



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN PRIMA INDONESIA

**MODUL PRAKTIKUM FITOKIMIA
PROGRAM STUDI FARMASI
STIKES PRIMA INDONESIA**

2026

IDENTITAS MAHASISWA PESERTA PRAKTIKUM

NAMA : _____
NIM : _____
KELAS : _____
KELOMPOK : _____

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas selesainya penyusunan Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia. Buku petunjuk ini disusun dengan tujuan untuk membantu mahasiswa yang menempuh Praktikum Fitokimia agar dapat lebih memahami dan memiliki keterampilan untuk mendapatkan metabolit sekunder.

Buku petunjuk ini diharapkan dapat mencapai tujuan pendidikan yang diinginkan dan untuk hal ini penyusun mengucapkan terima kasih. Penyusun menyadari bahwa buku ini masing belum sempurna, untuk itu saran dan kritik akan sangat bermanfaat untuk perbaikan pada edisi berikutnya. Semoga buku ini dapat bermanfaat dalam membantu memperdalam pemahaman praktikan tentang bidang ilmu farmasi bahan alam.

Bekasi, 11 Maret 2026

Penyusun

TATA TERTIB LABORATORIUM

A. Bila hendak praktikum, praktikkan diwajibkan:

1. Datang tepat waktu, keterlambatan 15 menit tanpa alasan yang sah dianggap tidak hadir dan tidak diizinkan mengikuti praktikum.
2. Menyiapkan laporan awal, bagan Alat dan Bahan percobaan serta laporan praktikum.
3. Menyimpan tas pada tempat yang telah disediakan.
4. Mengisi daftar kehadiran setiap kali mengikuti praktikum.
5. Membawa alat-alat yang diperlukan selama praktikum berlangsung (handuk kecil, lap, tissue, gunting, lem, korek api, sabun cuci tangan).
6. Meminjam dan memeriksa ulang alat kaca yang diperlukan selama praktikum kepada laboran, jika terdapat ketidaklengkapan dan kerusakan, maka praktikan diberikan waktu minimal satu minggu untuk menukarnya.

B. Selama praktikum berlangsung, praktikkan diwajibkan:

1. Berpakaian sopan, memakai sepatu tertutup dan memakai jas laboratorium.
2. Tidak makan, minum dan merokok di dalam laboratorium.
3. Tidak bercanda dan bertindak yang dapat menimbulkan kecelakaan terhadap orang lain.
4. Tidak mereaksikan sembarang bahan kimia tanpa ada petunjuk praktikum yang jelas dan tanpa seizin dosen dan asisten dosen.
5. Tidak keluar dan masuk laboratorium tanpa seizin dosen.
6. Tidak membuang sampah atau bahan sisa percobaan ke dalam wastafel.
7. Menjaga kebersihan, ketertiban dan keamanan laboratorium secara bersama.

C. Setelah praktikum selesai, praktikkan diwajibkan:

1. Mencuci dan membersihkan semua alat kaca yang digunakan selama praktikum dengan sabun cair yang telah disediakan.
2. Memeriksa kembali kelengkapan dan keutuhan alat yang dipinjam kemudian mengembalikannya kepada laboran.
3. Membersihkan meja praktikum masing-masing tanpa mengandalkan mahasiswa yang piket.

4. Laporkan diri apabila selama praktikum memecahkan alat kaca.
5. Menyerahkan data/laporan sementara setelah praktikum selesai kepada dosen pembimbing.
6. Meninggalkan laboratorium dengan seizin dosen pembimbing.

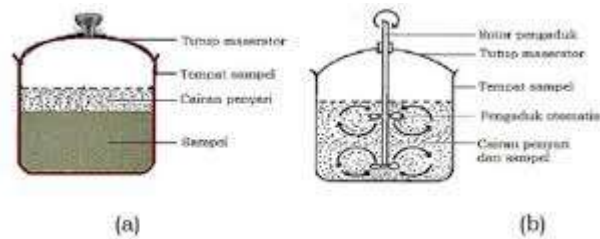
DAFTAR ISI

Identitas Mahasiswa Peserta Praktikum.....	i
Kata Pengantar	ii
Tata Tertib.....	iii
Daftar Isi	vi
Alat yang Digunakan pada Praktikum	1
Zat Kimia yang Digunakan pada Praktikum.....	6
Teori Singkat Ekstraksi.....	8
Teori Singkat Metode Penapisan	11
Teori Singkat Teknik Separasi.....	13
Praktikum 1 Teknik Ekstraksi dengan Maserasi.....	16
Praktikum 2 Teknik Ekstraksi dengan Refluks.....	18
Praktikum 3 Teknik Ekstraksi dengan Sokletasi	20
Praktikum 4 Teknik Isolasi Minyak Atsiri dengan Destilasi	22
Praktikum 5 Teknik Fraksinasi Cair-Cair dengan Corong Pisah.....	24
Praktikum 6 Teknik Fraksinasi dengan Metode Kromatografi Kolom	26
Praktikum 7 Identifikasi Senyawa Fitokimia Polifenol	28
Praktikum 8 Identifikasi Senyawa Fitokimia Tanin	30
Praktikum 9 Identifikasi Senyawa Fitokimia Flavonoid	32
Praktikum 10 Identifikasi Senyawa Fitokimia Alkaloid.....	35
Praktikum 11 Identifikasi Senyawa Fitokimia Glikosida	37
Praktikum 12 Identifikasi Senyawa Fitokimia Saponin.....	39
Praktikum 13 Identifikasi Senyawa Fitokimia Steroid dan Triterpenoid	40
Praktikum 14 Identifikasi Senyawa Fitokimia Antrakuionon.....	43
Daftar Pustaka	46
Lampiran	47

ALAT YANG DIGUNAKAN PADA PRAKTIKUM

1. Bejana Maserasi

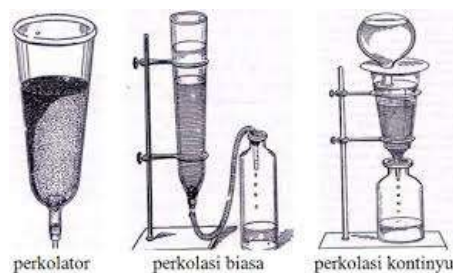
Maserasi adalah proses ekstraksi atau penyarian yang dilakukan dengan cara merendam bahan dalam pelarut tertentu pada suhu kamar atau ruangan. Proses ini memungkinkan zat aktif dalam simplisia terlarut dalam pelarut tanpa pemanasan, sehingga cocok untuk senyawa yang bersifat termolabil.



Gambar 1. Alat Maserasi tanpa Pengaduk (a) dan Alat Maserasi dengan Pengaduk (b)

2. Perkolator

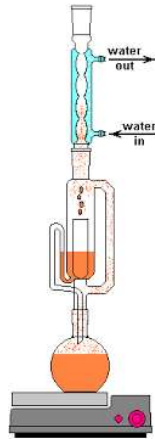
Perkolasi adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut yang mengalir lambat secara terus-menerus melalui bahan/simplisia. Perkolator adalah alat yang digunakan untuk mengekstraksi serbuk simplisia dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk yang telah dibasahi dengan cairan penyari terlebih dahulu.



Gambar 2. Alat Perkolator

3. Soxhlet/Soklet

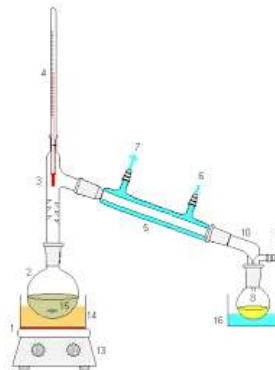
Sokletasi adalah metode pemisahan komponen dari simplisia yang padat dengan cara ekstraksi berulang-ulang. Metode ini menggunakan pelarut organik yang mudah menguap. Dalam metode sokletasi simplisia dimasukkan ke dalam tabung soklet dan pelarut dalam labu ekstraksi. Pelarut organik dapat menarik senyawa organik dalam bahan secara berulang-ulang.



Gambar 3. Alat Soklet

4. Destilator Sederhana

Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan zat kimia berdasarkan volatilitas atau perbedaan titik didihnya. Dalam metode ini memungkinkan untuk bahan larutan yang bercampur dipisahkan berdasarkan perbedaan titik didih.



Gambar 4. Alat Destilasi Sederhana

5. Penguap Putar (*Rotary evaporator*)

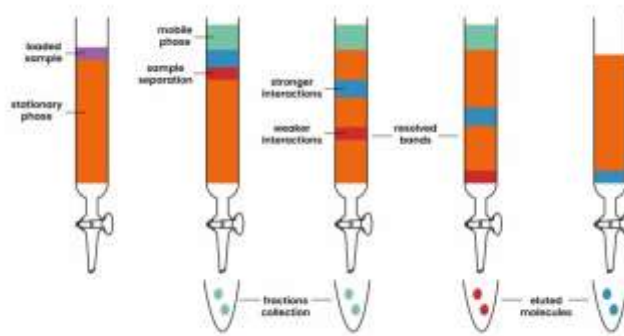
Penguap putar digunakan untuk memisahkan atau menguapkan cairan



Gambar 5. Alat Penguap Putar

penyari dari bahan yang disari sehingga didapatkan sari (ekstrak) pekat. Dengan alat ini proses penguapan cairan penyari terjadi melalui penurunan titik didihnya dengan menurunkan tekanannya. Gambar dapat dilihat dibawah ini. **Kolom Kromatografi**

Alat ini digunakan untuk memisahkan zat aktif dari komponen-komponen lainnya dengan menggunakan prinsip kromatografi yaitu pemisahan campuran komponen berdasarkan pada perbedaan migrasi kompen- komponen tersebut dari fase diam oleh pengaruh fase gerak. Kolom berupa tabung kaca dengan diameter tertentu yang bagian bawahnya memiliki lubang pengalir. Gambar beserta bagian-bagiannya dapat dilihat pada gambar dibawah ini (Markham,1982)



Gambar 6. Alat dan Tahapan Kolom kromatografi

6. Corong Pisah

Alat corong pisah merupakan alat laboratorium berbentuk kerucut yang digunakan untuk memisahkan dua fase pelarut yang tidak bercampur. Alat ini dikenal juga sebagai separatory funnel.



Gambar 7. Alat Corong Pisah

7. Penotol mikro

Alat ini digunakan untuk menotolkan sejumlah tertentu ekstrak pada lempeng KLT. Ukuran ada beberapa macam seperti 1 μ L, 2 μ L, dan 5 μ L.



Gambar 8. Pentotol Mikro (Pipa kapiler dan Mikropipet)

8. Pipet tetes

Pipet tetes yang dipakai biasanya kecil. Pipet tetes berguna untuk memindahkan air / zat-zat kimia dari botol ke atas papan tetes atau ke dalam tabung.

9. Papan Tetes

Papan yang digunakan untuk mencampur ekstrak dengan pereaksi pada skrining fitokimia.



Gambar 9. Papan Tetes

10. Lampu Ultra Lembayung (UV)

Alat ini digunakan untuk melihat kromatogram pada KLT. Noda akan nampak berupa pendar atau mematikan pendar flour apabila dikenai sinar ultra lembayung (UV-light) pada panjang gelombang (λ) 254 atau 360 nm.



Gambar 10. Alat Lampu UV detektor Senyawa Fitokimia

11. Vial

Vial digunakan untuk menampung hasil ekstraksi pada separasi dengan kromatografi kolom.



Gambar 11. Alat Vial

12. Lempeng/Plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lempeng KLT yang digunakan untuk praktikum adalah lempeng KLT aluminium yang berbentuk bujur sangkar, berukuran: 200 X 200 mm. Lempeng KLT terbuat dari silika gel dengan ukuran tertentu dan dilapiskan pada sebuah lempengan aluminium. Lempeng ini digunakan untuk memisahkan zat-zat kimia yang akan diidentifikasi dengan prinsip pemisahan kromatografi.



Gambar 12. Lempeng atau Plat KLT

13. Bejana Kromatografi/Chamber

Bejana kromatografi atau chamber digunakan sebagai tempat mengeluasi lempeng KLT. Bejana KLT terbuat dari kaca pejal yang tidak memiliki sambungan di sudut- sudutnya. Bejana memiliki tutup yang terbuat dari kaca atau logam tahan korosi.



Gambar 13. Bejana Kromatografi atau Chamber

14. Kertas saring

Kertas saring digunakan untuk melihat kejenuhan bejana kromatografi.



Gambar 14. Kertas Saring Whatmann 41 (20-25 μm)

15. Pinset

Pinset digunakan untuk memasukkan dan mengeluarkan lempeng KLT dari bejana kromatografi

16. Tabung reaksi

Tabung reaksi digunakan sebagai tempat mereaksikan ekstrak tumbuhan dengan pereaksi (reagen) pada skrining fitokimia.



Gambar 15. Tabung Reaksi

17. Seperangkat alat gelas

Beaker gelas, erlenmeyer, gelas ukur, labu alas bulat, dsb.



Gambar 16. Alat gelas kaca laboratorium

18. Alat penyemprot Lempeng KLT

Alat ini digunakan untuk menyemprotkan penampak noda pada lempeng KLT.



Gambar 17. KLT *Sprayer* (Penyemprot)

ZAT KIMIA YANG DIGUNAKAN

Beberapa zat kimia yang digunakan dalam praktikum fitokimia, diantaranya:

1. **Metanol, Etanol, Etil Asetat, Kloroform, Air, Heksana, Butanol, Toluena** Pelarut ini digunakan pelarut pengekstraksi, atau dapat juga digunakan sebagai komponen penyusun fase gerak pada KLT.

2. **Asam Klorida (HCl)**

Asam klorida digunakan untuk menetralkan basa, memberikan suasana asam ataupun untuk menghidrolisis. Asam klorida yang digunakan untuk praktikum ini HCl 2 N dan HCl pekat.

3. **Pereaksi Wagner**

Pereaksi Wagner digunakan untuk mengendapkan dan mendeteksi alkaloid. Pereaksi ini dibuat dengan cara melarutkan 1,27 g I₂ dan 2g KI dalam air hingga diperoleh volume 100 mL.

4. **Pereaksi Mayer**

Pereaksi ini dapat mengendapkan alkaloid. Pereaksi Mayer dibuat dengan cara mencampurkan 60 mL HgCl₂ 2,266 % b/v dengan 10 mL larutan KI 50% b/v, kemudian ditambah air hingga volume 100 mL. Dengan pereaksi ini akan terjadi endapan putih.

5. **NH₄OH (Ammoniak)**

Uap amoniak murni digunakan sebagai penampak noda pada identifikasi flavonoid dengan KLT. Sedangkan larutan amoniak encer digunakan untuk memberikan suasana basa pada suatu sampel.

6. **Dragendorf**

Larutan dragendorf dibuat dengan cara mencampurkan 20 mL Bismut nitrat 40% b/v dalam HNO₃ p dengan 50 mL KI 54,4 % b/v. Campuran ini kemudian didiamkan sampai memisah sempurna, selanjutnya diambil cairan yang berwarna jernih dan diencerkan dengan air hingga volume 100 mL. Pereaksi ini digunakan sebagai penampak noda pada identifikasi alkaloid dengan KLT, terjadi bercak coklat /merah coklat.

7. **Asam asetat anhidrat**

Larutan $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ murni pereaksi, mengandung tidak kurang 95,0% $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$.

8. Anisaldehyd sulfat

Larutan segar yang diperoleh dengan mencampurkan 0,5 mL Anisaldehyd dalam 50 mL asam asetat glasial dan 1 mL H_2SO_4 . Larutan ini digunakan untuk mendeteksi adanya terpenoid, steroid, dan minyak atsiri. Pereaksi ini tidak tahan lama, jangan digunakan jika telah berubah warna menjadi merah jingga. Setelah disemprotkan pada lempeng KLT, panaskan di oven pada suhu $100\text{ }^\circ\text{C}$ selama 5 -10 menit.

9. Antimon Klorida

Pereaksi ini digunakan sebagai penampak noda pada identifikasi terpenoid dan steroid yang dibuat dengan cara melarutkan 20 g antimon klorida dalam kloroform atau etanol hingga volume 100 mL. Pengamatan noda dilakukan setelah lempeng disemprot dan dipanaskan 5-6 menit pada suhu $110\text{ }^\circ\text{C}$

10. FeCl_3

Larutan Feri klorida merupakan larutan 10 % FeCl_3 dalam air. Larutan ini digunakan sebagai penampak noda untuk senyawa golongan polifenol, akan terjadi warna ungu tua atau biru tua.

11. KOH

Kalium hidroksida encer (5N) digunakan sebagai pemberi suasana basa sedangkan KOH 10 % digunakan sebagai penampak noda pada identifikasi senyawa golongan antrakininon.

TEORI SINGKAT EKSTRAKSI

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan, dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan .

Proses ekstraksi bahan atau bahan obat alami dapat dilakukan berdasarkan teori tentang penyarian. Penyarian merupakan peristiwa pemindahan masa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut.

Ada tiga macam metoda penyarian yang dapat digunakan, yaitu:

1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirik dan bahan sejenis yang mudah mengembang.

Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan.

Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna.

Maserasi dapat dimodifikasi menjadi beberapa metode yaitu:

- a. Digesti.

Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40-50 °C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.

b. Maserasi dengan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat 6-24 jam.

c. Remaserasi

Cairan penyari dibagi 2. seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendapkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

d. Maserasi melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Cara perkolasi lebih baik dibandingkan cara maserasi karena:

- a. Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.
- b. Ruang antara serbuk-serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

Prinsip perkolasi adalah sebagai berikut:

Serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya

kapiler yang cenderung untuk menahan. Kekuatan yang berperan dalam perkolasi antara lain gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adhesi, daya kapiler, dan daya geseran (friksi).

3. Ekstraksi dengan menggunakan Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

4. Ekstraksi dengan menggunakan gas superkritis

Ekstraksi ini menggunakan gas superkritis seperti CO₂, Metode ini sekarang sering digunakan karena efisiensinya lebih baik dibandingkan berbagai metode lainnya. Kelemahan dari metode ini peralatan yang cukup rumit dan mahal.

TEORI SINGKAT METODE PENAPISAN

Berbagai macam pendekatan dilakukan untuk mendapatkan produk bahan alam (*natural product*), dalam hal ini obat dari bahan alam yang memiliki aktivitas biologis. Tujuan utama dari pencarian ini adalah untuk mendapatkan tanaman yang akan dikaji kandungan kimianya secara lebih mendalam. Pada dasarnya ada 2 metode untuk mendapatkan zat aktif secara biologis dalam suatu tanaman yaitu dengan mencari zat aktif (senyawanya) ataupun dengan mencari efek biologis yang ditimbulkan oleh tumbuhan tersebut.

1. Panapisan Fitokimia (*Phytochemical Screening*)

Penapisan fitokimia dilakukan apabila ekstrak dari tumbuhan yang kita peroleh belum diketahui kandungan kimianya. Penapisan fitokimia ditujukan untuk mengetahui kandungan senyawa / golongan senyawa dalam suatu tanaman atau ekstrak tanaman.

Langkah pertama dalam melakukan penapisan fitokimia adalah pembuatan ekstrak kemudian dilakukan penelitian golongan kandungan dengan cara reaksi warna, reaksi endapan atau dengan kromatografi lapis tipis. Pada proses ekstraksi digunakan pelarut yang dapat melarutkan semua zat yang ada dalam tumbuhan tersebut, yaitu etanol atau metanol 80%.

Pada umumnya golongan senyawa yang akan diperiksa adalah: (1) alkaloid, (2) glikosida saponin, triterpenoid, dan steroid, (3) glikosida jantung (4) flavonoid, (5) tanin dan senyawa polifenol, dan (6) antraknon.

2. Penapisan Farmakologi/Biologi (*Pharmacological/Biological Screening*)

Penapisan ini dilakukan dengan cara menguji aktivitas farmakologi/biologi berbagai macam ekstrak tanaman. Tumbuhan yang akan diuji efek farmakologinya bisa berupa tanaman yang dikumpulkan secara acak (*random screening*) atau kelompok tanaman terpilih misalnya tanaman obat yang biasa digunakan pada daerah atau etnis tertentu.

Metode pengujian yang digunakan biasanya sederhana dengan menggunakan larva udang laut, kultur sel atau organ atau hewan coba tikus, ataupun mencit. Efek farmakologi yang diujikan diantaranya antiinflamasi, analgetik, antikanker, antibakteri, antifungi, antifertilitas, diuretik, antidiabetes dan sebagainya. Hasil dari metode ini dijadikan sebagai alat untuk mengisolasi zat aktif (kumpulan senyawa) yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan.

3. Penapisan Etnofarmakologi

Metode penapisan ini didasarkan pada pengetahuan tradisional masyarakat di suatu daerah atau budaya tertentu. Metode ini melibatkan berbagai macam disiplin ilmu seperti antropologi, ethnobotani, botani, fitokimia, dan farmakologi.

Data-data kumpulan tumbuhan dari studi ini selanjutnya diuji efek farmakologinya dan dilanjutkan dengan isolasi bahan aktif, uji toksisitas, modifikasi struktur dan uji klinik sehingga menjadi farmakoterapi (*pharmacotherapy*). Ataupun dengan formulasi ekstrak yang kemudian diuji toksisitasnya, distandarisasi dan diuji secara klinik sehingga menjadi fitoterapi (*phytotherapy*).

TEORI SINGKAT TEKNIK SEPARASI

Isolat murni dari ekstrak suatu tumbuhan perlu dilakukan pemisahan dan pemurnian, karena ekstrak mengandung berbagai komponen. Pemisahan atau separasi adalah suatu langkah operasional untuk memisahkan komponen yang dituju dari komponen-komponen lainnya. Ada beberapa metode separasi yaitu ekstraksi (*solvent extraction*), destilasi, kristalisasi, dan kromatografi.

1. Ekstraksi (*solvent extraction*)

Pemisahan dengan menggunakan 2 pelarut yang tidak saling campur. Prinsip pada pemisahan ini didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen yang akan diambil terhadap 2 pelarut tersebut (koefisien distribusi). Pemisahan dilakukan dengan menggunakan corong pisah, digojog dan didiamkan. Kekuatan dan lama penggojogan sangat berpengaruh terhadap hasil.

2. Destilasi

Pada pemisahan dengan cara destilasi dilakukan berdasarkan perbedaan titik didih dari komponen-komponen yang akan dipisahkan. Campuran komponen yang akan dipisahkan diletakkan pada sebuah labu destilasi dan dipanaskan hingga menguap, dengan adanya pendingin komponen-komponen tersebut akan mengembun dan terpisah dari campurannya.

3. Kristalisasi

Kristalisasi dilakukan apabila komponen yang kita tuju dapat dikristalkan sedangkan komponen pengotor lainnya tidak mengkristal. Cara ini cukup sederhana dilakukan dengan cara melarutkan campuran komponen pada pelarut yang sesuai kemudian didinginkan hingga terbentuk kristal, kristal kemudian dipisahkan dari campuran tersebut.

4. Kromatografi

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan fisik campuran komponen dalam suatu sampel (ekstrak) berdasarkan pada perbedaan migrasi komponen-komponen tersebut dari fase diam oleh pengaruh fase gerak.

Beberapa macam kromatografi yang sering digunakan di laboratorium fitokimia untuk pemisahan adalah:

1. Kromatografi kolom konvensional

Beberapa langkah atau tahap untuk melakukan kromatografi kolom adalah sebagai berikut:

- a. Fase diam seperti silika gel, kieselguhr, aluminium oksida yang telah diaktifkan dalam keadaan kering atau telah dicampur dengan sejumlah cairan, dimampatkan ke dalam tabung kaca dengan diameter tertentu yang bagian bawahnya memiliki lubang pengalir.
- b. Sejumlah campuran atau ekstrak yang akan dipisahkan (maksimal 1% dari jumlah fase diam) dilarutkan pada sedikit pelarut, dikeringkan dengan fase diam dan diletakkan pada bagian atas kolom. Selanjutnya dialiri dengan pelarut pengembang terpilih (diperoleh dari hasil orientasi menggunakan kromatografi lapis tipis) dengan atau tanpa tekanan udara. Masing-masing komponen dalam campuran akan bergerak turun dengan kecepatan yang khas sehingga terjadi pemisahan dalam kolom. Kecepatan pergerakan dari komponen dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti daya serap fase diam, sifat pelarut pengembang (fase gerak), suhu, sifat zat, dan sebagainya. Jika dikehendaki, pemisahan dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut pengembang yang berbeda-beda (*gradient elution*).
- c. Selama proses pengaliran, kran pengalir dialirkan dengan kecepatan alir tertentu. Pelarut pengembang yang keluar ditampung dalam wadah dengan volume tertentu (1 mL, 5 mL, dsb)
- d. Hasil tampungan kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis. Tampungan yang memiliki harga R_f yang sama dikumpulkan.

2. Kromatografi Kertas

Pada kromatografi kertas fase diam yang digunakan sehelai kertas dengan susunan serabut dan tebal yang cocok. Pemisahan dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut pengembang terpilih. Tahapan pemisahan dengan kromatografi kertas adalah sebagai berikut.

- a. Sehelai kertas yang akan digunakan sebagai fase diam diberi batas tepi dan samping.
- b. Ekstrak yang akan dipisahkan dilarutkan dalam sedikit pelarut dan ditotolkan pada kertas dengan penotol mikro. Penotolan dilakukan sehingga membentuk sebuah gasir (pita) sepanjang kertas. Sebaiknya selama penotolan, hasil totolan dikeringkan dengan *hair dryer* untuk menghindari rusaknya kertas.

Setelah semua ekstrak tertotolkan, kertas kromatografi diletakkan dalam sebuah bak kromatografi (*chamber*) yang telah diisi dengan pelarut pengembang terpilih. Arah eluasi bisa dilakukan menurun apabila pelarut pengembang dibiarkan merambat turun pada kertas kromatografi. Dan bisa juga menaik apabila kertas dicelupkan ke dalam pelarut pengembang dan akan bergerak merambat keatas.

- c. Setelah pelarut pengembang sampai pada batas eluasi, kertas kromatografi diambil dari bak kromatografi dan dikeringkan dengan diangin-anginkan. Noda atau bercak yang ada kemudian dipotong dan diekstraksi dengan pelarut yang sesuai.
- d. Letak noda dapat ditetapkan dengan cara: (1) pengamatan langsung dengan menggunakan lampu UV atau dengan sinar biasa bila noda berwarna, (2) dengan diberi pereaksi yang reversibel sehingga tidak merusak zat yang akan diambil, dan (3) bila zat nampak dengan pereaksi yang *irreversibel*, maka bagian yang disemprot hanya pada bagian tepi kiri dan kanan kertas kromatografi sedang bagian tengah dilindungi dengan aluminium foil.

3. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

KLT preparatif digunakan untuk memisahkan campuran komponen dengan menggunakan fase diam serbuk halus (seperti silika gel, kieselguhr, aluminium oksida aktif), yang dilapiskan dengan ketebalan tertentu secara merata diatas lempeng kaca. Tahapan pemisahan dengan KLT preparatif sama dengan tahapan pada pemisahan dengan kromatografi kertas.

4. HPLC preparatif

Prinsip pemisahan dengan teknik ini sama dengan penggunaan pada HPLC analitik. Yang membedakan hanya pada penggunaan kolom yang lebih besar dan injektor yang lebih banyak.

PRAKTIKUM I TEKNIK EKSTRAKSI DENGAN MASERASI

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengaplikasikan metode ekstraksi secara maserasi dengan tepat.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Gelas ukur
2. Bejana maserasi
3. Pipet ukur
4. Pipet tetes
5. Botol semprot
6. Magnetic stirrer
7. Kertas saring

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Etanol 70%
3. *Simplisia*

C. PROSEDUR PRAKTIKUM:

1. Sebanyak 500 gram serbuk kering *simplisia* dimasukkan ke dalam bejana maserasi (lihat Gambar 1) yang telah dilengkapi dengan pengaduk magnetik (*magnetic stirrer*).
2. Pada serbuk tersebut kemudian ditambahkan etanol atau metanol 70% sebanyak 3,5x bobot serbuk.
3. Serbuk yang telah terbasahi dengan pelarut, dipanaskan selama 2 jam pada suhu 50–60°C dengan pengadukan diatas lempeng berpengaduk.
4. Setelah itu filtrat dipisahkan dari ampas dengan penyaringan.
5. Ampas dimaserasi dengan pelarut dan metode yang sama 2-3 kali.
6. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) atau dipanaskan diatas penangas air (*waterbath*) sehingga diperoleh ekstrak kental yang siap digunakan untuk penapisan fitokimia.
7. Timbang ekstrak kental yang diperoleh dan hitung persentase rendemen yang diperoleh.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik bahan simplisia
2.	Bobot simplisia kering g
3.	Volume pelarut yang digunakan mL
4.	Simplisia + pelarut (organoleptic)
5.	Volume filtrat mL
6.	Replikasi 2 (Simplisia + pelarut)
7.	Volume filtrat mL
8.	Replikasi 2 (Simplisia + pelarut)
9.	Volume filtrat mL
10.	Bobot ekstrak kental (setelah penguapan) g

E. TUGAS!

- Berikanlah analisis mengenai kelebihan dan kekurangan metode maserasi!
- Hitunglah persentase rendemen ekstrak yang diperoleh!

PRAKTIKUM II TEKNIK EKSTRAKSI DENGAN REFLUKS

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengaplikasikan metode ekstraksi secara refluks dengan tepat.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Gelas ukur
2. Labu bulat
3. Kondensor
4. Termometer
5. Erlenmeyer
6. Pemanas/heating mantle
7. Pipet ukur
8. Pipet tetes
9. Botol semprot
10. Kertas saring

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Etanol 70%
3. *Simplisia*

C. PROSEDUR PRAKTIKUM:

1. Alat refluks dirangkai dengan benar dan tepat.
2. Sebanyak 500 gram serbuk kering *simplisia* dimasukkan ke dalam labu alas bulat tempatkan labu diatas pemanas (heating mantle).
3. Pada serbuk tersebut kemudian ditambahkan etanol atau metanol 70% sebanyak 3,5x bobot serbuk.
4. Masukkan batu didih pada labu alas bulat yang telah ditambahkan pelarut.
5. Konektor dipasang diatas labu alas bulat.
6. Kondensor dipasang lurus diatas konektor lalu pasang selang air masuk dan keluar, nyalakan air jika sudah terpasang.
7. Serbuk yang telah terbasahi dengan pelarut, dipanaskan selama 2 jam pada suhu 50–60°C.
8. Setelah itu filtrat dipisahkan dari ampas dengan penyaringan.
9. Ampas dilakukan refluks dengan pelarut dan metode yang sama 2-3 kali.
10. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) atau dipanaskan diatas penangas air (*waterbath*) sehingga diperoleh ekstrak kental yang siap digunakan untuk penapisan fitokimia.
11. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung persentase

rendemennya.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik bahan simplisia
2.	Bobot simplisia kering g
3.	Volume pelarut yang digunakan mL
4.	Simplisia + pelarut (organoleptic)
5.	Volume filtrat mL
6.	Replikasi 2 (Simplisia + pelarut)
7.	Volume filtrat mL
8.	Replikasi 2 (Simplisia + pelarut)
9.	Volume filtrat mL
10.	Bobot ekstrak kental (setelah penguapan) g

E. TUGAS!

- Berikanlah analisis mengenai kelebihan dan kekurangan metode refluks!
- Hitunglah persentase rendemen ekstrak yang diperoleh!

PRAKTIKUM III

TEKNIK EKSTRAKSI DENGAN SOKLETASI

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengaplikasikan metode ekstraksi secara sokletasi dengan tepat.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Gelas ukur
2. Labu bulat
3. Kondensor
4. Termometer
5. Tabung soklet
6. Pemanas/heating mantle
7. Pipet ukur
8. Pipet tetes
9. Botol semprot
10. Kertas saring
11. Benang woll

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Etanol 70%
3. *Simplisia*

C. PROSEDUR PRAKTIKUM:

1. Alat sokletasi dirangkai dengan benar dan tepat.
2. Sebanyak 500 gram serbuk kering *simplisia* dimasukkan ke dalam kertas saring yang dibentuk seperti tabung lalu diikat dengan benang woll.
3. Labu alas bulat diletakkan diatas pemanas (heating mantle).
4. Tabung berisi *simplisia* tempatkan diatas labu alas bulat yang berisi pelarut etanol atau metanol perbandingan 3:1 terhadap jumlah *simplisia*.
5. Masukkan batu didih pada labu alas bulat yang telah ditambahkan pelarut.
6. Pasang selang air masuk dan keluar, nyalakan air jika sudah terpasang.
7. Serbuk yang telah terbasahi dengan pelarut, dipanaskan selama 2 jam pada suhu 50–60°C.
8. Setelah itu filtrat ditampung. Ampas dilakukan sokletasi dengan pelarut dan metode yang sama 2-3 kali.
9. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) atau dipanaskan diatas penangas air (waterbath) sehingga diperoleh ekstrak kental yang siap digunakan untuk penapisan fitokimia.

10. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung persentase rendemennya.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik bahan simplisia
2.	Bobot simplisia kering g
3.	Volume pelarut yang digunakan mL
4.	Simplisia + pelarut (organoleptic)
5.	Volume filtrat mL
6.	Replikasi 2 (Simplisia + pelarut)
7.	Volume filtrat mL
8.	Replikasi 2 (Simplisia + pelarut)
9.	Volume filtrat mL
10.	Bobot ekstrak kental (setelah penguapan) g

E. TUGAS!

- Berikanlah analisis mengenai kelebihan dan kekurangan metode sokletasi!
- Hitunglah persentase rendemen ekstrak yang diperoleh!

PRAKTIKUM IV

TEKNIK ISOLASI MINYAK ATSIRI DENGAN DESTILASI

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengaplikasikan metode isolasi minyak atsiri secara destilasi dengan tepat.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Gelas ukur
2. Labu bulat
3. Kondensor
4. Termometer
5. Tabung soklet
6. Pemanas/heating mantle
7. Pipet ukur
8. Pipet tetes
9. Botol semprot
10. Kertas saring
11. Erlenmeyer
12. Alumunium foil

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Etanol 70%
3. *Simplisia*

C. PROSEDUR PRAKTIKUM:

1. Alat destilasi dirangkai dengan benar dan tepat.
2. Sebanyak 500 gram serbuk kering *simplisia* dimasukkan ke dalam labu alas bulat tempatkan labu diatas pemanas (*heating mantle*).
3. Pada serbuk tersebut kemudian ditambahkan pelarut toluene atau klorobenzena sebanyak 3,5x bobot serbuk.
4. Masukkan batu didih pada labu alas bulat yang telah ditambahkan pelarut.
5. Konektor bengkok dipasang diatas labu alas bulat.
6. Termometer dipasang diatas konektor.
7. Kondensor dipasang ke konektor lalu pasang selang air masuk dan keluar, nyalakan air jika sudah terpasang.
8. Tempatkan Erlenmeyer untuk menampung minyak atsiri diujung kondensor ditutup dengan alumunium foil.
9. Serbuk yang telah terbasahi dengan pelarut, dipanaskan pada suhu 50–60°C.
10. Amati tetesan minyak atsiri yang menetes dibawah suhu didih pelarut.

11. Tampung volume hasil minyak atsiri yang diperoleh dan hitung persentase rendemennya.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik bahan simplisia
2.	Bobot simplisia kering g
3.	Volume pelarut yang digunakan mL
4.	Simplisia + pelarut (organoleptic)
5.	Volume minyak atsiri mL

E. TUGAS!

- Berikanlah analisis mengenai kelebihan dan kekurangan metode sokletasi!
- Hitunglah persentase rendemen minyak atsiri yang diperoleh!

PRAKTIKUM V
TEKNIK FRAKSINASI CAIR-CAIR DENGAN CORONG PISAH

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengaplikasikan metode fraksinasi secara cair-cair dengan menggunakan corong pisah.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Corong pisah
2. Erlenmeyer
3. Pipet ukur
4. Pipet tetes
5. Labu ukur
6. Kertas saring
7. Erlenmeyer tampung
8. Alumunium foil
9. Standing corong pisah

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Etil asetat
3. N-Heksan
4. Ekstrak
5. Etanol

C. PROSEDUR PRAKTIKUM:

1. Alat corong pisah dirangkai dengan benar dan tepat.
2. Ekstrak kental dilarutkan sedikit pada pelarut etanol dan ditempatkan di dalam corong pisah tambahkan aquadest (1:2).
3. Pelarut n-heksan sebanyak 300 mL dimasukkan dalam corong pisah.
4. Corong pisah digoyangkan secara perlahan sambil dibuka sesekali tutupnya untuk mengeluarkan gas.
5. Diamkan sebentar sampai terpisah dan diulangi kembali. Tampung filtrat pada fase nonpolar.
6. Masukkan pelarut etil asetat 300 mL ke dalam corong pisah. Corong pisah digoyangkan secara perlahan sambil dibuka sesekali tutupnya untuk mengeluarkan gas.
7. Diamkan sebentar sampai terpisah dan diulangi kembali. Tampung filtrat pada fase semipolar.

8. Tampung sisa fase terakhir (fase polar).

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak
2.	Bobot ekstrak kental g
3.	Volume diperoleh pada fase nonpolar mL
4.	Volume diperoleh pada fase semipolar mL
5.	Volume diperoleh pada fase polar mL
6.	Bobot fraksi kental yang diperoleh (nonpolar) g
7.	Bobot fraksi kental yang diperoleh (semipolar) g
8.	Bobot fraksi kental yang diperoleh (polar) g

E. TUGAS!

- Berikanlah analisis mengenai kelebihan dan kekurangan pemisahan cair-cair dengan corong pisah!
- Hitunglah persentase rendemen fraksi-fraksi yang diperoleh (nonpolar, semipolar dan polar)!

PRAKTIKUM VI TEKNIK FRAKSINASI DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mengaplikasikan metode fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Kromatografi Kolom
2. Erlenmeyer
3. Pipet ukur
4. Pipet tetes
5. Labu ukur
6. Kertas saring
7. Erlenmeyer tampung
8. Alumunium foil
9. Tabung reaksi
10. Kapas

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Etil asetat
3. N-Heksan
4. Ekstrak
5. Etanol
6. Silika

C. PROSEDUR PRAKTIKUM:

1. Alat kromatografi kolom dirangkai dengan benar dan tepat.
2. Dimasukkan kapas lalu basahi dengan aquadest. Tambahkan bubuk silika diatas kapas.
3. Ekstrak kental dilarutkan sedikit pada pelarut etanol dan tambahkan aquadest (1:2). Esktrak kemudian dimasukkan dalam kolom.
4. Pelarut etil asetat sebanyak 300 mL dimasukkan dalam kolom.
5. Buka kran/katup kolom lalu tampung masing-masing fase.
6. Pelarut n-heksan sebanyak 300 mL dimasukkan dalam kolom.
7. Buka kran/katup kolom lalu tampung masing-masing fase.
8. Tampung sisa fase terakhir masing-masing fase dan filtrat kemudian diuji penapisan fitokimia.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak
2.	Bobot ekstrak kental g
3.	Volume diperoleh pada fase nonpolar	1. mL 2. mL 3. mL 4. mL
4.	Volume diperoleh pada fase semipolar	1. mL 2. mL 3. mL 4. mL
5.	Volume diperoleh pada fase polar mL

E. TUGAS!

- Berikanlah analisis mengenai kelebihan dan kekurangan pemisahan cair-cair dengan kromatografi kolom!
- Hitunglah persentase rendemen fraksi-fraksi yang diperoleh (nonpolar, semipolar dan polar)!

PRAKTIKUM VII

IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA POLIFENOL

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan polifenol yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi (1 set)
2. Rak tabung reaksi
3. Spatula
4. Pipet tetes
5. Penangas
6. Kertas saring
7. Plat klt
8. Chamber
9. Pentotol
10. Penyemprot pendetektor noda klt
11. Pendetektor lampu UV

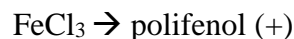
Bahan :

1. *Aquadest*
2. NaCl
3. FeCl₃
4. Ekstrak
5. Kloroform

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Reaksi Warna Uji Ferriklorida

0,3 gram ekstrak ditambah 10 ml akuades panas, diaduk dan dibiarkan sampai temperature kamar, lalu tambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk, dan disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian masing-masing 4 ml dan disebut sebagai larutan IVA, IVB dan IVC. Larutan IVC diberi beberapa tetes larutan FeCl₃, kemudian diamati terjadinya perubahan warna hijau kehitaman menunjukkan positif polifenol. Larutan IV B digunakan sebagai blanko.



D. Kromatografi Lapis Tipis

Sebagian larutan IVA digunakan untuk pemeriksaan dengan KLT.

Fase diam : Lempeng Silika gel F254

Fase gerak : Kloroform – etil asetat (1:9)

Penampak noda : Pereaksi FeCl_3

Amati noda yang muncul. Jika timbul warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam sampel.

E. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Ekstrak + NaCl + FeCl_3	
3.	Ekstrak (blanko)	
4.	Ekstrak analisis KLT	
5.	Nilai Rf	

F. TUGAS

- Tuliskan persamaan reaksi kimia pada identifikasi polifenol dengan FeCl_3 !
- Analisislah warna menunjukkan adanya senyawa polifenol pada uji kualitatif senyawa fitokimia!
- Hitunglah nilai Rf!

PRAKTIKUM VIII IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA TANIN

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan tanin yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi (1 set)
2. Rak tabung reaksi
3. Spatula
4. Pipet tetes
5. Penangas
6. Kertas saring
7. Plat klt
8. Chamber
9. Pentotol
10. Penyemprot pendetektor noda klt
11. Pendetektor lampu UV

Bahan :

1. *Aquadest*
2. NaCl
3. FeCl₃
4. Ekstrak
5. Kloroform

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Reaksi Warna

0,3 gram ekstrak ditambah 10 ml akuades panas, diaduk dan dibiarkan sampai temperature kamar, lalu tambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk, dan disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian masing-masing 4 ml dan disebut sebagai larutan IVA, IVB dan IVC.

a. Uji Ferriklorida

Larutan IVC diberi beberapa tetes larutan FeCl₃, kemudian diamati terjadinya perubahan warna.

FeCl₃ positif, uji gelatin positif → tanin (+)

FeCl₃ positif, uji gelatin negatif → polifenol

(+) FeCl₃ negatif → polifenol (-), tanin (-)

Jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Jika pada penambahan gelatin dan NaCl tidak timbul endapan tetapi setelah ditambahkan

dengan larutan FeCl_3 , terjadi perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam, menunjukkan adanya senyawa polifenol.

b. Uji Gelatin

Larutan IVA digunakan sebagai blanko, larutan IVB ditambah dengan sedikit larutan gelatin dan 5 ml larutan NaCl 10%. Jika terjadi endapan putih menunjukkan adanya tanin.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Sebagian larutan IVA digunakan untuk pemeriksaan dengan KLT.

Fase diam : Lempeng Silika gel F254

Fase gerak : Kloroform – etil asetat (1:9)

Penampak noda : Pereaksi FeCl_3

Jika timbul warna hitam menunjukkan adanya polifenol dalam sampel

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Blanko Ekstrak + NaCl + FeCl_3 + Gelatin + FeCl_3	
3.	Ekstrak analisis KLT	

E. TUGAS

- Tuliskan persamaan reaksi kimia pada identifikasi polifenol dengan FeCl_3 dan gelatin!
- Analisislah warna menunjukkan adanya senyawa tanin pada uji kualitatif senyawa fitokimia!
- Hitunglah nilai R_f !

PRAKTIKUM IX IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA FLAVONOID

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan flavonoid yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi (1 set)
2. Rak tabung reaksi
3. Spatula
4. Pipet tetes
5. Penangas
6. Kertas saring
7. Plat klt
8. Chamber
9. Pentotol
10. Penyemprot pendetektor noda klt
11. Pendetektor lampu UV

Bahan :

1. *Aquadest*
2. N-Heksan
3. HCl pekat
4. Ekstrak
5. Butanol
6. Asam asetat glasial
7. Uap NH₄OH
8. Sitrat borat
9. Pita Mg (Magnesium)

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Reaksi Warna

0,3 gram ekstrak dikocok dengan 3 ml n-heksana berkali-kali sampai ekstrak n-heksana tidak berwarna. Residu dilarutkan dalam etanol dan dibagi menjadi 4 bagian, masing-masing disebut sebagai larutan IIIA, IIIB, IIIC, dan IIID.

a. Uji Bate-Smith dan Metcalf

Larutan IIIA sebagai blanko, larutan IIIB ditambah 0,5 ml HCl pekat dan diamati perubahan warna yang terjadi, kemudian dipanaskan diatas penangas air dan diamati lagi perubahan warna yang terjadi. Bila perlahan-lahan menjadi warna merah terang atau ungu menunjukkan adanya senyawa leukoantosianin (dibandingkan dengan blanko).

b. Uji Wilstater

Larutan IIIA sebagai blanko. Larutan IIIC ditambah 0,5 ml HCl pekat dan 4 potong magnesium (Mg). Diamati warna yang terjadi. Diencerkan dengan aquadest,

kemudian ditambahkan 1 ml butanol. Diamati warna yang terjadi di setiap lapisan. Perubahan warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, merah pucat menunjukkan adanya flavonol, merah tua menunjukkan adanya flavonon.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Larutan IIID ditotolkan pada fase diam, Uji kromatografi lapis tipis ini menggunakan:

- Fase diam : Silika GF 254
 Fase gerak : butanol-asam asetat glacial-air (4 : 1 : 5)
 Penampak noda : - pereaksi sitrat borat atau
 - uap ammonia

Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif. Noda kuning yang ditimbulkan oleh uap ammonia akan hilang secara perlahan ketika ammonianya menguap meninggalkan noda. Sedangkan noda kuning yang ditimbulkan oleh pereaksi sitrat borat sifatnya permanen.

Fase gerak tersebut biasa disebut BAW (*butanol, Acetic acid, Water*). BAW dibuat dengan cara mencampur ketiga komponen tersebut. Dengan perbandingan B : A : W = 4 : 1 : 5, maka akan terjadi 2 lapisan. Lapisan atas diambil dan dipakai sebagai fase gerak untuk mengevaluasi senyawa golongan flavonoid.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Ekstrak blanko + Bate smith (HCl)	
3.	Ekstrak (blanko) + wilstater (HCl + Mg) + Butanol	

4.	Ekstrak analisis KLT	

3. TUGAS

- Tuliskan persamaan reaksi kimia pada identifikasi polifenol dengan Bate smith dan wilstater!
- Analisislah warna menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada uji kualitatif senyawa fitokimia dengan reagen-reagen tersebut diatas!
- Hitunglah nilai Rf!

PRAKTIKUM X IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA ALKALOID

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan Alkaloid yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi (1 set)
2. Rak tabung reaksi
3. Spatula
4. Pipet tetes
5. Penangas
6. Kertas saring
7. Plat klt
8. Chamber
9. Pentotol
10. Penyemprot pendetektor noda klt
11. Pendetektor lampu UV

Bahan :

1. *Aquadest*
2. kloroform
3. HCl 2 N
4. Ekstrak
5. NaCl
6. Etil asetat
7. NH₄OH
8. Metanol
9. Pereaksi Mayer
10. Pereaksi Wagner
11. Pereaksi Dragendorff

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Penyiapan Sampel

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah 5 ml HCl 2 N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah 5 ml HCl 2N dan dibagi menjadi tiga bagian yang disebut sebagai larutan IA, IB, IC dan ID.

2. Reaksi Pengendapan

Larutan IA ditambah pereaksi Mayer,

Larutan IB ditambah dengan pereaksi Wagner

Larutan IC ditambah dengan pereaksi Dragendorff

Larutan ID dipakai sebagai blanko.

“Adanya kekeruhan atau endapan menunjukkan adanya alkaloid”.

3. Kromatografi Lapis Tipis

Larutan ID ditambah NH₄OH 28% sampai larutan menjadi basa, kemudian

diekstraksi dengan 5 ml kloroform bebas air, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol dan siap untuk pemeriksaan dengan KLT.

Fase diam : Plat Silika GF 254

Fase gerak : Etil asetat–metanol–air (9:2:2)

Penampak noda : Pereaksi Dragendorff

Jika timbul warna jingga menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Ekstrak blanko + Mayer	
3.	Ekstrak (blanko) Ekstrak + Wagner	
4.	Ekstrak (blanko) Ekstrak + Dragendorff	
5.	Ekstrak analisis KLT	

E. TUGAS

- Tuliskan persamaan reaksi kimia pada identifikasi polifenol dengan Mayer, Wagner dan Dragendorff!
- Analisislah warna menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada uji kualitatif senyawa fitokimia dengan reagen tersebut diatas!
- Hitunglah nilai Rf!

PRAKTIKUM XI

IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA GLIKOSIDA

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan Glikosida yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi (1 set)
2. Rak tabung reaksi
3. Spatula
4. Pipet tetes
5. Penangas air
6. Kertas saring
7. Plat klt
8. Chamber
9. Pentotol
10. Penyemprot pendetektor noda klt
11. Pendetektor lampu UV

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Asam asetat anhidrat
3. FeCl_3
4. Asam sulfat pekat
5. Kloroform
6. Metanol
7. Anisaldehyd sulfat
8. Ekstrak

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Reaksi Warna

0,3 gram ekstrak dilarutkan dalam 15 ml etanol, lalu dibagi menjadi tiga bagian masing-masing 5 ml, disebut sebagai larutan IIA, IIB, dan IIC

a. Uji Keller-Killiani

Larutan IIA digunakan sebagai blanko, larutan IIB sebanyak 5 ml ditambah 3 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes FeCl_3 , lalu tambahkan 2 mL Asam sulfat pekat. Amati perubahan warna, terbentuknya warna merah kecoklatan mengindikasikan adanya glikosida jantung.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Larutan IIC dianalisis dengan metode KLT dengan proses elusi pada eluen sebagai berikut:

Fase diam : Plat Silika GF 254

Fase gerak : kloroform – metanol – air (9 : 2 : 2)

Penampak noda : Anisaldehyd asam sulfat

Jika timbul warna pada visualisasi dengan lampu 245 nm dan 366 nm maka positif glikosida.

F. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Ekstrak blanko	
3.	Metode Keller-Killiani Ekstrak + asam asetat anhidrat + FeCl ₃ + Asam sulfat pekat	
4.	Ekstrak analisis KLT	

G. TUGAS

- Tuliskan persamaan reaksi kimia pada identifikasi glikosida dengan uji Keller-Killiani!
- Analisislah warna menunjukkan adanya senyawa glikosida pada uji kualitatif senyawa fitokimia dengan reagen tersebut diatas!
- Hitunglah nilai Rf!

PRAKTIKUM XII

IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA SAPONIN

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan Saponin yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi
2. Rak tabung reaksi

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Ekstrak

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Uji Buih

Ekstrak sebanyak 0,3 gram dimasukkan tabung reaksi, kemudian ditambah aquadest hangat 10 mL, tutup dengan menggunakan ibu jari dan dikocok kuat-kuat selama kira-kira 30 detik. Tes buih positif mengandung saponin jika terdapat buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi diatas 3 cm diatas permukaan cairan. Ulangi tahapan percobaan sebanyak 2 kali.

H. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Ekstrak uji buih: Busa dihasilkan setelah 30 menit percobaan 1 Busa dihasilkan setelah 30 menit percobaan 2 cm cm

I. TUGAS

- Tuliskan mekanisme reaksi pada identifikasi saponin dengan uji buih!

PRAKTIKUM XIII

IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA STEROID DAN TERPENOID

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan steroid dan terpenoid yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi (1 set)
2. Rak tabung reaksi
3. Spatula
4. Pipet tetes
5. Penangas air
6. Kertas saring
7. Plat klt
8. Chamber
9. Pentotol
10. Penyemprot pendetektor noda klt
11. Pendetektor lampu UV

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Asam asetat anhidrat
3. N-heksan
4. Asam sulfat pekat
5. Etil Asetat
6. Metanol
7. Anisaldehyd sulfat
8. Ekstrak
9. HCl 2 N
10. Antimony klorida

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Reaksi Warna

0,3 gram ekstrak dilarutkan dalam 15 ml etanol, lalu dibagi menjadi tiga bagian masing-masing 5 ml, disebut sebagai larutan IIA, IIB, dan IIC

a. Uji Liebermann-Burchard

Larutan IIA digunakan sebagai blanko, larutan IIB sebanyak 5 ml ditambah 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat, lalu dikocok perlahan dan diamati terjadinya perubahan warna. Terjadinya warna hijau biru menunjukkan adanya saponin steroid, warna merah ungu menunjukkan adanya triterpen steroid dan warna kuning muda menunjukkan adanya saponin jenuh.

b. Uji Salkowski

Larutan IIA digunakan sebagai blanko, larutan IIC sebanyak 5 ml ditambah 1 – 2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya steroid tak jenuh ditandai dengan timbulnya cincin berwarna merah.

2. Identifikasi sapogenin steroid atau triterpenoid secara KLT

Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambah 5 ml HCl 2 N, didihkan dan tutup dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Setelah dingin, netralkan dengan ammonia, kemudian ekstraksi dengan 3 ml n- heksana sebanyak 3 kali, lalu uapkan sampai tinggal 0,5 ml, totolkan pada plat KLT.

Fase diam : Lempeng Silika Gel F254

Fase gerak : n-heksana-etil asetat (4:1)

Penampak noda : Anisaldehida asam sulfat
Antimon klorida

Adanya sapogenin ditunjukkan dengan terjadinya warna:

- merah ungu (ungu) untuk anisaldehida asam sulfat
- merah muda untuk antimony klorida

3. Identifikasi terpenoid atau steroid bebas secara KLT

Sedikit ekstrak ditambah beberapa tetes etanol, diaduk sampai larut, totolkan pada fase diam. Uji kromatografi lapis tipis ini menggunakan:

Fase diam : Lempeng silika GF 254

Fase gerak : n-heksana–etil asetat (4:1)

Penampak noda : Anisaldehida asam sulfat

Adanya terpenoid atau steroid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu atau ungu

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Ekstrak blanko (IIA)	
3.	Metode Liebermann Burchard Ekstrak + asam asetat anhidrat + Asam sulfat pekat + Kocok	

4.	Metode Salkowski Ekstrak + Asam sulfat pekat	
5.	Identifikasi KLT a. Sapogenin steroid dan terpenoid b. Steroid dan terpenoid bebas	Jumlah noda: Warna noda: Rf noda:..... Jumlah noda: Warna noda: Rf noda:

E. TUGAS

- Tuliskan persamaan reaksi kimia pada identifikasi steroid dan terpenoid dengan uji Liebermann burchard dan salkowski!
- Analisislah warna menunjukkan adanya senyawa glikosida pada uji kualitatif senyawa fitokimia dengan reagen tersebut diatas!
- Hitunglah nilai Rf masing-masing bercak/noda analisis dengan literatur!

PRAKTIKUM XIV

IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA ANTRAKUINON

A. TUJUAN

Mahasiswa mengetahui dan dapat mengaplikasikan cara identifikasi senyawa fitokimia golongan antrakuinon yang benar.

B. ALAT DAN BAHAN

Alat :

1. Tabung reaksi (1 set)
2. Rak tabung reaksi
3. Spatula
4. Pipet tetes
5. Penangas air
6. Kertas saring
7. Plat klt
8. Chamber
9. Pentotol
10. Penyemprot pendetektor noda klt
11. Pendetektor lampu UV
12. Corong pisah

Bahan :

1. *Aquadest*
2. Ekstrak
3. Toluena
4. NH_4OH
5. KOH
6. H_2SO_4
7. Asam asetat glasial

C. PROSEDUR PRAKTIKUM

1. Reaksi Warna

a. Uji Borntrager

Ekstrak sebanyak 0,3 gram diekstraksi dengan 10 ml aquadest, saring, lalu filtrat diekstraksi dengan 3 ml toluena dalam corong pisah. Ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali. Kemudian fase toluena dikumpulkan dan dibagi menjadi dua bagian, disebut sebagai larutan VA dan VB. Larutan VA sebagai blanko. Larutan VB ditambah ammonia dan dikocok. Warna merah menunjukkan adanya senyawa antrakuinon.

b. Uji Modifikasi Borntrager

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 1 ml KOH 5N dan 1 ml H_2SO_4 encer. Dipanaskan dan disaring, filtrat ditambah asam asetat glasial, kemudian diekstraksi dengan toluena. Fase toluena diambil dan dibagi menjadi dua sebagai larutan VIA dan VIB. Larutan VIA sebagai blanko, larutan VIB ditambah ammonia. Warna

merah atau merah muda pada lapisan alkalis menunjukkan adanya antrakinin.

2. Kromatografi Lapis Tipis

Sampel ditotolkan pada fase diam dengan kondisi kromatografi lapis tipis sebagai berikut:

Fase diam : Lempeng silika GF 254

Fase gerak : Toluene-etil asetat-asam asetat (75:24:1)

Penampak noda : Larutan 10% KOH dalam metanol.

Timbulnya noda berwarna kuning, kuning coklat, merah ungu atau hijau ungu menunjukkan adanya senyawa antrakinin.

D. DATA PENGAMATAN

No.	Perlakuan	Pengamatan
1.	Organoleptik ekstrak	
2.	Ekstrak + Aquadest - Fraksi dengan toluene (corong pisah) - Blanko Uji Borntreger	
3.	Metode Borntreger - Analit + NH ₄ OH - Kocok	
4.	Metode Modifikasi Borntreger - Analit + KOH - H ₂ SO ₄ encer - Panaskan - Saring → fitrat + asam asetat glasial - + toluene - Analit dibagi dua (blanko dan uji) - Analit + NH ₄ OH - Kocok	
5.	Identifikasi KLT	Jumlah noda: Warna noda: Rf noda:.....

E. TUGAS

- Tuliskan persamaan reaksi kimia pada identifikasi antrakuinon dengan uji borntrager dan modifikasinya!
- Analisislah warna menunjukkan adanya senyawa antrakuinon pada uji kualitatif senyawa fitokimia dengan reagen tersebut diatas!
- Hitunglah nilai Rf bercak/noda analisis dengan literatur!

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, A., 2011. Tanaman Obat Indonesia. Salemba Medika: Jakarta.

Hanani, E. 2014. Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.

Harborne, J.B., 1987. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Terbitan II, ITB Bandung.

LAMPIRAN 1
LEMBAR KERJA PRAKTIKUM

Mata Praktikum :

Nama :
NIM :
Golongan :
Tanggal :

A. Alat dan Bahan:

B. Prosedur Praktikum

C. Data Pengamatan

Perlakuan	Pengamatan

D. Analisis dan Pembahasan

E. Kesimpulan

F. Daftar Pustaka

Praktikan,

()

Dosen,

(Meiliza Ekayanti, S.Si., M.Si.)

LAMPIRAN 2 RUBRIK NILAI PRAKTIKUM

Judul Praktikum :

Nama	:	
NIM	:	
Kelompok	:	
Tanggal	:	

A. SIKAP

NO	ASPEK	INDIKATOR	NILAI			
			1	2	3	4
1	Sikap	Tata tertib				
		Kerja sama				
		Kepemimpinan				
		Kejujuran				
TOTAL SKOR						
JUMLAH						

B. KETRAMPILAN

NO	ASPEK	INDIKATOR	NILAI			
			1	2	3	4
1	Persiapan	Kesiapan alat dan bahan				
		Kesesuaian alat dan bahan				
2	Proses	Kesesuaian Prosedur				
3	Hasil	Kerapian				
		Ketelitian				
		Hasil yang diperoleh				
TOTAL SKOR						
JUMLAH						

C. PENGUASAAN KONSEP

NO	ASPEK	INDIKATOR	NILAI			
			1	2	3	4
1	Pengetahuan	Menjelaskan Prosedur				
		Menjelaskan teori dasar				
		Menjelaskan permasalahan				
		Laporan / Dokumentasi				
TOTAL SKOR						
JUMLAH						

$$\text{Perhitungan NILAI} = \frac{\text{Total jumlah SKOR}}{4}$$

Keterangan :

- 1 = Tidak dilakukan
- 2 = Tidak tepat
- 3 = Kurang tepat
- 4 = Tepat

D. NILAI PRE-TEST/ POST-TEST :

E. NILAI LAPORAN :

Praktikan,

Dosen,

()

(Meiliza Ekayanti, S.Si., M.Si.)