

**FRAKSINASI DAN SKRINING FRAKSI BUNGA
KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN
METODE KLT (KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS)
Karya Tulis Ilmiah**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
Untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)

KARYA TULIS ILMIAH



Disusun oleh:

Riski Nauli Siregar

20131066

**YAYASAN AL FATHAH
PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL-FATAH
BENGKULU
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini adalah:

Nama : Riski Nauli Siregar

NIM : 20131066

Program Studi : Diploma (DIII) Farmasi

Judul : Fraksinasi dan Skrining Fraksi bunga Kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth) dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah ini merupakan hasil karya sendiri dari sepengetahuan penulis tidak berisikan materi yang dipublikasikan atau ditulis orang lain atau dipergunakan untuk menyelesaikan studi di perguruan tinggi lain kecuali untuk bagian-bagian tertentu yang dipakai sebagai acuan.

Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Bengkulu, Agustus 2023



Riski Nauli Siregar

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL

**FRAKSINASI DAN SKRINING FRAKSI BUNGA KENIKIR
(*Cosmos caudatus* Kunth) DENGAN
METODE KLT (KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS)**

Oleh:

Riski Nauli Siregar
20131066

Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Diploma (DIII) Farmasi
Di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu

Pada Tanggal 16 Juni 2023

Dewan Penguji:

Pembimbing I

Pembimbing II


Dewi Novia, M. Farm., Apt
NIDN : 0212058202


Nurwani Purnama Aji, M.Farm.,Apt
NIDN : 0208028801

Penguji


Yuska Noviyanty, M. Farm., Apt
NIDN : 0212118201

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

“Only you can change your life. Nobody else can do it for you”

Orang lain gak akan bisa paham struggle dan masa sulitnya kita yang mereka ingin tau hanya bagian succes stories. Berjuanglah untuk diri sendiri walaupun gak ada yang tepuk tangan. Kelak diri kita di masa depan akan sangat bangga dengan apa yang kita perjuangkan hari ini, tetap berjuang.

“Setiap orang punya jatah gagal, habiskan jatah gagalmu saat muda.”
(Dahlan Iskan)

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim, Puji syukur aku panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan kelancaran sehingga aku bisa menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dan tak lupa pula sholawat beriring salam kepada nabi Muhammad SAW yang telah membawa zaman jahiliyah menuju zaman yang serba canggih ini. Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan untuk:

- ❖ Kepada kedua orang tua ku yang ku sayang dan kucintai, orang tua yang paling hebat dari siapapun di dunia ini dan selalu menjadi penuntun dan penyemangat dikala semangat mulai menurun serta insan yang telah mengajarku banyak hal hingga menjadi seperti sekarang. Untuk Ayah ku Akbaruddin Siregar dan Ibu ku Kurnia Fitri malaikat tanpa sayap yang selalu memberikan doa terbaik untuk ku, terima kasih telah berjuang dan selalu memberikan

yang terbaik untuk anakmu ini. Semoga Allah membalasnya dengan syurga nya Allah Aamiin Ya Robbal Alamin.

- ❖ Saudaraku Demi Ferdiansa Siregar terima kasih telah hadir di dunia ini dan menjadi saudara, sahabat, serta teman untuk segala hal. Semangat terus untuk cita-cita nya sampai kita berdua berhasil mengangkat derajat orang tua dan menjadi kebanggaan keluarga.
- ❖ Teruntuk Wanita hebatku Novia Putri Ramadani terima kasih telah menjadi support system, tempat cerita, dan Wanita yang sabar dalam mendukung serta membantu dalam cerita drama KTI ini. Terima kasih yaa..
- ❖ Untuk Pembimbing I yang saya hormati Ibu Devi Novia, M.Farm., Apt terima kasih bu telah banyak membimbing dan membantu saya dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah.
- ❖ Untuk Pembimbing II yang saya hormati Ibu Nurwani Purnama Aji, M.Farm., Apt terima kasih bu telah banyak membimbing dan membantu saya dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah.
- ❖ Untuk Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm., Apt selaku Penguji, terima kasih bu yang telah memberikan saya masukan dan menambah ilmu pengetahuan saya untuk membuat Karya Tulis Ilmiah ini.
- ❖ Teruntuk Sahabatku yang sudah seperti kakak ku sendiri Harmoko, terima kasih atas semangat, nasehat, bantuan, dan canda tawanya.
- ❖ Untuk partner kenikir team Ananda Dila Monicca, terima kasih untuk bantuan, semangat, kerja sama, dan perjuangan nya. Sehingga penelitian tentang kenikir dapat kita selesaikan.

- ❖ Tak lupa terima kasih juga untuk sahabat-sahabat cukup tau.com (anisa dwi, Delima, Dini, Feri, dan tia) yang sudah berjuang dan banyak membantuku selama 3 tahun ini, sukses selalu untuk kita.
- ❖ Teman-teman seperjuangan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah. kita lewati 3 tahun ini Bersama-sama dan sekarang berjuang menyelesaikan tugas akhir ini. Selalu semangat untuk kita semua, ingat ini baru awal dari sebuah perjuangan kita untuk menghadapi dunia ini.
- ❖ Tidak lupa saya ucapkan terimakasih kepada dosen-dosen Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah yang telah sabar membimbing kami hingga kami berada ditahap ini. Tanpa kalian karya ini tidak berarti apa-apa

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan judul “**Fraksinasi dan Skrining Fraksi Bunga Kenikir (*Cosmos caudatus kunth*) dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis**” dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini bertujuan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Farmasi di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan Karya Tulis Ilmiah ini banyak mengalami kendala, berkat doa dan bantuan serta bimbingan dan kerja sama dari berbagai pihak dan berkat Allah SWT sehingga kendala - kendala yang dihadapi tersebut dapat diatasi. Untuk itu pada kesempatan ini penulis dengan segala kerendahan hati dan penuh rasa hormat mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini hingga selesai, terutama kepada yang saya hormati :

- ❖ Ibu Devi Novia, M.Farm., Apt selaku Pembimbing I yang telah banyak membantu saya dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah.
- ❖ Ibu Nurwani Purnama Aji, M.Farm., Apt selaku Pembimbing II yang telah membantu dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah.

- ❖ Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm.,Apt selaku Penguji yang telah memberikan saya masukan dan menambah ilmu pengetahuan saya untuk membuat Karya Tulis Ilmiah ini.
- ❖ Ibu Nanik, M.Pd.i selaku Dosen Pembimbing Akademik.
- ❖ Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt.,MM selaku Ketua Yayasan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
- ❖ Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm.,Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
- ❖ Para Dosen dan Staf pengajar Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
- ❖ Rekan-rekan seangkatan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
- ❖ Dan semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah yang penulis susun ini bermanfaat untuk pengembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi khususnya tentang kefarmasian.

Bengkulu, 29 Desember 2022

Penulis

INTISARI

Bunga kenikir adalah tanaman yang memiliki nama latin *Cosmos Caudatus* Kunth dan biasanya memiliki bunga berwarna kuning atau jingga ini, memiliki banyak khasiat seperti antibakteri, karena mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan nilai Rf pada fraksi (n-heksan, etil asetat, aquadest) dari ekstrak bunga kenikir (*Cosmos Caudatus* Kunth).

Metode yang digunakan yaitu maserasi dengan pelarut etanol 96% yang kemudian di uapkan dengan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode fraksinasi cair-cair. Fraksinasi dilakukan berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu pelarut non-polar (n-heksan), pelarut semi polar (etil asetat) dan pelarut polar (aquadest). Ketiga fraksi tersebut kemudian dilakukan skrining fraksi dan dilanjutkan dengan uji penegasan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Dalam penelitian ini telah dilakukan beberapa percobaan pada skrining fraksi (aquadest, n-heksan, etil asetat) dari ekstrak Bunga Kenikir dan hasil yang didapat pada skrining fraksi dari etil asetat (flavonoid dan alkaloid). Skrining pada fraksi aquadest (flavonoid dan alkaloid), sedangkan pada skrining fraksi n-heksan menunjukkan hasil negatif. Untuk nilai Rf fraksi etil asetat senyawa alkaloid yaitu 0,82. Senyawa flavonoid yaitu 0,76. Sedangkan pada fraksi aquadest pada senyawa flavonoid yaitu 0,71, senyawa alkaloid 0,78.

Kata kunci : Bunga Kenikir, Fraksinasi, Skrining Fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis

Daftar : 49 (1985-2020)

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	i
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	vi
INTISARI.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Batasan Masalah	3
1.3 Rumusan Masalah.....	3
1.4 Tujuan	3
1.5 Manfaat Penulisan.....	4
1.5.1 Bagi Akademik	4
1.5.2 Bagi Peneliti	4
1.5.3 Bagi Instansi dan masyarakat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kajian Teori	5
2.1.1 Tanaman bunga kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> kunth).....	5
2.1.2 Flavonoid	10
2.1.3 Simplisia	10
2.1.4 Metode Ekstraksi	11
2.1.5 Skrining Fitokimia	14
2.1.6 Fraksinasi	17
2.1.7 Kromatografi Lapis Tipis.....	20
2.2 Kerangka Konsep.....	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	23

3.2.1 Alat Penelitian	23
3.2.2 Bahan Penelitian	23
3.3 Prosedur Kerja Penelitian	24
3.3.1 Pembuatan Simplisia	24
3.3.2 Ekstrak Bunga Kenikir dengan Metode Maserasi	25
3.3.3 Fraksinasi Ekstrak Bunga Kenikir (<i>Cosmos caudatus</i> kunth)	26
3.3.4 Pembuatan Larutan Pereaksi	27
3.3.5 Skrining Fraksinasi (aquadest, n-heksan etil asetat)	27
3.3.6 Uji Penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis	29
3.4 Analisa Data	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
4.1 Hasil	Error! Bookmark not defined.
4.1.1 Verifikasi Tanaman	Error! Bookmark not defined.
4.1.2 Ekstrak Bunga Kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth)	Error! Bookmark not defined.
4.1.3 Fraksinasi Ekstrak Bunga Kenikir (Aquadest, Etil asetat, N-heksan)	Error! Bookmark not defined.
4.1.4 Hasil Uji Fraksi (Aquadest, Etil asetat, N-heksan) dari bunga kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth)	Error! Bookmark not defined.
4.1.5 Hasil Uji Rendemen (Aquadest, Etil asetat, N-heksan) ekstrak bunga kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth)	Error! Bookmark not defined.
4.1.6 Skrining Fraksinasi (N-heksan, Etil asetat, Aquadest)	Error! Bookmark not defined.
4.1.7 Hasil Uji Penegasan dengan KLT	Error! Bookmark not defined.
4.2 Pembahasan	Error! Bookmark not defined.
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bunga kenikir (<i>cosmos caudatus</i> kunth)	5
Gambar 2. Struktur kimia flavonoid	8
Gambar 3. Struktur kimia Minyak atsiri	8
Gambar 4. Stuktur kimia tannin	9
Gambar 5. Reaksi Alkaloid dengan reagen Mayer	Error! Bookmark not defined.
Gambar 6. Reaksi Alkaloid dengan reagen Wagner	Error! Bookmark not defined.
Gambar 7 Reaksi Alkaloid dengan reagen dragendorff	Error! Bookmark not defined.
Gambar 8. Hasil Verifikasi Tanaman Kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth)....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 9. Skema Alur Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 10. Skema Kerja Pembuatan Simplisia Bunga Kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth)	Error! Bookmark not defined.
Gambar 11. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Bunga Kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth)	Error! Bookmark not defined.
Gambar 12. Skema Kerja Fraksinasi Ekstrak Bunga Kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth).....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 13. Skema Kerja Identifikasi Fraksi Bunga Kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth).....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 14. Alat	Error! Bookmark not defined.
Gambar 15. Bahan.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 16. Pembuatan Ekstrak Bunga Kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth).	Error! Bookmark not defined.
Gambar 17. Proses Fraksinasi (Aquadest, etil asetat, n-heksan)	Error! Bookmark not defined.
Gambar 18. Hasil Skrining (aquadest, etil asetat, n-heksan)	Error! Bookmark not defined.

Gambar 19. Hasil Uji Penegasan dengan metode KLTErrors! **Bookmark not defined.**

DAFTAR TABEL

Table 1. Pelarut Polar	18
Table 2. Pelarut Semi Polar.....	19
Table 3. Pelarut Non Polar	19
Table 4. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Kenikir.....	Error! Bookmark not defined.
Table 5. Hasil Fraksinasi Ekstrak Bunga Kenikir	Error! Bookmark not defined.
Table 6. Hasil Uji Pemeriksaan Fraksinasi	Error! Bookmark not defined.
Tabel 7. Uji Rendemen(Aquadest, Etil asetat, N-heksan) ekstrak bunga kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth)	Error! Bookmark not defined.
Tabel 8. Hasil Uji Skrining Fraksinasi (Aquadest, N-heksan, Etil Asetat).....	Error! Bookmark not defined.
Table 9. Hasil Uji Penegasan KLT fraksi Bunga kenikir (<i>Cosmos Caudatus</i> Kunth).....	Error! Bookmark not defined.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan potensi tumbuhan yang telah digunakan sebagai obat tradisional secara turun temurun. Obat tradisional dapat berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, sediaan galenik, bahan mineral, ataupun campuran dari bahan-bahan tersebut, yang cara pengolahan dan penggunaannya sesuai tradisi masyarakat. Masyarakat Indonesia telah lama menggunakan bahan alam sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit dan pada umumnya obat tradisional juga lebih dipercaya oleh masyarakat karena dianggap lebih aman dibandingkan dengan menggunakan obat modern (Hasibuan, 2016).

Salah satu tumbuhan yang sering digunakan masyarakat sebagai obat tradisional adalah tumbuhan kenikir (*Cosmos caudatus* kunth). Kota Gorontalo merupakan salah satu daerah yang masih mempertahankan tradisi leluhur dalam penggunaan bunga kenikir sebagai obat untuk mengobati penyakit atau mencegah penyakit, namun bagian tumbuhan kenikir yang paling sering digunakan dikalangan masyarakat adalah daun kenikir karena diketahui memiliki manfaat sebagai antibakteri, karena mengandung berbagai senyawa metabolit seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Daun kenikir ini juga sering dimanfaatkan sebagai obat batuk, sakit gigi, melancarkan buang air besar, obat cacing, serta juga digunakan untuk merawat dan menyembuhkan infeksi (Triatmoko & Noor, 2020). Ekstraksi metabolitnya sendiri dapat

dilakukan dengan menggunakan berbagai metode ekstraksi (Dwiyanti *et al.*, 2014).

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa yang terkandung dari campurannya dalam zat terlarut untuk memisahkannya dari zat yang tidak larut dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah suhu operasi, kecepatan pengadukan, ukuran, bentuk, dan kondisi partikel padat, jenis, dan jumlah pelarut (Anggista *et al.*, 2019).

Fraaksinasi merupakan teknik pemisahan senyawa ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya menggunakan dua macam pelarut yang tidak bercampur (Sari *et al.*, 2015). Pelarut yang biasa digunakan dalam fraaksinasi adalah n-heksana, etil asetat dan metanol. Untuk penarikan senyawa non-polar digunakan pelarut n-heksana, untuk penarikan senyawa semipolar digunakan pelarut etil asetat, sedangkan penarikan ekstrak senyawa polar menggunakan pelarut aquadest/metanol.

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik untuk meneliti bagian struktur lain dari tanaman kenikir yaitu bunga kenikir untuk mengetahui senyawa metabolit yang terkandung pada bunga kenikir dengan melakukan uji Fraaksinasi dan skrining fraksi pada bunga kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%.

1.2 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini antara lain :

- a. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth).
- b. Ekstrak etanol bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.
- c. Ekstrak bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) dilakukan fraksinasi dan skrining fraksi untuk mengidentifikasi senyawa metabolit seperti flavonoid.
- d. Uji penegasan dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

1.3 Rumusan Masalah

- a. Senyawa metabolit apa saja yang terkandung dalam fraksi ekstrak bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) ?
- b. Berapa nilai Rf yang terdapat pada fraksi ekstrak bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) ?

1.4 Tujuan

- a. Untuk mengetahui senyawa metabolit yang terkandung dalam fraksi ekstrak bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth).
- b. Untuk mengetahui nilai Rf dari fraksi ekstrak bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth).

1.5 Manfaat Penulisan

1.5.1 Bagi Akademik

Hasil penelitian ini dapat menjadi wawasan dan penambah pengetahuan bagi perkembangan akademik dan dapat digunakan sebagai referensi.

1.5.2 Bagi Peneliti

- a. Dapat menambah informasi, pengetahuan dan dapat juga sebagai referensi yang bermanfaat bagi mahasiswa-mahasiswi stikes Al-Fatah Bengkulu.
- b. Penelitian ini menjadi salah satu syarat mendapatkan gelar Ahli Madya Farmasi

1.5.3 Bagi Instansi dan masyarakat

Dapat menambah wawasan tentang kandungan senyawa kimia yang terdapat pada bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) dan menjadi landasan untuk masyarakat membudidayakan tanaman ini agar bisa dijadikan sebagai obat tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori



Gambar 1. Bunga kenikir (*cosmos caudatus* kunth)

2.1.1 Tanaman bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth)

Kenikir adalah tanaman yang berasal dari Amerika yang biasanya tumbuh di daerah tropis dengan nama latin *Cosmos caudatus* Kunth. Nama ini disampaikan oleh Karl Sigismund Kunth pada tahun 1820 dan dianggap sebagai nama yang sah. Kenikir merupakan salah satu species dari genus *Cosmos* yang terdiri dari 26 species dari keluarga/famili Asteraceae/Compositae. Kenikir dapat ditemui di pembatas sawah, tepi

ladang dan semak belukar. Kenikir ini tahan terhadap cuaca panas dan dapat tumbuh di berbagai tempat yang terkena sinar matahari langsung dengan tanah berpasir, berbatu, berlempung, dan liat bepasir dengan kelembapan sedang atau lebih (Astutiningrum, 2016).

a. Klasifikasi tanaman bunga kenikir (*Cosmos caudatus kunth*)

Menurut Moshawih dkk. (2017), taksonomi tumbuhan kenikir adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Division : Spermatophyta

Sub Division : Angiospermae

Class : Dicotyledone

Order : Asterales

Family : Asteraceae

Genus : *Cosmos*

Species : *Cosmos caudatus* Kunth

b. Morfologi bunga kenikir (*Cosmos caudatus kunth*)

Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) merupakan tanaman perdu dengan tinggi 75-100 cm, batang tegak, berbentuk segiempat, beralur membujur, bercabang banyak, batang muda berbulu, beruas-ruas, warna hijau keunguan. Daun majemuk, tumbuh bersilang berhadapan, berhadapan, ujung runcing, tepi rata, panjang tangkai 15-25 cm, dengan tangkai yang panjang berbentuk seperti talang, daun bagian atas berturut-turut bertangkai makin pendek, lebih kecil, dan kurang berbagi (Astutiningrum, 2016).

Bunga kenikir tergolong bunga majemuk yang tumbuh di ujung batang. Bunga kenikir mempunyai banyak cakram, berkelamin 2, bertaju 5, bewarna pucat dengan bagian pangkal bewarna kuning. Mahkota bunga terdiri dari delapan helai daun dengan benang sari berbentuk tabung, putik berambut, warna hijau kekuningan, serta bunga berwarna merah. Buahnya keras, bentuk jarum, ujung berambut, masih muda berwarna hijau setelah tua coklat. Biji keras, kecil, bentuk jarum, panjang ± 1 cm, berwarna hitam. Akar tunggang dan berwarna putih (Simpson.,2006).

Sedangkan akarnya tunggang dan berwarna putih. Kenikir menyukai tempat tumbuh yang langsung terkena sinar matahari dengan tanah berpasir atau berbatu, berlempung, liat berpasir atau berlempung dengan kelembaban sedang atau lebih (Anonim, 2013).

c. Kandungan tanaman kenikir (*Cosmos caudatus* kunth)

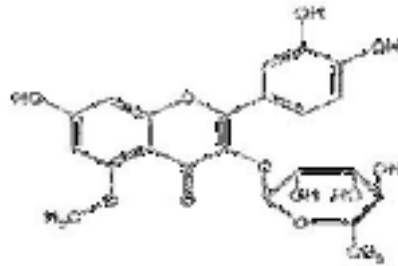
Bunga kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) mengandung beberapa senyawa metabolit yaitu :

1) Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk kedalam kelompok fenol terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid berfungsi sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, zat antimikroba dan antivirus. Senyawa ini biasanya dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai bentuk respon terhadap infeksi (Endarini, 2016)

Flavonoid dapat ditemukan pada jaringan tanaman dalam bentuk aglikon (tidak terikat dengan gula), glikosida (terikat dengan gula), dan derivat metil. Adanya ikatan dengan gula menyebabkan banyaknya bentuk yang dapat terjadi di dalam tumbuhan, sehingga flavonoid jarang ditemukan dalam

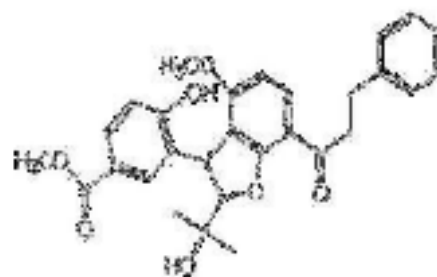
keadaan tunggal. Sejumlah kecil flavonoid dalam bentuk aglikon sering hadir dan terkadang mewakili proporsi total kandungan flavonoid pada tanaman (Saxena dkk., 2013).



Gambar 2. Struktur kimia flavonoid

2) Minyak Atsiri

Minyak atsiri atau dikenal dengan nama minyak eteris atau minyak terbang (volatile oil). Minyak atsiri merupakan senyawa yang umumnya berwujud cairan yang diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga dengan cara penyulingan menggunakan uap. Minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, mempunyai rasa getir (pungent taste), berbau wangi sesuai dengan tanaman penghasilnya minyak atsiri dapat larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (Astri Yuliana *et al.*, 2020)



Gambar 3. Struktur kimia Minyak atsiri

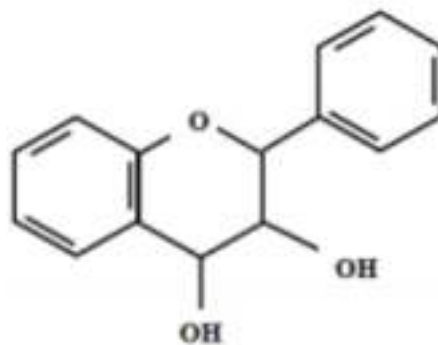
3) Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida yang disintesis dari asam mevalonat melalui jalur isoprenoid. Berdasarkan kerangka aglikon, saponin dapat diklasifikasikan menjadi dua grup, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid. Ciri senyawa saponin adalah kemampuannya menurunkan tegangan permukaan air dan membentuk buih yang stabil (Watson, 2013).

Saponin berperan sebagai antibakteri dengan mengganggu kestabilan membran sel bakteri yang menyebabkan lisisnya sel bakteri. Saponin akan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri sehingga mengakibatkan rusaknya membran sel dan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat, dan nukleotida. Hal ini menyebabkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan dan Aryana, 2015).

4) Tanin

Tanin merupakan senyawa bioaktif yang termasuk kedalam golongan polifenol dan berperan sebagai pertahanan terhadap mikroorganisme. Tanin dapat larut dalam pelarut metanol berdasarkan uji fitokimia (Rachmawati, 2018).



Gambar 4. Stuktur kimia tannin

2.1.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tanaman termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Banjarnahor & Artanti, 2014; Trembl & Smejkal, 2016).

Flavonoid dapat ditemukan pada jaringan tanaman dalam bentuk aglikon (tidak terikat dengan gula), glikosida (terikat dengan gula), dan derivat metil. Adanya ikatan dengan gula menyebabkan banyaknya bentuk yang dapat terjadi di dalam tumbuhan, sehingga flavonoid jarang ditemukan dalam keadaan tunggal. Sejumlah kecil flavonoid dalam bentuk aglikon sering hadir dan terkadang mewakili proporsi total kandungan flavonoid pada tanaman (Saxena dkk., 2013).

2.1.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum pernah dilakukan pengolahan kecuali dinyatakan lain, seperti berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia terbagi dalam beberapa yaitu berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Prasetyo & Entang, 2013).

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu. Dikeluarkan

dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni.

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.

c. Simplisia Pelikan (mineral)

Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum pernah diolah maupun yang pernah diolah secara sederhana serta belum merupakan bahan kimia murni.

2.1.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi padat-cair (leaching) merupakan proses pemisahan zat yang melarut (zat terlarut) dari campuran dengan zat padat yang tidak larut (inert) pelarut cair. Dalam proses ekstraksi, beberapa faktor yang menentukan besar kecilnya koefisien perpindahan massa adalah kecepatan pengadukan, ukuran partikel, suhu, sifat fisik padat, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terkandung dalam berbagai simplisia dapat dibagi menjadi beberapa kategori seperti minyak atsiri, alkaloid, dan flavonoid (Prayudo *et al.*, 2015).

a. Cara dingin

1) Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes,

2007). Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya mudah ditemukan dan pengerjaannya sederhana. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan, prinsip dari metode maserasi adalah perendaman sampel. Cairan penyari (pelarut) akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif yang terkandung di dalam sel akan terekstrak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Pengerjaan metode maserasi yang lama dan keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraksi (Istiqomah, 2013). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2) Perkolasi

Perkolasi adalah penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Alat yang digunakan disebut perkulator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat.

Prinsip ekstraksi dengan perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori,

cairan penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuktersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sampel dalam keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan tekanan penyari dari cairan diatasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan ke bawah (Erviana 2016).

b. Cara Panas

1) Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna (Marjoni, 2016).

2) Soxhlet

Soxhlet merupakan metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang ulang dengan menggunakan pelarut tertentu (Hanani, 2016).

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C (Hanani, 2016).

4) Infusa

Infus merupakan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit kecuali dinyatakan lain (Marjoni, 2016). Infusa adalah cara ekstraksi dengan

menggunakan pelarut air pada suhu 96-98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu 96°C tercapai). Bejana infusa tercelup dalam tangas air. Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2016).

5) Dekokta

Dekokta merupakan proses penyarian yang hampir sama dengan infusa. Perbedaan hanya terletak pada lama waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C (Marjoni, 2016). Dekokta dapat diartikan sebagai sari-sari dalam air yang dibuat dari bahan-bahan alam yang direbus pada suhu 90°C selama 30 menit (Hanani, 2016).

c. Destilasi Uap

Distilasi uap merupakan suatu metode isolasi zat organik yang tidak larut dalam air dengan mengalirkan uap air dengan prinsip penurunan titik didih campuran, destilasi uap dapat menguapkan senyawa-senyawa ini dengan suhu mendekati 100°C dalam tekanan atmosfer dengan menggunakan uap atau air mendidih. Destilasi merupakan suatu perubahan fase cairan menjadi uap dan uap tersebut didinginkan kembali menjadi cairan dengan masing-masing campuran senyawanya (Mustiadi *et al.*, 2020).

2.1.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui

kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tanaman. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan reagen pendeteksi golongan senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan lain-lain (Putri dkk. 2013). Skrining fitokimia terbagi antara dua macam metabolit yaitu:

a. Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang disintesis oleh tumbuhan dan merupakan sumber senyawa obat, yang terdiri dari alkaloid, flavonoid, Steroid, Tanin, dan Saponin (Saifudin, 2014). Ciri spesifik metabolit sekunder antara lain struktur kimia beragam, penyebaran relatif terbatas, pembentukannya dipengaruhi enzim, dan bahan genetik tertentu, proses biosintesisnya dipengaruhi oleh jumlah dan aktivitas enzim yang merupakan aspek spesialisasi sel dalam proses diferensiasi dan perkembangan organisme secara keseluruhan. Contohnya: Alkaloid, Flavonoid, Steroid, Tanin, dan Saponin.

1) Pemeriksaan Alkaloid

Senyawa alkaloid dalam sampel dapat diketahui keberadaanya dengan cara menambahkan lima tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Mayer ke dalam 1 ml ekstrak sampel. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya alkaloid (Padmasari dkk., 2013).

2) Pemeriksaan Flavanoid

Pemeriksaan senyawa flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan satu gram serbuk Mg dan 10 ml HCL pekat kedalam 1 ml ekstrak warna larutan menjadi kuning atau sampel. Perubahan menandakan adanya senyawa flavanoid (Afriani, dkk., 2016).

3) Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Pemeriksaan senyawa steroid dan terpenoid dilakukan dengan cara sampel ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat dimana terbentuk warna biru-hijau untuk positif steroid dan berwarna merah bila positif Terpenoid (Afriani, dkk., 2016).

4) Pemeriksaan Tanin

Pemeriksaan senyawa tanin dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes FeCl_3 1% kedalam 1 mL sampel. Perubahan warna menjadi biru tua menunjukkan adanya senyawa fenolik. Kemudian ditambahkan 0,5 ml gelatin 2% jika terbentuk endapan menandakan positif adanya senyawa tannin (Padmasari dkk., 2013).

5) Pemeriksaan Saponin

Pemeriksaan uji saponin dilakukan dengan mengocok lapisan air dalam tabung reaksi bila terbentuk busa yang tahan selama lebih kurang 15 menit berarti positif untuk uji saponin (Afriani, dkk., 2016).

b. Metabolit Primer

Metabolit primer merupakan suatu zat/senyawa esensial yang terdapat dalam organisme dan tumbuhan, yang berperan dalam proses semua kehidupan organisme tersebut atau merupakan kebutuhan dasara untuk kelangsungan hidup bagi organisme atau tumbuhan tersebut. Contohnya: Asam Amino, Asetil CoA, gula-gula, Nuklelotida, Asam sitrat, lipid, protein, dan kerbohidrat (Neoh *et al.*, 2013).

2.1.6 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pengambilan zat murni dari ekstrak menggunakan dua jenis pelarut yang terpisah (Sari *et al.*, 2015). Senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang juga bersifat non polar, senyawa semi polar akan larut dalam pelarut yang bersifat semi polar dan senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar (Adiarti, 2013). Prinsip fraksinasi yang digunakan *like dissolve like* yang menunjukkan bahwa suatu senyawa akan terlarut dalam pelarut yang mempunyai kepolaran yang mirip dengannya. Fraksinasi menggunakan metode Ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan dengan menggunakan dua cairan pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga senyawa tertentu terpisahkan menurut kesesuaian sifat dengan cairan pelarut (prinsip *solve dissolve like*).

Untuk mencapai proses ekstraksi cair-cair yang baik, pelarut yang digunakan harus memenuhi kriteria sebagai berikut :

- a. Kemampuan tinggi melarutkan komponen zat terlarut di dalam campuran.
- b. Kemampuan tinggi untuk diambil kembali.
- c. Perbedaan berat jenis antara ekstrak dan rafinat lebih besar.
- d. Pelarut dan larutan yang akan diekstraksi harus tidak mudah campur.
- d. Tidak mudah bereaksi dengan zat yang akan diekstraksi.
- e. Tidak merusak alat secara korosi.
- f. Tidak mudah terbakar, tidak beracun dan harganya relatif murah.

Terdapat tiga golongan pelarut yang akan digunakan dalam fraksinasi yaitu :

1) Pelarut Polar

Pelarut Polar adalah senyawa yang memiliki rumus umum ROH dan menunjukkan adanya atom hidrogen yang menyerang atom elektronegatif (oksigen). Pelarut dengan tingkat kepolaran tinggi merupakan pelarut yang cocok untuk semua jenis zat aktif karena di samping menarik senyawa yang bersifat polar, pelarut ini juga tetap dapat menarik senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah. Contoh pelarut polar yaitu: air, metanol, etanol, asam asetat (Marjoni, 2016).

Table 1. Pelarut Polar

Pelarut	Rumus kimia	Titik Didih	Konstanta Dielektrik	Bobot Jenis
Asam asetat	CH ₃ COOH	118□	6,2	1,049 g/ml
Etanol	CH ₃ -CH ₂ -OH	79□	30	0,789 g/ml
Metanol	CH ₃ -OH	65□	33	0,791 g/ml
Air	H ₂ O	100□	80	1,000 g/ml

2) Pelarut Semipolar

Pelarut semipolar adalah pelarut yang memiliki molekul mengandung ikatan O-H. Pelarut semipolar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik digunakan untuk

melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat semipolar dari timbuan. Contoh

Pelarut semipolar : asetom, etil asetat, diklorometana (Marjoni, 2016).

Table 2. Pelarut Semi Polar

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih	Konstanta Dielektrik	Bobot Jenis
Aseton	$\text{CH}_3\text{-C(=O)-CH}_3$	56 $^{\circ}\text{C}$	21	0,786 g/ml
Etil Asetat	$\text{CH}_3\text{-C(=O)-O-CH}_2\text{-CH}_3$	77 $^{\circ}\text{C}$	6,0	0,894 g/ml
Diklorometana	$\text{CH}_2\text{-Cl}_2$	40 $^{\circ}\text{C}$	47	1,326 g/ml

3) Pelarut Nonpolar

Pelarut nonpolar merupakan senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang rendah dan tidak larut dalam air. Pelarut ini baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar seperti minyak. Contoh pelarut nonpolar yaitu : Heksana, kloroform, toluena (Marjoni, 2016).

Table 3. Pelarut Non Polar

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih	Konstanta Dielektrik	Bobot Jenis
Heksana	C_6H_{14}	69 $^{\circ}\text{C}$	2,0	0,655 g/ml
Kloroform	CHCl_3	61 $^{\circ}\text{C}$	4,8	1,498 g/ml

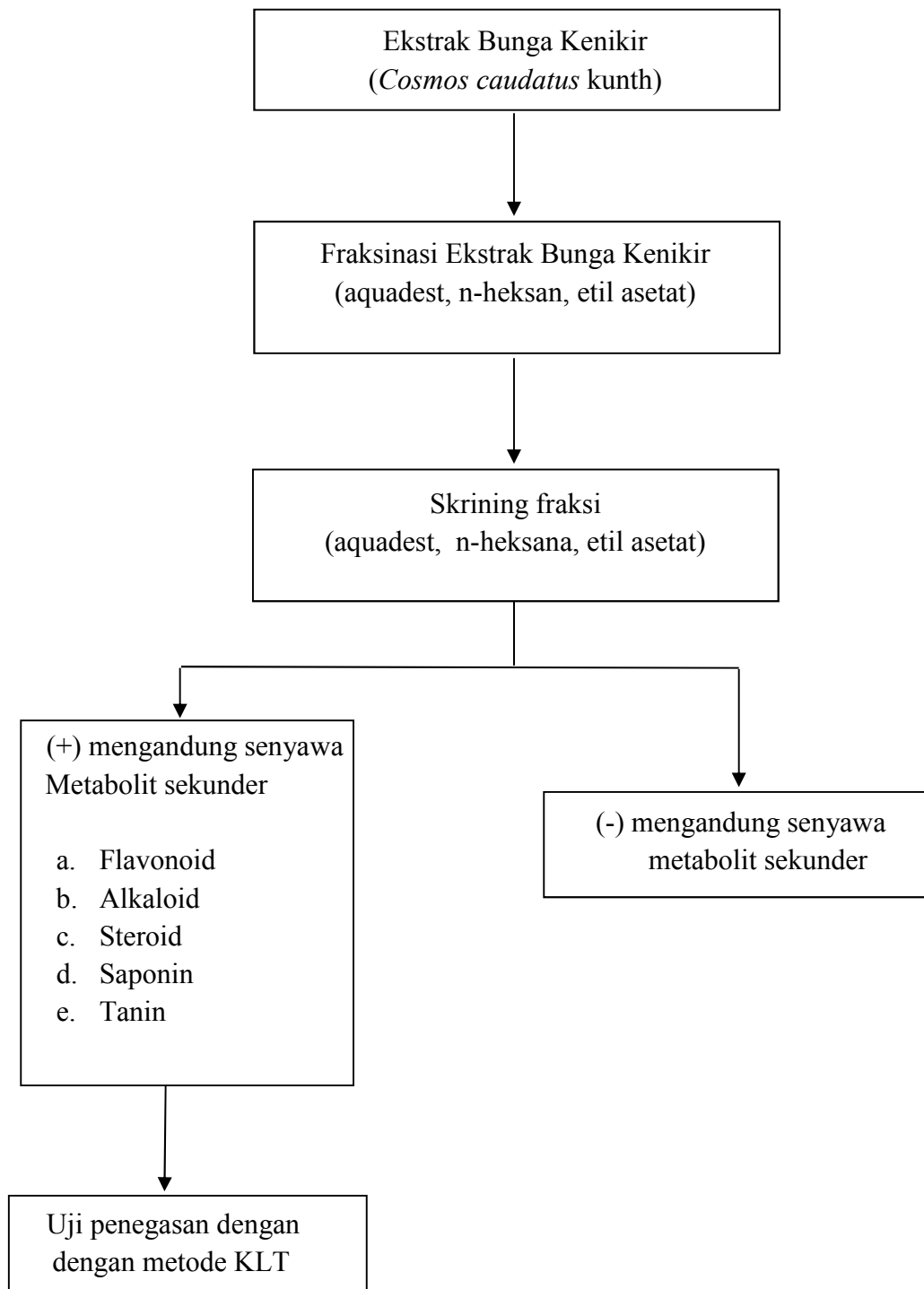
2.1.7 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen. Pemisahan campuran komponen tersebut didasarkan pada distribusi komponen pada fase gerak dan fase diamnya. Kromatografi lapis tipis biasanya digunakan untuk tujuan analisis kualitatif, analisis kuantitatif dan analisis preparatif. Suatu sistem KLT terdiri dari fase diam dan fase gerak (Jayanti dkk, 2015). Prinsip KLT adalah distribusi senyawa antara fase diam berupa padatan diletakkan pada plat kaca atau plastik dan fase gerak berupa cairan, yang bergerak diatas fase diam. Sejumlah kecil dari senyawa (analit) ditotolkan pada titik awal tepat di atas bagian bawah plat KLT. Plat tersebut kemudian dikembangkan dalam chamber (ruang pengembang) yang memiliki kolam dangkal, pelarut diletakkan tepat di bawah di mana sampel ditotolkan. Pelarut bergerak melalui partikel senyawa pada plat dengan gaya kapiler, dan selama pelarut bergerak campuran masing-masing senyawa akan tetap dengan fase diam atau larut dalam pelarut dan bergerak ke atas plat. Senyawa bergerak naik keatas plat atau tetap pada fase diam tergantung dari sifat fisik masing-masing senyawa dan dengan demikian tergantung pada struktur molekul, terutama gugus fungsi. Kelarutan senyawa mengikuti aturan like dissolves like. Senyawa yang sifat fisiknya semakin sama dengan fase gerak akan semakin lama larut dalam fase gerak (Kumar *et al*, 2013). Jarak ini dikonversikan dalam nilai R_f (Retention factor), dengan rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Nilai R_f sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai R_f lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fase diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fase diam, sehingga menghasilkan nilai R_f yang rendah. R_f KLT yang bagus berkisar antara 0,2-0,8. Jika R_f terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya.

2.2 Kerangka Konsep



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – Mei 2023 di Laboratorium Fitokimia Stikes Al-Fatah, Fakultas Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, timbangan, gelas ukur, *becker glass*, corong, Erlenmeyer, botol gelap, kertas saring, oven, *rotary evaporator*, corong pisah, *chamber*, botol vial, pipa kapiler, pipet tetes, Silica gel F254.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah bunga Kenikir (*Cosmos caudatus* kunth), Etanol 96%, n-heksan (C_6H_{14}), etil asetat (C_4H_8O), aquadest (H_2O), n-butanol ($C_4H_{10}O$), asam asetat (CH_3COOH), metanol (CH_3OH), asam klorida (Hcl 2N), Asam asetat anhidrat (Ac_2O), $FeCl_3$, *Mayer*, *dragendroff*, *Wegner*, serbuk Mg, kuarsetin, piperin, $H_2SO_4(p)$, penyemprotan alumunium III klorida 5%.

3.3 Prosedur Kerja Penelitian

3.3.1 Pembuatan Simplisia

a. Verifikasi Tanaman

Verifikasi sampel pada penelitian ini di Laboratorium Fakultas Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

b. Penyiapan Sampel

Setelah dipetik bunga kenikir akan melalui proses pengumpulan bahan baku dari proses sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering sampai proses penyimpanan sampel. Beberapa hal yang bisa mempengaruhi kualitas dari suatu bahan baku sampel yang digunakan yaitu, umur tumbuhan saat dipanen/dipetik, waktu panen, bagian tumbuhan, lingkungan tumbuhan.

c. Pengelolaan sampel

1) Pengumpulan Bahan Baku

Bahan baku sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bunga kenikir (*Cosmos caudatus* kunth) yang diambil dari tanaman kenikir di daerah kota Bengkulu.

2) Sortasi Basah

Dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pencucian, sehingga bagian bunga kenikir yang didapatkan layak untuk digunakan.

3) Pencucian

Dengan cara mencuci bunga kenikir dengan air bersih sehingga kotoran – kotoran yang masih menempel pada bunga kenikir terbang. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin untuk menghindari hilangnya zat yang terkandung pada bunga kenikir.

4) Perajangan

Perajangan dilakukan menggunakan pisau, dengan diiris tipis sesuai ukuran yang diinginkan.

5) Pengeringan

Setelah perajangan dilakukan proses pengeringan dengan cara sampel bunga kenikir yang sudah dirajang diletakkan pada wadah kemudian dianginkan saja yang bertujuan agar zat yang terkandung tidak berkurang. Proses pengeringan ini berlangsung hingga kadar air yang diperoleh $\leq 10\%$.

6) Sortasi Kering

Proses ini dilakukan dengan cara memisahkan bagian – bagian yang tidak diinginkan atau kotoran yang masih menempel pada bunga kenikir yang dilakukan secara manual.

3.3.2 Ekstrak Bunga Kenikir dengan Metode Maserasi

Pembuatan Ekstrak Bunga kenikir

- a. Siapkan sampel simplisia bunga kenikir kemudian dirajang sesuai ukuran yang dibutuhkan. Setelah itu timbang simplisia sebanyak 2000 gr dan siapkan etanol 96%.
- b. Rendam 2000 gr sampel dalam etanol 96% dalam botol kaca sampai semua bagian sampel terendam selama 3 x 24 jam. Setelah itu saring dengan kertas saring, lalu lakukan remaserasi hingga filtrat berwarna bening.

- c. Kemudian gabungkan hasil semua filtrat untuk diuapkan menggunakan rotary evaporator sampai didapatkan hasil ekstrak bunga kenikir (*Cosmos caudatus kunth*) (Novia *et al.*, 2019).

3.3.3 Fraksinasi Ekstrak Bunga Kenikir (*Cosmos caudatus kunth*)

- a. Fraksinasi Ekstrak Bunga Kenikir (Novia *et al.*, 2019)
 - 1) Ekstrak Bunga kenikir (*Cosmos caudatus kunth*) 10 gram dilarutkan dengan aquadest (polar) sebanyak 100 ml lalu tambahkan dengan pelarut n-heksan (nonpolar) sebanyak 100 ml kedalam corong pisah. Lalu kocok corong pisah selama 30 menit dan didiamkan sampai terbentuk dua lapisan fraksi. Lapisan bawah (lapisan etanol dan aquadest) dan lapisan atas (lapisan *n*-heksan). Pisahkan dan ambil fraksi *n*-heksan sebagai hasil fraksi 1.
 - 2) Selanjutnya sisa dari lapisan etanol dan air ditambahkan pelarut semi polar (etil asetat) sebanyak 100 ml kemudian masukan kedalam corong pisah lalu dikocok dan diamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (etil asetat) sebagai fraksi 2 dan lapisan bawah (etanol dan aquadest) sebagai fraksi 3.
 - 3) Setelah ketiga hasil fraksi tersebut didapatkan lakukan evaporasi kembali dengan menggunakan evaporator hingga diperoleh tiga fraksi yaitu fraksi *n*-heksan (F1), fraksi etil asetat (F2), dan fraksi etanol-aquadest (F3).
- b. Pemeriksaan Fraksinasi (aquadest, *n*-heksan, etil asetat)
 - 1) Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis ekstrak fraksi Bunga kenikir meliputi warna, aroma/bau, konsistensi.
 - 2) Uji Rendemen

Rendemen adalah perbandingan antara fraksi yang diperoleh dengan ekstrak yang digunakan.

$$\%Rendemen = \frac{\text{berat fraksi yang diperoleh}}{\text{berat ekstrak yang digunakan}} \times 100\%$$

3.3.4 Pembuatan Larutan Pereaksi

a. Larutan Pereaksi *Mayer*

Dengan cara menambahkan KI (kalium iodide) sebanyak 5 gram dalam 10 ml aquadest lalu ditambahkan larutan 1,36 gram HgCl_2 (merkuri (II) klorida) kedalam 60 ml air suling. Kemudian larutan dikocok lalu ditambahkan aquadest ad 100 ml.

b. Larutan pereaksi *Dragendorf*

Larutkan bismut nitrat sebanyak 8 gram ke dalam 20 ml asam nitrat (HNO_3). lalu campur dengan larutan kalium iodida sebanyak 27,2 gram kedalam 50 ml aquadest, kemudian campuran didiamkan sampai memisah secara sempurna. Ambil larutan yang jernih lalu encerkan dengan aquadest hingga 100 ml.

c. Larutan pereaksi *Wegner*

Ambil KI (kalium iodida) sebanyak 6 gram dan I_2 (iodin) sebanyak 2 gram, lalu larutkan KI dan I_2 ke dalam aquadest sebanyak 100 ml.

3.3.5 Skrining Fraksinasi (aquadest, n-heksan etil asetat)

a. Uji Flavonoid

Dengan cara siapkan hasil fraksi (F1), (F2), (F3) tambahkan asam klorida pekat dan logam Mg pada sampel. Tes positif bila terjadi warna merah - jingga (afriani, *et al.*, 2016).

b. Uji Alkaloid

Tambahkan 10 mL CHCl_3 - amoniak 0,05 N pada hasil fraksi (F1), (F2), (F3) kocok perlahan, lalu biarkan terjadi pemisahan. Ambil lapisan CHCl_3 , kemudian tambahkan 0,5 mL H_2SO_4 2 N, kocok perlahan, biarkan terjadi pemisahan. Ambil lapisan asamnya dengan pipet, setelah itu masukkan ke dalam tabung reaksi lain, kemudian tambah satu tetes pereaksi *Mayer*, *Wagner* dan *Dragendorff*. Hasil positif adanya alkaloid jika terbentuk adanya endapan putih dengan pereaksi *Mayer*, endapan coklat dengan pereaksi *Wagner* dan Jingga dengan pereaksi *Dragendorff* (afriani *et al.*, 2016).

c. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara siapkan hasil fraksi (F1) , (F2), (F3) ambil 1 ml sampel masukkan ke dalam tabung reaksi lalu tambahkan 10 ml air lalu panaskan selama 2-3 menit. Kemudian di dinginkan kocok lapisan air dalam tabung reaksi setelah dingin jika terbentuk busa yang tahan selama lebih kurang 15 menit berarti menunjukkan hasil positif (Afriani *et al.*, 2016).

d. Uji Steroid

Dengan cara siapkan hasil fraksi (F1), (F2), (F3) ambil 1 ml sampel ditambahkan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna biru - hijau berarti positif steroid (afriani, *et al.*, 2016).

e. Uji Tanin

Tambahkan larutan FeCl_3 ke dalam sampel hasil fraksi (F1), (F2), (F3). Jika terbentuk warna hitam kebiruan maka Hasil positif tannin (afriani, *et al.*, 2016).

3.3.6 Uji Penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis

Prinsip kerja KLT adalah distribusi senyawa antara fase diam berupa padatan diletakkan pada plat kaca atau plastik dan fase gerak berupa cairan, yang bergerak diatas fase diam (Kumar et al, 2013). Fase diam yang digunakan dalam fraksi ini yaitu silica gel dengan ukuran $10 \times 10 \text{ cm}^3$, sebelum digunakan plat KLT sebaiknya diaktifkan terlebih dahulu dalam oven dengan suhu 110°C selama 30 menit untuk fase diam sedangkan untuk fase gerak diaktifkan dengan cara masukkan pelarut atau eluen kedalam bejana sehingga terdapat fase gerak setinggi 5 – 10 mm lalu tutup bejana, biarkan selama 1 jam pada $20 - 25^\circ\text{C}$. (Husa & Mita, 2020)

Cara kerja KLT pastikan plat KLT sudah terpotong dengan ukuran $10 \times 10 \text{ cm}^3$ selanjutnya garis tepi plat KLT dengan jarak 0,5 cm lalu beri tanda titik untuk penotolan sampel. Kemudian sampel ditotol menggunakan pipa kapiler lalu masukkan plat KLT ke dalam chamber yang sudah dijenuhkan menggunakan eluen, setelah eluen mencapai batas merambat yang diinginkan keluarkan dan tunggu hingga kering lalu lakukan pengamatan dengan sinar uv dan tandai spot bercak noda. Kemudian lanjut ke tahap penyemprotan penampak noda dan penampak noda yang digunakan adalah sebagai berikut:

a. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Fase gerak : n-butanol: asam asetat: air (4:1:5)

Penampak noda : Pereaksi semprot aluminium (III) Klorida 5% dalam etanol (Yanty *et al.*, 2019)

Baku pembanding : Kuersetin

Bila tampak bercak noda kuning ke hijauan pada penyemprotan pereaksi alumunium (III) Klorida 5% dalam etanol (Nirwana dkk, 2015). Jika tanpa pereaksi kimia dibawah lampu UV 365 nm flavonoid akan berfluoresens biru, kuning atau hijau tergantung dari strukturnya.

b. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Fase gerak : Etil asetat : Metanol: Air (6:4:2)

Penampak noda : Pereaksi *Dragendorff*.

Baku pembanding : Piperin

Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi dragendroff menunjukkan adanya alkaloid. Bila tanpa pereaksi kimia, dibawah lampu UV 356 nm, alkaloid akan berfluoresens biru, biru-hijau, atau ungu (Novia *et al.*, 2019).

c. Identifikasi Senyawa Steroid

Fase gerak : toluen: etil asetat: kloroform (5:1:4)

Penampak noda : LB

Baku pembanding : B-sitosterol

Bila timbul bercak terlihat pada sinar tampak, pada sinar UV 254 nm dan setelah disemprot penampak bercak LB menunjukan adanya steroid (Yanty *et al.*, 2019).

d. Identifikasi Senyawa Saponin (Pratama, dkk., 2012)

Fase gerak : kloroform: metanol: air (13:7:2)

Penampak noda : Liberman Bouchardat

Baku Pembanding : Sapogenin

Jika timbul warna hijau setelah dilakukan penyemprotan Liberman Bouchardat menunjukkan adanya senyawa saponin jenis steroid dalam ekstrak.

e. Identifikasi Senyawa Tanin

Fase gerak : n-Butanol: asam stearat: air (4:1:5)

Penampak noda : Pereaksi FeCl₃

Baku Pembanding : Katekin

Jika tampak noda pada saat disinari dengan lampu UV 366 nm berwarna ungu dan diperkuat oleh (Hayati, 2010) yang menyatakan bahwa noda hasil KLT yang diduga senyawa tanin berwarna (Novia *et al.*, 2019).

3.4 Analisa Data

Analisa data pada penelitian ini dibuat dengan cara menggambarkan secara deskriptif dan selanjutnya dalam bentuk gambar dan tabel.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiarti, R. (2013). Aktivitas Bakteri *Endofitik* Batang *Mangrove Avicennia marina* Sebagai Penghasil Antibiotik. Skripsi, Universitas Padjajaran, Bandung.
- Afriani, N., Nora, I., dan Andi, H.A. 2016. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus Anisophyllus*) Terhadap Larva Artemia Salina. JKK. Vol. 5(1). 2016; 58-64
- Agoes. G, 2007. Teknologi Bahan Alam, ITB: Bandung.
- (Anggista *et al.*, 2019). Faktor - faktor pengaruh proses ekstraksi, GEMA TEKNOLOGI Vol. 20 No. 3 Periode April 2019 - Oktober 2019.
- Anonim. 2013 *Tanaman obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika.
- (Astri Yuliana *et al.*, 2020) Proses pengambilan Minyak Atsiri dari tanaman Nilam (*Pogestemon cablin* Benth) menggunakan metode Microwave Hydrodistillation, Politeknik Negeri Sriwijaya.
- (Astutiningrum, 2016) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In-Vitro. Skripsi.
- Banjarnahor, S. D. S., & Artanti, N. (2014). Antioxidant properties of flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*, 23(4), 239–244. <https://doi.org/10.13181/mji.v23i4.1015>
- Depkes RI, 1985, Cara Pembuatan Simplisia, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- (Dharma *et al.*, 2020) Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh
- Dwiyanti, W., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. (2014). Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* secara In Vitro. Lenterabio.
- Endarini, L. H. 2016. Farmakognosi dan Fitokimia. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan. 215 hlm.
- Erviana, Erna. 2016. “Pengaruh Perbedaan Metode Penyarian Maserasi, Remaserasi dan Perkolasi Uji Diuretik Daun Salam (*Syzgrum folium*) Pada Mencit Putih Jantan (*Musculus*).” Politeknik Harapan Bersama Tegal.
- Hanani, E. 2016. Analisis Fitokimia. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Harborne, J.B., (1987). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Bandung: ITB Press.

- Hasibuan, Malayu. (2016). Manajemen Sumber Daya Manusia. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara.
- (Husa & Mita, 2020) Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis Retrofracti* Fructus). Skripsi. UIN Jakarta
- (Izza *et al.*, 2016). Ekstraksi senyawa *fenol* daun kenikir (*Cosmos caudatus*) dengan metode PEF. Universitas Brawijaya.
- Jayanti, R., Aprilia, H., dan Lukmayani, Y., 2015. *Analisis Bahan Kimia Obat (BKO) Glibenklamid* Dalam Sediaan Jamu Diabetes Yang Beredar Dipasaran. Prosiding Penelitian SPeSIA 2015. Surabaya: Prodi Farmasi FMIPA Unisba, hh 649-653
- Jayanuddin., 2011, Komposisi Kimia Minyak Atsiri Daun Cengkeh Dari Proses Penyulingan Uap, Jurnal Teknik Kimia Indonesia., 10, 37-42.
- Kumar, S. & Pandey, A., 2013, Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, The ScientificWorld Journal, 2013, 1-16.
- Kurniawan, Betta dan Wayan Ferly Aryana. 2015. Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth. *J Majority*; 4(4).
- Marjoni R. Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi. Jakarta: Trans Info Media; 2016
- Moshawih S, Cheeme MS, Ahmad Z, Zakaria ZA, Hakim MN. A *Comprehensive Review on Cosmos Caudatus (Ulam Raja): Pharmacology, Ethnopharmacology, and Phytochemistry. International Research Journal of Education and Sciences (IRJES)*. 2017;1(1):14–31.
- (Mukhriani, 2014). *Ekstraksi, Pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif*. Fakultas ilmu Kesehatan UIN Alaudin Makassar.
- Mustapa, M.A, Taupik, M, Lalapa, AR 2019, Analisis Kadar Flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-VIS dalam Kulit Buah salak, *journal Syifa Sciences and clinical research*
- (Mustiadi *et al.*, 2020). Buku Ajar Distilasi Uap dan Bahan Bakar Pelet Arang Sampah Organik. Jl. Sokajaya No. 59, Purwokerto New Villa Bukit Sengkaling C9 No. 1 Malang
- Neoh, B.K., *et al.*, (2013). “*Profil Metabolit di Mesokarp Kelapa Sawit di Berbagai Tahapan Biosintesis Minyak*”. Jurnal Pertanian dan Pangan Kimia. 61 (8), 1920 – 1927.

- Nirwana, A.P., 2015. Aktivitas antiproliferasi ekstrak etanol daun benalu kersen (*dendrophthoe pentandra* L. Miq.) Terhadap kultursel kanker nasofaring (raji cell line). universitas sebelas maret : Surakarta
- (Novia *et al.*, 2019). Identifikasi dan Fraksinasi ekstrak akar tebu hitam metode KLT. Akademi Farmasi Al-fatah Bengkulu.
- Padmasari, P D., Astuti, K W., Warditiani, N K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum* Roxb). Jurnal Farmasi Udayana 2 (4): 1-4
- Peter, L. 2010. Thin Layer Chromatography Characterization of the Active Ingredients in Excedrin and Anacin. Stevens Institute of Technology. Hoboken
- Prasetyo dan Entang Inorah. (2013). *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat - Obatan (Bahan Simplisia)*. Gedung Fakultas Pertanian UNIB, Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Pratama, M.A., Hosea J.E., dan Jovie M.D. 2012 Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). Pharmacon. Vol. 1 (2). Hal. 86-92. E-Journal.
- Prayudo, A.N., Novian, O., Setyadi, & Antaresti, (2015), Koefisien Transfer Massa Curcumin Dari Temulawak, *Journal Ilmiah Widya Teknik Vol. 14 No. 01*.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., dan Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). Journal Pharmacon, 09 (4), 56– 59.
- Rachmawati, O., Sugita, P., & Santoso, A. (2018). Sintesis Perekat Tanin Resorsinol Formaldehida Dari Ekstrak Kulit Pohon Mangium Untuk Peningkatan Kualitas Batang Sawit. Jurnal Penelitian Hasil Hutan, 36(1), 33–46. <https://doi.org/10.20886/jphh.2018.36.1.33-46>
- Saifudin, A. (2014). Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian. Yogyakarta: DEEPUBLISH.
- Sari, D. M., Wijaya, S., & Setiawan, H. K. (2015). *Fractionation and Identification Antioxidant Compound from Ethanol Extract of Annona muricata Leaves using Column Chromatography*. Journal of Pharmacy Science and Practice, 2(2), 50-53.
- Saxena, M., Saxena, J., Singh, D. dan Gupta, A., (2013), Phytochemistry of Medicinal Plants. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1(6). 168-182. Sies, H., 1993. Strategies of Antioxidant Defense. European Journal of Biochemistry (215):213-219.
- Simpson, M. G. 2006. Plant Systematic. Elsevier Academic Press. USA

- Sulasiyah S, Sarjono PR, dan Aminin AL, 2018. Antioxidant from Turmeric Fermentation Products (*Curcuma longa*) by *Aspergillus Oryzae*. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 21(1). hal.13-18.
- Treml, J., & Smejkal, K. (2016). Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 15, 720-738. doi: 10.1111/1541-4337.12204.
- (Triatmoko & Noor, 2020). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Kenikir*.
- (Vifta & Advistasari, 2018) Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.)
- (Wardaningrum, 2020) *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terfurifikasi Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas .L) dengan Vitamin E* : Universitas Ngudi Waluyo : Semarang
- Watson, DG., 2013. Buku Analisis Farmasi edisi 2. Diterjemahkan oleh Syarieff. WR. Jakarta : EGC
- (Yanty *et al.*, 2019) Fraksinasi dan Skrining Fraksi Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L (ROXB) Dengan Metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Akademi Farmasi Al-fatah Bengkulu.

