

Kaedah pengenalpastian komponen aktif dalam tumbuhan herba

(Identification method of active components in herbal plants)

Sharizan Ahmad, Nor Hazlina Mat Sa'at, Mohamad Nazrul Hisham Daud, Jeeven Karruppan dan Arif Zaidi Jusoh

Pengenalan

Tumbuhan merupakan aset alam yang amat berharga. Ia membekalkan alam semesta dengan bahan-bahan yang penting seperti makanan, oksigen, pakaian, kayu, minyak pati, resin, getah, pewarna, racun serangga dan ubatan yang secara ekonominya penting bagi meningkatkan kualiti kehidupan. Sejak kebelakangan ini, kecenderungan saintis terhadap tumbuhan telah meningkat kerana selain merupakan salah satu sistem ekologi yang penting dan perlu dijaga, ia juga menyumbang kepada beberapa penawar terhadap penyakit yang dialami oleh manusia seperti kanser, penyakit kulit, meningkatkan tenaga dan lain-lain lagi. Disebabkan kecenderungan inilah maka kumpulan fitokimia di dalam tumbuhan telah dikaji bagi mendapatkan bahan kimia yang boleh digunakan bagi tujuan perubatan. Antara yang telah berjaya dikomersialkan dan menghasilkan pulangan ekonomi yang besar termasuklah ginsenosid dan ginkgolide yang masing-masing diperolehi daripada pokok ginseng dan ginkgo biloba.

Secara amnya kandungan bahan kimia di dalam tumbuhan boleh dikelaskan kepada dua bahagian utama iaitu kandungan primer dan sekunder. Jenis pengkelasan ini bergantung pada peranan bahan kimia tumbuhan tersebut sama ada ia memainkan peranan terhadap metabolisme tumbuhan tersebut. Kedua-dua kandungan bahan ini wujud dalam semua jenis tumbuhan. Kandungan bahan kimia primer boleh ditakrifkan sebagai bahan yang diperlukan bagi kewujudan pokok tersebut untuk membesar, menghasilkan tenaga dan makanan. Kandungan primer termasuklah gula, asid amino, asid nukleik, klorofil dan sebagainya. Manakala kandungan bahan kimia sekunder pula boleh ditakrifkan sebagai bahan kimia yang wujud di dalam tumbuhan, tetapi mempunyai peranan yang kecil dalam proses metabolisme. Kandungan bahan kimia sekunder wujud bergantung pada jenis tumbuhan. Secara normal setiap tumbuhan mengandungi kurang daripada 10% kandungan bahan kimia sekunder. Kumpulan ini boleh terdiri daripada kumpulan terpenoid, fenolik, alkaloid dan terbitan nitrogen. Bagi kebanyakan ahli sains, minat terhadap kumpulan primer dan sekunder ini telah menghasilkan satu bidang kajian kimia sebatian semula jadi yang banyak memfokuskan pada bahan kimia yang terdapat di dalam tumbuhan yang boleh digunakan dalam kehidupan manusia sejagat. Fokus utama bidang ini adalah untuk memperoleh bahan kimia ubatan yang boleh dihasilkan melalui proses sintesis. Bagi memperoleh komponen fitokimia

yang terdapat di dalam tumbuhan tersebut beberapa langkah perlu diambil, antaranya proses pengekstrakan, pemisahan dan pengasingan, pengenalanpastian serta biocerakin perlu dilakukan bagi membuktikan bahawa bahan kimia yang telah diasingkan adalah aktif secara kimia.

Penyediaan sampel tumbuhan

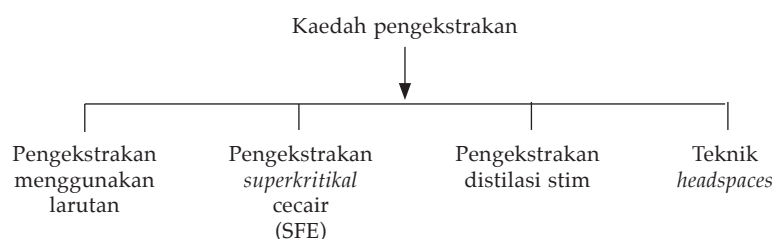
Bagi penyediaan tumbuhan yang dikaji, pengenalan identiti secara botanikal amat penting bagi menentukan spesies tumbuhan yang digunakan tidak bercampur dengan varieti tumbuhan lain. Pada peringkat ini, seorang yang mahir atau pakar tentang pengenalan tumbuhan perlu dirujuk supaya tumbuhan tersebut dapat dikenal pasti secara tepat. Bagi kaedah praktikal yang baik, tumbuhan yang akan digunakan sepanjang uji kaji ini mestilah diperoleh secara segar dan kemudian direndam di dalam alkohol yang panas bagi memastikan segala tisu dan enzim yang terdapat pada tumbuhan tersebut dimusnahkan.

Bagi sampel-sampel yang tidak dapat dilakukan kaedah seperti di atas disebabkan faktor jarak, maka langkah berikut perlu dilakukan. Pengeringan haruslah dilakukan secepat mungkin bagi mengelakkan berlakunya serangan mikroorganisma seperti kulat yang boleh menyebabkan berlaku perubahan kepada struktur kimia tumbuhan tersebut. Pengeringan boleh dilakukan secara terkawal di mana suhu alat pengering perlu dikawal bagi mengelakkan pemanasan melampau. Suhu yang dicadangkan adalah bawah 60 °C. Selain itu, teknik pembungkusan kering juga boleh digunakan bagi penghantaran secara udara dari satu tempat ke satu tempat sebelum sampai ke makmal.

Proses pengekstrakan

Pengekstrakan merupakan kaedah utama yang perlu dilakukan sebelum proses pemisahan bagi mendapatkan bahan kimia atau kumpulan bahan kimia yang terdapat di dalam tumbuhan. Secara tepatnya proses pengekstrakan bergantung pada tekstur dan kandungan air yang terdapat di dalam tumbuhan tersebut. Ia juga bergantung pada jenis bahan kimia yang akan dipisahkan. Bagi memudahkan bahan-bahan kimia dikeluarkan daripada tumbuhan, proses pemusnahan tisu-tisu tumbuhan perlu dilakukan terlebih dahulu. Alkohol merupakan bahan kimia yang sesuai bagi tujuan pengekstrakan awalan atau pemusnahan tisu-tisu tumbuhan dan enzim yang boleh menyebabkan oksidasi enzim dan hidrolisis berlaku.

Sampel-sampel tumbuhan boleh juga dipotong atau dihancurkan supaya proses pengekstrakan akan berlaku dengan lebih cekap. Pengekstrakan boleh dilakukan mengikut urutan komponen bahan kimia yang dikehendaki. Contohnya pengekstrakan menggunakan larutan, penggunaan larutan eter, petroleum eter dan kloroform boleh memisahkan kumpulan lipid dan terpenoid manakala alkohol dan etil asetat boleh mengeluarkan kumpulan yang lebih berkutub (polar). Hasil



Rajah 1. Antara kaedah pengekstrakan yang boleh digunakan untuk pengekstrakan bahan kimia di dalam tumbuhan

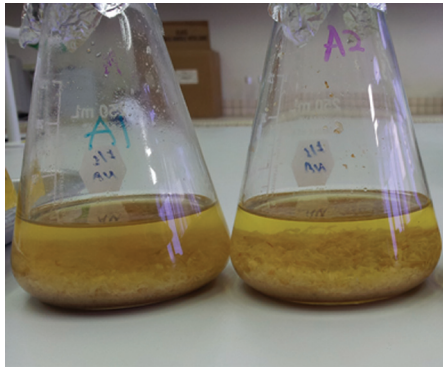
pengekstrakan kemudiannya akan dipekatkan menggunakan peralatan *rotary evaporator* sebelum proses pemisahan dan pengasingan dilakukan. Terdapat beberapa kaedah yang boleh digunakan bagi tujuan pengekstrakan bergantung pada bahan kimia yang diperlukan seperti yang ditunjukkan dalam *Rajah 1* manakala *Gambar 1, 2 dan 3* menunjukkan beberapa kaedah dan peralatan yang boleh digunakan bagi mengekstrak tak tumbuhan herba.

Pemisahan dan pengasingan bahan kimia

Memperolehi kandungan ekstrak mentah tidak memadai bagi menentukan kandungan aktif yang terdapat di dalam tumbuhan tersebut. Ini disebabkan ekstrak mentah yang diperolehi mengandungi pelbagai komponen bahan kimia dan banyak gangguan daripada bahan kimia lain yang hadir bersama-sama di dalam tumbuhan tersebut. Maka satu proses pemisahan atau penyediaan sampel perlu dijalankan bagi menentukan kandungan bahan kimia yang terdapat di dalamnya.

Secara asasnya, pemisahan dan penulenan kandungan bahan kimia di dalam ekstrak tumbuhan dilakukan dengan kombinasi beberapa teknik seperti kaedah kromatografi, pemisahan cecair, kromatografi cecair, elektroforesis kapilari, kromatografi gas, pengkristalan, pemendakan dan lain-lain. *Gambar 4, 5, 6 dan 7* menunjukkan beberapa kaedah yang boleh diguna pakai di dalam makmal bagi tujuan mengenal pasti bahan kimia yang terdapat di dalam tumbuhan herba.

Kaedah yang akan digunakan bergantung pada sifat kelarutan dan kemudahmeruapan komponen bahan kimia yang akan dipisahkan. Penggunaan kromatografi kertas terhad pada kumpulan karbohidrat, asid amino, asid nukleik, asid organik dan kumpulan fenolik. Kromatografi lapisan nipis pula digunakan untuk memisahkan semua kumpulan lipid yang larut seperti lipid, steroid, karotenoid, kuinon ringkas dan alkaloid. Manakala kromatografi cecair gas pula digunakan bagi memisahkan komponen kimia mudah meruap seperti asid organik, monoterpena, seskuiterpena, hidrokarbon dan komponen bersulfur. Bagi komponen yang kurang meruap, penggunaan kromatografi cecair prestasi tinggi boleh digunakan. Pemisahan komponen bahan kimia biasanya dilakukan menggunakan



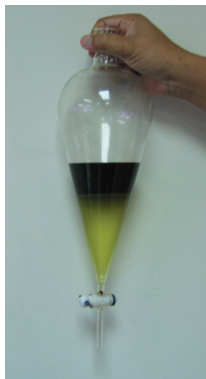
Gambar 1. Kaedah pengestrakan menggunakan larutan



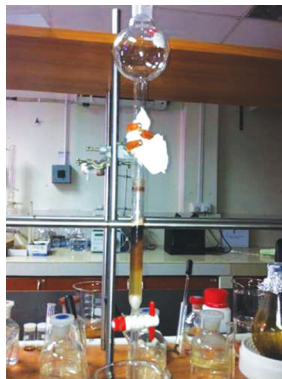
Gambar 2. Peralatan pengestrakan superkritikal cecair (SFE)



Gambar 3. Peralatan pengestrakan distilasi stim



Gambar 4. Kaedah pemisahan cecair-cecair



Gambar 5. Kaedah pemisahan kromatografi turus



Gambar 6. Kaedah pemisahan kromatografi cecair



Gambar 7. Kaedah pemisahan kromatografi gas

kombinasi keempat-empat teknik pemisahan bagi proses pemisahan dilakukan secara skala mikro dan makro. Bagi penyediaan sampel, penggunaan kromatografi lapisan nipis dan kromatografi kertas digunakan. Bagi pengasingan dalam amaun yang besar, penggunaan kromatografi turus boleh dilakukan bagi mendapatkan komponen bahan kimia di dalam tumbuhan tersebut.

Pengenalpastian komponen kimia dalam tumbuhan

Proses pemisahan dan pengasingan sahaja tidak mencukupi bagi mencapai objektif sebenar untuk mengenal pasti komponen bahan kimia. Proses pengenalpastian perlu dilakukan secara terperinci bagi menentukan kelas kumpulan bahan kimia tersebut dan juga keberkesannya terhadap ujian secara biologi dan kimia. Dalam proses pengenalpastian komponen di dalam tumbuhan, adalah perlu untuk mengetahui kelas komponen kimia tumbuhan tersebut dan perlu dikenal pasti secara teliti. Bahan kimia yang diperolehi perlu homogen dengan melakukan kromatografi lapisan nipis dan kromatografi kertas dengan memastikan hanya satu tompokan sahaja yang kelihatan. Penentuan kelas kumpulan bahan kimia tersebut boleh dilakukan melalui ujian warna, kelarutan, nilai R_F dan sifat yang terhasil apabila didedahkan kepada cahaya ultra lembayung. Ujian biokimia seperti tindakan enzim tertentu ke atas bahan kimia juga boleh dilakukan. Contohnya ialah hidrolisis β -glukosida dan hidrolisis myrosinase. Selain itu ujian takat lebur, takat didih, pusingan optikal dan nilai RT dapat menentukan kumpulan bahan kimia dengan membandingkan data yang telah diperolehi dengan data daripada kajian yang lepas.

Walau bagaimanapun, bagi menentukan ketulenan komponen bahan kimia yang telah diperolehi, analisis menggunakan peralatan ultra lembayung (UV), cahaya merah (IR), spektroskopi jisim (MS) dan resonans nuklear magnetik (NMR) perlu dijalankan. Pada peringkat ini, penggunaan peralatan berteknologi tinggi digunakan bagi mendapatkan gambaran mengenai struktur ikatan kimia bagi komponen yang dicari untuk dibandingkan dengan data yang diperolehi. Keempat-empat peralatan asas tersebut merupakan kunci kepada penemuan bahan-bahan kimia sekunder yang terdapat dalam pelbagai jenis tumbuhan herba.

Bibliografi

- Harbone, J.B. (1984). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plants analysis*. London: Chapman and Hall
- Walton, N.J dan Brown, D.E. (1999). *Chemicals from plants: perspectives on plant secondary products*. London: Imperial College Press

Ringkasan

Penentuan kandungan aktif di dalam tumbuhan herba boleh ditentukan melalui beberapa kaedah yang diguna pakai di dalam makmal penyelidikan tumbuhan. Kaedah yang digunakan bergantung pada keperluan kegunaan bahan aktif tersebut yang akan digunakan dalam industri tertentu. Pelbagai kaedah analisis dan peralatan juga telah dibangunkan bagi menganalisis ketulenan kandungan bahan aktif yang diperoleh melalui proses pengekstrakan dan penulenan. Penentuan kandungan bahan aktif amat penting bagi memastikan bahan yang diekstrak mematuhi piawaian yang telah ditetapkan oleh badan berkuasa yang mengawal sesuatu produk yang dibangunkan terutama di dalam industri makanan.

Summary

The active ingredient in herbal plants can be determined by several methods used in plant research laboratory. The method used depends on the use of active substance in industries. Various analytical methods and equipment have been developed to analyse the purity of active ingredients obtained through the process of extraction and purification. Determination of active ingredients is very important to ensure that the extracted material complies with the standards set by regulatory bodies that regulate a product that was developed especially in the food industry.

Pengarang

Sharizan Ahmad
Pusat Penyelidikan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur
E-mel: sharizan@mardi.my

Nor Hazlina Mat Sa'at
Pusat Penyelidikan Hortikultur, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur

Mohamad Nazrul Hisham Daud, Dr. Jeeven Karruppan dan Arif Zaidi Jusoh
Pusat Penyelidikan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur