



# **PETUNJUK PRAKTIKUM KIMIA BAHAN ALAM I (FRS 203)**

*Smart, Creative and Entrepreneurial*

**PROGRAM STUDI**

# **FARMASI**



**FAKULTAS ILMU-ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ESA UNGGUL  
JAKARTA  
2018**

## KATA PENGANTAR

Buku Petunjuk Praktikum Kimia Bahan Alam I ini disusun untuk menunjang mata kuliah Kimia Bahan Alam 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.

Jakarta, Juli 2018

Tim Pengampu Praktikum Kimia Bahan Alam I

## PENDAHULUAN

Pada dekade terakhir ini fitokimia atau kimia bahan alam 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 metabolismanya, penyebaran secara alamiah serta fungsi biologinya.

Pada praktikum Kimia Bahan Alam I ini, praktikum yang dilaksanakan meliputi : skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis serta 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.

## LATIHAN I

### SKRINING FITOKIMIA

#### A. DASAR TEORI

Skринing 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 Skринing 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

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

#### 1. Ekstraksi Secara Dingin

##### a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut melalui beberapa kali 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 (penetasan/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 pelarut 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.

## **3. Cara Ekstraksi Lainnya**

### **a. 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.

#### **b. Superkritikal karbondioksida**

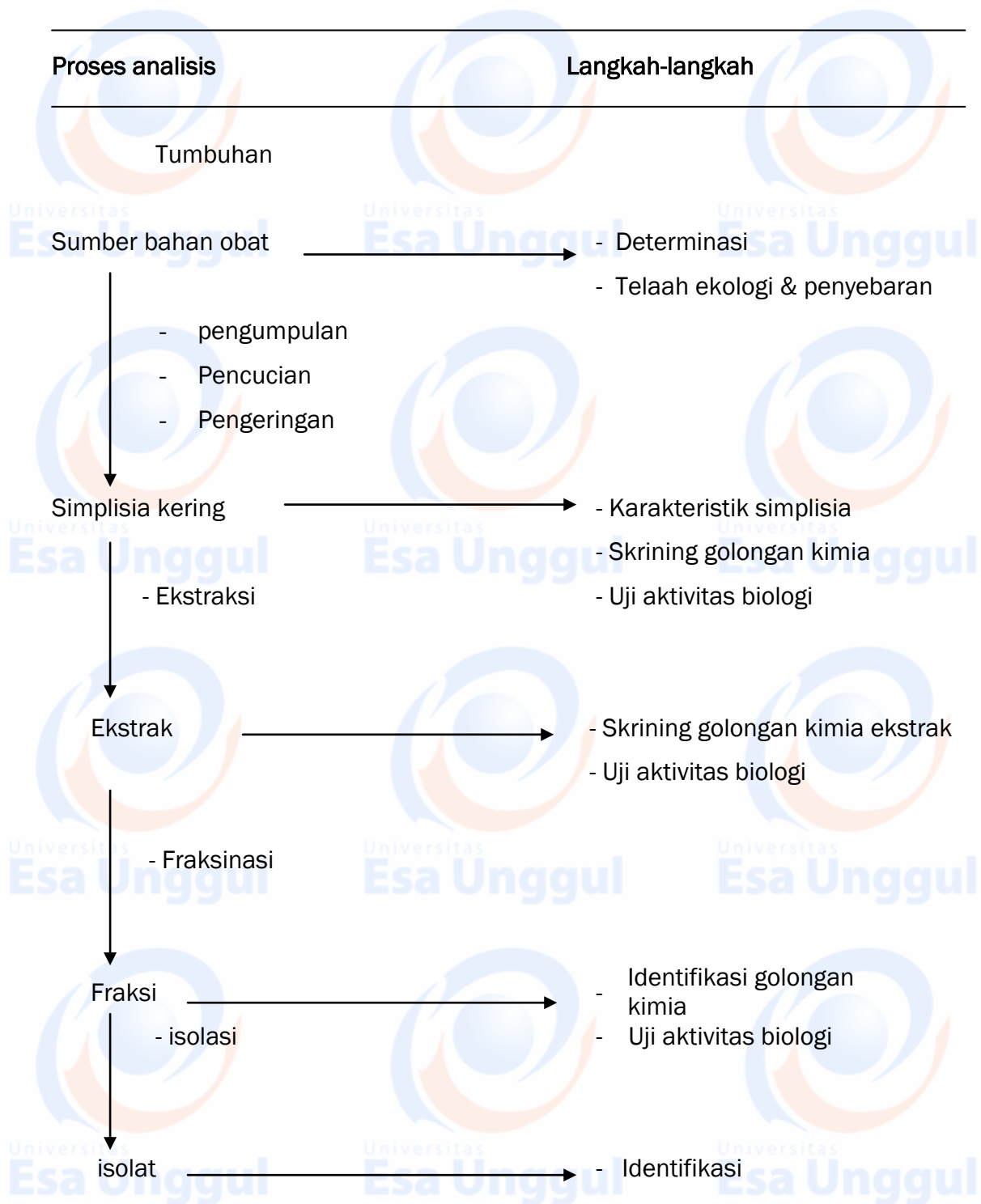
Penggunaan prinsip super kritik untuk ekstraksi serbuk simplisia umumnya digunakan karbondioksida. Dengan variable tekanan dan temperatur akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan golongan senyawa kandungan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dengan mudah dilakukan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

#### **c. 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

#### **d. 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 meyebarkan gelombang tekanan berkecepatan ultrasonik.



Gambar 1. Alur Analisis Kandungan Kimia Tumbuhan



## B. ALAT DAN BAHAN

### 1. Alat

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

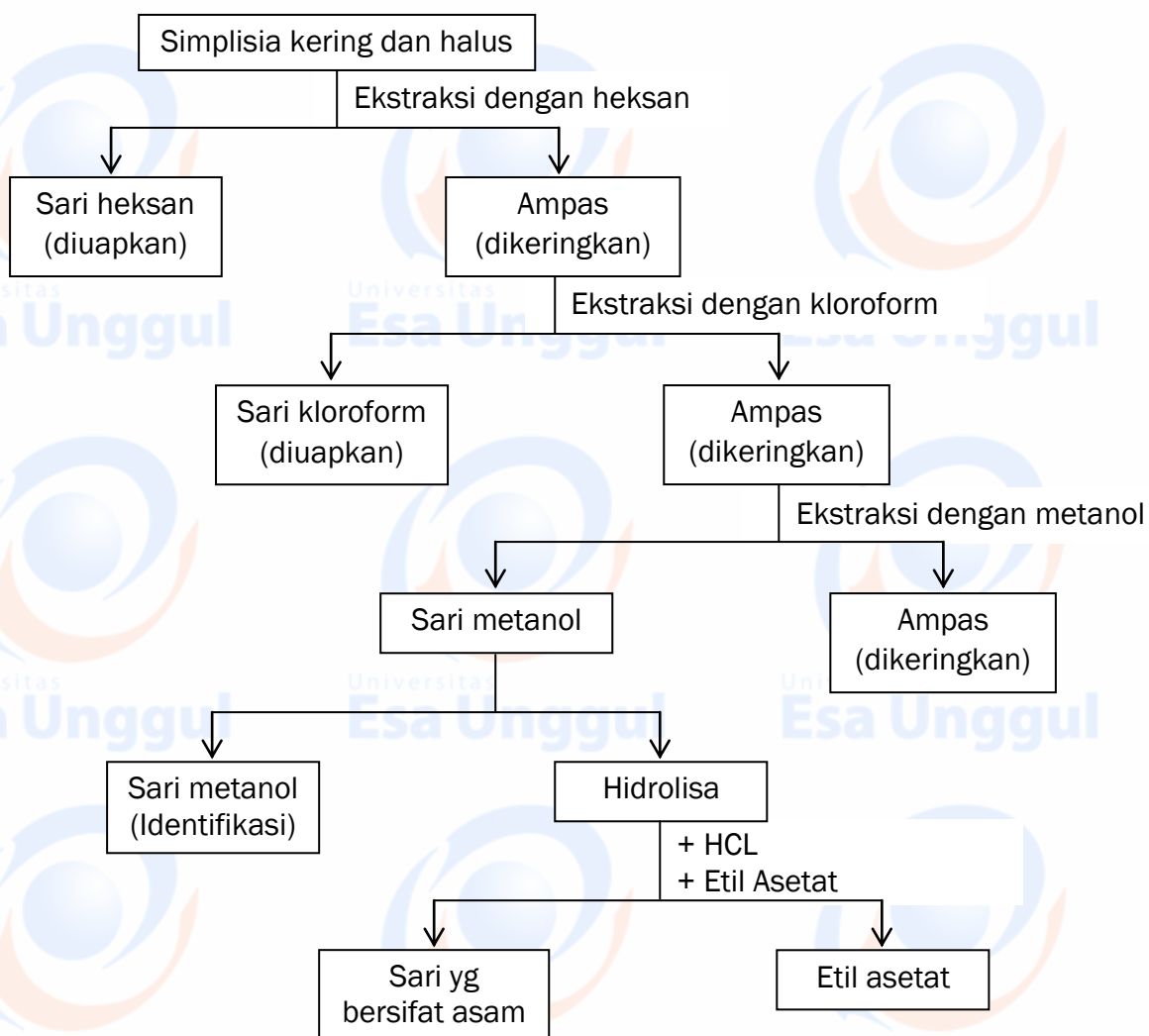
### 2. Bahan

- Simplisia yang telah dihaluskan
- Pelarut heksan
- Pelarut methanol
- Pelarut kloroform
- Berbagai pereaksi : meyer, dragendorf, bouchardad,
- Hcl pekat, HCl encer
- Logam Mg
- $\text{NH}_4\text{OH}$
- Asam asetat anhidrat
- Alkohol

### C. CARA KERJA

#### 1. Ekstraksi Simplisia

Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak akan dilakukan dengan cara maserasi bertingkat, dengan tujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia berdasarkan kepolarannya. Alur kerja dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bagan ekstraksi bertingkat untuk pengujian kandungan senyawa

## 2. 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  $\text{CHCl}_3$  dan tambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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  $\text{CHCl}_3$  (untuk melarutkan alkaloid) +  $\text{NH}_4\text{OH}$  (untuk membasakan garam alkaloid) lalu disaring hingga diperoleh ekstrak, lalu

ekstrak diuapkan, tambahkan HCl 2N/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, lalu dikocok, ambil lapisan asam lalu dibagi dalam 3 tabung dan diuji

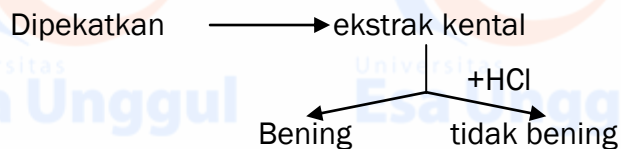
- a. Dengan pereaksi Meyer → endapan putih
- b. Dengan pereaksi Dragendorf → endapan Coklat/jingga
- c. Dengan pereaksi Bouchardat → endapan Coklat

Untuk Meyer mempunyai kategori, yaitu:

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

Penambahan CHCl<sub>3</sub> adalah untuk menarik alkaloid bentuk basa. Penambahan NH<sub>4</sub>OH 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<sub>4</sub>OH + CHCl<sub>3</sub>, dikocok ambil lapisan CHCl<sub>3</sub>, lalu tambahkan HCl 2N, 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 fluoresnsi 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  $\text{CHCl}_3$  + 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  lalu amati perubahan warna menjadi biru kehijauan atau hijau tua

### 2. Pemeriksaan Gula pereduksi

Sari  $\text{CHCl}_3$  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  $\text{CHCl}_3$  (untuk melarutkan alkaloid) +  $\text{NH}_4\text{OH}$  (untuk membasakan garam alkaloid) lalu disaring hingga diperoleh ekstrak, lalu ekstrak diuapkan, tambahkan  $\text{HCl}$  2N /  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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  $\text{CHCl}_3$  dipekatkan, dinginkan lalu tambahkan  $\text{NH}_4\text{OH}$  25% kemudian dikocok. Warna merah menunjukkan adanya emodol.

### 5. Pemeriksaan flavonoid

Ekstrak +  $\text{HCl}$  pekat + logam Mg akan terbentuk warna merah atau jingga  
Jika banyak mengandung tannin +  $\text{HCl}$  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 fluorosnsi kuning kehijauan atau kebiruan berarti positif mengandung kumarin.

## 7. Pemeriksaan Sterol dan triterpenoid

Sari  $\text{CHCl}_3$  diuapkan sampai kering tambahkan asam asetat anhidrat tambah  $\text{CHCl}_3$  dan tambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat + asam asetat anhidrat:

- jika berwarna ungu, merah, coklat  $\longrightarrow$  terpen

- Jika berwarna hijau atau biru  $\longrightarrow$  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  $\text{FeCl}_3$  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  $\text{CHCl}_3$  (untuk melarutkan alkaloid) +  $\text{NH}_4\text{OH}$  (untuk membasakan garam alkaloid) lalu disaring hingga diperoleh ekstrak, lalu

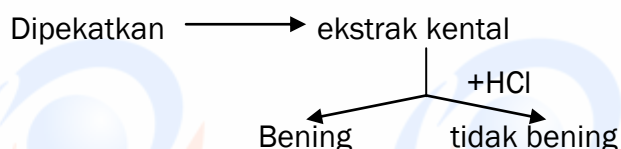
ekstrak diuapkan, tambahkan HCl 2N /H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N , lalu dikocok, ambil lapisan asam lalu dibagi dalam 3 tabung dan diuji

- 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<sub>4</sub>OH + CHCl<sub>3</sub>, dikocok ambil lapisan CHCl<sub>3</sub>, 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<sub>3</sub> dipekatkan, dinginkan lalu tambahkan NH<sub>4</sub>OH 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 fluorosnsi kuning kehijauan atau kebiruan berarti positif mengandung kumarin.

## 7. Pemeriksaan glikosida steroid/triterpenoid

Sari metanol diuapkan sampai kering tambahkan asam asetat anhidrat tambah  $\text{CHCl}_3$  dan tambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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  $\text{H}_2\text{SO}_4$  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 metanol.



## LATIHAN II

### 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 penotolan, 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 disebarkan 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,  $H_2SO_4$  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

### B. 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

##### II. Bahan

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

### 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)



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. Anonim, 1977. *Materia Medika Indonesia*, Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
4. Anonim, 1978. *Materia Medika Indonesia*, Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
5. Anonim, 1979. *Materia Medika Indonesia*, Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
6. Anonim, 1980. *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
7. Anonim, 1989. *Materia Medika Indonesia*, Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
8. Anonim, 1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
9. Anonim, 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
10. Anonim, 2010. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.