

PETUNJUK PRAKTIKUM

FITOKIMIA I

Universitas
Esa Unggul

Universitas
Esa Unggul



**PROGRAM STUDI ILMU FARMASI
FAKULTAS ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ESA UNGGUL
2015**



KATA PENGANTAR

Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia I ini disusun untuk menunjang mata kuliah Fitokimia I dalam program studi Farmasi UEU.

Diharapkan dengan buku ini, mahasiswa lebih memahami tata cara dan prosedur pelaksanaan praktikum sehingga mahasiswa memiliki kemampuan melakukan dan mengevaluasi hasil praktikum sesuai dengan teori dasar yang telah diberikan. Mudah-mudahan usaha ini dapat membantu tugas mahasiswa dalam menempuh studinya.

Sebagai akhir kata, penyusun mengucapkan terima kasih kepada staf pengajar, karyawan, asisten, dan sejawat lainnya yang telah memberikan saran dan bantuannya hingga terbentuknya Buku Petunjuk ini.

Penyusun :

- Aprilita Rina Yanti Eff., M.Biomed., Apt.
- Sri Teguh Rahayu, M.Farm., Apt.
- Irvani Rakhmawati, M.Farm

PENDAHULUAN

Pada decade terakhir ini fitokimia atau kimia tumbuhan telah berkembang menjadi satu disiplin tersendiri, berada diantara kimia organik bahan alam dan biokimia tumbuhan, serta berkaitan erat antara keduanya. Bidang perhatiannya adalah aneka ragam senyawa organik yang dibentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu struktur kimianya, biosintesisnya, perubahan serta metabolismenya, penyebaran secara alamiah serta fungsi biologinya.

Pada praktikum fitokimia I ini, praktikum yang dilaksanakan meliputi: skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis dan analisa dan identifikasi jamu.

Simplisia bahan tumbuhan obat merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk. Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pectin (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni.

Materia medika Indonesia berlaku sebagai pedoman untuk simplisia yang akan dipergunakan untuk keperluan pengobatan, tetapi tidak berlaku bagi bahan yang akan dipergunakan untuk keperluan lain yang dijual dengan nama yang sama. Namun simplisia (yang digunakan pada praktikum ini) adalah simplisia nabati secara umum merupakan produk hasil tumbuhan obat setelah melalui proses pasca panen dan proses preparasi secara sederhana menjadi bentuk produk kefarmasian yang siap dipakai atau diproses selanjutnya, yaitu:

1. Siap dipakai dalam bentuk serbuk halus untuk diseduh sebelum diminum (jamu)
2. Siap dipakai untuk dicacah dan digodok sebagai jamu godokan (infus)
3. Diproses selanjutnya untuk dijadikan produk sediaan farmasi lain yang umumnya melalui proses ekstraksi, separasi dan pemurnian, yaitu menjadi ekstrak, fraksi atau bahan isolat senyawa murni.

Simplisia sebagai produk hasil pertanian atau hasil pengumpulan tumbuhan liar memiliki kandungan kimia yang tidak dapat dijamin selalu konstan karena adanya perbedaan/variasi pada bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara panen) serta proses pasca panen dan preparasi akhir

Metode analisis kimia tumbuhan (tahapan fitokimia) meliputi :

1. Determinasi : jenis dalam klasifikasi botani tumbuhan sumber bahan obat yang dianalisis kandungan kimianya, nama latin dan nama daerah
2. Karakterisasi simplisia : spesifikasi atau mutu simplisia, mencakup beberapa parameter farmakognosi (FI, MMI)
3. Skrining golongan kimia : Senyawa bioaktif, metabolit sekunder : alkaloid, flavonoid, asam-asam fenolat, kumarin, kuinon, tannin, saponin, steroid/triterpenoid.
4. Isolasi bahan alam, meliputi: ekstraksi, pemisahan, pemurnian, karakterisasi
5. Uji aktivitas biologi : ekstrak, fraksi, isolat.

I. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia merupakan proses penapisan/pencarian kandungan zat dalam satu golongan atau kandungan zat dalam suatu tumbuhan dari berbagai jenis tumbuhan , serta mengetahui atau mempelajari zat apa saja atau golongan zat apa saja yang terdapat dalam satu jenis tumbuhan..

Persyaratan skrining fitokimia :

- a. Metodenya sederhana
- b. Dapat dilakukan secara cepat
- c. Peralatan sederhana dan sedikit
- d. Metodenya selektif terhadap kandungan zat yang diteliti
- e. Hasilnya memberikan gambaran kuantitatif
- f. Memberikan informasi tambahan yang bernilai

Skrining dapat dilakukan pada simplisia segar maupun simplisia kering. Sebelum dilakukan skrining simplisia terlebih dahulu harus diekstraksi. . Ada dua prosedur ekstraksi, yaitu :

1. Ekstraksi secara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut melalui beberapa pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (temperatur kamar). Secara teknologi, termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan / penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1 - 5 kali bahan.

2. Ekstraksi secara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3- 5 kali sehingga proses ekstraksi berjalan secara sempurna.

b. Soxhlet

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

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 - 50 °C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelrut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur, 96–98° C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air.

Cara ekstraksi lainnya

1. Ekstraksi berkesinambungan

Proses ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan pelarut yang berbeda atau resirkulasi cairan pelarut dan prosesnya tersusun berurutan beberapa kali. Proses ini dilakukan untuk meningkatkan efisiensi jumlah pelarut dan dirancang untuk bahan dalam jumlah besar yang terbagi dalam beberapa bejana ekstraksi.

2. Superkritikal karbondioksida

Penggunaan prinsip super kritik untuk ekstraksi serbuk simplisia umumnya digunakan karbondioksida. Dengan variable tekanan dan temperatur akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan golongan senyawa kandungan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dengan mudah dilakukan karena karbondioksida menguap dengan mudah, sehingga hampir langsung diperoleh ekstrak.

3. Ekstraksi ultrasonik

Getaran ultrasonic (> 20.000 Hz.) memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (cavitation) sebagai stress dianmik serta menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi tergantung pada frekuensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi

4. Ekstraksi energi listrik

Energi listrik digunakan dalam bentuk medan listrik, medan magnet serta electric discharges yang dapat mempercepat proses dan meningkatkan hasil dengan prinsip menimbulkan gelembung spontan dan meyebarakan gelombang tekanan berkecepatan ultrasonic.

Proses analisis

Langkah-langkah



ALAT DAN BAHAN YANG DIPERLUKAN
UNTUK SKRINING FITOKIMIA

I. ALAT

- Erlenmeyer
- Tabung reaksi
- Penangas air
- Pipet tetes
- Penjepit
- Kaca arloji
- Cawan uap
- Corong

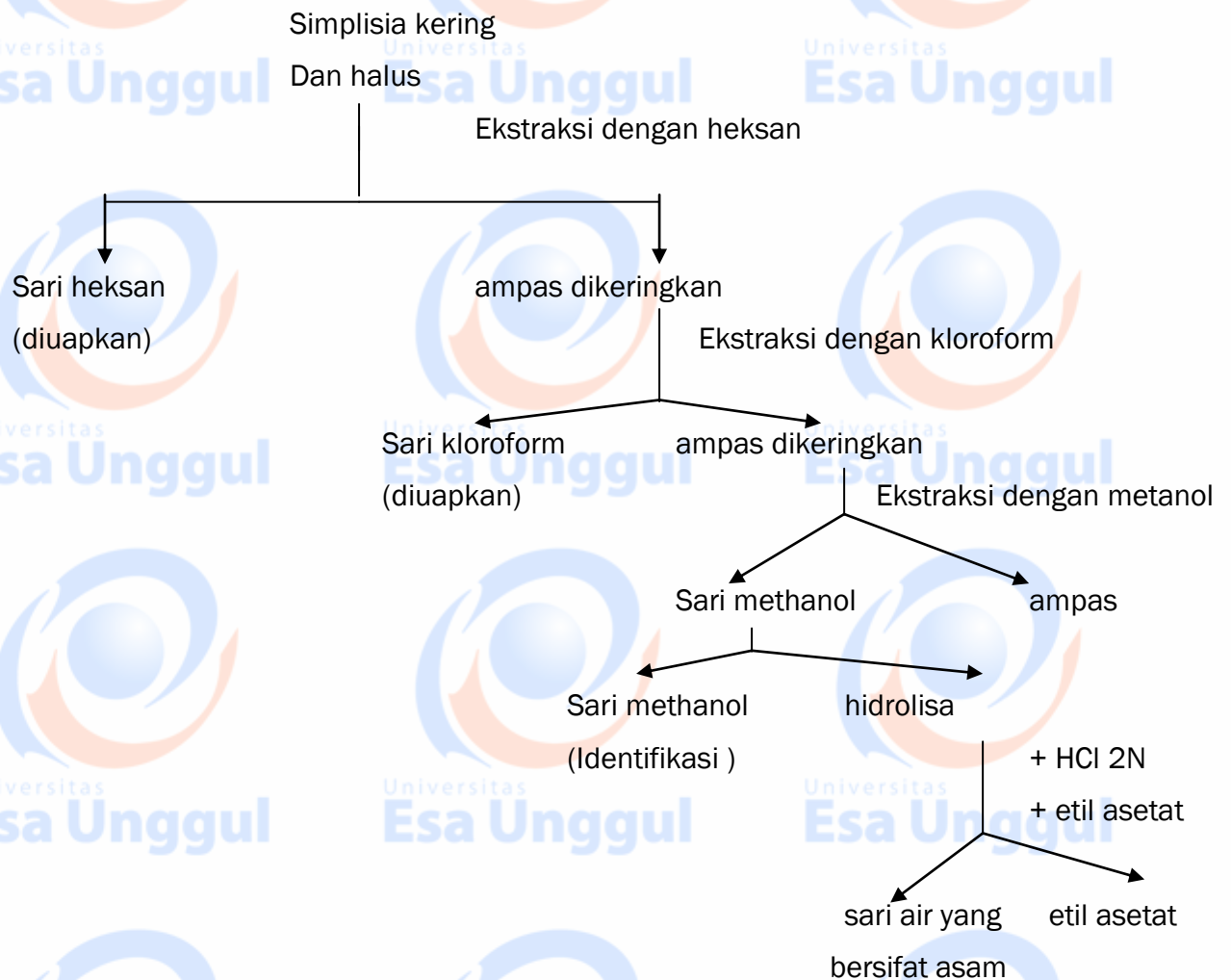
II. BAHAN

- Simplisia yang telah dihaluskan
- Pelarut heksan
- Pelarut methanol
- Pelarut kloroform
- Berbagai pereaksi : meyer, dragendorf, bouchardad,
- Hcl pekat, HCl encer
- Logam Mg
- NH₄OH
- Asam asetat anhidrat
- Alkohol

CARA KERJA

Bagan ekstraksi bertingkat pada skrining fitokimia

Tujuan : Memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia berdasarkan kepolarannya



PROSEDUR IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA

A. Sari Heksan

Dilakukan uji untuk mengetahui adanya minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, sterol dan triterpen , uji alkaloid dan uji kumarin

1. Identifikasi minyak atsiri

Sari heksan diuapkan sampai kering (dalam cawan uap) , didapatkan bau aromatis, tambahkan alcohol, sebagian larutan alcohol diuapkan dan sebagian lagi untuk identifikasi lemak. Jika berbau aromatis maka positif mengandung minyak atsiri

2. Identifikasi lemak dan asam lemak

Larutan alcohol sisa identifikasi minyak atsiri, diuapkan lalu dilakukan penyabunan dengan KOH 0,5 % dalam alcohol dan direfluk. Jika terdapat tetesan-tetesan minyak berarti positif mengandung minyak lemak.

3. Identifikasi Sterol dan triterpenoid

Sari heksan diuapkan sampai kering tambahkan asam asetat anhidrat tambah CHCl_3 dan tambahkan H_2SO_4 melalui dinding tabung reaksi.

Jika terbentuk cincin yang berwarna hijau atau merah → terpenoid

Jika terbentuk cincin yang berwarna hijau atau biru → steroid

Ekstrak dalam pelat tetes ditambahkan H_2SO_4 pekat + asam asetat anhidrat : - -

jika berwarna ungu, merah, coklat → terpen

- Jika berwarna hijau atau biru → steroid

4. Pemeriksaan alkaloid

Alkaloid terdiri dari 2 bentuk, yaitu :

1. Dalam bentuk basa : larut dalam pelarut semi polar
2. Dalam bentuk garam, larut dalam air

Pemeriksaan alkaloid cara langsung :

Simplisia halus tambahkan dengan CHCl_3 (untuk melarutkan alkaloid) + NH_4OH (untuk membasakan garam alkaloid) lalu disaring hingga diperoleh ekstrak, lalu ekstrak diuapkan, tambahkan HCl 2N / H_2SO_4 2N , lalu dikocok, ambil lapisan asam lalu dibagi dalam 3 tabung dan diuji

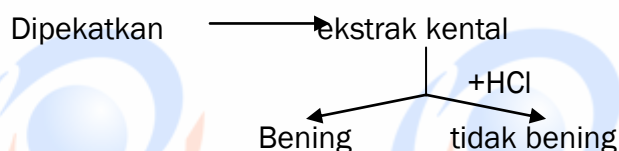
- Dengan pereaksi Meyer → endapan putih
- Dengan pereaksi Dragendorf → endapan Coklat/jingga
- Dengan pereaksi Bouchardat → endapan Coklat

Untuk Meyer mempunyai kategori, yaitu :

- + : kabut
- ++ : kabut tebal
- +++ : putih
- ++++ : endapan putih yang tidak dapat dituang

Penambahan CHCl_3 adalah untuk menarik alkaloid bentuk basa. Penambahan NH_4OH berguna untuk membasakan alkaloid bentuk garam . Penambahan HCl dimaksudkan agar dapat bereaksi dengan pereaksi yang digunakan.

b. Ekstrak



- Jika pada ekstrak kental dengan penambahan HCl sudah bening , maka dapat langsung diuji
- Jika tidak bening , + NH_4OH + CHCl_3 , dikocok ambil lapisan CHCl_3 , lalu tambahkan HCl 2 N , dikocok, ambil lapisan air lalu direaksikan dengan pereaksi mayer, dragendorf dan bouchardat.

6. Pemeriksaan Kumarin

Ekstrak diuapkan sampai kering tambahkan air panas dan dinginkan.

Setelah dingin bagi menjadi 2 tabung, Tabung I diberi ammonia 10 % dan tabung

ke II sebagai pembanding . Lihat dibawah UV , Jika terdapat fluorosnsi kuning kehijauan atau kebiruan berarti positif mengandung kumarin.

B. Sari Chloroform/etil asetat

Dilakukan uji untuk mengetahui adanya tannin, gula pereduksi, alkaloid, flavonoid , uji emodol dan uji kumarinn

1. Pemeriksaan tanin

Sari CHCl_3 + 3 tetes larutan FeCl_3 lalu amati perubahan warna menjadi biru kehijauan atau hijau tua

2. Pemeriksaan Gula pereduksi

Sari CHCl_3 ditambahkan 2 tetes larutan fehling A dan 2 tetes larutan Fehling B, kemudian pada waterbath. Terjadinya endapan merah bata

menunjukkan adanya gula pereduksi

3. Pemeriksaan Alkaloid

Simplisia halus tambahkan dengan CHCl_3 (untuk melarutkan alkaloid) + NH_4OH (untuk membasakan garam alkaloid) lalu disaring hingga diperoleh ekstrak, lalu ekstrak diuapkan, tambahkan HCl 2N / H_2SO_4 2N , lalu dikocok, ambil lapisan asam lalu dibagi dalam 3 tabung dan diuji

- a. Dengan pereaksi Meyer → endapan putih
- b. Dengan pereaksi Dragendorf → endapan Coklat/jingga
- c. Dengan pereaksi Bouchardat → endapan Coklat

4. Pemeriksaan emodol

Sari CHCl_3 dipekatkan, dinginkan lalu tambahkan NH_4OH 25% kemudian dikocok. Warna merah menunjukkan adanya emodol.

5. Pemeriksaan flavonoid

Ekstrak + HCl pekat + logam Mg akan terbentuk warna merah atau jingga
 Jika banyak mengandung tannin + HCl pekat + logam Mg akan terbentuk warna merah, dinginkan + amil alcohol, kocok

Jika warnanya merah dan naik ke atas → (+) flavonoid

Jika warna merahnya tetap di bawah → (+) tannin dan flavonoid

6. Pemeriksaan Kumarin

Ekstrak diuapkan sampai kering tambahkan air panas dan dinginkan. Setelah dingin bagi menjadi 2 tabung, Tabung I diberi ammonia 10 % dan tabung ke II sebagai pembanding. Lihat dibawah UV, Jika terdapat fluoresnsi kuning kehijauan atau kebiruan berarti positif mengandung kumarin.

7. Pemeriksaan Sterol dan triterpenoid

Sari CHCl₃ diuapkan sampai kering tambahkan asam asetat anhidrat tambah CHCl₃ dan tambahkan H₂SO₄ melalui dinding tabung reaksi.

Jika terbentuk cincin yang berwarna hijau atau merah → terpenoid

Jika terbentuk cincin yang berwarna hijau atau biru → steroid

Ekstrak dalam pelat tetes ditambahkan H₂SO₄ pekat + asam asetat anhidrat : - -
 jika berwarna ungu, merah, coklat → terpen

- Jika berwarna hijau atau biru → steroid

C. Sari methanol

sari methanol dilakukan pemeriksaan terhadap: tanin, gula pereduksi, antrasenoid, derivat kumarin, alkaloid, flavonoid glikosida steroid dan pemeriksaan hasil hidrolisa.

1. Pemeriksaan tanin

Sari metanol + 3 tetes larutan FeCl₃ lalu amati perubahan warna menjadi biru kehijauan atau hijau tua

2. Pemeriksaan gula pereduksi

Sari methanol ditambahkan 2 tetes larutan fehling A dan 2 tetes larutan Fehling B, kemudian pada waterbath. Terjadinya endapan merah bata menunjukkan adanya gula pereduksi

3. Pemeriksaan alkaloid

Pemeriksaan alkaloid cara langsung :

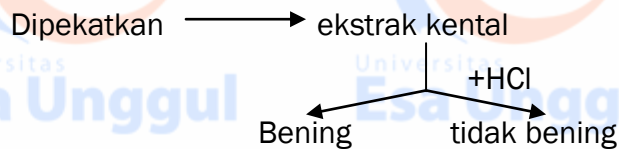
Simplisia halus tambahkan dengan CHCl_3 (untuk melarutkan alkaloid) + NH_4OH (untuk membasakan garam alkaloid) lalu disaring hingga diperoleh ekstrak, lalu ekstrak diuapkan, tambahkan HCl 2N / H_2SO_4 2N , lalu dikocok, ambil lapisan asam lalu dibagi dalam 3 tabung dan diuji

- a. Dengan pereaksi Meyer → endapan putih
 b. Dengan pereaksi Dragendorf → endapan Coklat/jingga
 c. Dengan pereaksi Bouchardat → endapan Coklat

Untuk Meyer mempunyai kategori, yaitu :

- + : kabut
 ++ : kabut tebal
 +++ : putih
 ++++ : endapan putih yang tidak dapat dituang

b. Ekstrak



- Jika pada ekstrak kental dengan penambahan HCl sudah bening , maka dapat langsung diuji
- Jika tidak bening , + NH_4OH + CHCl_3 , dikocok ambil lapisan CHCl_3 , lalu tambahkan HCl 2 N , dikocok, ambil lapisan air lalu direaksikan dengan pereaksi mayer, dragendorf dan bouchardat.

4. Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak + HCl pekat + logam Mg akan terbentuk warna merah atau jingga Jika banyak mengandung tannin + HCl pekat + logam Mg akan terbentuk warna merah , dinginkan + amil alcohol, kocok

Jika warnanya merah dan naik ke atas → (+) flavonoid

Jika warna merahnya tetap di bawah → (+) tannin dan flavonoid

5. Pemeriksaan Antrasenoid (emodol)

Sari CHCl_3 dipekatkan, dinginkan lalu tambahkan NH_4OH 25% kemudian dikocok. Warna merah menunjukkan adanya emodol.

6. Pemeriksaan derivat kumarin

Ekstrak diuapkan sampai kering tambahkan air panas dan dinginkan. Setelah dingin bagi menjadi 2 tabung, Tabung I diberi ammonia 10 % dan tabung ke II sebagai pembanding . Lihat dibawah UV , Jika terdapat fluoresnsi kuning kehijauan atau kebiruan berarti positif mengandung kumarin.

7. Pemeriksaan glikosida steroid/triterpenoid

Sari metanol diuapkan sampai kering tambahkan asam asetat anhidrat tambah CHCl_3 dan tambahkan H_2SO_4 melalui dinding tabung reaksi.

Jika terbentuk cincin yang berwarna hijau atau merah \longrightarrow terpenoid

Jika terbentuk cincin yang berwarna hijau atau biru \longrightarrow steroid

Ekstrak dalam pelat tetes ditambahkan H_2SO_4 pekat + asam asetat anhidrat : - -

jika berwarna ungu, merah, coklat \longrightarrow terpen

- Jika berwarna hijau atau biru \longrightarrow steroid

5. Hidrolisis

Sari methanol ditambahkan HCl 2 N sama banyak, direfluk selama 1 jam, timbul kekeruhan, dinginkan, disari dengan eter , dikocok lalu ambil lapisan bawah . Terhadap hasil hidrolisis dilakukan pemeriksaan seperti pemeriksaan yang dilakukan pada sri methanol.

KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)

Kromatografi adalah prosedur pemisahan zat terlarut melalui proses migrasi diferensial dinamis yang terdiri dari 2 fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat tersebut menunjukkan adanya perbedaan mobilitas yang disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion.

Proses kromatografi terdiri dari 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak membawa zat terlarut melalui media, hingga terpisah dari zat terlarut lainnya, yang tereluasi lebih awal atau akhir. Umumnya zat terlarut dibawa melalui media pemisah oleh aliran suatu pelarut berbentuk cairan atau gas yang disebut eluen. Fase diam dapat bertindak sebagai penyerap seperti alumina, silika gel dan resin penukar ion, atau dapat bertindak melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak.

Partisi merupakan mekanisme pemisahan yang utama dalam kromatografi gas cair, kromatografi kertas dan bentuk kromatografi kolom yang disebut kromatografi cair-cair.

Perbandingan jarak rambat (diukur sampai titik yang memberikan intensitas maksimum pada titik yang memberikan intensitas maksimum pada bercak) suatu cara tertentu terhadap jarak rambat fase gerak, diukur titik penoltolan, dinyatakan sebagai harga R_f senyawa tersebut. Harga R_f berubah sesuai kondisi percobaan karena itu, identifikasi sebaiknya dilakukan dengan menggunakan baku pembanding yang sama dengan uji pada kromatogram yang sama.

Penetapan letak bercak yang dihasilkan kromatografi kertas atau lapis tipis, letaknya dapat ditetapkan dengan :

1. Pengamatan langsung (visual)
2. Pengamatan dengan cahaya UV
3. Disemprot/penampak noda yang sesuai
4. Pencacah Geiger Muller atau teknik autodiografi jika terdapat zat radioaktif

5. Menempatkan potongan penyerap dan zat pada media pembiakan yang telah ditanami untuk melihat hasil stimulasi atau hambatan pertumbuhan bakteri.

A. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT digunakan untuk memisahkan senyawa secara cepat, dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang disebarakan secara merata pada lempeng kaca atau aluminium. Lempeng yang dilapis dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka, dan pemisahannya dapat didasarkan pada penyerapan, pembagian atau gabungan keduanya, tergantung dari jenis penyerap dan cara pembuatan lapisan zat penyerap dan jenis pelarut. Harga R_f yang diperoleh pada KLT tidak tetap, jika dibandingkan dengan yang diperoleh pada kromatografi kertas. Karena itu pada lempeng yang sama di samping kromatogram zat yang diuji perlu dibuat kromatogram zat pembanding, dengan kadar yang berbeda-beda. Perbandingan ukuran bercak secara visual atau densitometri dapat digunakan untuk memperkirakan kadar.

Lempeng yang digunakan juga dapat berupa seng. Fase diam yang digunakan pada KLT adalah silica gel GF254 nm, alumina, poliamil, selulosa. Prinsip kerja yaitu adsorpsi. Fase gerak dapat berupa pelarut organik atau campuran pelarut organik. Sebagai penampak noda dapat digunakan spektrofotometri UV 254 atau 366 nm, pereaksi Dragendorf, anisaldehyd, H₂S)4 10%, dll.

Tujuan dilakukan KLT :

1. Pemisahan senyawa dari sekelompok senyawa
2. Identifikasi zat yang terkandung dalam senyawa
3. Mencari eluen yang cocok untuk kromatografi kolom
4. Identifikasi simplisia

2. Kromatografi Kolom

Alat yang digunakan pada kromatografi kolom sangat sederhana terdiri dari tabung kromatografi dan sebuah batang pemampat yang diperlukan untuk memadatkan wol kaca atau kapas pada dasar tabung jika diperlukan serta untuk memadatkan zat penyerap atau campuran zat penyerap dan air secara merata pada tabung. Tabung berbentuk silinder dan terbuat dari kaca.

Sebagai zat penyerap, misalnya alumina oksida yang telah diaktifkan, silica gel kieselgur terkalsinasi, kieselgur kromatografi murni dalam keadaan kering atau sebagai bubuk, dimampatkan ke dalam tabung kaca atau tabung kwarsa dengan ukuran tertentu dan mempunyai lubang pengalir ke luar dengan ukuran tertentu.

Zat berkhasiat diserap dari larutan secara sempurna oleh bahan penyerap berupa pita sempit pada puncak kolom. Dengan mengalirkan pelarut lebih lanjut, dengan atau tanpa tekanan udara, masing-masing zat turun dengan kecepatan yang khas sehingga terjadi pemisahan. Kecepatan tersebut dipengaruhi oleh beberapa factor yaitu daya serap zat penyerap, sifat pelarut dan suhu dari system kromatografi.

C. Kromatografi Preparatif

Digunakan untuk pemisahan senyawa yang terkandung dalam suatu simplisia dari suatu sekelompok senyawa dimana prinsip kerjanya sama dengan KLT hanya penotolan dilakukan pada jarak yang sangat dekat sehingga mendapatkan bercak berupa pita.

ALAT DAN BAHAN KLT

I. ALAT

- Gelas Ukur
- Corong
- Kertas saring
- pipet tetes
- Lempeng KLT
- Chamber
- Pipa kapiler
- Lampu UV
- DII

II. Bahan

- Ekstrak heksan, kloroform dan etil asetat
- metanol
- kloroform
- heksan
- etil asetat
- butanol
- asam asetat
- air
- asam sulfat
- dragendorf
- anisaldehyd
- Uap amonia
- dll

Cara kerja

1. Uapkan ekstrak yang akan di KLT
2. Siapkan lempeng aluminium/pelat KLT, potong-potong menjadi bagian yang kecil kira-kira berukuran 5 x 1 cm
3. Tandai dengan pensil batas bawah (tempat awal penotolan, kira-kira 0,5 cm dari bagian pelat) dan batas atas (0,5 cm dari bagian atas)



Empat penotolan sample

4. Totolkan ekstrak dengan menggunakan pipa kapiler yang telah dikecilkan lubangnya dengan dibakar. Keringka sebentar di udara terbuka.

5. Isi chamber yang telah dibersihkan dan dikeringkan serta dilapisi dengan kertas saring dengan pelarut yang akan digunakan, Jenuhkan . Chamber telah jenuh dengan pelarut jika kertas saring seluruhnya telah dibasahi oleh pelarut.
6. Masukkan pelat yang telah ditotolkan ekstrak , elusi sampai tanda batas
7. Amati noda yang terbentuk secara visual, di bawah lampu uv dan disemprot dengan penampak bercak yang sesuai
8. Gambarkan hasil KLT pada buku kerja anda.



Daftar Pustaka

1. Harbone, JB . 1987. Metode Fitokimia Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan. ITB Bandung
2. Soediro Iwang, 2000. Diktat Kuliah Fitokimia. Fakultas Farmasi UNTAG 1945 jakarta
3. Materia Medika Indonesia

