH}$ (asam asetat). Hal ini terjadi karena poliketida ditandai dengan dimilikinya pola berulang suatu ketida dalam rangkaian strukturnya. Dalam struktur poliketida terdapat gugus karbonil dan gugus metilen yang tersusun secara berulang-ulang dimana susunan kerangka karbon tersebut adalah C6-C2.

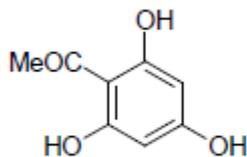


Gambar 1 Kerangka poliketida

Senyawa golongan poliketida banyak ditemukan pada mikroba (bakteri dan fungi), namun senyawa ini juga banyak ditemukan pada makhluk hidup lainnya yaitu pada tumbuhan, serangga, moluska, alga, spons, lumut kerak, dan crinoid. Senyawa poliketida mewakili senyawa metabolit sekunder terbesar dan paling beragam dalam fungsi maupun strukturnya. Senyawa-senyawa yang berbeda telah dikelompokkan berdasarkan fitur structural umum namun karena adanya keragaman yang begitu besar

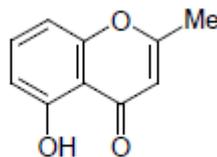
maka skema klasifikasi belum muncul. Salah satu perbedaan utama yang telah diketahui adalah kelompok senyawa-senyawa yang berasal dari rantai poliketida yang tidak tereduksi adalah sebagian besar aromatic. Berikut adalah pengelompokan poliketida berdasarkan kerangka utamanya:

Turunan asilfloroglusinol



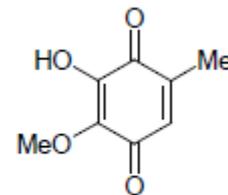
floorasasetofenon

Turunan kromon



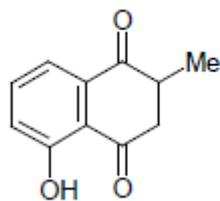
5-hidroksi-2-metilkromon

Turunan benzokuinon



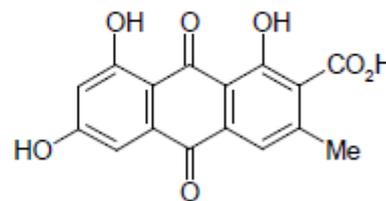
fumigatin

Turunan naftakuinon



plumbagin

Turunan antrakuinon



endokrosin

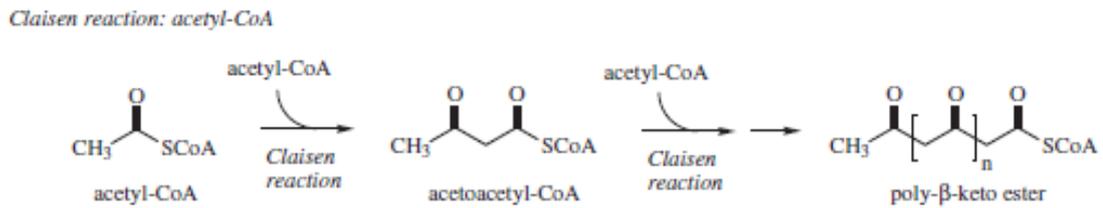
Gambar 2 pengelompokan poliketida

2. Biosintesis poliketida

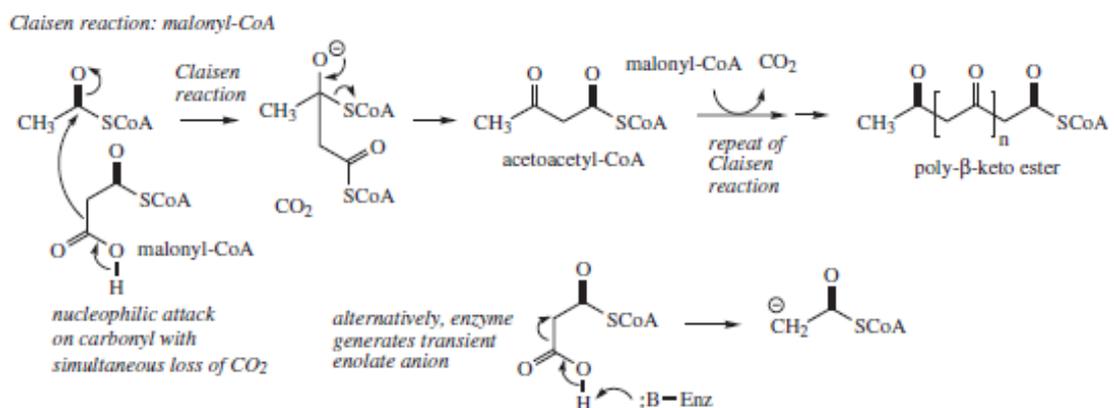
Penelitian tentang biosintesis poliketida dimulai pada tahun 1953 oleh Birch dan Donovan dimana mereka mengemukakan jalur biosintesis poliketida menggunakan mekanisme serupa dengan mekanisme biosintesis asam lemak. Hipotesis tersebut mengatakan bahwa poliketida dibentuk dengan hubungan kepala-ke-ekor dari unit asetat yang diikuti oleh siklisasi dengan reaksi aldol atau reaksi claisen.

Biosintesis dari senyawa golongan poliketida ditandai dengan pembentukan poli- β -ketoester yang dimulai dari reaksi claisen antar unit asetil Co-A. Dua unit asetil Co-A membentuk suatu asetoasetil Co-A. Reaksi tersebut terus-menerus berulang hingga menghasilkan senyawa poli- β -ketoester. Selain dari reaksi kondensasi asetil Co-A, senyawa poli- β -ketoester juga dapat terbentuk dengan adanya reaksi claisen antara

asetil Co-A dengan malonil Co-A. Biosintesis ini dilakukan oleh enzim poliketide synthetase (PKS).

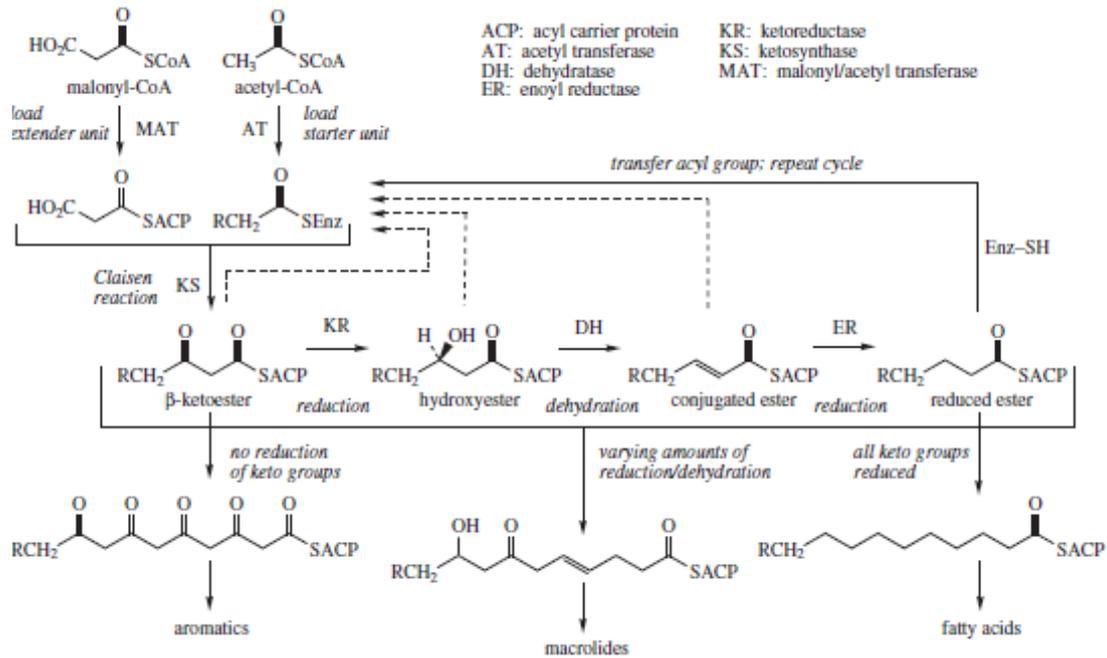


Gambar 3 Reaksi claisen acetyl co-a



Gambar 4 Reaksi claisen malonyl co-a

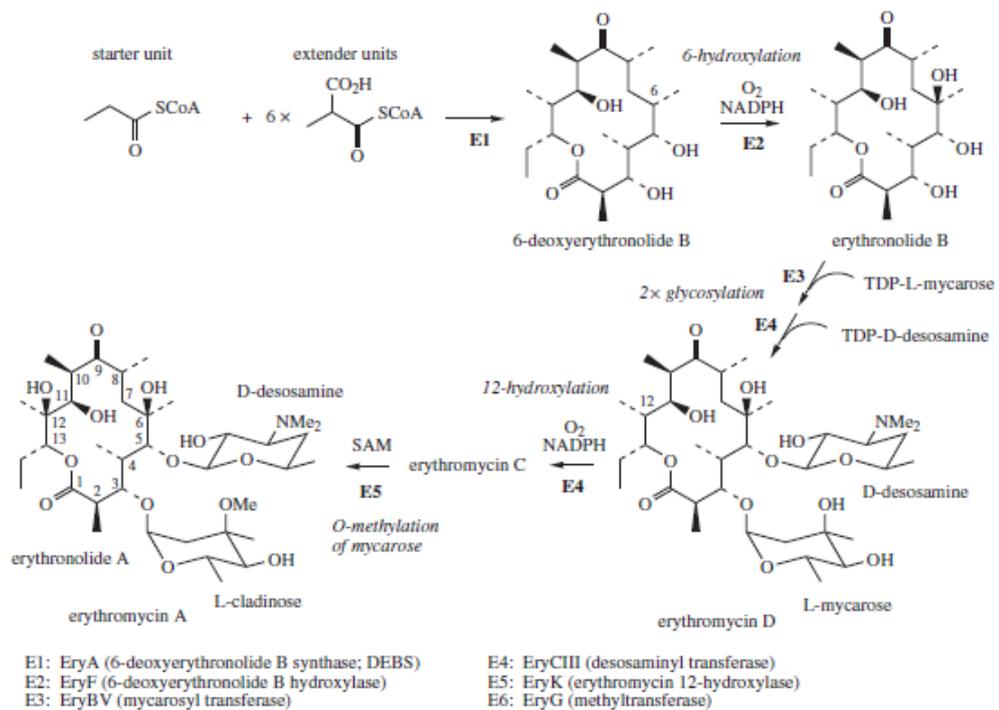
Setiap senyawa poli-β-ketoester yang terbentuk akan mengalami proses reduksi. Ada tiga proses reduksi yang terjadi yang mengakibatkan modifikasi dari senyawa poli-β-ketoester yaitu reduksi menjadi alkohol, dehidrasi menjadi ester terkonjugasi, dan reduksi dari ikatan rangkap. Modifikasi dari reduksi tersebut menyebabkan senyawa poliketida berubah menjadi sistem poliketida lainnya yaitu aromatic dan makrolida. Dalam pembentukan senyawa poliketida aromatic, reaksi reduksi yang kontinu hilang sehingga poli-β-ketoester dapat masuk ke dalam siklus perpanjangan dan mampu melakukan proses siklisasi yang menghasilkan berbagai macam senyawa aromatik. Sementara dalam pembentukan senyawa poliketida makrolida, terjadi reaksi reduksi atau dehidrasi yang bervariasi atau tidak ada reaksi reduksi sama sekali.



Gambar 5 Modifikasi Poliketida

a. Sintesis Poliketida: Makrolida

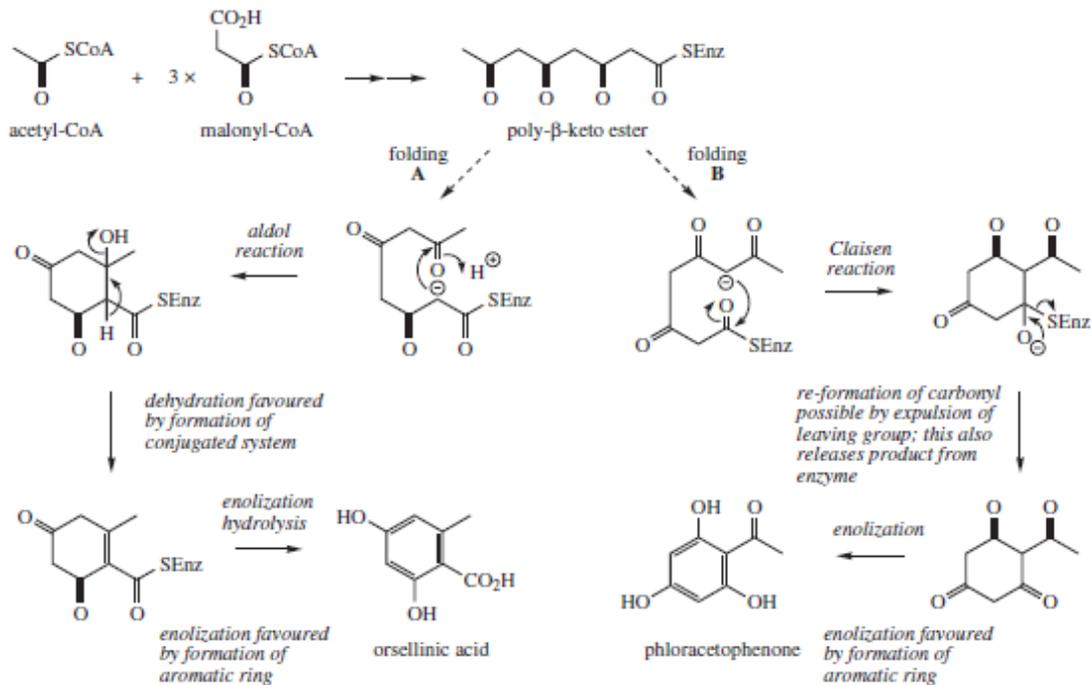
Makrolida termasuk ke dalam senyawa metabolit sekunder yang memiliki family yang sangat besar dengan sejumlah aktivitas biologis tertentu. Senyawa ini dapat diidentifikasi dengan adanya cincin lactone dengan sebanyak 12, 14, 16 member, bahkan ditemukan senyawa makrolida terbesar yang memiliki 66 cincin. Salah satu senyawa poliketida yang telah ditemukan adalah eritromisin A dari *Saccharopolispora erythrae* yang memiliki sifat antibiotic yang sangat baik. Berikut adalah biosintesis dari eritromisin A



Gambar 6 Biosintesis Eritromisin A

b. Sintesis Poliketida: Aromatik

Dengan tidak adanya proses reduksi pada senyawa poli- β -ketoester maka perpanjangan dari senyawa tersebut memerlukan kestabilan oleh enzim hingga senyawa itu dapat mencapai panjang yang maksimum yaitu dimana siklisasi dapat terbentuk atau ada reaksi lainnya. Poli- β -ketoester adalah senyawa ester yang sangat reaktif dan dapat melalui berbagai macam proses reaksi intramolecular yang beragam yang tentunya dibantu oleh berbagai macam enzim. Poli- β -ketoester dapat terlipat atau mengalami siklisasi dengan dua cara ionisasi sehingga mampu menghasilkan poliketida aromatic yaitu asam orsinilat dan florocefefonon. Pembentukan asam orsinilat dimulai dengan reaksi aldol yang menghasilkan pembentukan cincin dan diikuti dengan adanya dehidrasi yang menghasilkan alkena. Setelah itu reaksi enolisasi juga terjadi untuk menjaga kestabilan cincin aromatic dan menghasilkan senyawa asam orsinilat. Pembentukan senyawa floroacetofenon dimulai dari reaksi claisen yang menghasilkan cincin dan diikuti dengan reaksi enolisasi dan menghasilkan senyawa aromatic yang stabil. Biosintesis dari senyawa tersebut dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 7 Biosintesis Asam Orsinilat dan Floracetofenon

3. Manfaat dari Poliketida

Senyawa poliketida memiliki banyak sekali manfaat. Yaitu:

- Sebagai antibiotic yaitu pada golongan makrolida dan golongan tetrasiklin
- Sebagai obat kolesterol yaitu senyawa lovastatin
- Sebagai anti jamur yaitu senyawa amfoterisin
- Sebagai antikanker yaitu senyawa epotilon

C. Contoh Soal

- Bagaimana proses pembentukan senyawa poli-beta-ketoester?
- Apa saja golongan dari senyawa poliketida?
- Sebutkan manfaat dari senyawa poliketida!

D. Kunci Jawaban

1. Biosintesis dari senyawa golongan poliketida ditandai dengan pembentukan poli-β-ketoester yang dimulai dari reaksi claisen antar unit asetil Co-A. Dua unit asetil Co-A membentuk suatu asetoasetil Co-A. Reaksi tersebut terus-menerus berulang hingga menghasilkan senyawa poli-β-ketoester. Selain dari reaksi kondensasi asetil Co-A, senyawa poli-β-ketoester juga dapat terbentuk dengan adanya reaksi claisen antara

asetil Co-A dengan malonil Co-A. Biosintesis ini dilakukan oleh enzim polyketide synthetase (PKS).

2. Makrolida dan aromatic

3. a. Sebagai antibiotic yaitu pada golongan makrolida dan golongan tetrasiklin

b. Sebagai obat kolesterol yaitu senyawa lovastatin

c. Sebagai anti jamur yaitu senyawa amfoterisin

d. Sebagai antikanker yaitu senyawa epotilon

E. Daftar Pustaka

Dewick, Paul M. 2009. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd ed, London

Hill, Robert.A, D Conolly, Joseph. Triiterpenoids. *Natural Product*, 2013, **30**, 1028.

Ludwizcuk, A, dkk. Terpenoids. *Pharmacognosy*, 2017, Bulgaria



MODUL 8 FLAVONOID I

Flavonoid

A. Kemampuan Akhir yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini diharapkan mahasiswa mampu:

1. Mengidentifikasi senyawa golongan flavonoid
2. Menjelaskan kerangka dari senyawa flavonoid
3. Menjelaskan manfaat dan biosintesis senyawa flavonoid

B. Uraian dan Contoh

1. Manfaat Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu golongan dari senyawa metabolit sekunder yang paling umum dan terdistribusi secara besar pada tanaman yang mengandung senyawa fenolik, dan terdapat dalam hampir semua bagian tumbuhan, terutama pada tumbuhan yang berfotosintesis. Flavonoid adalah senyawa umum yang memberikan warna pada berbagai macam bunga dan juga termasuk ke dalam diet manusia dan hewan. Beberapa makan dapat mengandung senyawa flavonoid yang berbeda-beda. Sebagai senyawa metabolit sekunder, flavonoid tidak dapat disintesis dalam tubuh manusia maupun hewan. Flavonoid yang ditemukan pada hewan pun biasanya berasal dari tumbuhan yang dimakan oleh hewan tersebut. Flavonol adalah salah satu golongan dari flavonoid yang banyak sekali dihasilkan dalam makanan. Flavonoid secara umum memiliki fungsi sebagai pewarna, perasa, mencegah oksidasi lemak, dan melindungi vitamin juga enzim. Flavonoid yang paling banyak ditemukan pada makanan adalah isoflavon, flavonol, dan flavon. Persiapan dan proses memasak pada makanan dapat mengurangi jumlah flavonoid bergantung dengan metoda yang digunakan. Untuk menentukan jumlah flavonoid yang dikonsumsi seseorang dalam satu hari cukup sulit, karena banyaknya varietas dari flavonoid dan juga distribusi flavonoid yang sangat beragam dalam tumbuhan, serta jumlah konsumsi yang berbeda-beda pada manusia.

Akhir-akhir ini, telah banyak orang yang menaruh perhatian kepada potensi terapeutik menggunakan tanaman obat yang kemungkinan besar mengandung senyawa fenolik yaitu flavonoid. Flavonoid telah dikonsumsi manusia semenjak peradaban manusia ada yaitu sekitar 4 milyar tahun yang lalu. Flavonoid memiliki aktivitas biologis yang dapat membantu kesehatan manusia dan juga mampu mengurangi potensi penyakit pada manusia. Adanya modifikasi oksidatif pada LDL kolesterol merupakan salah satu kunci dari atherosclerosis. Isolasi dari senyawa glabridin, yang merupakan senyawa flavonoid yang ditemukan pada *Glycyrrhiza glabra* diketahui dapat menghambat oksidasi LDL melalui mekanisme anti radikal bebas. Beberapa penelitian lainnya, dengan mengkonsumsi teh dapat mengurangi konsentrasi kolesterol dalam darah dan juga menurunkan tekanan darah, sehingga mampu melindungi tubuh dari serangan jantung. Flavonoid juga diketahui mampu mempengaruhi kualitas dan kestabilan dari suatu makanan dimana senyawa ini berperan sebagai pemberi rasa, pemberi warna, dan antioksidan. Flavonoid yang terdapat di dalam buah beri juga mungkin memiliki efek positif terhadap penyakit Parkinson dan mampu membantu peningkatan memori pada orang yang sudah tua. Selain itu, antihipertensi juga berhasil diobservasi pada senyawa flavonoid dalam tikus yang mengalami hipertensi.

Tabel 1 Sumber Flavonoid

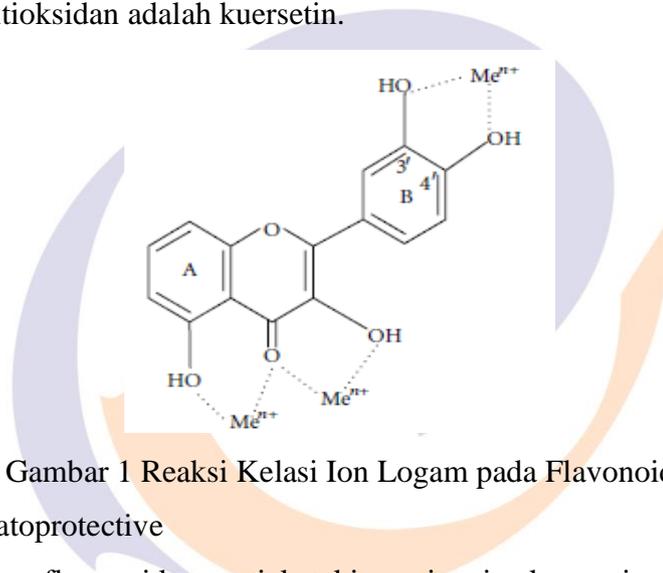
Universitas
Esa Unggul

Serial no.	Flavonoid	Class	Dietary sources
1	Quercetin	Flavonols	Vegetables, fruits and beverages, spices, soups, fruit juices
2	Rutin	Flavonols	Green tea, grape seeds, red pepper, apple, citrus fruits, berries, peaches
3	Macluraxanthone	Xanthones	Madura tinctoria (Hedge apple), Dyer's mulberry
4	Genistein	Isoflavone	Fats, oils, beef, red clover, soybeans, psoralea, lupin, fava beans, kudzu, psoralea
5	Scopoletin	Coumarin	Vinegar, dandelion coffee
6	Daidzein	Isoflavone	Soybeans, tofu
7	Taxifolin	Flavanonol	Vinegar
8	Naringenin	Flavanone	Grapes
9	Abyssinones	Flavanone	French bean seeds
10	Rutin	Flavonol	Citrus fruits, apple, berries, peaches
11	Eriodictyol	Flavanone	Lemons, rosehips
12	Fisetin	Flavonol	Strawberries, apples, persimmons, onions, cucumbers
13	Theaflavin	Catechins	Tea leaves, black tea, oolong tea
14	Peonidin	Anthocyanidin	Cranberries, blueberries, plums, grapes, cherries, sweet potatoes
15	Diosmetin	Flavone	Vetch
16	Tifcin	Flavone	Rice bran
17	Biochanin	Isoflavone	Red clover, soya, alfalfa sprouts, peanuts, chickpeas (<i>Cicer arietinum</i>), other legumes
18	Hesperidin	Flavanone	Bitter orange, petit grain, orange, orange juice, lemon, lime
19	Epicatechin	Flavan-3-ols	Milk, chocolate, commercial, reduced fat
20	Myricetin	Flavonols	Vegetables, fruits, nuts, berries, tea, red wine
21	Taxifolin	Flavanonol	Citrus fruits
22	Kaempferol	Flavonols	Apples, grapes, tomatoes, green tea, potatoes, onions, broccoli, Brussels sprouts, squash, cucumbers, lettuce, green beans, peaches, blackberries, raspberries, spinach
23	Luteolin	Flavones	Celery, broccoli, green pepper, parsley, thyme, dandelion, petilla, chamomile tea, carrots, olive oil, peppermint, rosemary, navel oranges, oregano
24	Apigenin	Flavones	Milk, chocolate, commercial, reduced fat

a. Aktivitas Antioksidan

Diketahui bahwa senyawa flavonoid memiliki beragam aktivitas biologis yang penting, salah satunya adalah aktivitas antioksidan dimana dapat dikatakan bahwa hampir semua senyawa flavonoid yang ada memiliki kemampuan untuk bekerja sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan yang ada pada flavonoid bergantung kepada gugus fungsi yang terdapat pada senyawa tersebut. Konfigurasi, substitusi, dan jumlah gugus hidroksil pada flavonoid dapat mempengaruhi beberapa mekanisme dari aktivitas antioksidan seperti menangkap radikal bebas dan juga kelasi ion logam. Flavonoid dapat memberikan efek antioksidan dengan mencegah generasi ROS (Reactive Oxygen Species). Mekanisme dari antioksidan yang mungkin terjadi adalah dengan menekan pembentukan ROS dengan cara inhibisi enzim atau dengan mengkelasi atom bebas yang berperan dalam generasi radikal bebas. Cara lainnya adalah dengan menangkap ROS dan meregulasi atau melindungi pertahanan antioksidan. Senyawa flavonoid hampir dapat melakukan semua aktivitas di atas.

Peroksidasi lipid adalah salah satu akibat dari stress oksidatif. Flavonoid dapat melindungi lipid terhadap reaksi oksidasi tersebut dengan berbagai macam mekanisme. Dengan adanya ion logam bebas dapat meningkatkan pembentukan ROS melalui reaksi reduksi dari hidrogen peroksida yang kemudian menghasilkan radikal hidroksi yang sangat reaktif. Dengan adanya potensial reduksi yang rendah pada flavonoid maka senyawa flavonoid secara termodinamika dapat mereduksi radikal bebas yang teroksidasi sangat tinggi. Kemudian, flavonoid juga mampu menangkap radikal bebas karena adanya kemampuan flavonoid dalam mengkelasi ion logam. Reaksi ini dapat dilihat pada Gambar 1. Salah satu senyawa flavonoid yang memiliki sifat antioksidan adalah kuersetin.



Gambar 1 Reaksi Kelasi Ion Logam pada Flavonoid

b. Aktivitas Hepatoprotective

Beberapa senyawa flavonoid seperti katekin, apigenin, kuersetin, naringenin, rutin, dan venoruton dilaporkan memiliki aktivitas hepatoprotective. Aktivitas hepatoprotective adalah aktivitas dimana suatu senyawa kimia memiliki kemampuan untuk melindungi liver (hati) dari kerusakan. Ada banyak penyakit kronis yang dapat merusak liver salah satu contohnya adalah diabetes. Ekspresi subunit glutamate-sistein ligase (Gclc), glutation, dan level ROS dilaporkan dalam suatu penelitian akan menurun pada tikus yang memiliki diabetes. Antosianin dilaporkan dapat mencegah berbagai penyakit berat. Antosianin dapat berperan dengan meningkatkan ekspresi subunit Gclc dengan meningkatkan jumlah cAMP sehingga dapat mengaktifkan protein kinase A. Dengan meningkatnya ekspresi Gclc akan menurunkan jumlah ROS dan memberikan signal proapoptosis pada hati yang mengalami diabetes.

Silimarin adalah salah satu senyawa flavonoid yang memiliki tiga struktur senyawa yang berbeda yaitu silibinin, siidianin, dan silikristin yang diekstraksi dari biji dan

buah *Silybium marianum*. Silimarin dilaporkan dapat menstimulasi aktivitas enzim pada DNA dan RNA polimerasi 1 yang dapat meningkatkan biosintesis DNA dan pembentukan sel yang dapat mengarah kepada regenerasi sel liver pada liver yang rusak. Silimarin memiliki sifat farmakologis yang meliputi pengaturan permeabilitas dan integritas dari sel membrane, inhibisi dari leukotrin, penangkal ROS, dan produksi kolagen. Beberapa penelitian klinis juga telah memperlihatkan efektivitas dan keamanan dari senyawa flavonoid dalam mengobati disfungsi liver dan juga penyakit pencernaan, seperti kehilangan nafsu makan dan muntah.

c. Aktivitas Antibakteri

Senyawa flavonoid dikenal sebagai senyawa yang disintesis oleh tumbuhan ketika tumbuhan tersebut mengalami infeksi mikroba. Oleh karena itu, tidak mengherankan bahwa flavonoid dapat bekerja dengan baik sebagai antimikroba terhadap berbagai macam jenis mikroorganisme. Dari penelitian yang ada, ekstrak flavonoid dari berbagai macam spesies tumbuhan dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba yang beragam. Contohnya adalah apigenin, galangin, flavon, flavonol glikosida, isoflavon, dan flavanone, juga calkon memiliki aktivitas antimikroba yang sangat baik.

Antibakteri pada senyawa flavonoid kemungkinan besar dapat memiliki beberapa sel target, bukan hanya satu spesifik sel target. Salah satu sifat molekular flavonoid adalah dapat membentuk kompleks dengan protein melalui gaya nonspesifik seperti ikatan hidrogen atau efek hidrofobik, atau pembentukan ikatan kovalen. Aktivitas antimikroba yang ada pada flavonoid kemungkinan besar memiliki hubungan dengan kemampuan mereka dalam menonaktifkan adesi mikroba, sebagai enzim, sebagai pelindung sel dalam transportasi protein, dll. Flavonoid lipofilik juga mampu menghancurkan membrane mikroba.

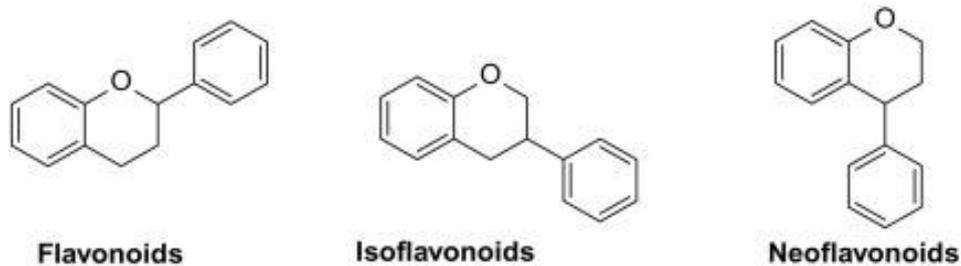
Katekin adalah salah satu senyawa flavonoid yang memiliki kerangka paling tereduksi, telah diteliti secara intensif dalam kemampuannya sebagai antimikroba. Senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Vibrio cholerae*, *Streptococcus mutans*, *Shigella*, dan beberapa bakteri lainnya. Senyawa katekin telah dilaporkan mampu membunuh *Vibrio cholera* dan mampu menginhibisi bakteri *Streptococcus mutans*. Robinetin, mirisetin, dan epigalokatekin adalah senyawa-senyawa flavonoid

yang mampu menghambat sintesis DNA pada *Proteus vulgaris*. Adanya cincin B pada flavonoid memungkinkan senyawa ini membentuk ikatan hidrogen dengan basa asam nukleat dan kemudian mampu menghambat sintesis DNA dan RNA pada bakteri.

Naringenin dan soforaflavon G memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik terhadap metisilin resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan streptococci. Adanya perubahan fluiditas membrane dalam area hidrofilik dan hidrofobik mungkin memberikan kontribusi terhadap aktivitas antimikroba tersebut sehingga flavonoid mampu mengurangi fluiditas dari inner dan outer layer dari membrane bakteri. Adanya hubungan antara aktivitas antibakteri dan interferensi membrane mendukung teori bahwa flavonoid mampu memiliki aktivitas antimikroba dengan mengurangi fluiditas dari membrane bakteri. Adanya 5,7-dihidroksilasi pada cincin A dan juga hidroksilasi pada cincin B pada flavanone sangat penting dalam aktivitas anti-MRSA. Gugus hidroksil pada posisi 5 dalam senyawa flavanone dan flavon sangat penting dalam aktivitas antimikroba terhadap aktivitas anti-MRSA. Adanya substitusi pada C-8 dan C-10 juga mampu memperbesar aktivitas antistaphylococcal pada flavonoid.

Studi terhadap likocalkon A dan C yang diisolasi dari akar *Glycyrrhiza inflata* mampu memiliki aktivitas antimikroba yang baik terhadap *S.aureus* dan *Micrococcus luteus*. Likocalkon A mampu menghambat penggabungan radioaktif prekursor menjadi makromolekul.

Senyawa flavonoid adalah salah satu senyawa fenolik yang terdapat di alam dan tersebar merata di dalam tumbuh-tumbuhan, sayur, dan buah. Senyawa flavonoid hingga saat ini belum ditemukan pada mikroorganisme, bakteri, alga, maupun jamur dan lumut. Senyawa flavonoid memiliki kerangka dasar yang berbeda-beda yaitu dalam bentuk aglikon, isoflavonoid, dan neoflavonoid (Gambar 1). Senyawa flavonoid sendiri juga larut di dalam pelarut polar karena senyawa ini bersifat polar.



Gambar 1 Kerangka Dasar Flavonoid

Senyawa flavonoid jika dilihat dari jalur biosintesisnya, senyawa ini merupakan senyawa metabolit sekunder yang berasal dari jalur biosintesis gabungan dari asam sikimat dan asetat-malonat. Flavonoid sendiri adalah produk yang dihasilkan dari senyawa sinamoil Ko-A yang merupakan prekursornya dan mengalami perpanjangan rantai dengan penambahan molekul malonil Ko-A melalui reaksi kondensasi. Dengan adanya perpanjangan ini menyebabkan terbentuknya poliketida baru dan senyawa baru tersebut dapat mengalami siklisasi dalam dua cara dibantu oleh enzim tertentu. Dengan adanya reaksi siklisasi tersebut, maka reaksi aldol atau reaksi claisen dapat terjadi dan menghasilkan senyawa yang memiliki cincin

C. Soal

1. Jelaskan reaksi pembentukan garam flavilium!
2. Apa itu reaksi interkonversi?
3. Apa bukti bahwa senyawa calkon merupakan prekursor dari pembentukan senyawa flavonoid?

D. Kunci Jawaban

1. Flavon dan flavonol merupakan suatu senyawa benzopiranon, oleh karena itu flavon dan flavonol yang bereaksi dengan asam mineral dapat menghasilkan garam benzopirilium yang berwarna dan disebut dengan garam flavilium. Garam flavilium jika direaksikan dengan basa maka dapat kembali menghasilkan senyawa flavon dan flavonol.
2. Reaksi perubahan dari suatu senyawa flavonoid menjadi flavonoid lainnya
3. Senyawa calkon pasti ditemukan di semua tanaman yang mengandung senyawa flavonoid, sehingga dapat disimpulkan senyawa calkon adalah prekursor dari flavonoid.

E. Daftar Pustaka

Dewick, Paul M. 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd ed, London

Hill, Robert.A, D Conolly, Joseph. Triiterpenoids. *Natural Product*, 2013, **30**, 1028.

Kumar, S., Pandey, A.K. Chemistry and Biological of Flavonoids; An Overview, *The Scientific World Journal*, 2013, **10**, 1

Ludwizcuk, A, dkk. Terpenoids. *Pharmacognosy*, 2017, Bulgaria

