

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Isolasi

Isolasi merupakan pemisahan senyawa untuk mendapatkan senyawa tunggal yang murni melalui berbagai tahapan. Selain mendapatkan senyawa murni isolasi juga bertujuan untuk mengidentifikasi struktur senyawa, menentukan aktivitas biologisnya, atau mempersiapkan senyawa untuk aplikasi tertentu. Adapun tahapan dari isolasi senyawa dimulai dari pengumpulan bahan, pembuatan simplisia, skrining fitokimia, ekstraksi, fraksinasi, pemurnian, uji kemurnian dan elucidasi struktur (Juliana et al., 2010).

II.1.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan untuk menarik kandungan senyawa yang dapat larut dan terpisah dari bahan yang tidak dapat terlarut dengan pelarut tertentu. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang berdasarkan pada kelarutan senyawa terhadap senyawa lain dalam campuran, biasanya air dan pelarut organik. Metode ekstraksi dibagi menjadi dua yaitu cara panas dan cara dingin. Ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi. Ekstraksi cara panas yaitu sokhletasi, refluks (Riezqa Nur Attazqiah, 2021).

a. Maserasi

Maserasi adalah bagian dari metode ekstraksi padat-cair yang paling kompleks. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk sampel, baik sampel daun, batang, akar dalam suatu wadah. Perendaman biasanya dilakukan selama 3-5 hari, selain itu dilakukan pengadukan untuk mempercepat proses ekstraksi atau untuk melarutkan sampel. Proses maserasi biasanya dilakukan selama 3 hingga 5 hari. Pengadukan juga dilakukan pada waktu tertentu dengan tujuan untuk memastikan ekstraksi berlangsung secara sempurna. Proses ekstraksi dilakukan secara berulang kali sehingga analit terekstraksi secara optimal dengan warna pelarut yang jauh lebih terang. Kelebihan dari metode maserasi yaitu alat dan proses yang kompleks dan sangat cocok untuk senyawa-senyawa yang termolabil. Kelemahan metode ini adalah menggunakan banyak pelarut dan membutuhkan waktu lama (Suparyanto dan Rosad (2015, 2020).

b. Perkolasi

Perkolasi (Cara dingin) metode perkolasi dilakukan dengan menuangkan pelarut secara perlahan ke atas sampel. Penambahan pelarut terjadi secara terus menerus dan teratur, sehingga ekstraksi akan terus terjadi dengan pelarut yang baru. Pelarut ditambahkan dalam

pola tetesan. Ekstraksi dilanjutkan sampai analit terekstrak secara optimal, dimana tanda-tanda pelarut yang digunakan sudah tidak berwarna lagi (Novilda dan Marcellia, 2022).

c. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan alat soklet. Metode sokletasi termasuk metode ekstraksi cara panas. Metode ini menggabungkan kelebihan dari metode refluks dan perkolasi, dimana metode ini menggunakan prinsip refluks dan ekstraksi berulang dengan pelarut baru. Pelarut pada metode ini diletakkan pada wadah terpisah. Metode ini merupakan metode ekstraksi berulang secara otomatis yang mampu mengekstraksi secara efisien. Waktu serta pelarut yang digunakan dalam metode ini lebih sedikit daripada proses maserasi atau perkolasi.

Metode ini dapat digunakan untuk senyawa termostabil. Hal ini juga memiliki kelebihan yang dapat digunakan untuk bahan yang bertekstur lunak, sampel tidak langsung tahan panas, suhu dapat diatur. Kekurangan dari metode ini adalah senyawa dapat terurai oleh panas, tidak cocok digunakan dengan pelarut bertitik didih tinggi, sampel dapat mengendap karena melebihi kelarutannya dalam pelarut (Hatami et al., 2017).

d. Refluks

Ekstraksi refluks adalah metode ekstraksi yang sangat efisien daripada perkolasi maserasi maupun perkolasi. Pada umumnya proses ini dilakukan sebanyak tiga hingga lima kali pengulangan. Metode refluks memiliki kelebihan yaitu dapat mengekstraksi sampel padat bertekstur kasar. Namun, pada ini memerlukan pelarut dengan jumlah banyak dan hanya senyawa termostabil yang dapat diekstraksi (Novilda dan Marcellia, 2022).

II.1.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu proses pengambilan senyawa dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak bercampur pada suatu ekstrak. Proses ini bertujuan untuk memisahkan ekstrak tumbuhan menjadi berbagai fraksi. Beberapa jenis pelarut dapat digunakan untuk proses fraksinasi. Umumnya, pelarut seperti *n*-heksana, etil asetat, dan methanol sering digunakan. *n*-heksana berfungsi untuk mengekstraksi lemak dan senyawa yang bersifat non-polar, etil asetat berfungsi untuk mengekstraksi senyawa semi-polar, sementara methanol digunakan untuk mengekstraksi senyawa polar. Dalam proses ini, polaritas ikatan yang akan dipisahkan dapat diprediksi. Sebagai contoh, senyawa non-polar akan terlarut dalam pelarut yang bersifat non-polar, sedangkan pelarut yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar (Bui dan

Lapailaka, 2022). Proses fraksinasi dilakukan menggunakan beberapa metode, seperti metode ekstraksi cair-cair (ECC), kromatografi cair vakum (KCV), dan kromatografi kolom (KK).

a. Ekstraksi cair-cair (ECC)

ECC adalah proses untuk memisahkan campuran pelarut dan senyawa pelarut. Prinsip ekstraksi cair-cair didasarkan pada suhu konstan dan tekanan konstan, dimana keseimbangan senyawa yang akan dipisahkan adalah sama, yaitu berada dalam lapisan fase yang tidak tercampur. Ekstraksi cair-cair (ECC) dilakukan dengan mencampurkan bahan yang akan diekstraksi (dieluen) dengan pelarut (solvent). Campuran pengencer dan pelarut tidak larut sehingga menghasilkan dua fase yaitu fase afinitas dan fase ekstraktif (Handayani et al., 2015).

b. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

KCV digunakan untuk memisahkan senyawa golongan metabolit sekunder. Metode ini pertama kali digunakan untuk memisahkan diterpene di Australia (Maurya et al., 2018). Pada metode ini silika gel atau alumunium oksida digunakan sebagai adsorben. Rasio pelarut yang beda. seperti *n*-heksana ; etil asetat ; methanol (elusi gradien) dapat digunakan untuk menarik senyawa dari sampel. Penggunaan pompa vakum pada metode ini adalah untuk memudahkan penarikan eluen (Wusu et al., 2022).

c. Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan dan memurnikan senyawa. Berdasarkan mekanisme dan partisi pemisahan zat yang merupakan prinsip dari KK. Senyawa yang dipisahkan terlarut di dua fase, yang disebut dengan fase diam dan fase gerak (Atep, 2022).

II.1.3 Pemurnian

Kromatografi lapis tipis preparatif (KLT-P) adalah salah satu metode yang menggunakan peralatan dasar. KLTP digunakan dalam jumlah miligram. Namun dapat juga digunakan dalam jumlah gram, masih sering digunakan dalam banyak publikasi yang berkaitan dengan isolasi bahan alam (Umam, 2019).

II.1.4 Uji kemurnian

Uji kemurnian dilakukan untuk memastikan senyawa tersebut benar benar murni. Bercak yang terbentuk pada plat KLT kemudian diamati di bawah lampu ultraviolet dengan UV 254 nm dan

365 nm. Untuk mengidentifikasi golongan senyawa pada bercak tersebut, plat KLT dilapisi dengan beberapa reagen yang sesuai (Wardani et al., 2021).

II.1.5 Elusidasi Stuktur

Elusidasi struktur merupakan proses analisis struktur senyawa kimia yang berfungsi untuk mengidentifikasi genus/species dan mengidentifikasi struktur senyawa kimia metabolit. FTIR adalah suatu teknik yang dapat digunakan untuk menganalisis struktur molekul senyawa. Proses ini dilakukan dengan mencari keberadaan gugus fungsi yang ditunjukkan oleh bilangan-bilangan gelombang (Yadav, 2014). Selain FTIR, dilakukan juga pengukuran spektroskopi NMR yang berfungsi untuk mengetahui struktur senyawa hasil isolasi dengan mengamati atom H dan atom C.

a. Spektroskopi Infra-Merah (IR)

Spektroskopi inframerah tertransformasi fourier (FTIR) metode ini digunakan untuk mengukur sampel dan menganalisis beberapa komponen dengan memperhatikan interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik pada rentang panjang gelombang 0,75 - 1.000 μm atau bilangan gelombang 13.000 - 10 cm^{-1} (Skoog, DA;Holler, FJ;Nieman, 2007). Daerah Spektra inframerah bisa dilihat pada tabel II.1.

Tabel II. 1 Daerah Spektrum

Wilayah	Rentang panjang gelombang (λ) μm	Rentang bilangan gelombang (ν) cm^{-1}	Rentang Frekuensi (ν) Hz
Dekat	0.78 – 2.5	13.000 – 4000	3.8×10^{14} – 1.2×10^{14}
Menengah	2.5 – 50	4000 – 200	1.2×10^{14} – 6.0×10^{12}
Jauh	50 – 1000	200 – 10	6.0×10^{12} – 3.0×10^{11}
Paling banyak digunakan	2.5 – 15	4000 – 670	1.2×10^{14} – 2.0×10^{13}

Spektroskopi inframerah tertransformasi fourier ini memiliki kelebihan dengan karakteristik analisis yang cukup cepat dan kurasinya bagus. Hasil yang didapatkan pada FTIR ini berupa gugus fungsi yang ditunjukkan oleh bilangan gelombang (Nandiyanto et al., 2019). Data Inframerah ditunjukkan pada tabel II.2 (Skoog, 2007).

b. Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) / Resonansi magnetik inti

Spektroskopi resonansi magnetik nuklir (NMR) merupakan pengukuran penyebaran radiasi elektromagnetik di wilayah frekuensi radio sekitar 4 sampai 900 MHz. H NMR

merupakan gambaran mengenai jenis atom yang berfungsi untuk mengetahui jumlah dan letak atom hidrogen, sedangkan C NMR berfungsi untuk mengetahui jumlah atom C. Spektrum NMR digunakan untuk karakterisasi senyawa murni. Penerapan ^{13}C NMR untuk penentuan struktur spesies organik dan biokimia. Penentuan didasarkan pada pergeseran kimia, dengan data spin-spin (Skoog, DA;Holler, FJ;Nieman, 2007)

Tabel II. 2 Frekuensi Data Inframerah

Gugus	Senyawa	Frekuensi (cm^{-1})	Intensitas
C–H	Alkana	2850–2970	Kuat
		1340–1470	Kuat
	Alkena	3010–3095	Sedang
		675–995	Kuat
	Alkuna	3300	Kuat
	Aromatik	3010–3100	Sedang
		690–900	Kuat
O–H	Alkohol	3590–3650	Variabel
	Asam	3500–3650	
N–H	Amina primer dan sekunder	3310–3500	Sedang
	Amida	3140–3320	Sedang
C=C	Alkana	1610–1680	Variabel
	Aromatik	1500–1600	Variabel
C≡C	Alkuna	2100–2260	Variabel
C–N	Amina, Amida	1180–1360	Kuat
C≡N	Nitril	2210–2280	Kuat
C–O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1050–1300	Kuat
C=O	Aldehid, keton, asam karboksilat, ester	1690–1760	Kuat
NO ₂	Nitro	1500–1570	Kuat
		1300–1370	

c. Spektrometri Massa (MS)

Spektrometri massa merupakan metode untuk mengubah molekul atau atom dalam sampel menjadi ion fase gas, dan kemudian memisahkan ion-ion tersebut berdasarkan rasio massa-muatannya. Instrumen ini berfungsi untuk mengetahui bobot molekul dan pola fragmentasi. Spektrofotometri massa juga merupakan teknik yang memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif, termasuk massa molekul dan atom dalam sampel serta struktur molekul senyawa organik dan anorganik. Instrumen ini digunakan untuk memisahkan atom, molekul, dan fragmen molekul dengan perbedaan rasio massa terhadap muatannya. Massa

rasio dilambangkan dengan m/z , masa m dinyatakan dalam satuan atom satuan massa dan jumlah muatan ion (Skoog, DA;Holler, FJ;Nieman, 2007).

Isolasi untuk menemukan senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba maka dapat dilakukan dengan pendekatan KLT-Bioautografi. KLT bioautografi merupakan metode yang mendeteksi senyawa yang mempengaruhi laju pertumbuhan organisme uji campuran dan kompleks. Didasarkan aktivitas biologi, berupa antibakteri, antifungi, antitumor, dan antiprotozoal. Metode ini diketahui jumlah komponen sampel yang ditotolkan pada lempeng KLT dan untuk melihat penampakan noda. KLT-Bioautografi memiliki uji metode yang berbeda yaitu :

a. Bioautografi Langsung

Bioautografi langsung memiliki prinsip kerja yaitu uji mikroorganisme pada medium cair, kemudian disempotkan pada lempeng KLT sehingga menghilangkan sisa eluen pada lempeng kromatogram. Lempeng KLT digunakan yaitu 20x20 cm untuk meratakan suspensi bakteri yang disempotkan, kemudian Lempeng KLT diinkubasi selama 1x24 jam dalam kotak plastik, dilapisi kertas dan disempotkan dengan larutan cair TTC (Trifenil tetrazolium klorida) (20 mg/ml) sebanyak 5 ml atau INT (5 mg/ml), INTB (5 mg/ml) serta MTT (*methyl thiazole tetrazolium*) (2,5 mg/ml), selanjutnya diinkubasi selama 4 jam dengan suhu 37°C (Djie, 2006).

b. Bioautografi Kontak

Bioautografi kontak adalah metode untuk melihat senyawa kimia anti mikroba yang di pindahkan dari lempeng ke media yang telah diinokulasi bakteri uji. Prinsip metode ini berdasarkan difusi senyawa yang dipisahkan dengan lempeng. Lempeng tersebut dimasukkan di atas permukaan media yang telah diinokulasi. Plat KLT dipindahkan dari permukaan medium hingga senyawa sebagai antibakteri telah berdifusi dari lempeng ke medium agar yang akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan tempat temperatur, sehingga noda, nampak bisa menghambat pada permukaannya (Djie, 2006).

c. Bioautografi pengecelupan

Prinsip metode pengecelupan yaitu lempeng yang telah dielusi dan di letakkan dalam cawan petri sehingga permukaan tertutupi oleh medium agar. Ketika media agar

memadat, NA diinkubasi. Media agar yang berisi 2,3,5 trifenil tetrazolium klorida (TTC) ditanami dengan organisme dan diuji di atas kromatogram (Djie, 2006).

II.2 Antimikroba

Antimikroba merupakan senyawa/zat kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan atau tumbuhan, dan memiliki sifat untuk menghambat aktivitas mikroorganisme. Sifat toksisitasnya terhadap manusia seharusnya relatif rendah (Jawetz, Melnick, 2010).

Secara luas, antimikroba merujuk pada agen atau zat yang memiliki kemampuan untuk melawan mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit. Istilah ini mencakup berbagai jenis obat dan senyawa yang digunakan untuk mengendalikan atau membunuh mikroorganisme yang merugikan manusia. Sehingga diperlukannya pencegahan antibakteri, antivirus, antijamur dan antiparasit (Paju et al., 2013).

Beberapa golongan antimikroba secara umum antara lain;

1. Antibakteri adalah zat yang memiliki kemampuan untuk menghambat dan membunuh bakteri patogen. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri yaitu termasuk menghambat sintesis dinding sel bakteri, mengganggu integritas permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat aktivitas enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein. (Paju et al., 2013).
2. Antivirus: Antivirus adalah golongan antimikroba yang digunakan untuk mengobati infeksi virus. Antivirus bekerja dengan menghambat replikasi virus dalam tubuh manusia. Contoh antiviral termasuk oseltamivir (untuk influenza), acyclovir (untuk herpes), dan ritonavir (untuk HIV) (Batistuta et al., 2021).
3. Antijamur merupakan golongan antimikroba yang digunakan untuk mengobati infeksi jamur pada manusia. Antijamur bekerja dengan menghambat pertumbuhan atau membunuh jamur penyebab infeksi. Ada beberapa kelas antijamur yang umum digunakan, seperti azol, polien, dan echinocandin. Contoh antijamur termasuk fluconazole, terbinafine, dan amphotericin B (Hidayah, H., Ridwanullah, D., Fatia, Z., & Amal, 2021).
4. Antiparasit adalah golongan antimikroba yang digunakan untuk mengobati infeksi parasit, seperti cacing, kutu, atau protozoa. Antiparasit bekerja dengan menghambat atau membunuh parasit dalam tubuh manusia. Contoh antiparasit meliputi mebendazole (untuk cacing), permethrin (untuk kutu), dan metronidazole (untuk protozoa) (Hidayati et al., 2020).

5. Antiseptik adalah golongan antimikroba yang digunakan untuk membersihkan dan mencegah infeksi pada kulit atau jaringan hidup. Antiseptik biasanya digunakan untuk pembersihan luka atau prosedur medis yang melibatkan penetrasi ke dalam jaringan tubuh. Contoh antiseptik termasuk alkohol, povidone iodine, dan klorheksidin (Tyski et al., 2022).
6. Desinfektan adalah golongan antimikroba yang digunakan untuk membersihkan dan menghancurkan mikroorganisme pada permukaan benda mati. Desinfektan umumnya digunakan pada lingkungan atau benda-benda yang rentan terhadap penyebaran infeksi. Contoh desinfektan termasuk klorin, amonium kuaterner, dan peroksida hidrogen (Deshmukh et al., 2019).

II.3 Tanaman ginggiyang (*Leea aequeta* L.)

Tanaman ginggiyang merupakan tanaman semak dengan ketinggian antara 1½ hingga 3 meter. Batangnya berbentuk bulat, berkayu, dan memiliki cabang-cabang. Batangnya berwarna hijau muda dan berambut. Daunnya majemuk, memiliki tangkai pendek, berbentuk lanset, dengan tepi bergerigi. Ujung daunnya runcing, sementara pangkalnya bulat. Panjang daun berkisar antara 6 hingga 25 cm, dengan lebar 3 hingga 8 cm. Daunnya berambut dan berwarna hijau. Bunga ginggi majemuk, memiliki bentuk malai dengan kelopak yang lonjong. Panjang bunga berkisar antara 2 hingga 5 cm, dengan warna kuning hingga putih. Buahnya berbentuk persegi atau bulat, dengan diameter sekitar 12 mm, dan berwarna hijau muda atau tua. Buah ini memiliki biji pipih dengan bentuk segitiga yang tidak beraturan, dan berwarna putih kekuningan. Ginggiyang termasuk tanaman yang memiliki akar tunggal, dengan akar berwarna coklat muda. (Departemen Kesehatan RI, 2001). Pada gambar II.1 menunjukan tanaman ginggiyang.



Gambar II. 1 Tanaman Ginggiyang

II.3.1 Taksonomi

Taksonomi dari tanaman ginggiyang sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Tracheophyta*

Kelas : *Angiosperms*

Ordo : *Vitales*

Famili : *Vitaceae*

Genus : *Leea*

Spesies : *Leea aequeta* L. (Backer, C. A. and Bakhuizen, v/d Brink R, 1963)

II.3.2 Nama daerah

Tanaman ginggiyang dikenal dengan nama yang berbeda di setiap daerah. Ginggiyang sendiri merupakan nama dari *leea aequeta* untuk daerah Jawa Barat, di daerah lain tanaman ini dikenal dengan *Girang* (Jawa Tengah); *Kayu Ajer Perempuan* (Melayu); *Jirang* (Madura); *Uka* (Maluku); *Mali - mali* (Makasar) (Departemen Kesehatan RI, 2001). Sedangkan nama sinonim dari ginggiyang yaitu *Leea ancolona* Miq; *Leea hirta* Roxb. Ex Hornem; *Leea hirsuta* Blume ex Spreng; *Leea hispida* Gagnep; *Leea kurzii* C.B. Clarke (The Plant List, 2022). Selain itu, tanaman ginggiyang juga dikenal di berbagai negara seperti di (Mandalay-Myanmar) dikenal sebagai *Kya-petthein* (naga-mauk) (Tun et al., 2019) dan di negara (Bangali-Bangladesh) dikenal sebagai *Kakjangha* (Joy et al., 2020).

II.3.3 Penggunaan Tradisional

Daun ginggiyang digunakan untuk perawatan luka dan antitetanus di Tanah Karo, Provinsi Sumatera Utara (Bangun et al., 2021). Kulit kayu dan akar ginggiyang digunakan untuk astringen, obat cacing, gangguan pencernaan, penyakit kuning dinegara Myanmar (Tun et al., 2019). Akar, batang dan umbi ginggiyang digunakan sebagai antiseptik, demam, gatal, Daun nya digunakan untuk mengatasi diare dinegara Bangladesh (Hossain et al., 2021). Selain itu, penelitian lain juga mempublikasikan ramuan tradisional dari tanaman ginggiyang sebagai gagguan pencernaan, bronkitis, demam dan gatal gatal (Joy et al., 2020).

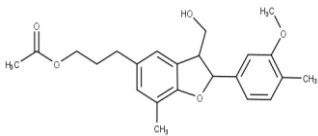
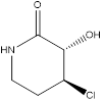
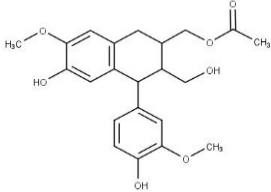
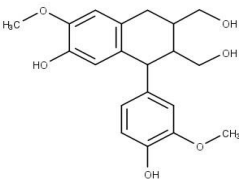
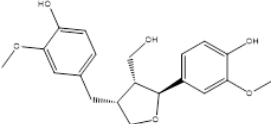
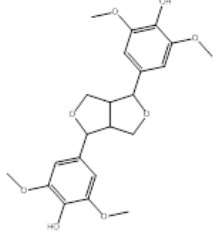
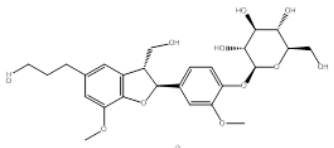
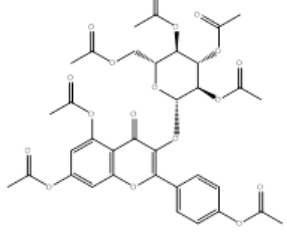
II.3.4 Aktivitas Farmakologi

Daun ginggiyang pada penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas antikejang yang diuji pada ileum marmut terpisah secara in vitro (Sinaga et al., 2018). Penelitian lain juga menunjukkan efek relaksasi pada kontraksi otot polos trakea bersama terisolasi yang diinduksi oleh asetilkolin yang memiliki aktivitas biologis seperti astringent, anthelmintik, antipiretik, (Sinaga et al., 2018). Penelitian lain juga telah melaporkan adanya efek antikonvulsan dari ginggiyang (Harahap et al., 2019). Efek antiinflamasi, antidepresan, ansiolitik (Islam, 2020). Peneliti lain juga menemukan hasil isolasi yaitu dua glikosida, *7-O Methylmearnsitrin* dan *roseoside A*, terbukti memiliki aktivitas antikanker (Rahim et al., 2021), senyawa hasil isolasi lain juga ditemukan asam *3,4,5-Trihidroksibenzoat etil ester* yang menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap empat bakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*, *Salmonella enterica* subsp. *Enterica*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, bersama dengan satu jamur *Candida albicans* (Tun et al., 2019).

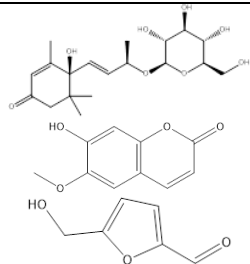
II.3.5 Senyawa – senyawa yang telah di isolasi

Isolasi senyawa dari ginggiyang telah dilakukan oleh Tun (2019) yang mengisolasi dari ekstrak metanol yaitu batang, daun, biji, bunga dan buah. Dalam penelitian tersebut diperoleh 23 senyawa. Pada penelitian tersebut ditemukan senyawa baru berupa neolignan dan lactam bersama dengan 21 senyawa yang sudah teridentifikasi sebelumnya.

Tabel II. 3 Senyawa – Senyawa Yang Telah Berhasil Di Isolasi Dari Tanaman Ginggiyang

No.	Golongan Senyawa	Nama Senyawa	Struktur
1.	Neolignan	(7 <i>S</i> ,8 <i>R</i>)-9'- <i>O</i> -acetylcedrusin	
2.	Laktam	(3 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-chloro-3-hydroxypiperidin-2-one	
3.		9'- <i>O</i> -Acetylsolariciresinol	
4.		9- <i>O</i> -acetylsolariciresinol	
5.	Lignan	(+)-lariciresinol	
6.		(+)-syringaresinol	
7.		urolignoside	
8.	glikosida favonoid	astragalin	

9.	isorhamnetin 3-O- β -D-glucopyranoside	
10.	isokuersitrin	
11.	mauritianin	
12.	trans-N-p-coumaroyltyramine	
13.	<i>N</i> -trans-feruloyltyramine	
14.	Asam vanilat	
15.	Asam siringat	
16.	Lainnya α -hydroxyacetovanillone	
17.	3,4,5-trihydroxybenzoic asam etil ester	
18.	dihydro-p-methoxy cinnamic acid	
19.	isotachioside	
20.	(6S,9S)-roseoside	

21.	(6S, 9R)-roseoside	
22.	scopoletin	
23.	5-hydroxymethylfurfural	

II.4 Senyawa penuntun atau *lead compound*

Senyawa penuntun atau *lead compound* adalah senyawa awal yang diidentifikasi dan diuji dalam rangka pengembangan obat baru. Senyawa ini memiliki aktivitas biologis yang menjanjikan dan berpotensi menjadi dasar untuk pengembangan obat yang lebih efektif dan aman. Dikemukakan bahwa tidak hanya senyawa-senyawa dengan efek terapeutik atau pengobatan saja yang penting, tetapi senyawa-senyawa yang memiliki efek toksik juga dapat dimanfaatkan sebagai senyawa penuntun. Caranya adalah dengan melakukan modifikasi pada senyawa yang memiliki efek toksik tersebut sehingga akhirnya memperoleh aktivitas yang diinginkan. *Lead compound* sering kali ditemukan melalui proses penemuan obat yang melibatkan penelitian dan uji coba berbagai senyawa kimia dalam upaya untuk menemukan kandidat obat yang potensial. Senyawa penuntun ini kemudian dapat mengalami modifikasi struktural dan optimisasi untuk meningkatkan aktivitas, selektivitas, dan sifat farmakokinetiknya (Lionta et al., 2014).

Terdapat sekitar 9 macam pendekatan untuk menemukan senyawa penuntun, antara lain:

1. Random screening (Skrining acak)
2. Metabolit assay (Uji metabolit)
3. Explore side effects (Mengeksplorasi efek samping)
4. Study of the basic processes of life (Studi proses dasar kehidupan)
5. Analysis of the mechanism of action of multipotent compounds (Analisis mekanisme aksi senyawa multipotent)
6. *Screening synthetic banks* (Skrining senyawa-senyawa sintesis yang tersimpan dalam data bank senyawa)
7. *Using someone else's lead* (menggunakan obat yang telah ada sebagai *lead compound* obat baru)
8. Penemuan yang tidak terduga, tidak disengaja, atau terjadi secara kebetulan dalam penelitian atau konteks klinik

9. *Virtual screening* (virtual adalah metode komputasi yang digunakan untuk menyaring atau mengevaluasi sejumlah besar senyawa secara efisien dalam rangka mencari calon obat potensial) (Lionta et al., 2014).

Program penemuan obat diperlukan untuk menemukan solusi terapi untuk suatu penyakit. Proses penemuan obat meliputi identifikasi dan validasi obat target, pengembangan pengujian, identifikasi dan pengoptimalan timbal, penyaringan dan identifikasi kandidat obat potensial, uji klinis, dan umpan balik, dan persetujuan obat dan pemasaran. Obat gagal jika tidak menghasilkan respon terapeutik atau memiliki efek toksik pada manusia. Identifikasi sasaran dan validasi adalah langkah paling penting dalam pengembangan obat. Itu memungkinkan kita untuk memprediksi respon obat dan mengeksplorasi mekanisme berbasis efek samping. Berbagai jenis entitas biologis, seperti protein, asam nukleat, karbohidrat, dan lipid, dapat menjadi target dalam pengembangan obat. Produk gen atau gen juga berinteraksi dengan obat. Obat harus dirancang dengan mempertimbangkan protein, enzim atau reseptor yang terkait dengan sifat ADMET untuk mencapai terapi yang maksimal manfaat. Genome druggable mendefinisikan kumpulan gen yang menyandikan obat yang menjanjikan target. Identifikasi gen druggable pada berbagai penyakit dapat membantu proses tersebut dari pengembangan obat. *Lead compound* juga dapat mengurangi biaya yang dikeluarkan oleh suatu pabrik obat dalam menemukan komposisi atau efek terapeutik suatu bahan dalam proses pengembangan obat (Cheuka et al., 2017).

Contoh pengaplikasian *lead compound* adalah dengan menggunakan *virtual screening* atau molecular docking, yang merupakan penentuan senyawa penuntun menggunakan program komputer. Keunggulan penggunaan aplikasi atau program komputer adalah bahwa peneliti dapat mengklaim hasil sintesis yang diperoleh melalui penggunaan program tersebut. Namun, klaim tersebut harus didukung oleh dasar sintesis yang jelas, seperti referensi dari literatur yang relevan. (Lionta et al., 2014).