

MODUL PRAKTIKUM FARMAKOLOGI DAN FITOKIMIA

FAR6451024



Tim Penyusun:

Dr. apt. Deamon Sakaraga, M.Biomed.

apt. Catharina Apriyani W.H., M.Farm.

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA**

2026

KATA PENGANTAR

Modul Praktikum Farmakognosi dan Fitokimia adalah petunjuk tata laksana mata kuliah Praktikum Farmakognosi dan Fitokimia (FAR6451024) yang harus dilaksanakan oleh mahasiswa semester IV Program Studi Sarjana Farmasi Stikes Notokusumo Yogyakarta tahun ajaran 2025/2026. Modul praktikum ini disusun dalam rangka memberikan bekal pengetahuan dan keterampilan bagi mahasiswa dan bukan merupakan referensi yang dapat dijadikan pustaka untuk sebuah makalah ataupun laporan. Mahasiswa diharapkan tetap mempelajari referensi lain terkait keilmuan Farmakognosi dan Fitokimia untuk menambah pengetahuan dan memperkuat pemahaman atas ilmu yang dipelajari dari praktikum ini.

Modul ini masih banyak kekurangan dan masih memerlukan penyempurnaan lebih lanjut. Oleh karena itu, tim penyusun sangat mengharapkan kritik dan saran bagi kelengkapan dan perbaikan modul ini. Akhir kata, tim penyusun mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah turut serta dalam mewujudkan modul praktikum ini.

Yogyakarta, Maret 2026

Tim Penyusun

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	2
DAFTAR ISI.....	3
TATA TERTIB.....	5
KOMPONEN PENILAIAN	6
PRAKTIKUM 1: PEMBUATAN SIMPLISIA.....	7
1. Tujuan.....	7
2. Dasar Teori	7
3. Alat dan Bahan	7
4. Prosedur Kerja.....	8
PRAKTIKUM 2: STANDARDISASI MUTU SIMPLISIA	9
1. Tujuan.....	9
2. Dasar Teori	9
3. Alat dan Bahan	9
4. Prosedur Kerja.....	9
PRAKTIKUM 3: PEMBUATAN EKSTRAK.....	11
1. Tujuan.....	11
2. Dasar Teori	11
3. Alat dan Bahan	11
4. Prosedur Kerja.....	11
PRAKTIKUM 4: PEMEKATAN DAN STANDARDISASI MUTU EKSTRAK.....	14
1. Tujuan.....	14
2. Dasar Teori	14
3. Alat dan Bahan	14
4. Prosedur Kerja.....	14
PRAKTIKUM 5: SKRINING FITOKIMIA	16
1. Tujuan.....	16
2. Dasar Teori	16
3. Alat dan Bahan	16
4. Prosedur Kerja.....	16
PRAKTIKUM 6: FRAKSINASI EKSTRAK.....	19
1. Tujuan.....	19
2. Dasar Teori	19
3. Alat dan Bahan	19
4. Prosedur Kerja.....	19

PRAKTIKUM 7: PEMISAHAN SENYAWA DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)	21
1. Tujuan.....	21
2. Dasar Teori.....	21
3. Alat dan Bahan	21
4. Prosedur Kerja.....	21
PRAKTIKUM 8: ANALISIS KUANTITATIF HASIL KLT MENGGUNAKAN METODE DENSITOMETRI	23
1. Tujuan.....	23
2. Dasar Teori.....	23
3. Alat dan Bahan	23
4. Prosedur Kerja.....	23
PRAKTIKUM 9: ANALISIS DAN VALIDASI DATA.....	25
1. Tujuan.....	25
2. Teknis Pelaksanaan	25
RESPONSI	25
1. Tujuan.....	25
2. Teknis Pelaksanaan	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	27
1. Format Logbook Mingguan.....	27
2. Format Laporan Akhir	31

TATA TERTIB

1. Setiap peserta harus hadir tepat pada waktu yang telah ditentukan. Apabila peserta terlambat lebih dari 15 (lima belas) menit dari waktu yang telah ditentukan, maka mahasiswa tidak diperkenankan mengikuti praktikum pada hari itu.
2. Selama mengikuti praktikum, peserta harus memakai sepatu (dilarang mengenakan sandal atau sepatu sandal), jas praktikum berwarna putih yang dikancingkan dengan rapi, masker, dan sarung tangan.
3. Setiap peserta wajib membuat dan mengumpulkan logbook mingguan yang diberi paraf oleh dosen/asisten sebelum mengikuti praktikum selanjutnya.
4. Setiap peserta bersama dengan kelompok mejanya wajib membuat laporan akhir dan dipresentasikan pada saat responsi.
5. Setiap peserta harus mengembalikan alat-alat yang telah dipakai dalam keadaan bersih dan kering. Sebelum meninggalkan ruang praktikum, peserta harus mengembalikan botol-botol bahan kimia yang telah ditutup rapat ke tempat semula.
6. Setiap peserta harus menjaga kebersihan dan kerapian laboratorium, bekerja dengan tertib, tenang dan teratur. Selama mengikuti praktikum atau menyelesaikan tugas, peserta harus menjaga sopan santun.
7. Setiap peserta harus melaksanakan semua mata praktikum dan mematuhi budaya Kesehatan dan Keselamatan Kerja (K3).
8. Setiap peserta harus mengikuti nasehat/keterangan dari dosen/asisten/laboran mengenai segala sesuatu yang berkaitan dengan hal yang kurang jelas sebelum melakukan pekerjaan laboratorium.
9. Setiap peserta diperbolehkan melakukan pekerjaan laboratorium di luar waktu praktikum untuk menyelesaikan tugasnya dengan didampingi asisten.
10. Tidak ada inhal. Bagi peserta yang berhalangan hadir karena alasan sakit atau izin diberi kesempatan untuk mengikuti praktikum kelompok lainnya (dengan catatan praktikum kelompok lainnya belum berlangsung) dengan meminta izin kepada coordinator praktikum.
11. Apabila peserta melanggar hal-hal yang telah diatur, maka yang bersangkutan dapat dikeluarkan dari laboratorium dan tidak diperkenankan untuk melanjutkan praktikum pada hari itu.
12. Hal-hal yang belum disebutkan di atas dan diperlukan untuk kelancaran praktikum akan diatur kemudian.
13. Peraturan di atas dapat berubah sewaktu-waktu sesuai dengan kebijakan tim pengampu.

KOMPONEN PENILAIAN

Basis Evaluasi	:	Komponen Evaluasi	Bobot (%)
1. Aktivitas Parsitipatif	:	Kehadiran, sikap	10
2. Hasil Praktikum	:	Logbook mingguan	15
		Laporan akhir	15
3. Kognitif/Pengetahuan		1. Pretest	10
		2. Posttest	10
		3. Responsi	40
		Jumlah Nilai	100

PRAKTIKUM 1: PEMBUATAN SIMPLISIA

1. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan tahapan pasca panen tanaman obat sesuai dengan standar yang ada

2. Dasar Teori

Simplisia adalah bahan alami yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Mutu simplisia sangat dipengaruhi oleh kadar air dan kandungan senyawa kimia di dalamnya. Proses pembuatan simplisia meliputi beberapa tahapan berikut (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017; World Health Organization, 2003):

- a. **Sortasi basah:** memisahkan bahan dari kotoran atau benda asing seperti tanah, kerikil, dan bagian tanaman lain yang tidak digunakan.
- b. **Pencucian:** menghilangkan sisa tanah dan mikroba yang menempel pada permukaan bahan.
- c. **Perajangan:** memperkecil ukuran bahan untuk memperluas permukaan sehingga pengeringan lebih cepat dan merata
- d. **Pengeringan:** mengurangi kadar air untuk menghentikan reaksi enzimatik (hidrolisis) dan mencegah pertumbuhan mikroba serta jamur. Pengeringan dapat dilakukan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam, atau menggunakan oven dengan suhu $\leq 60^{\circ}\text{C}$.
- e. **Sortasi kering:** memisahkan benda asing yang masih tertinggal setelah proses pengeringan.

3. Alat dan Bahan

- a. **Alat:** Pisau *stainless steel*, talenan, nampan, sikat halus, timbangan analitik, oven pengering, wadah kedap udara, label
- b. **Bahan:** Rimpang segar kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), kunyit kuning (*Curcuma longa*), Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), air bersih

4. Prosedur Kerja

a. Sortasi basah

- 1) Ambil rimpang segar, pisahkan dari akar-akar serabut yang masih menempel dan buang bagian rimpang yang busuk.

b. Pencucian

- 1) Cuci rimpang di bawah air mengalir. Gunakan sikat halus untuk membersihkan tanah di sela sela rimpang hingga benar-benar bersih dan tiriskan.
- 2) Timbang berat bersih rimpang segar dan catat di logbook sebagai **berat awal (W_{awal})**

c. Perajangan

- 1) Iris rimpang secara melintang dengan ketebalan 2-3 mm.

d. Pengeringan

- 1) Susun irisan rimpang di atas nampan, pastikan tidak saling bertumpuk.
- 2) Masukkan ke dalam oven dengan suhu $\leq 60^{\circ}\text{C}$.
- 3) Estimasi proses selesai jika irisan rimpang sudah bisa dipatahkan dan tidak lentur.

e. Sortasi kering

- 1) Pisahkan irisan yang gosong atau berjamur (jika ada).
- 2) Timbang berat kering simplisia dan catat di logbook sebagai **berat kering (W_{akhir})**.

f. Penyimpanan

- 1) Masukkan ke dalam plastic klip atau wadah kedap udara.
- 2) Beri label lengkap termasuk nama latin dan tanggal pembuatan

PRAKTIKUM 2: STANDARDISASI MUTU SIMPLISIA

1. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pengujian parameter non-spesifik dan spesifik dari simplisia sesuai dengan standar yang ada.

2. Dasar Teori

Standardisasi simplisia merupakan serangkaian parameter, prosedur, dan cara pengukuran yang hasilnya digunakan sebagai penjamin bahwa suatu simplisia tersebut telah terjamin kualitas dan mutunya. Parameter ini secara umum dibagi menjadi 2, yaitu non-spesifik dan spesifik. Parameter non-spesifik berfokus pada aspek eksternal dan higienitas bahan meliputi susut pengeringan, kadar abu, cemaran mikroba, dan cemaran logam berat, sedangkan parameter spesifik berfokus pada aspek identitas dan kandungan kimianya seperti organoleptis, pengamatan mikroskopis, dan kadar sari larut air/etanol (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017; World Health Organization, 1998).

3. Alat dan Bahan

- a. **Alat:** Mikroskop, gelas objek dan penutup, kurs porselen, tanur, oven, timbangan analitik, mortar, stamper, blender, desikator, cawan penguap porselen.
- b. **Bahan:** Simplisia kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), kunyit kuning (*Curuma longa*), Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), akuades.

4. Prosedur Kerja

a. Parameter spesifik

1) Organoleptis

- i. Amati pemerian dari simplisia yang telah dibuat
- ii. Dokumentasikan dan bandingkan dengan referensi (Farmakope Herbal Indonesia).

2) Pengamatan mikroskopis

- i. Letakkan sedikit serbuk simplisia di atas gelas objek.
- ii. Teteskan 1-2 tetes akuades, lalu tutup dengan kaca penutup.
- iii. Amati di bawah mikroskop. Cari fragmen pengenalan khusus sesuai dengan referensi (Farmakope Herbal Indonesia) dan dokumentasikan.

b. Parameter non-spesifik

1) Susut pengeringan

- i. Bersihkan cawan penguap porselen, keringkan dalam oven 105°C selama 30 menit, dinginkan dalam desikator, timbang beratnya (W_0).
- ii. Masukkan 1-2 gr serbuk simplisia ke dalam wadah tersebut, timbang seksama berat wadah + sampel (W_1).
- iii. Masukkan ke dalam oven 105°C dan panaskan selama 3-5 jam.
- iv. Keluarkan wadah dalam kondisi tertutup, masukkan ke dalam desikator hingga dingin.
- v. Timbang kembali beratnya (W_2).
- vi. Hitung susut pengeringan dengan rumus sebagai berikut, dan bandingkan dengan referensi (Farmakope Herbal Indonesia):

$$\text{Susut Pengeringan (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

- vii. Jika belum sesuai standar, proses pengeringan harus dilanjutkan.

2) Kadar abu total

- i. Panaskan kurs porselen kosong di dalam tanur pada suhu 600°C.
- ii. Matikan tanur, tunggu hingga suhu turun sekitar 100-200°C, lalu keluarkan kurs dengan tang.
- iii. Dinginkan kurs porselen dalam desikator, lalu timbang beratnya (W_0).
- iv. Timbang 2 gr serbuk simplisia, masukkan ke dalam kurs porselen, ratakan serbuk di dasar kurs, timbang (W_1).
- v. Masukkan kurs berisi sampel ke dalam tanur.
- vi. Naikkan suhu bertahap hingga mencapai 600°C.
- vii. Pijarkan hingga menjadi abu (berwarna putih/abu-abu) dan tidak terlihat lagi butiran hitam (arang).
- viii. Matikan tanur, tunggu hingga suhu turun sekitar 100-200°C, lalu keluarkan kurs dengan tang.
- ix. Masukkan ke dalam desikator hingga dingin sempurna, lalu timbang berat kurs+abu (W_2).
- x. Hitung kadar abu total dengan rumus sebagai berikut, dan bandingkan dengan referensi (Farmakope Herbal Indonesia):

$$\text{Kadar Abu Total (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

PRAKTIKUM 3: PEMBUATAN EKSTRAK

1. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan proses ekstraksi simplisia rimpang menggunakan metode ekstraksi tradisional

2. Dasar Teori

Ekstraksi adalah proses pemisahan bagian tertentu dari tanaman atau hewan yang aktif sebagai obat dari bagian yang *inert*. Pada umumnya, ekstraksi pada tanaman obat ditujukan untuk mengambil metabolit sekunder dengan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi secara tradisional dibagi menjadi 2, yaitu metode dingin dan panas (BPOM RI, 2023; Handa et al., 2008; Jha & Sit, 2022):

- a. **Metode dingin:** terdiri atas maserasi dan perkolasi. Maserasi mengandalkan keseimbangan konsentrasi melalui perendaman, sedangkan perkolasi mengandalkan aliran pelarut yang selalu baru melalui serbuk simplisia. Metode ini cocok untuk senyawa yang tidak tahan panas (thermolabil).
- b. **Metode panas:** terdiri atas beberapa metode seperti Soxhlet dan refluks. Soxhlet menggunakan siklus pelarut yang berkelanjutan, sedangkan refluks menggunakan pemanasan pada titik didih pelarut dengan pendinginan balik. Metode ini secara umum lebih cepat dan efisien, namun hanya untuk senyawa yang tahan panas (thermostabil).

3. Alat dan Bahan

- a. **Alat:** Gelas beaker, batang pengaduk, percolator, kapas, kertas saring, alat Soxhlet, mantel pemanas, batu didih, labu alas bulat, kondensor, gelas ukur, corong Buchner, timbangan analitik, Erlenmeyer.
- b. **Bahan:** Serbuk simplisia kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), kunyit kuning (*Curcuma longa*), Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), pelarut (etanol 70%).

4. Prosedur Kerja

a. Maserasi

- 1) Timbang 50 gr serbuk simplisia, masukkan ke dalam botol gelap atau wadah kaca yang tertutup rapat.
- 2) Tambahkan 500 ml etanol 70% (rasio 1:10).
- 3) Tutup wadah dengan rapat dan lapiasi tutup dengan plastic wrap/segel bila perlu.

- 4) Lakukan pengadukan dengan batang pengaduk selama minimal 15 menit secara berkala (~3 kali sehari).
- 5) Proses dilakukan selama 3x24 jam. Catat setiap waktu pengadukan di dalam logbook.
- 6) Setelah 3 hari, saring campuran menggunakan kertas saring dengan bantuan corong Buchner.
- 7) Endapan yang masih basah (*marc*) diperas dengan cara ditekan-tekan pada corong hingga seluruh filtrat tertampung.
- 8) Simpan maserat cair dalam wadah tertutup.

b. Perkolasi

- 1) Timbang 50 gr serbuk simplisia
- 2) Campur serbuk dengan sedikit etanol 70% dalam wadah tertutup hingga lembab merata. Diamkan selama ± 2 jam.
- 3) Siapkan alat percolator: masukkan kapas di dasar percolator, lalu masukkan sampel yang telah dilembabkan sedikit demi sedikit sambil ditekan ringan dengan batang pengaduk.
- 4) Tambahkan etanol 70% ke dalam percolator hingga lapisan pelarut di atas permukaan sampel, kemudian tutup bagian atas percolator.
- 5) Buka kran percolator hingga sedikit pelarut mulai menetes, lalu tutup kembali. Biarkan sampel terendam selama 24 jam.
- 6) Setelah 24 jam, buka kran dan biarkan perkolat menetes perlahan (± 1 ml per menit).
- 7) Tambahkan terus pelarut baru di atas sampel agar permukaan simplisia tidak kering, hingga perkolat yang menetes berwarna bening (maksimal 500 ml).
- 8) Simpan perkolat dalam wadah tertutup.

c. Soxhletasi

- 1) Timbang 50 gr serbuk simplisia.
- 2) Buat selongsong (thimble) dari kertas saring yang diikat membentuk silinder sesuai diameter alat Soxhlet, kemudian masukkan sampel ke dalamnya.
- 3) Masukkan selongsong ke dalam ruang ekstraksi Soxhlet, pastikan tinggi selongsong tidak melebihi pipa sifon.
- 4) Isi labu alas bulat dengan 300-400 ml etanol 70% (sekitar 1,5 – 2 kali volume sirkulasi) dan tambahkan batu didih.
- 5) Rangkai alat Soxhlet secara keseluruhan (mantel pemanas, labu alas bulat, alat Soxhlet, kondensor).

- 6) Nyalakan sistem kondensor dan panaskan labu menggunakan mantel pemanas. Atur suhu agar terjadi sirkulasi (tetesan kembali).
- 7) Lakukan ekstraksi hingga cairan di dalam sifon menjadi jernih, atau maksimal ± 10 sirkulasi.
- 8) Biarkan alat mendingin, lalu ambil ekstrak cair dari labu alat bulat dan simpan dalam wadah tertutup.

d. Refluks

- 1) Timbang 50 gr serbuk simplisia, masukkan ke dalam labu alat bulat.
- 2) Tambahkan 500 ml etanol 70% dan tambahkan batu didih.
- 3) Pasang kondensor secara vertical di atas labu dan nyalakan sistemnya.
- 4) Panaskan labu menggunakan mantel pemanas hingga pelarut mendidih.
- 5) Hitung waktu ekstraksi selama 2 jam dihitung sejak pelarut mulai mendidih.
- 6) Setelah selesai, matikan pemanas dan biarkan labu mendingin.
- 7) Saring campuran selagi masih hangat menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat.
- 8) Simpan filtrat dalam wadah tertutup.

PRAKTIKUM 4: PEMEKATAN DAN STANDARDISASI MUTU EKSTRAK

1. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan proses pemekatan ekstrak dan menguji parameter standar dari ekstrak yang dibuat.

2. Dasar Teori

Ekstrak cair yang dihasilkan dari metode ekstraksi tradisional pada umumnya masih mengandung sangat banyak pelarut organik seperti etanol atau metanol, dan konsentrasi senyawanya masih encer. Untuk mendapatkan konsentrasi senyawa aktif yang tinggi, pelarut harus diuapkan. Salah satu metode penguapan yang efektif adalah dengan menggunakan *rotary evaporator* yang bekerja berdasarkan prinsip penurunan titik didih pelarut melalui tekanan (vakum), sehingga senyawa aktif tidak rusak oleh panas berlebih (BPOM RI, 2023; Handa et al., 2008).

Ekstrak yang sudah dipekatkan juga harus melalui proses standardisasi untuk menjamin konsistensi mutu. Beberapa parameter yang dapat diuji juga dibagi menjadi non-spesifik dan spesifik. Contoh parameter non-spesifik adalah rendemen (persentase bobot ekstrak yang didapatkan dibandingkan dengan bobot simplisia awal) dan kadar air. Parameter spesifik dari ekstrak meliputi pengamatan organoleptis untuk deskripsi pemerian dan identifikasinya, serta analisis kandungan kimianya (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017; World Health Organization, 1998).

3. Alat dan Bahan

- a. **Alat:** *Rotary evaporator*, cawan penguap porselen, *water bath*, timbangan analitik, batang pengaduk, spatula, cawan porselen, oven, desikator.
- b. **Bahan:** Ekstrak cair kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), kunyit kuning (*Curuma longa*), Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*).

4. Prosedur Kerja

a. Pemekatan ekstrak

- 1) Masukkan ekstrak cair ke dalam labu alas bulat (maksimal 2/3 volume labu).
- 2) Pasang labu pada alat *rotary evaporator*.
- 3) Atur suhu *water bath* pada 40-50°C.

- 4) Jalankan aliran air pendingin kondensor, nyalakan putaran labu, dan aktifkan pompa vakum secara bertahap.
- 5) Lakukan proses hingga pelarut tidak lagi menetes ke labu penampung dan ekstrak terlihat mengental.
- 6) Timbang cawan penguap (W_{cawan}).
- 7) Pindahkan ekstrak setengah kental dari labu alas bulat ke dalam cawan penguap.
- 8) Bila perlu, bilas labu alas bulat dengan sedikit etanol agar tidak ada ekstrak yang tertinggal.
- 9) Uapkan sisa pelarut di atas *water bath* pada suhu rendah sambil diaduk terus-menerus hingga didapatkan ekstrak kental (ekstrak tidak menetes atau mengalir perlahan).

b. Pengamatan organoleptis

- 1) Amati dan catat pemeriahannya, serta bandingkan dengan referensi (Farmakope Herbal Indonesia).

c. Penghitungan rendemen

- 1) Timbang cawan berisi ekstrak kental (W_{akhir}).
- 2) Hitung berat ekstrak bersih (W_{ekstrak}) dengan rumus [$W_{\text{ekstrak}} = W_{\text{akhir}} - W_{\text{cawan}}$]
- 3) Hitung rendemen dengan umus berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak bersih (g)}}{\text{Berat Simplisia Awal (g)}} \times 100\%$$

d. Pengukuran kadar air

- 1) Keringkan cawan porselen kosong dalam oven suhu 105°C selama 30 menit, dinginkan dalam desikator, lalu timbang kosongnya (W_0)
- 2) Timbang 1 gr ekstrak kental lalu masukkan ke dalam cawan, ratakan, dan timbang (W_1)
- 3) Masukkan cawan berisi sampel ke dalam oven suhu 105°C selama ± 3 jam.
- 4) Dinginkan cawan berisi ekstrak ke dalam desikator hingga dingin.
- 5) Timbang cawan berisi sampel yang telah dipanaskan (W_2)
- 6) Hitung kadar air dengan rumus berikut, dan bandingkan dengan referensi (Farmakope Herbal Indonesia):

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

PRAKTIKUM 5: SKRINING FITOKIMIA

1. Tujuan

Mahasiswa mampu mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak menggunakan reaksi warna dan pengendapan

2. Dasar Teori

Skrining fitokimia merupakan tahap awal untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam suatu simplisia atau ekstrak. Sebagian besar metode yang digunakan dalam pengujian fitokimia merupakan reaksi pengujian warna dan pengendapan dengan berbagai macam pereaksi. Metode yang digunakan pada skrining fitokimia harus memenuhi beberapa kriteria seperti sederhana, cepat, spesifik, dan sensitif. Golongan senyawa yang umum dideteksi dengan metode ini adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, terpenoid, glikosida, dan sebagainya (Nortjie et al., 2022; World Health Organization, 1998).

3. Alat dan Bahan

- a. **Alat:** Timbangan analitik, pipet tetes, pembakar spiritus, tabung reaksi dan raknya, penjepit tabung, plat tetes
- b. **Bahan:** Ekstrak kental kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), kunyit kuning (*Curcuma longa*), Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), HCl, akuades, pereaksi skrining fitokimia, gelatin 1% dalam NaCl 10%, serbuk magnesium, NaOH 1N.

4. Prosedur Kerja

a. Skrining alkaloid

- 1) Timbang 100 mg ekstrak kemudian larutkan dalam 1 ml HCl 2N dan 9 ml akuades, saring dengan kertas saring
- 2) Masukkan 0,5 ml filtrat ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda, lalu tambahkan 3 pereaksi yang berbeda: pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff masing-masing 2 tetes.
- 3) Alkaloid dianggap positif apabila terjadi endapan dan kekeruhan pada setidaknya dua dari tiga reaksi tersebut.

b. Skrining flavonoid

- 1) Timbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades.
- 2) Tambahkan sedikit serbuk magnesium dan 2-4 tetes HCl pekat.
- 3) Flavonoid dianggap positif jika terbentuk perubahan warna merah, jingga, atau kuning tua.

c. Skrining senyawa fenolik

- 1) Timbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades.
- 2) Sebanyak 5 ml larutan direaksikan dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%
- 3) Senyawa fenolik dianggap positif jika terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua pekat.

d. Skrining tanin

- 1) Timbang 100 mg ekstrak kemudian dilarutkan dalam 10 ml akuades.
- 2) Bagi larutan menjadi 2 tabung.
- 3) Tambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1% kepada tabung 1.
- 4) Tambahkan beberapa tetes gelatin 1% dalam NaCl 10% kepada tabung 2.
- 5) Tanin dianggap positif jika terbentuk warna hijau tua kehitaman atau biru tua pekat pada tabung 1.
- 6) Tanin dianggap positif jika terbentuk endapan warna putih pada tabung 2.

e. Skrining monoterpen dan seskuiterpen

- 1) Timbang 100 mg ekstrak dan larutkan dengan eter.
- 2) Uapkan fase eter dalam cawan penguap hingga kering.
- 3) Teteskan pereaksi vanillin sulfat atau anisaldehid sulfat kepada residu.
- 4) Monoterpen dan seskuiterpen dianggap positif jika terbentuk perubahan warna.

f. Skrining steroid dan triterpenoid

- 1) Timbang 100 mg ekstrak dan larutkan dengan eter.
- 2) Uapkan fase eter dalam cawan penguap hingga kering.
- 3) Teteskan pereaksi Lieberman-Burchard kepada residu.
- 4) Steroid dianggap positif jika terjadi perubahan warna hijau atau biru, sedangkan triterpenoid dianggap positif jika terjadi perubahan warna ungu.

g. Skrining kuinon

- 1) Timbang 100 mg ekstrak dan larutkan dalam 10 ml akuades.
- 2) Tambahkan larutan NaOH 1N kepada larutan.
- 3) Kuinon dianggap positif jika terjadi perubahan warna merah.

h. Skrining saponin

- 1) Timbang 100 mg ekstrak dan larutkan dalam 10 ml akuades.
- 2) Kocok larutan dengan kuat selama 10 detik dan biarkan selama 10 menit
- 3) Saponin dianggap positif dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl encer.

PRAKTIKUM 6: FRAKSINASI EKSTRAK

1. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pemisahan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak berdasarkan perbedaan sifat fisikokimianya menggunakan metode ekstraksi cair-cair.

2. Dasar Teori

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan komponen kimia dari ekstrak kasar menjadi beberapa fraksi yang lebih sederhana. Metode yang paling umum digunakan adalah ekstraksi cair-cair, di mana kandungan kimia dari suatu ekstrak dipisahkan dengan pelarut yang tidak saling bercampur (*immiscible*) dan dikocok dalam corong pisah. Senyawa akan terdistribusi di antara kedua pelarut berdasarkan sifat fisikokimianya seperti tingkat kepolarannya (Abubakar & Haque, 2020). Dalam praktikum ini, fraksinasi bertingkat dilakukan dengan menggunakan:

- a. **n-Heksan**: untuk menarik senyawa non-polar (lipid, steroid, triterpenoid)
- b. **Etil asetat** untuk menarik senyawa semipolar (beberapa flavonoid)
- c. **Etanol 70%**: berisi senyawa-senyawa polar.

3. Alat dan Bahan

- a. **Alat**: Corong pisah dan kelengkapannya, gelas beaker, gelas ukur, Erlenmeyer, cawan penguap, batang pengaduk
- b. **Bahan**: Ekstrak kental kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), kunyit kuning (*Curcuma longa*), Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), n-heksan, etil asetat, etanol 70%.

4. Prosedur Kerja

a. Persiapan sampel

- 1) Timbang 5 gr ekstrak kental.
- 2) Larutkan dalam 50 ml etanol 70%. Pastikan terlarut sempurna dan tidak ada gumpalan atau endapan.

b. Teknik penggunaan corong pisah

- 1) Pastikan kran corong pisah dalam posisi tertutup dan tidak bocor.
- 2) Masukkan larutan sampel ke dalam corong pisah menggunakan corong kaca.
- 3) Tambahkan pelarut pengestraksi (dimulai dari n-heksan) dengan volume yang sama (50 ml). Jangan mengisi corong pisah lebih dari 2/3 volume.

c. Fraksinasi n-heksan

- 1) Pasang tutup corong pisah dengan rapat. Pegang bagian badan corong dengan satu tangan dan jari telunjuk menahan tutupnya.
- 2) Lepaskan corong dari statif, balikkan corong hingga kran menghadap ke atas dan menjauh dari wajah.
- 3) Lakukan pengocokan dengan gerakan bolak-balik perlahan (inversi) sebanyak 2-3 kali.
- 4) Berhenti sejenak, lakukan buka kran untuk mengeluarkan gas (venting).
- 5) Ulangi proses ini (kocok-venting) terus menerus selama 5-10 menit.
- 6) Pasang kembali corong pada statif dan buka sedikit tutup bagian atasnya agar tekanan seimbang.
- 7) Diamkan selama 10-15 menit hingga terbentuk dua lapisan (n-heksan di atas, fase air di bawah).
- 8) Buka kran perlahan untuk mengeluarkan fase air dan tampung ke dalam gelas beaker bersih (jangan dibuang).
- 9) Tampung fase n-heksan ke dalam wadah tersendiri dan beri label.
- 10) Masukkan kembali fase air ke dalam corong pisah, tambahkan 50 ml n-heksan baru, dan ulangi prosedur pengocokan (minimal 2 kali pengulangan).

d. Fraksinasi etil asetat

- 1) Masukkan **fase air** kembali ke dalam corong pisah. Tambahkan 50 ml etil asetat.
- 2) Lakukan pengocokan, venting, dan pemisahan mirip dengan prosedur sebelumnya.
- 3) Tampung fraksi etil asetat ke dalam wadah berbeda dan ulangi minimal 2 kali. Beri label yang jelas

e. Tahap akhir

- 1) Tampung fraksi air ke dalam wadah berbeda. Beri label yang jelas.
- 2) Evaluasi secara organoleptis masing-masing fraksi, dokumentasikan, dan catat di logbook.

f. Pemekatan

- 1) Pekatkan fraksi n-heksan dan etil asetat menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu rendah (30-45°C).
- 2) Hentikan saat volume sudah berkurang banyak, lalu pindahkan ke cawan penguap dan uapkan di atas *water bath* hingga kental.
- 3) Uapkan fraksi air di atas *water bath* dengan suhu maksimal 60°C.
- 4) Simpan masing-masing fraksi dalam wadah kaca kecil yang tertutup rapat dan beri label yang jelas.

PRAKTIKUM 7: PEMISAHAN SENYAWA DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)

1. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pemisahan senyawa kimia dalam ekstrak atau fraksi menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

2. Dasar Teori

Kromatografi lapis tipis adalah teknik pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi senyawa antara fase diam (silika gel) dan fase gerak (eluen). Pada umumnya, fase gerak merupakan campuran pelarut yang bersifat non-polar, sehingga senyawa yang lebih non-polar akan terbawa lebih jauh oleh fase gerak (nilai R_f tinggi), sedangkan senyawa polar akan terikat kuat pada silika gel (nilai R_f rendah) (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Kurkumin adalah marker utama pada rimpang *Zingiberaceae* (kunyit dan temulawak). Pada plat KLT, kurkuminoid biasanya muncul sebagai noda berwarna kuning-jingga di bawah cahaya dan berfluoresensi di bawah lampu UV 425 nm (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

3. Alat dan Bahan

- a. Alat:** Plat KLT silika gel GF254, bejana KLT, pipa kapiler, lampu UV, gelas ukur, pinset, pensil 2B, penggaris.
- b. Bahan:** Fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dari kunyit putih (*Curcuma zedoaria*), kunyit kuning (*Curcuma longa*), Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), larutan standar kurkumin, n-heksan, etil asetat, etanol 70%.

4. Prosedur Kerja

a. Penyiapan seri pengenceran standar

- 1) Siapkan larutan stok kurkumin 0,1% dalam 1 ml etanol pro analisis (>96%).
- 2) Buat seri pengenceran dengan konsentrasi 0,05% dan 0,025% dengan etanol pro analisis.
- 3) Pastikan tabung/wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

b. Penyiapan larutan sampel

- 1) Timbang 10 mg fraksi kental dan larutkan dalam 1 ml etanol pro analisis.
- 2) Homogenkan dan catat konsentrasinya (10 mg/ml)

c. Penyiapan fase gerak dan saturasi bejana

- 1) Buat campuran pelarut n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 1:1 dan homogenkan.
- 2) Tuangkan campuran ke dalam bejana hingga ketinggian 0,5 cm.
- 3) Masukkan kertas saring ke dalam bejana dan tutup rapat.
- 4) Tunggu hingga kertas saring basah seluruhnya (tanda uap pelarut telah jenuh).

d. Persiapan plat KLT

- 1) Siapkan plat silika gel GF254 dengan ukuran 10x10 cm.
- 2) Tandai dengan pensil 2B:
 - i. Garis batas bawah (penotolan) 1,5 cm dari tepi bawah
 - ii. Garis batas atas (elusi) 0,5 cm dari tepi atas
 - iii. Sembilan titik penotolan (3 standar, 3 titik untuk fraksi kelompok 1, 3 titik untuk fraksi kelompok 2).

e. Penotolan sampel dan standar

- 1) Gunakan pipa kapiler yang berbeda untuk setiap standar dan sampel agar tidak terkontaminasi.
- 2) Totolkan $\pm 2\mu\text{l}$ standar dan semua fraksi sesuai dengan titiknya.
- 3) Usahakan diameter totolan sekecil mungkin ($\leq 3\text{ mm}$). Tunggu kering sebelum menotol ulang.

f. Elusi KLT

- 1) Masukkan plat ke dalam bejana jenuh dengan pinset.
- 2) Pastikan titik penotolan berada di atas permukaan fase gerak (tidak terendam).
- 3) Tutup bejana dan biarkan fase gerak naik hingga batas atas.
- 4) Keluarkan plat, beri tanda batas pelarut dengan pensil, lalu keringkan.

g. Visualisasi dan perhitungan R_f

- 1) Amati plat KLT di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm.
- 2) Ukur jarak tempuh noda yang sejajar dengan kurkumin pada setiap fraksi.
- 3) Hitung nilai R_f untuk setiap noda.

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh noda}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

PRAKTIKUM 8: ANALISIS KUANTITATIF HASIL KLT MENGGUNAKAN METODE DENSITOMETRI

1. Tujuan

Mahasiswa mampu mengoperasikan alat densitometer dan menganalisis kuantitatif hasil kromatografi lapis tipis.

2. Dasar Teori

Densitometri adalah metode analisis instrument yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan noda pada plat KLT. Alat densitometer mengukur intensitas serapan cahaya (absorbansi) atau fluoresensi dari noda di plat KLT. Hasil analisisnya berupa kromatogram dengan puncak-puncak yang memiliki luas area (AUC – area under curve). Luas area ini berbanding lurus dengan jumlah/massa/konsentrasi senyawa dalam noda (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

3. Alat dan Bahan

- a. **Alat:** plat KLT dari praktikum 7, densitometer, perangkat lunak pengolah data.
- b. **Bahan:** -

4. Prosedur Kerja

a. Pengukuran dengan densitometer

- 1) Nyalakan densitometer sesuai dengan instruksi kerja alat.
- 2) Masukkan plat KLT ke dalam densitometer.
- 3) Atur panjang gelombang maksimum untuk kurkumin yaitu 425 nm.
- 4) Lakukan *scan* pada seluruh lintasan jalur penotolan mulai dari titik 1 sampai 9.
- 5) Identifikasi puncak sesuai dengan nilai R_f kurkumin pada setiap lintasan.
- 6) Catat nilai AUC untuk setiap puncak kurkumin yang terdeteksi.

b. Pembuatan kurva kalibrasi

- 1) Hitung massa standar kurkumin yang ada pada setiap totolan (dalam μg). Jika menotolkan 2 μl dari larutan 0,1% (1 mg/ml), maka massa = 2 μg .
- 2) Buat tabel hubungan antara massa standar (x) dan luas area (y).
- 3) Buat regresi linearnya.

c. Perhitungan kadar sampel

- 1) Masukkan nilai AUC sampel (y) ke dalam persamaan regresi linear untuk mendapatkan massa kurkumin dalam sampel (x).
- 2) Hitung kadar kurkumin dalam ekstrak dengan rumus:

$$Kadar\ kurkumin\ (\%) = \frac{Massa\ kurkumin\ (\mu g)}{Massa\ ekstrak\ dalam\ totolan\ (\mu g)} \times 100\%$$

PRAKTIKUM 9: ANALISIS DAN VALIDASI DATA

1. Tujuan

Mahasiswa mampu mengintegrasikan data dari setiap tahapan praktikum ke dalam sebuah laporan akhir berbentuk narasi ilmiah.

2. Teknis Pelaksanaan

- a. Mahasiswa melakukan rekapitulasi data dari praktikum pertama hingga terakhir.
- b. Mahasiswa menyusun laporan akhir sesuai dengan format yang sudah ditetapkan.
- c. Mahasiswa membahas hasil secara komprehensif termasuk kendala yang dihadapi, penyebabnya, dan solusinya.

RESPONSI

1. Tujuan

Mahasiswa mampu mempresentasikan laporan akhir secara sistematis dan ilmiah untuk menunjukkan penguasaan materi di bidang farmakognosi dan fitokimia.

2. Teknis Pelaksanaan

- a. Presentasi maksimal 30 menit setiap kelompok meja termasuk sesi tanya jawab.
- b. Mahasiswa mempresentasikan seluruh isi dari laporan akhir secara komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- BPOM RI. (2023). *Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Alam Berbasis Ekstraksi/Fraksi* (No. 1). BPOM RI.
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (Eds.). (2008). *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. (Original work published International Centre for Science and High Technology (ICS-UNIDO))
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579–591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Kementrian Kesehatan RI.
- Nortjie, E., Basitere, M., Moyo, D., & Nyamukamba, P. (2022). Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review. *Plants*, 11(15), 2011. <https://doi.org/10.3390/plants11152011>
- World Health Organization (Ed.). (1998). *Quality control methods for medicinal plant materials*. World Health Organization.
- World Health Organization. (2003). *WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants* (WHO Technical Report Series). <https://www.who.int/publications/i/item/9241546271>

LAMPIRAN

1. Format Logbook Mingguan

LOGBOOK MINGGUAN Praktikum Farmakognosi dan Fitokimia [Judul Praktikum]  Disusun oleh: Nama NIM Kelompok SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NOTOKUSUMO YOGYAKARTA 2026
--

Logbook mingguan (1/4) – Cover (boleh diketik dan print)

NIM - Nama

LOGBOOK MINGGUAN

A. Judul Praktikum

.....

B. Tujuan

.....

C. Dasar Teori

.....

.....

.....

D. Alat dan Bahan (Disesuaikan dengan bahan masing-masing kelompok)

.....

.....

E. Prosedur Kerja

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Halaman ... / ...

Logbook mingguan (2/4) – Detail Praktikum (tuliskan tangan)

NIM - Nama

LOGBOOK MINGGUAN

Tanggal – Jam

Uraian kegiatan

.....

Hasil

.....

Kendala

.....

Paraf Dosen / Asisten

Tanggal – Jam

Uraian kegiatan

.....

Hasil

.....

Kendala

.....

Paraf Dosen / Asisten

Tanggal – Jam

Uraian kegiatan

.....

Hasil

.....

Kendala

.....

Paraf Dosen / Asisten

Halaman ... / ...

Logbook mingguan (3/4) – Uraian Kegiatan (tuliskan tangan)

NIM - Nama

LAMPIRAN

Hasil berupa foto / gambar / scan bisa dilampirkan di sini dan diberi keterangan

Halaman ... / ...

Logbook mingguan (4/4) – Lampiran (boleh diketik dan print)

2. Format Laporan Akhir

Mahasiswa bersama dengan kelompok mejanya ditugaskan untuk menuliskan seluruh kegiatan yang dilakukan selama praktikum secara komprehensif dengan format seperti manuskrip publikasi dan dipresentasikan saat responsi.

Ketentuan laporan akhir:

1. Diketik pada kertas berukuran A4
2. Font: Times New Roman ukuran 12; spasi 1,5
3. Nama dan NIM dituliskan di cover
4. Struktur penulisan:
 - a. Pendahuluan
 - b. Metode, alat dan bahan
 - c. Hasil praktikum dan pembahasan
 - d. Kesimpulan
 - e. Daftar Pustaka
 - f. Lampiran