KARBOHIDRAT

1. Pendahuluan

Karbohidrat merupakan makromolekul yang penting bagi tongkat kehidupan mahluk hidup. Senyawa karbohidrat menyumbangkan 70 – 80% sumber energi untuk aktivitas manusia. Konsumsi rata-rata karbohidrat dalam makanan sekitar 65% dan energi yang dihasilkan dari metabolisme selular karbohidrat tersebut akan digunakan untuk metabolisme biomolekul lainnya seperti protein, lemak dan asam nukleat. Selain itu, lebih dari 90% komponen penyusun tumbuhan kering adalah karbohidrat. Secara umum, karbohidrat merupakan senyawa polihidroksialdehid atau polihidroksiketon dan derivatnya dalam bentuk unit tunggal yang sederhana maupun unit kompleks.

Pada tumbuhan, glukosa disintesis dari karbon dioksida (CO_2) dan air (H_2O) melalui proses fotosintesis dan disimpan dalam bentuk pati atau selulosa. Binatang mensintesis karbohidrat dari lipid gliserol dan asam amino, akan tetapi derivat karbohidrat yang digunakan oleh binatang diambil dari tanaman. Glukosa bisa diabsorpsi langsung dalam aliran darah dan gula bentuk lain akan diubah menjadi glukosa dalam liver sehingga glukosa merupakan jenis karbohidrat yang penting. Sebagai sumber utama energi pada mamalia, glukosa dapat disintesis menjadi glikogen sebagai cadangan makanan, ribosa dan deoksiribosa pada asam nukleat, galaktosa pada laktosa susu, glikolipid dan kombinasi dengan protein (glikoprotein dan proteoglikan).

2. Klasifikasi dan Nomenklatur Karbohidrat

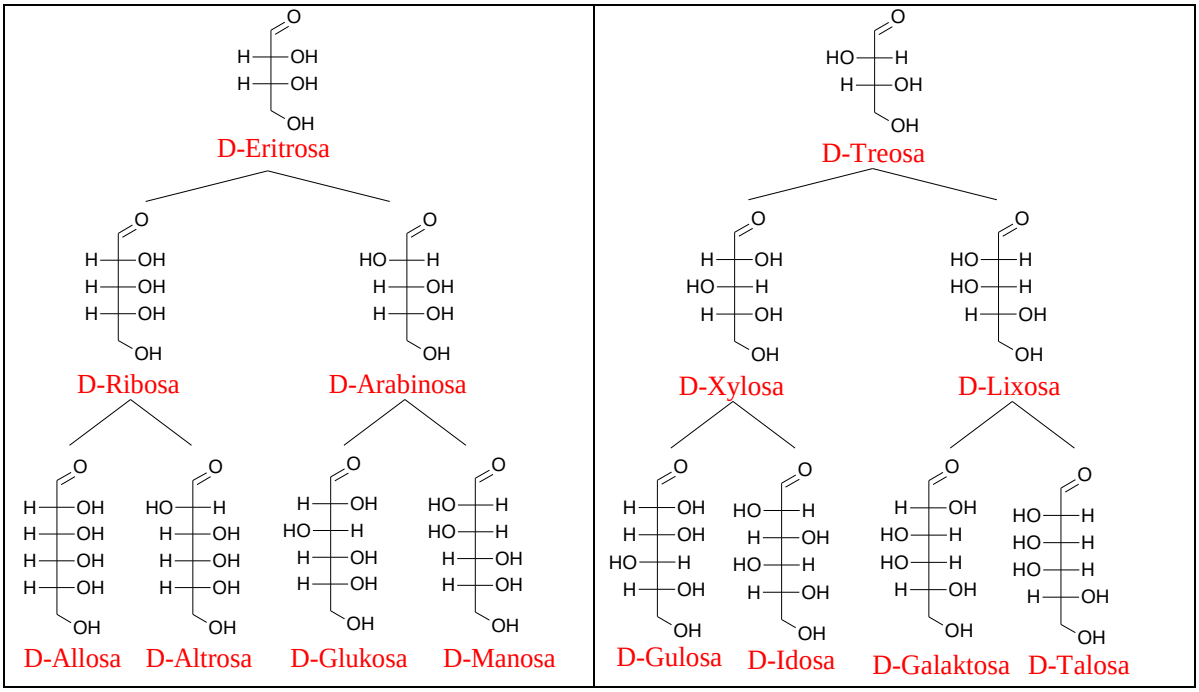
Klasifikasi karbohidrat yaitu:

1) Monosakarida

Monosakarida adalah jenis karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis menjadi gula yang lebih sederhana. Berdasarkan gugus fungsinya, jenis monosakarida ada dua yaitu aldosa yang memiliki gugus fungsi aldehid dan ketosa yang memiliki gugus fungsi keton. Berdasarkan jumlah atom karbonnya, monosakarida terdiri dari triosa, tetrosa, pentosa, dan heksosa.

Tabel 1.1 Klasifikasi Monosakarida Berdasarkan Jumlah Atom C

Jumlah atom C	Aldosa	Ketosa
Triosa ($C_3H_6O_3$)	Gliserosa	Dihidrosiaseton
Tetrosa ($C_4H_8O_4$)	Eritrosa	Eritrulosa
Pentosa ($C_5H_{10}O_5$)	Ribosa	Ribulosa
Heksosa ($C_6H_{12}O_6$)	Glukosa	Fruktosa



Gambar 1.1 Klasifikasi Aldosa

2) Oligosakarida

Oligosakarida adalah hasil kondensasi dari dua sampai sepuluh monosakarida. Oligosakarida dapat berupa disakarida, trisakarida dan tetrasakarida. Disakarida merupakan hasil kondensasi dua unit monosakarida. Contohnya adalah laktosa, maltosa dan sukrosa. Trisakarida merupakan hasil kondensasi tiga unit monosakarida dan tetrasakarida terdiri dari empat unit monosakarida.

3) Polisakarida

Polisakarida merupakan hasil kondensasi dari lebih dari lebih dari dua puluh unit monosakarida. Polisakarida terdiri dari homopolisakarida dan heteropolisakarida. Homopolisarida adalah polisakarida yang terdiri dari unit monosakarida yang sama sedangkan heteropolisakarida terdiri dari unit monosakarida yang berbeda.

Tabel 1.2 Nomenklatur dan Klasifikasi Karbohidrat

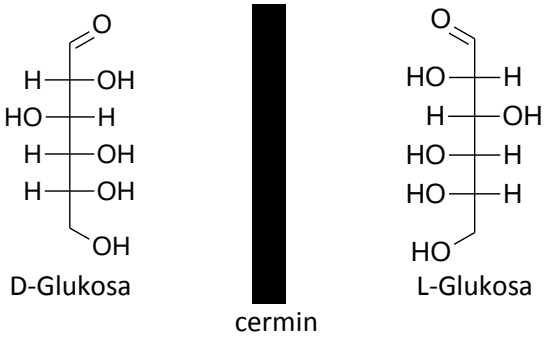
Karbohidrat						
Monosakarida		**Oligosakarida**			**Polisakarida**	
Gugus fungsional	Jumlah atom C	Disakarida	Trisakarida	Tetrasakarida	homopolisakarida	heteropolisakarida
Aldosa (glukosa)	Triosa	Maltosa	Raffinosa	Staciosa	Dekstrin	Asam hialuronik
	Tetrosa	Laktosa			Selulosa	Heparin
Ketosa (fruktosa)	Pentosa	Sukrosa			Glikogen	Kondroitin sulfat
	Heksosa				Inulin	Dermatan sulfat
					Pati	Keratan sulfat

3. Monosakarida

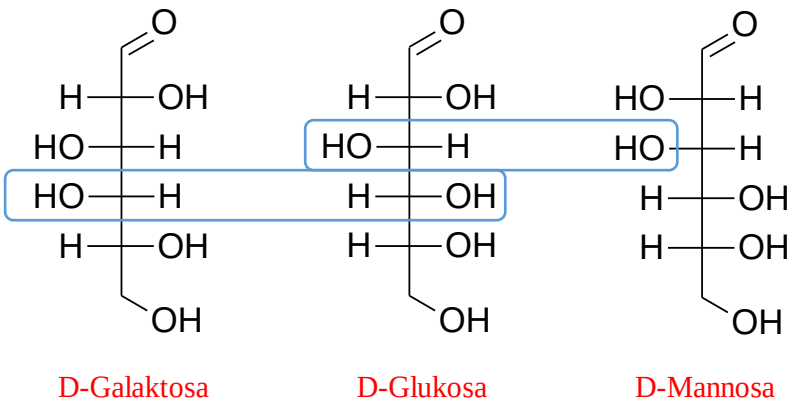
Monosakarida biasanya tidak berwarna, berupa padatan kristal, larut dalam air dan sulit larut dalam larutan nonpolar. Struktur monosakarida terdiri dari gugus aldehid atau keton dengan dua atau lebih gugus hidroksil. Monosakarida yang memiliki gugus fungsional aldehid disebut dengan aldosa sedangkan yang memiliki gugus keton disebut ketosa. Aldosa paling sederhana adalah gliseraldehid yang terdiri dari tiga atom C sedangkan ketosa yang paling sederhana adalah dihidroksiaseton.

Gambar 1.2 Aldosa dan Ketosa

Atom C pada monosakarida biasanya berupa C kiral sehingga monosakarida memiliki stereoisomer. Oleh sebab itu, monosakarida memiliki enantiomer dan epimer. Enantiomer adalah stereoisomer yang merupakan bayangan kaca dari suatu molekul. Berdasarkan sifat stereoisomer, molekul monosakarida dibagi menjadi Dextro dan Levo. Dua jenis gula yang memiliki perbedaan pada satu atom karbon spesifik dinamakan dengan epimer. Contoh epimer adalah D-glukosa dan D-manosa yang memiliki perbedaan pada atom karbon nomor 2.

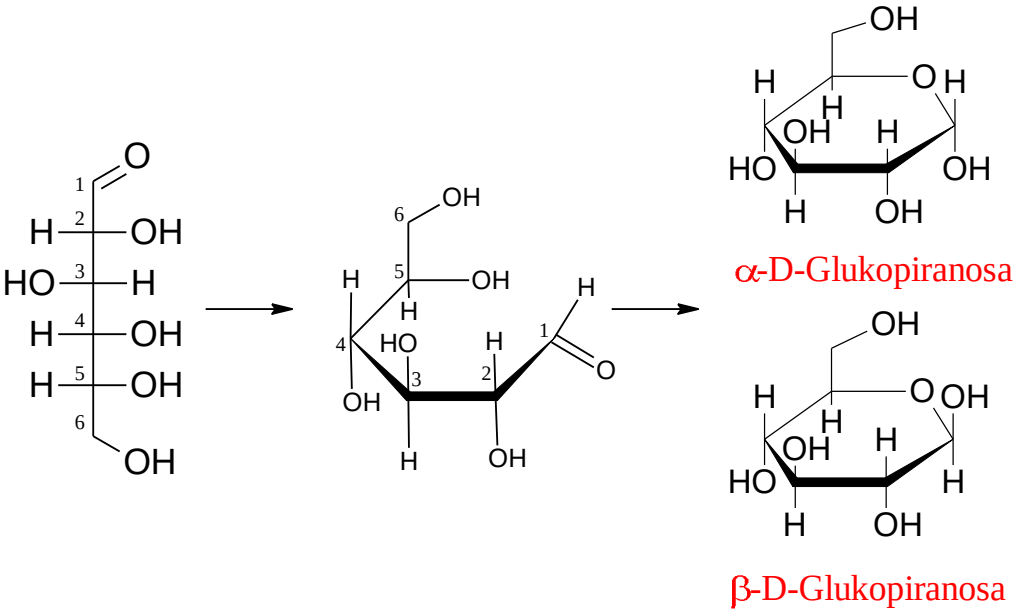


Gambar 1.3 Stereisomer Glukosa

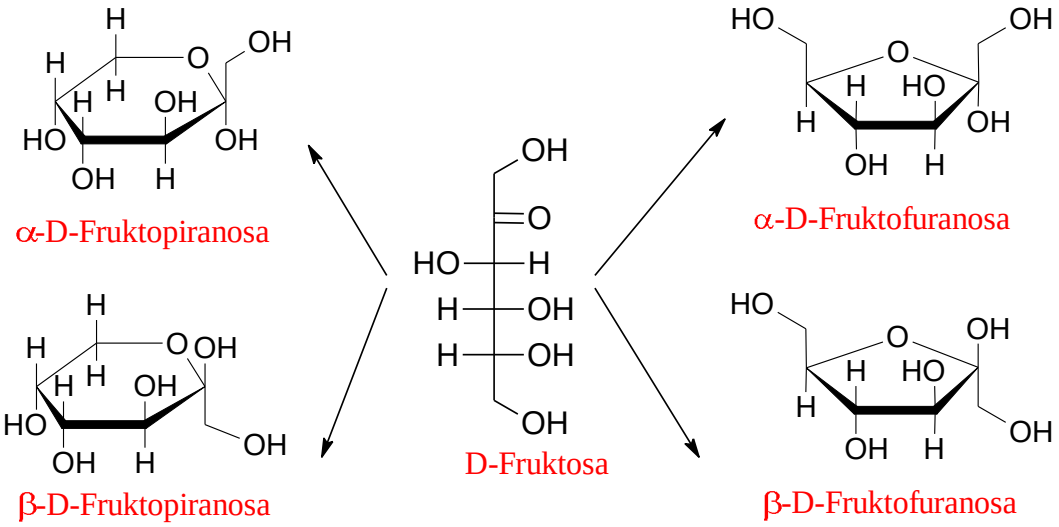


Gambar 1.4 Contoh Epimer Monosakarida

Selain proyeksi Fischer, monosakarida juga dapat digambarkan dengan proyeksi Haworth dalam bentuk piranosa atau furanosa. Aldosa biasanya membentuk struktur molekul piranosa. Piranosa merupakan struktur cincin yang terdiri dari 6 atom yang terbentuk karena ada reaksi gugus fungsi hidroksil alkoholik pada atom C 5 dengan aldehid pada atom C 1. Piranosa merupakan derivat senyawa heterosiklik piran. D-glukosa dapat membentuk D-glukopiranosa dengan dua bentuk isomer yaitu α dan β. Ketoheksosa juga dapat membentuk isomer α dan β serta biasanya membentuk srtuktur furanosa yang merupakan derivat furan. Cincin furanosa merupakan struktur cincin yang terdiri atas 5 atom dimana terbentuk karena ada reaksi antara gugus fungsi hidroksil alkoholik pada atom C 5 dengan gugus karbonil pada atom C 2.



Gambar 1.5 Formula Proyeksi Fischer dan Proyeksi Haworth Untuk D-Glukosa



Gambar 1.6 Cincin Furanosa dan Cincin Piranosa

4. Oligosakarida

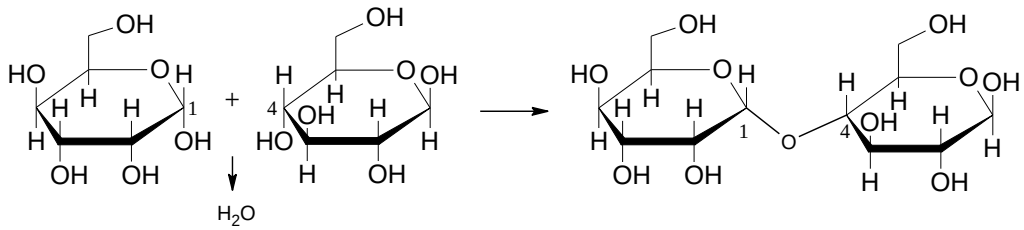
Oligosarida terbentuk karena adanya ikatan glikosidik antara molekul monosakarida pada atom C 1 molekul satu dengan gugus hidroksil (-OH) pada molekul lainnya. Biasanya ikatan glikosidik terbentuk antara C 1 pada satu molekul dengan C 3 pada molekul lainnya (1 → 3). Ikatan glikosidik yang umum adalah 1 → 3, 1 → 4 dan 1 → 6. Akan tetapi, ikatan glikosidik 1 → 1 dan 1 → 2 juga mungkin terjadi. Ikatan dapat terjadi dalam bentuk molekul α dan β.

1) Disakarida

Disakarida terdiri atas dua molekul monosakarida yang terikat dengan ikatan glikosidik. Beberapa contoh senyawa disakarida dapat dilihat pada Tabel di bawah ini.

Tabel 1.3 Beberapa Contoh Disakarida

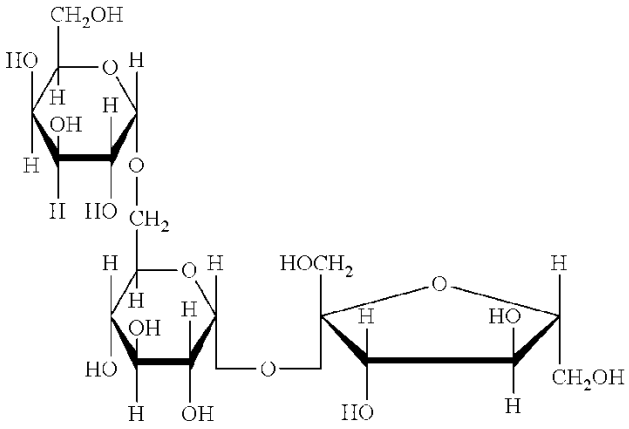
Nama	Monosakarida penyusun	Ikatan glikosidik	Nama umum
maltosa	Glukosa + Glukosa	1 → 4	α-D-glikopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosida
selobiosa	Glukosa + Glukosa	1 → 4	β-D-glikopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosida
gentiobiosa	Glukosa + Glukosa	1 → 6	β-D-glikopiranosil-(1→6)-β-D-glukopiranosida
sukrosa	Glukosa + fruktosa	2 → 1	β-D-fruktofuranosil-(2→1)-α-D-glukopiranosida
laktosa	Glukosa + galaktosa	1 → 4	β-D-galaktopiranosil-(1→4)-β-D-glukopiranosida
trehalosa	Glukosa + Glukosa	1 → 1	α-D-glikopiranosil-(1→1)-α-D-glukopiranosida



Gambar 1.7 Dehidrasi Maltosa

2) Trisakarida

Trisakarida terdiri atas tiga molekul monosakarida dimana antarmolekul terikat dengan ikatan glikosodik. Sejumlah trisakarida dapat ditemukan bebas di alam seperti rafinosa (α-D-galaktopiranosil-(1→6)-α-D-glukopiranosil-(1→2)-β-D-fruktofuranosida) yang sering dinamakan dengan gula beet dan melezitosa (α-D-glukopiranosil-(1→3)-β-D-fruktofuranosil-(2→1)-α-D-glukopiranosida).



Gambar 1.8 Struktur Rafinosa

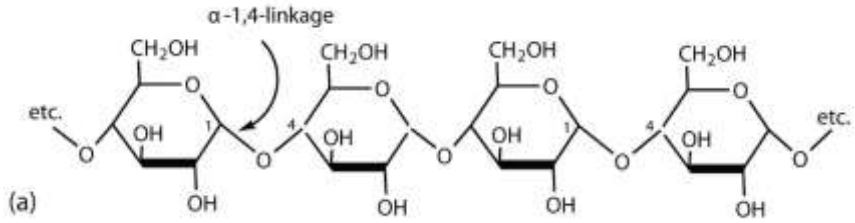
5. Polisakarida

Polisakarida merupakan jenis karbohidrat kompleks yang terdiri atas unit monosakarida yang terikat dengan ikatan glikosidik. Secara nomenklatur, polisakarida dibagi menjadi dua, yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Polisakarida yang berfungsi sebagai bahan makanan cadangan yaitu pati dan glikogen, sedangkan pembentuk struktur molekul yaitu kitin dan selulosa.

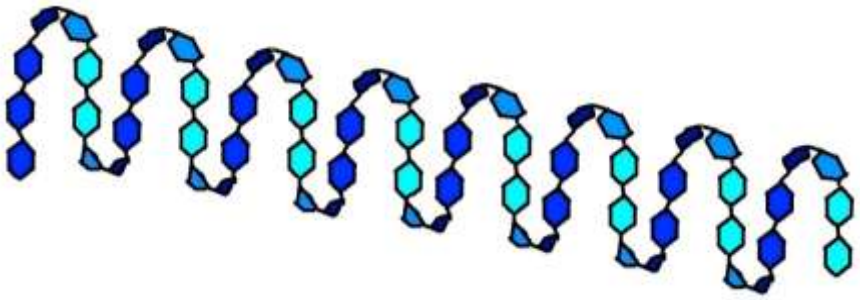
1) Pati

Pati merupakan senyawa cadangan pada tumbuhan yang terdiri atas unit glukosa. Pati terdiri atas dua komponen homopolisakarida yaitu amilosa dan amilopektin. Susunan komponen tersebut dalam tumbuhan yaitu 10 – 30% amilosa dan 70 – 90% amilopektin. Amilosa memiliki struktur rantai lurus yang terbentuk dari ikatan glikosidik 1 → 4 antara molekul α-D-glukosa. Amilosa dapat membentuk struktur heliks dimana rata-rata terdapat 8 molekul glukosa setiap putaran heliks. Amilosa memiliki sifat sukar larut dalam medium air tetapi dapat

membentuk suspensi miselar. Jika dianalisis dengan menggunakan iodin, amilosa akan membentuk kompleks berwarna biru.

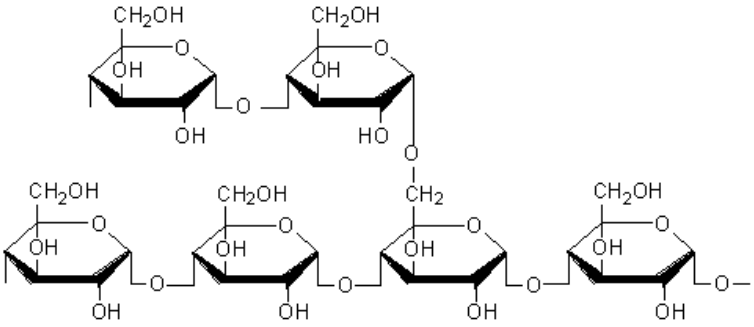


Gambar 1.9 Struktur Amilosa

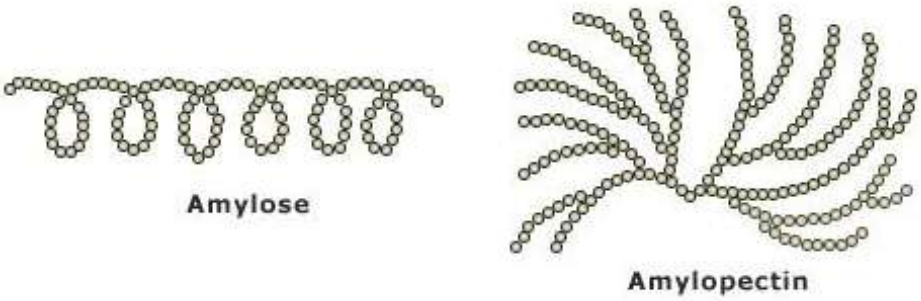


Gambar 1.10 Struktur Heliks Amilosa

Amilopektin merupakan polimer glukosa yang terdiri atas rantai lurus dengan ikatan glikosidik 1→4 dan cabang yang terbentuk dengan ikatan 1→6. Amilopektin akan memeberikan perubahan warna merah-violet jika dianalisis dengan iodin.



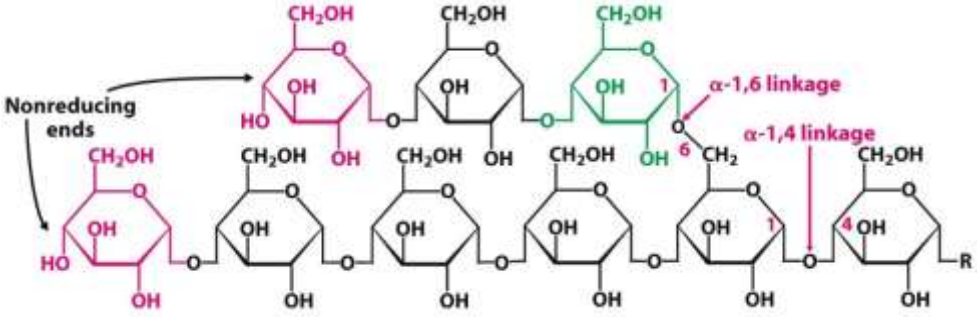
Gambar 1.11 Struktur Amilopektin



Gambar 1.12 Perbedaan Struktur Amilosa dan Amilopektin

2) Glikogen

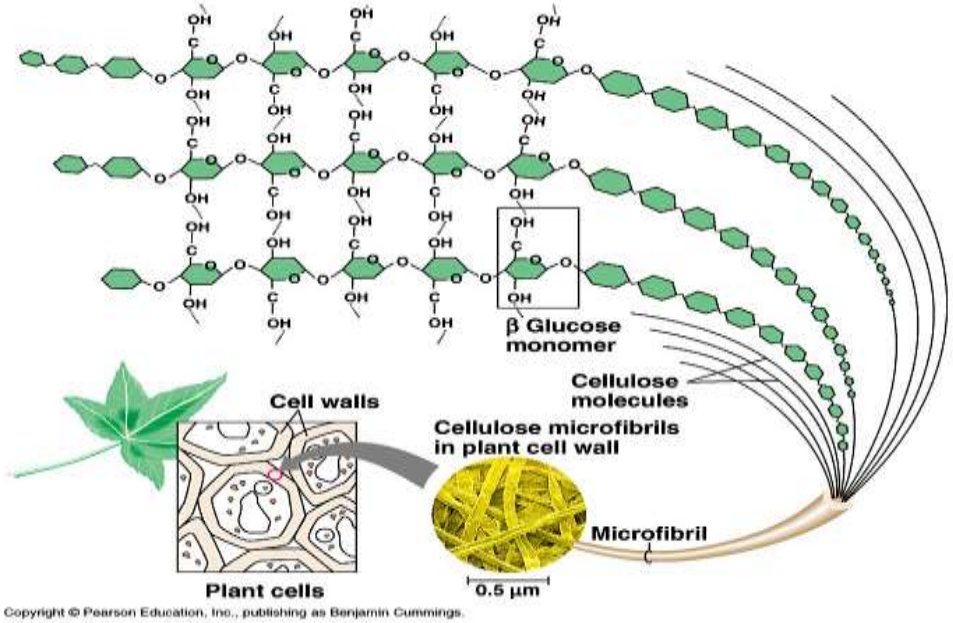
Glikogen merupakan jenis polisakarida yang berfungsi sebagai cadangan makanan pada hewan. Komposisi glikogen dalam liver adalah 10% sedangkan dalam otot 1 – 2%. Struktur glikogen sama dengan amilopektin tetapi memiliki 8 – 12 cincin residu pada cabang yang terikat pada 1→6. Analisis dengan larutan iodin akan memberikan perubahan warna merah-violet.



Gambar 1.13 Struktur Glikogen

3) Selulosa

Selulosa merupakan homopolisakarida yang terdiri atas 100 – 1000 unit β-D-glukosa. Proses polimerisasi melalui proses kondensasi dengan ikatan glikosidik 1→4 antarmolekul glukosa. Pada dinding sel tanaman, fibril selulosa membentuk rantai paralel yang saling bersilangan antarlayer. Fibril tersebut juga membentuk matriks dengan hemiselulosa, pektin dan ekstensin. Rantai paralel selulosa pembentuk mikrofibril memiliki ikatan hidrogen antarrantai.



Gambar 1.14 Selulosa Pembentuk Mikrofibril

Beberapa jenis polisakarida lainnya dapat dilihat pada Tabel 1.4.

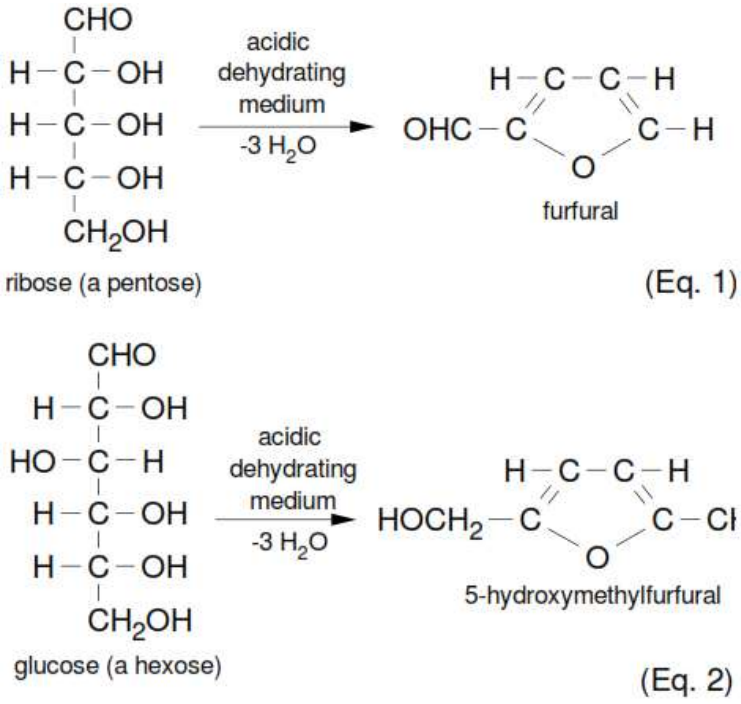
Tabel 1.4 Beberapa Jenis Polisakarida

Jenis Polisakarida		Keterangan
Kitin	Poliglukosa amina	Ditemukan dalam dinding sel fungi dan eksoskeleton insekta
Kalosa	Poli-1-3-glukosa	Ditemukan dalam dinding *phloem tubes*
Dekstran	Poli-1-2, 1-3, dan 1-4 glukosa	Cadangan makanan pada fungi dan bakteri
Inulin	polifruktosa	Cadangan makanan pada tumbuhan
Agar	Poligalaktosa sulfat	Ditemukan pada algae dan digunakan untuk membuat agar plate
Murein	Polimer gula-peptida	Ditemukan pada dinding sel bakteria
Lignin	Polimer kompleks	Ditemukan pada dinding sel xylem,komponen utama kayu

6. Analisis Kualitatif

Berdasarkan reagen tes yang digunakan, analisis kualitatif karbohidrat dibedakan dalam tiga jenis sesuai dengan tipe reaksi yang terjadi yaitu:

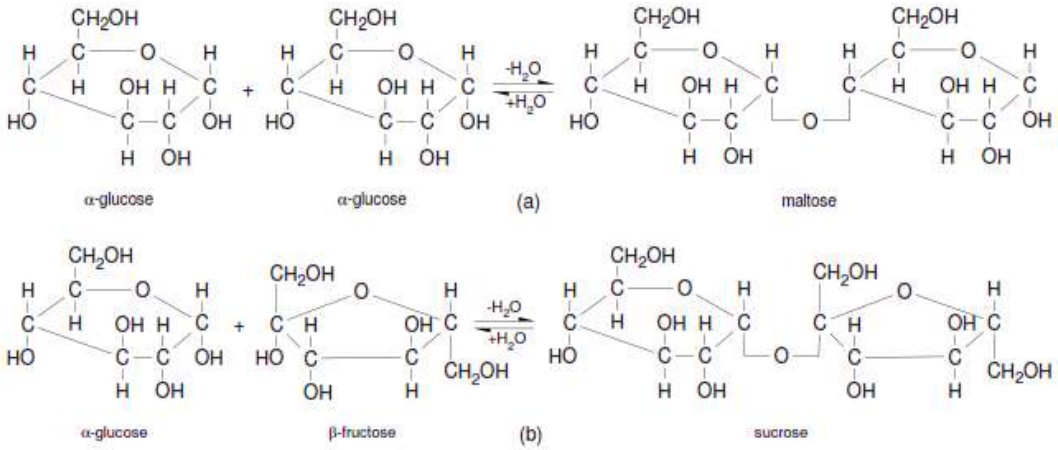
1) Asam dehidrasi. Reagen ini akan menyebabkan karbohidrat mengalami dehidrasi dan membentuk furfural (bentuk pentosa) atau 5-hidroksimetilfurfural (bentuk heksosa).



Gambar 1.15 Pembentukan furfural dan 5-hidroksimetilfurfural

2) Reagen kondensasi. Reagen ini mendeteksi adanya furfuran atau 5-hidroksimetilfurfural melalui proses adisi. Jenis reagen yang masuk dalam kategori ini adalah reagen Molisch, Bial, dan Seliwanoff.

3) Reagen gula pereduksi. Biasanya reagen ini mengandung ion tembaga(II) dan dapat mereduksi karbohidrat dimana ion tembaga(II) akan direduksi menjadi larutan tembaga(I) oksida. Jenis reagen yang sering digunakan sebagai gula pereduksi adalah reagen Benedict dan Barfoed. Gula pereduksi yaitu semua gula yang termasuk dalam golongan aldosa baik dalam bentuk gugus aldehid bebas ataupun dalam bentuk siklik hemiasetal.

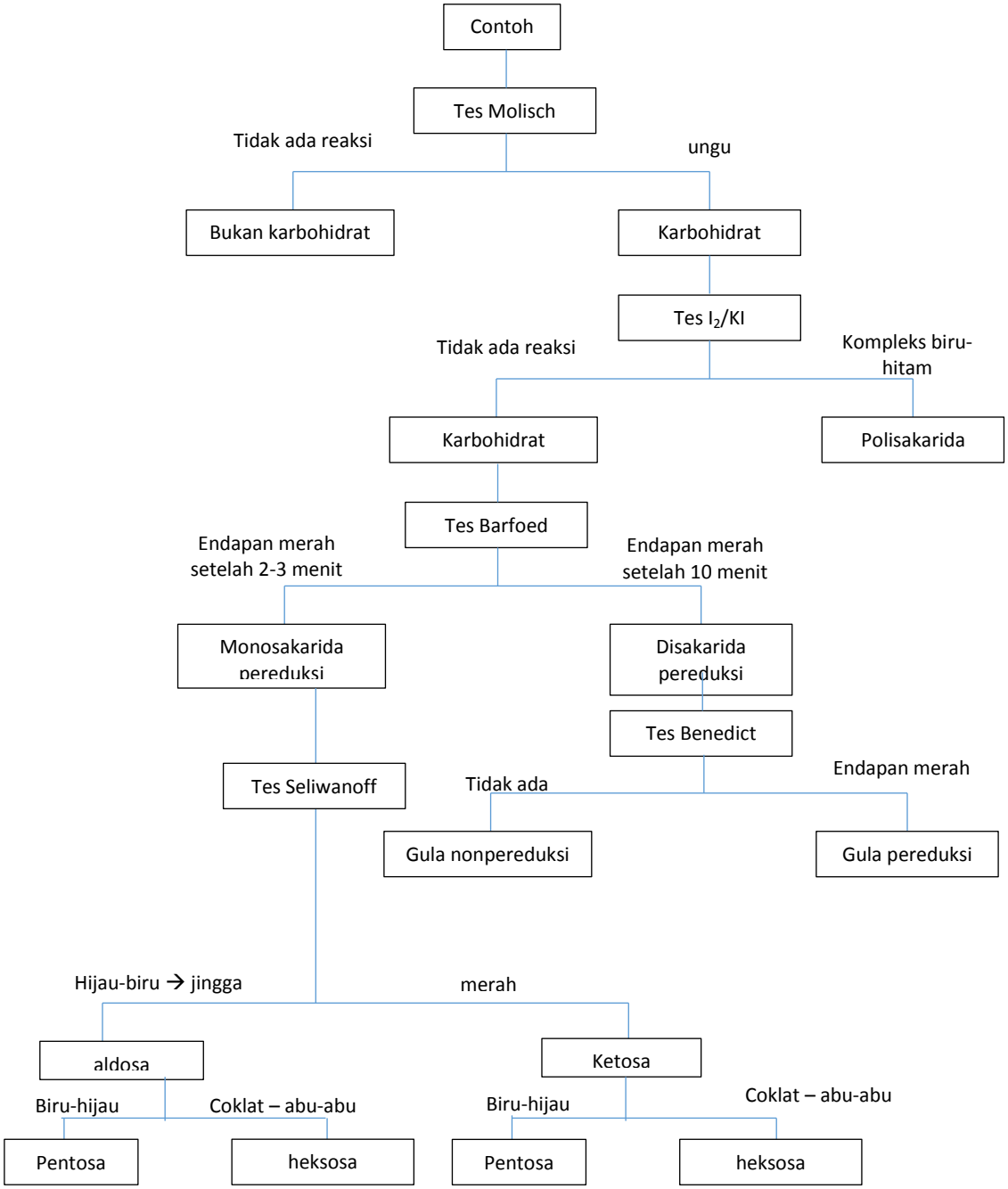


Gambar 1.16 (a) Disakarida Pereduksi; (b) Disakarida Nonpereduks

Tabel 1.5 Daftar Analisis Kualitatif Karbohidrat

No.	Tes	Hasil positif untuk	Keterangan
1	Tes Molish	Semua karbohidrat. Monosakarida menghasilkan warna ungu dengan cepat sedangkan polisakarida bereaksi lebih lambat	Hasil negatif (kiri) dan hasil positif (kanan)
2	Tes I_2/KI	Pati	Hasil negatif (kiri) dan hasil positif (kanan)

3	Tes Barfoed	Gula pereduksi (monosakarida)	Hasil negatif (kiri) dan hasil positif (kanan)
4	Tes Seliwanoff	Ketosa	Hasil negatif (kiri) dan hasil positif (kanan)
5	Tes Benedict	Gula pereduksi	Hasil negatif (kiri) dan hasil positif (kanan)
6	Tes Bial	Pentosa	Hasil negatif (kiri dan tengan) dan hasil positif (kanan)



Gambar 1.17 *Flow Chart* Identifikasi Contoh Karbohidrat

Analisis kualitatif glukosa pada contoh biokimia seperti urin dapat dilakukan dengan menggunakan tes Tromer, tes Fehling atau Tes Nilender.

1) Reaksi Tromer dan Fehling
   Reagen yang digunakan pada tes ini adalah reagen Fehling yang dimodifikasi dengan reagen Tromer dimana garam Segnet akan bereaksi dengan bentuk antara yaitu $Cu(OH)_2$. Dengan bantuan pemanasan, reagen yang berwarna biru akan membentuk larutan kuning dan akan menjadi merah dengan pemanasan lanjut. Jika tidak ada glukosa dalam urin maka warna reagen tidak berubah.

$$CuSO_4 + 2NaOH \longrightarrow \underset{\text{Blue colour}}{Cu(OH)_2} + Na_2SO_4$$

$$2\ Cu(OH)_2 + \text{glucose} \longrightarrow \underset{\text{Yellow colour}}{2CuOH} + H_2O + \text{gluconic acid}$$

$$2CuOH \longrightarrow \underset{\text{Red colour}}{Cu_2O} + H_2O$$

2) Reaksi Nilander
Reaksi ini sangat sensitif dalam mendeteksi glukosa dalam kadar rendah hingga konsentrasi sekitar 0,5 g/l. Reagen Nilander, yang mengandung garam bismut, direksikan dengan contoh yang mengandung glukosa dan dilakukan pemanasan dengan menggunakan penangas air. Setelah beberapa menit, larutan akan semakin gelap dimana glukosa akan mereduksi $Bi(OH)_3$ sampai terbentuk Bismut bebas dan endapan berwarna hitam terbentuk.

3) Reaksi Fischer
Glukosa, laktosa dan karbohidrat yang memiliki gugus aldehid bebas (aldosa) jika direaksikan dengan fenil hidrazin dan dibantu dengan pemanasan akan membentuk ozazone yang berupa kristal dengan bentuk spesifik. Kristal glukozazon berbentuk *whisk* sedangkan kristal laktozazon berbentuk seperti bulu babi. Selain mengamati bentuk kristal ozazon dengan mikroskop, analisis kualitatif monosakarida juga dilakukan dengan menentukan titik leleh kristal ozazon yang terbentuk. Dimana glukozazon dan fruktozazon meleleh pada 210°C, galaktozazon meleleh pada 180°C dan pentozazon meleleh pada 160°C.

7. Analisis Kuantitatif

Penentuan kadar gula dalam beberapa sampel biokimia dapat dianalisis dengan menggunakan instrumen spektrofotometri dan kromatografi. Beberapa contoh penentuan gula dijelaskan seperti di bawah ini.

1) Penentuan Kadar Glukosa Secara *Colourmetric*
Prinsip analisis ini berdasarkan pengukuran hasil reaksi oksidasi glukosa melalui proses enzimatis secara *colourmetric*. Dengan adanya oksigen, glukosa dioksidasi oleh glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonik dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan 4-klorofenol dan 4-aminoantipirin dengan katalis peroksidase (POD) dan membentuk *quinoneimine* yang berwarna merah. Intensitas zat warna yang terbentuk memiliki proporsi yang sama dengan konsentrasi glukosa dan dapat diukur menggunakan spektrofotometer.

$$\text{glukosa} + O_2 \xrightarrow{\text{GOD}} \text{asam glukonik} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-AA} + \text{fenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinoneimine (merah)} + 4H_2O$$

4-AA adalah 4-aminoantipirin
Contoh yang biasanya digunakan adalah serum darah bebas hemolisis dan plasma diambil dari heparin atau inhibitor glikolisis. Kondisi pengukuran dilakukan pada

panjang gelombang 500 nm dengan menggunakan kuvet dengan ketebalan 1 cm dan reaksi dilakukan pada temperatur 37°C. Reagen yang digunakan pada penentuan ini adalah buffer fosfat (pH 7,4), fenol, 4-aminoantipirin (4-AA), glukosa oksidase (GOD) dan Peroksidase (POD). Sedangkan larutan standar yang digunakan adalah larutan glukosa 5,55 mmol/l (100 mg/dl).

	Cuvettes		
	"Blank"	**"Standard"**	"**Sample**"
Reagent (R)	1 ml	1ml	1ml
Standard (ST)		10µl	-
Sample	-	-	10µl

Reaksi antara glukosa dan reagen dilakukan pada temperatur 37°C selama 15 menit agar reaksi enzimatik berjalan sempurna. Kalkulasi kadar glukosa dengan menggunakan standar tunggal dapat ditentukan dengan rumus:

$$\text{glukosa} = \frac{\text{Absorbansi contoh}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

Dimana faktor konversi 1 mg/dl x 0,0555 = 1 mmol/l dan 1 mg/dl x 0,01 = 1 g/l.

Tabel 1.6 Nilai Kadar Glukosa Pada Beberapa Contoh Biokimia

Contoh	Nilai kadar glukosa
Serum darah	4,1 – 6,4 mmol/l
Darah kapiler	3,33 – 5,55 mmol/l
Larutan cerebrospinal	2,78 – 3,89 mmol/l

2) Penentuan Kadar Glukosa dengan Reaksi Fehling secara Titrimetri

Kadar glukosa dalam contoh urin dapat dianalisis dengan menggunakan prinsip reaksi Fehling. Reagen Fehling yang digunakan adalah $CuSO_4$ (Fehling I), garam Segnet yang dicampurkan dengan larutan NaOH (Fehling II). $CuSO_4$ pada reagen Fehling akan mengalami reduksi menjadi Cu_2O, dimana 1 mL reagen fehling setara dengan 0,005 gram glukosa. Prosedur analisis ini yaitu campuran 2,5 mL Fehling I; 2,5 mL Fehling II dan 20 mL air terdistilasi dititrasi menggunakan contoh urin sambil dididihkan di atas pemanas. Warna biru pada larutan akan berubah menjadi hijau dan kemudian menjadi kuning. Ketika warna kuning menghilang, maka titik ekuivalen tercapai. Kadar glukosa dapat ditentukan dengan cara

$$\text{glukosa} = \frac{1000 \text{ ml} \times 5 \text{ ml} \times 0{,}005 \text{ g}}{\text{a ml}}$$

Dimana a adalah volume contoh urin yang digunakan selama proses titrasi dan 5 adalah volume reagen Fehling yang digunakan.