



MODUL PRAKTIKUM

FITOKIMIA

(Semester VI)

Tim Penyusun :

Yonathan Tri Atmodjo Reubun, M.Farm.

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU
KESEHATAN MEDISTRA INDONESIA
TAHUN 2023**



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN (STIKes)

MEDISTRA INDONESIA

PROGRAM STUDI PROFES NERS-PROGRAM STUDI ILMU KEPERAWATAN (S1)

PROGRAM STUDI PROFESI BIDAN - PROGRAM STUDI KEBIDANAN (S1)

PROGRAM STUDI FARMASI (S1)-PROGRAM STUDI KEBIDANAN (D3)

Jl.Cut Mutia Raya No. 88A-Kel.Sepanjang Jaya - Bekasi Telp.(021) 82431375-77 Fax (021) 82431374

Web:stikesmedistra-indonesia.ac.id Email: stikes_mi@stikesmedistra-indonesia.ac.id

MODUL PEMBELAJARAN PRAKTIKUM

PROGRAM STUDI FARMASI (S1)

STIKES MEDISTRA INDONESIA

Nomor Dokumen	:	FM.030/A.003/WK1/STIKESMI-UPM/2022	Tanggal Pembuatan	:	15 Maret 2022
Revisi	:	0	Tgl efektif	:	22 Maret 2022

VISI MISI PROGRAM STUDI S1 FARMASI STIKES MEDISTRA INDONESIA

Visi

Menjadikan Program Studi S1 Farmasi Yang Kompetitif, Humanistik dan Unggul Dalam Komunikasi kefarmasian Dan Kewirausahaan.

Misi

- Mengembangkan dan Menjalankan Kurikulum S1 Farmasi sesuai Capaian Pembelajaran dengan unggulan Komunikasi Farmasi dan Kewirausahaan.
- Mengembangkan Penelitian Inovasi Sediaan Farmasi dan Pelayanan Kefarmasian Secara Mandiri Dan Kolaboratif.
- Melaksanakan Pengabdian Masyarakat Melalui Edukasi dan Pelayanan Kefarmasian.

Tujuan

- Menghasilkan lulusan farmasi S1 yang mempunyai integritas, profesional dan berjiwa wirausaha.
- Menghasilkan penelitian inovasi sediaan farmasi dan pelayanan kefarmasian secara mandiri dan kolaboratif.
- Menghasilkan pengabdian masyarakat dengan edukasi dan pelayanan kefarmasian

Diketahui,
Kepala Program Studi Farmasi (S1)

Yonathan Tri Atmodjo Reubun, M.Farm.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Kuasa sehingga Modul Praktikum Fitokimia ini dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Diharapkan modul ini dapat bermanfaat baik bagi dosen pengampu praktikum untuk mempertajam pemahaman dan keterampilan mahasiswa dalam proses pembelajaran Praktikum Fitokimia. Modul ini disusun sedemikian rupa untuk memudahkan mahasiswa dalam melaksanakan setiap tahap praktikum.

Besar harapan kami agar modul praktikum ini memberikan manfaat yang luas bagi penggunanya, dan dapat menstimulasi keingintahuan untuk mendalami topik yang disajikan. Sangat kami sadari modul ini memiliki ketidaksempurnaan dalam berbagai aspek, segala bentuk masukan yang membangaun sangat kami harapkan.

Bekasi, Januari 2023

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	3
PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL	5
TATA TERTIB PRAKTIKUM LABORATORIUM	6
PRAKTIKUM I: PENGENALAN ALAT LABORATORIUM	7
PRAKTIKUM II: PENANGANAN SIMPLISIA	8
PRAKTIKUM III: SKRINING FITOKIMIA	12
PRAKTIKUM IV: EKSTRAKSI KONVENSIONAL	17
PRAKTIKUM V: ISOLASI GLIKOSIDA FLAVONOID DARI DAUN KETELA POHON	23
PRAKTIKUM VI: ISOLASI PIPERIN DARI LADA HITAM (<i>Piper nigrum</i> L.)	25
PRAKTIKUM VII: ISOLASI KAFEIN DARI TEH	28
DAFTAR PUSTAKA	31

PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL

Modul ini sebagai penuntun dalam proses pembelajaran, sangat penting untuk dipelajari karena akan sangat berkaitan dengan materi berikutnya dalam mata kuliah Praktikum Ilmu Meracik Obat Lanjut, untuk dapat memahami uraian materi dalam modul ini dengan baik, maka ikuti penggunaan modul ini, yaitu:

1. Bacalah dengan cermat bagian pendahuluan ini sampai anda memahami betul apa, untuk apa, dan bagaimana mempelajari modul ini.
2. Bacalah modul ini secara teratur dimulai dari Kegiatan belajar dengan mengikuti materi-materi yang dibahas dan temukan kata-kata yang dianggap baru. Carilah arti dari kata-kata tersebut dari kamus ataupun media internet.
3. Carilah informasi sebanyak-banyaknya tentang materi modul untuk lebih memahami materi yang dipelajari.
4. Pada akhir kegiatan belajar ada latihan untuk menguji pemahaman anda mengenai materi yang telah dibahas. Apabila pemahaman anda belum maksimal, anda ditugaskan kembali untuk mempelajari materi terkait hingga memahami dan dapat melanjutkan pada kegiatan berikutnya.
5. Apabila evaluasi menyatakan anda mampu menjawab dengan tepat dan sistematis maka anda telah menyelesaikan kegiatan pembelajaran pada modul ini.

TATA TERTIB PRAKTIKUM LABORATORIUM

Dalam melaksanakan praktikum Fitokimia ini mahasiswa/praktikan wajib mengikuti beberapa aturan sebagai berikut:

1. Kehadiran praktikan dalam praktikum adalah mutlak 100%.
2. Praktikan telah hadir di laboratorium selambatnya 10 menit menjelang praktikum dimulai.
3. Praktikan mengenakan jas laboratorium dengan baik, sepatu tertutup, masker wajah, sarung tangan dan kaca mata pelindung (jika diperlukan).
4. Praktikan membawa buku penuntun praktikum masing-masing, sampel uji, dan kelengkapan lain yang telah diinformasikan sebelumnya.
5. Praktikan telah mempelajari dan memahami prosedur pengujian yang akan dilakukan.
6. Praktikum dijalankan dengan bertanggungjawab, mengedepankan kehati-hatian, tertib, dan senantiasa menjaga kebersihan.
7. Semua bahan dan sampel yang digunakan harus diperlakukan sebagai bahan berbahaya.
8. Jika terjadi kecelakaan kerja, segera informasikan pada dosen/laboran dan ikuti arahan untuk menanganinya.
9. Set alat praktikum yang digunakan harus sesuai dengan bon alat yang diajukan. Keutuhan dan kebersihan alat menjadi tanggung jawab praktikan.
10. Alat rusak dan atau hilang sepanjang pelaksanaan praktikum harus diganti oleh praktikan yang bertanggungjawab, selambatnya sebelum ujian akhir praktikum.
11. Percobaan yang telah dilakukan harus dilaporkan kepada dosen/laboran untuk didiskusikan.
12. Hanya laporan sementara, laporan akhir, dan buku praktikum yang telah divalidasi oleh dosen/laboran saat praktikum yang akan dinilai.
13. Laboratorium ditinggalkan dalam keadaan bersih dan rapi.

PRAKTIKUM I:
PENGENALAN ALAT LABORATORIUM

1. MATERI PENGANTAR

Bagian pendahuluan ini penting untuk anda ketahui karena akan membawa anda untuk mengenal berbagai persiapan pembuatan obat racikan berdasarkan resep dokter. Praktikum 1 akan membahas tentang pengenalan laboratorium Ilmu Meracik Obat lanjut, Tata Tertib Praktikum, Peralatan Yang Dibutuhkan, Penggolongan Obat, Nama Obat, agar kegiatan selama praktikum berjalan dengan baik, diharapkan anda sudah benar-benar mempelajari dan memahami isi modul ini dengan baik.

2. TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah mengikuti pembelajaran praktik ini, Anda diharapkan mampu:

1. Mengetahui alat yang digunakan pada praktikum fitokimia
2. Memahami cara penggunaan setiap alat

3. PERSIAPAN

Lakukanlah dengan hati – hati:

1. Kelompokkan alat berdasarkan kegunaannya
2. Cermati setiap informasi yang tertera pada buku manual alat
3. Gambarkan rangkaian alat beserta fungsi masing – masing bagian

4. PROSEDUR PELAKSANAAN

No	Langkah	Gambar
1.		
2.		

5. LATIHAN

Pemberian tugas latihan untuk secara mandiri ataupun kelompok melakukan simulasi praktik yang sudah diajarkan.

PRAKTIKUM II

PENANGANAN SIMPLISIA

1. MATERI PENGANTAR

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi 3 jenis, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang 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 dikeluarkan dari selnya atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum merupakan senyawa kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004; Depkes 2008).

Simplisia nabati secara umum merupakan produk hasil pertanian atau tumbuhan obat yang telah mengalami proses pasca panen dan proses preparasi sederhana menjadi bentuk produk farmasi yang siap untuk diproses selanjutnya. Proses pemanenan dan preparasi simplisia merupakan proses yang ikut menentukan mutu simplisia. Simplisia sebagai bahan produk farmasi harus memenuhi parameter mutu suatu bahan yaitu kebenaran jenis, kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis) serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan dan transportasi) (Depkes 2000). Kualitas simplisia sangat dipengaruhi oleh bahan baku dan proses pembuatannya. Bahan baku dapat diperoleh dari tanaman liar atau tanaman yang sengaja dibudidayakan (Gunawan dan Mulyani 2004).

Tahapan pembuatan simplisia nabati, meliputi:

- a. Pengumpulan bahan tanaman: pada tahap ini dilakukan pengumpulan bahan tanaman segar yang akan digunakan. Hal yang perlu diperhatikan pada proses pemanenan simplisia adalah bagian tanaman, umur/tingkat kedewasaan tanaman, lokasi tumbuh, waktu pemanenan dan cara pengumpulan.
- b. Sortasi basah: bertujuan untuk memisahkan pengotor anorganik (berasal dari luar tanaman, contoh: tanah, kerikil) dan organik (contoh: bagian tanaman lain seperti rumput atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan dan bagian yang rusak karena termakan ulat atau busuk/kering) pada bahan segar.
- c. Pencucian: bertujuan untuk membersihkan bahan tanaman dari kotoran seperti tanah dan dapat mengurangi jumlah mikroba atau cemaran pestisida. Hal yang perlu diperhatikan adalah air

yang digunakan dan cara pencucian.

- d. Pengubahan bentuk (perajangan): bagian tanaman tertentu yang berukuran besar dan keras perlu dilakukan perajangan dengan tujuan untuk meningkatkan luas permukaan bahan sehingga air jaringan mudah menguap selama proses pengeringan dan bahan menjadi makin mudah dan cepat kering.
- e. Pengeringan: Tujuan pengeringan adalah menurunkan kadar air pada bahan agar tidak mudah ditumbuhi mikroba selama penyimpanan, menghilangkan aktivitas enzim sehingga menjaga kandungan zat aktif yang terkandung didalamnya, dan mempermudah proses penyimpanan karena lebih ringkas dan menjadi lebih awet. Proses pengeringan simplisia dapat secara alamiah atau buatan. Pengeringan secara alamiah dilakukan di udara terbuka yaitu di bawah sinar matahari langsung (untuk bagian tanaman yang keras, contoh: akar, kulit batang); dikering anginkan (untuk bagian tanaman yang lunak, contoh: daun, bunga); atau dijemur di bawah sinar matahari tidak langsung dengan ditutupi kain hitam, tujuannya adalah untuk menghindari penguapan yang terlalu cepat dan untuk menghindari kontak langsung gelombang sinar UV yang mampu menurunkan kualitas dari minyak atsiri yang terkandung dalam bahan. Pengeringan secara buatan menggunakan alat oven dimana suhu, kelembaban, tekanan, aliran udara dapat diatur. Suhu oven maksimal adalah 60°C.
- f. Sortasi kering: proses pemilihan bagian tanaman yang akan digunakan pada simplisia yang telah kering, misal dari bahan yang terlalu gosong, bahan yang rusak karena berjamur, atau bahan yang terkontaminasi oleh serangga atau kotoran hewan selama proses pengeringan sebelumnya.
- g. Penyimpanan : simplisia yang didapat disimpan dalam tempat yang bersih, kering dan tertutup rapat. Pencucian yang baik dilakukan dengan air bersih yang mengalir.

Setelah simplisia jadi, selanjutnya dilakukan pembuatan serbuk simplisia. Proses pembuatan serbuk simplisia memiliki peran yang penting dalam proses ekstraksi nantinya. Proses pembuatan serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan kontak antara cairan penyari dengan pelarut. Pada umumnya proses ekstraksi akan menjadi lebih cepat bila permukaan serbuk simplisia yang akan bersentuhan (berkontak) dengan cairan pelarut semakin luas dan seragam. Keceragaman serbuk dapat diperoleh melalui prosedur pengayakan menggunakan ayakan dengan nomor tertentu (Agoes 2009).

Simplisia ada yang bersifat lunak seperti daun, bunga dan ada yang bersifat keras seperti biji, kulit kayu, akar. Simplisia yang lunak mudah ditembus oleh pelarut sehingga tidak diperlukan

dibuat serbuk hingga halus, sebaliknya pada simplisia yang keras perlu dibuat serbuk hingga halus. Ayakan mesh 60 biasa digunakan untuk mengayak serbuk simplisia rimpang dan batang, sedangkan ayakan mesh 40 biasa digunakan untuk serbuk simplisia daun dan bunga.

2. TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah mengikuti praktikum ini mahasiswa diharapkan mampu:

- a. Melakukan cara pembuatan simplisia
- b. Memahami prinsip kerja setiap tahapan pembuatan simplisia
- c. Memahami derajat kehalusan serbuk

3. PERSIAPAN

a. Alat

- timbangan,
- baskom,
- pisau,
- talenan,
- oven,
- blender,
- alu dan lumpang,
- ayakan mesh 20, 40, 60 atau 80,
- kertas bersih,
- wadah penyimpanan serbuk,
- label

b. Bahan

- Daun singkong
- Lada hitam
- Air bersih

4. PROSEDUR PELAKSANAAN

Penanganan simplisia

- 1) Setiap kelompok mengerjakan satu jenis sampel,
- 2) Kumpulkan bahan tanaman segar yang telah ditentukan, lalu lakukan sortasi basah dan timbang berat bahan segar tersebut,
- 3) Bahan tanaman dicuci dengan air bersih mengalir, kemudian ditiriskan.
- 4) Lakukan perajangan terlebih dahulu dengan menggunakan pisau/pemotong,

- 5) Tata bahan tanaman yang telah dirajang/yang akan dikeringkan dalam
- 6) wadah dan lakukan proses pengeringan,
- 7) Pengeringan dengan cara diangin-anginkan, bahan diletakan pada ruangan teduh dengan sirkulasi udara baik. Pengeringan dengan sinar matahari tidak langsung dilakukan dengan menjemur bahan di bawah sinar matahari dengan ditutup menggunakan kain hitam. Pengeringan dengan menggunakan oven suhu diatur pada kisaran 40-60°C. Selama proses pengeringan bahan harus rutin diaduk agar proses pengeringan merata di semua bagian bahan.
- 8) Setelah bahan kering lakukan sortasi kering dan timbang simplisia kering yang diperoleh,
- 9) Simpan simplisia pada wadah kering tertutup rapat dan diberi label dengan keterangan nama simplisia dan tanggal pembuatan.

Penetapan derajat kehalusan serbuk

- 1) Simplisia kering diblender/ditumbuk untuk memperkecil ukuran sampel sehingga mudah untuk diayak,
- 2) Lakukan proses pengayakan dengan menggunakan ukuran ayakan yang sesuai dengan jenis sampel.
- 3) Serbuk yang didapat disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup rapat. Berikan label pada wadah dengan keterangan nama simplisia dan tanggal pembuatan.

Evaluasi

Penentuan kekeringan Simplisia		
1	Bobot sampel basah	:
2	Bobot sampel kering	:
3	Waktu yang dibutuhkan untuk pengeringan	:
Penentuan derajat kehalusan simplisia		
4	Bobot sampel setelah diayak	:
Organoleptis serbuk simplisia		
5	Bau	:
6	Rasa	:
7	Warna	:
8	Bentuk	:

5. PEMBAHASAN:

Dari hasil percobaan lakukan analisa dan pembahasan tentang tujuan dari tiap tahapan pembuatan simplisia yang dilakukan dan hasil serbuk simplisia yang diperoleh.

PRAKTIKUM III: SKRINING FITOKIMIA

1. MATERI PENGANTAR

Skrining fitokimia merupakan salah satu tahapan penting yang dapat dilakukan baik di awal maupun di tengah proses ekstraksi, fraksinasi bahkan isolasi senyawa murni. Skrining fitokimia akan memberikan gambaran golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak maupun isolat yang diperoleh.

Skrining fitokimia dikenal juga dengan penapisan fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu sampel bahan alam. Hasil analisis skrining fitokimia menjadi informasi awal untuk menentukan langkah selanjutnya dalam tahapan ekstraksi, fraksinasi, maupun isolasi senyawa. Skrining fitokimia dilakukan dengan memanfaatkan beragam pereaksi kimia spesifik.

Skrining fitokimia dapat dilakukan dengan beberapa pendekatan. Berikut ini adalah metoda umum yang dapat diaplikasikan untuk menarik senyawa metabolit sekunder dari sampel uji, yaitu:

1. Metoda Culvenor Fitzgerald

Metoda ini digunakan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder golongan alkaloid. Sejak pertama kali dipublikasikan di tahun 1963 oleh C. C. J. Culvenor dan J. S. Fitzgerald, reaksi ini telah diaplikasikan secara luas untuk mendeteksi adanya senyawa metabolit sekunder dalam sampel segar. Pengujian dapat dilakukan dalam waktu singkat, dan memungkinkan untuk dapat dilaksanakan di lapangan. Pengujian didahului dengan proses ekstraksi sampel segar dengan metoda ekstraksi asam basa. Lapisan asam yang diperoleh, ditambahkan dengan pereaksi pendeteksi alkaloid seperti pereaksi Mayer ($K_2(HgI_2)$). Dengan pereaksi Mayer, alkaloid akan memberikan endapan berwarna putih.

2. Metoda Simes *et. al.*

Metoda ini digunakan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder golongan fenolik, flavonoid, saponin, terpenoid dan steroid. Sampel uji diekstrak melalui pemanasan dalam pelarut universal seperti etanol atau metanol. Prosedur dilanjutkan ke tahap fraksinasi

menggunakan campuran sama banyak pelarut kloroform dan air. Hasil fraksinasi akan memberikan dua lapisan, yaitu lapisan organik dan lapisan air.

Lapisan air atau polar digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin. Kandungan senyawa golongan fenolik diidentifikasi dengan mereaksikan sampel dengan pereaksi FeCl_3 dan akan menghasilkan larutan berwarna ungu kebiruan hingga hijau gelap yang menunjukkan sampel positif mengandung senyawa fenolik. Kandungan senyawa golongan flavonoid diidentifikasi dengan mereaksikan sampel dengan pereaksi HCl dan logam magnesium (Mg). Sampel positif mengandung senyawa golongan flavonoid akan menunjukkan larutan berwarna oranga kemerahan. Golongan senyawa saponin dapat diidentifikasi dengan melakukan pengocokan lapisan polar dalam tabung reaksi. Busa yang terbentuk dari hasil pengocokan menjadi indikasi adanya kandungan saponin dalam sampel yang diuji.

Lapisan organik digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa golongan terpenoid dan steroid. Sebelum digunakan untuk pengujian, lapisan organik direaksikan terlebih dahulu dengan karbon aktif untuk menghilangkan pigmen – pigmen yang terkandung dalam sampel tersebut. Kandungan senyawa golongan terpenoid dan steroid dalam sampel diidentifikasi dengan menggunakan pereaksi Lieberman – Burchard (campuran asam asetat anhidrat dan asam sulfat 1 : 1). Reaksi yang ditunjukkan oleh pereaksi LB dengan senyawa terpenoid akan menghasilkan larutan berwarna hijau, sedangkan senyawa terpenoid memberikan larutan berwarna jingga kemerahan.

2. TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah mengikuti pembelajaran praktik ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Melakukan persiapan sampel yang akan diuji kandungan metabolit sekundernya.
2. Mengidentifikasi golongan senyawa metanolit sekunder yang terkandung dalam sampel.

3. PERSIAPAN

a. Alat

- Bunsen
- Lumpang dan stamfer
- Pipet tetes
- Plat tetes
- Tabung reaksi

b. Bahan

- Aquadest
- Eter
- FeCl_3
- H_2SO_4 2N
- HCl
- Kapas
- Karbon aktif
- Kloroform
- Kloroform amoniak 0.02 N
- Logam Mg
- Pereaksi Lieberman – Burchard
- Pereaksi Mayer
- Sampel tumbuhan

4. PROSEDUR PELAKSANAAN

a. Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloida

Timbang 500 mg sampel segar, tambah 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air, panaskan di atas penangas air selama 2 menit, kemudian dinginkan dan saring. Ke dalam tabung reaksi atau plat tetes, pindahkan 3 tetes filtrat. Tambah 2 tetes larutan pereaksi (Mayer, Lieberman – Burchard, dan Dragendorf) ke dalam masing – masing tabung reaksi atau plat tetes.

Jika sampel mengandung senyawa golongan alkaloid, maka:

1. Dengan pereaksi Mayer akan terbentuk kabut, endapan, atau gumpalan putih.
2. Dengan pereaksi Lieberman – Burchard akan terbentuk endapan berwarna coklat, coklat kemerahan, hingga coklat kehitaman.
3. Dengan pereaksi Dragendorf akan terbentuk endapan kuning jingga

Sampel uji dikatakan positif mengandung senyawa golongan alkaloid jika setidaknya 2 dari 3 reaksi di atas memberikan hasil positif.

Pengujian lanjutan dapat dilakukan terhadap sisa filtrat yang ada. Tambah 3 ml ammonia dan 10 ml campuran eter – kloroform (3 : 1), kocok kuat. Ambil lapisan organik dan tambah natrium sulfat anhidrat, kemudian saring. Uapkan filtrat hingga menegntal di atas penangas air, tambah HCl 2 N. Ke dalam tabung reaksi atau plat tetes, pindahkan 3 tetes filtrat. Tambah 2 tetes larutan pereaksi (Mayer, Lieberman – Burchard, dan Dragendorf) ke dalam masing – masing tabung reaksi atau plat tetes. Sampel uji dikatakan positif mengandung senyawa golongan alkaloid jika setidaknya 2 dari 3 reaksi di atas memberikan hasil positif.

Pengujian pada sampel segar dapat dilakukan dengan menghaluskan sampel dengan lumpang dan stamfer. Tambah 5 ml kloroform dan 5 ml kloroform ammoniak. Ke dalam tabung reaksi, larutan disaring dengan kapas, dan tambah 10 tetes H₂SO₄ 2 N. kocok dan diamkan campuran hingga terbentuk dua lapisan. 3 tetes lapisan organik dipindahkan ke dalam tabung reaksi atau plat tetes. Lakukan pengujian dengan ketiga pereaksi di atas.

b. Identifikasi Senyawa Golongan Fenolik dan Turunannya

Sampel dirajang dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Tambahkan 25 ml etanol, panaskan selama 15 menit. Ke dalam tabung reaksi, saring ekstrak dengan kapas. Keringkan ekstrak di atas penangas air, tambah 10 ml campuran kloroform : air (1 : 1). Kocok perlahan, diamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Pisahkan kedua lapisan menggunakan pipet tetes. Lapisan atas yang bersifat polar digunakan untuk identifikasi senyawa fenolik dan flavonoid, sementara lapisan bawah (organik) digunakan untuk identifikasi senyawa terpenoid dan steroid.

- Identifikasi Senyawa Golongan Fenolik
Lapisan air ditambah 2 tetes pereaksi FeCl₃. Sampel positif mengandung senyawa golongan fenolik jika terbentuk larutan berwarna biru keunguan hingga biru gelap.
- Identifikasi Senyawa Flavonoid
Lapisan air ditambah 2 tetes HCl dan 1 butir logam Mg. Sampel positif mengandung senyawa flavonoid jika terbentuk larutan berwarna merah jingga.
- Identifikasi Senyawa Saponin
Ke dalam tabung reaksi masukkan 2 ml lapisan air, tutup mulut tabung reaksi dengan penyumbat karet. Kocok kuat larutan tersebut hingga terbentuk lapisan busa yang bertahan di atas permukaan larutan. Sampel positif mengandung senyawa golongan saponin jika busa yang terbentuk tidak segera hilang.
- Identifikasi Senyawa Steroid dan Terpenoid
Masukkan kapas bebas lemak ke dalam pipet tetes. Tambah karbon aktif (norit) hingga $\frac{1}{3}$ pipet. Masukkan lapisan organik (kloroform) ke dalam pipet tampung filtrat ke dalam tabung reaksi. Ke dalam plat tetes pindahkan 2 tetes filtrat, kemudian tambah 2 tetes pereaksi Lieberman – Burchard. Sampel positif mengandung senyawa golongan terpenoid jika larutan berubah menjadi hijau, sedangkan jika larutan berubah menjadi merah, menandakan sampel positif mengandung senyawa golongan steroid.

5. LATIHAN

- a. Jelaskan definisi skrining fitokimia.
- b. Jelaskan definisi metabolit sekunder.
- c. Jelaskan jenis identifikasi metabolit sekunder yang umum dilakukan.
- d. Jelaskan jenis dan kandungan utama pereaksi yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa golongan alkaloid.
- e. Jelaskan jenis dan kandungan utama pereaksi yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa golongan steroid dan terpenoid.
- f. Jelaskan cara melakukan uji identifikasi saponin.

PRAKTIKUM IV
EKSTRAKSI KONVENSIONAL: MASERASI, PERKOLASI, REFLUKS, SOXHLET,
INFUSA DAN DEKOK

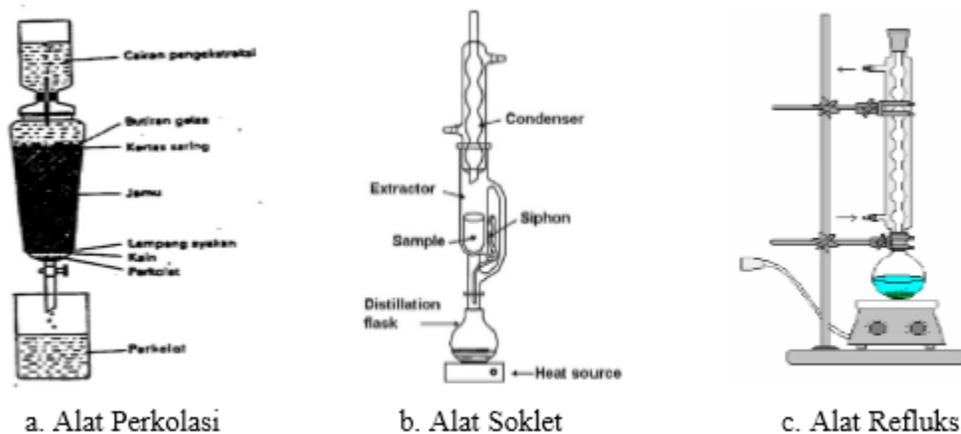
1. MATERI PENGANTAR

Ekstraksi atau penyarian merupakan suatu proses penarikan senyawa- senyawa kimia dari tumbuh-tumbuhan, hewan atau bahan alam lain menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi meliputi: pembasahan dengan pelarut, ekstraksi (penyarian) dan pemekatan. Metode ekstraksi yang dipilih bergantung pada jenis, sifat fisik dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan diekstraksi, pelarut yang digunakan dan alat yang tersedia di laboratorium. Pelarut yang akan digunakan disesuaikan dengan polaritas senyawa yang akan diekstraksi, dapat dimulai dari pelarut non polar (n-heksan), semi polar (etil asetat, diklorometana atau kloroform) dan polar (etanol, metanol atau bahkan air) (Hanani 2015).

Teknik yang umum untuk ekstraksi senyawa kimia secara konvensional terbagi menjadi cara dingin dan panas. Cara dingin meliputi cara maserasi dan perkolasi. Maserasi merupakan proses penyarian sederhana, yaitu dengan merendam sampel dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar dengan waktu tertentu dan disertai dengan pengadukan sehingga kerusakan kandungan kimia yang diekstraksi dapat diminimalisasi. Perkolasi adalah cara ekstraksi yang menggunakan pelarut yang selalu baru dengan cara mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga senyawa akan terekstraksi dengan sempurna. Keuntungan dari teknik ekstraksi dingin adalah aman untuk senyawa yang bersifat termolabil dan kelemahannya adalah membutuhkan lebih banyak jumlah pelarut dan waktu ekstraksi yang lebih lama (Hanani 2015).

Ekstraksi cara panas meliputi sokletasi, refluks, infusa dan dekok. Sokletasi adalah teknik ekstraksi secara berkesinambungan dengan alat soklet menggunakan pelarut organik pada suhu didih. Jumlah pelarut yang digunakan relatif konstan. Pada sokletasi, simplisia dan ekstrak berada pada tempat yang berbeda. Prinsipnya adalah penyarian yang dilakukan berulang-ulang sehingga penyarian lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif lebih sedikit. Refluks adalah cara ekstraksi dengan alat refluks menggunakan pelarut pada suhu titik didih selama waktu tertentu dan menggunakan jumlah pelarut yang terbatas relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Kelemahan cara ini adalah memungkinkan terjadinya penguraian kandungan senyawa yang termolabil (tidak tahan panas) pada sampel. Infusa adalah cara ekstraksi yang cocok untuk simplisia bersifat lunak seperti daun dan bunga dengan menggunakan pelarut air

pada suhu 96 – 98°C selama 15 – 20 menit (dimulai sejak suhu mencapai 96°C). Sedangkan dekok adalah teknik ekstraksi yang mirip dengan infus tetapi waktu yang digunakan lebih lama (30 menit) dan suhunya mencapai 100°C. Metoda perebusan (infusa dan dekok) merupakan metoda yang paling kuno dan sekarang hanya digunakan pada proses tertentu saja. Proses penyarian sering kurang sempurna dan tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa termolabil. Selain itu, hasil infusa dan dekok tidak dapat bertahan lama. Cairan infusa bertahan hanya 24 jam, sedangkan cairan dekok dapat bertahan maksimal 48 jam (Hanani 2015).



Gambar 3.1. Alat-Alat Ekstraksi Konvensional

Proses ekstraksi membutuhkan pelarut pengeksktraksi yang sesuai. Pelarut akan menembus ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI 1986).

Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai pelarut pengeksktraksi adalah air, etanol atau eter. Pemilihan pelarut pengeksktraksi juga harus mempertimbangkan banyak faktor (Depkes RI 1986), yaitu:

- a. Selektif
- b. Kemudahan bekerja dan proses dengan pelarut tersebut

- c. Ekonomis dan mudah diperoleh,
- d. Ramah lingkungan
- e. Aman (diperbolehkan dalam peraturan, bersifat netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar)
- f. Stabil secara fisik dan kimia dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat

Khusus untuk metanol perlu dihindari penggunaannya karena sifatnya toksik, namun sebenarnya metanol adalah pelarut yang lebih baik dibanding etanol sehingga jika menggunakan pelarut metanol maka harus dilakukan uji sisa pelarut dan nilainya harus nol (Depkes RI 1986).

Hasil dari proses ekstraksi adalah ekstrak. Ekstrak dapat berupa ekstrak cair, kental dan kering. Ekstrak kental adalah ekstrak yang sebagian besar pelarut pengekstraksinya telah berhasil diuapkan, sedangkan ekstrak kering adalah ekstrak yang tidak lagi mengandung cairan pelarut (Hanani 2015).

2. PERSIAPAN

a. Alat

timbangan analitik, alat maserator, alat perkolator, alat soklet, alat refluks, panci infusa/dekok, gelas ukur, Erlenmeyer, gelas kimia, corong

b. Bahan

serbuk simplisia, kertas perkamen, etanol 96%, kertas saring, kapas, benang.

3. PROSEDUR KERJA

- a. Setiap kelompok mengerjakan satu jenis cara ekstraksi
- b. Siapkan alat-alat ekstraksi sesuai instruksi
 - a. Maserasi
 - a) Wadah maserator yang telah dibersihkan dan dikeringkan ditutup dengan kertas coklat
 - b) Timbang 100 g serbuk yang akan dimaserasi dan rendam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1 L (atau hingga pelarut setinggi ± 2 cm di atas serbuk)
 - c) Aduk-aduk rendaman dan tutup maserator. Diamkan hingga 24 jam.
 - d) Saring rendaman dengan kain flanel dilanjut dengan menggunakan kertas saring, tampung filtrat dalam wadah, ampas kembali diremaserasi dengan pelarut.

- e) Lakukan maserasi sekurang-kurangnya 2 kali pengulangan (atau hingga warna pelarut menjadi jernih). Tampung filtrat dan masukan ke dalam wadah tertutup rapat.

2) Perkolasi

- a) Rangkai alat perkolator yang sudah bersih dan kering. Sumbat leher alat dengan kapas dan lapis dasar alat dengan kertas saring.
- b) Serbuk sebanyak 100 g dibasahi terlebih dahulu dengan sedikit pelarut etanol 70% (\pm 25 mL) dalam gelas kimia diamkan 30 menit untuk memberikan waktu pelarut kontak dengan serbuk hingga serbuk mengembang.
- c) Letakkan serbuk yang telah dibasahi secara perlahan pada alat perkolator.
- d) Tambahkan pelarut secara perlahan ke dalam alat sampai pelarut mulai menetes dan serbuk simplisia masih terendam pelarut. Tutup perkolator dan diamkan selama 24 jam.
- e) Setelah 24 jam, buka kran alat perkolator, biarkan cairan perkolat menetes dengan kecepatan 1 ml/menit sambil terus ditambahkan berulang-ulang pelarut pengestraksi yang baru sehingga serbuk selalu terendam pelarut.
- f) Tampung filtrat (bila perlu saring ulang dengan kertas saring) dan masukan ke dalam wadah tertutup rapat.

3) Sokletasi

- a) Rangkai alat sokletasi yang sudah bersih dan kering
- b) Serbuk sebanyak 50 gram dibungkus dengan kertas saring.
- c) Masukkan bungkus serbuk ke bagian timbal
- d) Masukkan pelarut hingga 1,5 siklus dan nyalakan alat soklet
- e) Hitung lama waktu yang diperlukan untuk 1 siklus
- f) Lakukan proses sokletasi hingga warna cairan ekstrak yang menetes menjadi jernih
- g) Tampung filtrat dan masukan ke dalam wadah tertutup rapat.

4) Refluks

- a) Rangkai alat refluks yang sudah bersih dan kering
- b) Serbuk sebanyak 100 gram diletakkan di labu alas bulat dan tambahkan pelarut hingga serbuk terendam sempurna.
- c) Nyalakan alat refluks

- d) Lakukan proses refluks selama 1-2 jam.
 - e) Lakukan penyaringan filtrat menggunakan kertas saring.
 - f) Tampung filtrat dan masukan ke dalam wadah tertutup rapat.
- 5) Infusa
- a) Siapkan panci infusa yang telah bersih dan kering.
 - b) Masukan 10 g serbuk simplisia ke dalam panci dan tambahkan air secukupnya.
 - c) Panaskan di tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk.
 - d) Saring selagi panas dengan kain flannel.
 - e) Tambahkan air hingga 100 mL. Tampung pada wadah bersih dan tertutup rapat.
- 6) Dekok
- a) Siapkan panci dekok yang telah bersih dan kering.
 - b) Masukan 10 g serbuk simplisia ke dalam panci dan tambahkan air secukupnya.
 - c) Panaskan di tangas air selama 30 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk.
 - d) Saring selagi panas dengan kain flannel.
 - e) Tambahkan air hingga 100 mL. Tampung pada wadah bersih dan tertutup rapat.

1. Evaluasi

Volume filtrat hasil ekstraksi	
Organoleptis ekstrak	
Bau	
Rasa	
Warna	
Bentuk	

4. PEMBAHASAN

Dari hasil percobaan lakukan analisa dan pembahasan tentang kelebihan dan kelemahan metode ekstraksi yang dilakukan. Lakukan analisa mengenai jenis pelarut yang digunakan terhadap senyawa kimia yang dapat terekstraksi didalamnya.

5. LATIHAN

1. Metode ekstraksi dapat dilakukan secara dingin dan panas. Sebutkan kelebihan dan kelemahan masing-masing metode ekstraksi konvensional dan kapan metode tersebut dipilih untuk proses ekstraksi!
2. Jelaskan syarat pelarut yang baik untuk proses ekstraksi!

PRAKTIKUM V:
ISOLASI GLIKOSIDA FLAVONOID DARI DAUN KETELA POHON

A. TUJUAN PRAKTIKUM

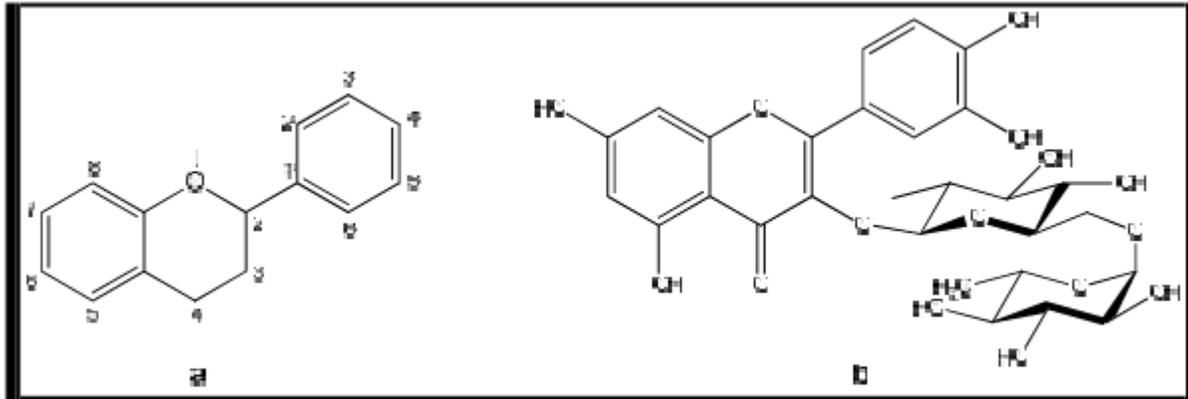
1. Memahami dan melakukan isolasi flavonoid dari daun ketela pohon.
2. Memahami dan dapat melaksanakan analisis kualitatif golongan senyawa tersebut dengan metode kromatografi lapis tipis.

B. DASAR TEORI

Glikosida adalah senyawa yang menghasilkan satu atau lebih gula dan komponen bukan gula pada reaksi hidrolisis. Glikosida terdiri atas gabungan dua bagian senyawa, yaitu gula (glikon) dan bukan gula (aglikon atau genin). Kedua bagian senyawa tersebut dihubungkan oleh suatu ikatan berupa jembatan oksigen (O-glikosida, dioksin), jembatan nitrogen (N-glikosida, adenosin), jembatan sulfur (S-glikosida, sinigrin), maupun jembatan karbon (C-glikosida, barbaloin).

Berdasarkan strukturnya, flavonoid merupakan senyawa induk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan Primula, dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama. Saat ini dikenal sekitar 20 jenis flavonoid, yang berupa senyawa yang larut dalam air. Flavonoid dapat diekstraksi dengan alkohol 70% dan tetap ada pada lapisan air setelah ekstrak dikocok dengan petroleum eter.

Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambahkan basa atau amoniak, sehingga flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Flavonoid dengan rumus umum mempunyai rumus umum $C_6C_3C_6$ mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada spektrum UV dan spektrum tampak. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal dalam jaringan tumbuhan. Disamping itu, sering terdapat campuran yang terdiri atas flavonoid yang berbeda kelas. Antosianin berwarna yang terdapat dalam daun bunga hampir selalu disertai oleh flavon dan flavonolol.



Gambar 1. Struktur dasar flavonoid (a) dan rutin (b)

Rutin atau kuersetin 3-rutinosida pertama kali diisolasi dari *Fagopyrum esculentum* dan sampai sekarang tumbuhan ini masih tetap digunakan. Tidak dapat dipungkiri bahwa dari semua glikosida kuersetin, rutin paling luas penyebarannya dan mungkin terdapat pada 25 % dari tumbuhan tingkat tinggi. Sumber utama rutin antara lain terdapat pada bunga genus *Magnolia*, *Viola*, tumbuhan *Aesculus hippocastanum*, *Nicotiana tabacum* (daun tembakau), *Rheum*, teh, dan *Phaseolus vulgaris*.

Aktivitas biologi flavonoid antara lain antikanker (kuersetin, mirisetin), antioksidan (kuersetin, antosianidin, dan prosianidin), antiinflamasi (apigenin, taksifolin, luteolin, kuersetin) antialergi (nobeletin, tangeretin), antihipertensi (prosianidin), serta antivirus (amentiflavum, skutellarein, kuersetin). Kuersetin merupakan salah satu flavonoid yang banyak terdapat di alam dan diketahui mampu menghambat enzim sitokrom P-450 yang berperan dalam metabolisme parasetamol. Hasil penelitian lain menunjukkan kuersetin dosis 750 mg/kg BB dapat menurunkan efek hepatotoksik parasetamol, dan menurunkan aktivitas enzim sitokrom P-450.

C. ALAT DAN BAHAN

1. Alat

Hot plate, Erlenmeyer 1000 mL, batang pengaduk, corong, gelas kimia 100 mL, kapas, kertas saring, water bath, tabung reaksi, spatula, plat KLT, pipa kapiler, aluminium foil, corong pisah 250 mL, cawan porselin, lampu UV- Vis, amonia (NH₃).

2. Bahan

Serbuk daun singkong kering (sekitar 100 g), akuades, etanol 96%, HCl 2N, n-heksana, dietileter, metanol, natrium sulfat anhidrat (Na₂SO₄).

D. PROSEDUR KERJA

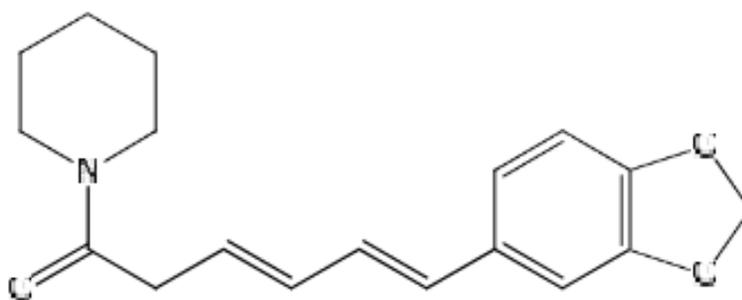
Sebanyak 75 gram serbuk daun singkong kering dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 1000 mL lalu ditambahkan akuades sebanyak 300 mL. Campuran dipanaskan dengan hotplate selama 45 menit. Cairan disaring dengan menggunakan kapas dengan bantuan corong, dan selanjutnya disaring kembali dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam lemari pendingin hingga terbentuk kristal rutin yang berwarna kekuningan. Pisahkan padatan dari larutan menggunakan kertas saring, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 400C selama 3 jam. Endapan diambil sedikit dengan spatula kecil, dan dilarutkan dalam 2 mL campuran metanol dan air = 1:1 (Sampel 1). Sisa padatan pada kertas saring diambil sebagian lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml HCl 2 N. Selanjutnya tabung tersebut dipanaskan dalam waterbath selama 1 jam (Di atas tabung ditempatkan corong berisi kapas untuk mengurangi penguapan). Cairan hasil hidrolisis tersebut dimasukkan kedalam corong pisah. Ditambahkan dietileter sebanyak 25 mL dikocok dengan hati-hati, kedua lapisan yang terbentuk dipisahkan. Lapisan air asamnya dikocok lagi dengan dietileter sebanyak 25 ml selama 3 kali pengocokan. Lapisan eter hasil ekstraksi 1, 2 dan 3 dicampurkan lalu disaring melalui kertas saring yang berisi 3 gram Natrium sulfat anhidrat. Cairan yang diperoleh lalu diuapkan menggunakan hot plate. Residu yang diperoleh dilarutkan dengan 2 mL metanol (Sampel 2). Sampel 1 dan Sampel 2 kemudian ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan pengembang n-heksan : etilasetat = 7:3. Hasil elusi disemprot dengan penampak bercak uap amonia dan diamati di bawah lampur UV 254 dan 366 nm.

PRAKTIKUM VI:
ISOLASI PIPERIN DARI LADA HITAM (*Piper nigrum* L.)

A. MATERI PENGANTAR

Alkaloid adalah salah satu senyawa organik bahan alam yang banyak jumlahnya dengan variasi struktur yang banyak pula. Walaupun demikian, senyawa-senyawa alkaloid diklasifikasikan berdasarkan pada :

1. Jenis cincin heterosiklik nitrogen yaitu piperidin, isokuinolin, kuinolin, dan indol.
 2. Jenis tumbuhan dari mana alkaloid ditemukan, misalnya alkaloid tembakau, alkaloid amaryllidaceae, alkaloid erythrina, dsb
 3. Asal-usul biogenetik, yakni dari asam-asam amino alifatik dan asam-asam amino aromatik.
- Cara ini sangat berguna untuk menjelaskan hubungan antara berbagai alkaloid yang diklasifikasikan berdasarkan jenis cincin heterosiklik, dengan kata lain cara ini merupakan perluasan dari klasifikasi yang didasarkan pada jenis cincin heterosiklik, dan sekaligus mengkaitkannya dengan konsep biogenesis. Kegunaan senyawa alkaloid bagi tumbuhan adalah sebagai plindung dari serangan hama, penguat tumbuhan dan pengatur kerja hormon. Piperin (1- piperilpiperidin) merupakan senyawa alkaloid dengan inti piperidin, berbentuk kristal kuning dengan titik leleh berkisar 127 – 129,5°C, merupakan basa yang tidak optis aktif, dapat larut dalam alkohol, benzen, eter dan sedikit larut dalam air. Piperin terdapat dalam tanaman lada (*Piper nigrum* L). Kandungan piperinnya berkisar antara 5-92



Gambar 1. Struktur 1-piperil piperidin

B. TUJUAN PEMBELAJARAN

Setelah mengikuti pembelajaran praktik ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Melakukan proses ekstraksi menggunakan alat sokletasi.
2. Melakukan isolasi alkaloid dari sampel lada hitam.

C. PERSIAPAN

1. Alat

Satu set alat soxhlet, corong, kertas saring, alat evaporator, alat ukur titik leleh (melting point apparatus).

2. Bahan

Simplisia buah lada hitam (*Piperis nigris fructus*), etanol absolut, 10 % KOH - Etanol.

D. PROSEDUR PELAKSANAAN

Lada hitam dibersihkan dari kotoran dan dikeringkan kemudian digiling menjadi serbuk halus. Serbuk lada sebanyak 100 g dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat soxhlet. Ekstraksi dilakukan selama 5 jam dengan menggunakan pelarut etanol absolut. Ekstrak disaring dan dilakukan evaporasi untuk memisahkan pelarut etanol. Masukkan 30 mL larutan 10 % KOH-etanol ke dalam ekstrak dan lakukan penyaringan. Larutan basa etanol didiamkan semalam. Kristal yang terbentuk dipisahkan dari larutan, akan diperoleh kristal berwarna kuning. Lakukan rekristalisasi dengan pelarut etanol 95 %. Kristal yang terbentuk diuji titik lelehnya.

PRAKTIKUM VII

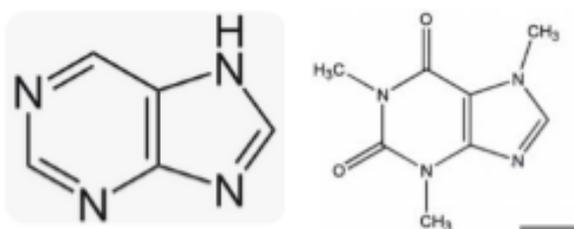
ISOLASI KAFEIN DARI TEH (*Camellia sinensis* L.)

A. TUJUAN

1. Menjelaskan konsep dan jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi padat-cair, cair-cair dan asam-basa, serta terampil dalam melakukan teknik ekstraksi.
2. Mengetahui karakteristik alkaloid dan yang terkandung dalam teh.

B. TEORI

Kafein merupakan senyawa yang termasuk dalam golongan alkaloid. Alkaloid adalah senyawa yang mengandung atom nitrogen dalam strukturnya dan banyak ditemukan dalam tanaman. Senyawa alkaloid umumnya memiliki rasa pahit dan seringkali memiliki sifat fisiologis aktif bagi manusia. Kafein merupakan turunan senyawa dengan sistem cincin purin, yang secara biologis memiliki aktivitas yang cukup penting.



Struktur kimia Purin dan Kafein

Kafein berfungsi sebagai stimulant, yang dapat menstimulasi kerja jantung, pernafasan, sistem syaraf pusat dan sebagai diuretik. Kafein dapat menyebabkan kegelisahan, insomnia, sakit kepala dan bersifat adiktif. Selain pada terkandung kopi (sekitar 80-125 mg/cangkir), kafein cukup banyak terkandung dalam the (30- 75 mg/cangkir). Teh telah dikonsumsi sebagai minuman selama hampir 2000 tahun, dimulai di Cina. Minuman ini dibuat dengan menyeduh daun dan kuncup muda pohon teh (*Camellia sinensis*) di dalam air panas. Daun teh bisa difermentasi ataupun tanpa fermentasi sebelum digunakan. Daun teh yang difermentasi sering disebut teh hitam, sedangkan daun teh yang tidak difermentasi disebut teh hijau, dan daun teh yang difermentasi sebagian disebut teh olong.

Daun teh sebagian besar mengandung selulosa yang tak larut dalam air. Selulosa di dalam tumbuhan berfungsi hampir sama dengan serat protein dalam hewan, yaitu sebagai material pembangun struktur tanaman. Selain itu, di dalam daun teh terdapat beberapa senyawa lain seperti tannin (senyawa fenolik, polimer dari flavan-3-ol) dan sejumlah kecil klorofil.

C. ALAT DAN BAHAN

1. Alat

Labu Erlenmeyer 250 mL dan 125 mL, corong pisah, pipet tetes, corong Buchner, alat ukur titik leleh.

2. Bahan

Serbuk simplisia daun teh (*Theae Folia*), natrium karbonat (Na_2CO_3), diklorometan (CH_2Cl_2), kalsium klorida anhidrat (CaCl_2 anhydrous), aseton, etilasetat, metanol, pereaksi Dragendorff.

D. PROSEDUR KERJA

1. Ekstraksi Kafein

Masukkan 25 g daun teh kering (atau 10 kantong teh celup) dan 20 g natrium karbonat ke dalam labu erlenmeyer 250 mL, lalu tambahkan 225 mL air mendidih. Biarkan campuran selama 7 menit, kemudian dekantasi campuran reaksi ke dalam labu Erlenmeyer lain. Residu hasil dekantasi ditambahkan lagi 50 mL air panas untuk didekantasi kembali dan gabungkan dengan ekstrak the sebelumnya. Untuk mengekstrak sisa kafein yang mungkin ada, didihkan air berisi daun teh/kantong teh selama 20 menit, lalu dekantasi ekstrak. Dinginkan ekstrak teh hingga suhu kamar, lalu lakukan ekstraksi cair-cair di dalam corong pisah dengan penambahan 30 mL diklorometana. Kocok corong pisah secara perlahan selama 5 menit (supaya tidak terbentuk emulsi), sambil membuka keran corong pisah untuk mengeluarkan tekanan udara/gas dari dalam corong pisah. Ulangi ekstraksi dengan menambahkan 30 mL diklorometana ke dalam corong pisah. Gabungkan fraksi diklorometana dan semua fraksi yang berwujud emulsi di dalam labu erlenmeyer 125 mL, lalu tambahkan kalsium klorida anhidrat ke dalam gabungan ekstrak dan emulsi, sambil diaduk selama 10 menit. Saring ekstrak diklorometana dengan hati-hati (jangan sampai gumpalan kalsium klorida anhidrat ikut terbawa). Bilaslah Erlenmeyer dan kertas saring dengan 5 mL diklorometana. Filtrat dipanaskan menggunakan hot plate untuk menguapkan diklorometana. Padatan putih kehijauan sebanyak 0,25 yang terbentuk direkristalisasi menggunakan 5 mL aseton panas, lalu pindahkan dengan pipet larutan ini ke dalam labu Erlenmeyer kecil, dan dalam keadaan panas, tambahkan n-heksan tetes demi tetes sampai terbentuk suspensi keruh. Dinginkan labu Erlenmeyer sampai dengan suhu kamar, kristal yang terbentuk disaring dengan corong Buchner sambil dicuci dengan beberapa tetes n-heksan. Lakukan uji titik leleh terhadap kristal kafein (Lit. 235-238°C).

2. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Larutkan sedikit sampel kristal kafein hasil ekstraksi dari daun teh dengan sedikit diklorometana atau kloroform. Kemudian larutan sampel ini ditotolkan di atas pelat KLT lalu dielusi menggunakan eluen etil asetat : metanol = 3 : 1. Semprot pelat yang telah dikembangkan dengan pereaksi semprot Dragendorff dan setelah itu dipanaskan. Adanya alkaloid akan ditunjukkan oleh noda pada pelat yang berwarna jingga. Tentukan Rf nya!

DAFTAR PUSTAKA

- Bruneton, J., 1999, *Pharmacognosy and Phytochemistry of Medicinal Plants*, Translated by Caroline K Hatton, 2nd edition, Lavoiser, France, p.303-304.
- Harborne. J.B., 1996, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terjemahan Padmawinata K. dan Soediro I., Edisi II, ITB Press, Bandung.
- Kowalska, T., Sherma, J. *Preparative Layer Chromatography*, Volume 95, Taylor & Francis Group, New York, 2006
- Hostettmann. K., M., Hostettmann, A., Marston. A. *Cara kromatografi Preparatif: Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*, Terjemahan Padmawinata K. dan Soediro I., ITB Press, Bandung, 1995.
- Williamson R.M. *Macroscale and Macroscale Organic Experiments*, 3rd edition, Boston, 1999, p.160-166; 704-706.
- Mayo, D.W., Pike, R.M., Trumper, P.K. *Microscale Organic Laboratory*, 3rd edition, John Wiley & Sons, New York, 1994, p.97-104.
- Pasto, D., Johnson, C., Miller, M., *Experiments and Techniques in Organic Chemistry*, Prentice Hall Inc., New Jersey, 1992, p.60-81; 404-406. Williamson R.M. *Macroscale and Macroscale Organic Experiments*, 3rd edition, Boston, 1999, p.160-166; 704 706.
- Achmad S.A., *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*, 1986, Penerbit Karunia Jakarta, Jakarta, Universitas Terbuka, hal. 47-61
- Anwar C., dkk, *Pengantar Praktikum Kimia Organik*, 1994, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, hal. 370-385.
- Bruneton, J., 1999, *Pharmacognosy and Phytochemistry of Medicinal Plants*, Translated by Caroline K Hatton, 2nd edition, Lavoiser, France, p.303-304.
- Harborne. J.B., 1996, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terjemahan Padmawinata K. dan Soediro I., Edisi II, ITB Press, Bandung.