

**ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF
KANDUNGAN SENYAWA TOTAL POLIFENOL DAN
FLAVONOID MADU PALIASA SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**CITRA RAHAYU
N111 08 320**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

**ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF KANDUNGAN SENYAWA
TOTAL POLIFENOL DAN FLAVONOID MADU PALIASA SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**CITRA RAHAYU
N111 08 320**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2012**

**ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF KANDUNGAN SENYAWA
TOTAL POLIFENOL DAN FLAVONOID MADU PALIASA SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

CITRA RAHAYU

N111 08 320

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt.
NIP. 19481002 198203 2 001

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005
001

Dra. Aliyah M.S., Apt.
NIP. 19570704 198603 2

Pada tanggal

2012

PENGESAHAN

**ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF KANDUNGAN SENYAWA
TOTAL POLIFENOL DAN FLAVONOID MADU PALIASA SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Oleh :
CITRA RAHAYU
N111 08 320

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal 2012

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua
Prof. Dr. Hj. Asnah Marzuki, M.Si., Apt. :
2. Sekretaris
Dr. Hj. Sartini M.Si., Apt. :
3. Ex Officio
Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. :
4. Ex Officio
Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. :
5. Ex Officio
Dra. Aliyah, MS., Apt.:
6. Anggota
Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt. :

Mengetahui :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, November 2012

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah *swt* karena atas berkah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai persyaratan untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak hambatan yang dihadapi, namun dengan doa dan bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, perkenankanlah penulis mengungkapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama, Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama, dan Dra. Aliyah, M.S., Apt. selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu dan pikirannya untuk memberikan petunjuk, bimbingan, nasehat, dan motivasi kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.
2. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. selaku penasehat akademik penulis yang telah membimbing dan mengarahkan penulis selama mengikuti perkuliahan.
3. Dekan dan para Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin serta seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin terkhusus kepada Ibu Adri dan Kak Sumi.
4. Ayahanda dan Ibunda tercinta (Jamal Tanca, S.Pd. dan Hj. Kamisah, S.Pd.) atas segala pengorbanan materi, kasih sayang, dan ketulusan

hati dalam mendoakan penulis serta saudari penulis (Dwi Nirmala) atas perhatian dan kasih sayang yang diberikan kepada penulis.

5. Rekan seperjuangan dan sahabat penulis Ayu Pratiwi, Tiara Prisca Marina, Muhammad Tri Hidayat, Dewi Pratiwi, Felix Anastesius, dan Ferliem yang telah mendukung dan sangat membantu penulis selama penelitian dilaksanakan.
6. Teman-teman angkatan 2008 (Steroid '08) atas kebersamaan serta motivasi-motivasi yang diberikan kepada penulis.
7. Rekan-rekan asisten dan staf Laboratorium Biofarmasi dan Laboratorium Farmasetika atas bantuan dan dukungannya selama ini.

Penulis sadar skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, karena kesempurnaan hanya milik-Nya, maka dari itu saran dan kritik membangun sangat penulis harapkan guna menambah wawasan agar dalam pengerjaan penelitian selanjutnya dapat lebih baik.

Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang farmasi, amin.

Makassar, 2012

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan senyawa polifenol dan flavonoid madu paliasa secara spektrofotometri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa polifenol dan flavonoid total madu paliasa yang bermanfaat dalam pengembangan obat yang berasal dari bahan alam. Madu paliasa diperoleh dari lebah *Apis mellifera* yang diberi pakan tambahan berupa campuran sirup dan infus paliasa dengan perbandingan 2:3 dengan variasi konsentrasi infus paliasa yaitu 0% (A), 20% (B), 40% (C), 60% (D). Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahap yaitu analisis kualitatif polifenol dan flavonoid yang dilakukan melalui uji pendahuluan polifenol dan flavonoid serta kromatografi lapis tipis dan analisis kuantitatif dengan spektrofotometri. Uji pendahuluan senyawa polifenol digunakan pereaksi FeCl_3 dan untuk flavonoid digunakan pereaksi serbuk Mg dan HCl pekat. Sebagai penegasan hasil uji pendahuluan, penelitian dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis. Sampel yang menunjukkan hasil positif pada analisis kualitatif akan dilanjutkan pada analisis kuantitatif secara spektrofotometri. Reagen Folin Ciocalteu digunakan pada analisis kuantitatif polifenol dan Metode Chang digunakan pada analisis kuantitatif senyawa flavonoid. Hasil penelitian menunjukkan MTP A tidak mengandung senyawa polifenol dan flavonoid. Kandungan polifenol infus paliasa 10 %, MP B, C, dan D secara berturut-turut sebesar 15,10 %, 0,35 %, 0,34 %, dan 0,37 % yang dihitung sebagai asam galat dan kandungan senyawa flavonoid infus paliasa 10 %, madu paliasa B, C, dan D secara berturut-turut diperoleh sebesar 4,37 %, 0,09 %, 0,11 %, dan 0,11 % yang dihitung sebagai quersetin.

Kata kunci : madu paliasa, polifenol, flavonoid, spektrofotometer

ABSTRACT

The research of qualitative and quantitative analysis of total polyphenol and flavonoid contents paliasa honey by spectrophotometrical method has been done. This research aimed to determine total polyphenol and flavonoid content of paliasa honey that have beneficial role in medicinal development from natural substance. The honey samples for this study were produced by bee *Apis mellifera* that have been given mixture of paliasa leaf infusion and syrup in 2:3 as additional food in various concentration of paliasa leaf infusion (A : 0% or without paliasa leaf infusion, B : 20% paliasa leaf infusion, C : 40% paliasa leaf infusion, D : 60% paliasa leaf infusion). This research done in two step : polyphenol and flavonoid screening and thin layer chromatography as qualitative analysis and spectrophotometrical method as quantitative analysis. In polyphenol screening was used FeCl_3 reagen and in flavonoid screening was used Mg and HCl reagen. To affirmed the result of screening, the research continue by TLC method. Honey samples that showed positive result on qualitative analysis was continued on quantitative analysis by spectrophotometrical method. Folin Ciocalteau reagen was used in polyphenol quantitative determination and Chang's Method was used in flavonoid quantitative determination. The result showed that MTP A didn't contained any polyphenol and flavonoid compounds. Polyphenol contents of paliasa leaf infusion 10 %, MP B, C, and D was 15,10 %, 0,35 %, 0,34 %, and 0,37 %, respectively, expressed as gallic acid equivalent. Flavonoid contents of paliasa leaf infusion 10 %, paliasa honey B, C, and D was 4,37 %, 0,09 %, 0,11 %, and 0,11 %, respectively, expressed as quercetin equivalent.

Keyword : paliasa honey, polyphenol, flavonoid, spectrophotometer

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman Paliasa	4
II.1.1 Klasifikasi Tanaman Paliasa	4
II.1.2 Nama daerah	4
II.1.3 Morfologi Tanaman	4
II.1.4 Kandungan Kimia	6
II.1.5.Kegunaan Tanaman	6
II.2 Uraian Tentang Madu	7
II.2.1 Pengertian Madu.....	7

II.2.2 Komposisi Madu	7
II.2.3 Proses Pembuatan Madu oleh Lebah.....	9
II.2.4 Khasiat Madu	10
II.3 Senyawa Fenolik dan Flavonoid	12
II.3.1 Struktur Umum dan Klasifikasi.....	12
II.3.1.1 Flavonoid	14
II.3.1.2 Nonflavonoid	21
II.3.2 Jalur Biosintesis	23
II.3.2.1 Biosintesis Hidroksinamat.....	23
II.3.2.2 Biosintesis Flavonoid	24
II.4 Spektrofotometri UV-Vis	28
II.4.1 Radiasi Elektromagnetik	28
II.4.2 Instrumentasi	32
II.4.3 Aplikasi	36
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	38
III.1 Alat dan Bahan	38
III.2 Metode Kerja	38
III.2.1 Penyiapan Sampel	38
III.2.2 Analisis Kualitatif Senyawa Polifenol dan Flavonoid	39
III.2.2.1 Uji Pendahuluan Senyawa Polifenol dan Flavonoid	39
III.2.2.2 Kromatografi Lapis Tipis Madu Paliasa.....	39
III.2.3 Analisis Kuantitatif Senyawa Polifenol	40
III.2.3.1 Pembuatan Larutan Natrium Karbonat 10 %	40

III.2.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat	40
III.2.3.3 Pembuatan Kurva Baku Asam Galat	41
III.2.3.4 Penentuan Kandungan Polifenol Sampel	41
III.2.4 Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid	42
III.2.4.1 Pembuatan Larutan $AlCl_3$ 10 %	42
III.2.4.2 Pembuatan Larutan Natrium Asetat 1 M	42
III.2.4.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Quersetin	42
III.2.4.4 Pembuatan Kurva Baku Quersetin	43
III.2.4.5 Penentuan Kandungan Flavonoid Sampel	43
III.2.5 Pengumpulan Data	44
III.2.6 Pembahasan Hasil.....	44
III.2.7 Pengambilan Kesimpulan	44
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	45
BAB IV.1 Hasil Penelitian.....	45
BAB IV.2 Pembahasan	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
BAB V.1 Kesimpulan.....	53
BAB V.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1 Kandungan Nutrisi Madu	8
2 Mikroorganisme yang Peka Terhadap Madu	10
3 Penggolongan Senyawa Fenolik Berdasarkan Jumlah Atom Karbon	14
4 Daerah Spektrum Elektromagnetik	29
5 Hubungan antara Warna dengan Panjang Gelombang Sinar Tampak	30
6 Hasil Uji Pendahuluan Senyawa Polifenol Madu Paliasa	45
7 Hasil Uji Pendahuluan Senyawa Flavonoid Madu Paliasa	45
8 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Madu Paliasa	46
9 Kandungan Senyawa Polifenol Madu Paliasa	46
10Kandungan Senyawa Flavonoid Madu Paliasa	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja	58
2. Uji Pendahuluan Senyawa Polifenol dan Flavonoid Sampel	59
3. Kromatogram Lapis Tipis Madu Paliasa	60
4. Kurva Baku Asam Galat dan Quersetin	61
5. Contoh Perhitungan Kadar Senyawa Polifenol Sampel	62
6. Contoh Perhitungan Kadar Senyawa Flavonoid Sampel	64
7. Foto Sampel	66
8. Kurva Serapan Sampel Pada Analisis Kuantitatif Polifenol dan Flavonoid	68
9. Komposisi Reagen Folin Ciocalteau	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1 Struktur Dasar Flavonol dan Contoh Turunannya	16
2 Struktur Dasar Flavon dan Contoh Turunannya	17
3 Struktur Dasar Flavon-3-ol dan Contoh Turunannya	18
4 Struktur Dasar Antosianidin dan Contoh Turunannya	19
5 Struktur Dasar Flavonon dan Contoh Turunannya	20
6 Struktur Dasar Isolavon dan Contoh Turunannya	21
7 Struktur Dasar Asam Hidroksibenzoat dan Contoh Turunannya	22
8 Struktur Dasar Asam Hidroksinamat dan Contoh Turunannya	26
9 Biosintesis Asam Hidroksinamat, Asam Hidroksibenzoat, dan Flavonoid	27
10 Hubungan Antara Biosintesis Fenilpropanoid dan Flavonoid	30
11 Skema Spektrum Elektromagnetik dan Kisaran Panjang Gelombangnya	31
12 Diagram Tingkat Energi Transisi Elektronik	33
13 Diagram Sederhana Spektrofotometer	33
14 Diagram Sederhana Spektrofotometer Single-Beam	34
15 Diagram Sederhana Spektrofotometer Double-Beam	59
16 Uji Pendahuluan Senyawa Polifenol	59
17 Uji Pendahuluan Senyawa Flavonoid	60

18 Kromatogram Lapis Tipis Madu Paliasa	61
19 Kurva Baku Asam Galat	61
20 Kurva Baku Quersetin	66
21 Daun Paliasa (<i>Kleinhovia hospita</i> Linn.)	67
22 Madu Paliasa (A, B, C, D)	68
23 Kurva Serapan Baku Asam Galat	68
24 Kurva Serapan Baku Quersetin	69
25 Kurva Serapan Sampel Pada Analisis Kuantitatif Senyawa Polifenol	69
26 Kurva Serapan Sampel Pada Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid	

BAB I

PENDAHULUAN

Penelitian senyawa bioaktif yang berasal dari bahan-bahan alam mengalami perkembangan pesat saat ini. Hal ini dikarenakan adanya anggapan bahwa bahan alam lebih menyehatkan dibanding produk sintetis. Beberapa bahan alam misalnya produk yg berasal dari lebah dan beberapa tanaman tertentu telah digunakan secara turun-temurun sebagai bahan obat dan sangat penting untuk memastikan aktivitas biologisnya sehingga dapat dikembangkan sebagai suatu produk yang bermanfaat bagi kesehatan (1).

Penggunaan bahan alam untuk pengobatan merupakan hal yang umum di Indonesia. Hal ini terlihat dari banyaknya produk ramuan tradisional baik yang telah diolah dengan teknologi modern maupun secara sederhana yang beredar di masyarakat. (2).

Salah satu bahan alam yang telah digunakan khususnya oleh masyarakat Sulawesi Selatan untuk mengobati penyakit hepatitis adalah daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.).

Daun paliasa mengandung sianidin, kaempferol, dan quercetin (3), senyawa saponin, kardenolin, bufadienol, dan antrakuinon (2), senyawa golongan terpenoid dan fenolik (4), serta flavonoid dan alkaloid (5).

Seperti paliasa, madu juga merupakan bahan alam yang memiliki banyak khasiat. Selain digunakan sebagai pemanis alami, madu juga digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit, misalnya

mengobati luka dan luka bakar, memiliki aktivitas antibakteri, sebagai agen yang dapat melindungi lambung karena adanya lesi akut atau kronik pada dinding lambung (6), memiliki aktivitas hepatoprotektif dan dapat digunakan untuk mengobati hepatitis (7).

Kandungan utama madu adalah gula, yaitu fruktosa 38%, glukosa 31%, dan sukrosa tidak lebih dari 5%. Selain itu, madu juga mengandung air kurang dari 20%, asam kurang lebih 0,08%, mineral kurang lebih 0,18%, dan senyawa lain dalam konsentrasi kecil, di antaranya berbagai senyawa fenolik, flavonoid, asam amino, enzim, protein, dan lain-lain. Kandungan madu bervariasi tergantung dari banyak faktor, seperti serbuk sari tanaman, iklim, lingkungan, dan pengolahan madu (8). Hasil analisis sampel madu Eropa dilaporkan mengandung senyawa flavonoid pinobaksin, pinocembrin, quercetin, krisin, galangin, luteolin, dan kaempferol (9).

Senyawa tertentu yang terdapat pada madu dan daun paliasa seperti senyawa polifenol dan flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dapat mencegah terjadinya reaksi oksidatif pada makanan dan fungsi fisiologis tubuh manusia. (10, 11).

Untuk meningkatkan nilai gizi dari madu, lebah penghasil madu biasanya diberi pakan tambahan berupa air gula dan bahan tertentu yang mengandung gizi atau nutrisi yang diinginkan pada madu yang dihasilkan.

Madu paliasa merupakan madu yang dihasilkan oleh lebah yang diberi pakan tambahan berupa campuran sirup dan infus daun paliasa

dengan berbagai konsentrasi. Dengan pemberian pakan tambahan ini, diharapkan madu paliasa akan mengandung senyawa flavonoid dan polifenol yang terdapat dalam daun paliasa.

Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan penelitian analisis kualitatif dan analisis kuantitatif senyawa polifenol dan flavonoid total pada madu paliasa secara spektrofotometri dengan tujuan untuk mengetahui kadar senyawa polifenol dan flavonoid total yang terkandung pada madu paliasa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.)

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak Kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Sterculiales
Famili	: Sterculiaceae
Marga	: Kleinhovia
Species	: <i>Kleinhovia hospita</i> Linn. (12,13)

II.1.2 Nama Daerah

Bugis: Aju Pali; Makassar: Paliasa; Ambon: Katimahar; Jawa: Katimaha; Sunda: Tangkolo; Bali: Katimaha; Irian Jaya: Noton; Lampung: Manggar; Sumba: Nundang; Flores: Kadangan; Ternate: Ngaru; Timor: Ninak; Madura: Mangar (12).

II.1.3 Morfologi Tanaman

Tumbuhan *Kleinhovia* merupakan salah satu genus dari famili Sterculiaceae. Salah satu spesies dari genus tersebut adalah *Kleinhovia hospita* Linn. Tumbuhan ini tersebar di Indonesia terutama di bagian Timur (Sulawesi, Maluku, Irian) dan juga daerah Jawa dan Sumatera (14).

Paliasa tumbuh secara liar atau ditanam sebagai tanaman hias. Tumbuh pada ketinggian tidak lebih dari 500 m di atas permukaan laut, terutama di tepi air dan tempat yang lembab. Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn.) merupakan pohon yang tingginya 5-20 m, berakar tunggang. Daun bertangkai panjang, berbentuk seperti jantung dengan ukuran 4,5-27 x 3-24 cm, pada tangkai daun bercabang sehingga tulang menjari, tepi daun rata, ujung runcing, permukaan licin, suram serta pangkal berlekuk. Batang keras, berkayu bulat dan bercabang-cabang, warna coklat sampai coklat keputihan. Bunga warna merah muda berbentuk malai di ujung batang lebar, berambut halus. Daun pelindung oval. Tajuk berkelopak 5, bentuk lanset, panjang 8-10 cm, berwarna merah, berambut bentuk bintang. Daun mahkota 5, yang 4 bentuk pita lebar, dengan pangkal berbentuk kantong, panjang 6 mm, berwarna merah dan yang ke-5 lebih pendek, oval melintang dengan tepi melipat ke dalam dimana satu sama lain saling berdekatan dengan ujung berwarna kuning. Dasar bunga memanjang berbentuk tiang yang lebih tipis, pada pangkalnya dikelilingi oleh tonjolan, dasar bunga berbentuk cawan. Benang sari di ujung tiang tersusun dalam 5 berkas tiga-tiga. Berkas ini berseling dengan 1 stamodium kecil berbentuk gigi. Kepala sari tertancap seperti perisai. Bakal buah beruang 5, tangkai putik 1, buah kotak bentuk buah pir, melembung seperti selaput, bertaju 5, panjang \pm 2 cm, membuka menurut ruang. Di bawah 500 m, terutama di tepi air, terutama di tempat lembab, kadang-kadang di tanam (12).

II.1.4 Kandungan Kimia Tanaman

Beragam senyawa kimia telah ditemukan pada tumbuhan paliasa terutama pada daunnya, antara lain adalah senyawa sianogen yang dapat membunuh ektoparasit seperti kutu (15), senyawa golongan terpenoid dan fenolik (4), flavonoid dan alkaloid (5), serta saponin, kardenolin, bufadienol, dan antrakuinon (2).

II.1.5 Kegunaan Tanaman

Di Sulawesi Selatan, tumbuhan ini dikenal dengan nama paliasa dan telah lama digunakan untuk pengobatan berbagai macam penyakit antara lain hipertensi, kolesterol, diabetes, dan liver. Hasil pengujian ekstrak cambium pohonnya menunjukkan khasiat antitumor pada sarcoma mencit (15).

Berdasarkan pengalaman empiris, masyarakat Sulawesi Selatan menggunakannya untuk pengobatan penyakit kuning atau hepatitis dengan cara merebus daun paliasa, kemudian air rebusan diminum atau untuk mandi. Di Bogor, rebusan daun paliasa digunakan untuk mencuci mata yang kabur terutama pada orang yang lanjut usia. Sedangkan di Ambon, daun muda digunakan untuk mencuci rambut dengan cara meremas daun paliasa dengan air, lendir yang terbentuk digunakan seperti shampoo (16).

Selain itu, ekstrak paliasa pada dosis di bawah 1000 mg/kgBB secara efektif dapat mengurangi kerusakan sel hati tikus betina *strain*

Wistar yang berumur 6 bulan yang ditimbulkan oleh karbontetraklorida (CCl₄) (2).

II.2 Uraian Tentang Madu

II.2.1 Pengertian Madu

Madu merupakan pemanis alami yang dihasilkan oleh lebah madu dari nektar tanaman yang akan dikumpulkan oleh lebah, mengalami transformasi, dideposit dalam sarang lebah dan selanjutnya mengalami dehidrasi dan menjadi madu (17,18).

Lebah menghasilkan madu sebagai cadangan makanan dan telah digunakan manusia sejak berabad-abad lalu. Masyarakat Mesir kuno (2000-5000 tahun yang lalu) diketahui telah menggunakan madu sebagai bahan obat, sumber makanan, dan digunakan pada proses pembalseman mayat. Madu diketahui sebagai bahan makanan alami yang tahan lama dan merupakan pemanis alami yang dapat langsung dikonsumsi (19).

II.2.2 Komposisi Madu

Madu dilaporkan mengandung berbagai macam senyawa diantaranya yaitu gula, mineral, protein, vitamin, asam organik, flavonoid, asam fenolat, enzim, dan senyawa fitokimia lainnya dan memegang peranan penting dalam pengobatan tradisional (20).

Komponen utama dari madu adalah glukosa dan fruktosa. Madu memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi dan rendah lemak.

Kandungan gula dalam madu mencapai 80% dan dari gula tersebut 85% berupa fruktosa dan glukosa (21).

Berbagai studi menunjukkan bahwa banyak tanaman mengandung senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan dan dapat digunakan dalam mengatasi senyawa radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan. Mayoritas dari tanaman ini merupakan bahan baku bagi lebah untuk mengumpulkan nektar guna menghasilkan madu, sehingga senyawa bioaktif dalam tanaman akan berpindah ke dalam madu yang dihasilkan. Pada analisis sampel madu Eropa telah dilaporkan kandungan senyawa flavonoid pinobaksin, pinocembrin, quercetin, krisin, galangin, luteolin, dan kaempferol, sedangkan pada sampel propolis ditemukan senyawa flavonoid pinocembrin, pinobaksin, dan krisin (9).

a. Karbohidrat (22)

Gula utama yang terdapat pada madu adalah fruktosa dan glukosa.

Selain itu, juga ditemukan 25 jenis oligosakarida.

Tabel 1. Kandungan nutrisi madu (22)

KANDUNGAN	BLOSSOM HONEY		HONEYDEW HONEY	
	RATA-RATA (%)	MIN-MAX (%)	RATA-RATA (%)	MIN-MAX (%)
Air	17,2	15-20	16,3	15-20
Fruktosa	38,2	30-45	31,8	28-40
Glukosa	31,3	24-40	26,1	19-32
Disakarida				
Sukrosa	0,7	0,1-4,8	0,5	0,1-4,7
Disakarida lainnya	5	2-8	4	1-6
Melezitosa	<0,1		4	0,3-22
Eriosa	0,8	0,5-6	1	0,1-6
Lainnya	0,5	0,5-1	3	0,1-6
Gula total	79,7		80,5	
Mineral	0,2	0,1-0,5	0,9	0,6-2
Asam amino, protein	0,3	0,2-0,4	0,6	0,4-0,7
Asam	0,5	0,2-0,8	1,1	0,8-1,5
pH	3,9	3,5-4,5	5,2	4,5-6,5

b. Protein, enzim, dan asam amino (22)

Madu mengandung kurang lebih 0,5 % protein, utamanya enzim dan asam amino. Enzim utama yang dapat ditemukan pada madu adalah diastase atau amilase, invertase, dan glukosa oksidase.

c. Vitamin, mineral, dan komponen lainnya (22)

d. Polifenol (22)

Polifenol merupakan salah satu senyawa yang dapat ditemukan pada madu, 56-500 mg/kg polifenol total dapat ditemukan pada berbagai jenis madu. Polifenol pada madu utamanya adalah flavonoid (quersetin, luteolin, kaempferol, apigenin, chrysin, galangin), asam fenolat, dan turunannya. Senyawa-senyawa ini diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Kandungan flavonoid bervariasi antara 60-460 µg/100 g madu.

e. Kontaminan dan Senyawa Toksik (22)

Sebagaimana halnya bahan makanan alami lainnya, madu juga dapat dicemari oleh berbagai senyawa dari lingkungan antara lain logam berat dan pestisida.

II.2.3 Proses Pembuatan Madu Oleh Lebah Madu

Nektar merupakan cairan manis yang kandungan utamanya adalah sukrosa. Lebah mengumpulkannya dan menyimpannya dalam kantung nektar dalam tubuhnya. Enzim invertase yang berasal dari saluran cerna lebah juga akan disalurkan pada kantung ini. Enzim ini akan mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Pollen atau serbuk sari bunga akan

terkumpul pada ke tiga pasang kaki lebah yang telah didesain khusus untuk tujuan ini. Lebah selanjutnya akan memindahkan nektar dari kantung nektar menuju ruang-ruang dalam sarang (23). Nektar kemudian akan mengalami evaporasi dan perubahan kandungan gula dalam sarang. Sebelum ruang-ruang ditutup dengan lilin oleh lebah, cairan ini dinamakan “green honey”. Lebah akan menutup ruang-ruang ini dengan lilin pada saat gula telah diubah secara sempurna dan kandungan air dari madu kurang dari 20% (24).

II.2.4 Khasiat Madu

a. Antimikroba, antiviral, dan antiparasit

Madu diketahui dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan fungi. Madu efektif melawan bakteri Gram positif. Efek bakteriostatik dan bakterisid telah dilaporkan pada berbagai strain mikroba patogen (7, 26).

Tabel 2. Mikroorganisme yang peka terhadap madu (7,26)

Bakteri	Penyakit yang Ditimbulkan
<i>Bacillus anthracis</i>	Antraks
<i>Corynebacterium diphteriae</i>	Difteri
<i>Escherichia coli</i>	Diare, septicemia, infeksi urinaria
<i>Haemophilus influenza</i>	Infeksi telinga, meningitis, infeksi saluran napas, sinusitis
<i>Kiebsiella pneumonia</i>	Pneumonia
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculosis
<i>Proteus sp.</i>	Septicemia, infeksi urinaria
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infeksi urinaria
<i>Salmonella sp.</i>	Diare
<i>Salmonella cholera</i>	Septicemia
<i>Salmonella typhi</i>	Thipoid
<i>Salmonella typhimurium</i>	Infeksi luka
<i>Serrat marccescens</i>	Septicemia
<i>Shigella sp.</i>	Disentri
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abses, impetigo

Bakteri	Penyakit yang Ditimbulkan
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infeksi urinaria
<i>Salmonella sp.</i>	Diare
<i>Salmonella cholera</i>	Septicemia
<i>Salmonella typhi</i>	Thipoid
<i>Salmonella typhimurium</i>	Infeksi luka
<i>Serrat marccescens</i>	Septicemia
<i>Shigella sp.</i>	Disentri
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abses, impetigo
<i>Streptococcus faecalis</i>	Infeksi urinaria
<i>Streptococcus mutans</i>	Karies gigi
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Infeksi telinga, meningitis, pneumonia,
<i>Streptococcus pyogenes</i>	sinusitis
<i>Vibrio cholerae</i>	Infeksi telinga, impetigo, demam
<i>Actinomyces pyogenes, Kiebsiella</i>	purpural, demam rheumatic, gangguan
<i>pneumoniae, Nocardia asteroides,</i>	tenggorokan
<i>Staphylococcus aureus, Sterptococcus</i>	Kolera
<i>agal</i>	Mastitis
<i>Epidermophyton floccosum,</i>	
<i>Microsporum canis, Microsporum</i>	Tinea
<i>gypseum, Trichophyton rubrum,</i>	
<i>Trichophyton tonsurans, Trichophyton</i>	
<i>mentagrophytes Var.</i>	
<i>Escherichia coli, Helicobacter pylori</i>	Peptic ulser

b. Antioksidan

Madu diketahui memiliki kandungan senyawa yang memiliki efek antioksidan. Senyawa-senyawa ini antara lain glukosa oksidase, flavonoid, polifenol, turunan karotenoid, asam organik, dsb (7, 26).

c. Antimutagenik dan Antitumor

Dari berbagai studi, madu diketahui memiliki aktivitas imunoprotektif. Selain itu, madu juga memiliki efek antimetastatik dan menginduksi apoptosis dan nekrosis pada sel tumor (7, 26).

d. Antiinflamasi

Efek antiinflamasi madu telah diteliti oleh Al Waili dan Boni, yaitu bahwa setelah konsumsi 70 g madu, konsentrasi plasma tromboksan

B(2) mengalami penurunan sebesar 7 %, 34 %, dan 35 % serta penurunan PGE(2) sebesar 14 %, 10 %, dan 19 % pada jam ke 1, 2, dan 3 setelah mengkonsumsi madu. Konsentrasi PGF(2 α) menurun sebesar 31 % dalam waktu 2 jam dan 14 % dalam waktu 3 jam setelah mengkonsumsi madu. Sebuah studi juga melaporkan bahwa efek antiinflamasi madu setara dengan prednisolon pada inflamasi kolitis (7, 26).

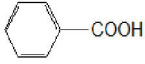
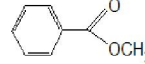
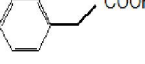
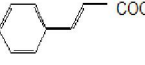
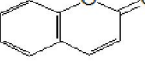
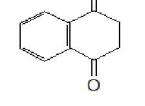
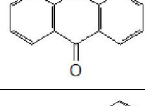

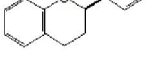
II.3 Senyawa Fenolik dan Flavonoid

II.3.1 Struktur Umum dan Klasifikasi

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang disintesis oleh tanaman dan bertanggung jawab mengatasi berbagai macam kondisi, misalnya infeksi, luka, radiasi UV, dsb. Sekitar 8000 senyawa bioaktif tanaman termasuk dalam kelompok senyawa fenolik, memiliki struktur umum cincin aromatis dengan setidaknya satu gugus hidroksil. Flavonoid merupakan senyawa planar yang terdapat pada tanaman, berasal dari asam amino fenilalanin, tirosin, dan malonat. Struktur dasar flavonoid dinamakan flavan nukleus, terdiri atas 15 atom karbon yang tersusun dalam 3 cincin (C₆-C₃-C₆) yang diberi label cincin A, B, dan C. Variasi pada strukturnya melambangkan tingkat dan pola hidroksilasi, metoksilasi, atau glikosilasi. Diantara sekian banyak kelas flavonoid, yang paling banyak menjadi perhatian yaitu flavon, flavanon, isoflavon, flavonol, flavanol, flavan-3-ol, antosianidin, dan antosianin (27).

Senyawa fenolik memiliki karakter, yaitu memiliki paling tidak satu cincin aromatis dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa ini sangat beragam mulai dari senyawa fenolik sederhana, senyawa fenolik dengan bobot molekul rendah, senyawa fenolik dengan cincin aromatis tunggal hingga senyawa derivat fenolik yang kompleks. Senyawa fenolik dapat dibagi berdasarkan jumlah atom karbon dan seringkali ditemukan dalam bentuk terkonjugasi dengan gula dan asam organik (28).

Tabel 3. Penggolongan senyawa fenolik berdasarkan jumlah atom karbon (28)

J. Atom Karbon	Kerangka	Klasifikasi	Contoh	Struktur
7	C ₆ -C ₁	Asam Fenolat	Asam gallat	
8	C ₆ -C ₂	<i>Acetophenones</i>	<i>Gallacetophenone</i>	
8	C ₆ -C ₂	Asam Fenilasetat	Asam p-hidroksifenilasetat	
9	C ₆ -C ₃	Asam Hidroksinamat	Asam p-kumarat	
9	C ₆ -C ₃	Kumarin	<i>Esculetin</i>	
10	C ₆ -C ₄	<i>Naphthoquinone</i>	<i>Juglone</i>	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	<i>Xanthones</i>	Mangiferin	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	<i>Stilbenes</i>	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoid	Naringenin	

Senyawa fenolik juga dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu, senyawa flavonoid dan nonflavonoid.

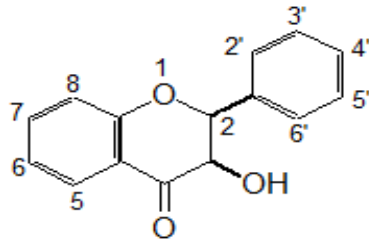
II.3.1.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdiri atas 15 atau karbon dengan dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh 3 atom

karbon. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang paling sering ditemukan pada tanaman. Terdapat dalam konsentrasi tinggi dalam epidermis daun serta kulit buah dan memegang berbagai peran penting, antara lain perlindungan terhadap sinar UV dan berbagai penyakit serta sebagai pigmen pada tanaman. Subkelas utama dari flavonoid adalah flavon, flavonol, flavan-3-ol, isoflavon, flavanon, dan antosianidin. Subkelas lain dari flavonoid yang hanya ditemukan dalam jumlah kecil pada tanaman adalah dihidroflavonol, flavan-3,4-diol, kumarin, kalkhon, dihidrokalkhon, dan aurhon. Gugus hidroksil pada flavonoid biasanya terdapat pada posisi 4, 5, dan 7, dan seringkali berikatan dengan gula dalam bentuk glikosida. Jika gula dan gugus hidroksil meningkatkan kelarutannya dalam air, maka substituen lain seperti gugus metil dan unit isopentil menjadikan flavonoid bersifat lipofilik (27, 28).

a. Flavonol

Merupakan subkelas flavonoid yang paling banyak ditemukan di alam. Mirisetin, quersetin, isorhamnetin, dan kaempferol merupakan contoh flavonol yang ditemukan dalam bentuk o-glikosida. Konjugasi terjadi pada tiga posisi pada cincin-C. Substitusi dapat terjadi pada posisi 5, 7, 4', 3', dan 5' pada cincin aromatis (28).

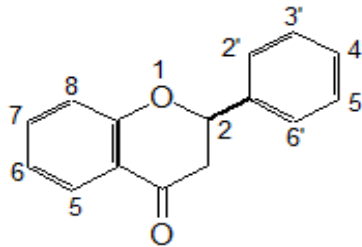


Flavonol					
Posisi	5	7	3'	4'	5'
Senyawa					
Quersetin	OH	OH	OH	OH	-
Kaempferol	OH	OH	-	OH	-
Galangin	OH	OH	-	-	-
Fisetin	-	OH	OH	OH	-
Myricetin	OH	OH	OH	OH	OH

Gambar 1. Struktur dasar flavonol dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)

b. Flavon

Memiliki struktur yang serupa dengan flavonol. Substitusi yang dapat ditemukan pada flavon adalah hidroksilasi, metilasi, o-alkilasi, C-alkilasi, dan glikosilasi. Flavon paling banyak ditemukan dalam bentuk 7-o-glikosida (28).

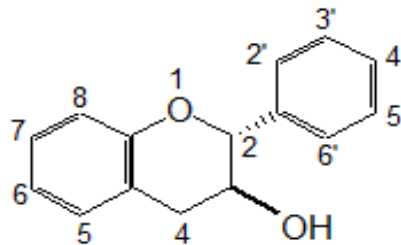


Flavon				
Posisi	5	7	3'	4'
Senyawa				
Apigenin	OH	OH	-	OH
Luteolin	OH	OH	OH	OH
Chrysin	OH	OH	-	-

Gambar 2. Struktur dasar flavon dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)

c. Flavan-3-ol

Merupakan subkelas flavonoid yang paling kompleks mulai dari monomer sederhana katekin dan isomernya epikatekin hingga oligomer dan polimer proantosianidin yang juga dikenal sebagai tannin terkondensasi. Tidak seperti flavon, flavonol, isoflavon, dan antosianidin yang memiliki molekul planar, flavan-3-ol, proantosianidin, dan flavanon memiliki kerangka C3 tersaturasi pada cincin-C heterosiklik dan menjadikannya non-planar (28).



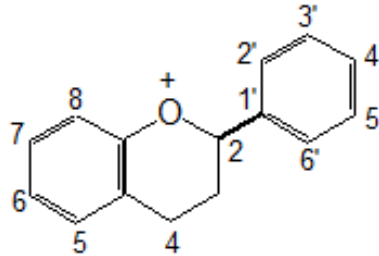
Flavan-3-ol

Posisi	3	5	7	3'	4'	5'
Senyawa						
(+)- Katekin	β OH	OH	OH	OH	OH	-
(-)- Epikatekin	α OH	OH	OH	OH	OH	-
(-)- Epigallokatekin	α OH	OH	OH	OH	OH	OH

Gambar 3. Struktur dasar flavan-3-ol dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)

d. Antosianidin

Antosianidin dan turunannya, antosianin, paling banyak ditemukan pada buah dan bunga yang memberi warna merah, biru, dan ungu. Selain itu, juga ditemukan pada jaringan daun, batang, biji, dan akar. Senyawa ini berperan dalam mekanisme proteksi tanaman melawan cahaya berlebih dengan jalan melindungi sel mesofil daun dan untuk menarik perhatian serangga penyerbuk. Contoh antosianidin yaitu pelargonidin, sianidin, delphinidin, peonidin, petunidin, dan malvidin (28).



Antosianidin						
Posisi	3	5	7	3'	4'	5'
Senyawa						
Sianidin	OH	OH	OH	OH	OH	-
Sianin	O-Glu	OH	OH	OH	OH	-
Peonidin	OH	OH	OH	OCH ₃	OH	-
Delphinidin	-	OH	OH	OH	-	OH
Pelargonidin	OH	OH	OH	-	OH	-
Malvidin	OH	OH	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃
Glu : Glukosida						

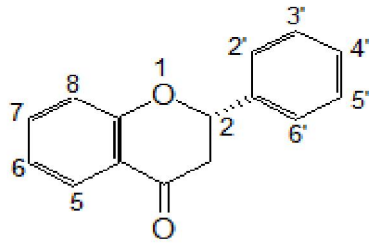
Gambar 4. Struktur dasar antosianidin dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)

e. Flavanon

Pada sebagian besar senyawa flavanon, cincin-C terhubung dengan cincin-B pada posisi C2 dengan konfigurasi- α . Flavanon sangat reaktif dan telah dilaporkan dapat mengalami reaksi hidroksilasi, glikosilasi, dan o-metilasi (28).

f. Isoflavon

Isoflavon memiliki ciri khas pada ikatan cincin-B yang terikat pada posisi atom C3 dan bukan pada C2. Banyak ditemukan pada kacang-kacangan dengan konsentrasi tertinggi yaitu pada kacang kedelai (28).

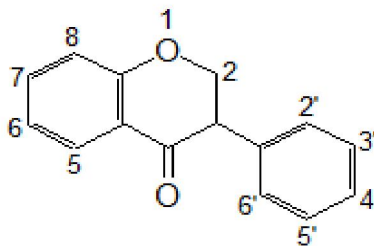


Flavanon

Posisi	5	7	3'	4'
Senyawa				
Naringenin	OH	OH	-	OH
Naringin	OH	O-Rha-Glu	OH	OH
Hesperitin	OH	OH	OH	OCH ₃
Hesperidin	OH	O-Rha-Glu	OH	OCH ₃

Rha-Glu : Rhamnoglukosil

Gambar 5. Struktur dasar flavanon dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)



Isoflavon

Posisi	5	7	4'
Senyawa			
Genistein	OH	OH	OH
Genistin	OH	O-Glu	OH
Daidzein	-	OH	OH
Daidzin	-	O-Glu	OH
Ononin	OH	O-Glu	CH ₃

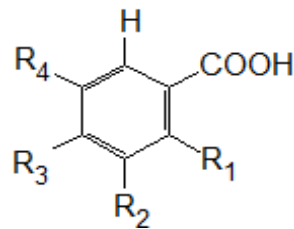
Gambar 6. Struktur dasar isoflavon dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)

II.3.1.2 Non Flavonoid

Senyawa fenolik non-flavonoid adalah asam fenolat, hidroksinamat, dan stilbenes.

a. Asam fenolat

Asam fenolat juga dikenal dengan nama hidroksibenzoat. Contoh senyawa dari subkelas ini adalah asam gallat (28).



Asam Hidroksibenzoat

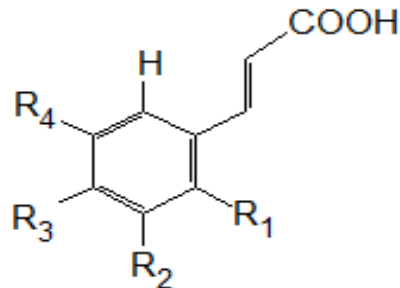
Posisi Senyawa	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Asam benzoat	H	H	H	H
Asam <i>p</i> -hidroksobenzoat	H	H	OH	H
Asam vanilat	H	OCH ₃	OH	H
Asam galat	H	OH	OH	OH
<i>Protocatechuic acid</i>	H	OH	OH	H
<i>Syringic acid</i>	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Asam gentisat	OH	H	H	OH
<i>Veratric acid</i>	H	OCH ₃	OCH ₃	H
Asam salisilat	OH	H	H	H

Gambar 7. Struktur dasar asam hidroksibenzoat dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)

b. Hidroksinamat

Asam sinamat merupakan senyawa dengan kerangka C₆-C₃ yang selanjutnya akan diubah menjadi hidroksinamat. Hidroksinamat yang paling umum ditemukan adalah *p-coumaric*, *caffeic*, dan asam ferulat

yang seringkali terakumulasi dalam bentuk tartrat ester, *coutaric*, *caftaric*, dan asam fertarat (28).



Asam Hidroksinamat

Posisi Senyawa	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Asam sinamat	H	H	H	H
Asam <i>o</i> -kumarat	OH	H	H	H
Asam <i>m</i> -kumarat	H	OH	H	H
Asam <i>p</i> -kumarat	H	H	OH	H
Asam ferulat	H	OCH ₃	OH	H
<i>Sinapic acid</i>	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
Asam kafeat	H	OH	OH	H

Gambar 8. Struktur dasar asam hidroksinamat dan contoh turunannya (Sumber : Stalikas, D.C. Extraction, Separation, and Detection Method for Phenolic Acid and Flavonoid. *Journal Sep. Sci.* 2007. 30, 3268-3295)

c. Stilbenes

Stilbenes merupakan senyawa fitoaleksin, yaitu senyawa yang diproduksi oleh tanaman untuk melawan fungi, bakteri, atau virus pathogen. Resveratrol merupakan senyawa stilbenes yang paling umum ditemukan. Terdapat dalam bentuk isomer *cis* dan *trans* serta terdapat dalam jaringan tanaman dalam bentuk *trans*-resveratrol-*o*-glukosida (28).

II.3.2 Jalur Biosintesis

Senyawa fenolik tanaman disintesis melalui jalur fenilpropanoid yang mengubah senyawa aromatik yang berasal dari jalur asam sikimat menjadi metabolit fenolik. Senyawa yang paling banyak dihasilkan dari jalur fenilpropanoid adalah asam hidroksinamat yang dapat ditemukan dalam bentuk ester atau pun berperan sebagai precursor metabolit fenolik lainnya, misalnya flavonoid dan lignin. Flavonoid disintesis melalui jalur fenilpropanoid dan jalur poliketida yang akan membentuk kerangka C₆-C₃-C₆ yang merupakan kerangka dasar flavonoid (29).

II.3.2.1 Biosintesis Hidroksinamat

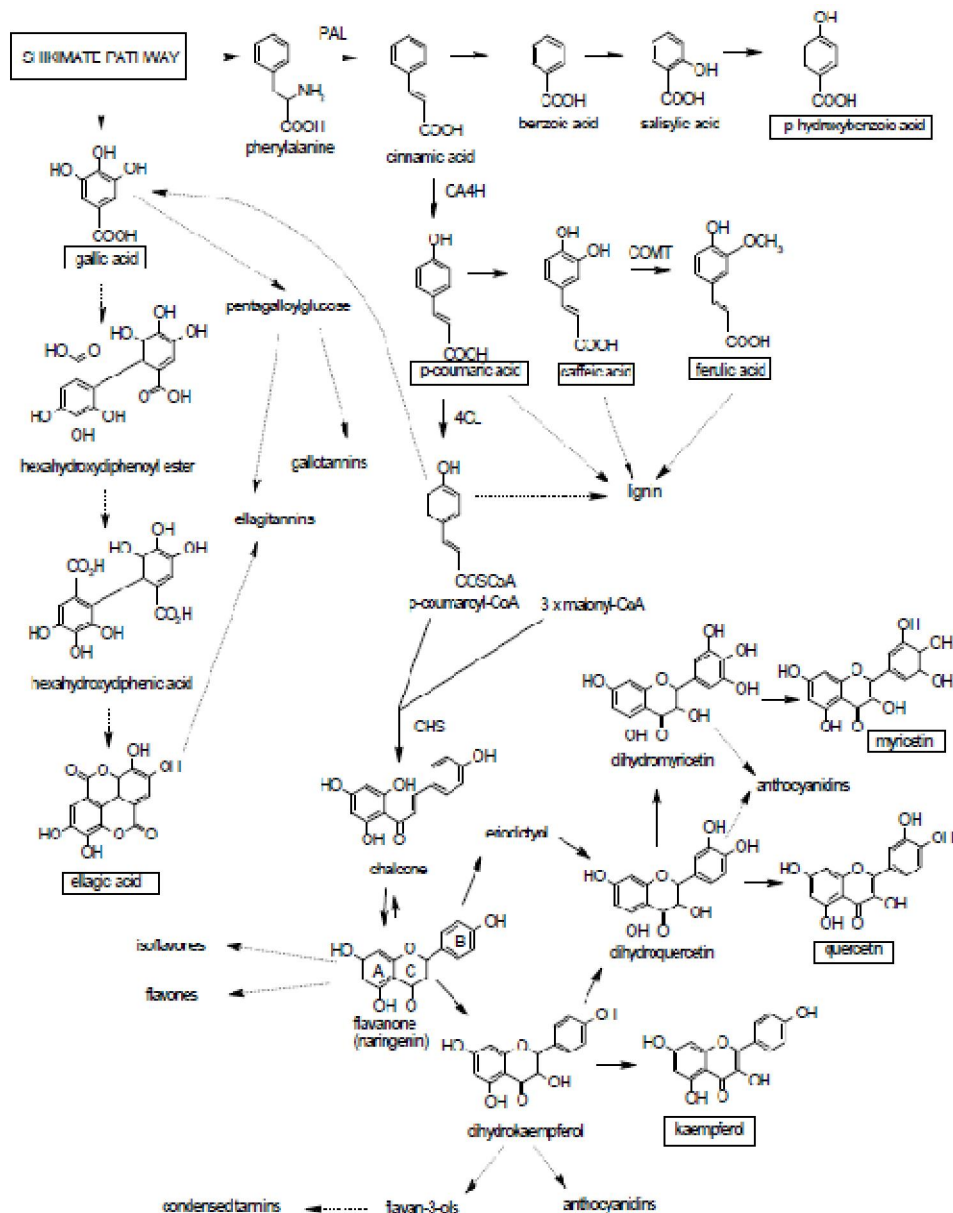
Asam galat disintesis melalui jalur asam sikimat dari asam 3-dehidrosikimat. Berbagai studi menunjukkan bahwa asam galat dikonversi menjadi *β-glucogallin* yang kemudian akan dikonversi menjadi *penta-o-galloyl-glucose*. Senyawa ini merupakan senyawa yang berperan dalam sintesis gallotanin dan ellagitanin. Senyawa prekursor *ellagic acid* belum diketahui secara pasti. Dibandingkan dengan asam galat, senyawa ini lebih besar kemungkinannya berasal dari ellagitanin, yang pada saat dihidrolisis akan melepaskan residu *hexahydroxydiphenoyl* dalam bentuk *hexahydroxyphenic acid* yang secara spontan berubah menjadi *ellagic acid*. Produk hasil fotosintesis yang akan memasuki jalur sikimat berasal dari asam 3-dihidrosikimat yang diubah menjadi l-fenilalanin yang akan kemudian memasuki jalur fenilpropanoid. *Fenilalanin ammonia-lyase* (PAL) mengkatalisis langkah pertama pada jalur ini, yaitu konversi l-

fenilalanin menjadi asam sinamat. Selanjutnya oleh sinamat 4-hidroksilase, asam sinamat diubah menjadi *p-coumaric acid* yang akan menghasilkan metabolit *p-coumaroyl-CoA* oleh *p-coumarate:CoA lygase*. Asam sinamat juga akan dimetabolisme menjadi asam benzoat dan asam salisilat yang dikatalisis oleh asam benzoate-2-hidroksilase. *p-coumaric acid* juga dimetabolisme melalui serangkaian reaksi hidroksilasi dan metilasi yang akan menghasilkan kafeat, ferulat, 5-hidroksiferulat dan *sinapic acid*. *Sinapic acid* dan asam ferulat merupakan senyawa prekursor lignin. Asam kafeat merupakan senyawa prekursor *5-o-caffeoylquinic acid* yang umum ditemukan pada buah-buahan dan sayuran. Hasil studi menunjukkan bahwa jalur utama pembentukan *5-o-caffeoylquinic,acid* yang berkaitan erat dengan asam *caffeoylquinic*, berasal dari *p-coumaroyl-CoA* melalui *5-o-p-coumaroylquinic acid*. *p-coumaroyl-CoA* memiliki peran penting dalam sintesis flavonoid dan stilbenes (28).

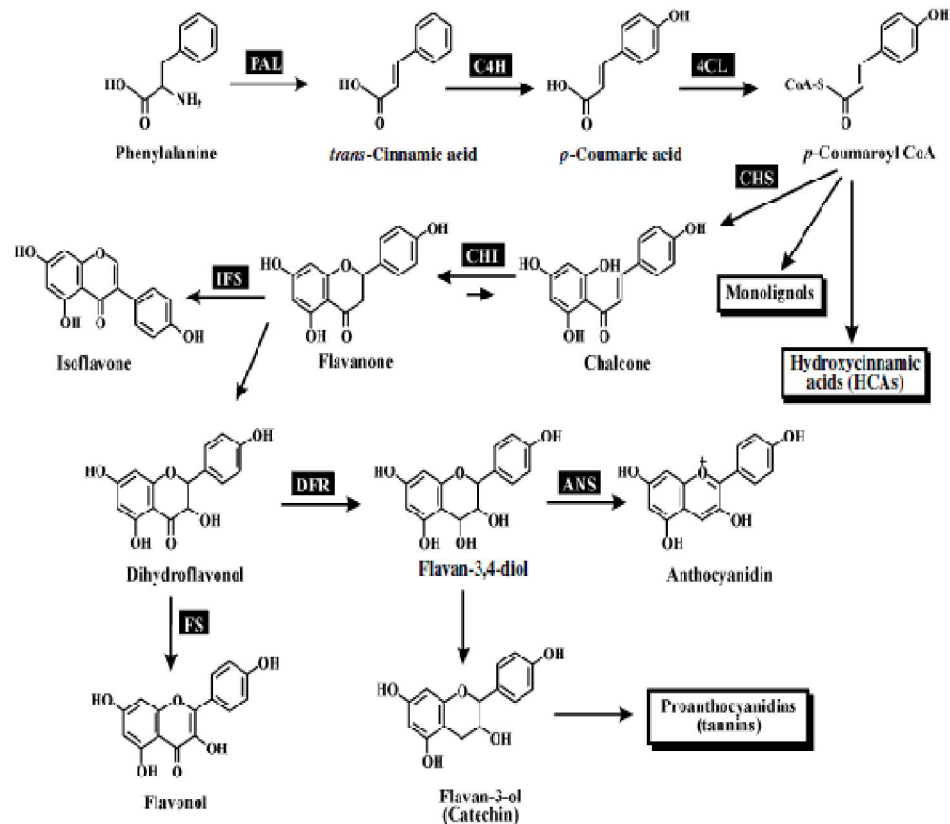
II.3.2.2 Biosintesis Flavonoid

Kerangka C₆-C₃-C₆ flavonoid berasal dari dua jalur biosintesis yang berbeda. Tiga atom C yang berperan sebagai penghubung antara dua cincin aromatis dan cincin-B berasal dari jalur fenilpropanoid dan disintesis dari senyawa *p-coumaroyl-CoA*. Atom C yang membentuk cincin-A berasal dari kondensasi tiga unit asetat melalui jalur asam mevalonat. Penggabungan dari dua bagian ini melibatkan proses kondensasi *p-coumaroyl-CoA* dengan tiga unit residu *malonyl CoA*, yang masing-masing mendonorkan dua atom C. Reaksi ini dikatalisis oleh *chalcone sintetase*

(CHS). Proses ini kemudian akan menghasilkan *naringenin-chalcone*. Sedikit modifikasi dari proses ini akan menghasilkan isoflavon, misalnya *daidzein*, yang merupakan turunan *isoflavanone*. Sintesis *isoflavanone* dikatalisis oleh *chalcone reductase*, enzim NADPH-dependen yang akan berinteraksi dengan CHS. Langkah selanjutnya pada sintesis flavonoid adalah konversi stereospesifik *naringenin-chalcone* menjadi naringenin oleh *chalcone isomerase* (CHI). Naringenin memiliki peranan penting dalam sintesis flavonoid yang selanjutnya akan terbagi-bagi dalam beberapa jalur yang menghasilkan beberapa subkelas flavonoid seperti isoflavon, flavanon, flavon, flavonol, flavan-3-ol, dan antosianin (28,29).



Gambar 9. Biosintesis asam hidroksinamat, asam hidroksibenzoat, dan flavonoid. Garis panah tebal menandakan reaksi yang dikatalisis oleh enzim tunggal. Garis panah putus-putus menandakan reaksi dikatalisis lebih dari satu enzim yang beragam tergantung dari jenis tanaman. Enzim yang terlibat adalah asam sinamat 4-hidroksilase (CA4H), chalcone sintetase (CHS), 4-coumarate:coenzyme A ligase (4CL), fenilalanin ammonialyase (PAL). (Sumber : Hakkinen, S. *Flavonols and Phenolic Acids in Berries and Berry Product*. Kuopio : University of Kuopio. 2000)



Gambar 12. Hubungan antara biosintesis fenilpropanoid dan flavonoid. Enzim yang terlibat antara lain fenilalanin ammonialyase (PAL), cinamat-4-hidroksilase (C4H), 4-coumarate CoA ligase (4CL), chalcone sintetase (CHS), chalcone isomerase (CHI), isoflavon sintetase (IFS), dihidroflavonol reduktase (DFR), flavonol sintetase (FS), antosianidin sintetase (ANS). (Sumber : Smirnoff, N. *Antioxidant and Reactive Oxygen Species in Plants*. Iowa : Blackwell Publishing, 2005)

II.4 Spektrofotometri UV-Vis

II.4.1 Radiasi Elektromagnetik

Dalam spektroskopi, permasalahan dititikberatkan terhadap interaksi antara cahaya dengan suatu senyawa. Instrument yang digunakan untuk mengukur spektrum senyawa dinamakan spektrofotometer (31).

Absorpsi dan emisi energi dalam spektrum elektromagnetik berada dalam bentuk paket-paket foton. Hubungan antara energi foton dan frekuensi gelombang adalah sebagai berikut (32)

$$E = h \nu$$

dimana, E : energy radiasi (ergs)

h : konstanta Planck ($6,6256 \times 10^{-27}$ erg sec)

ν : frekuensi (cycles sec^{-1})

Adapun hubungan antara panjang gelombang dan frekuensi dapat dinyatakan sebagai berikut :

$$\nu = c / \lambda$$

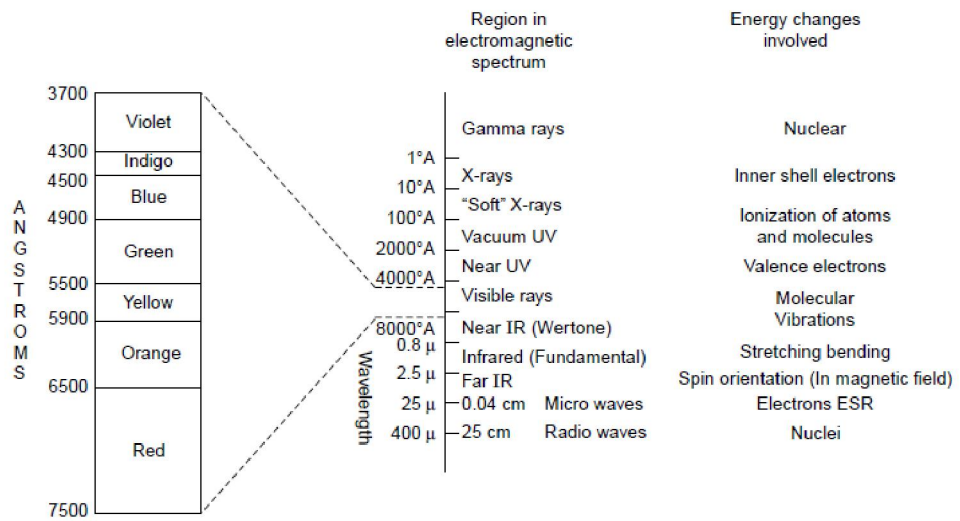
dimana, λ : panjang gelombang (cm^{-1})

c : kecepatan cahaya ($2,9979 \times 10^{10}$ cm sec^{-1})

Energi yang berasal dari berkas cahaya didesain berdasarkan intensitas radiasi yang dimilikinya dan berbanding lurus dengan jumlah foton yang mengalami propagasi per detik.

Table 4. Daerah spektrum elektromagnetik (33)

Panjang gelombang	Frekuensi (Hz)	Daerah	Spektrum elektromagnetik
100-1 m	$3-300 \times 10^6$	Radiofrequency	Nuclear Magnetic Resonance
1-0,1 m	$0,3-3 \times 10^9$	Radiofrequency	Electron Spin Resonance
100-1 mm	$3-300 \times 10^9$	Microwave	Rotational
1-0,02 mm	$0,3-15 \times 10^{12}$	Far infrared	Vibrational
20-2 mm	$15-150 \times 10^{12}$	Infrared (IR)	Vibrational
2-0,8 mm	$150-375 \times 10^{12}$	Near infrared	Vibrational
800-400 nm	$375-750 \times 10^{12}$	Visible	Electronic
400-150 nm	$750-2000 \times 10^{12}$	Ultraviolet (UV)	Electronic
150-2 nm	$2-150 \times 10^{16}$	Vacuum UV	Electronic
2-0,1 nm	$150-3000 \times 10^{16}$	X-ray	Inner Shell Electronic
0,1-0,0001 nm	$3-3000 \times 10^{16}$	γ -ray	Nuclear Reaction

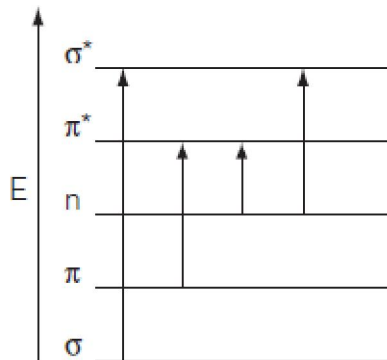


Gambar 11. Skema spektrum elektromagnetik dan kisaran panjang gelombangnya (Sumber : Kar, A. *Pharmaceutical Drug Analysis 2nd Ed. : Methodology, Theory, Instrumentation, Pharmaceutical Assays, Cognate Assays*. New Delhi : New Age International Publisher. 2005)

Table 5. Hubungan antara warna dengan panjang gelombang sinar tampak (34)

Panjang gelombang	Warna yang diserap	Warna yang diamati/ warna komplementer
400-435 nm	Ungu (lembayung)	Hijau kekuningan
450-480 nm	Biru	Kuning
480-490 nm	Biru kehijauan	Jingga
490-500 nm	Hijau kebiruan	Merah
500-560 nm	Hijau	Merah anggur
560-580 nm	Hijau kekuningan	Ungu (lembayung)
580-595 nm	Kuning	Biru
595-610 nm	Jingga	Biru kekuningan
610-750 nm	Merah	Hijau kebiruan

Pada umumnya molekul senyawa menyerap radiasi pada panjang gelombang ultraviolet meskipun beberapa senyawa yang memiliki warna akan radiasi pada panjang gelombang sinar tampak (visible). Serapan radiasi UV/Vis terjadi melalui proses eksitasi electron menuju tingkatan energy yang lebih tinggi. Transisi ini terjadi dari tingkat energy electron pada keadaan dasar menuju tingkat energy electron pada keadaan tereksitasi. Serangkaian proses inilah yang akan menghasilkan spectra senyawa tersebut (34).



Gambar 12. Diagram tingkat energi transisi elektronik (Sumber : Kealey, D. dan Haines, P.J. *Instant Notes : Analytical Chemistry*. UK : Bios Scientific Publisher. 2002 dan Rohman, A. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar. 2007)

Pengukuran serapan cahaya oleh molekul senyawa berdasarkan Hukum Lambert-Beer, yaitu sebagai berikut :

$$\text{Log } I_0/I_t = A = a b c$$

dimana, I_0 : intensitas radiasi

I_t : intensitas radiasi yang ditransmisikan

A : serapan/absorban

a : absorptivitas

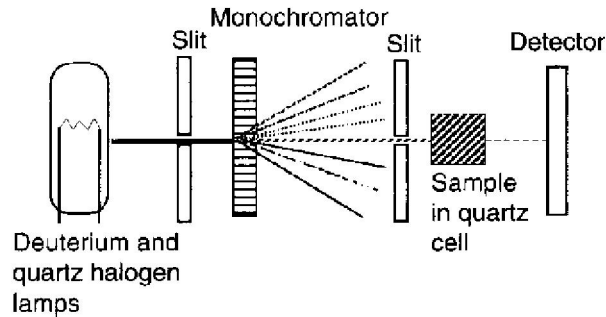
b : tebal kuvet (cm)

c : konsentrasi

Kuantitas spektroskopi yang diukur biasanya adalah transmittan (T), $T = I_t/I_o$, dan absorbansi (A), yang mana $A = \log 1/T$. Absorptivitas (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi. Satuan a ditentukan oleh satuan-satuan b dan c. jika satuan c dalam molar (M) maka absorptivitas disebut dengan absorptivitas molar dan disimbolkan dengan ϵ dengan satuan $M^{-1}cm^{-1}$ atau $L.mol^{-1}cm^{-1}$. Jika c dinyatakan dengan persen berat/volume (g/100 ml) maka absorptivitas dapat ditulis dengan $E_{\substack{1\% \\ 1\text{ cm}}}$ (34).

II.4.2 Instrumentasi

Sumber cahaya untuk sinar tampak (400-800 nm) biasanya berupa lampu tungsten filament atau lampu tungsten halogen. Untuk UV (200-400 nm), sumber cahaya biasanya adalah lampu deuterium. Sampel berupa cairan encer dari sejumlah analit dengan menggunakan pelarut yang memiliki serapan yang rendah. Larutan sampel ditempatkan dalam kuvet yang pada umumnya memiliki ketebalan 1 cm, yang selanjutnya akan diukur serapannya (33).

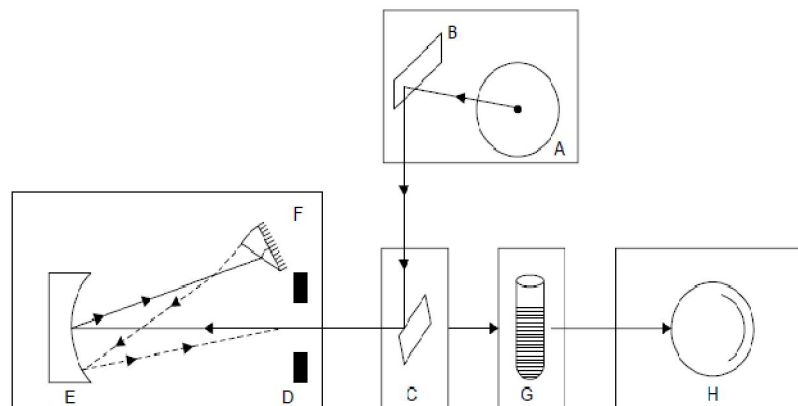


Gambar 13. Diagram sederhana spektrofotometer UV/Vis (Sumber : Kealey, D. dan Haines, P.J. *Instant Notes : Analytical Chemistry*. UK : Bios Scientific Publisher. 2002)

Spektrofotometer dibagi dalam dua tipe yaitu :

a. Spektrofotometer Single-Beam

Panjang gelombang yang sesuai dipancarkan menggunakan prisma, sebuah cermin pemantul, dan sebuah celah yang akan memancarkan cahaya monokromator yang berasal dari instrument. Panjang gelombang yang tertera pada spektrofotometer dapat diatur menjadi nilai yang lebih spesifik (32).



Gambar 14. Diagram sederhana spektrofotometer Single-Beam (Sumber : Kar, A. *Pharmaceutical Drug Analysis 2nd Ed. : Methodology, Theory, Instrumentation, Pharmaceutical Assays, Cognate Assays*. New Delhi : New Age International Publisher. 2005)

Ket. VIS-LAMP : lampu tungsten
UV-LAMP : lampu hydrogen (HL)
 : lampu deuterium (DL)
P₁ : cermin pengatur sumber cahaya
M₁,M₂,M₃,M₄ : cermin
FW : filter
ES 1 : celah masuk
ES 2 : celah keluar
BS : pemecah berkas sinar
R : sampel baku
S : sampel
DD 1, DD2 : diode detector

Setelah melewati cermin 1 (M₁), berkas sinar yang dipancarkan akan direfleksikan dan memasuki filter (FW) menuju celah masuk (ES 1) dan dipancarkan ke monokromator. Selanjutnya, berkas sinar menuju celah keluar (ES 2) dan jatuh pada cermin 2 (M₂). Pemecah berkas sinar (BS) akan memecah sinar yang berasal dari M₂ menjadi dua bagian, satu berkas sinar akan menuju cermin 4 (M₄) dan akan diarahkan pada sampel baku (R) menuju diode detector (DD 1). Berkas sinar yang lainnya menuju cermin 3 (M₃) dan diarahkan pada sampel (S) menuju diode detector (DD 2) (30,34).

II.4.3 Aplikasi

Spectra UV/vis dapat digunakan untuk informasi kualitatif dan sekaligus dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

a. Aspek Kualitatif

Data spectra UV/Vis secara sendiri tidak dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif obat atau metabolitnya. Akan tetapi jika digabung dengan cara lain seperti spektroskopi infra merah, resonansi magnet inti, dan spektroskopi massa, maka dapat digunakan untuk maksud identifikasi/analisis kualitatif suatu senyawa tersebut. Data yang diperoleh dari spektroskopi UV dan Vis adalah panjang gelombang maksimum, intensitas, efek pH, dan pelarut yang kesemuanya itu dapat dibandingkan dengan data yang sudah dipublikasikan (32).

b. Aspek Kuantitatif

Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas sinar dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalu satu satuan luas penampang per detik. Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energy yang sama dengan energy yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Kekuatan radiasi juga mengalami penurunan

dengan adanya penghamburan dan pemantulan cahaya akan tetapi penurunan karena hal ini sangat kecil dibandingkan dengan proses penyerapan. Analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV/Vis dapat digolongkan atas tiga macam pelaksanaan pekerjaan yaitu (1) analisis zat tunggal atau analisis satu komponen, (2) analisis kuantitatif campuran atau analisis dua komponen, dan (3) analisis kuantitatif campuran tiga macam zat atau lebih atau analisis multi komponen (32).