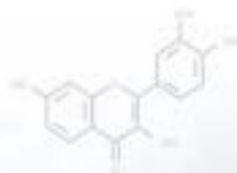
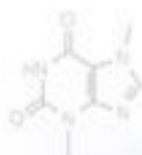




ANALISIS KUALITATIF SENYAWA BAHAN ALAM

Edisi 2022

SUTOMO
NORMAIDAH
ARNIDA



ANALISIS KUALITATIF SENYAWA BAHAN ALAM

Sutomo
Normaidah
Arnida

Layout: Sri Wiliany
Editor: Sunardi
Desain cover: M Ramli

Ukuran: IX, 118 halaman, 15,5 × 23 cm
Cetakan pertama, 2022

Hak Cipta Dilindungi oleh Undang-Undang.
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk
dan dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari
penerbit

Penerbit:

CV. Banyubening Cipta Sejahtera

Jl. Sapta Marga Blok E No. 38 RT 007 RW 003
Guntung Payung, Landasan Ulin, Banjarbaru 70721
Email: penerbit.bcs@gmail.com

ISBN : 978-623-5774-02-2



No. Anggota: 006/KSL/2021

KATA PENGANTAR

Puja dan puji syukur penulis haturkan kehadirat Allah SWT karena atas berkat dan inayahnya jualan buku ini telah selesai disusun. Buku ini disusun dengan tujuan untuk dapat membantu bagi siswa, mahasiswa, atau masyarakat ilmiah dalam melakukan riset kualitatif terhadap sampel, terutama pada analisis senyawa bahan alam. Buku ini memberikan penjelasan yang sederhana mulai dari Teknik pengambilan sari dalam tumbuhan dan analisis kualitatif terhadap senyawa golongan terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, dan saponin.

Teknik analisis diambil dari beberapa sumber serta pengalaman penulis selama melakukan riset, sehingga memudahkan peneliti dalam melakukan analisis kualitatif senyawa alami. Dalam buku ini juga disertai beberapa reaksi yang terjadi antara senyawa yang dianalisis pada sampel dengan reagen yang digunakan. Penulis berharap buku ini dapat dijadikan acuan terutama bagi peneliti yang berfokus pada analisis dari sampel yang berasal dari bahan alam.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan buku ini mempunyai kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang sifatnya membangun dari buku ini tetap kami harapkan. Penulis meyakini dengan sepenuhnya bahwa sekecil apapun buku ini tetap bisa memberikan manfaat bagi para pembaca. Akhir kata, tidak ada gading yang tak retak, kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Billahi taufiq walhidayah, Wassalamu 'alaikum warrahmatulahi wabarakatuh.

Banjarbaru, 5 November 2021

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II PENGENALAN PENGAMBILAN SARI BAHAN ALAM	5
A. Maserasi.....	7
B. Perkolasi.....	8
C. Refluks.....	10
D. Sokletasi.....	11
BAB III ANALISIS KUALITATIF SENYAWA GOLONGAN TERPENOID	15
A. Pendahuluan.....	16
B. Identifikasi Senyawa Golongan Terpenoid.....	19
BAB IV ANALISIS KUALITATIF SENYAWA GOLONGAN STEROID	23
A. Pendahuluan.....	24
B. Identifikasi Senyawa Golongan Steroid.....	26
C. Uji Steroid dengan Spektroskopi IR.....	29
BAB V ANALISIS KUALITATIF SENYAWA GOLONGAN ALKALOID	31
A. Pendahuluan.....	32
B. Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid.....	33
BAB VI ANALISIS KUALITATIF SENYAWA GOLONGAN FLAVONOID	39
A. Pendahuluan.....	40

B. Identifikasi Flavonoid	44
BAB VII ANALISIS KUALITATIF SENYAWA	
GOLONGAN TANIN.....	51
A. Pendahuluan	52
B. Identifikasi Senyawa Tanin.....	55
BAB VIII ANALISIS KUALITATIF SENYAWA	
GOLONGAN GLIKOSIDA	61
A. Pendahuluan	62
B. Identifikasi Golongan Senyawa Glikosida	69
BAB IX ANALISIS KUALITATIF SENYAWA	
GOLONGAN SAPONIN	75
A. Pendahuluan	76
B. Identifikasi Kualitatif Senyawa Golongan Saponin	78
BAB X KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI	
(KCKT)	83
A. Pendahuluan	84
B. Identifikasi Senyawa Bahan Alam Menggunakan KCKT	85
BAB XI KROMATOGRAFI GAS (KG)	93
A. Pendahuluan	94
B. Identifikasi Kualitatif Menggunakan Kromatografi Gas	95
DAFTAR PUSTAKA.....	101

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Pengelompokkan Senyawa Terpenoid	17
Tabel 2. Sistem gradien fase gerak identifikasi <i>P. emblica</i>	86
Tabel 3. Sistem gradien fase gerak identifikasi <i>H. sabdariffa</i>	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Alat maserasi.....	8
Gambar 2. Perkolator.....	9
Gambar 3. Alat Refluks	11
Gambar 4. Alat Soxhletasi	13
Gambar 5. Struktur kolesterol.....	24
Gambar 6. Struktur senyawa kolesterol.....	25
Gambar 7. Reaksi senyawa steroid dengan asam anhidrat	27
Gambar 8. Reaksi kolesterol dengan pereaksi Liebermant-Burchard	27
Gambar 9. Reaksi senyawa stroid dengan pereaksi Liebermann-Burchard	29
Gambar 10. Senyawa alkaloid.....	33
Gambar 11. Reaksi alkaloid dengan pereaksi Mayer	35
Gambar 12. Reaksi Hidrolisis Bismut	36
Gambar 13. Reakasi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorf	36
Gambar 14. Reaksi antara senyawa piperidin dengan pereaksi Dragendorff	37
Gambar 15. Struktur dasar flavonoid	40
Gambar 16. Senyawa golongan flavonoid	41
Gambar 17. Struktur senyawa kuersetin	41

Gambar 18. Struktur Senyawa Kalkon.....	42
Gambar 19. Struktur Senyawa Flavon	42
Gambar 20. Struktur Senyawa Flavonol.....	43
Gambar 21. Struktur Senyawa Flavanon	43
Gambar 22. Struktur Senyawa Antosianin.....	43
Gambar 23. Struktur Senyawa Isoflavon.....	44
Gambar 24. Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl.....	45
Gambar 25. Reaksi flavonoid dengan Mg-HCl	46
Gambar 26. Reaksi Bate Smith-Metcalf.....	47
Gambar 27. Reaksi flavonoid dengan NaOH.....	48
Gambar 28. Reaksi senyawa kuersetin dengan AlCl ₃	49
Gambar 29. Komplek senyawa flavonoid dengan AlCl ₃	49
Gambar 30. Reaksi flavonoid dengan Sitroborat...	50
Gambar 31. Senyawa katekin	52
Gambar 32. Struktur galotanin.....	53
Gambar 33. Senyawa tanin terkondensasi	54
Gambar 34. Reaksi senyawa tanin dengan FeCl ₃ ..	57
Gambar 35. Proses reduksi FeCl ₃	57
Gambar 36. Senyawa glikosida	63
Gambar 37. Karakteristik senyawa glikosida.....	63

Gambar 38. Senyawa aloin	64
Gambar 39. Rumus bangun glikosida sianogenik secara umum	65
Gambar 40. Rumus bangun beberapa senyawa glikosida sianogenik	65
Gambar 41. Rumus umum glikosianat	66
Gambar 42. Struktur Kimia Rutin	67
Gambar 43. Struktur Kimia Salicin (glikosida) dan setelah hidrolisis	68
Gambar 44. Hasil Uji Molisch terhadap Glikosida	69
Gambar 45. Hasil Uji Borntrager terhadap Glikosida Antrakuinon	70
Gambar 46. Hasil Uji Borntrager Termodifikasi terhadap Glikosida Antrakuinon.....	71
Gambar 47. Hasil Uji Hemolisis terhadap Glikosida Saponin.....	71
Gambar 48. Hasil Uji Buih terhadap Glikosida Saponin	72
Gambar 49. Hasil Uji Salkowski terhadap Glikosida Steroid.....	73
Gambar 50. Hasil Uji Liebermann Buchard terhadap Glikosida Triterpenoid	73
Gambar 51. Struktur asam glisirhizin.....	76
Gambar 52. Uji senyawa saponin dengan pereaksi Liebermann Burchard	80

Gambar 53. Identifikasi senyawa saponin steroid dengan menggunakan uji warna.....	80
Gambar 54. Profil KCKT ekstrak kulit batang <i>G. mangostana</i>	85
Gambar 55. Profil KCKT ekstrak etanol buah <i>P. emblica</i>	87
Gambar 56. Profil KCKT ekstrak metanol daun <i>A. paniculata</i>	88
Gambar 57. Profil KCKT ekstrak air <i>H. sabdariffa</i>	90
Gambar 58. Profil KCKT ekstrak etanol akar dan batang <i>F. tinctoria</i>	91
Gambar 59. Profil KG-MS fraksi 1 ekstrak petroleum eter <i>B. hispida</i>	96
Gambar 60. Profil KG-MS ekstrak etanol kulit buah <i>S. zalacca</i>	97
Gambar 61. Profil KG-MS ekstrak metanol <i>M. heyneana</i>	98
Gambar 62. Profil KG-MS ekstrak etil asetat daun <i>E. acoroides</i>	99
Gambar 63. Profil KG-MS ekstrak metanol daun <i>H. lanceolata</i>	100

PENDAHULUAN

I

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah. Hampir segala jenis tumbuhan yang ada di wilayah negara Indonesia sebagian besar sudah dimanfaatkan oleh nenek moyang untuk mengobati berbagai penyakit. Tumbuhan-tumbuhan tersebut digunakan berdasarkan pengalaman dan dalam penggunaannya dikenal sebagai obat tradisional (Wahyuni *et al.*, 2016). Menurut Kepmenkes RI No 381/MENKES/SK/III/2007, disebutkan sekitar 40.000 spesies tumbuhan yang ada di dunia, 30.000 spesies hidup di kepulauan Indonesia. Tumbuhan yang diketahui berkhasiat sebagai obat sekurang-kurangnya ada 9.600 spesies dan kurang lebih 300 spesies telah digunakan sebagai bahan baku obat tradisional oleh industri obat tradisional. Dengan potensi yang sangat besar tersebut, maka analisis kandungan kimia dalam tumbuhan perlu dilakukan.

Bagi seorang farmasis, data hasil analisis baik kualitatif maupun kuantitatif tumbuhan sangat diperlukan. Data kualitatif dapat berupa hasil pengujian organoleptik, makroskopik, mikroskopik, histokimia, maupun identifikasi kimia terhadap senyawa yang tersari. Data kuantitatif dapat berupa penetapan bahan organik asing, penetapan kadar air, penetapan kadar abu, penetaan zat kandungan, maupun penetapan logam berat (Pb, Hb, dan As).

Ada beberapa golongan senyawa (metabolit) dalam tumbuhan yang sering diuji baik secara kualitatif maupun kuantitatif karena merupakan kandidat untuk bahan obat. Golongan senyawa besar tersebut diantaranya yaitu terpenoid, steroid, alkaloid, fenolik (flavonoid dan tannin), glikosida, saponin, dan lain sebagainya. Alkaloid dapat berperan dalam bidang kesehatan sebagai pemicu sistem saraf, menaikkan

tekanan darah, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung, dan lain-lain (Aksara *et al.*, 2013). Flavonoid dapat memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antialergi, antikanker, antiinflamasi, dan antivirus. Tanin dapat berkhasiat yaitu sebagai antidiare, antioksidan, astrigen, antibakteri, dan antiinflamasi. Saponin memiliki sifat psikokimia dan aktivitas biologis seperti hemolisis, antimikroba, dan antioksidan (Kabera *et al.*, 2014). Uji kualitatif golongan senyawa tersebut dapat dilakukan dengan cara *skrining* fitokimia dengan pereaksi spesifik yang sesuai.

Skrining fitokimia adalah tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terkandung dalam tanaman (Khoirani, 2013). *Skrining* fitokimia pada penelitian ini meliputi identifikasi alkaloid, identifikasi terpenoid dan steroid, identifikasi flavonoid, identifikasi saponin, identifikasi glikosida, dan identifikasi antrakuinon. *Skrining* fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak secara kualitatif (Andriyanto *et al.*, 2016).

**PENGENALAN
PENGAMBILAN
SARI BAHAN ALAM**

II

Bahan alam memiliki berbagai macam kandungan senyawa kimia dengan spesifikasi yang berbeda-beda. Senyawa tersebut memiliki karakter dan sifat tertentu sehingga dalam pengambilannya diperlukan teknik tertentu. Pada umumnya untuk menarik komponen senyawa tersebut menggunakan cairan yang dapat melarutkan golongan senyawa yang dituju atau bahkan menarik hampir semua golongan senyawa yang ada pada tumbuhan tersebut. Golongan senyawa tersebut merupakan hasil metabolisme, dimana masing-masing tumbuhan dapat menghasilkan puluhan, ratusan, bahkan ribuan jenis senyawa. Dalam bidang farmasi, untuk mendapatkan golongan senyawa dalam tumbuhan dikenal dengan istilah ekstraksi.

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan senyawa kimia dengan cara menarik satu atau lebih komponen senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu (Leba, 2017). Ekstraksi dikenal sebagai langkah awal untuk mendapatkan golongan senyawa bahan alam melalui metode memisahkan target senyawa dari matriks tanaman/tumbuhan, hewan, biota laut, atau mikroba (Firdaus *et al.*, 2013). Ekstraksi menurut Najib (2018) disebut juga penyarian dimana terjadi proses penarikan oleh cairan penyari untuk memperoleh kandungan senyawa aktif dalam sel pada tanaman obat dengan cara menyamakan sifat kepolaran antara cairan penyari dengan senyawa aktif yang ingin disari. Ekstraksi yang baik didasarkan pada kemampuan pelarut untuk menarik semua senyawa yang ada dalam tumbuhan.

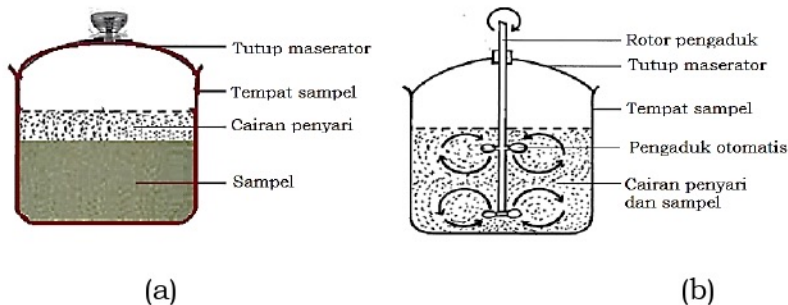
Proses penarikan senyawa aktif oleh cairan penyari dengan sifat kepolaran yang sama dapat terjadi melalui proses osmosis dan difusi. Cairan

penyari akan masuk (osmosis) ke dalam sel dan melarutkan senyawa aktif di dalam sel, hal tersebut menyebabkan terjadinya perbedaan konsentrasi antara cairan penyari di luar sel dan di dalam sel. Perbedaan konsentrasi terjadi karena cairan yang ada di dalam sel telah mengandung senyawa aktif, sehingga menyebabkan terjadi proses difusi dimana cairan penyari berkonsentrasi tinggi di dalam sel akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh cairan berkonsentrasi rendah. Proses osmosis dan difusi akan terjadi berulang kali hingga kesetimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel terjadi (Nasyanka *et al.*, 2020). Metode ekstraksi secara umum dibedakan menjadi dua metode, yaitu metode dingin dan panas. Metode ekstraksi metode dingin diantaranya maserasi dan perkolasi, sedangkan ekstraksi metode panas diantaranya infundasi, sokletasi, digesti, dan refluks. Metode ekstraksi yang dipilih didasarkan atas sifat bahan maupun senyawa aktif yang ingin disari (Sutrisna, 2016).

A. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu teknik dalam proses penyarian senyawa kimia dalam satau sampel (simplisia) menggunakan pelarut yang sesuai pada temperatur kamar (ruangan). Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lili. Struktur sel sampel yang dimaserasi biasanya bertekstur lunak seperti pada daun, bunga, buah, maupun kulit batang. Penyarian senyawa aktif dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam larutan penyari. Pengerjaan umumnya dilakukan selama tiga hari pada temperatur kamar

dan terlindung dari cahaya. Setiap 24 jam larutan penyari diganti atau disesuaikan dengan karakteristik sampel. Untuk mempercepat proses difusi dan osmosis antara senyawa dan pelarutnya dapat dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan. Keuntungan ekstraksi dengan cara maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan relatif sederhana, dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil, dan sampel yang banyak dalam satu kali ekstraksi sedangkan kerugiannya yaitu cara pengerjaannya relatif lama, membutuhkan pelarut yang banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras, dan penyarian kurang sempurna. Untuk mempercepat proses ekstraksi beberapa alat maserasi (maserator) telah dimodifikasi, misalnya menggunakan pengaduk otomatis (rotor) dan pengatur suhu pelarut (Gambar 1). Berikut merupakan beberapa contoh gambar maserator yang sering digunakan:

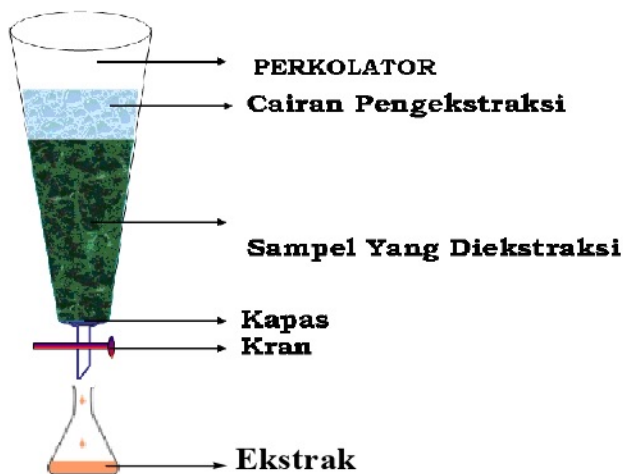


Gambar 1. Alat maserasi: (a) tanpa pengadukan; b) dengan pengadukan otomatis

B. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian

yang sempurna. Seperti halnya maserasi, perkolasi umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Untuk menentukan akhir dari pada perkolasi dapat dilakukan pemeriksaan zat secara kualitatif (KLT) pada perkolat akhir. Apabila ekstraksi telah sempurna maka tidak terdapat bercak pada plat kromatografi. Berikut merupakan salah satu bentuk alat perkolator dan proses ekstraksi sampel (Gambar 2).



Gambar 2. Perkolator

Penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara serbuk simplisia dimaserasi selama 3 jam, kemudian simplisia dipindahkan ke dalam bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Perendaman (maserasi) awal juga dapat dilakukan secara langsung di dalam tabung perkolator selanjutnya cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui simplisia tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui pelarut. Gerakan ke bawah

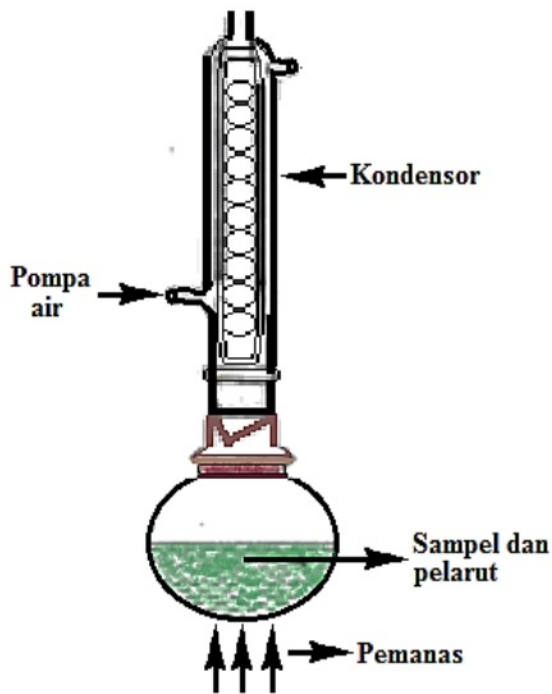
disebabkan oleh karena gravitasi, kohesi, dan berat cairan di atas dikurangi gaya kapiler yang menahan gerakan ke bawah. Perkolat yang diperoleh dikumpulkan, lalu dipekatkan.

Keuntungan ekstraksi dengan cara perkolasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan relatif sederhana, sampel yang banyak dalam satu kali ekstraksi, dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil, dan ekstraksi dapat sempurna (*exhaustive extraction*) sedangkan kerugiannya yaitu, cara pengerjaannya relatif lama, membutuhkan pelarut yang banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras, kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan kurang ekonomis.

C. Refluks

Refluks merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan pada temperatur titik didih pelarut yang digunakan selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari. Cairan penyari dipanaskan sehingga terjadi penguapan, dan dengan adanya kondensor maka uap akan terkondensasi menjadi molekul cair. Cairan penyari akan turun kembali menuju labu alas bulat dan akan menyari kembali senyawa kimia dalam sampel, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna. Penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan

dipekatkan, dimana alat refluks disajikan pada Gambar 3.



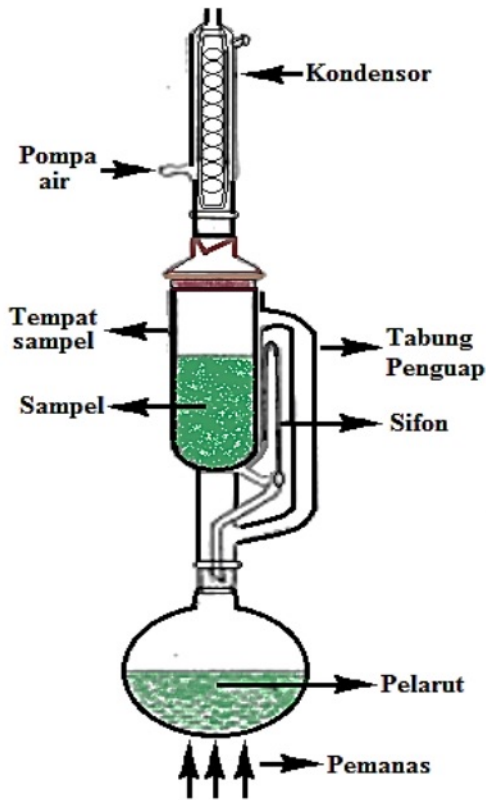
Gambar 3. Alat Refluks

Keuntungan dari metode ini adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur keras dan senyawa yang diekstraksi tahan terhadap pemanasan langsung, alat cukup sederhana, dan waktu yang digunakan relatif singkat. Kerugian metode ini adalah membutuhkan volume total pelarut yang cukup besar, tidak cocok untuk senyawa yang thermolabil, dan diperlukan suhu yang stabil (\pm suhu didih pelarut).

D. Sokletasi

Sokletasi dapat dikatakan metode ekstraksi antara panas dan dingin. Hal tersebut disebabkan

karena pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi dipanaskan sampai pada titik didihnya, sedangkan uap yang dihasilkan diembunkan dengan pendingin balik untuk selanjutnya mengekstraksi sampel. Jadi pelarut yang mengekstraksi sampel dalam kondisi dingin, selalu dalam keadaan baru, dan terjadi secara kontinu (berkesinambungan). Penarikan komponen kimia dilakukan dengan cara menempatkan serbuk simplisia dalam klonsong yang telah dilapisi kertas saring. Cairan penyari dimasukkan melalui bagian atas yang dialirkan melewati sampel hingga masuk pada labu penampung (pelarut diperkirakan cukup setelah 3 siklus) atau 2/3 dari labu penampung. Berikut (Gambar 4) merupakan alat Soxhlet yang biasa digunakan dalam proses ekstraksi.



Gambar 4. Alat Soxhletasi

Pemanasan dilakukan sesuai dengan suhu didih pelarut, cairan penyari yang dipanaskan akan menguap dan uap pelarut akan dikondensasikan oleh kondensor menjadi molekul-molekul cairan penyari yang jatuh ke dalam klonsong menyari zat aktif di dalam simplisia. Jika cairan penyari telah mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan turun kembali ke labu alas bulat melalui pipa kapiler hingga terjadi sirkulasi. Ekstraksi dikatakan sempurna apabila cairan di sifon tidak berwarna (18 – 20 siklus), dan yang paling ideal adalah tidak tampak bercak noda jika di KLT. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan.