

# Petunjuk ISBA

*by Lia Kusmita*

---

**Submission date:** 25-Jul-2023 08:23PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 2136609980

**File name:** petunjuk\_praktikum\_ISBA.pdf (775.81K)

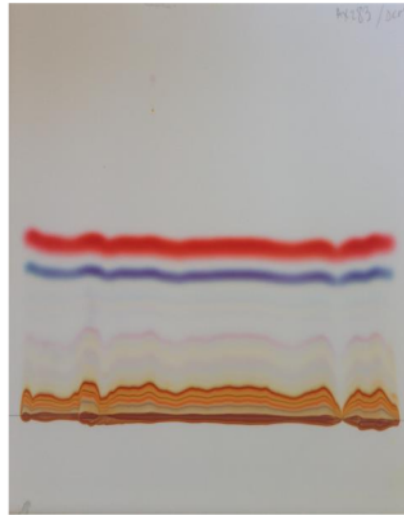
**Word count:** 7887

**Character count:** 47386

**Genap 2021/2022**

**PETUNJUK PRAKTIKUM**

**ISOLASI DAN STANDARDISASI  
BAHAN ALAM**



**Disusun Oleh:  
Dr. Lia Kusmita, M.Si.**

**SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI  
YAYASAN PHARMASI SEMARANG  
2022**

**S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang  
PRAKATA**

Puji dan syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan YME karena hanya atas rahmat dan berkatNya sajalah sehingga petunjuk Praktikum Isolasi dan Standardisasi Bahan Alam ini dapat terselesaikan dengan baik.

Telah tersusunya Petunjuk Praktikum Isolasi dan Standardisasi Bahan Alam ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. apt. Sri Haryanti, M.Si. selaku ketua Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang
2. Seluruh staf yang ada di STIFAR
3. Semua pihak yang telah membantu penulis baik langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa petunjuk praktikum ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan kemampuan yang ada pada penulis. Akhirnya penulis berharap semoga Petunjuk Praktikum Isolasi dan Standardisasi Bahan Alam ini dapat bermanfaat bagi semua pihak secara umum dan mahasiswa S1 Farmasi pada khususnya dalam mengikuti mata kuliah Praktikum Isolasi dan Standardisasi Bahan Alam.

Semarang, 10 Februari 2022

Penulis

**TATA TERTIB PRAKTIKUM (REGULER)**

1. Mahasiswa harus datang tepat pada waktunya.
2. Keterlambatan 15 menit tidak diperbolehkan mengikuti praktikum.
3. Sebelum praktikum dimulai, mahasiswa harus sudah mempelajari petunjuk praktikum dan pustaka penunjang lainnya untuk materi praktikum yang bersangkutan dan membuat persiapan pada buku kerja.
4. Setiap mahasiswa diwajibkan membawa alat tulis dan alat praktikum yang dimiliki dalam paket alat laboratorium.
5. Selama praktikum dan pengamatan mahasiswa harus memakai jas praktikum dan tidak diperkenankan memakai sandal
6. Selama praktikum berlangsung tidak diperkenankan meninggalkan ruangan praktikum tanpa ijin dari dosen/assisten.
7. Mahasiswa yang berhalangan hadir harus memberikan surat pemberitahuan yang sudah diserahkan sebelum praktikum dimulai.
8. Tidak hadir tanpa pemberitahuan dianggap gugur, kehadiran wajib untuk kuliah praktikum adalah 100%.
9. Mahasiswa harus berhati-hati dalam bekerja, kerusakan alat harus diganti dalam bentuk benda yang sama.
10. Semua alat/meja harus kembali bersih setelah praktikum selesai.
11. Pada saat praktikum mahasiswa wajib membuat laporan sementara dan laporan resmi dikumpulkan satu minggu setelah praktikum.
12. Laporan resmi harus ditulis tangan sesuai format yang telah ditentukan.
13. Hasil praktikum didasarkan pada:
  - Nilai harian :
    - Aktivitas selama praktikum (10%)
    - Nilai laporan (Log Book) (10%)
  - Nilai Ujian Tengah semester (40%)
  - Nilai Ujian Akhir semester (40%)
14. Dasar penilaian yang diberikan:

A	> 76	C	56 - 60
AB	71 - 75	CD	51 - 55
B	66 - 70	D	41 - 50
BC	61 - 65	E	< 41

**S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang**  
**TATA TERTIB PRAKTIKUM**

1. Mahasiswa harus datang tepat pada waktunya.
2. Keterlambatan 15 menit tidak diperbolehkan praktikum.
3. Sebelum praktikum dimulai, mahasiswa harus sudah mempelajari petunjuk praktikum dan pustaka penunjang lainnya untuk materi praktikum yang bersangkutan.
4. Selama praktikum berlangsung tidak diperkenankan meninggalkan laboratorium tanpa ijin dari dosen/assisten.
5. Mahasiswa yang berhalangan hadir harus memberikan surat pemberitahuan yang sudah diserahkan sebelum praktikum dimulai.
6. Tidak hadir tanpa pemberitahuan dianggap gugur, kehadiran wajib untuk kuliah praktikum adalah 100%.
7. Praktikum dilakukan dengan luring dengan kapasitas 50%
8. Selama praktikum mahasiswa harus memakai jas praktikum
9. Pada saat praktikum mahasiswa wajib membuat laporan satu kelompok 1 yang dikumpulkan
10. Wajib mematuhi prokes
11. Laporan harus dikerjakan sesuai dengan format yang telah ditentukan.
12. Hasil praktikum didasarkan pada:
  - Nilai harian (20%):
    - Latihan ujian
    - Nilai laporan
  - Nilai Ujian Tengah semester (40%)
  - Nilai Ujian Akhir semester (40%)
13. Dasar penilaian yang diberikan:

A > 76	C 56 - 60
AB 71 - 75	CD 51 - 55
B 66 - 70	D 41 - 50
BC 61 - 65	E < 41

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL

PRAKATA

TATA TERTIB PRAKTIKUM

DAFTAR ISI

BAB 1 SORTASI, PENGERINGAN, DAN EKSTRAKSI

BAB 2 SKRINING FITOKIMIA

BAB 3 KLT

BAB 3 STANDARDISASI BAHAN Spesifik Densitometri

BAB 4 STANDARDISASI BAHAN non spesifik

BAB 5 KOLOM

BAB 6 KLT + Uji Kemurnian (Densito)

BAB 7 ISOLASI PIPERINA DARI PIPER NIGRIS/ALBI

BAB 8 ISOLASI DAN IDENTIFIKASI EUGENOL

BAB 9 ISOLASI KAFEIN DARI DAUN TEH

BAB 10 ISOLASI dan IDENTIFIKASI FLAVONOID

BAB 11 ISOLASI dan IDENTIFIKASI PIGMEN

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

### Jadwal Praktikum

Pertemuan	Hari	Tanggal	Kelompok	Materi
1	Senin	21/2	K dan L	PENGARAHAN
	Kamis	24/2	I dan J	
	Jumat	25/2	G dan H	
2	Senin	28/2(tanggal merah)	K dan L	
	Kamis	3/3(tanggal merah)	I dan J	
	Jumat	4/3	G dan H	
3	Senin	7/3	K dan L	SORTASI, PENDINGINAN, EKSTRAKSI, SKRINING FITOKIMIA DAN KLT
	Kamis	10/3	I dan J	
	Jumat	11/3	G dan H	
4	Senin	14/3	K dan L	SORTASI, PENDINGINAN, EKSTRAKSI, SKRINING FITOKIMIA DAN KLT
	Kamis	17/3	I dan J	
	Jumat	18/3	G dan H	
5	Senin	21/3	K dan L	STANDARDISASI BAHAN & KOLOM
	Kamis	24/3	I dan J	
	Jumat	25/3	G dan H	
6	Senin	28/3	K dan L	STANDARDISASI BAHAN & KOLOM
	Kamis	31/3	I dan J	
	Jumat	1/4	G dan H	
7	Senin	4/4	K dan L	LATIHAN UJIAN
	Kamis	7/4	I dan J	
	Jumat	8/4	G dan H	
<b>UTS</b>				
8	Senin	25/4	K dan L	KLTP + UJI KEMURNIAN (DENSITO)
	Kamis	28/4	I dan J	
	Jumat	29/4	G dan H	
9	Senin	9/5	K dan L	KLTP + UJI KEMURNIAN (DENSITO)
	Kamis	12/5	I dan J	
	Jumat	13/5	G dan H	
10	Senin	23/5	K dan L	ISOLASI DAN IDENTIFIKASI PIPERIN, EUGENOL, DAN KAFEIN
	Kamis	19/5	I dan J	
	Jumat	20/5	G dan H	
11	Senin	30/5	K dan L	ISOLASI DAN IDENTIFIKASI PIPERIN, EUGENOL, DAN KAFEIN
	Kamis	2/6	I dan J	
	Jumat	27/5	G dan H	
12	Senin	6/6	K dan L	ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOID &PIGMEN
	Kamis	9/6	I dan J	
	Jumat	3/6	G dan H	
13	Senin	13/6	K dan L	ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOID &PIGMEN
	Kamis	16/6	I dan J	
	Jumat	10/6	G dan H	
<b>UAS</b>				

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

Dosen penanggung jawab materi praktikum

No	Nama Dosen	Materi Praktikum
1	Lia Kusmita M.Si.	1. Koordinator Praktikum 2. Isolasi dan identifikasi pigmen
2	Dr. apt. Endang Dwi Wulansari, M.Si.	1. KLT 2. KLTP + uji kemurnian (densito)
3	apt. M. Ryan Radix Raharhian, M.Sc.	1. Isolasi dan identifikasi flavonoid 2. Isolasi kafein dari daun teh
4	apt. Wulandari, M.Sc.	1. Kolom 2. Isolasi piperina dari piper nigris/albi
5	apt. Christina Astutiningsih, M.Si.	1. Standardisasi bahan 2. Isolasi dan identifikasi eugenol
6	apt. Yuvianti Dwi F., M.Sc.	1. Sortasi, pengeringan, dan ekstraksi 2. Skrining fitokimia

# S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

## KALENDER AKADEMIK SEMESTER GENAP TA 2021/2022 PROGRAM STUDI S1 FARMASI STIFAR YAYASAN PHARMASI SEMARANG

Minggu Ke	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI	XXII	XXIII	XXIV	XXV	XXVI					
<b>Senin</b>	31 Jan	7 Jan	14 Feb	21 Feb	7 Mar	14 Mar	21 Mar	28 Mar	4 Apr	11 Apr	18 Apr	25 Apr	2 Mei	9 Mei	16 Mei	23 Mei	30 Mei	6 Jun	13 Jun	20 Jun	27 Jun	4 Jul	11 Jul	18 Jul	25 Jul	1 Ags	8 Ags	15 Ags	22 Ags	29 Ags	5 Sep
<b>Selasa</b>	1 Jan	8 Jan	15 Feb	22 Feb	1 Mar	8 Mar	15 Mar	22 Mar	29 Mar	5 Apr	12 Apr	19 Apr	26 Apr	3 Mei	10 Mei	17 Mei	24 Mei	31 Mei	7 Jun	14 Jun	21 Jun	28 Jun	5 Jul	12 Jul	19 Jul	26 Jul	2 Ags	9 Ags	16 Ags	23 Ags	30 Ags
<b>Rabu</b>	2 Jan	9 Jan	16 Feb	23 Feb	2 Mar	9 Mar	16 Mar	23 Mar	30 Mar	6 Apr	13 Apr	20 Apr	27 Apr	4 Mei	11 Mei	18 Mei	25 Mei	1 Jun	8 Jun	15 Jun	22 Jun	29 Jun	6 Jul	13 Jul	20 Jul	27 Jul	3 Ags	10 Ags	17 Ags	24 Ags	31 Ags
<b>Kamis</b>	3 Jan	10 Jan	17 Feb	24 Feb	3 Mar	10 Mar	17 Mar	24 Mar	31 Mar	7 Apr	14 Apr	21 Apr	28 Apr	5 Mei	12 Mei	19 Mei	26 Mei	2 Jun	9 Jun	16 Jun	23 Jun	30 Jun	7 Jul	14 Jul	21 Jul	28 Jul	4 Ags	11 Ags	18 Ags	25 Ags	1 Sep
<b>Jumat</b>	4 Jan	11 Jan	18 Feb	25 Feb	4 Mar	11 Mar	18 Mar	25 Mar	1 Apr	8 Apr	15 Apr	22 Apr	29 Apr	6 Mei	13 Mei	20 Mei	27 Mei	3 Jun	10 Jun	17 Jun	24 Jun	1 Jul	8 Jul	15 Jul	22 Jul	29 Jul	5 Ags	12 Ags	19 Ags	26 Ags	2 Sep
<b>Sabtu</b>	5 Jan	12 Jan	19 Feb	26 Feb	5 Mar	12 Mar	19 Mar	26 Mar	2 Apr	9 Apr	16 Apr	23 Apr	30 Apr	7 Mei	14 Mei	21 Mei	28 Mei	4 Jun	11 Jun	18 Jun	25 Jun	2 Jul	9 Jul	16 Jul	23 Jul	30 Jul	6 Ags	13 Ags	20 Ags	27 Ags	3 Sep
<b>Minggu</b>	6 Jan	13 Jan	20 Feb	27 Feb	6 Mar	13 Mar	20 Mar	27 Mar	3 Apr	10 Apr	17 Apr	24 Apr	1 Mei	8 Mei	15 Mei	22 Mei	29 Mei	5 Jun	12 Jun	19 Jun	26 Jun	3 Jul	10 Jul	17 Jul	24 Jul	31 Jul	7 Ags	14 Ags	21 Ags	28 Ags	4 Sep


**KETERANGAN :**

- Rapat Awal Semester
- Pengisian KRS SIA online mahasiswa S1 semester VI, VIII & atas
- Pengisian KRS SIA online mahasiswa S1 semester II dan IV
- Batas Akhir PENGISIAN KRS SIA online oleh mahasiswa
- Batas Akhir PENGISIAN KRS SIA online oleh dosen wali
- AWAL PERKULIAHAN Semester Genap TA 2021/2022
- Batas Akhir PERBAIKAN KRS
- Wisuda Mandiri
- Ujian Tengah Semester Genap TA 2021/2022
- Ujian Akhir Semester Genap TA 2021/2022
- Batas akhir PENGISIAN MELAJI di SIA
- Rapat Yudisium Bersama
- Pembagian KHS
- Rapat Yudisium Skripsi I
- Rapat Yudisium Skripsi II

**LIBUR RESMI PEMERINTAH & CUTI BERSAMA :**

- 1 Februari 2022 Tahun Baru Imlek
- 28 Februari 2022 Isra' Mi'raj Nabi Muhammad SAW
- 3 Maret 2022 Hari Raya Nyepi
- 16 April 2022 Wafat Isa Almasih
- 30 April 2022 Cuti Bersama Idul Fitri 1443 H
- 1 Mei 2022 Hari Buruh Internasional
- 2-3 Mei 2022 Hari Raya Idul Fitri 1443 H
- 4 Mei 2022 Cuti Bersama Idul Fitri 1443 H
- 16 Mei 2022 Hari Raya Waisak 2566
- 26 Mei 2022 Kenaikan Isa Almasih
- 1 Juni 2022 Hari Lahir Pancasila
- 9 Juli 2022 Hari Raya Idul Adha 1443 H
- 30 Juli 2022 Tahun Baru Hijrah 1444 H
- 17 Agustus 2022 Hari Kemerdekaan RI

Mengetahui,  
Dekan Prodi S1 Farmasi



**Rizki Eko Purwanto, M.Sc.**  
NID. YF 040813014

# BAB I

## SORTASI, PENGERINGAN, DAN EKSTRAKSI

### TUJUAN

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa dapat melakukan sortasi dan pengeringan, serta dapat melakukan ekstraksi bahan tanaman obat secara maserasi, perkolasi, refluks, soxhlet, dan digesti.

### DASAR TEORI

Sortasi adalah pemilahan bahan, dilakukan terhadap bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang rusak. Penyortiran segar dilakukan setelah selesai panen dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing, bahan yang tua dengan yang muda atau bahan yang ukurannya lebih besar atau lebih kecil. Bahan nabati yang baik memiliki kandungan campuran bahan organik asing tidak lebih dari 2%. Proses penyortiran pertama bertujuan untuk memisahkan bahan yang busuk atau bahan yang muda dan yang tua serta untuk mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan.

Pengeringan terhadap bahan tambahan obat dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain dengan cara diangin-anginkan, dibawah sinar matahari atau dengan cara dioven. Cara yang digunakan disesuaikan dengan bahan yang akan dikeringkan.

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Ada 2 metode penyarian, yaitu cara dingin dan cara panas. Metode penyarian cara dingin meliputi maserasi, dan perkolasi. Sedangkan untuk metode cara panas meliputi, infus, digesti, refluks, dan soxhlet

Maserasi merupakan cara penyarian dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi.

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

abu alas bulat setelah melewati pipa sifon. Sedangkan refluks merupakan metode ekstraksi secara berkesinambungan, prinsip dasarnya adalah cairan penyari secara kontinyu akan menyari zat aktif dalam simplisia.

### ALAT

- Oven
- Timbangan
- Blander
- Batang pengaduk
- Perkolator
- Soxhlet
- Toples Maserasi
- Beaker glass
- Hot plate

### BAHAN

- Simplisia
- Etanol 96 %

### PROSEDUR KERJA

1. Timbang simplisia basah
2. Lakukan sortasi simplisia dengan cara pisahkan dari bahan-bahan yang tidak berguna
3. Timbang simplisia yang sudah disortasi
4. Hitung jumlah pengotor
5. Keringkan dengan oven, diangin-anginkan atau dengan sinar matahari, untuk bahan yang berupa rimpang diiris-iris terlebih dahulu
6. Sortasi dengan cara memisahkan dari bahan-bahan pengotor
7. Timbang simplisia yang sudah disortasi
8. Hitung jumlah pengotor
9. Serbuk yang telah di peroleh kemudian dilakukan ekstraksi.
  - a. Kelompok I menggunakan **Sample X** metode **Soxletasi**
  - b. Kelompok II menggunakan **Sample X** metode **Maserasi**
  - c. Kelompok III menggunakan **Sample X** metode **Refluks**
  - d. Kelompok IV menggunakan **Sample X** metode **Perkolasi**
  - e. Kelompok V menggunakan **Sample X** metode **Infundasi**
  - f. Kelompok VI menggunakan **Sample X** metode **Digesti**

/

**GAMBAR ALAT**

**HASIL PENGAMATAN**

**PEMBAHASAN**

**KESIMPULAN**

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

## **BAB 2**

# **SKRINING FITOKIMIA**

### **TUJUAN**

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa dapat melakukan skrining fitokimia untuk senyawa bahan alam.

### **ASAS TEORI**

Farmakognosi atau pengetahuan tentang obat alam sering digunakan sebagai alat untuk menemukan obat baru dari bahan alam. Umumnya senyawa bahan alam mempunyai beberapa aktivitas biologi dan senyawa tersebut mempunyai struktur kimia yang berperan penting pada aktivitas biologinya. Selain itu, beberapa obat yang berkembang sekarang ini banyak dikembangkan dari senyawa utama dari bahan alam.

Penemuan berbagai senyawa obat baru dari bahan alam semakin memperjelas peran penting metabolit sekunder tanaman sebagai sumber bahan baku obat. Metabolit sekunder adalah senyawa hasil biogenesis dari metabolit primer. Umumnya dihasilkan oleh organisme hidup, yang bukan merupakan senyawa penentu kelangsungan hidup secara langsung, tetapi lebih sebagai hasil mekanisme pertahanan diri organisme. Aktivitas biologi ditentukan pula oleh struktur kimia dari senyawanya. Unit struktur atau gugus molekul mempengaruhi aktivitas biologi karena berkaitan dengan mekanisme kerja senyawa terhadap reseptor di dalam tubuh.

### **ALAT:**

- Mortir
- Stamper
- Kertas saring
- Corong pisah
- Drupple plate

### **BAHAN:**

- Pereaksi Dragendorf
- Pereaksi Mayer
- $\text{CHCl}_3$
- Lempeng Mg
- Pereaksi Stiasny
- NaOH 1 N
- Eter
- HCl pekat

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

- Amyl alkohol

- Lar.  $\text{FeCl}_3$

### PROSEDUR KERJA

#### I. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 2 gr serbuk dilembabkan dengan 5 ml ammonia 30%, gerus dalam motir, kemudian tambahkan 20 ml  $\text{CHCl}_3$  dan gerus kembali dengan kuat, campuran tersebut disaring, filtrat larutan organik diambil sebagai larutan A, kemudian sebagian larutan ekstraksi dengan 10 ml larutan HCl 1:10 (Larutan B). Larutan A diteteskan pada kertas saring semprot dengan pereaksi Dragendorff. Terbentuknya warna merah atau jingga pada kertas saring menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Selanjutnya dalam 2 tabung reaksi larutan B ditambahkan masing-masing 5 ml pereaksi Mayer dan pereaksi Dragendorff dan endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya alkaloid.

#### II. Identifikasi Flavonoid

Sejumlah 100 mg serbuk dan 10 ml air panas didihkan selama 5 menit. Setelah disaring, filtrat digunakan sebagai larutan percobaan. Kedalam 5 ml larutan percobaan serbuk atau Mg dan 1 ml HCl pekat. Selanjutnya ditambahkan amyl alkohol, kocok dengan kuat dan biarkan hingga memisah. Terbentuknya warna dalam senyawa amyl alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

#### III. Identifikasi Saponin

Sebanyak 100 mg serbuk ditambah 10 ml air panas didihkan selama 5 menit, saring, filtrat masukkan ke dalam tabung reaksi, kocok vertikal selama 10 detik. Kemudian dibiarkan selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung menunjukkan adanya senyawa golongan saponin. Tambahkan 1 tetes HCl 1%, busa stabil.

#### IV. Identifikasi Tanin

Sebanyak 100 mg serbuk dan 10 ml air, didihkan selama 14 menit, setelah dingin, saring dan filtrat dibagi tiga. Ke dalam filtrat yang pertama ditambahkan larutan besi (III) klorida 1%. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa golongan Fenol.

Ke dalam filtrat yang kedua ditambahkan larutan garam Gelatin. Terbentuk endapan putih menunjukkan adanya senyawa tannin

Ke dalam filtrat yang ketiga ditambahkan 15 ml pereaksi Stiasny (Formaldehid 30%:HCl = 2:1), dipanaskan dalam penangas air. Terbentuknya endapan warna merah muda menunjukkan adanya tannin

### S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

katekuat. Selanjutnya endapan disaring, filtrat dijenuhkan dengan natrium asetat, ditambahkan beberapa tetes besi (III) klorida 1%. Terbentuknya warna biru tinta menunjukkan adanya tannin galat.

1

#### V. Identifikasi Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 0,5 gr serbuk dimaserasi dengan 10 eter selama 2 jam, saring dan ambil filtratnya. Dari filtrat tersebut diambil sebanyak 5 ml, uapkan dalam cawan penguap hingga diperoleh residu. Selanjutnya ke dalam residu tersebut ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat kemudian 1 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah atau hijau menunjukkan adanya senyawa golongan steroid/triterpenoid.

#### HASIL PENGAMATAN

Senyawa	Reagen		Kesimpulan (Positif/negatif)
	Sebelum	Sesudah	
Alkaloid a. Larutan A			
b. Larutan B			
Flavonoid			
Saponin			

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

Tanin a. Filtrat 1			
b. Filtrat 2			
c. Filtrat 2			
Steroid/ Terpenoid			

PEMBAHASAN

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
--------	-----------

# BAB 3

# STANDARDISASI BAHAN

## TUJUAN

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa dapat melakukan uji parameter ekstrak.

## DASAR TEORI

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstrak senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan. Sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstrak bahan baku secara perkolasi. Seluruh perkolat biasanya dipekatkan secara destilasi dengan pengurangan tekanan, agar bahan sesedikit mungkin terkena panas.

(Farmakope Indonesia Edisi IV).

### Parameter non spesifik

1. Susut pengeringan dan Bobot jenis
2. Kadar air
3. Kadar abu dan kadar abu tak larut asam
4. Sisa pelarut
5. Residu pestisida
6. Cemaran logam berat
7. Cemaran mikroba

### Parameter spesifik

1. Identitas
2. Organoleptik
3. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (Larut air dan larut etanol)

### Uji Kandungan Kimia Ekstrak

1. Pola Kromatogram (TLC Scanner, Kromatografi Gas, HPLC)
2. Kadar total golongan kandungan kimia (Minyak Atsiri, Steroid, Tanin, Flavonoid, Triterpenoid (Saponin), Alkaloid, antrakuinon)

## ALAT

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

- Oven
- Alat - alat gelas
- Krus
- Neraca
- TLC
- TLC Scanner

### BAHAN

- Ekstrak
- Pelarut

### PROSEDUR KERJA

**(Wajib baca Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat)**

Ekstrak yang diperoleh dari percobaan 1 dilakukan uji parameter ekstrak yang meliputi:

1. Organoleptis (Bentuk, Warna, Bau, Rasa)

Amati bentuk, bau, rasa, dan warna dari ekstrak yang diperoleh

2. Susut pengeringan

- Krus dipanaskan pada suhu  $105^{\circ}C$ , selama 30 menit dan ditara sampai dengan bobot konstan
- Ditimbang ekstrak kental secara seksama 1 gram
- Ekstrak diratakan dengan menggoyangkan krus sampai didapatkan lapisan 5-10 mm, Jika ekstrak berupa ekstrak kental maka ratakan dengan batang pengaduk
- Dimasukan dalam ruang pengering, buka tutupnya dipanaskan pada suhu  $105^{\circ}C$  hingga bobot tetap
- Setiap pengeringan, krus dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam desikator pada suhu kamar
- Jika ekstrak sulit kering dan mencair pada pemanasan tambahkan 1 gram silika pengering yang telah dikeringkan pada suhu kamar
- Dicampur silika tersebut secara rata dengan ekstrak pada saat panas
- Dikeringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap
- Persyaratan : Setiap 2 kali penimbangan selisihnya tidak lebih dari 0,2 gram ( krus ) dan 0,25 % (ekstrak)

3. Kadar abu

- 1 gram ekstrak ditimbang seksama dalam krus yang telah konstan, ratakan
- Dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis dalam alat mavel pada suhu  $600^{\circ}C$ , didinginkan dan ditimbang
- Dihitung kadar abu

4. Kadar abu yang tidak larut dalam asam
  - Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu ditambahkan dengan  $H_2SO_4$  encer sebanyak 25 ml
  - Bagian yang tidak larut dalam asam disaring dengan kertas whatman, dicuci dan dipijarkan sampai dengan bobot tetap
  - Ditimbang dan dihitung kadar abu yang tidak larut dalam asam

**GAMBAR ALAT**

**HASIL PENGAMATAN**

**PEMBAHASAN**

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
--------	-----------

# BAB 4

## KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

### TUJUAN

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa dapat memahami dan mengetahui dasar pemisahan senyawa bahan alam dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kertas (KKt)

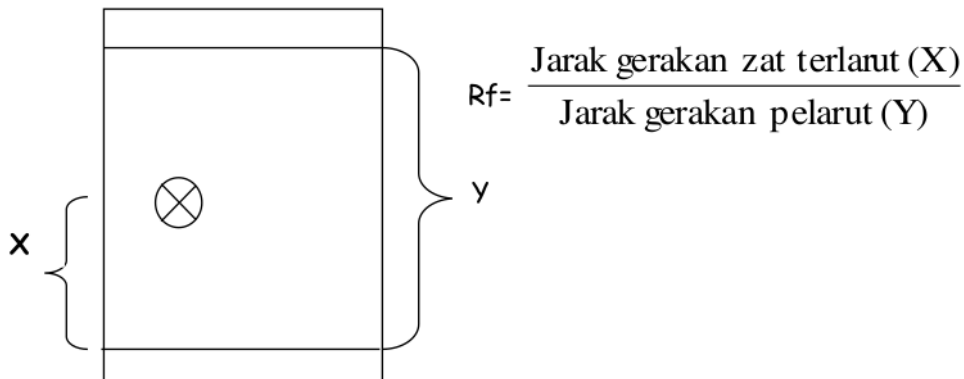
### DASAR TEORI

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah suatu cara pemisahan yang berdasar pada pembagian campuran dua senyawa dalam dua fasa dimana fasa gerak bergerak terhadap fasa diam. Fasa diam berupa suatu bidang datar. KLT merupakan cara pemisahan yang berdasar pada pembagian campuran senyawa dalam dua fase dimana fase gerak bergerak terhadap fase diam. Identifikasi kandungan senyawa menggunakan KLT menggunakan penampak bercak<sup>1</sup>

Kromatografi kertas (KKt) merupakan teknik kromatografi yang paling sederhana, dimana prosesnya dikenal sebagai analisa kapiler. Sekarang ini kromatografi kertas dipandang sebagai perkembangan dari sistem partisi. Pada kromatografi kertas sistem partisi sebagai fasa pendukung dipakai kertas saring biasa atau kertas Whatman. Jadi faktor yang bekerja pada kromatografi kertas adalah pembagian/partisi antara fasa stasioner yang terdiri dari kompleks air-selulosa dan fasa mobil (cairan penghantar). Kromatografi kertas dapat dibagi berdasarkan dimensi dan jalannya elusi. Berdasarkan dimensinya dibagi 2, yaitu: satu dimensi dan dua dimensi. Sedangkan berdasarkan jalannya elusi dibagi menjadi 3, yaitu:

- cara menaik (*Ascending Method*)
- cara menurun (*Descending Method*)
- cara mendatar (Sirkuler)

Pada KLT dan KKt derajat retensi dinyatakan sebagai faktor penghambatan ("*Retardation factor*" = Rf)



- Jarak gerakan pelarut diukur sampai bidang batas pelarut
- Jarak gerakan zat terlarut diukur sampai tengah-tengah bercak atau titik kerapatan maksimum

#### ALAT

- Chamber
- Plat KLT
- Pipa Kapiler
- Botol penampak bercak
- Batang pengaduk
- Pipet ukur
- Pinset
- Lampu UV

#### BAHAN

- Ekstrak
- Eluen (Pelarut Fase Gerak)

#### PROSEDUR KERJA

1. Buatlah potongan plat silika gel  $GF_{254}$  untuk kromatografi lapis tipis (ukuran sesuaikan dengan chamber dan sampel yang akan ditotolkan). Tandai batas bawah dan batas atas  $\pm 1$ cm, pada batas atas dapat ditandai dengan pensil sedangkan untuk batas bawah gunakan bantuan kertas jangon digaris dengan pensil.
2. Berikan inisial untuk ekstrak yang akan ditotolkan pada bagian atas, dan berikan tanda batas elusi.
3. Dengan menggunakan pipa kapiler, totolkan ekstrak hingga membentuk noda bulat (diameter  $\pm 1$  mm), biarkan sampai kering. Dengan cara yang sama, menggunakan pipa kapiler yang berbeda totolkan ekstrak-

### S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

ekstrak yang lainnya. Setelah mengering totolkan lagi ekstrak tersebut agar jelas nodanya.

4. Kedalam chamber isilah dengan eluen yang telah dijenuhkan dengan kertas saring terlebih dahulu sebelum digunakan. (Sebelumnya orientasi terlebih dahulu berapa ml eluen yang akan digunakan, jangan sampai eluen melebihi toltolan ekstrak)
5. Masukkan plat silika gel GF<sub>254</sub> yang telah ditotolkan tersebut ke dalam chamber yang sudah jenuh, tutup mulut chamber dan biarkan eluen menaiki kertas atau plat sampai batas tanda.
6. Setelah selesai melakukan elusi kertas saring atau plat KLT dikeluarkan dengan menggunakan pinset.
7. Keringkan kertas saring atau plat KLT. Lingkari noda-noda yang timbul dengan pensil.
8. Gambar noda yang dilihat secara visual, lampu UV, dan setelah disemprot penampak bercak.
9. Hitung nilai Rfnya.

Metode KLT disesuaikan dengan kandungan senyawa dalam simplisia (**Cari Jurnal**):

- a. Alkaloid  
Etil asetat : metanol : air (6:4:2) dan penampak bercak yang digunakan dragendroff, terbentuknya warna coklat menunjukkan adanya alkaloid.
- b. Flavonoid  
n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) Penampak bercak uap amonia, terbentuknya warna kuning atau kuning coklat menunjukkan adanya falvonoid.
- c. Tanin  
etil asetat:metanol:air (100:13,5:10) dan penampak bercak FeCl<sub>3</sub> terbentuknya bercak hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.
- d. Saponin  
Kloroform:metanol:air (64:50:10), penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat dan dipanaskan pada hot plate selama 5-10 menit pada suhu 100°C, terbentuknya warna kuning, hijau, merah, biru tua, ungu, kuning kecoklatan menunjukkan daun insulin mengandung saponin.
- e. Steroid / Triterpenoid  
n-heksan:etil asetat (17:3) dan penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat. Lempeng KLT dipanaskan pada hot plate selama 5-10 menit pada suhu 100°C, terbentuknya warna biru atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid/steroid.

f. Kurkuminoid

**GAMBAR ALAT**



**PEMBAHASAN**

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

# **BAB 5**

# **KROMATOGRAFI KOLOM**

## **TUJUAN**

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa dapat memahami dan mengerti cara identifikasi bahan alam dengan menggunakan kromatografi kolom

## **DASAR TEORI**

Kromatografi kolom berguna untuk sampel yang mengandung molekul besar atau zat yang bersifat ion dengan tekanan uap yang rendah dan untuk zat yang termolabil yang tidak dapat diuapkan tanpa penguraian.

Kromatografi kolom dibagi menjadi 5, yaitu:

a. Kromatografi adsorpsi

Sifat-sifat atom, ion atau molekul yang terletak pada permukaan partikel padat ternyata berbeda dengan sifat-sifat atom, ion atau molekul yang terletak pada bagian sebelah dalam dari partikel padat. Ikatan-ikatan yang terletak pada bagian permukaan dipengaruhi oleh tidak terdapatnya struktur kimia di atomnya, karena itu lapisan permukaan berada pada tingkat energi yang lebih tinggi dan ikatan tersebut dikatakan mempunyai aktivitas permukaan.

b. Kromatografi kolom pembagian

Di dalam sistem kromatografi pembagian, fasa diam berupa zat cair sedang fasa gerak dapat berupa zat cair ataupun gas. Kalau pada kromatografi penyerapan digunakan zat padat maka pada kromatografi pembagian zat padat digunakan sebagai penunjang fasa diam (yang berupa zat cair).

c. Kromatografi pertukaran ion

Asas pertukaran ion digunakan pada kromatografi kolom, kertas dan lapis tipis. Sebagai bahan penukar ion digunakan resin penukar ion sintetik yang mempunyai stabilitas kimiawi serta ukuran partikel yang seragam. Resin merupakan suatu polystyrene yang dibuat dengan proses polimerisasi dari styrene dan adanya sedikit divinyl benzene. Kemudian ke dalam polystyrene dimasukkan gugus-gugus polar yang dapat memberikan sifat pertukaran ion. Resin dapat dibuat dalam bentuk butiran-butiran atau dalam bentuk lembaran (membran). Selain

### S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

polystyrene dapat juga digunakan asam polimetakrilat (polymetacrylic acid).

Mekanisme pemisahan :

Resin penukar ion dibedakan menjadi 2 macam :

- penukar kation yaitu yang mempunyai gugus polar yang bersifat asam seperti :  $-SO_3H$  atau  $-COOH$
- penukar anion yaitu yang mempunyai gugus polar yang bersifat basa seperti ;  $-CHNR$

#### d. Kromatografi gel

Pada kromatografi gel, fasa diam adalah gel yaitu suatu matriks polimer yang berpori-pori dan pori-porinya seluruhnya terisi oleh pelarut yang digunakan sebagai fasa gerak. Ukuran pori adalah sangat menentukan karena dasar pemisahan pada sistem ini adalah bahwa molekul yang ukuran besar diatas ukuran pori akan sama sekali tidak dapat masuk ke dalam gel, sedang molekul yang lebih kecil dari ukuran pori akan dapat masuk dan menggunakan sebagian atau seluruh ruangan bagian gel tersebut.

#### e. Kromatografi afinitas

Dalam sistem ini fasa diam berupa suatu kerangka zat padat yang mempunyai afinitas berlainan dengan berbagai senyawa. Pemisahan terjadi karena komponen hasil reaksi akan dapat melewati keluar sedang komponen yang belum/tidak bereaksi akan tertahan oleh fasa diam. Proses ini digunakan misalnya dalam reaksi enzimatik secara kontinyu. Enzim mula-mula diikatkan pada fasa diam, kemudian zat yang akan direaksikan dialirkan melalui kerangka yang telah mengikat enzim tersebut.

#### ALAT

- Kolom kromatografi
- Beaker gelas
- Pipet
- Batang pengaduk

#### BAHAN

- Silica for Preparative
- Eluen
- Ekstrak

**PROSEDUR KERJA**

1. Siapkan kolom untuk kromatografi kolom dan sebagai penyerap digunakan Aluminium trioksida yang telah diaktifkan
2. Kolom isi dengan penyerap (silica gel 60) ± sepertiga tinggi kolom (Pemasukkan penyerap harus hati-hati).
3. Alirkan eluen dengan batang pengaduk, sampai kira-kira 3 cm dari permukaan penyerap. (Pada saat ini kran kolom dibuka), kemudian permukaan penyerap diratakan agar tidak ada gelembung udara. Eluen harus tetap dijaga agar tidak sampai habis.
4. Setelah permukaan penyerap merata, alirkan ekstrak melalui dinding kolom dengan hati-hati. Kemudian tambahkan eluen lagi hingga volume kolom tetap.
5. Tampung hasil elusi pertama, kedua dsb. Sampai warna-warna yang timbul pada permukaan kolom habis. Eluat ditampung dalam tabung reaksi.
6. Lakukan elusi dengan KLT pada setiap penampungan eluat. Kemudian hasilnya disemprot dengan penampak bercak.

**GAMBAR ALAT**

**HASIL PENGAMATAN**

Hasil Kolom



Hasil KLT

Visual	Lampu UV	Penampak Bercak

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

No.	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

**PEMBAHASAN**

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

## **BAB 6**

# **KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS PREPARATIF (KLTP)**

### **TUJUAN**

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa mampu melakukan identifikasi senyawa bahan alam dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif

### **DASAR TEORI**

KLT preparatif adalah cara yang ideal untuk pemisahan cuplikan kecil (50 mg sampai 1 g) dari suatu senyawa. Pada KLT preparatif, cuplikan yang akan dipisahkan ditotolkan berupa garis pada salah satu sisi pelat lapisan besar dan dikembangkan secara tegak lurus pada garis cuplikan sehingga campuran akan terpisah menjadi beberapa pita. Pita ditampakkan dengan cara yang tidak merusak jika senyawa itu berwarna dan penyerap yang mengandung pita dikerok dari pelat kaca. Kemudian cuplikan dielusikan dari penyerap dengan pelarut. Cara ini berguna untuk memisahkan campuran reaksi sehingga diperoleh senyawa murni untuk uji pendahuluan, untuk menyiapkan cuplikan analisis, untuk meneliti bahan alam yang lazimnya berjumlah kecil dan campurannya rumit, serta untuk memperoleh cuplikan yang murni untuk mengkalibrasi KLT kuantitatif.

#### 1. Menotolkan cuplikan

Penotolan cuplikan merupakan tahap yang paling menentukan pada KLT preparatif. Kita harus menyebarkan larutan cuplikan yang volumenya agak besar (sampai 2 ml) berbentuk pita seragam yang tipis tanpa mengganggu permukaan lapisan.

#### 2. Isolasi senyawa yang sudah terpisah

Kebanyakan penjerap KLTP mengandung indikator fluoresensi yang membantu mendeteksi kedudukan pita yang terpisah sepanjang senyawa yang dipisahkan menyerap sinar UV. Akan tetapi indikator dapat menimbulkan masalah yaitu bereaksi dengan asam bahkan kadang-kadang dengan asam asetat.

Untuk senyawa yang tidak menyerap sinar UV, ada beberapa pilihan:

- a. menyemprot dengan air
- b. menutup pelat dengan sepotong kaca menyemprot salah satu sisi dengan pereaksi semprot

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

### c. menambahkan senyawa pembanding

Pita yang kedudukannya telah diketahui dikerok dari pelat, senyawa harus diekstraksi dari penjerap dengan pelarut yang paling kurang polar yang mungkin (sekitar 5 ml pelarut untuk 1 g penjerap). Harus diperhatikan bahwa makin lama senyawa kontak dengan penjerap makin besar kemungkinan penguraian. Penjerap KLTP mengandung pengikat dan indikator fluoresensi yang susunan kimianya biasanya tidak diketahui. Ketika senyawa yang dipisahkan dengan KLTP diekstraksi, pengikat, indikator, dan pencemar lain kemungkinan besar terekstraksi pula. Pada kenyataannya makin polar pelarut pengestraksian makin banyak bahan yang tak diinginkan yang terekstraksi pula. Pada kenyataannya, makin polar pelarut pengestraksian makin banyak bahan yang tak diinginkan yang terekstraksi.

### ALAT

- Kaca
- Beaker glass
- Chamber
- Pipa Kapiler
- Holder
- Densitometer
- Batang pengaduk
- Lampu UV

### BAHAN

- Ekstrak
- Silika gel GF<sub>254</sub>

### PROSEDUR KERJA

1. Siapkan kaca yang sudah dibersihkan dengan etanol, ambil silika gel yang telah diaktifkan dengan dipanaskan dalam oven. Tambahkan aquades sampai terbentuk bubuk.
2. Ratakan bubuk pada lempeng kaca
3. Keringkan KLTP dalam oven, apabila sudah kering tandai batas bawah dan batas atas  $\pm 1$  cm
4. Totolkan sampel hasil kolom secara lurus pada batas bawah, jangan sampai terputus, keringkan
5. Elusi sampai batas atas dengan menggunakan eluen n.butanol-as.Fomat-air (4:1:5), keringkan dan kerok pita yang terbentuk.
6. Hasil Kerokan dilarutkan dalam metanol dan deteksi dengan menggunakan Densitometer dengan menggunakan scanning pada panjang gelombang 200-700 nm.

**GAMBAR ALAT**

**HASIL PENGAMATAN**

**PEMBAHASAN**

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

# **BAB 7**

# **UJI KEMURNIAN**

## **TUJUAN**

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa mampu melakukan uji kemurnian dengan KLT dari senyawa hasil isolasi

## **DASAR TEORI**

Kemurnian adalah ukuran banyaknya zat pengotor yang terdapat dalam suatu materi/bahan. Zat pengotor ini dapat berasal dari proses pembuatannya atau terbawa dari lingkungannya dimana materi/bahan tersebut berasal. Zat pengotor ini dapat berasal dari proses atau terbawa dari lingkungannya.

Ukuran kemurnian adalah sesuatu yang relative dimana nilainya sangat bergantung dari cara-cara/metode yang digunakan untuk mendeteksi adanya zat pengotor tersebut. Untuk senyawa hasil isolasi beberapa metode kromatografi dapat dilakukan untuk uji kemurnian. Misalnya: KLT, HPLC, LC, GC dan lain-lain.

## **ALAT**

- Chamber
- Plat KLT
- Kertas saring Whatman No.1
- Pipa Kapiler
- Botol penampak bercak
- Batang pengaduk
- Pipet ukur
- Erlanmeyer
- Pinset
- Lampu UV

## **BAHAN**

- Eluen

## **PROSEDUR KERJA**

Uji kemurnian dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Metode yang dilakukan adalah dengan menggunakan 3 sistem eluen yang berbeda. Dan uji kemurnian 2 dimensi.







PEMBAHASAN

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

## BAB 8

# ISOLASI PIPERINA DARI PIPER NIGRI/ALBI

### TUJUAN

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa faham dan trampil melakukan isolasi piperina dari Piperis nigri/albi Fructus dan mengidentifikasi hasil isolasi secara kualitatif

### ASAS TEORI

Piperina merupakan senyawa amida basa lemah yang dapat membentuk garam dengan asam mineral kuat. Piperina bila dihidrolisa dengan KOH - Metanolik akan menghasilkan Kalium Piperinat dan Piperidina.

Piperidina larut dalam air dan alkohol. Piperin umumnya terdapat dalam tanaman familia Piperaceae, misalnya *Piper nigrum*. Dalam Piper spesies selain mengandung 5-9% Piperina juga mengandung:

- Minyak menguap berwarna kuning, berbau aromatis
- Senyawa yang berasa pedas (Chavicine)
- Amilum
- Resin
- Protein

Senyawa amida (Piperina) berupa kristal berbentuk jarum berwarna kuning, tak berbau, tak berasa lama-lama pedas, larut dalam etanol, asam asetat, bensen, kloroform.

Isolasi piperin diekstraksi dari buah Piper spesies dengan etanol 96%, dipisahkan dari senyawa resin dengan penambahan KOH-etanol 10%. Kristalisasi dilakukan dalam etanol.

### ALAT:

- Soxhlet
- Waterbath
- Cawan penguap
- Batang pengaduk
- Erlenmeyer
- Perangkat KLT
- Corong

**BAHAN:**

- Serbuk Piperis Albi Fructus
- Etanol 90%
- KOH-etanol
- Silika gel GF 254
- Bensen
- Etil asetat
- Anilsaldehid-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Vanilin asam sulfat

**PROSEDUR KERJA**

**Isolasi:**

1. Timbang teliti lebih kurang 20 g serbuk Piperis Albi Fructus. Masukkan ke dalam soxhlet
2. Tambahkan lebih kurang 200 ml etanol 90%, ekstraksi selama 2 jam.
3. Saring ekstrak yang diperoleh, sisihkan sebanyak 3 ml untuk pembanding
4. Sisa diuapkan dengan cawan penguap diatas water bath sampai konsistensi kental.
5. Tambahkan 10 ml KOH-etanol (10%) sambil diaduk hingga timbul endapan.
6. Pisahkan ekstrak dari bagian yang tidak larut melalui corong dengan kapas.
7. Ekstrak jernih yang didapat didiamkan semalaman dalam lemari pendingin.
8. Kristal yang timbul dipisahkan, cuci dengan 5-10 ml etanol 96%, keringkan di atas gelas arloji dalam oven pada suhu 40°C
9. Hitunglah rendemen hasil isolasi, dan lakukan identifikasi KLT untuk ekstrak, kristal dan pembanding.

**Identifikasi Piperin:**

- Fase diam : Silika gel GF 254  
Fase gerak : Toluene - Etil asetat (70:30)  
Penampak bercak : Vanilin - asam sulfat LP

**GAMBAR ALAT**

**HASIL PENGAMATAN**  
Hasil Isolasi

**S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang**

**Hasil Identifikasi KLT**

Visual	Lampu UV	Penampak Bercak

**Harga Rf dan HRf sampel**

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

**Harga Rf dan HRf Baku**

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

PEMBAHASAN

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

# BAB 9

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI EUGENOL

### TUJUAN

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa mampu melakukan isolasi dan identifikasi eugenol dalam minyak cengkeh

### ASAR TEORI

Eugenol banyak digunakan sebagai karminatif dan analgetik pada sakit gigi, selain itu banyak digunakan dalam industri parfum dan vanilin sintesis. Eugenol adalah suatu senyawa aromatik yang banyak terdapat dalam minyak atsiri bunga cengkeh (*Eugenia caryophyllata* Thunb). Eugenol dapat dipisahkan dalam minyak atsiri lainnya dengan cara merubahnya menjadi senyawa eugenolat yang larut dalam air. Eugenol mempunyai gugus fenol yang dapat dianalisis secara kualitatif dengan KLT menggunakan deteksi sinar UV dan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ .

### ALAT:

- Gelas ukur
- Penangas air
- Corong pisah
- Erlenmeyer
- Cawan porselin
- Perangkat KLT
- Pipet tetes
- Penangas air

### BAHAN:

- Minyak cengkeh
- KOH 1 N
- Dietil eter
- Heksan
- Etil asetat
- Silika gel GF 254
- Anisaldehyd
- Asam sulfat 1 N

### PROSEDUR KERJA

#### Ekstraksi dan Isolasi:

Ambil 5 ml minyak atsiri, masukkan dalam erlenmeyer lalu tambahkan 30 ml KOH 1 N dan tutup, kemudian dikocok selama 5 menit. Panaskan dalam

### S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

penangas air selama 10 menit dan kocok kembali selama 5 menit. Tambahkan KOH lagi sampai bereaksi basa dan kocok lagi selama 5 menit. Pisahkan fase airnya dinetralkan dengan asam sulfat 1 N, sesudah netral pindahkan ke dalam corong pisah dan ditambah dietileter 3 x 5 ml. Ambil fase eternya, kemudian uapkan sampai kering pada cawan poselin yang telah ditara, lalu timbang.

#### Identifikasi dengan KLT:

Fase diam : silika gel GF 254  
Fase gerak : Heksana - etil asetat (96:4)  
Penampak bercak : anilsaldehid - asam sulfat

#### GAMBAR ALAT

**HASIL PENGAMATAN**  
Hasil Isolasi

**Hasil Identifikasi KLT**

Visual	Lampu UV	Penampak Bercak

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

Harga Rf dan HRf sampel

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

Harga Rf dan HRf Baku

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

PEMBAHASAN

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

# **BAB 10**

## **ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOID**

### **TUJUAN**

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa faham dan trampil melakukan isolasi dan identifikasi flavonoid

### **DASAR TEORI**

Flavonoid menurut strukturnya merupakan turunan senyawainduk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan *Primula*, dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama. Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Senyawa tersebut dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia.

Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Akhirnya, flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat kuat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mana pun mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida. Karena alasan itu, maka dalam menganalisis flavonoid biasanya lebih baik bila kita memeriksa aglikon yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang mungkin terdapat dalam ekstrak asal.

### **ALAT:**

- Panci infus
- Erlenmeyer
- Seperangkat kromatografi kertas
- Seperangkat KLTP
- Spektrofotometer UV - Vis

### **BAHAN:**

- Daun ketela pohon
- n-butanol
- Asam asetat 15 %
- Asam asetat

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

- Aquadest
- Kertas saring Whatman
- Silika Gel
- H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>
- Metanol
- NaOH 2 M
- NaOAc
- AlCl<sub>3</sub>

### PROSEDUR KERJA

#### Ekstraksi:

Timbang 40 g bahan dimasukkan dalam panci infus, lalu tambahkan 200 ml aquadest. Panaskan selama 30 menit lalu saring dan ambil filtratnya. Masukkan filtrat dalam erlenmeyer dan simpan dalam almari es selama 1 minggu agar terbentuk kristal amorf warna putih kekuningan. Saring kristal melalui kertas saring lalu keringkan dengan oven dengan suhu 50°C. Ambil sebagian kristal tersebut. Larutkan dengan metanol, lakukan analisis kualitatif sebagai berikut:

- Fase diam: kertas / selulosa
- Fase gerak: asam asetat 15 %
- Deteksi: Sinar UV 365 nm, uap amonia dibawah sinar tampak (berwarna kuning)

#### Isolasi:

Bila didapatkan lebih dari satu bercak pada kromatogram, lakukan KLT preparatif dengan lempeng selulosa dan fase gerak asam asetat 15% atau n-butanol-asam asetat glasial-air (6:1:2).

Bercak yang terjadi dikerok, dilarutkan dalam metanol. Kemudian lakukan pemeriksaan kemurnian isolat dengan KLT 2 dimensi.

Isolat ditotolkan pada salah satu ujung lempeng selulosa (10x10 cm). Kemudian dielusi dengan fase gerak n-butanol-asam asetat glasial-air (6:1:2).

Bercak hasil pengembangan pertama, setelah kering dielusi kembali dengan fase gerak asam asetat 15%.

#### Identifikasi:

Kemurnian struktur isolat diidentifikasi dengan Spektrofotometer UV/Vis dengan cara:

1. Larutan 2-3 ml isolat dalam metanol, blanko: metanol. Lakukan scanning dengan panjang gelombang 200 - 450 nm.
2. (1) + 3 tetes NaOH 2 M, lakukan scanning.
3. Tunggu 5 menit, lakukan scanning.

**S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang**

4. (1) + serbuk NaOAc anhidrat sampai terdapat NaOAc yang tidak larut di dasar kuvet  $\pm 2$  mm, saring dan lakukan scanning.
5. (4) +  $H_3BO_3$  sampai jenuh, lakukan scanning.
6. (1) + 6 tetes  $AlCl_3$ , lakukan scanning.
7. (6) + 3 tetes HCl, lakukan scanning.

**GAMBAR ALAT**

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

**HASIL PENGAMATAN**

Analisa kualitatif: hasil Identifikasi KLT

Visual	Lampu UV	Penampak Bercak

Harga Rf dan HRf sampel

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

**S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang**

Isolasi hasil KLT

Visual	Lampu UV	Penampak Bercak

Harga Rf dan HRf sampel

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

Identifikasi:

**PEMBAHASAN**

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

# **BAB 11**

## **ISOLASI KAFEIN DARI DAUN TEH**

### **TUJUAN**

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa faham dan trampil melakukan isolasi kafein dari daun the dan mengidentifikasi hasil isolasi secara kualitatif.

### **DASAR TEORI**

Proses pemisahan atau isolasi kafein dari daun the dapat dilakukan proses sebagai berikut; dimana semua reaksi organik pada proses pemurniannya selalu melalui proses ekstraksi (penarikan senyawa cair yang akan dimurnikan dari pelarut organik dengan cara mengocoknya dalam corong pisah).

Pelarut yang biasa digunakan adalah eter, suatu pelarut inert, dan mudah melarutkan senyawa-senyawa organik, lagi pula titik didihnya rendah, sehingga mudah untuk dipisahkan kembali dengan destilasi sederhana. Hasil destilasi adalah eter sedangkan sisa dalam labu alas bulat yang mengandung kafein diuapkan. Lakukan mikrosublimesi, bila perlu lakukan rekristalisasi dengan etanol 95% sehingga diharapkan akan diperoleh kafein murni.

### **ALAT:**

- Alat refluks
- Penyaring buchner
- Kertas saring
- Beaker glass
- Corong pisah
- Alat destilasi
- Cawan proselin
- Pipet tetes
- Gelas ukur
- Seperangkat alat KLT
- Tabung reaksi

### **BAHAN:**

- Teh
- Kloroform
- Larutan Pb asetat
- Silika Gel GF 254
- Metanol p.a
- Asam klorida
- Kalium iodida
- Etil asetat

**PROSEDUR KERJA**

**Ekstraksi:**

1. Teh setelah ditimbang dimasukkan ke dalam labu alas bulat 250 ml
2. Ke dalam labu alas bulat tersebut masukkan aquadest 200 ml
3. Kemudian lakukan refluks selama 25 menit diatas nyala bunsen
4. Kemudian cairan teh tersebut disaring (dalam keadaan panas) dengan penyaring Buchner yang sudah diberi kertas saring
5. Hasil penyaringan (filtrat) dituangkan ke dalam beaker gelas dan diberi larutan Pb asetat tetes demi tetes ± 25 ml sampai filtrat yang terbentuk tidak membentuk endapan lagi.
6. Saring campuran dalam beaker tadi dengan kertas saring sehingga benar-benar jernih.
7. Masukkan filtrat hasil penyaringan ke dalam corong pisah, tambahkan kloroform 25 ml, kocok-kocok sampai terjadi pemisahan.
8. Tampung lapisan bawah yang merupakan hasil ekstraksi kafein dalam kloroform (lapisan I)
9. Lakukan ekstraksi kafein sekali lagi dengan menggunakan corong pisah dan diberi larutan kloroform 20 ml (lapisan II).
10. Satukan lapisan I dan lapisan II
11. Pelarut kloroform dipisahkan dengan cara destilasi sederhana, hingga pada labu alas bulat larutan tersebut tinggal lebih kurang 5 ml.
12. Sisa hasil destilasi yang ada pada labu alas bulat dituang ke dalam cawan penguap kemudian dengan api kecil dipanaskan hingga hampir kering di ruang asam

**Pemurnian Kafein Dengan Cara Sublimasi:**

1. Kafein dengan pengotor (kafein yang belum murni) dimasukkan ke dalam cawan penguap. Tutup dengan kertas saring yang dilubangi, kemudian diatas kertas saring tersebut diletakkan corong yang pada bagian lubangnya ditutup dengan kapas.
2. Panaskan dengan nyala api kecil
3. Untuk pendinginan corong bisa dibantu dengan diberi kapas basah
4. Corong kemudian dibuka
5. Kemudian amati apakah kafein bisa dimurnikan dengan cara sublimasi

**Identifikasi KLT:**

- Fase diam : Silika gel GF 254  
Fase gerak : etil asetat - metanol - air (100:13,5:10)  
Pereaksi penampak : Iodium - kalium iodida - asam klorida

GAMBAR ALAT

HASIL PENGAMATAN  
Hasil Identifikasi KLT

Visual	Lampu UV	Penampak Bercak

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

Harga Rf dan HRf sampel

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

Harga Rf dan HRf Baku

No	Harga Rf			Harga HRf			Warna noda
	Visual	UV	Penampak	Visual	UV	Penampak	

PEMBAHASAN

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

## **BAB 12**

# **ISOLASI PIGMEN DARI DAUN DENGAN KROMATOGRAFI KOLOM**

### **TUJUAN**

Pada akhir praktikum diharapkan mahasiswa dapat mengisolasi pigmen dari daun hijau.

### **DASAR TEORI**

Warna pada tanaman disebabkan oleh pigmen yang dikandungnya pada tilakoid yang terdapat di dalam stroma. Pigmen dalam daun dibagi menjadi tiga yaitu klorofil, karotenoid dan antosianin. Klorofil dibedakan menjadi 2 yaitu klorofil a dan klorofil b. begitu pula dengan karotenoid, karotenoid dibedakan menjadi xantofil dan karoten. Pembagian tersebut pada akhirnya menunjukkan bahwa pada umumnya macam pigmen ada 3 macam. Di alam, terdapat pigmen alami dalam berbagai jenis warna, mulai dari merah, kuning, hijau dan sebagainya. Setiap pigmen memiliki peran dan fungsi masing-masing. Pigmen-pigmen tersebut memiliki fungsi sebagai berikut :

#### **1. Klorofil**

Klorofil atau yang biasa dikenal dengan zat hijau daun, sama seperti namanya merupakan kandungan yang menyebabkan warna hijau pada tanaman. Pigmen pada membran tilakoid sebagian besar terdiri dari dua jenis klorofil hijau, yaitu klorofil a dan klorofil b (Salisbury dan Ross, 1995). Klorofil a mampu menyerap spectrum cahaya merah, ungu dan biru dalam proses fotosintesis sedangkan klorofil b mampu menyerap cahaya jingga dan biru serta memantulkan cahaya hijau dan kuning dalam proses fotosintesis Klorofil ini akan menyerap energi dari matahari untuk memfasilitasi berlangsungnya proses fotosintesis pada tumbuhan. Klorofil ini dalam tanaman sama seperti darah pada manusia. Zat ini sangat berperan dalam fungsi metabolisme seperti pertumbuhan dan respirasi (pernapasan) tumbuhan. Komposisi kimia klorofil hamper sama dengan komposisi darah manusia. Bedanya, atom sentral klorofil adalah magnesium sedangkan atom sentral manusia adalah besi.

#### **2. Anthosianin**

Antosianin merupakan pigmen yang dapat memberikan warna biru, ungu, violet, magenta, merah dan orange pada bagian tanaman seperti buah,

### S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

sayuran, bunga, daun, akar, umbi, legum, dan sereal. Anthosianin ditemukan di vokuola dalam sel tanaman. Senyawa ini bersifat reaktif, mudah teroksidasi maupun tereduksi, serta ikatan glikosida mudah terhidrolisis. Pigmen ini tidak bersifat toksik dan aman dikonsumsi. Antosianin dapat berfungsi untuk melawan proses oksidasi dalam tubuh, melindungi dari bahaya kerusakan DNA pada tubuh, meningkatkan sistem imun atau kekebalan tubuh dengan cara memproduksi sitokin dalam jumlah besar. Antosianin juga mampu mengobati penyakit hipertensi dan disfungsi hati, mampu meningkatkan peran dan fungsi dari saraf kognitif yang terdapat pada otak yang mana berhubungan dengan tingkat kecerdasan, sehingga kecerdasan semakin terasah dan meningkat.

#### 3. Karotenoid

Karotenoid dibagi menjadi karoten dan xantofil. Karoten adalah pigmen yang menyebabkan warna oranye, sedangkan xantofil adalah pigmen yang menyebabkan warna kuning. Karotenoid mampu melindungi tumbuhan terhadap solarisasi dengan cara menyerap kelebihan energi cahaya dan kemudian dilepas sebagai bahang. Karotenoid mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dimana akan memiliki dampak pada meningkatnya sistem imun atau kekebalan tubuh. Karotenoid juga sebagai penghasil provitamin A.

#### ALAT:

- Beaker glass
- Alumunium foil
- Kertas saring
- Corong pisah
- Kolom Kromatografi
- Cawan proselin
- Pipet tetes
- Gelas ukur
- Tabung reaksi

#### BAHAN:

- Daun suji
- Metanol
- Aseton
- Dietil Eter
- Heksana
- Silika kolom
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- $\text{Na}_2\text{SO}_4$

#### PROSEDUR KERJA

##### Ekstraksi:

1. Tumbuk atau potong-potong daun segar  $\pm$  10 gram tambah  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan natrium askorbat
2. Maserasi dengan cara cepat menggunakan methanol : aseton (7:3) sampai daun tidak berwarna hijau (putih pucat)
3. Maserat di partisi dengan dietil eter
4. Fraksi eter dikeringkan dengan gas  $\text{N}_2$

## S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang

### Isolasi :

1. KLT ekstrak dengan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak heksan:eter:aseton (6:3:2)
2. Buat kromatografi kolom dengan fase diam dan fase gerak sesuai dengan KLT
3. Elusi sampai terbentuk pita
4. Tampung pita yang keluar sesuai warna

### Identifikasi :

1. Keringkan fraksi yang keluar dengan gas N<sub>2</sub>
2. Larutkan tiap fraksi dengan aseton
3. Scan pola spektrumnya dengan menggunakan spektrofotometer Vis pada panjang gelombang 300-800 nm
4. Lihat pola spektrumnya bandingkan dengan literatur

### HASIL PENGAMATAN

**Pembahasan**

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

PEMBUATAN REAGEN

Nilai:	Semarang,
	Praktikan

S1 Farmasi "YAYASAN PHARMASI" Semarang  
DAFTAR PUSTAKA

Altun, Levent M., 2001. HPLC Method for The Analysis Paracetamol, Caffein, and Dipyrone. *Turk J Chem.* 26: 521-528.

Bagiana, I.K. 1998. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun *Emillia sonchifolia* DC yang Aktif sebagai Antibakteri. *Skripsi.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis Obat Tradisional.* Jilif I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

Gunawan dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Bahan Alam.* Jilid I. Jakarta: Penebar Swadaya

Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Diterjemahkan oleh Padmawinata, K., Soediro, I. Bandung: Penerbit ITB

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi.* Diterjemahkan oleh Padwinata, K., Soediro, I. Bandung: Penerbit ITB

# Petunjuk ISBA

---

## ORIGINALITY REPORT

---

18%

SIMILARITY INDEX

18%

INTERNET SOURCES

0%

PUBLICATIONS

0%

STUDENT PAPERS

---

## PRIMARY SOURCES

---

1

[repository.usahidsolo.ac.id](http://repository.usahidsolo.ac.id)

Internet Source

18%

---

Exclude quotes  On

Exclude matches  < 10%

Exclude bibliography  On