

MODUL PRAKTIKUM BAHAN ALAM

(FARP534)



Tim penyusun:

apt. Fajar Agung Dwi Hartanto, M.Sc.

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

2024

KATA PENGANTAR

Modul Praktikum Bahan Alam adalah petunjuk tata laksana mata kuliah Praktikum Bahan Alam (FARP534) yang harus dilaksanakan oleh mahasiswa semester 5 Program Studi S1 Farmasi Stikes Notokusumo Yogyakarta tahun ajaran 2024/2025. Modul Praktikum Bahan Alam ini disusun dalam rangka memberikan bekal pengetahuan dan keterampilan bagi mahasiswa S1 Farmasi Stikes Notokusumo Yogyakarta. Modul praktikum ini bukan merupakan referensi yang dapat dijadikan pustaka untuk sebuah makalah ataupun laporan sehingga mahasiswa diharapkan tetap mempelajari referensi lain terkait keilmuan Bahan Alam untuk menambah pengetahuan dan memperkuat pemahaman atas ilmu yang dipelajari pada praktikum yang dikerjakan.

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

Yogyakarta, Agustus 2024

Tim penyusun

DAFTAR ISI TATA

TERTIB UMUM

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 laporan sementara sebelum mengikuti praktikum yang formatnya sudah ditentukan.
4. Setiap peserta wajib membuat catatan data praktikum dan ditandatangani dosen/asisten setelah selesai suatu acara praktikum.
5. Setiap peserta wajib membuat laporan akhir praktikum dan dikumpulkan sebelum mengikuti praktikum berikutnya.
6. 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.
7. Setiap peserta harus menjaga kebersihan dan kerapian laboratorium, bekerja dengan tertib, tenang dan teratur. Selama mengikuti praktikum, peserta harus bersikap sopan, baik dalam berbicara maupun bergaul.
8. Setiap peserta harus melaksanakan semua mata praktikum dan mematuhi budaya Kesehatan dan Keselamatan Kerja (K3).
9. Dapatkan nasehat/keterangan dari dosen atau asisten mengenai segala sesuatu yang berkaitan dengan hal yang kurang jelas sebelum melakukan percobaan.
10. Semua mahasiswa tidak dibenarkan bekerja di dalam laboratorium tanpa kehadiran dosen/asisten praktikum.
11. Mahasiswa yang sakit atau memiliki keperluan mendesak sehingga tidak dapat mengikuti praktikum pada hari yang telah terjadwal, diperbolehkan inhal (menunda praktikum) dengan mengirim surat ijin/permohonan praktikum inhal kepada dosen yang mengampu.

12. Apabila peserta praktikum melanggar hal-hal yang telah diatur di atas maka yang bersangkutan dapat dikeluarkan dari laboratorium dan tidak diperkenankan untuk melanjutkan praktikum pada hari itu. Kegiatan praktikum dinyatakan batal dan tidak diijinkan untuk inhal.
13. Hal-hal yang belum disebutkan di atas dan diperlukan untuk kelancaran praktikum akan diatur kemudian

FORMAT LAPORAN SEMENTARA

Penyusunan laporan sementara mengikuti format sebagai berikut:

JUDUL PRAKTIKUM

Nama mahasiswa :

NIM :

I. TUJUAN

II. DASAR TEORI

III. ALAT DAN BAHAN

IV. PROSEDUR KERJA

Prosedur kerja dituliskan secara skematis, berupa diagram alir.

V. DATA DAN KALKULASI

FORMAT LAPORAN AKHIR

Penyusunan laporan akhir mengikuti format sebagai berikut:

Halaman sampul:

PRAKTIKUM BAHAN ALAM

JUDUL TOPIK



Nama Mahasiswa

NIM Hari/tanggal
praktikum

Nama dosen pengampu

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
STIKES NOTOKUSUMO YOGYAKARTA

2024

Halaman isi, memuat:

JUDUL PRAKTIKUM

I. TUJUAN

II. DASAR TEORI

III. ALAT DAN BAHAN

IV. PROSEDUR KERJA

V. DATA DAN KALKULASI

VI. PEMBAHASAN

VII. KESIMPULAN

VIII. DAFTAR PUSTAKA

Merupakan laporan sementara yang telah
mendapatkan acc.

Asister Praktikum

ttd

Nama Asisten

Praktikan

ttd

Nama mahasiswa

PRAKTIKUM IA

Standarisasi Non Spesifik dan Spesifik Bahan Alam

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan standarisasi parameter non spesifik dan spesifik sampel bahan alam.

TEORI DASAR

Menurut Materia Medika Indonesia, 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 pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni. Simplisia menurut Farmakope Herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pegeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum dikeringkan. Nama latin simplisia ditetapkan dengan menyebutkan nama marga (genus), nama jenis (spesies) dan bila memungkinkan petunjuk jenis (varietas) diikuti dengan bagian yang digunakan. Beberapa tahapan yang dapat dilakukan untuk memperoleh simplisia kering yaitu meliputi metode pengumpulan sampel tumbuhan, pencucian sampel tumbuhan, pengeringan, dan metode ekstraksi dan isolasi tumbuhan. Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari. Metode analisis kimia tumbuhan (tahapan fitokimia) meliputi determinasi tanaman, standarisasi, skrining golongan kimia, ekstraksi dan isolasi bahan alam serta uji aktivitas biologi. Simplisia atau ekstrak memiliki kandungan kimia yang tidak dapat dijamin selalu stabil. Oleh karena itu, perlu dilakukan proses standarisasi yang tidak lain merupakan pemenuhan terhadap persyaratan sebagai bahan dan penetapan nilai berbagai parameter dari produk. Standarisasi simplisia dan ekstrak mempunyai pengertian bahwa simplisia atau ekstrak yang akan digunakan untuk obat sebagai bahan baku atau produk

memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi resmi yaitu Farmakope Herbal Indonesia Suplemen, Farmakope Herbal Indonesia, atau Materia Medika Indonesia. Parameter uji simplisia pada meliputi parameter non spesifik dan spesifik. Parameter non Spesifik merupakan tolok ukur bahan baku yang dapat berlaku untuk semua jenis simplisia, tidak khusus untuk jenis simplisia dari tanaman tertentu ataupun jenis proses yang telah dilalui. Ada beberapa parameter non spesifik yang ditetapkan untuk simplisia diantaranya penetapan kadar abu, penetapan kadar abu tidak latut asam, penetapan kadar abu larut air, penetapan kadar air dan penetapan susut pengeringan.

a. Penetapan kadar abu

Bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia

b. Parameter kadar air

Pengukuran kandungan air yang berada dalam bahan, dilakukan dengan cara yang tepat diantara titrasi, sedtilasi atau gravimetri. Tujuannya untuk memberikan Batasan minimal tentang besarnya kandungan air dalam bahan.

c. Parameter susut pengeringan

Pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperature 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan dalam berat persen. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di lingkungan udara terbuka. Tujuannya untuk memberikan Batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

Secara umum merdasarkan Materia Medika Indonesia jilid IV, kadar abu total tidak lebih dari 16,6%, susut pengeringan <11% dan kadar air <10%. Pada praktikum kali ini, kita akan menggunakan simplisia pegagan sebagai bahan pengujian.

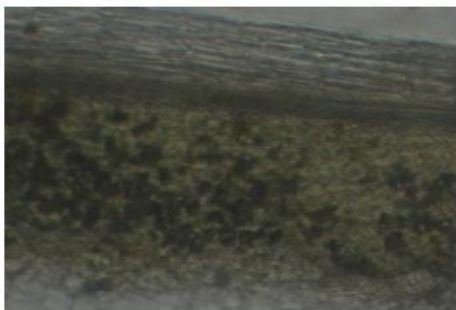
Pada praktikum kali ini, akan dilakukan standarisasi simplisia sebagai contoh yaitu Herba Pegagan. Menurut Farmakope Herbal, Herba Pegagan adalah seluruh bagian tumbuhan *Centella asiatica* (L.), suku Apiaceae mengandung asiatikosida tidak kurang dari 0,07%. Simplisia herba pegagan yang dapat dilihat pada Gambar 1. berupa daun yang menggulung dan berkeriput

disertai stolon dan tangkai daun yang terlepas warna hijau kelabu berbau aromatik lemah, mula-mula tidak berasa kemudian agak pahit, helai daun berbentuk ginjal atau berbentuk bundar, umumnya dengan tulang daun menjari; pangkal helaian daun berlekuk; ujung daun membuldar; pinggir daun beringgit sampai bergerigi; pinggir pangkal daun bergigi; permukaan daun umumnya licin, tulang daun pada permukaan bawah agak berambut; stolon dan tangkai daun berwarna cokelat kelabu berambut halus.

Analisis mikroskopik simplisia herba pegagan yang dapat dilihat pada Gambar 2. menggunakan mikroskop ditemukan fragmen pengenal berupa epidermis atas; urat daun dengan kristal kalsium oksalat roset; mesofil daun; berkas pengangkut dan epidermis bawah dengan stomata tipe anisositis dengan 2 sel tetangga kecil dan 1 sel tetangga lebih besar.



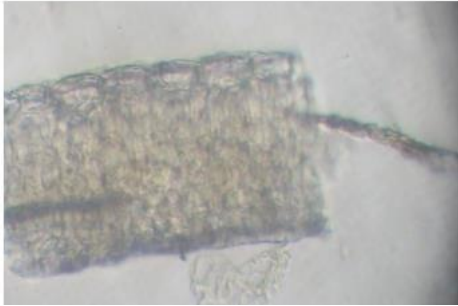
Gambar 1. Simplisia Herba Pegagan (Sumber: Farmakope Herbal Indonesia)



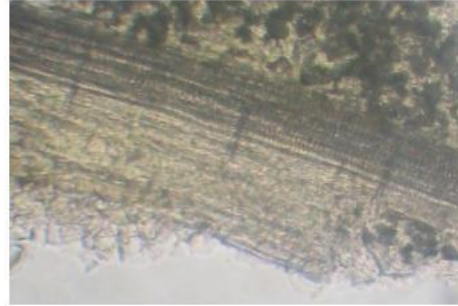
1. Epidermis atas



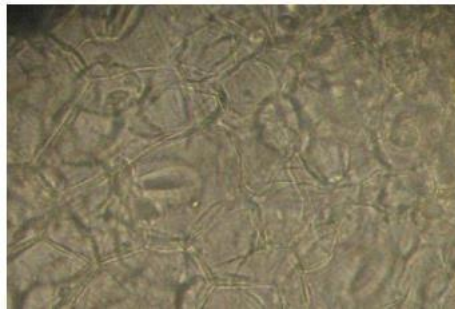
2. Urat daun dengan kristal kalsium oksalat



3. Mesofil daun



4. Berkas pengangkut



5. Epidermis bawah dengan stomata tipe anisositis dengan 2 sel tetangga kecil dan 1 sel tetangga lebih besar

Gambar 2. Mikroskopik Herba Pegagan (Sumber: Farmakope Herbal Indonesia)

Kromatografi adalah salah satu metode pemisahan komponen dalam suatu sampel dimana komponen tersebut didistribusikan di antara dua fasa yaitu fasa gerak dan fasa diam. Kebanyakan penjerap atau fase diam yang digunakan adalah silika gel karena telah tersedia plat yang siap pakai. Sedangkan fase gerak yang digunakan adalah sistem pelarut multikomponen, berupa suatu campuran sederhana, terdiri atas beberapa komponen. Setelah itu plat ditempatkan dalam bejana tertutup rapat berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan, hasil pemisahan yang diperoleh diidentifikasi dibawah lampu UV (254 nm dan 366 nm).

Pada UV 254 nm, lempeng akan berfluoresensi sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm disebabkan adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Pada UV 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut.

Pelarut sebagai fasa gerak atau eluen merupakan faktor yang menentukan gerakan komponen-komponen dalam campuran. Pemilihan pelarut tergantung pada sifat kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Kekuatan dari elusi deret-deret pelarut untuk senyawa-senyawa dalam KLT dengan menggunakan silika gel akan turun dengan urutan sebagai berikut : air murni > metanol > etanol > propanol > aseton > etil asetat > kloroform > metil klorida > benzena > toluena > trikloroetilen > tetraklorida > sikloheksana > heksana. Fasa gerak yang bersifat lebih polar digunakan untuk mengelusi senyawa-senyawa yang adsorbsinya kuat, sedangkan fasa gerak yang kurang polar digunakan untuk mengelusi senyawa yang adsorbsinya lemah.

ALAT

1. Mikroskop
2. Timbangan
3. Oven
4. Kurs porselin
5. Eksikator
6. Tanur
7. Penangas air
8. Cawan penguap
9. Penjepit kayu
10. Mikroskop
11. Objec glass
12. Deck glass

BAHAN

1. Simplisia Uji
2. Aquadest
3. Kertas saring
4. Kloroform
5. Methanol
6. Plat silika GF254

Prosedur kerja:

Standarisasi Non Spesifik

a. Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2–4gram sampel ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dioven 15 menit untuk menghilangkan sisa air dan disimpan di eksikator selama 5 menit untuk menyeimbangkan kelembaban. Selanjutnya masukkan ke dalam tanur pada skala 30-40 (menunjukkan 300 - 400°C) selama 1 jam sampai asapnya hilang supaya porselen

tidak mudah retak atau pecah jika suhu langsung dinaikkan, kemudian naikan pada skala suhu 50-60 (menunjukkan 500 - 600°C) selama 4 jam yang merupakan waktu dan suhu yang optimal untuk proses pengabuan. Jika dengan cara ini arang (karbon) tidak dapat dihilangkan, tambahkan 2 ml air panas, aduk, saring. Keringkan residu pada penangas air. Kertas saring beserta residu dipijarkan dalam krus yang sama pada suhu 500 - 600°C. Kurs didinginkan didalam eksikator hingga suhu kamar kemudian ditimbang. Lakukan pemijaran hingga diperoleh bobot konstan.

b. Susut Pengeringan

Oven diatur pada suhu pengeringan yang digunakan yaitu 105°C. Kemudian cawan penguap kosong dimasukkan ke dalam oven pada suhu pengeringan selama 15 menit. Setelah 15 menit, cawan diambil dari oven dan didinginkan di dalam deksikator selama 5 menit. Lalu cawan tersebut ditimbang dan hasil penimbangan dicatat. Prosedur dimasukkannya cawan penguap ke dalam oven selama 15 menit, didinginkan selama 5menit hingga akhirnya ditimbang ini diulangi sebanyak tiga kali.

Simplisia uji sebanyak masing-masing 2gram ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam cawan penguap yang sudah ditara. Kemudian cawan berisi simplisia dimasukkan ke dalam oven, dipanaskan pada suhu pengeringan selama 15 menit. Setelah 15 menit, sama halnya dengan cawan kosong tadi, cawan berisi simplisia ini juga didinginkan di deksikator selama 5 menit sebelum ditimbang. Prosedur pengeringan simplisia di dalam cawan ini juga dilakukan berulang sebanyak tiga kali. Setelah diperoleh angka dari hasil penimbangan, maka dapat dilakukan penetapan susut pengeringan

Standarisasi Spesifik

a. Parameter identitas sampel

- Nama Simplisia
- Nama latin tumbuhan
- Bagian tumbuhan yang digunakan
- Nama indonesia tumbuhan

b. Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui kebenaran simplisia menggunakan panca indra dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa sebagai berikut:

Bentuk: padat, serbuk, kering, kental, dan cair

Warna: warna dari ciri luar dan warna bagian dalam

Bau: aromatik, tidak berbau, praktis tidak berbau, berbau khas lemah dan lain-lain

Rasa: pahit, manis, khelat, dan lain-lain

Ditetapkan dengan pengamatan setelah bahan terkena udara selama 15 menit. Waktu 15 menit dihitung setelah wadah yang berisi tidak lebih dari 25gram bahan dibuka. Untuk wadah yang berisi lebih dari 25gram bahan penetapan dilakukan setelah lebih kurang 25gram bahan dipindahkan kedalam cawan penguap 100 mL. Bau yang disebutkan hanya bersifat deskriptif dan tidak dapat dianggap sebagai standar kemurnian dari bahan yang bersangkutan.

c. Makroskopik dan mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan serbuk simplisia. Serbuk simplisia dibuat preparat dengan ditempatkan di atas kaca objek kemudian ditutup dengan deck glass lalu difiksasi. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x

d. Profil kromatografi

Identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan plat silika gel F254. Plat disiapkan dengan ukuran 2cm × 10 cm menggunakan pensil, penggaris, dan cutter. Selanjutnya plat diberi garis batas dengan jarak 1 cm pada bagian bawah plat dan 1 cm dari tepi atas plat menggunakan pensil. Plat silika gel F254 diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat. Ekstrak kasar pegangan dilarutkan dengan pelarutnya (dibuat konsentrasi 20.000 ppm atau 200 mg dalam 10 mL pelarutnya). Kemudian ditotolkan sebanyak 10 totolan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat silika gel F254 menggunakan pipa kapiler. Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat selanjutnya dielusi dengan dengan fase gerak kloroform:metanol (95:5). Plat dimasukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan dan diletakkan pada jarak setinggi ± 1 cm dari dasar plat. Selanjutnya chamber ditutup rapat dan dielusidasi hingga fase gerak mencapai jarak ± 1 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikering anginkan. Noda-noda yang terbentuk pada plat silika gel GF254 kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pengamatan noda meliputi jumlah noda, warna noda dan penghitungan nilai Rf noda.

PRAKTIKUM IB

Skrining Fitokimia

TUJUAN

Mahasiswa mampu mengidentifikasi kandungan senyawa kimia bahan alam dengan jalan skrining fitokimia.

TEORI DASAR

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Sebagian besar metode yang digunakan dalam pengujian fitokimia merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna. Metode yang digunakan pada skrining fitokimia harus memenuhi beberapa kriteria seperti, sederhana, cepat, hanya membutuhkan peralatan yang sederhana, khas untuk satu golongan senyawa, dan memiliki batas limit deteksi yang cukup lebar (dapat mendeteksi keberadaan senyawa meski dalam konsentrasi yang cukup kecil). Pendekatan skrining fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan kimia dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, buah, bunga dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang bioaktif, yaitu alkaloid, antrakuinon, flavonoid, glikosida, kumarin, saponin (steroid dan triterpenoid), tannin (polifenolat), minyak atsiri (terpenoid), dan sebagainya. Adapun tujuan pendekatan skrining fitokimia adalah untuk mensurvei tumbuhan guna mendapatkan kandungan bioaktif atau kandungan yang berguna untuk pengobatan

ALAT

1. Neraca
2. Gelas ukur
3. Penangas air
4. Cawan penguap
5. Corong
6. Tabung reaksi
7. Gelas kimia
8. Kompor listrik
9. Kertas saring

BAHAN

1. Simplisia uji
2. Asam klorida
3. Aquadest
4. Pereaksi skrining fitokimia
5. Gelatin 1%
6. NaCl 10%
7. Serbuk magnesium
8. Amil alcohol
9. NaOH 1 N

Prosedur kerja:

Skrining Fitokimia: lakukan seperti Tabel I

Tabel I. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder

No	Golongan	Prosedur
1.	Alkaloid	<p>Ditimbang 500 mg serbuk simplisia kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloida, diambil 3 tabung reaksi, lalu kedalamnya dimasukkan 0,5 ml filtrat. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi yang berbeda.</p> <ol style="list-style-type: none">1. Tabung reaksi 1: ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer2. Tabung reaksi 2: ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat3. Tabung reaksi 3: ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff <p>Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas</p>
2.	Fenolat	<p>500 mg serbuk simplisia dididihkan dalam 10 ml aquadest dan disaring. 5 ml filtrat direaksikan dengan 1 mL larutan FeCl₃ (Besi(III)klorida) 1%. Apabila terjadi perubahan warna yang dinilai terhadap blangko, simplisia mengandung senyawa golongan fenol.</p>
3.	Tannin	<p>Sampel uji ditimbang sebanyak 500 mg, dididihkan selama 3 menit dalam 10 ml aquadest dan disaring. Filtrat dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Filtrat pada tabung pertama ditambahkan ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya Tannin (Marjoni, 2016). Filtrat pada tabung kedua ditambahkan larutan gelatin 1% dalam natrium klorida 10% akan terjadi endapan warna putih menunjukkan adanya tannin (Hanani, 2015).</p>
4.	Flavonoid	<p>Serbuk 500 mg simplisia dididihkan dalam 10 ml ml aquadest dan disaring. Filtrat ditambahkan sedikit serbuk magnesium, beberapa tetes asam klorida pekat, dan amil alkohol. Campuran dikocok dan dilihat apakah terjadi perubahan warna pada lapisan amil alkohol.</p>

		Bila terdapat perubahan warna, simplisia positif mengandung flavonoid. Perubahan warna dinilai terhadap blangko
5.	Monoterpen dan Sesquiterpen	Simplisia digerus dengan eter, kemudian fase eter diuapkan dalam cawan penguap hingga kering, pada residu ditetesi pereaksi larutan vanilin sulfat atau anisaldehyd sulfat. Terbentuknya warna-warni menunjukkan adanya senyawa monoterpen dan sesquiterpen
6.	Steroid dan triterpenoid	Serbuk simplisia digerus dengan eter, kemudian fase eter diuapkan dalam cawan penguap hingga kering, pada residu ditetesi pereaksi Lieberman-Burchard. Terbentuknya warna ungu menunjukkan kandungan triterpenoid sedangkan bila terbentuk warna hijau biru menunjukkan adanya senyawa steroid
7.	kuinon	Sampel 500mg simplisia dididihkan dalam 10 ml ml aquadest dan disaring dididihkan selama 5 menit kemudian disaring dengan kapas. Pada filtrat ditambahkan larutan NaOH 1 N. Terjadinya warna merah menunjukkan bahwa dalam bahan uji mengandung senyawa golongan kuinon
8	Saponin	Sebanyak 500mg serbuk simplisia dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas. Setelah itu didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Diamati apakah terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Buih yang dihasilkan oleh saponin tetap ada pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N.

PRAKTIKUM 2A

Isolasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan Metode Destilasi

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan isolasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan metode destilasi.

TEORI DASAR

Proses ekstraksi dan isolasi diperlukan untuk memisahkan dan mengambil senyawaan metabolit sekunder tersebut sehingga dapat diperoleh manfaatnya. Kulit jeruk mengandung minyak atsiri yang banyak dimanfaatkan oleh industri kimia parfum, dalam bidang kesehatan digunakan sebagai antioksidan dan antikanker. Faktor-faktor yang mempengaruhi mutu citrus oil hasil pengolahan kulit jeruk yaitu jenis dan kualitas bahan baku, jalannya proses pengambilan minyak, serta pengemasan citrus oil yang dihasilkan. Salah satu usaha yang dapat dilakukan untuk menghasilkan citrus oil yang memenuhi standar mutu yaitu dengan optimasi teknik ekstraksi dan memperbaiki kondisi operasi. Teknik yang biasa digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri yaitu hidrodestilasi. Rendemen yang didapat dengan proses hidrodestilasi sekitar 0,35-0,37 %, terkadang terjadi proses hidrolisis ester dan produk minyak atsirinya bercampur dengan hasil sampingan.

Hidrodestilasi merupakan proses penyulingan dengan prinsip pemisahan komponen yang dapat berupa cairan atau padatan yang dibedakan berdasarkan titik didih dari masing-masing zat tersebut. Dalam industri minyak atsiri dikenal tiga macam metode penyulingan, yaitu:

1. Distilasi air (rebus)

Pada metode ini, bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air atau terendam secara sempurna tergantung pada bobot jenis dan jumlah bahan yang akan disuling. Ciri khas dari metode ini adalah kontak langsung antara bahan yang akan disuling dengan air mendidih. Pada penyulingan dengan air yang menjadi fokus adalah jumlah air yang ada dalam ketel. Prakiraan waktu penyulingan dengan jumlah air perlu diperhitungkan dengan matang karena bila tidak diperhatikan maka akan terjadi gosong dan berdampak

pada kualitas minyak. Biasanya penyulingan yang menggunakan distilasi air adalah bahan yang mudah menggumpal dan biasanya disuling dalam bentuk serbuk, lebih cocok untuk beberapa material dari kayu seperti massoi atau gaharu.

2. Distilasi uap air (kukus)

Pada metode penyulingan ini, material diletakkan di atas rak – rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi sampai dengan batas dibawah sarangan. Prinsip dasarnya seperti mengukus nasi. Material kontak dengan uap yang tidak terlalu panas namun jenuh yang dihasilkan dari air yang mendidih di bawah sarangan. Uap air akan membawa partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensor kemudian ke alat pemisah, secara otomatis air dan minyak akan terpisah karena ada perbedaan berat jenis. Kelebihan destilasi uap-air yaitu alatnya sederhana tapi bisa menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah yang cukup banyak sehingga efisien dalam penggunaan. Sedangkan kelemahannya metode ini tidak cocok untuk minyak atsiri yang rusak oleh panas uap air, serta membutuhkan waktu destilasi lebih Panjang untuk hasil yang lebih banyak

3. Distilasi uap

Pada metode penyulingan ini, unit penyulingan terbagi atas 3 unit, ketel bahan baku, boiler, dan kondensor. Jenis penyulingan ini lebih modern daripada 2 jenis penyulingan air atau kukus. Dapur uap dibentuk di dalam boiler dengan cara memanaskan air hingga tekanan tertentu yang ditunjukkan oleh manometer yang telah dipasang dalam boiler. Setelah tekanan uap yang diinginkan tercapai maka uap jenuh siap dialirkan ke dalam ketel bahan baku. Lebih cocok untuk menyuling bahan–bahan seperti dedaunan dan serpihan kayu.

ALAT

1. Satu set peralatan destilator
2. Flakon
3. Gelas Ukur
4. Kertas saring
5. Corong
6. Freezer
7. Refractometer Abbe

BAHAN

1. Kulit jeruk (*Citrus auranticum L.*)
2. Aquades
3. NaCl

PROSEDUR KERJA

- a. Pertama-tama, menimbang kulit jeruk segar sebanyak 300gram dan masukkan kedalam labu leher tiga.
- b. Rangkai alat destilator dan lakukan destilasi. Memanaskan labu ekstraktor ketika uap dari steam generator mulai terbentuk. Mengatur laju pemanasan pada proses penyulingan
- c. Menunggu sampai tetes pertama keluar dari kondensor. Catat waktu ekstraksi mulai tetes pertama keluar dari kondensor sampai akhir dan hentikan proses sesuai dengan variabel waktu yang ditentukan yaitu selama 3 jam
- d. Menampung destilat dalam beaker glass. Memisahkan minyak dari air dengan menggunakan corong pemisah, kemudian menampung minyak tersebut pada tabung reaksi atau flakon tertutup.
- e. Untuk mendapatkan minyak bebas air dilakukan dengan penyaringan menggunakan NaCl.
- f. Melakukan analisa terhadap minyak yang dihasilkan seperti organoleptik (warna, bau dan bentuk) serta menentukan nilai rendemen dan nilai indeks bias

PRAKTIKUM 2B

Identifikasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan identifikasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

TEORI DASAR

Minyak atsiri merupakan minyak dari tanaman yang komponennya secara umum mudah menguap sehingga banyak yang menyebut minyak terbang. Minyak atsiri disebut juga etherial oil atau minyak eteris karena bersifat seperti eter, dalam bahasa internasional biasa disebut essential oil (minyak essen) karena bersifat khas sebagai pemberi aroma/bau. Minyak atsiri dalam keadaan segar dan murni umumnya tidak berwarna, namun pada penyimpanan yang lama warnanya berubah menjadi lebih gelap. Minyak atsiri bersifat mudah menguap karena titik uapnya rendah sebagaimana minyak lainnya, sebagian besar minyak atsiri tidak larut dalam air dan pelarut polar lainnya. Secara kimiawi, minyak atsiri tersusun dari campuran yang rumit berbagai senyawa, namun suatu senyawa tertentu biasanya bertanggung jawab atas suatu aroma tertentu. Minyak atsiri sebagian besar termasuk dalam golongan senyawa organik terpena dan terpenoid yang bersifat larut dalam minyak (lipofil). Minyak atsiri atau sering disebut minyak terbang, banyak digunakan dalam bidang industri sebagai bahan pewangi atau penyedap (flavoring). Minyak atsiri sebagai bahan pewangi dan penyedap terutama digunakan oleh bangsa-bangsa yang telah maju dan sudah digunakan sejak beberapa abad lalu. Selain itu minyak atsiri banyak juga digunakan dalam bidang Kesehatan. Selain itu, susunan senyawa komponennya kuat mempengaruhi syaraf manusia (terutama di hidung) sehingga seringkali memberikan efek psikologi tertentu. Setiap senyawa penyusun memiliki efek tersendiri, dan campurannya dapat menghasilkan aroma yang berbeda.

Beberapa sifat minyak atsiri sebagai berikut:

1. Mudah menguap jika dibiarkan pada udara terbuka
2. Tidak larut dalam air
3. Larut dalam pelarut organik

4. Tidak berwarna, tetapi semakin lama menjadi gelap karena oksidasi dan pendamaran
5. Memiliki bau yang khas seperti pada tumbuhan aslinya.

ALAT

1. Pipet tetes
2. Gelas kimia
3. Kertas saring
4. Gelas ukur
5. Tabung reaksi

BAHAN

1. Minyak atsiri uji
2. NaCl jenuh
3. Pelarut organik
4. Etanol
5. FeCl₃
6. NaOH

PROSEDUR KERJA

- a. Teteskan satu tetes minyak atsiri pada permukaan aquades, maka air akan menyebar dan permukaan air tidak keruh
- b. Teteskan satu tetes minyak atsiri pada selembar kertas saring, diamkan sebentar, maka minyak atsiri akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (transparan)
- c. 1 ml minyak atsiri ditambah 1 ml NaCl jenuh ke dalam gelas ukur 5 ml, lalu dikocok kuat, kemudian di diamkan beberapa saat. Hasilnya, volume lapisan air tidak boleh bertambah,
- d. Untuk mengukur daya larut, masukan 1 ml minyak atsiri ke 3 gelas ukur atau tabung reaksi yang berbeda, lalu masing – masing tabung ditambahkan 1 ml pelarut organik. Minyak atsiri dapat larut dalam pelarut organik.
- e. Deteksi adanya senyawa fenol dalam minyak atsiri : Tambahkan beberapa tetes minyak atsiri kedalam gelas ukur 5 ml, lalu tambahkan etanol 90% hingga 1 ml, dan FeCl₃ 10%, akan terjadi perubahan warna menjadi warna biru tua. Ini menandakan adanya kandungan fenol di dalam minyak atisiri tersebut.
- f. Reduksi minyak atsiri: 1 ml minyak atsiri ditambahkan 1 ml NaOH, kocok pelan – pelan. Minyak atsiri akan tereduksi, terlihat jelas dibagian bawah, dan volumenya akan berkurang

PRAKTIKUM 3A

Isolasi Senyawa Fenolik dari Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Metode Perkolasi

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan isolasi senyawa fenolik dari daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan metode perkolasi.

TEORI DASAR

Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu rempah-rempah Indonesia yang digunakan untuk mengatasi diare, asam urat, kencing manis, menurunkan kadar kolesterol dan menurunkan tekanan darah yang telah dibuktikan secara praklinis menggunakan hewan percobaan. Kandungan metabolit sekunder dalam daun Salam (*Syzygium polyanthum*) seperti fenolat, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid tannin dan sebagainya. Fenolat merupakan golongan metabolit sekunder yang distribusinya cukup luas pada tanaman. Kandungan fenolat dalam tumbuhan berperan sebagai antioksidan alami yang dapat menangkal berbagai oksidan dan radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan seperti dapat melindungi sel dari kerusakan oksidatif, mencegah berbagai penyakit degenerative seperti kanker, penyakit kardiovaskuler, katarak, diabetes, Alzheimer dan Parkinson. Kadar fenolat dan aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuhan dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya metode ekstraksi. Metode yang tepat pada penelitian Verawati (2017) pada proses ekstraksi daun salam ini adalah perkolasi.

Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam tumbuhan. Sebuah perkolator adalah wadah sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya. Sampel tumbuhan padat dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai dan dibiarkan selama kira-kira 4 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya bagian atas perkolator ditutup. Pelarut ditambahkan hingga merendam sampel. Campuran sampel dan pelarut dapat dimaserasi lebih lanjut dalam wadah perkolator tertutup selama 24 jam. Saluran keluar perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut dapat ditambahkan sesuai kebutuhan sampai ukuran perkolasi sekitar tiga perempat dari volume yang diperlukan dari produk jadi.

ALAT

1. Perkolator
2. Rotary evaporator

BAHAN

1. Daun salam
2. Etanol 95%

PROSEDUR KERJA**1. Ekstraksi Daun Salam**

- a. Daun salam dicuci, ditimbang dan dikeringkan dalam lemari pengering kemudian dihancurkan menjadi serbuk dengan alat penyerbuk.
- b. Timbang 50gram untuk ekstraksi dengan metode perkolasi. serbuk daun salam diekstraksi dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 96%.
- c. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 70°C sehingga didapatkan larutan yang lebih kental (ekstrak kental). Ekstrak kental tersebut diuapkan dengan waterbath pada suhu 50°C sehingga didapatkan ekstrak etanol daun salam sebagai larutan stok.
- d. Ekstrak ditimbang dan dihitung persentase rendemennya.

2. Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi ekstrak yang dilakukan adalah pemeriksaan organoleptis meliputi warna, rasa, bau dan bentuk.

PRAKTIKUM 3B

Identifikasi Senyawa Fenolik dari Daun Salam (*Syzygium polyantum*)

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan identifikasi senyawa fenolik dari daun salam (*Syzygium polyantum*).

TEORI DASAR

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki gugus hidroksil dan paling banyak terdapat dalam tanaman. Senyawa ini memiliki keragaman struktural mulai dari fenol sederhana hingga kompleks maupun komponen yang terpolimerisasi. Senyawa fenolik di alam mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Ribuan senyawa fenolik di alam telah diketahui strukturnya antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, melanin, tanin), dan kuinon fenolik. Polifenol memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya dan spektrum yang luas dengan kelarutan yang berbeda-beda, serta menunjukkan banyak fungsi biologis seperti perlindungan terhadap stres oksidatif dan penyakit degeneratif secara signifikan. Senyawa tersebut memiliki banyak manfaat kesehatan seperti antioksidan, antikarsinogenik, antimikrobia dan sebagainya.

Metode untuk penentuan kandungan fenolik total salah satunya adalah metode Folin-Ciocalteu. Metode ini merupakan metode yang umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan fenolik total karena merupakan metode yang cepat dan sederhana yang dinyatakan sebagai massa ekuivalen asam galat tiap mg sampel. Prinsip dari metode ini adalah reaksi oksidasi senyawa fenol dalam suasana basa oleh pereaksi Folin-Ciocalteu menghasilkan kompleks berwarna biru yang memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 750 - 760 nm. Peningkatan intensitas warna biru akan sebanding dengan jumlah senyawa fenolik yang ada dalam sampel.

Sebagai larutan standar atau pembanding digunakan asam galat yang merupakan salah satu fenolik alami dan stabil. Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenolik sederhana. Asam galat direaksikan dengan reagen Folin Ciocalteu menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa mengandung fenolik, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa. Selama reaksi

berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan pereaksi Folin Ciocalteu, membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenol yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenol yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdatfosfotungstat) menjadi kompleks molibdenumtungsten sehingga warna yang dihasilkan semakin pekat.

ALAT

1. Satu set peralatan KLT
2. Spektrofotometer UV – Vis
3. Labu takar
4. Gelas ukur
5. Chamber

BAHAN

1. Ekstrak uji
2. FeCl₃
3. Silika gek 60 F254
4. Asam Galat
5. Etil Asetat
6. Asam Formiat
7. Asam Asetat Asam galat
8. Methanol
9. Aquadest
10. Reagen Folin-Ciocalteu
11. Natrium karbonat

1. Skrining fitokimia

Ekstrak etanol daun Salam dilarutkan dalam pelarut etanol. ekstrak etanol daun salam sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan FeCl 1 % sebanyak 3 tetes. Uji fenolik positif jika pada reaksi menghasilkan perubahan warna menjadi hitam pekat/biru, ungu, merah dan hijau atau apabila terjadi perubahan warna yang dinilai terhadap blangko (asam galat), maka simplisia mengandung senyawa golongan fenol

2. Profil KLT

Fase gerak : etil asetat/ asam formiat/ asam asetat/ air (10: 0,5: 0,5: 1)
Fase diam : silika gel 60 F₂₅₄
Larutan uji : 10% dalam etanol
Deteksi : Sitroborat dan UV 366

3. Penentuan Kadar Fenolat Total Ekstrak

a. Pembuatan kurva kalibrasi.

Senyawa fenolat standar (asam galat) dibuat dalam beberapa seri konsentrasi larutan yaitu 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$ dalam campuran metanol dan aquades (1:1). Dari masing-masing lariat dipipet 0,5 mL kemudian dicampurkan dengan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10) dengan aquades tambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 1 M biarkan selama 15 menit, ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum (751,5 nm) dengan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan data konsentrasi dan serapan larutan standar, dibuat kurva kalibrasi yang menunjukkan persamaan garis lurus $y = a + bx$.

b. Penentuan kadar fenolat total ekstrak daun salam.

Masing-masing ekstrak daun salam dibuat dalam konsentrasi 200 ppm dan dipipet 0,5 mL masukkan ke dalam vial, tambahkan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan aquades) kemudian tambahkan 4 mL larutan natrium karbonat 1 M kocok homogen, biarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan tentukan kadar senyawa fenolat dengan mengukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum (751,5 nm) dengan spektrofotometer UV-Vis.

PRAKTIKUM 4A

Isolasi Kristal Etil p-Metoksisinamat dan Asam p-Metoksisinamat dari Rimpang Kencur (*Kaempheria galanga*) dengan Metode Refluks

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan isolasi kristal etil p-metoksisinamat dan asam p-Metoksisinamat dari rimpang kencur (*Kaempheria galanga*) dengan metode refluks.

TEORI DASAR

Rimpang kencur adalah rimpang *Kaemferia galanga* L, suku Zingiberaceae. Tanaman ini sudah lama dikenal dan ditamam di Indonesia. Dalam perkembangannya, tanaman ini dipakai dalam ramuan obat tradisional. Simplisia rimpang kencur memiliki irisan pipih, bau khas, rasa pedas, bentuk hamper bundar sampai jorong atau tidak beraturan, tebal 1-4 mm, panjang 1-5 cm, lebar 0,5-3 cm. Bagian tepi simplisia berombak dan keriput, berwarna coklat kemerahan, bagian tengah berwarna putih sampai putih kecoklatan. Korteks sempit dengan lebar kurang lebih 2 mm dan berwarna putih. Senyawa identitasnya adalah etil p-metoksisinamat.

Ekstrak kencur adalah ekstrak yang dibuat dari rimpang kencur yang mengandung minyak atsiri tidak kurang dari 7,93 % v/b dan etil p-metoksisinamat tidak kurang dari 4,30%. Randemen ekstrak tidak kurang dari 8,3% dengan pelarut etanol 95 %. Ekstrak kental berwarna coklat tua, berbau khas, rasa pedas dan tebal pada lidah. Kadar air tidak lebih dari 10 %, kadar abu total tidak lebih dari 0,5 % dan kadar abu tidak larut asam tidak lebih dari 0,2 %. Kadar minyak atsiri tidak kurang dari 7,93 %.

Etil p-metoksi sinamat (EPMS) ternyata mirip dengan oktil para metoksi sinamat (OPMS) yang selama ini banyak digunakan sebagai bahan aktif tabir surya. Senyawa yang memiliki struktur molekul mirip biasanya memiliki potensi yang hampir sama, di samping itu keduanya juga merupakan golongan sinamat yang telah lama digunakan sebagai bahan tabir surya. Selain itu kencur mampu mengobati proses penyembuhan luka bakar dari ekstrak alcohol pada tikus galus wistar dengan cara mempercepat proses epitelisasi pada jaringan luka dengan memfasilitasi proliferasi sel epitel. Salah satu komponen flavonoid dalam rimpang kencur berperan sebagai antioksidan yang merupakan komponen penting dalam penyembuhan luka.

Prinsip dari metode refluks adalah pelarut volatile yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi kedalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Fungsi refluks adalah untuk mempercepat reaksi antara pelarut dan zat terlarut (Etilp-metoksisinamat). Semakin lama refluks dilakukan semakin baik pula hasil dari reaksi tersebut

ALAT

1. Timbangan
2. Blender
3. Oven
4. Refluks
5. Rotary evaporator
6. Erlenmeyer
7. Gelas beker

BAHAN

1. Simplisia kencur
2. Aquades
3. Etanol 96%
4. Kalium Hidroksida
5. HCl pekat

PROSEDUR KERJA

1. Ekstraksi

Ekstraksi dengan etanol 96% dengan metode maserasi, kemudian dipekatkan dengan menggunakan evaporator secara vakum sampai seluruh ekstrak menjadi bentuk ekstrak pekat. Kemudian ekstrak pekat yang diperoleh didinginkan dalam lemari pendingin hingga terbentuk kristal. Kristal disaring, dicuci dengan etanol, lalu dimurnikan dengan tahapan rekristalisasi. Pelarut yang digunakan untuk rekristalisasi bisa menggunakan pelarut campuran etanol – air.

2. Isolasi

Timbang kristal etil p-metoksisinamat yang diperoleh sebanyak 30gram dan dilarutkan dalam 60 ml pelarut etanol. Campuran dimasukkan ke dalam labu dasar bulat kemudian ditambahkan 300 mL larutan KOH etanolis 5%. Sistem direfluks selama kurang lebih 2 jam di atas penangas air. Setelah proses refluks campuran didinginkan. Kristal kalium para metoksisinama terbentuk dari tahapan proses ini. Kemudian kristal yang sudah terbentuk disaring. Garamnya dilarutkan dengan air dan diasamkan dengan HCl pekat. Endapan yang

terbentuk lalu disaring dan dicuci beberapa kali dengan air. Akan terbentuk Asam parametoksi sinamat (APMS) yang dapat dimurnikan melalui cara rekristalisasi dengan pelarut etanol-air (7:3)

PRAKTIKUM 4B

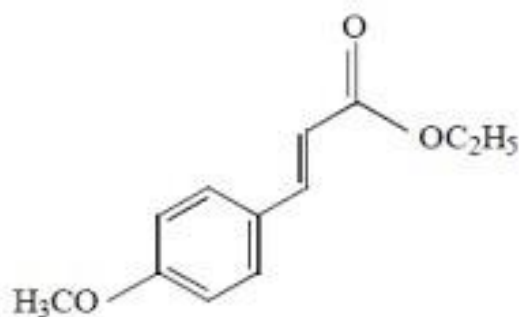
Identifikasi Kristal Etil p-Metoksisinamat dari Rimpang Kencur (*Kaempheria galanga*)

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan identifikasi kristal etil p-metoksisinamat dan dari rimpang kencur (*Kaempheria galanga*)

TEORI DASAR

Kandungan kimia pada rimpang kencur yaitu etil sinamat, etil p-metoksisinamat, p-metoksistiren, karene, borneol, dan parafin. Di antara kandungan kimia ini, etil pmetoksisinamat merupakan komponen utama dari encur. Etil p- kmetoksisinamat (EPMS) merupakan salah satu senyawa yang dihasilkan dari isolasi rimpang kencur yang termasuk dalam senyawa turunan asam sinamat sehingga jalur biosintesis senyawa EPMS adalah melalui jalur biosintesis asam sikimat. Etil p-metoksisinamat termasuk kedalam senyawa ester yang mengandung cincin benzene dan gugus metoksi yang bersifat nonpolar dan juga gugus karbonil yang mengikat etil yang bersifat sedikit polar sehingga dalam ekstraksinya dapat menggunakan pelarut-pelarut yang mempunyai variasi kepolaran yaitu etanol, etil asetat, methanol dan n-heksan.



Gambar 3. Etil p-metoksisinamat

Kemurnian kristal etil p-metoksisinamat dapat diidentifikasi secara organoleptis dan dengan beberapa instrumen seperti spektrofotometri IR, H-NMR, GC-MS dan lainnya. Identifikasi kristal etil p-metoksisinamat pada praktikum ini dilakukan secara KLT. Pada fase gerak toluen:etil asetat, bercak EPMS berada pada nilai Rf yang sekitar 0,68. Semakin tinggi nilai Rf

maka senyawa tersebut bersifat semakin nonpolar, dikarenakan fase diam yang bersifat polar sehingga senyawa yang bersifat polar akan tertahan di fase diam, dan menghasilkan nilai Rf yang rendah.

ALAT

1. Gelas ukur
2. Neraca
3. Chamber

BAHAN

1. Kristal hasil isolasi
2. Silika gel F254
3. Toluene
4. Etil asetat
5. Etanol
6. Pembanding EPMS

PROSEDUR KERJA

1. Identifikasi Hasil Isolasi

Pemeriksaan Organoleptis: bentuk, bau, rasa dan warna

2. Profil KLT

Fase gerak : toluen/ etil asetat (95:5)

Fase diam : silika gel F254

Larutan uji : 10% dalam etanol

Pembanding : etil p-metoksisinamat

Deteksi : UV254

PRAKTIKUM 5A

Isolasi Piperin dari Lada Hitam (*Piper nigrum*) dengan Metode Sokletasi

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan isolasi piperin dari lada hitam (*Piper nigrum*) dengan metode sokletasi

TEORI DASAR

Lada hitam adalah rempah-rempah berwujud bijian yang dihasilkan tanaman *Piper nigrum* L. Tanaman yang termasuk dalam keluarga piperaceae sangat banyak ditemukan hampir seluruh dataran rendah di Indonesia. Tumbuhan lada termasuk tumbuhan semak atau perdu dan sering kali memanjat dengan akar-akar pelekat. Tumbuhan lada dikenal dengan dengan beberapa nama antara lain piper, lada, merica, dan sakang. Tanaman lada hitam secara luas tumbuh di tempat dengan iklim yang tropis dengan kelembapan yang cukup. Bagian tanaman lada hitam yang sering dimanfaatkan adalah buah yang telah dikeringkan. Buah lada hitam dikenal sebagai “King of Spices” karena memiliki rasa yang pedas dan beraroma khas yang sangat kuat dari semua rempah-rempah di dunia. Buah lada hitam yang termasuk dalam keluarga Piperaceae merupakan salah satu jenis tanaman obat yang banyak tumbuh di Negara tropis termasuk Indonesia dan sering digunakan sebagai bumbu masakan. lada hitam sering dimanfaatkan untuk mengobati diare, antiinflamasi, hepatoprotektan, dan perut mulas. Selain itu, dalam dunia pengobatan, buah lada hitam biasa digunakan untuk mengatasi gangguan pencernaan seperti racun pada usus besar yang menyebabkan diare. Buah lada hitam juga biasa digunakan untuk mengatasi gangguan pernafasan termasuk flu, demam, dan asma. Di Afrika Barat, buah lada hitam digunakan untuk mengobati bronchitis, gastritis, rematik, dan sebagai agen antivirus dan lainnya

Kandungan utama dari buah lada hitam adalah piperin. Metode ekstraksi yang dipilih adalah soklet karena senyawa piperin memiliki sifat yang stabil terhadap panas. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran/pemilihan jenis pelarut ini didasarkan atas beberapa faktor, yaitu selektivitas, kelarutan, kemampuan tidak saling campur, reaktivitas, titik didih, dan kriteria lainnya. Keuntungan metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan

banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugian metode ini adalah tidak cocok untuk zat yang bersifat termolabil karena akan terdegradasi terus menerus pada titik didih.

Salah satu sifat alkaloid yang paling penting adalah kebasaannya. Metode pemurnian dan pencirian umumnya mengandalkan sifat fisiknya, dan pendekatan khusus harus dikembangkan untuk beberapa alkaloid yang tidak bersifat basa. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan memakai air yang diasamkan dengan melarutkan alkaloid sebagai garam atau bahan tumbuhan dapat dibasakan dengan natrium bikarbonat dan sebagainya. Basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter dan sebagainya. Radas untuk ekstraksi sinambung dan pemekatan khususnya berguna untuk alkaloid yang tidak tahan panas. Pelarut atau pereaksi yang telah sering dipakai seperti kloroform, aseton, amonia dan metilena klorida dalam kasus tertentu harus dihindari. Beberapa alkaloid yang dapat menguap dapat dimurnikan dengan cara penyulingan uap dari larutan yang dibasakan. Larutan dalam air yang bersifat asam dan mengandung alkaloid dapat dibasakan lalu alkaloid diekstraksi dengan pelarut organik sehingga senyawa netral dan asam yang mudah larut tertinggal dalam air.

ALAT

1. Alat soklet
2. Rotary evaporator
3. Erlenmyer
4. Beaker glass
5. Penangas air

BAHAN

1. Simplisia Lada Hitam yang telah dihaluskan.
2. Metanol

PROSEDUR KERJA

Isolasi dengan metode sokhlet

- a. Siapkan lada hitam yang halus dan kering.
- b. Sebanyak 30 g simplisia, disokletasi dengan pelarut metanol, panaskan hingga diperoleh sari yang jernih.
- c. Ekstrak dipekatan dengan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

Pemisahan

- a. ekstrak kental ditambahkan KOH 10% dalam metanol, aduk dan biarkan hingga terbentuk endapan.

- b. Pisahkan endapan dan larutan dengan cara dekantasi, ambil larutannya.
- c. Simpan larutan dalam lemari es, hingga terbentuk kristal.
- d. Lakukan pemurnian menggunakan metanol dingin, dengan cara mencuci kristal berulang kali.
- e. Lalu timbang kristal jarum berwarna bening yang diperoleh.

PRAKTIKUM 5B

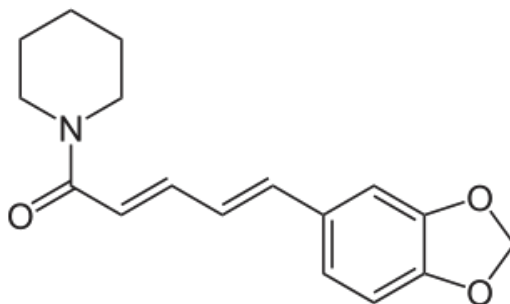
Identifikasi Piperin dari Lada Hitam (*Piper nigrum*)

TUJUAN

Mahasiswa mampu melakukan identifikasi piperin dari lada hitam (*Piper nigrum*)

TEORI DASAR

Piperin (1-piperilpiperidin) $C_{17}H_{19}O_3N$ merupakan alkaloid dengan inti piperidin. Piperin dapat mengalami foto-isomerisasi oleh sinar membentuk isomer isochavisin (trans-cis), isopiperin (cis-trans), chavisin (cis-cis), dan piperin (trans-trans). Selain itu, lada mengandung minyak atsiri, pinena, kariofilena, lionena, filandrena, kavisina, piperitina, piperidina, zat pahit dan minyak lemak. Rasa pedas disebabkan oleh resin yang disebut kavisin. Kandungan piperine dapat merangsang cairan lambung dan air ludah. Selain itu lada bersifat pedas, menghangatkan dan melancarkan peredaran darah. Piperin juga bertanggung jawab terhadap tingkat rasa pedas di dalam buah lada hitam, bersama dengan kavisina. Piperin memiliki warna kuning yang berbentuk jarum, yang sukar larut dalam air dan mudah larut dalam etanol, eter, dan kloroform.



Gambar 4. Piperin

Seperti alkaloid pada umumnya, piperin dapat diidentifikasi secara kualitatif dengan reaksi warna menggunakan beberapa pereaksi seperti Dragendorff (larutan iodobismutat), Mayer (larutan kalium merkuri-iodida), iodoplatinat (larutan kalium periodat) dan asam fosfomolibdat. Namun, dikarenakan umumnya kadar alkaloid di dalam simplisia tidak terlalu besar, maka untuk lebih meyakinkan keberadaan alkaloid, prosedur identifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan kromatografi kertas ataupun KLT. Fase diam yang umum digunakan adalah silika

gel 60 F254. Fase gerak untuk identifikasi piperin dalam sampel dapat digunakan n-heksana:etil asetat (1:1), toluen-etil asetat (7:3), diklorometan-etil asetat (3:1) ataupun benzene:etil asetat (2:1). Pengamatan di bawah sinar UV 365 piperin akan memberikan bercak dengan pendar berwarna biru. Pengamatan di bawah sinar UV 254 nm, bercak piperin akan memberikan warna ungu. Pereaksi deteksi yang dapat digunakan untuk deteksi keberadaan piperin adalah larutan Dragendorff (bercak berwarna kuning hingga jingga kemerahan pada sinar tampak) ataupun larutan anisaldehyd-asam sulfat (bercak berwarna kuning setelah plat dipanaskan pada suhu 110°C selama 10 menit pada sinar tampak)

ALAT

1. Tabung reaksi
2. Chamber
3. Neraca
4. Gelas ukur

BAHAN

1. Ekstrak lada hitam
2. Kristas hasil isolasi
3. Piperin pembanding
4. HCl
5. Reagen Meyer, Dragendorf dan LB
6. Heksan
7. Etil asetat

PROSEDUR KERJA

Pemeriksaan Organoleptis

- a. ekstrak kental meliputi bentuk, bau, rasa dan warna.
- b. Kristal murni meliputi bentuk, bau, rasa dan warna.

Pemeriksaan Kimia

- a. Ekstrak kental (Ekstrak + HCl 2 N): siapkan 3 tabung masing-masing berisi sampel: tabung (1) ditambah reagen Meyer, tabung (2) ditambah reagen Dragendorf dan tabung (3) ditambah reagen Liberman Bauchardad.
- b. Kristal murni (Kristal + HCl 2 N): siapkan 3 tabung masing-masing berisi sampel: tabung (1) ditambah reagen Meyer, tabung (2) ditambah reagen Dragendorf dan tabung (3) ditambah reagen Liberman Bauchardad.
- c. Perhitungan Rendamen = $\frac{\text{berat hasil ekstraksi}}{\text{berat awal simplisia}} \times 100\%$
- d. Kromatografi Lapis Tipis

Fase gerak : heksan/ etil asetat (7/3)
Fase diam : silika gel GF 254
Pembanding : Piperin
Deteksi : reagen dragendorf, UV254, UV366