ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ALKALOID YANG TERKANDUNG DALAM JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*)

TUGAS AKHIR II

Disusun dalam rangka penyelesaian Studi Strata I
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

oleh:
NANANG WIDODO
4304000025

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2007

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Tugas Akhir II ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan ke sidang panitia ujian Tugas Akhir II.

Semarang, Maret 2007

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Supartono, M.S.	Drs. Kusoro Siadi, M.Si.
NIP. 131 281 224	NIP. 130 515 772

HALAMAN PENGESAHAN

Telah dipertahankan dihadapan sidang panitia ujian Tugas Akhir II, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Hari : Senin

Tanggal : 16 April 2007

Panitia Ujian

Ketua Panitia

Drs. Kasmadi I.S, M.S.
NIP. 130 781 011

Sekretaris

Drs. Sigit Priatmoko, M.Si.
NIP. 131 965 839

Penguji I

Drs. Ersanghono K, M.S.
NIP. 130 894 821

Penguji II

Drs. Kusoro Siadi, M.Si.
NIP. 130 515 772

Penguji III

Dr. Supartono, M.S.
NIP. 131 281 224

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa yang tertulis dalam Tugas Akhir II ini benar-benar karya sendiri bukan jiplakan dari karya tulis orang lain, baik sebagian atau seluruhnya. Pendapat atau temuan lain yang terdapat dalam Tugas Akhir II ini dikutip atau dirujuk berdasarkan kode etik ilmiah.

Semarang, Maret 2007

Nanang Widodo

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

- ***"Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang yang berakal" (Al-Qur'an Surat Ali Imron : 190)***
- ***"Ingatlah bahwa dunia itu terkutuk kecuali dzikrulloh, atau segala yang serupa atau yang sederajat dengan itu dan orang-orang yang berilmu dan belajar" (Rasullullah Muhammad s.a.w)***
- ***"Mereka bersaing untuk (memperoleh) dunia yang rendah, dan bertengkar karena memperebutkan bangkai yang menggiurkan" (Ali ibn Abi Tholib a.s)***
- ***"Suffering life make us rise" (Max Cavalera "SEPULTURA")***
- ***"We could be hero just for one day" (Bono "U2")***

Ku persembahkan karya kecil ini kepada الله yang dengan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir II ini dengan baik, dan
ku dedikasikan TA II ini terutama kepada 'Mama' dan Bapak untuk kasih sayang, cinta dan doa mereka yang tak kenal henti;
Fery adikku (semoga bisa mengambil hikmahnya); Kelurga besar Guntur (Bulik Sus, 4 Home Sweet Home) & Wonosalam (Om Wit buat kekeluargaannya);
Nila 'my luvly muse' (atas cinta & pengorbanannya hingga saat ini); SifaQ (tuk sayang & pengertian indahnya); tuk bunga² Q: Dyah dan Elin (yang menambah warna hidupQ);
adikQ Danik (tenx tuk semuanya);
*My bestfriends: Mustofa, Triyatno, Erika, Tika, Yella, GPK Kost Boys, Bluetooth People (Rian, Yudi, Windi, Beni, dll), WM. Mentari Girls,: **FRIENDSHIP 4EVER;***
*pak Wiji, mba Nunik, mba Emma, Ndie dan Huda (tenx 4 all supports n helps); Teman² Q3a'00 & adik² kelas semua (specially Dina Q3a'05 n Retno Q3a'04); **MAKE ME 2 KEEP FIGHT;***

*last but not least anyone who already have given their time, strength, support, care, and luv that can't mentioned here, **GOD BLESS YOU ALL !!!***

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir II yang berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid yang Terkandung dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*)".

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang beserta para staf.
2. Dekan FMIPA UNNES beserta para staf.
3. Ketua Jurusan Kimia FMIPA UNNES.
4. Dr. Supartono, M.S. selaku dosen pembimbing I yang telah dengan sangat sabar memberikan bimbingan, pengarahan, dan saran-saran kepada penulis sejak rencana penelitian sampai penulisan Tugas Akhir II.
5. Drs. Kusoro Siadi, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang memberikan bimbingan, pengarahan, dan saran-saran kepada penulis.
6. Drs. Ersanghono K, M.S., selaku penguji utama yang telah memberikan pengarahan, kritikan dan masukan sehingga Tugas Akhir II ini menjadi lebih baik.
7. Para dosen jurusan kimia FMIPA UNNES atas kesabarannya dalam mendidik dan mengajar.

8. Kepala laboratorium kimia FMIPA UNNES yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk melakukan penelitian dan juga bantuannya.
9. Semua pihak yang telah memberikan bantuan sehingga penyusunan Tugas Akhir II ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir II ini tidak lepas dari kekurangan karena terbatasnya pengetahuan, dan kemampuan penulis. Semoga Tugas Akhir II ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu kimia dan bagi pihak yang memerlukannya.

Semarang, Maret 2007

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i

PERSETUJUAN PEMBIMBING ii

HALAMAN PENGESAHAN iii

PERNYATAAN iv

MOTTO DAN PERSEMBAHAN v

KATA PENGANTAR vi

DAFTAR ISI viii

DAFTAR TABEL xi

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR LAMPIRAN xiii

ABSTRAK xiv

ABSTRACT xv

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang 1

B. Permasalahan 3

C. Tujuan Penelitian 4

D. Manfaat Penelitian 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) 5

B. Senyawa Alkaloid 9

C. Karakterisasi Senyawa Alkaloid 16

1. Maserasi 17

2. Kromatografi lapis tipis (KLT) 18

3. Kromatografi kolom 20

4. Spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-vis) 24

5. Spektrofotometer infra merah (IR) 26

6. Spektrometer resonansi magnetik inti ^{1}H (^{1}H NMR) 30

7. Kromatografi gas (GC) 34

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi 38

B. Sampel 38

C. Variabel Penelitian 38

1. Variabel terikat 38

2. Variabel bebas 38

3. Variabel terkendali 39

D. Prosedur Penelitian 39

1. Alat penelitian 39

2. Bahan penelitian 40

3. Cara kerja 40

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian 43

B. Pembahasan 45

BAB V PENUTUP

A. Simpulan 51

B. Saran 51

DAFTAR PUSTAKA 52

LAMPIRAN 55

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Komposisi dan kandungan nutrisi jamur tiram putih per 100 g..... 7

Tabel 2. Data korelasi spektra IR..... 28

Tabel 3. Hasil KLT ekstrak maserasi jamur tiram putih..... 43

Tabel 4. Hasil KLT fraksi kromatografi kolom jamur tiram putih 44

Tabel 5. Hasil analisis spektroskopi ^{1}H NMR residu ekstrak jamur tiram putih 48

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*)..... 6

Gambar 2. Contoh dari *true alkaloid*: Koridin dan Serotonin 15

Gambar 3. Contoh dari *proto alkaloid*: Meskalina dan Efedrina..... 16

Gambar 4. Contoh dari *pseudo alkaloid*: Kafeina..... 16

Gambar 5. Diagram spektrofotometer UV-vis..... 26

Gambar 6. Diagram sistem optik spektrofotometer IR berkas ganda 29

Gambar 7. Skema spektrometer ^{1}H NMR..... 34

Gambar 8. Diagram skematik instrumen GC..... 37

Gambar 9. Kromatogram GC residu ekstrak jamur tiram putih..... 45

Gambar 10. Spektrum IR residu ekstrak jamur tiram putih..... 46

Gambar 11. Spektrum UV-vis residu ekstrak jamur tiram putih 47

Gambar 12. Spektrum ^{1}H NMR residu ekstrak jamur tiram putih..... 48

Gambar 13. Struktur dihidrofenantridin..... 49

Gambar 14. Struktur *N*-etil – 6-metoksi – 3,7,9-trimetil – 5,6-dihidrofenantridin – 1-amina 49

Gambar 15. 5-etil – 6-metoksimetil – 4-etoksimetil – 2-metil – 1,2-dihidropiridin 50

Gambar 16. 3-(2-hidroksietil) – 2-metil – 1,10-fenantrolin – 4-ol 50

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Skema cara kerja..... 55

Lampiran 2. Kromatogram GC residu ekstrak jamur tiram putih..... 57

Lampiran 3. Spektrum IR residu ekstrak jamur tiram putih 58

Lampiran 4. Spektrum UV-vis residu ekstrak jamur tiram putih..... 59

Lampiran 5. Spektrum ^{1}H NMR residu ekstrak jamur tiram putih..... 60

ABSTRAK

Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) merupakan jamur kayu famili *Agaricaceae* dan dibudidayakan oleh masyarakat. Jamur ini banyak dikonsumsi masyarakat karena kandungan gizi yang tinggi dan memberi manfaat bagi kesehatan. Meskipun demikian, kandungan kimia jamur tiram putih belum diketahui secara mendalam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis senyawa alkaloid yang terdapat dalam jamur tiram putih yang diisolasi dengan pelarut kloroform. Manfaat penelitian adalah memberikan tambahan pengetahuan tentang isolasi dan karakterisasi alkaloid dalam jamur dan memberikan tambahan informasi mengenai kandungan senyawa alkaloid yang terdapat dalam jamur tiram putih. Sebanyak 160 gram serbuk jamur tiram putih dibasakan dengan larutan basa lemah, ammoniak 10%, sampai serbuk terendam semua (volume ± 300 ml), setelah itu dimaserasi dengan menggunakan pelarut kloroform sebanyak 100 ml selama 1-2 hari. Kemudian dipisahkan dengan corong pisah dan diambil fasa kloroformnya. Fasa basa yang tertinggal ditambah lagi dengan kloroform, diberikan perlakuan yang sama dan diulangi lagi. Fasa kloroform yang didapat dijadikan satu, dianalisis dengan KLT menggunakan eluen metanol:ammoniak (100:1,5), untuk mengetahui adanya alkaloid diuji dengan reagen Dragendorff. Selanjutnya dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan eluen yang sama. Fraksi-fraksi yang didapat, di KLT lagi dengan reagen dan eluen yang sama. Fraksi-fraksi yang positif mengandung alkaloid dijadikan satu, diuapkan sampai terbentuk residu. Kemudian residu yang diperoleh diukur titik lelehnya dan dianalisis dengan GC, IR, UV-vis, dan ^{1}H NMR.

Hasil penelitian ini memberikan residu, berwarna putih, dengan berat 0,262 gram dan mempunyai titik leleh $227{,}5^{0}$ – 228^{0}C. Dari hasil analisis dengan GC, IR, UV-vis, dan ^{1}H NMR terhadap residu tersebut, menunjukkan suatu

alkaloid dengan struktur mirip dengan *N*-etil – 6-metoksi – 3,7,9-trimetil – 5,6-dihidrofenantridin – 1-amina ($C_{19}H_{24}N_2O$).

Kata kunci: Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*), maserasi, alkaloid.

ABSTRACT

White oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) representing mushroom of wood of set of relatives of *Agaricaceae* and planted by society. This mushroom a lot of consumed by the society because high content nutrition and give the benefit for health. Nevertheless, chemical content of white oyster mushroom not yet been known exhaustively. This research aim to to know the type of compound alkaloid which is there are in white oyster mushroom which insulation with chloroform. Research benefits give the knowledge addition of about insulation and alkaloid characterization in mushroom and give the information addition of concerning content of alkaloid compound which is there are in white oyster mushroom. As much 160 gram of white oyster mushroom's flour was based with the weak based, ammoniac 10%, until flour fully drawn all (± 300 ml volume), afterwards maserationed by using chloroform as much 100 ml during 1-2 day. Then dissociated with the funnel apart and taken its chloroform fase. Base fase which is left behind to be added again with the chloroform, given by a same treatment and did over again. Chloroform fase got to be made one, analysed by TLC using the eluent methanol:ammoniac (100:1,5), to know the existence of alkaloid tested by Dragendorff reagent. Hereinafter purified by column chromatography used the same eluent. Factions got, TLC again by reagen and same eluent. Factions which are positive contain the alkaloid made one, evaporated formed residu. Later then residu obtained to be measured its melting point and analysed by GC, IR, UV-vis, and ^{1}H NMR.

Result of this research give the residu, white chromatic, weighing 0.262 gram and have the melting point 227,5^0 - 228^{0}C. From result analysed by GC, IR, UV-vis, and ^{1}H NMR to the residu, showing an alkaloid with the structure like by

N-Ethyl - 6-methoxy - 3,7,9-trimethyl - 5,6-dihidrophenanthridine - 1-amine ($C_{19}H_{24}N_{2O}$).

Keywords: white oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), maseration, alkaloid.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jamur merupakan salah satu keunikan yang memperkaya keanekaragaman jenis makhluk hidup dalam dunia tumbuhan. Sifatnya yang tidak berklorofil menjadikannya tergantung kepada makhluk hidup lain, baik yang masih hidup ataupun yang sudah mati. Karena itu jamur memegang peranan penting dalam proses alam yaitu menjadi salah satu pengurai (dekomposer) unsur-unsur alam. Selain itu beberapa di antara jenis-jenis jamur yang ada telah dimanfaatkan oleh manusia baik sebagai bahan makanan ataupun bahan obat.

Tumbuhan jamur sudah lama dikenal sebagai bahan makanan. Dalam sejarah masyarakat Cina, pemanfaatan jamur sudah dimulai sejak ribuan tahun silam. Jamur-jamur yang sering dijadikan bahan makanan seperti jamur merang, jamur tiram, jamur kancing, jamur shiitake dan sebagainya. Bahkan bagi masyarakat Jepang selalu melengkapi menu hariannya dengan jamur. Tak hanya sedap, jamur juga memiliki kualitas gizi yang baik.

Dari hasil penelitian rata-rata jamur mengandung 14-15% protein, sedangkan beras 7,38% dan gandum 13,2%. Ini berarti jamur memiliki kadar protein yang lebih tinggi. Asam amino essensial yang terdapat dalam jamur kurang lebih ada 9 jenis dari 10 asam amino essensial yang telah dikenal yaitu arginin, histidin, isoleusin, lisin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan, dan

valin. Istimewanya lagi, 72% lemaknya tidak jenuh. Jamur kaya akan berbagai jenis vitamin, antara lain vitamin B1 (thiamin), vitamin B2 (riboflavin), niasin dan biotin. Selain elemen mikro seperti Cu, Zn dan lain-lain, jamur juga mengandung berbagai elemen makro, antara lain K, P, Ca, Na, dan Mg. Jamur juga terbukti ampuh untuk menghambat HIV-AIDS, kolesterol, gula darah dan juga kanker.

Jamur tiram adalah jenis jamur kayu yang memiliki kandungan nutrisi yang lebih tinggi dibandingkan dengan jamur kayu lainnya. Jamur tiram mengandung protein, lemak, fosfor, besi, thiamin dan riboflavin yang lebih tinggi dibandingkan jenis jamur lain. Jamur tiram mengandung 18 macam asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh manusia dan tidak mengandung kolesterol.

Macam asam amino yang terkandung dalam jamur tiram adalah alanin, arginin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glutamina, glisin, histidin, isoleusin, lisin, methionin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, triptofan, tirosin, dan valin.

Jamur tiram juga memiliki sifat yang dapat menetralkan racun dan zat-zat radio aktif dalam tanah. Manfaat jamur tiram yang lain di bidang kesehatan adalah untuk menghentikan pendarahan dan mempercepat pengeringan luka pada permukaan tubuh, mencegah penyakit diabetes mellitus dan penyempitan pembuluh darah, menurunkan kolesterol darah, menambah vitalitas dan daya tahan tubuh, serta mencegah penyakit tumor atau kanker, kelenjar gondok dan

influenza, sekaligus memperlancar buang air besar (Djariyah dan Djariyah, 2001).

Namun, penelitian mengenai komponen-komponen senyawa kimia dalam jamur tiram masih sangat sedikit. Begitu juga penelitian tentang efek farmakologinya, sehingga sampai saat ini informasi mengenai komponen aktifnya masih belum jelas. Tidak seperti pada jamur shiitake (*Lentinus edodes*) yang mengandung lentinan, dan shizopyllan yang merupakan hasil ekstrak dari jamur ling zhi (*Ganoderma lucidum*) dan pada jamur maitake (*Grifola frandosa*) yang mengandung polisakarida beta 1,6 glukan, yang kesemuanya mempunyai efek farmakologi sebagai anti kanker (Anonim[1)], 2004; Anonim[2)], 2004; Utami, 2004).

Jamur-jamur ini telah banyak diteliti oleh para ilmuwan dan telah banyak mendapat pengakuan tentang manfaatnya. Mengingat hal-hal di atas, maka perlu dilakukannya penelitian mengenai komponen-komponen senyawa kimia yang terdapat dalam jamur tiram. Dalam penelitian ini akan diuji jenis senyawa alkaloid utama yang terkandung dalam jamur tiram putih.

B. Permasalahan

Berdasarkan uraian di atas pada latar belakang dapat dirumuskan permasalahan, yaitu jenis senyawa alkaloid apa yang terdapat dalam jamur tiram putih yang diisolasi dengan pelarut kloroform?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis senyawa alkaloid yang terdapat dalam jamur tiram putih yang diisolasi dengan pelarut kloroform.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan tambahan pengetahuan tentang isolasi dan karakterisasi alkaloid dalam jamur.
2. Memberikan tambahan informasi mengenai kandungan senyawa alkaloid yang terdapat dalam jamur tiram putih.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)

Jamur tiram merupakan jamur kayu yang tumbuh berderet menyamping pada batang kayu yang masih hidup atau yang sudah mati. Jamur ini memiliki tudung tubuh yang tumbuh mekar membentuk corong dangkal seperti kulit kerang (tiram) atau bentuknya menyerupai telinga. Hal ini sesuai dengan nama latinnya yaitu *Pleurotus*. Istilah *Pleurotus* berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari dua kata, yaitu *pleuoron* yang berarti menyamping dan *ous* yang berarti telinga.

Ditinjau dari segi morfologisnya, tubuh jamur tiram terdiri dari tudung (*pileus*) dan tangkai (*stipe* atau *stalk*). Pileus berbentuk mirip cangkang tiram atau telinga dengan ukuran diameter 5 – 15 cm dan permukaan bagian bawah berlapis-lapis seperti insang (*lamella* atau *giling*) berwarna putih dan lunak yang berisi basidiospora. Bentuk pelekatan lamella ini adalah memanjang sampai ke tangkai atau disebut *dicdirent*. Sedangkan tangkainya dapat pendek atau panjang (2 – 6 cm) tergantung pada kondisi lingkungan dan iklim yang mempengaruhi pertumbuhannya. Tangkai ini yang menyangga tudung agak lateral (di bagian tepi) atau eksentris (agak ke tengah).

Jamur tiram termasuk golongan jamur yang memiliki spora yang berwarna. Jejak sporanya menampakkan warna putih sampai kuning tiram. Nama-nama jamur tiram biasanya dibedakan menurut warna tudung tubuh atau

sporanya, seperti jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*), jamur tiram merah jambu (*P. flabellatus*), jamur tiram abu-abu (*P. cytidiusus*) dan sebagainya (Djariyah dan Djariyah, 2001).

Gambar 1. Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*).

Taksonomi jamur tiram putih adalah sebagai berikut:

Super kingdom	: *Eukaryota*
Kingdom	: *Myceteae*
Divisio	: *Amastigomycota*
Subdivisio	: *Eumycota*
Kelas	: *Basidiomycetes*
Sub kelas	: *Holobasidiomycetidae*
Ordo	: *Agaricales*
Familia	: *Agaricaceae*
Genus	: *Pleurotus*
Spesies	: *Pleurotus ostreatus*

(Alexopolous, dkk, 1996)

Jamur tiram putih juga mengandung nutrisi yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh manusia. Komposisi dan kandungan nutrisi setiap 100 gram jamur tiram dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi dan kandungan nutrisi jamur tiram per 100 gram (Djariyah dan Djariyah, 2001).

Zat Gizi	Kandungan
Kalori (energi)	367 kal
Protein	10,5 – 30,4 g
Karbohidrat	56,6 g
Lemak	1,7 – 2,2 g
Thiamin	0,20 mg
Riboflavin	4,7 – 4,9 mg
Niasin	77,2 mg
Ca (kalsium)	314 mg
K (kalium)	3.793 mg
P (fosfor)	717 mg
Na (natrium)	837 mg
Fe (besi)	3,4 – 18,2 mg

Jamur tiram putih termasuk tumbuhan heterofit yang hidupnya tergantung pada lingkungan di mana ia hidup. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan jamur tiram putih adalah air, keasaman, substrat, kelembaban, suhu udara, dan ketersediaan nutrisi.

Air dibutuhkan untuk kelancaran transportasi partikel kimia antar sel yang menjamin pertumbuhan dan perkembangan miselium membentuk tudung buah sekaligus menghasilkan spora. Miselium jamur tiram putih tumbuh optimal pada substrat yang memiliki kadar air sekitar 60%, dalam keadaan gelap, dan kondisi asam (pH 5,5 – 6,5). Jamur tiram putih memiliki toleransi dan ketahanan terbatas terhadap keasaman, substrat, media tumbuh, dan suhu udara lingkungan. Tetapi, kondisi lingkungan yang terlalu asam (pH rendah) atau basa (pH tinggi) akan menghambat pertumbuhan miselium. Sebaliknya, tubuh jamur tiram putih tumbuh optimal pada lingkungan yang agak terang dan kondisi keasaman agak netral (pH 6,8 – 7,0).

Jamur tiram putih tumbuh pada tempat-tempat yang mengandung nutrisi berupa senyawa karbon, nitrogen, vitamin dan mineral. Sebagian besar senyawa karbon digunakan sebagai sumber energi sekaligus unsur pertumbuhan. Nitrogen diperlukan dalam sintesis protein, purin dan pirimidin. Jamur menggunakan nitrogen dalam bentuk nitrat, ion amonium, nitrogen organik, atau nitrogen bebas.

Vitamin diperlukan sebagai katalisator sekaligus berfungsi sebagai koenzim. Macam vitamin yang sangat diperlukan untuk pertumbuhan jamur tiram putih adalah thiamin (vitamin B1), asam nikotinat (vitamin B3), asam amino pantotenat (vitamin B5), biotin (vitamin B7), pirodoksin, dan inositol.

Unsur mineral untuk pertumbuhan jamur meliputi unsur makro (K, P, Ca, Mg, dll) dan unsur mikro (Zn, Cu, dll). Unsur fosfor dan kalium diserap dalam bentuk kalium fosfat. Unsur fosfor berperan dalam penyusunan membran plasma, molekul organik seperti ATP dan asam nukleat. Unsur kalium berperan dalam aktivitas enzim metabolisme karbohidrat dan keseimbangan ionik.

Masa pertumbuhan miselium membutuhkan kelembaban udara antara 65 – 70%, tetapi untuk merangsang pertumbuhan tunas dan tubuh jamur membutuhkan kelembaban udara sekitar 80 – 85%. Kondisi lingkungan yang optimum untuk pertumbuhan jamur tiram putih adalah pada tempat-tempat yang teduh dan tidak terkena sinar matahari secara langsung dengan sirkulasi udara lancar dan angin yang spoi-spoi basah (Djariyah dan Djariyah, 2001).

B. Senyawa Alkaloid

Senyawa kimia terutama senyawa organik hasil metabolisme dapat dibagi dua yaitu yang pertama senyawa hasil metabolisme primer, contohnya karbohidrat, protein, lemak, asam nukleat, dan enzim. Senyawa kedua adalah senyawa hasil metabolisme sekunder, contohnya terpenoid, steroid, alkaloid dan flavonoid.

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar alkaloid terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan untuk tumbuhan monokotil dan pteridofita mengandung alkaloid dengan kadar yang sedikit.

Selanjutnya dalam *Meyer's Conversation Lexicons* tahun 1896 dinyatakan bahwa alkaloid terjadi secara karakteristik di dalam tumbuh-tumbuhan, dan sering dibedakan berdasarkan kereaktifan fisiologi yang khas. Senyawa ini terdiri atas karbon, hidrogen, dan nitrogen, sebagian besar diantaranya mengandung oksigen. Sesuai dengan namanya yang mirip dengan alkali (bersifat basa) dikarenakan adanya sepasang elektron bebas yang dimiliki oleh nitrogen sehingga dapat mendonorkan sepasang elektronnya. Kesulitan mendefinisikan alkaloid sudah berjalan bertahun-tahun. Definisi tunggal untuk alkaloid belum juga ditentukan. Trier menyatakan bahwa sebagai hasil kemajuan ilmu pengetahuan, istilah yang beragam senyawa alkaloid akhirnya harus ditinggalkan (Hesse, 1981).

Garam alkaloid dan alkaloid bebas biasanya berupa senyawa padat, berbentuk kristal tidak berwarna (berberina dan serpentina berwarna kuning). Alkaloid sering kali optik aktif, dan biasanya hanya satu dari isomer optik yang dijumpai di alam, meskipun dalam beberapa kasus dikenal campuran rasemat, dan pada kasus lain satu tumbuhan mengandung satu isomer sementara tumbuhan lain mengandung enantiomernya (Padmawinata, 1995).

Ada juga alkaloid yang berbentuk cair, seperti konina, nikotina, dan higrina. Sebagian besar alkaloid mempunyai rasa yang pahit. Alkaloid juga mempunyai sifat farmakologi. Sebagai contoh, morfina sebagai pereda rasa sakit, reserfina sebagai obat penenang, atrofina berfungsi sebagai antispamodia, kokain sebagai anestetik lokal, dan strisina sebagai stimulan syaraf (Ikan, 1969).

Alkaloid telah dikenal selama bertahun-tahun dan telah menarik perhatian terutama karena pengaruh fisiologinya terhadap mamalia dan pemakaiannya di bidang farmasi, tetapi fungsinya dalam tumbuhan hampir sama sekali kabur. Beberapa pendapat mengenai kemungkinan perannya dalam tumbuhan sebagai berikut (Padmawinata, 1995):

1. Alkaloid berfungsi sebagai hasil buangan nitrogen seperti urea dan asam urat dalam hewan (salah satu pendapat yang dikemukan pertama kali, sekarang tidak dianut lagi).
2. Beberapa alkaloid mungkin bertindak sebagai tandon penyimpanan nitrogen meskipun banyak alkaloid ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut meskipun sangat kekurangan nitrogen.

3. Pada beberapa kasus, alkaloid dapat melindungi tumbuhan dari serangan parasit atau pemangsa tumbuhan. Meskipun dalam beberapa peristiwa bukti yang mendukung fungsi ini tidak dikemukakan, mungkin merupakan konsep yang direka-reka dan bersifat 'manusia sentris'.
4. Alkaloid dapat berlaku sebagai pengatur tumbuh, karena dari segi struktur, beberapa alkaloid menyerupai pengatur tumbuh. Beberapa alkaloid merangasang perkecambahan yang lainnya menghambat.
5. Semula disarankan oleh Liebig bahwa alkaloid, karena sebagian besar bersifat basa, dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan. Sejalan dengan saran ini, pengamatan menunjukkan bahwa pemberian nikotina ke biakan akar tembakau meningkatkan pengambilan nitrat. Alkaloid dapat pula berfungsi dengan cara pertukaran dengan kation tanah.

Sampai saat ini sangat sedikit sekali alkaloid yang ditemukan pada tumbuhan tingkat rendah. Kemungkinan hanya satu atau dua famili dari jamur saja yang mengandung alkaloid, seperti ergot. Pada golongan alkaloid indol, bufotenin, juga ditemukan dalam jamur yaitu spesies *Amanita mappa*, selain yang ditemukan pada tumbuhan (*Piptadenia pergrina*) dan katak (*Bufo vulgaris*). Pada garis besarnya, campuran senyawa nitrogen yang ditemukan pada jamur dan mikroorganisme dapat dianggap sebagai alkaloid, tetapi hal ini tidaklah biasa. Contoh lain senyawanya adalah: gliotoksin (jamur *Trichoderma viride*), pyosianin (bakteri *Pseudomonas aeruginosa*) dan erythromisin hasil dari *Streptomyces* (Ikan, 1969).

Semua alkaloid mengandung paling sedikit sebuah nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Batasan mengenai alkaloid seperti dinyatakan di atas perlu dikaji dengan hati-hati. Karena banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di alam bukan termasuk alkaloid. Misalnya pirimidin dan asam nukleat, yang kesemuanya itu tidak pernah dinyatakan sebagai alkaloid (Achmad, 1986).

Metode pemurnian dan karakterisasi alkaloid umumnya mengandalkan sifat kimia alkaloid yang paling penting yaitu kebasaannya, dan pendekatan khusus harus dikembangkan untuk beberapa alkaloid (misalnya rutaekarpina, kolkisina, risinina) yang tidak bersifat basa. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstrasi bahan tumbuhan memakai asam yang melarutkan alkaloid sebagai garam, atau bahan tumbuhan dapat dibasakan dengan natrium karbonat dan sebagainya lalu basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter, dan sebagainya. Beberapa alkaloid jadian/sintesis dapat terbentuk jika kita menggunakan pelarut reaktif. Untuk alkaloid yang dapat menguap seperti nikotina dapat dimurnikan dengan cara penyulingan uap dari larutan yang dibasakan. Larutan dalam air yang bersifat asam dan mengandung alkaloid dapat dibasakan kemudian alkaloid diekstraksi dengan pelarut organik sehingga senyawa netral dan asam yang mudah larut dalam air tertinggal dalam air (Padmawinata, 1995).

Garam alkaloid berbeda sifatnya dengan alkaloid bebas. Alkaloid bebas biasanya tidak larut dalam air (beberapa dari golongan pseudo dan proto

alkaloid larut), tetapi mudah larut dalam pelarut organik agak polar (seperti benzena, eter, kloroform). Dalam bentuk garamnya, alkaloid mudah larut dalam pelarut organik polar (Cordell, 1981).

Hingga kini belum ada pendefinisian tunggal dan penggolongan yang jelas dari alkaloid. Dalam bukunya, Matsjeh (2002) menerangkan beberapa klasifikasi alkaloid, diantaranya yaitu berdasarkan lokasi atom nitrogen di dalam struktur alkaloid dan berdasarkan asal mula kejadiannya (biosintesis) dan hubungannya dengan asam amino.

Berdasarkan lokasi atom nitrogen di dalam struktur alkaloid, alkaloid dapat dibagi atas 5 golongan:

1. Alkaloid heterosiklis
2. Alkaloid dengan nitrogen eksosiklis dan amina alifatis
3. Alkaloid putressina, spermidina, dan spermina
4. Alkaloid peptida
5. Alkaloid terpena

Dari lima golongan di atas, alkaloid heterosiklis adalah yang terbesar dan yang terkecil adalah alkaloid putressina, spermidina, dan spermina. Ini dapat dilihat dari jumlah anggota dari masing-masing golongan seperti diterangkan di bawah ini:

1. Alkaloid heterosiklis

   Alkaloid heterosiklis merupakan alkaloid dengan atom nitrogennya terdapat dalam cincin heterosiklis. Alkaloid hetrosiklis dibagi menjadi:

   a. Alkaloid pirolidin

b. Alkaloid indol

c. Alkaloid piperidin

d. Alkaloid piridin

e. Alkaloid tropan dan basa yang berhubungan

f. Alkaloid histamin, imidazol dan guanidin

g. Alkaloid isokuinolin

h. Alkaloid kuinolin

i. Alkaloid akridin

j. Alkaloid kuinazolin

k. Alkaloid izidin

2. Alkaloid dengan nitrogen eksosiklis dan amina alifatis

   a. Eritrofleum

   b. Fenilalkilamina

   c. Kapsaisin

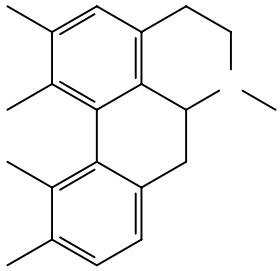
   d. Alkaloid dari jenis kolkina

3. Alkaloid putressina, spermidina, dan spermina
4. Alkaloid peptida
5. Alkaloid terpena dan steroid

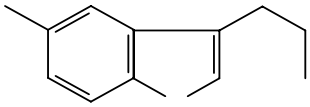
Sedangkan berdasarkan asal mulanya (biogenesis) dan hubungannya dengan asam amino, alkaloid dibagi menjadi tiga kelas, yaitu: (1) *True alkaloid*, (2) *Proto alkaloid*, dan (3) *Pseudo alkaloid*. Ciri-ciri dari ketiga kelas alkaloid adalah sebagai berikut:

1. True alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri; toksik, perbedaan keaktifan fisiologis yang besar, basa, biasanya mengandung atom nitrogen di dalam cincin heterosiklis, turunan asam amino, distribusinya terbatas dan biasanya terbentuk di dalam tumbuhan sebagai garam dari asam organik. Tetapi ada beberapa alkaloid ini yang tidak bersifat basa, tidak mempunyai cincin heterosiklis dan termasuk alkaloid kuartener yang lebih condong bersifat asam. Contoh dari alkaloid ini adalah koridin dan serotonin.



Koridin

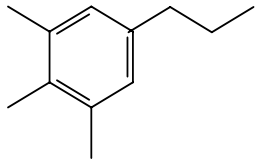


Serotonin

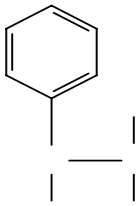
Gambar 2. Contoh dari *true alkaloid*: Koridin dan Serotonin.

2. Proto alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri; mempunyai struktur amina yang sederhana, di mana atom nitrogen dari asam aminonya tidak berada di dalam cincin heterosiklis, biosintesis berasal dari asam amino dan basa, istilah *biologycal amine* sering digunakan untuk alkaloid ini. Contoh dari alkaloid ini adalah meskalina dan efedrina.



Meskalina

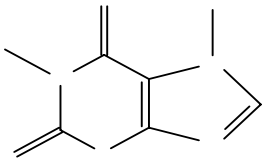


Efedrina

Gambar 3. Contoh dari *Proto alkaloid*: Meskalina dan Efedrina.

3. Pseudo alkaloid

Alkaloid jenis ini memiliki ciri-ciri; tidak diturunkan dari asam amino dan umumnya bersifat basa. Contohnya adalah kafeina



Kafeina

Gambar 4. Contoh dari *Pseudo alkaloid*: Kafeina.

C. Karakterisasi Senyawa Alkaloid

Sebelum melakukan karakterisasi terhadap senyawa kimia yang terkandung dalam jamur tiram putih yang diperkirakan mengandung senyawa hasil metabolit sekunder yaitu alkaloid, terlebih dahulu melakukan isolasi maserasi, kromatografi lapis tipis (KLT), dan kromatografi kolom. Kemudian untuk karakterisasi senyawa kimia tersebut dilakukan dengan alat spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-vis), spektrofotometer infra merah (IR), spektrometer resonansi magnetik inti ^{1}H (^{1}H NMR) dan kromatografi gas (GC).

1. Maserasi

Analisis suatu senyawa organik dilakukan terhadap senyawa organik yang telah diisolasi dari bahan alam. Bahan alam yang dimaksudkan di sini adalah bagian dari tumbuhan yang telah dipilih untuk dilakukan isolasi.

Ada beberapa teknik isolasi senyawa bahan alam yang umum digunakan seperti maserasi, perkolasi, dan ekstraksi kontinu. Tetapi pada penelitian ini teknik isolasi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan metode perendaman sampel dengan pelarut organik, umumnya digunakan pelarut organik dengan molekul relatif kecil dan perlakuan pada temperatur ruangan, akan mudah pelarut terdistribusi ke dalam sel tumbuhan.

Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik, dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

Metode maserasi ini sangat menguntungkan karena pengaruh suhu dapat dihindari, suhu yang tinggi kemungkinan akan mengakibatkan terdegradasinya senyawa-senyawa metabolit sekunder.

Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel (Djarwis, 2004).

Salah satu kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 2004).

2. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Salah satu metode pemisahan yang sederhana ialah kromatografi lapis tipis (Hortettmann, 1986). Pada dasarnya prinsip pada KLT sama dengan kromatografi kertas hanya KLT mempunyai kelebihan yang khas dibandingkan dengan kromatografi kertas yaitu keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaannya.

KLT dapat dipakai dengan dua tujuan. Pertama, dipakai sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif, ataupun preparatif. Kedua, dipakai untuk menjajaki sistem pelarut dan sistem penyangga yang akan dipakai pada kromatografi kolom atau kromatografi cair kinerja tinggi/KCKT (Gritter, 1991). Analisis dari KLT dapat membantu menentukan pelarut terbaik apa yang akan dipakai dan berapa perbandingan antar pelarut yang akan digunakan sebagai fasa gerak pada kromatografi kolom.

Kromatografi lapis tipis sangat berhubungan dengan kromatografi kolom, hal ini karena fasa-fasa senyawa yang digunakan dalam teknik keduanya sama. Alumina dan silika gel adalah fasa diam yang biasa digunakan, dan fasa geraknya menggunakan eluen yang sama. Walaupun demikian, tetap terdapat perbedaan antara KLT dan kromatografi kolom. Fasa gerak (cair) di dalam kromatografi kolom bergerak turun, sedangkan dalam KLT bergerak naik. Bahan fasa diam yang digunakan dalam kromatografi kolom yang berupa kolom digantikan dengan suatu lapisan tipis (tebalnya 100 μm) pada KLT, yang merata pada seluruh bagian permukaannya. Bahan-bahan dari gelas atau lembaran-lembaran plastik dapat digunakan sebagai bahan pendukung fasa diam untuk lapis tipisnya. Sangat dimungkinkan bagi kita untuk menyiapkan lembaran KLT yang dari gelas, tetapi untuk yang bahan pendukungnya plastik hanya tersedia secara komersil. Lembaran yang pendukungnya plastik sangat menarik karena dapat dipotong dengan gunting menjadi lembaran-lembaran yang lebih kecil dengan berbagai ukuran. Biasanya lembaran kecil itu berukuran 1×3 inci tetapi untuk lembaran yang lebih kecil dapat disesuaikan.

KLT mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya: waktu yang dibutuhkan tidak lama (2 – 5 menit) dan sampel yang dipakai hanya sedikit sekali (2 – 20 μg). Kerugiannya dengan menggunakan KLT adalah tidak efektif untuk skala industri. Walaupun lembaran KLT yang digunakan lebih lebar dan tebal, pemisahannya sering dibatasi hanya sampai beberapa miligram sampel saja (Mayo, 2000).

Larutan cuplikan atau sampel ditotolkan pada plat dengan pipet mikro atau injektor pada jarak 1 – 2 cm dari batas plat. Setelah kering plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak sampai pada batas tertentu. Proses pengembangan dikerjakan dalam wadah tertutup yang diisi eluen dan telah dijenuhi uap eluen agar dihasilkan pemisahan yang baik (Anwar, 1994).

Langkah selanjutnya yaitu mengeringkan sisa eluen dalam plat, kemudian melakukan identifikasi yang dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu: pengamatan langsung (untuk noda/bercak yang tampak), dengan lampu ultraviolet, atau dengan pereaksi semprot penimbul warna (Anwar, 1994). Dalam penelitian ini menggunakan pereaksi yang digunakan adalah Dragendorff.

3. Kromatografi kolom

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk teknik pemisahan tertentu. Cara yang asli telah diketengahkan pada tahun 1903 oleh Tsweet, ia telah menggunakannya untuk pemisahan senyawa-senyawa yang berwarna, dan nama kromatografi diambilkan dari senyawa yang berwarna. Meskipun demikian pembatasan untuk senyawa-senyawa yang berwarna tak lama dan hampir kebanyakan pemisahan-pemisahan secara kromatografi sekarang diperuntukkan pada senyawa-senyawa yang tak berwarna, termasuk gas.

Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fasa yaitu satu fasa tetap (*stationary*) dan yang lain fasa bergerak (*mobile*),

pemisahan-pemisahan tergantung pada gerakan relatif dari dua fasa ini. Cara-cara kromatografi dapat digolongkan dengan sifat-sifat dari fasa tetap, yang dapat berupa zat padat atau zat cair. Jika fasa tetap berupa zat padat maka cara tersebut dikenal kromatografi serapan (*absorption chromatography*); jika fasa tetap berupa zat cair, dikenal sebagai kromatografi partisi (*partition chromatography*). Kromatografi kolom termasuk ke dalam kromatografi serapan (Sastrohamidjojo, 2002).

Untuk kromatografi kolom dari larutan dibutuhkan tabung pemisah tertentu yang diisi dengan bahan sorbsi dan juga pelarut pengembang yang berbeda. Tabung pemisah yang diisi dengan bahan sorbsi disebut kolom pemisah. Tergantung dari masalah pemisahan dapat digunakan tabung filter dengan gelas berpori, yang pada ujung bawah menyempit (tabung Allihn) atau tabung gelas, yang pada ujung bawah menyempit dan dilengkapi dengan keran tetapi untuk tabung bola jarang digunakan. Perbandingan panjang tabung terhadap diameter pada umumnya adalah 40:1.

Pengisian tabung pemisah dengan adsorben, yang juga disebut kemasan kolom, harus dilakukan secara hati-hati harus rata. Aluminium oksida atau silika gel dapat diisikan kering ke dalam tabung pemisah. Agar pengisian rata, tabung setelah diisi divibrasi, diketok-ketok atau dijatuhkan lemah pada pelat kayu. Adsorben lainnya harus diisikan sebagai suspensi, terutama jika zat ini menggelembung dengan pelarut pengembang. Yang

umum dilakukan adalah, adsorben dibuat seperti bubur dengan pelarut elusi, kemudian dimasukan ke dalam tabung pemisah.

Sebagai bahan sorbsi digunakan bahan yang sama dengan kromatografi lapis tipis yaitu silika gel, aluminium oksida, poliamida, selulosa, selanjutnya juga arang aktif dan gula tepung. Tergantung dari cara pengembangan dapat dibedakan kromatografi elusi, kromatografi garis depan, dan kromatografi pendesakan.

Yang paling sering digunakan adalah kromatografi elusi. Untuk itu larutan pekat senyawa yang diperiksa dimasukkan ke dalam kolom, kemudian pelarut elusi ditambahkan dan sedapat mungkin dibiarkan mengalir pada suhu dan kecepatan aliran yang konstan, sampai tercapai pemisahan. Campuran senyawa akan terpisah menjadi zona-zona. Zona adalah bagian kolom pemisahan yang mengandung senyawa yang ditentukan.

Pada kromatografi garis depan, larutan yang diperiksa ditambahkan pada kolom secara kontinyu. Larutan mengandung zat yang lebih kuat diadsorbsi dibandingkan pelarutnya. Yang akan mengalir keluar adalah pelarut murni, sampai seluruh kolom dilapisi zat yang larut. Karena zat ini saling mendesak, maka masing-masingnya akan tampak sebagai zona yang dibatasi tanpa ruang antara. Untuk pelaksanaan kromatografi pendesakan juga mula-mula larutan pekat zat yang diperiksa ditambahkan dalam kolom. Kolom ini tidak dikembangkan dengan pelarut murni atau campuran pelarut elusi, tetapi dengan larutan zat yang lebih kuat diadsorbsi

dari semua komponen yang diperiksa. Zat yang dinyatakan sebagai pendesak akan bekerja dengan menggeser semua komponen lain, yaitu zat yang hendak dipisahkan, yang kemudian masing-masingnya akan menjadi pendesak bagi yang berikutnya.

Zat yang bergerak cepat akan segera meninggalkan kolom selama proses kromatografi dan akan muncul di eluat yaitu dalam cairan yang keluar. Eluat ditampung dengan sejumlah tabung reaksi secukupnya, difraksinasi dan fraksi yang mengandung zat yang sama disatukan. Jika hasil yang keluar harus ditampung dalam porsi yang sangat banyak, maka digunakan penampung fraksi. Penampung fraksi adalah suatu peralatan otomatis sebagai pengganti tabung reaksi sebagai wadah penampung yang setelah satuan waktu tertentu yang dapat disetel setelah diperoleh suatu volume penuh tertentu akan berubah secara otomatis.

Zat yang bergerak lambat, selama proses kromatografi tidak terelusi. Zat ini akan tinggal tetap dalam kolom dan setelah berakhirnya pengembangan dan pemisahan mekanik kolom dielusi dan adsorben secara ekstraksi dengan pelarut yang sesuai.

Kromatografi kolom pertama-tama digunakan untuk mendapatkan hasil zat murni secara preparatif dari campuran, tetapi kemudian digunakan untuk pemisahan zat pada penentuan kuantitatif, untuk pemurnian pelarut organik dari senyawa yang mengadsorbsi lemak, bahkan untuk pemisahan diastereomer dan rasemat. Pemisahan rasemat tentu saja dengan menggunakan bahan sorbsi aktif optik (Kisman dan Ibrahim, 1998).

4. Spektrofotometer ultrviolet-visibel (UV-vis)

Spektrosfotokopi merupakan studi mengenai interaksi cahaya dengan atom atau molekul. Bila cahaya jatuh pada senyawa, maka sebagai cahaya tersebut akan terserap oleh molekul tersebut. Banyaknya sinar yang diabsorbsi adalah sebanding dengan konsentrasi senyawa yang dianalisis (Christian, 2004).

Spektrosfotokopi ultraviolet-visibel adalah pengukuran jumlah radiasi UV-vis yang diserap oleh senyawa sebagai fungsi dari panjang gelombang radiasi. Panjang gelombang serta intensitasnya ini tergantung dari jenis ikatan dan gugus karakteristik dari molekul (Christian, 2004). Spektrum tampak (visibel) terentang dari sekitar 400 nm (ungu) sampai 750 nm (merah), sedangkan spektrum ultraviolet terentang dari 100 nm sampai dengan 400 nm (Fessenden and Fessenden, 1986).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum UV-vis tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektrum UV-vis dari senyawa organik berkaitan erat dengan transisi-transisi elektron diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Tetapi dalam praktek, UV-vis digunakan terbatas pada sistem-sistem terkonjugasi (Sastrohamidjojo, 2001).

Spektrum UV-vis adalah suatu gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitasi atau absorbansi). Sering gambar ditunjukan sebagai gambar grafik atau tabel

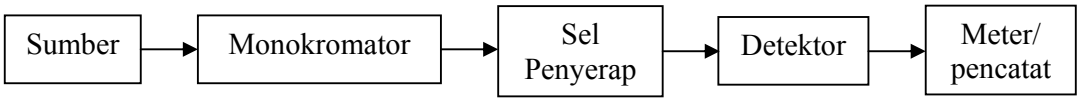
yang menyatakan panjang gelombang lawan serapan molar atau log dari serapan molar, E_{max} atau log E_{max} (Sastrohamidjojo, 2001).

Beberapa istilah yang perlu diketahui dalam spektrosfotokopi ultraviolet-visibel adalah:

1. Gugus kromofor, yaitu suatu gugus kovalen tidak jenuh yang dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-vis.
2. Gugus auksokrom, yaitu suatu gugus fungsional bersifat jenuh yang jika terikat pada suatu gugus kromofor maka akan menyebabkan timbulnya pergeseran puncak serapan gugus kromofor tersebut ke panjang gelombang yang lebih besar dan juga mempertinggi intensitasnya.
3. Pergeseran Batokromik adalah pergeseran puncak absorbsi ke arah panjang gelombang yang lebih besar (disebut juga *red shift* atau *batocrhromic shift*). Hal ini terjadi karena pengaruh pelarut atau efek subsitusi.
4. Pergeseran Hipsokromik (*hipsocromic shift* atau *blue shift*) adalah pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih kecil/pendek.
5. Efek Hiperkromik adalah efek yang disebabkan oleh gugus fungsi sehingga menyebabkan kenaikan nilai intensitas serapan maksimum.
6. Efek Hipokromik adalah efek yang disebabkan suatu gugus sehingga menyebabkan penurunan nilai intensitas serapan maksimum.
7. $\varepsilon_1^{1\%}$ cm adalah ekstingsi suatu lintasan sinar dengan panjang 1 cm dari larutan dengan konsentrasi 1%.

(Widodo dan Wijayanti, 2002; Gandjar, 1991)

Instrumen yang digunakan untuk mempelajari serapan atau emisi radiasi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang disebut "spektrometer atau spektrofotometer". Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi: (1) sumber tenaga radiasi yang stabil, (2) sistem yang terdiri atas lensa-lensa, cermin, celah-celah, dan lain-lain, (3) monokromator untuk merubah radiasi menjadi komponen-komponen panjang gelombang tunggal, (4) tempat cuplikan yang transparan, dan (5) detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem meter atau pencatat (Sastrohamidjojo, 2001).



Gambar 5. Diagram spektrofotometer UV-vis.

5. Spektrofotometer infra merah (IR)

Seperti dengan metode spektrosfotokopi UV-vis, bila sinar IR dilewatkan melalui cuplikan senyawa organik, maka sejumlah frekuensi yang lain akan diteruskan. Karena atom-atom dalam suatu molekul tidak diam melainkan bervibrasi, maka penyerapan frekuensi (energi ini mengakibatkan terjadinya transisi diantara tingkat vibrasi dasar dan tingkat vibrasi tereksitasi. Metode ini juga digunakan dalam mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran (Day and Underwood, 1989).

Radiasi IR tertuju secara luas kepada seluruh bagian dari spektrum elektromagnetik antara daerah visibel dan gelombang mikro. Secara praktik dalam kimia organik pemakaian panjang gelombang dibatasi antara

4000 sampai 400 cm^{-1}. Daerah antara 14.290 – 4000 cm^{-1} disebut IR dekat dan 700 – 200 cm^{-1} IR jauh.

Radiasi IR antara 10.000 – 100 cm^{-1} diserap dan dirubah oleh molekul organik menjadi energi molekular vibrasi. Penyerapan ini juga terkuantisasi, tetapi spektrum vibrasi menunjukan ikatan-ikatan sebagai garis-garis dikarenakan perubahan suatu energi vibrasi tunggal diikuti dengan perubahan energi rotasi. Sebagian besar hal ini terjadi antara 4000 sampai 400 cm^{-1}, di sinilah yang perlu menjadi pusat perhatian. Frekuensi atau panjang gelombang absorpsi tergantung pada massa relatif atom-atom, tetapan gaya dari ikatan-ikatan, dan geometri atom-atom (Silverstein dkk, 1991).

Spektrum IR mengandung banyak campuran yang dihubungkan dengan sistem vibrasi yang berinteraksi dengan molekul, dan karena mempunyai karakteristik yang unik untuk setiap molekul maka dalam spektrum ini juga akan memberikan pita-pita serapan yang khas juga.

Bentuk pita ini dikenal sebagai *finger print* dari molekul. Daerah yang mengandung sejumlah besar vibrasi tertentu yang tak dapat ditelaah yang berkisar dari 900 – 1400 cm^{-1} sering disebut juga daerah *finger print*. Untuk mengidentifikasi senyawa yang tak dikenal, seorang hanya perlu membandingkan spektrum IR dengan sederet spektrum standar yang dibuat pada kondisi yang sama.

Dengan pengujian sejumlah besar senyawa-senyawa terhadap senyawa-senyawa yang sudah diketahui mengandung gugus fungsional

yang dimilikinya, kita dapat mengetahui serapan-serapan IR yang dikaitkan dengan gugus fungsional, kita dapat juga memperkirakan kisaran frekuensi dalam mana setiap serapan harus muncul.

Sekarang kita bekerja sebaliknya, jika kita mempunyai senyawa yang tidak diketahui yang memiliki gugus-gugus fungsional yang ingin diidentifikasi, kita dapat menguji struktur IR nya dan menggunakan data korelasi untuk mendeduksi gugus fungsional apa yang terdapat (Sastrohamidjojo, 1991). Data korelasi beberapa gugus fungsi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Data korelasi spektra IR.

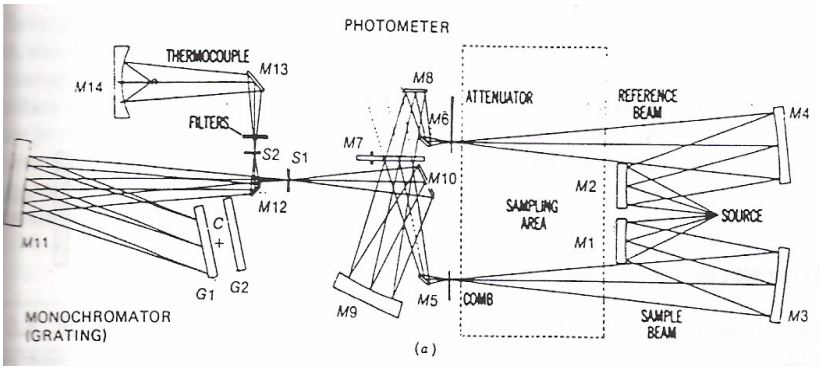
Tipe Vibrasi	**Frekuensi (cm^{-1})**	**Panjang Gelombang (μ)**	**Intensitas**
C-H Alkana (Rentangan)	3000 – 2850	3,33 – 3,51	s
$-CH_3$ (Bengkokan)	1450 dan 1375	6,90 dan 7,27	m
$-CH_2$ (Bengkokan)	1465	683	m
Alkena (Rentangan)	3100 – 3000	3,23 – 3,33	m
(Serapan Keluar Bidang)	1000 – 650	10,0 – 15,3	s
Aromatik (Rentangan)	3159 – 3050	3,17 – 3,28	s
(Serapan Keluar Bidang)	900 – 650	11,1 – 14,5	s
Alkuna (Rentangan)	± 330	+ 3,03	s
Aldehid	2900 – 2800	3,45 – 3,57	w
	2800 – 2700	3,57 – 3,70	w
C=C Alkena	1680 – 1600	5,95 – 6,25	m-w
Aromatik	1600 – 1475	6,25 dan 6,78	m-w
C≡C Alkuna	2250 – 2100	4,44 – 4,75	m-w
C=O Aldehid	1740 – 1720	5,75 – 5,81	s
Keton	1725 – 1705	5,80 – 5,87	s
Asam Karboksilat	1725 – 1700	5,80 – 5,88	s
Ester	1750 – 1730	5,71 – 5,78	s
Amida	1670 – 1640	6,00 – 6,10	s
Anhidrida	1810 dan 1760	5,52 dan 5,68	s
Asam Klorida	1800	5,56	s
C-O Alkohol, Ester, Eter, Asam Karboksilat, Anhidrida	1300 – 1000	7,69 -10,0	s
O-H Alkohol, Fenol – Bebas	3650 – 3600	2,74 – 2,78	m

Ikatan –H	3500 – 3200	2,86 – 3,13	m
Asam Karboksilat	3400 – 2400	2,94 – 4,17	m
N-H Amida Primer Dan Sekunder dan Amina (Rentangan)	3500 - 3100	2,68 – 3,23	m
(Bengkokan)	1640 – 1550	6,10 – 6,45	m-s
C-N Amin	1350 – 1000	7,4 – 10,0	m-s
C=N Imin Dan Oksin	1690 – 1640	5,92 – 6,10	m-s
C≡N Nitril	2260 – 2240	4,42 – 4,46	m
X=C=Y Allen, Keten,Isosianat, Isotisianat	2270 – 1950	4,40 – 5,13	m-s
N=O Nitro (R-NO_2)	1550 dan 1350	6,45 dan 7,40	s
S-H Merkaptan	2550	3,92	w
S=O Sulfoksid	1050	9,52	s
Sulfon, Sulfonil Klorida	1375 – 1300	7,27 – 7,69	s
Sulfat, Sulfonamida	1200 – 1140	8,33 – 8,77	s
C-X Florida	1400 – 1000	7,14 – 10,0	s
Klorida	800 – 600	12,5 – 16,7	s
Bromida, Iodida	667	15,0	s

s (strong) = kuat, m (medium) = sedang, w (weak) = lemah

(Sastrohamidjojo, 1991).

Pada zaman sekarang ini biasanya menggunakan spektrofotometer IR berkas ganda. Spektrofotometer IR berkas ganda modern terdiri dari 5 bagian pokok: sumber radiasi, area sample, monokromator (*grating*), dan detektor (*thermocouple*). Diagram dari sistem optik spektrofotometer IR berkas ganda dapat dilihat pada gambar 6 (Silverstein dkk, 1991).



Gambar 6. Diagram sistem optik spektofotometer IR berkas ganda.

6. Spektrometer resonansi magnetik inti ^1H (^1H NMR)

Spektrosfotokopi resonansi magnet inti didasarkan pada pengukuran absorbsi radiasi elektromagnetik pada daerah frekuensi radio 4 – 600 MHz atau panjang gelombang 75 – 0,5 m, oleh partikel (inti atom) yang berputar di dalam medan magnet.

NMR bekerja secara spesifik sesuai dengan inti atom yang dipakai. ^1H NMR paling banyak dipakai karena inti proton paling peka terhadap medan magnet dan paling melimpah di alam (Hendayana, dkk, 1994).

Fenomena resonansi magnet inti terjadi bila inti yang meyearahkan terhadap medan magnet yang digunakan direduksi untuk menyerapkan tenaga dan orientsi spin mereka berubah. Penyerapan tenaga adalah merupakan proses *quantinized*, dan tenaga yang diserap harus sama dengan perbedaan tenaga antara dua kedudukan yang terlibat.

$$E_{yang\ diserap} = (E_{kedudukan\ -1/2} - E_{kedudukan\ +1/2}) = h.\upsilon$$

Dalam praktek perbedaan tenaga ini adalah merupakan fungsi dari kekuatan medan magnet yang digunakan, H_0. Makin besar medan magnet yang digunakan, makin besar perbedaan tenaga antara kedudukan-kedudukan spin yang ada, $\Delta E = f(H_0)$. Besarnya pemisahan tingkatan tenaga juga tergantung pada inti yang terlibat.

Tenaga diserap oleh proton karena pada kenyataan bahwa mereka mulai “precess” (berputar miring) dalam medan magnet yang digunakan. Inti yang berputar akan mempunyai kelakuan yang sama oleh pengaruh medan magnet yang digunakan. Bila medan magnet diberikan, inti akan

mulai presesi sekitar sumbu putarnya sendiri dengan frekuensi *angular*/sudut, ω. Frekuensi saat mana proton akan presesi adalah berbanding langsung dengan kekuatan medan magnet yang digunakan. Bila medan magnet yang digunakan lebih kuat, maka kecepatan presesi (frekuensi angular) lebih cepat. Untuk proton, jika medan magnet yang digunakan adalah 14.100 Gauss, maka frekuensi presesi akan sekitar 60 Mhz (masuk dalam frekuensi radio).

Karena inti mempunyai muatan, maka maka presesi menghasilkan getaran medan listrik dengan frekuensi yang sama. Jika gelombang frekuensi radio dari frekuensi yang sama ini digunakan terhadap proton yang berputar, maka tenaga dapat diserap. Bila frekuensi dari komponen medan listrik yang bergetar dari radiasi yang datang tepat sama dengan frekuensi dari medan listrik yang dihasilkan oleh inti yang berputar, dua medan magnet dapat bergabung, dan tenaga dapat dipindahkan dari radiasi yang datang ke inti, hingga menyebabkan muatan berputar. Keadaan ini disebut resonansi, dan dikatakan inti beresonansi dengan gelombang elektromagnetik yang datang.

Kegunaan besar dari resonansi magnetik inti adalah karena tidak setiap proton dalam molekul beresonansi pada frekuensi yang identik sama. Ini disebabkan oleh kenyataan bahwa berbagai proton dalam molekul dikelilingi elektron dan menunjukan sedikit perbedaan lingkungan elektronik dari satu proton dengan proton lainnya. Proton-proton dlindungi oleh elektron-elektron yang mengelilinginya. Di dalam

medan magnet, perputaran elektron-elektron valensi dari proton menghasilkan medan magnet yang melawan medan magnet yang digunakan. Hingga setiap proton dalam molekul dilindungi dari medan magnet yang digunakan yang mengenainya dan bahwa besarnya perlindungan ini tergantung pada kerapatan elektron yang mengelilinginya. Makin besar kerapatan elektron yang mengelilingi inti, maka makin besar pula medan yang dihasilkan yang melawan medan yang digunakan. Akibat secara keseluruhan adalah inti/proton merasakan adanya pengurangan medan yang mengenainya. Karena inti merasakan medan magnet yang lebih kecil, maka ia akan mengalami presesi pada frekuensi yang lebih rendah. Setiap proton dalam molekul mempunyai lingkungan kimia yang sedikit berbeda dan mempunyai perlindungan elektron yang sedikit berbeda yang akan mengakibatkan dalam frekuensi resonansi yang sedikit berbeda.

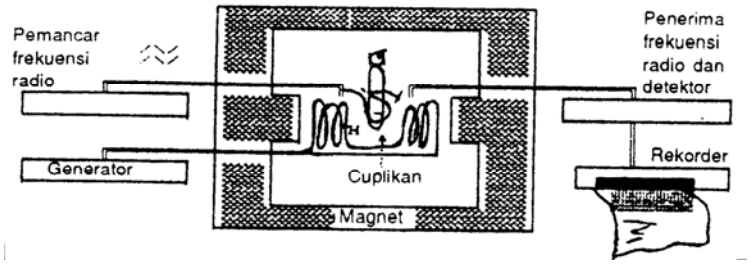
Sehingga sangat sukar untuk mengukur secara tepat frekuensi resonansi untuk setiap proton. Namun demikian ada suatu usaha dengan menggunakan senyawa standar frekuensi yang ditambahkan dalam larutan senyawa yang akan diukur, dan frekuensi resonansi setiap proton dalam cuplikan diukur relatif terhadap frekuensi resonansi dari proton-proton senyawa standar. Dengan kata lain, perbedaan frekuensi diukur secara langsung. Hingga bila senyawa lain diukur, maka resonansi dari protonnya dicatat dalam pengertian berapa jauh (dalam Hz) mereka digeser dari

proton-proton senyawa standar. Bilangan pergeseran (Hz) untuk proton akan tergantung pada kekuatan dari medan magnet yang digunakan.

Tetapi hal ini akan membingungkan jika memakai spektrometer yang berbeda dalam kekuatan medan magnet yang digunakan. Oleh sebab itu digunakan parameter baru yang tidak tergantung pada kekuatan medan. Dalam hal ini harga/bilangan pergeseran diperoleh dengan cara membagi pergeseran untuk suatu proton yang sedang diamati (Hz) dengan frekuensi dari spektrometer (Hz), disebut pergeseran kimia (δ).

Harga δ untuk semua proton akan selalu sama tak tergantung apakah pengukuran dilakukan pada frekuensi spektrometer yang digunakan. Berdasarkan persetujuan, kebanyakan kimiawan melaporkan pergesan kimia dalam satuan delta (δ), atau "parts per million" (ppm) terhadap frekuensi spektrometer yang dipakai. Spektrometer ^{1}H NMR biasanya mencatat dari harga δ yang tinggi ke harga yang rendah (Sastrohamidjojo, 2001).

Peralatan spektrometer NMR terdiri dari beberapa komponen: (1) pemancar frekuensi radio, (2) medan magnet, (3) tabung cuplikan, (4) penerima frekuensi radio dan detektor, dan (5) rekorder. Spektrometer NMR ditunjukan secara skematik di dalam gambar 7 (Hendayana, dkk, 1994).



Gambar 7. Skema spektrometer NMR.

Larutan cuplikan dalam tabung berputar dalam medan magnet yang disinari dengan energi frekuensi radio, energi yang dipancarkan diterima oleh penerima frekuensi radio. Spektrum yang diperoleh dari rekorder berupa puncak-puncak yang menunjukan letak dan jumlah proton. Untuk menentukan struktur senyawa organik, tentu cuplikan yang diperiksa harus murni. Larutan Tetra Metil Silan (TMS) biasa dipakai sebagai standar pada NMR karena mempunyai kerapatan elektron yang paling tinggi, tapi bila tidak ada juga dapat menggunakan $CDCl_3$, $CHCl_3$, CCl_4. Tabung berisi larutan cuplikan diputar di dalam medan magnet selama pengukuran spektrum NMR untuk menghomogenkan larutan (Hendayana, dkk, 1994).

7. Kromatografi gas (GC)

GC termasuk salah satu teknik analitik di laboratorium yang serba guna dan digunakan di mana-mana. Secara luas digunakan dalam penentuan senyawa organik. Ada dua jenis dari GC, yaitu jika fasa diamnya berupa zat padat disebut kromatografi gas-padat (GSC), dan jika berupa zat cair disebut kromatografi gas-cair (GLC). Biasanya yang disebut kromatografi gas yang banyak digunakan sekarang ini adalah yang kromatografi gas-cair (GLC) (Christian, 2004).

Mekanisme pemisahan dalam GC mirip dengan proses ekstraksi. Proses pemisahan dapat dipandang sebagai serangkaian dari partisi di mana cuplikan masuk ke dalam larutan dari fasa dan selang beberapa waktu akan teruapkan lagi. Jadi fasa cair menahan molekul-molekul cuplikan.

Afinitas cuplikan terhadap fasa cair menentukan beberapa lama cuplikan ditahan. Senyawa-senyawa yang mempunyai afinitas rendah (tidak suka) terhadap fasa diam akan keluar dari kolom pertama. Sedangkan senyawa-senyawa dengan afinitas besar (larut dengan baik) terhadap fasa diam akan keluar dari kolom kemudian. Afinitas ini didasarkan pada kelarutan cuplikan terhadap fasa diam.

Jika kita memasukan senyawa tunggal ke dalam GC, maka senyawa tersebut akan teruapkan dan terlarut dalam gas pengangkut. Jika senyawa ini masuk ke dalam kolom, ia akan ditarik oleh fasa cair (stationer). Kemudian akan dipartisikan sesuai dengan hukum Nernst.

$$k = \frac{\text{konsentrasi senyawa dalam fasa diam}}{\text{konsentrasi senyawa dalam fasa bergerak}}$$

k, merupakan tetapan kesetimbangan, selama suhu dalam kolom tetap.

Dalam hal cuplikan mengandung lebih dari satu senyawa, maka setiap senyawa mempunyai harga k sendiri-sendiri. Harga k tergantung pada; (1) Volatilitas kemudahan menguap dari senyawa dan (2) Afinitas dari cuplikan terhadap fasa diam

Dalam GC akan banyak membicarakan tentang waktu retensi dan pemisahan R (*rolution*). Waktu retensi (t_R) didefinisikan sebagai waktu

dimana cuplikan ditahan oleh kolom mulai injeksi sampai terpisah dari fasa diam. R didefinisikan sebagai pemisahan nyata antara dua puncak yang berdekatan dalam kromatogram.

$$R = \frac{2\,d}{W_1 + W_2}$$

Dimana : d = jarak antara dua puncak yang berdekatan

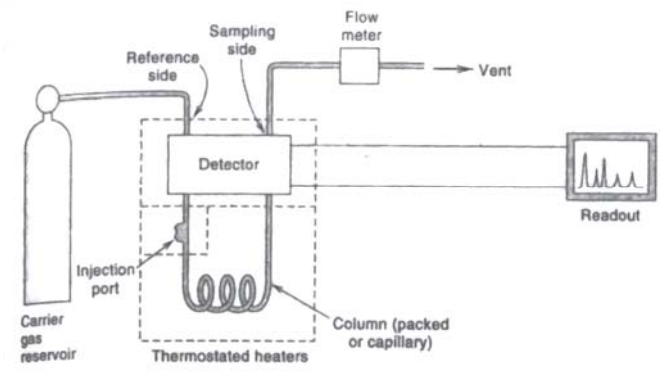
W_1 = lebar puncak pertama

W_2 = lebar puncak kedua

Hal ini terjadi karena dalam prakteknya kita tidak mungkin mendapatkan puncak ideal yang berupa garis lurus dan tipis dalam kromatogram melainkan dalam bentuk kurva-kurva (Kurva Gauss), pelebaran kurva, atau yang lebih jelek menghasilkan puncak-puncak yang berekor atau pemanjangan di muka. Hal ini disebabkan adanya kenyataan-kenyataan berikut:

1. Difusi Eddy: disebabkan oleh kenyataan bahwa kecepatan gas dalam kolom tidak sama di dalam seluruh kolom karena adanya bagan-bagian dari pori yang dilalui tidak sama panjang (*multipath effect*).
2. Difusi molekular: terutama dalam fasa gas, molekul-molekul cuplikan dapat bergerak dalam arah yang salah yang disebabkan oleh difusi.
3. Kesetimbangan yang lambat: disebabkan ada beberapa molekul tinggal lama dalam fasa diam, lainnya sebentar. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan-perbedaan suhu yang kecil.
4. Harga k tidak tetap: ini disebabkan perbedaan rasio distribusi dalam kolom (Sastrohamidjojo, 2002).

Diagram skematik dari instrumen GC ditunjukkan pada gambar 8.



Gambar 8. Diagram skematik instrumen GC (Christian, 2004).

Instrumen GC terdiri dari gas pembawa, pengatur kecepatan alir gas, tempat injeksi, kolom, detektor, dan rekorder. Gas pembawa biasanya menggunakan N_2, He, atau Ar. Kolom terbagi menjadi dua macam, berbentuk kolom rapat (diameter 3 – 6 mm, panjang 1 – 2 m), dimana fasa diamnya dibuat merapat di seluruh permukaan kolom dan kolom kapiler (diameter 0,05 – 0,53 mm, panjang 10 – 100 m) dimana fasa diamnya dilapiskan pada dinding kolom dengan ketebalan 0,1 – 1 μm, sehingga bagian tengahnya berlubang (Meloan, 1999).

BAB III

METODE PENELITIAN

Metode penelitian merupakan salah satu pengetahuan yang memberikan jalan atau petunjuk bagaimana melaksanakan suatu penelitian agar memberikan hasil sistematis dan ilmiah.

A. Populasi

Populasi adalah seluruh objek penelitian (Arikunto, 1998). Populasi penelitian ini adalah jamur tiram putih yang didapat dari Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.

B. Sampel

Sampel adalah sebagai wakil populasi yang diteliti (Arikunto, 1998). Sampel yang diambil dalam penelitian ini adalah cuplikan yang diambil secara acak dari jamur tiram putih.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel terikat

   Variabel terikat adalah variabel yang menjadi titik pusat penelitian. Dalam penelitian ini yang menjadi variabel terikatnya adalah alkaloid dalam jamur tiram putih.

2. Varianel bebas

   Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya terhadap variabel terikat. Dalam penelitian ini variabel bebasnya adalah pelarut.

3. Variabel terkendali

Variabel terkendali adalah faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil reaksi, tetapi dapat dikendalikan. Variabel terkendalinya adalah cara kerja, suhu, dan alat yang digunakan.

D. Prosedur Penelitian

1. Alat penelitian

a. Peralatan gelas: erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, corong, pipet tetes, corong pisah, termometer.

b. Neraca elektrik

c. Seperangkat penghalus jamur (blender)

d. Seperangkat almari pengering oven

e. Seperangkat alat magnetik stirer

f. Seperangkat alat evaporator

g. Seperangkat alat kromatografi lapis tipis

h. Seperangkat alat kromatografi kolom

i. Seperangkat alat titik leleh

j. Lampu UV λ 254 nm dan λ 366 nm (Camag UV-Cabinet II)

k. Seperangkat alat spektrofotometer UV-visibel

l. Seperangkat alat GC Hewlett Packard 5890 series II

m. Seperangkat alat spektrofotometer infra merah Shimadzu FTIR 8201 PC

n. Seperangkat alat spektrometer ^{1}H NMR JEOL60

2. Bahan penelitian
   a. Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*)
   b. Ammoniak 10%
   c. Kloroform p.a (E-Merck)
   d. Metanol p.a (E-Merck)
   e. Ammoniak p.a (E-Merck)
   f. Silika gel GF 254 untuk kromatografi kolom
   g. Reagen Dragendorff

3. Cara kerja
   a. Penyiapan sampel.

      Sebanyak 5 kg jamur tiram putih dibersihkan, dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C. Setelah itu diblender hingga menjadi serbuk.

   b. Maserasi.

      Sebanyak 160 gram serbuk jamur tiram putih dibasakan dengan menambah larutan basa lemah, ammoniak 10%, sampai serbuk terendam semua (volume ammoniak ± 300 ml), diaduk dengan menggunakan magnetik stirer selama ± 2 jam. Setelah itu larutan basa tersebut ditambah dengan kloroform sebanyak 100 ml, didiamkan 1 – 2 hari. Setelah didiamkan kemudian digojog lagi dengan menggunakan magnetik stirer selama ± 1 jam. Didiamkan dalam corong pisah sampai terbentuk 2 fasa, setelah terbentuk diambil fasa kloroformnya.

Fasa basa yang tertinggal ditambah lagi dengan kloroform (100 ml) dan diberikan perlakuan yang sama kemudian diulangi lagi. Selanjutnya semua fasa kloroform yang didapat dikumpulkan menjadi satu untuk dievaporasi sampai agak kental. Setelah agak kental, diuapkan untuk mendapatkan ekstrak yang lebih pekat lagi dalam almari pengering (oven) pada suhu 45^0C. Melakukan KLT, eluen metanol:ammoniak (100:1,5), kemudian uji terhadap reagen Dragendorff untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa alkaloid di dalam ekstrak, yang akan memberikan warna orange atau merah bata. Setelah pengujian menunjukan hasil positif mengandung alkaloid, dilanjutkan dengan melakukan kromatografi kolom.

c. Kromatografi kolom.

Sebelum melakukan kromatografi kolom terlebih dahulu membuat fasa diam, yaitu memasukkan fasa gerak, larutan metanol: amoniak (100:1,5), ke dalam kolom hingga $^3/_4$ kolom, memasukkan serbuk silika gel sedikit demi sedikit hingga pada ketinggian fasa gerak.

Selanjutnya memasukkan ekstrak yang lebih kental dan pekat pada permukaan fasa diam yang sudah rata. Menambahkan lagi serbuk silika gel hingga ketebalan 1 cm. Menambahkan fasa gerak hingga serbuk silika gel terendam, lalu didiamkan selama 24 jam.

Mengalirkan aliran pada kecepatan 20 tetes per menit. Menampung fraksi dalam botol sampai sebanyak 2 ml. Setiap interval 8 – 10 botol di KLT, untuk mengetahui adanya alkaloid dengan reagen

Dragendorff, eluen metanol:ammoniak (100:1,5). Botol yang diperkirakan positif mengandung alkaloid dikumpulkan menjadi satu dan kemudian diuapkan hingga terbentuk kristal.

d. Deteksi dan analisis dengan GC, Spektrofotometer IR, Spektrometer ^{1}H NMR dan spektrofotometer UV-vis.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Dalam penelitian ini isolasi senyawa alkaloid dari jamur tiram putih dilakukan dengan metode seperti yang disampaikan Robinson dalam bukunya "*The Organic Constituens of Higher Plant*" yang diterjemahkan oleh Padmawinata, yaitu senyawa alkaloid bebas yang terdapat dalam jamur tiram putih dibasakan terlebih dahulu dengan ditambahkan larutan basa lemah, dalam penelitian ini menggunakan larutan ammoniak 10%, setelah itu dimaserasi dengan menggunakan pelarut kloroform.

Untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid dalam ekstrak hasil maserasi, mula-mula dilakukan uji warna dengan KLT menggunakan eluen metanol : ammoniak (100 : 1,5) serta pereaksi Dragendorff. Hasil KLT disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil KLT ekstrak maserasi jamur tiram putih.

Sampel	**λ UV-vis (nm)**								
	Rf (×100)			**Dragendorff**			**Warna**		
	254	356	Vis	254	356	Vis	254	356	Visibel
Ekstrak jamur tiram putih	-	-	29,41	-	-	+	-	-	Kuning orange

Analisis terhadap uji warna menunjukkan bahwa ekstrak positif terhadap reagen Dragendorff, memberi warna kuning orange pada sinar visibel yang berarti ekstrak mengandung senyawa alkaloid. Setelah diketahui di dalam

ekstrak mengandung alkaloid, kemudian senyawa alkaloid dipisahkan dari senyawa-senyawa lainnya yang terkandung dalam ekstrak dengan menggunakan kromatografi kolom.

Pada kromatografi kolom menggunakan eluen metanol:ammoniak (100:1,5). Kromatografi kolom ini memakan waktu hampir 20 jam dan diperoleh 87 botol fraksi. Setelah itu fraksi-fraksi tersebut diuji KLT untuk mengetahui botol mana saja yang mengandung alkaloid dengan menggunakan eluen metanol : ammoniak (100 : 1,5) serta pereaksi Dragendorff. Hasil KLT dapat dilihat dalam tabel 4.

Tabel 4. Hasil KLT fraksi kromatografi kolom jamur tiram putih.

Botol fraksi		**Reagen Dragendorff**	**λ UV-vis**		
No. urut	**Warna**		**254**	**365**	**Visibel**
1 – 10	-	-	-	-	-
11 – 20	Coklat	-	-	-	-
21 – 40	Kuning	-	-	-	-
40 – 51	Kuning muda	-	-	-	-
52 – 56	-	+	-	biru	Kuning orange
57 – 87	-	-	-	-	-

Kemudian fraksi-fraksi yang menunjukkan hasil positif terhadap reagen Dragendorff dikumpulkan menjadi satu, kemudian diuapkan. Hasil fraksi yang diperoleh setelah diuapkan adalah sebagai berikut:

Bentuk : seperti serbuk (residu)

Warna : putih bersih

Berat : 0,262 gram

Persentase : $\frac{\text{Berat ekstrak (gram)}}{\text{Berat serbuk awal (gram)}} \times 100\%$

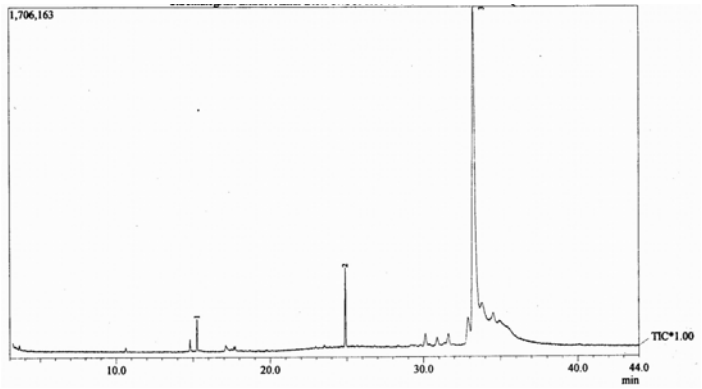
$$= \frac{0,262}{160} \times 100\% = 0,164\%$$

Titik leleh : $227,5^0 - 228^0$C

B. Pembahasan

Dari hasil titik leleh yang didapat, diketahui titik leleh tersebut $227,5^0 - 228^0$C yang mempunyai rentang $0,5^0$C. Karena rentangnya kurang dari 1^0C menandakan bahwa residu yang diperoleh telah murni (Doyle and Mungal, 1986). Selanjutnya dapat dikarakterisasi dengan instrumen-instrumen GC, spektrofotometer IR, spektrofotometer UV-vis, dan spektrometer ^{1}H NMR. Setelah melakukan karakterisasi maka dapat ditentukan jenis dan struktur senyawa alkaloid yang terdapat dalam jamur tiram putih.

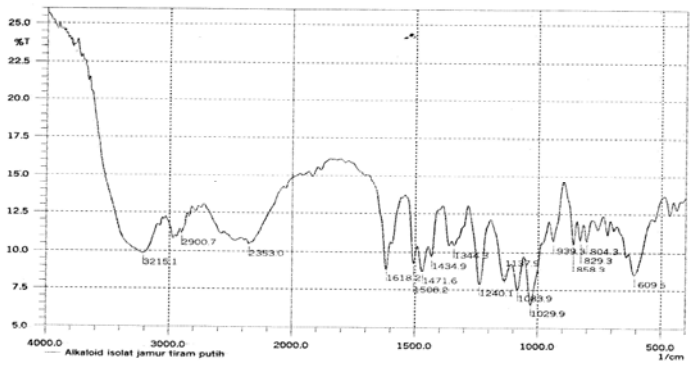
Hasil GC residu ekstrak jamur tiram putih ditampilkan dalam gambar 9.



Gambar 9. Kromatogram GC residu ekstrak jamur tiram putih.

Dari kromatogram dapat dilihat terdapat satu puncak yang paling dominan yang diperkirakan merupakan senyawa alkaloid dengan waktu retensi 33,264 menit dan tingkat kemurnian 90,85%, sehingga dapat dianalisis lebih lanjut dengan spektrofotometer IR, spektrofotometer UV-vis dan spektrometer ^{1}H NMR untuk menentukan struktur molekul senyawa alkaloidnya.

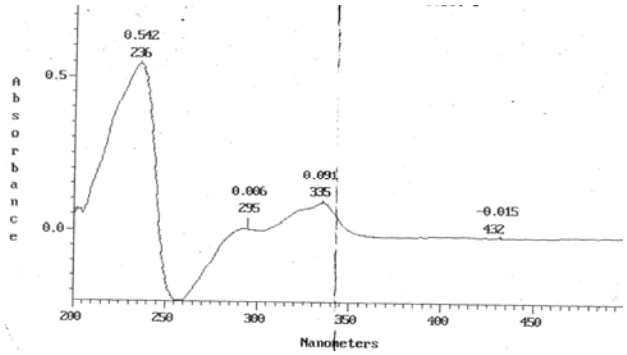
Analisis dengan spektrofotometer IR digunakan untuk menentukan jenis gugus-gugus fungsional yang terdapat dalam senyawa. Hasil spektrofotometer IR ditampilkan dalam gambar 10.



Gambar 10. Spektrum IR residu ekstrak jamur tiram putih.

Spektrum IR di atas menunjukkan adanya pita lebar lemah di 3215,1 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan N–H amina yang diperkuat oleh pita *overtone*-nya pada 1618,2 cm^{-1}. Pita sedang tajam pada 1240,1 cm^{-1} disebabkan oleh gugus C–N amina sekunder, yang juga diperkuat dengan adanya pita *overtone* pada 609,5 cm^{-1}. Terdapatnya pita-pita pada daerah 1600 – 1400 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C=C aromatik, yang kemungkinan memiliki lebih dari satu cincin benzena. Pita lebar lemah 3000 – 2800 cm^{-1} kompleks, menunjukkan adanya gugus metilen dan metil (CH_3–CH_2 –). Sedangkan pita-pita pada daerah 1200 – 1000 cm^{-1} yang merupakan ciri khas dari C–O eter. Adanya pita lemah dengan 2 puncak dekat 1344,3 cm^{-1} diperkirakan terjadi akibat adanya gugus metil, yang kemungkinan memiliki lebih dari satu. Dimana letak posisi gugus metil tersebut diterangkan dengan pita pada daerah antara 900 – 800 cm^{-1} yang memiliki 3 puncak yang menunjukkan adanya cincin benzena yang mengalami *meta*-disubsitusi.

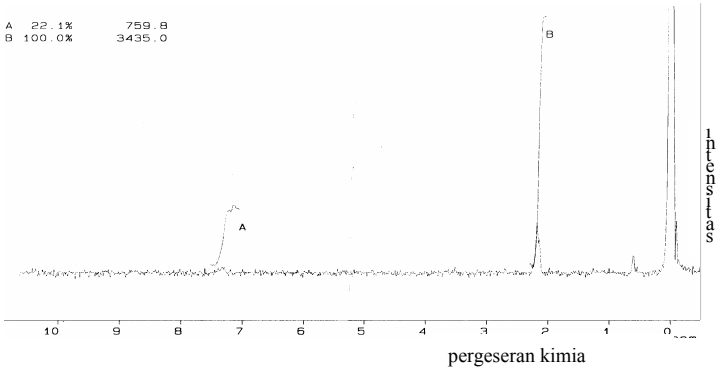
Analisis dengan spektrofotometer UV-vis selain dapat digunakan untuk menunjukkan ada atau tidak adanya ikatan rangkap terkonjugasi, dapat juga digunakan untuk menentukan jenis inti yang terdapat dalam senyawa alkaloid. Hasil spektrofotometer UV-vis residu ekstrak jamur tiram putih ditampilkan dalam gambar 11.



Gambar 11. Spektrum UV-vis residu ekstrak jamur tiram putih.

Dari spektrum UV-vis dapat diketeahui bahwa senyawa alkaloid ini memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, karena menyerap sinar di daerah 250 – 800 nm. Sedangkan untuk menentukan jenis inti dari senyawa alkaloid, ternyata memiliki λ_{maks} dengan empat puncak pada 236 nm, 295 nm, 335 nm, dan 432 nm. Serapan tersebut menunjukkan senyawa alkaloid ini memiliki inti dihidrofenantridin, fenantridin adalah suatu dibenzopiridin yang menyudut (Eicher and Hauptmann, 1995).

Analisis dengan spektrometer ^{1}H NMR dilakukan untuk mengetahui lingkungan kimia proton yang terdapat dalam molekul senyawa, yang menggunakan pelarut standar $CDCl_3$ sebagai pengganti larutan standar TMS. Hasil spektrometer ^{1}H NMR ditampilkan dalam gambar 12.



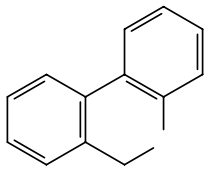
Gambar 12. Spektrum ^{1}H NMR residu ekstrak jamur tiram putih.

Penggunaan $CDCl_3$ sebagai larutan standar menggantikan TMS karena pada saat melakukan uji pengukuran ini larutan standar TMS tidak tersedia di laboratorium. Pergeseran kimia pada 0,00 ppm merupakan pergeseran kimia larutan standar $CDCl_3$. Hasil analisis ini kemudian dibandingkan dengan referensi hasil estimasi pergeseran kimia ^{1}H NMR secara komputerisasi dengan menggunakan program CS ChemDraw Ultra 10.0. Hasil analisis ditampilkan dalam tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis spektrosfotokopi ^{1}HNMR residu ekstrak jamur tiram putih.

Puncak	**Geseran kimia (δ) (ppm)**		**Kenampakan**	**Jumlah proton**	**Jenis proton (H)**
	Percobaan	**Referensi**			
A	7,20 – 7,45	7, 50 – 7,54	Multiplet	1	**H** aromatis
B	2,10 – 2,30	2,33 – 2,35	Singlet	3	Aromatis–C**H$_3$**

Untuk menentukan senyawa alkaloid yang dicari maka pertama kali menentukan struktur intinya. Analisis spektrum UV-vis senyawa alkaloid mempunyai inti dihidrofenantridin.

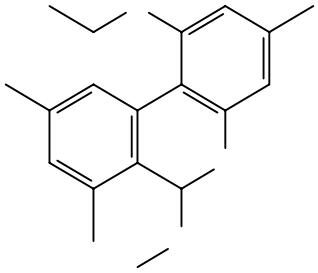


Gambar 13. Struktur dihidrofenantridin.

Dari analisis spektrum IR diketahui senyawa alkaloid ini mempunyai gugus-gugus fungsi sebagai berikut: $H_3C–O–$, CH_3 yang jumlahnya diperkirakan lebih dari satu dan berposisi meta, gugus metil–metilen ($CH_3–CH_2–$) dan ikatan C–N amina sekunder.

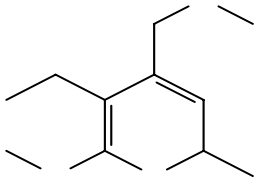
Untuk $H_3C–O–$ karena merupakan nukleofil maka pada fenantridin menempati posisi 6, sedangkan CH_3 menempati posisi 3 dan 9. Tetapi karena terdisubsitusi meta maka ada CH_3 di posisi 7 dan pada posisi 1 ditempati oleh C–N amina sekunder yang berikatan dengan $H_3C–CH_2–$ (Eicher and Hauptmann, 1995).

Berdasarkan hasil analisis tersebut, maka diperkirakan senyawa alkaloid yang terdapat dalam residu ekstrak jamur tiram putih adalah *N*-etil – 6-metoksi – 3,7,9-trimetil – 5,6-dihidrofenantridin – 1-amina ($C_{19}H_{24}N_2O$) dengan struktur seperti gambar 14.



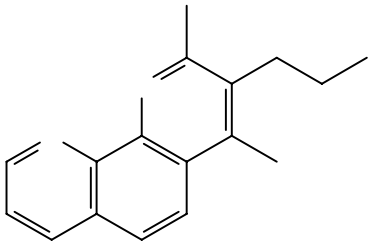
Gambar 14. Struktur *N*-etil – 6-metoksi – 3,7,9-trimetil – 5,6-dihidrofenantridin – 1-amina.

Pada penelitian-penelitian terdahulu telah ditemukan senyawa-senyawa alkaloid yang berbeda, diantaranya seperti: 5-etil – 6-metoksimetil – 4-etoksimetil – 2-metil – 1,2-dihidropiridin (Mursiti, 2004) dan 3-(2-hidroksietil) – 2-metil – 1,10-fenantrolin – 4-ol (Hadanu, dkk, 2004). Tetapi, bila kita bandingkan dengan senyawa alkaloid yang didapat dari penelitian ini terdapat beberapa kesamaan. Senyawa-senyawa alkaloid ini semuanya mempunyai kerangka inti yang merupakan turunan dari piridin (Eicher and Hauptmann, 1995).



Gambar 15. 5-etil – 6-metoksimetil – 4-etoksimetil – 2-metil – 1,2-dihidropiridin.

Terlebih lagi dengan senyawa alkaloid yang ditemukan oleh Hadanu, dkk, struktur intinya hampir sama, hanya saja yang membuatnya berbeda adalah letak dan jumlah posisi atom nitrogen. Senyawa-senyawa alkaloid tersebut di atas termasuk alkaloid heterosiklis dan secara biogenesis termasuk ke dalam golongan *pseudo alkaloid*.



Gambar 16. 3-(2-hidroksietil) – 2-metil – 1,10-fenantrolin – 4-ol.

BAB V

PENUTUP

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil suatu simpulan adalah senyawa alkaloid yang diperoleh mempunyai inti dihidrofenantridin, yaitu *N*-etil – 6-metoksi – 3,7,9-trimetil – 5,6-dihidrofenantridin – 1-amina dengan rumus molekul $C_{19}H_{24}N_2O$.

B. Saran

Untuk meningkatkan kualitas penelitian selanjutnya maka penulis dapat menyarankan:

1. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan untuk mengetahui sifat-sifat fisika dan kimia lainnya serta efek fisiologisnya dari senyawa alkaloid yang didapat.
2. Perlu diadakannya penelitian lebih lanjut tentang senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam jamur tiram putih dengan menggunakan metode dan pelarut yang berbeda.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang jamur tiram putih sehingga dapat lebih dimanfaatkan.
4. Untuk para peneliti selanjutnya, sebelum melakukan penelitian sebaiknya terlebih dahulu mencari informasi atau kajian pustaka yang benar tentang senyawa yang akan diteliti dan metode penelitian yang tepat.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S.A. 1986. ***Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam***. Jakarta: Penerbit Karunika Jakarta Universitas Terbuka.

Alexopoulos, C. J., S. W. Mims, and M. Blackwell. 1996. ***Introductory Mycology***, 4th Ed. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Anonim[1)]. ***Jamur Maitake, Alternatif Pengobatan Kanker dan AIDS***, www.terasdesa.co.id/berita.suara pembaruan.htm (24 Maret 2004).

Anonim[2)]. ***Lentinan***, www.enzolen.com/lentinan.cfm (24 Maret 2004).

Anwar, C. 1994. ***Pengantar Praktikum Kimia Organik***. Jogjakarta: FMIPA UGM.

Arikunto, S. 1998. ***Prosedur Penelitian***, Edisi revisi IV. Jakarta: PT. Rineka Cipta.

Christian, G.D. 2004. ***Analitical Chemistry***, 6th ed. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Cordell, A. 1981. ***Introduction to Alkaloid, A Biogenetic Approach***, A Wiley Interscience Publication. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Day, R.A. and A.L. Underwood. 1989. ***Quantitative Analysis***, 4th ed. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.

Djariyah, N.M., dan A.S. Djariyah. 2001. ***Budi Daya Jamur Tiram: Pembibitan Pemeliharaan dan Pengendalian Hama Penyakit***. Jogjakarta: Penerbit Kanisius.

Djarwis, D. 2004. ***Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan***. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS JAKARTA.

Doyle, M.P. and W.S. Mungall. 1986. ***Experimental Organic Chemistry***. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Eicher, T. and S. Hauptmann. 1995. ***The Chemistry of Heterocycles***. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden. 1986. ***Organic Chemistry***, 3rd Ed. California: Wadsworth.

Gandjar, I.G. 1991. ***Kimia Analisis Instrumental***. Jogjakarta: Fakultas Farmasi UGM.

Gritter, R.J. 1991. ***Pengantar Kromatografi***. Bandung: ITB.

Hadanu, R, Chairil Anwar, Jumina, Iqmal Tahir, dan Mustofa. 2004. ***Indonesia Journal of Chemistry Vol. 4, No. 2: Sintesis Senyawa 3-(2-hidroksietil) – 2-metil – 1,10-fenantrolin – 4-ol dari 8-aminoquinolin***. Yogyakarta: Departement of Chemistry Gadjah Mada University.

Hendayana, S, Asep Kadarohman, Aa Sumarna, dan Asep Supriatna. 1994. ***Kimia Analitik Instrumen***, edisi kesatu. Semarang: IKIP Semarang Press.

Hesse, M. 1981. ***Alkaloid Chemistry***. Toronto: John Wiley and Sons, Inc.

Hortettmann, K. 1986. ***Cara Kromatografi Preparatif: Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam***. Bandung: ITB.

Ikan, R. 1969. ***Natural Product A Laboratory Guide***. Jerussalem: Israel Universities Press.

Kisman, S dan Slamet Ibrahim. 1998. ***Analisis Farmasi***. Jogjakarta: Gajah Mada University Press (Terjemahan dari Roth, H.J. and G. Blaschke. 1981. ***Pharmazeutische Analytik***. Stuttgart: Georg Thieme Verlag Herdweg).

Manjang, Y. 2004. ***Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Pelestarian dan Perkembangan Melalui Tanah Agrowisata, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan***. Pelaksana Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS JAKARTA

Matsjeh, S. 2002. ***Kimia Hasil Alam Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Falvonoid, Terpenoid dan Alkaloid***. Jogjakarta: Jurusan Kimia FMIPA UGM.

Mayo, D.W., R.M. Pike, P.K. Trumper. 2000. ***Microscale Organic Laboratory, with Multi Scale Syntheses***, 4th Ed. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Meloan, C.E. 1999. ***Chemical Separations: Principles, Techniques, and Experiments***. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Mursiti, S. 2004. ***Tesis UGM: Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Biji Mahoni Bebas Minyak (Swietenia macrophylla king) dan Efek Biji Mahoni terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (Rattus novergicus)***. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Padmawinata, K. 1995. ***Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi***. Bandung: Penerbit ITB (Terjemahan dari Robinson, T. 1991. ***The Organic Constituens of Higher Plant***, 6th ed).

Sastrohamidjojo, H. 1991. ***Spektrosfotokopi,*** edisi kedua. Jogjakarta: Penerbit Liberty.

----------. 2001. ***Dasar-Dasar Spektrosfotokopi,*** edisi kedua, cetakan kedua. Jogjakarta: Penerbit Liberty.

----------. 2002. ***Kromatografi***, edisi kedua, cetakan ketiga. Jogjakarta: Penerbit Liberty.

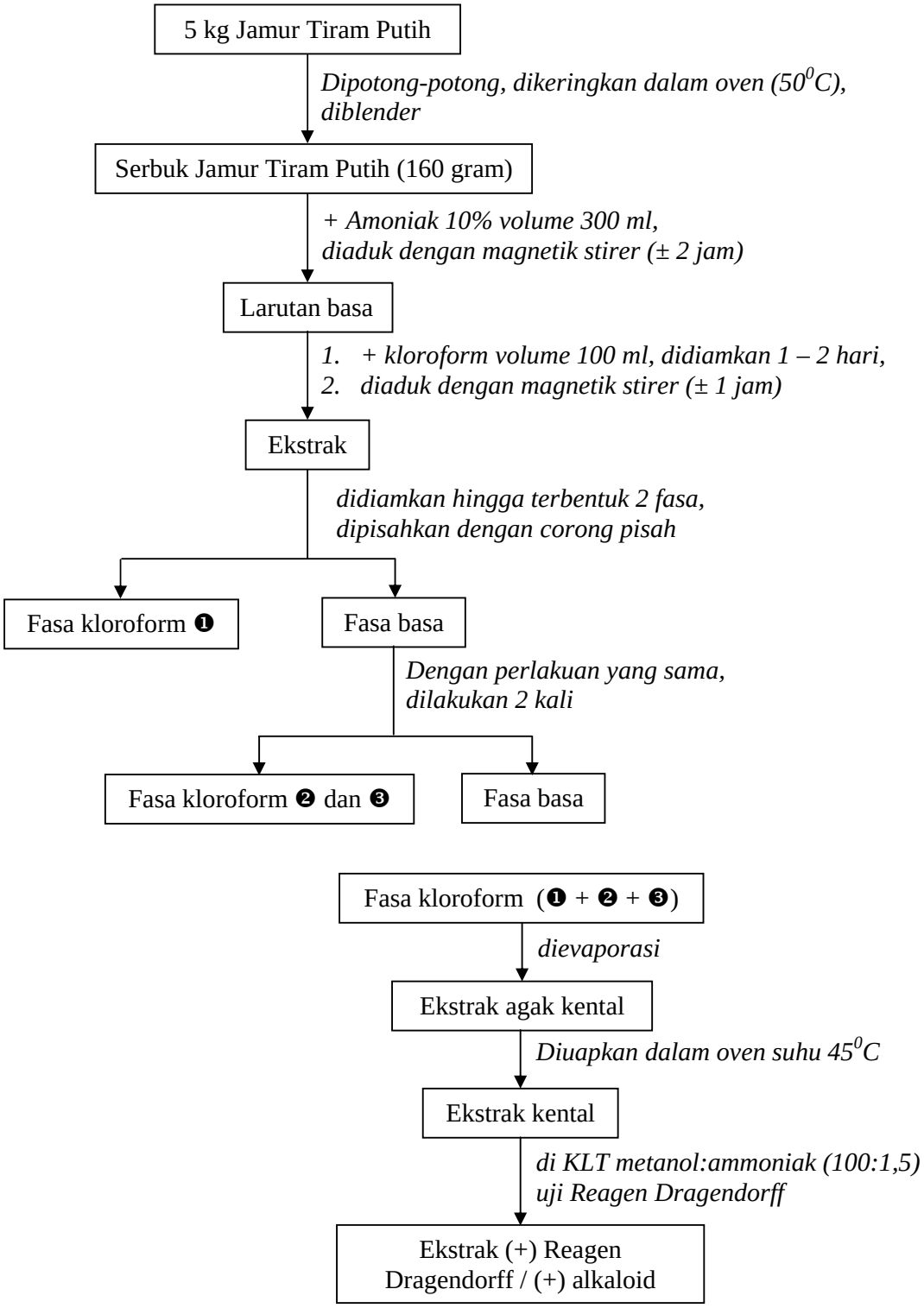
Silverstein, R.M., G.C. Bassler, and T.C. Morril. 1991. ***Spectrometric Identification of Organic Compounds***, 5th ed. New York: John Wiley and Sons, Inc.

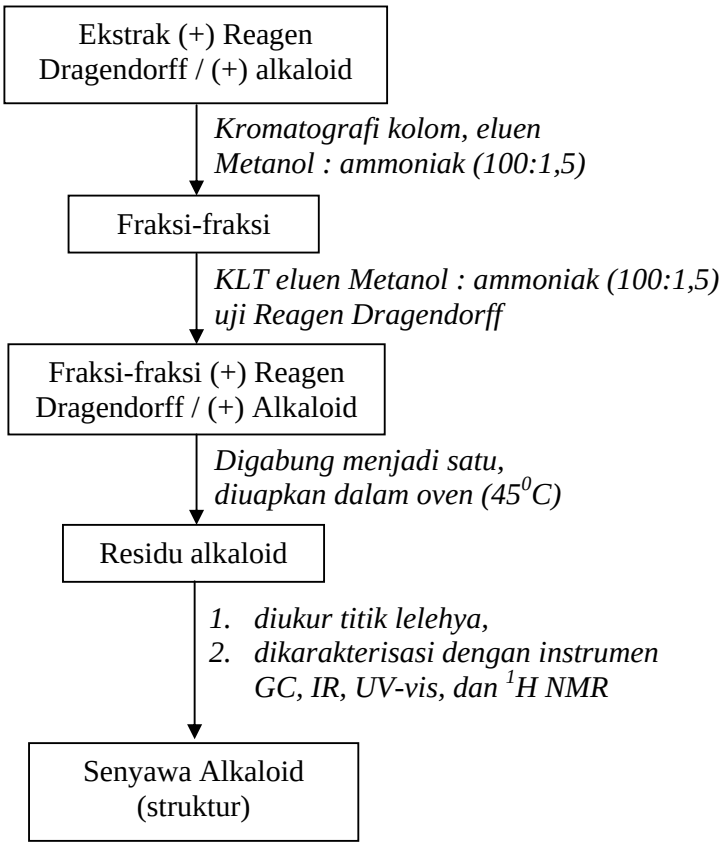
Utami, R.K. 2004. ***Gelagak Industri Cendawan Jepang, Jamur Ampuh Melawan Penyakit "Seram"***, www.pikiran-rakyat.com (24 Maret 2004).

Widodo, A.T. dan N. Wijayanti. 2002. ***Penentuan Struktur Molekul***. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA UNNES.

Lampiran 1.

Skema cara kerja




Ekstrak (+) Reagen Dragendorff / (+) alkaloid
Kromatografi kolom, eluen Metanol : ammoniak (100:1,5)
Fraksi-fraksi
KLT eluen Metanol : ammoniak (100:1,5) uji Reagen Dragendorff
Fraksi-fraksi (+) Reagen Dragendorff / (+) Alkaloid
Digabung menjadi satu, diuapkan dalam oven (45^{0}C)
Residu alkaloid
1. diukur titik lelehya,
2. dikarakterisasi dengan instrumen GC, IR, UV-vis, dan ^{1}H NMR
Senyawa Alkaloid (struktur)