

Type of Manuscript: Research

Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Fenol Total Dari Tanaman Pacing Pentul (*Costus spicatus*)

Asep Roni^{1,*}, Intan Sri Mulyati¹, Dadang Juanda²

¹Faculty of Pharmacy, Universitas Bhakti Kencana, Jl. Soekarno-Hatta No. 754, Bandung 40617, Indonesia

²Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Islam Bandung, Indonesia

*Corresponding author:

Faculty of Pharmacy, Universitas Bhakti Kencana, Jl. Soekarno-Hatta No. 754, Bandung 40617, Indonesia

E-mail address: asep.roni@bku.ac.id

ABSTRAK:

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menstabilkan radikal bebas melalui mekanisme donor elektron, sehingga dapat mencegah terjadinya reaksi berantai yang berpotensi merusak sel, protein, lipid, dan enzim. Pacing pentul (*Costus spicatus*) adalah tanaman dari genus *Costus* yang diketahui mengandung flavonoid dan senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan dalam menetralkan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan fenol total pada ekstrak daun dan rimpang pacing pentul. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode refluks bertingkat dengan pelarut berbeda tingkat kepolarannya, yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan pereaksi $AlCl_3$, sedangkan kadar fenol total ditetapkan menggunakan pereaksi Folin–Ciocalteu. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm untuk flavonoid dan 765 nm untuk fenol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% memiliki kadar flavonoid total tertinggi, baik pada daun (9,049 mg QE/100 mg ekstrak) maupun rimpang (4,424 mg QE/100 mg ekstrak). Kadar fenol total tertinggi juga diperoleh dari ekstrak etanol 96%, masing-masing sebesar 7,984 mg GAE/100 mg ekstrak pada daun dan 3,868 mg GAE/100 mg ekstrak pada rimpang.

KEYWORDS: Fenolat, Flavonoid, Pacing Pentul.

PENDAHULUAN:

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif dan dapat memicu stres oksidatif dalam tubuh. Kondisi ini berkontribusi terhadap berbagai proses degeneratif seperti penuaan dini, peradangan, penyakit kardiovaskular, dan kanker (Lobo et al., 2010). Antioksidan berperan penting dalam menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donor elektron, sehingga dapat menghentikan reaksi berantai yang berpotensi merusak biomolekul seperti lipid, protein, dan DNA (Barry Halliwell, 2015). Seiring meningkatnya prevalensi penyakit terkait stres oksidatif, eksplorasi sumber antioksidan alami dari tanaman obat semakin berkembang.

Flavonoid dan senyawa fenolik merupakan kelompok metabolit sekunder yang dikenal luas memiliki aktivitas antioksidan kuat. Struktur polifenolnya memungkinkan kedua kelompok senyawa tersebut bertindak sebagai scavenger radikal bebas serta berkontribusi terhadap efek biologis lain seperti antiinflamasi, antikanker, dan kardioprotektif (Panche et al., 2016). Oleh karena itu, penetapan kadar flavonoid total dan fenol total menjadi parameter penting dalam menilai potensi suatu tanaman sebagai sumber antioksidan alami.

Pacing pentul (*Costus spicatus*), anggota famili Costaceae, merupakan tanaman tropis yang secara tradisional digunakan di beberapa daerah untuk mengatasi demam, peradangan, infeksi saluran kemih, serta gangguan ginjal (Júnior et al., 2010). Beberapa penelitian melaporkan bahwa spesies dari genus *Costus* mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk flavonoid, asam fenolat, terpenoid, dan saponin, yang berkontribusi terhadap aktivitas farmakologisnya (Guarnier et al., 2021). Namun, informasi ilmiah mengenai kandungan flavonoid total dan fenol total pada pacing pentul, khususnya bagian daun dan rimpang, masih sangat terbatas.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan fenol total dari ekstrak daun dan rimpang *Costus spicatus* menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Data ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah terhadap pemahaman fitokimia tanaman pacing pentul serta mendukung potensinya sebagai sumber antioksidan alami.

METODE:

Bahan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan yaitu daun dan rimpang pacing pentul yang diperoleh dari Manoko Lembang, Bandung, Jawa Barat. Selanjutnya daun dan rimpang pacing tersebut dilakukan determinasi di Laboratorium Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Determinasi ini bertujuan untuk menentukan kebenaran jenis suatu tumbuhan yang akan digunakan, hasil determinasi yang diperoleh merupakan tanaman pacing pentul *Costus spicatus* yang termasuk kedalam suku Costaceae.

Methode

Metodologi penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi penyiapan bahan, karakterisasi simplisia, penapisan fitokimia, ekstraksi, dan penetapan kadar flavonoid total serta penetapan kadar fenolat total. Penyiapan bahan meliputi pengumpulan bahan yang akan digunakan, determinasi, pengolahan bahan sampai jadi simplisia.

Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan spesifik dan non spesifik antara lain kadar abu total, abu tidak larut asam, kadar sari larut air, sari larut etanol, kadar air dan susut pengeringan. Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan terhadap beberapa senyawa seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, kuinon dan steroid.

Ekstraksi dilakukan dengan cara refluks bertingkat menggunakan pelarut n-Heksan, etil asetat dan metanol. Ekstraksi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali yang masing-masing dilakukan selama 3 jam. Kemudian ekstrak dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental.

Penetapan kadar flavonoid total dari bahan uji dihitung terhadap kurva kalibrasi quercetin sebagai standar. Sedangkan penetapan kadar fenolat total dihitung terhadap kurva kalibrasi asam galat sebagai standarnya.

HASIL

Pembuatan dan Karakterisasi simplisia

Penyiapan simplisia daun dan rimpang pacing diawali dengan proses sortasi basah. Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan tanaman dari kotoran dan polutan lain yang terbawa selama pengumpulan atau pemanenan. Tahap selanjutnya yaitu pencucian tanaman di bawah air mengalir untuk menurunkan jumlah mikroba awal. Kemudian dilakukan proses perajangan yang bertujuan untuk memudahkan proses ekstraksi yaitu dengan cara memperkecil ukuran tanaman sehingga dapat memperluas permukaannya kontak dengan pelarut. Setelah dilakukan proses perajangan simplisia dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung. Karakterisasi simplisia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas dan mutu simplisia yang digunakan.

Parameter yang bisa digunakan antara lain kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan susut pengeringan. Hasil Karakterisasi simplisia dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini:

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi	Sampel	
	Daun Pacing	Rimpang Pacing
Kadar Abu Total	6,83±0,03	5,33±0,63
Kadar Abu Tidak Larut Asam	2,33±0,29	1,80±0,09
Kadar Sari Larut Etanol	9,67±0,24	7,00±0,47
Kadar Sari Larut Air	19,33±0,28	18,33±0,42
Susut Pengeringan	7,00±0,00	9,00±0,00
Kadar Air	5,00±0,00	5,00±0,00

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia/ penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan-golongan senyawa yang terdapat didalam simplisia. Pemeriksaan ini meliputi. pemeriksaan alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, kuinon, tanin, dan sponin. Hasil Skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel Tabel 2 berikut ini :

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan Fitokimia	Sampel	
	Daun Pacing	Rimpang Pacing
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	-
Tanin	+	+
Kuinon	+	-
Steroid / Triterpenoid	+	-

Ekstraksi

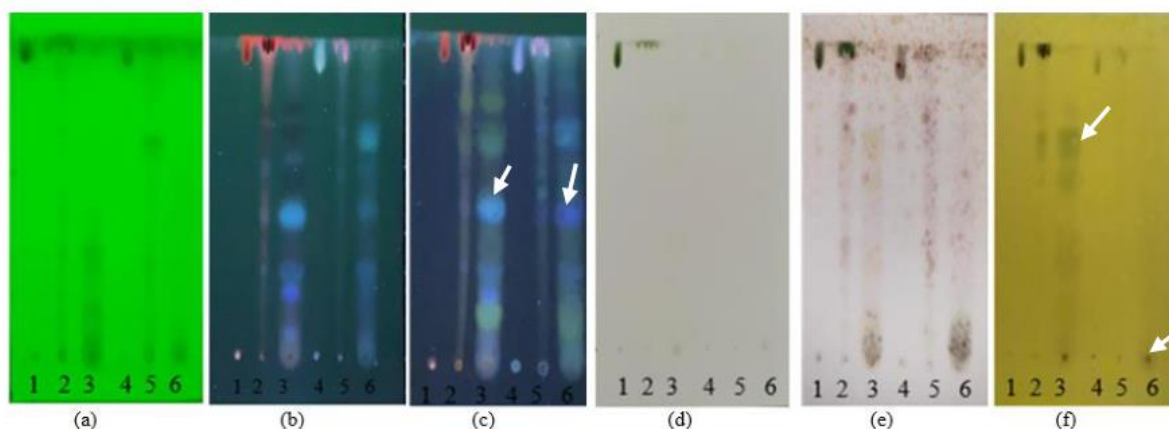
Daun dan rimpang pacing pentul di ekstraksi dengan menggunakan metode pemanasan yaitu refluks bertingkat, dengan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran nya diantaranya non polar, semipolar, dan polar. Metode refluks ini waktu ekstraksinya lebih singkat serta digunakan terhadap senyawa yang terkandung dalam simplisia tahan terhadap pemanasan. Simplisia daun dan rimpang yang digunakan dalam ekstraksi ini masing – masing sebanyak 300 gram dengan menggunakan 3 pelarut yang berbeda tingkat kepolaranya nya yang pertama yaitu bersifat non polar dengan *n*-heksana, selanjutnya bersifat semi polar dengan etil asetat, yang terakhir bersifat polar dengan etanol 96%. Kemudian diperoleh ekstrak cair yang dipekatkan dengan rotary evaporator.

Tabel 3. Randemen Ekstrak

Sampel	Berat Ekstrak (gram)	Randemen Ekstrak (%)
Ekstrak Daun <i>Nn</i> -Heksana	10,28	3,42
Ekstrak Daun Etil Acetat	5,08	1,69
Ekstrak Daun Etanol 96%	33,39	11,13
Ekstrak Rimpang <i>Nn</i> -Heksana	1,44	0,48
Ekstrak Rimpang Etil Acetat	1,23	0,41
Ekstrak Rimpang Etanol 96%	17,25	5,75

Analisis Kandungan Fenolat dan Flavonoid dengan menggunakan KLT

Pada masing-masing ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi refluks bertingkat dilakukan identifikasi pemantauan ekstrak menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk menganalisa adanya kandungan senyawa secara kualitatif.



Gambar 1. Kromatogram lapis tipis ekstrak daun dan rimpang pacing.

Kromatogram lapis tipis ekstrak daun dan rimpang pacing, fase diam silika gel F254, fase gerak etil asetat-asam format-air (8:1:1), (1) DP-1, (2) DP-2, (3) DP-3, (4) RP-4, (5) RP-5, (6) RP-6, (a) sinar UV λ 254 nm, (b) sinar UV λ 366 nm, (c) Sitroborat di bawah sinar UV λ 366 nm, (d), sinar tampak, (e) H₂SO₄ 10%, (f) FeCl₃ 10%.

Adanya kandungan senyawa flavonoid dengan menggunakan penampak bercak sitroborat yang diamati dibawah sinar UV 366 nm dengan ditandai adanya bercak yang berfluoresensi menjadi warna biru dan kuning. Pada fase gerak non polar ekstrak daun positif flavonoid dengan adanya bercak berfluoresensi warna kuning, sedangkan pada ekstrak rimpang positif flavonoid dengan adanya bercak berfluoresensi warna biru. Selanjutnya fase gerak semi polar dan fase gerak polar ekstrak daun dan rimpang positif mengandung flavonoid dengan adanya bercak berfluoresensi warna biru. Untuk mengidentifikasi senyawa fenolat menggunakan penampak bercak FeCl₃ 10% adanya kandungan senyawa fenolat yang ditandai dengan noda bercak kehitaman dengan latar belakang berwarna kuning.

Penetapan Kadar Flavonoid

Penetapan kadar flavonoid total terhadap sampel dilakukan dengan metode kolorimetri aluminium klorida. Prinsip metode tersebut adalah aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus keto C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol. Selain itu, membentuk kompleks asam labil dengan gugus orto-dihidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid. Salah satu senyawa flavonoid golongan flavonol yang dapat bereaksi dengan aluminium klorida adalah kuersetin. Maka dari itu kuersetin digunakan sebagai standar untuk penetapan kadar flavonoid total.

Perubahan reaksi yang terjadi pada senyawa flavonoid dalam sampel dan aluminium klorida diidentifikasi melalui absorbansi pada panjang gelombang 415 nm menggunakan spektrofotometri Vis. Semakin tinggi kandungan senyawa flavonoid pada sampel maka semakin tinggi nilai absorbansinya. Selain itu, secara visual perubahan warna kuning yang terbentuk akan semakin pekat.

Hasil penetapan kadar flavonoid dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini :

Tabel 4. Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Pacing

Sampel	Kandungan Flavonoid Total (mg QE/100 mg ekstrak)
Ekstrak Daun N-Heksana	6,391 ± 0,034
Ekstrak Daun Etil Acetat	8,060 ± 0,009
Ekstrak Daun Etanol 96%	9,049 ± 0,019
Ekstrak Rimpang N-Heksana	2,753 ± 0,036
Ekstrak Rimpang Etil Acetat	4,268 ± 0,026
Ekstrak Rimpang Etanol 96%	4,424 ± 0,006

Penetapan Kadar Fenolat Total

Penetapan kadar senyawa fenol pada sampel daun dan rimpang pacing pentul dengan ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan asam galat sebagai larutan standar. Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena bisa menghasilkan hasil yang realibilitas karena memiliki reaktifitas yang cukup tinggi terhadap reagen Folin-Ciocalteu serta merupakan sebagai salah satu fenol alami dan stabil, asam galat juga termasuk kedalam senyawa fenolik turunan asam hidroksibenzoat yang tergolong sebagai asam fenol sederhana (Prior et al., 2005).

Hasil penetapan kadar flavonoid dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini :

Tabel 5. Kadar Fenolat Total pada Ekstrak Pacing

Sampel	Kandungan Fenolat Total (mg GAE/100 mg ekstrak)
Ekstrak Daun Nn-Heksana	4,714 ± 0,044
Ekstrak Daun Etil Acetat	6,768 ± 0,032
Ekstrak Daun Etanol 96%	7,984 ± 0,015
Ekstrak Rimpang Nn-Heksana	2,249 ± 0,017
Ekstrak Rimpang Etil Acetat	3,352 ± 0,050
Ekstrak Rimpang Etanol 96%	3,868 ± 0,014

DISKUSI DAN PEMBAHASAN:

Penelitian ini berhasil menunjukkan bahwa daun merupakan sumber flavonoid yang jauh lebih kaya dibandingkan rimpang, dengan kandungan hingga dua kali lipat lebih tinggi. Etanol 96% terbukti sebagai pelarut paling efisien untuk ekstraksi flavonoid total, terutama dari daun. Hasil ini memberikan

dasar ilmiah untuk pengembangan produk berbasis fitokimia dari bagian tumbuhan yang paling optimal, serta memberikan wawasan tentang strategi ekstraksi yang efisien berdasarkan polaritas pelarut dan karakteristik organ tumbuhan.

Hubungan Struktural antara Flavonoid dan Fenol

Flavonoid dan fenol memiliki hubungan hierarkis yang menarik dari sudut pandang kimia. Semua flavonoid adalah senyawa fenolik, tetapi tidak semua senyawa fenolik adalah flavonoid. Struktur dasar flavonoid terdiri dari 15 atom karbon yang tersusun dalam cincin C₆-C₃-C₆, di mana cincin A dan B adalah cincin aromatik fenolik, sementara cincin C menghubungkan kedua cincin tersebut. Struktur ini memberikan flavonoid kemampuan antioksidan yang superior dibandingkan dengan senyawa fenolik sederhana karena memiliki lebih banyak gugus hidroksil yang dapat mendonasi elektron untuk menetralkan radikal bebas.

Korelasi antara kadar flavonoid dan fenol total dalam ekstrak tumbuhan sering kali menunjukkan pola yang dapat diprediksi. Ekstrak dengan kandungan fenol total yang tinggi cenderung memiliki kandungan flavonoid yang tinggi pula, meskipun proporsinya dapat bervariasi secara signifikan (Awwaliah et al., 2023). Hal ini disebabkan oleh distribusi senyawa fenolik non-flavonoid seperti asam fenolat, stilben, dan lignan yang juga berkontribusi pada kadar fenol total.

Analisis Perbandingan Kandungan antar Bagian Tanaman

Berdasarkan data yang tersedia, terdapat perbedaan signifikan dalam kandungan flavonoid dan fenol antara ekstrak daun dan rimpang. Daun secara umum menunjukkan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan rimpang, yang konsisten dengan peran fisiologis daun sebagai organ fotosintesis utama. Flavonoid dalam daun berfungsi sebagai pelindung terhadap radiasi UV berlebih dan stres oksidatif yang dihasilkan selama fotosintesis (Shomali et al., 2022).

Rimpang, meskipun memiliki kandungan flavonoid yang relatif lebih rendah, sering kali menunjukkan kandungan fenol total yang kompetitif. Fenomena ini mengindikasikan adanya komposisi senyawa fenolik yang berbeda antara kedua bagian tanaman. Rimpang cenderung mengakumulasi senyawa fenolik non-flavonoid seperti asam fenolat dan tanin, yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan terhadap patogen tanah dan herbivora.

Hubungan antara kadar flavonoid dan fenol dalam ekstrak tumbuhan mencerminkan kompleksitas komposisi metabolit sekunder yang dipengaruhi oleh berbagai faktor biologis dan ekstraksi. Flavonoid, sebagai sub-kelas senyawa fenolik, menunjukkan korelasi positif dengan fenol total namun dengan pola distribusi yang bervariasi tergantung pada bagian tanaman dan jenis pelarut yang digunakan.

Pemahaman mendalam tentang hubungan ini sangat penting untuk pengembangan produk berbasis tumbuhan yang efektif dan standarisasi ekstrak herbal. Optimasi proses ekstraksi harus mempertimbangkan tidak hanya jumlah total senyawa yang diekstraksi, tetapi juga kualitas dan rasio antara flavonoid dan senyawa fenolik lainnya untuk mencapai aktivitas biologis yang diinginkan.

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa spesifik yang bertanggung jawab atas aktivitas biologis yang diamati dan untuk mengembangkan metode ekstraksi yang lebih selektif dan efisien. Integrasi pendekatan metabolomik dengan bioassay-guided fractionation dapat memberikan wawasan yang lebih mendalam tentang hubungan struktur-aktivitas senyawa fenolik dalam ekstrak tumbuhan.

KESIMPULAN:

Kadar flavonoid total tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun dan rimpang pacing pentul berturut-turut diantaranya 9,049 mg QE/100 mg Ekstrak dan 4,424 mg QE/100 mg Ekstrakekstrak. Kadar fenolat total tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etanol daun dan rimpang rimpang berturut-turut sebesar 7,984 mg GAE/100 mg Ekstrak dan 3,868 mg GAE/100 mg Ekstrak.

CONFLICT OF INTEREST

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan sehubungan dengan penelitian, kepenulisan, dan/atau publikasi artikel ini.

ACKNOWLEDGMENTS

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana, atas segala dukungan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Awwaliah, M., Asma, N., Ikhlas Arsul, M., & Sains dan Kesehatan, J. (2023). Korelasi Kadar Fenol dan Flavonoid terhadap Indeks Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang *Vernonia amygdalina* Correlation of Phenol and Flavonoid Content with Antioxidant Activity Index of *Vernonia amygdalina* Stem Extracts. *Jurnal Sains Dan Kesehatan (J. Sains Kes.)* 2023, 5(5). <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i5.xxx>
- Barry Halliwell, J. M. C. G. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine (5th edn)*.
- Guarnier, L. P., Alan, R., Palozi, C., Vitor, P., Rom, M., Aparecida, A., Marques, M., Klider, L. M., Isaías, R., Souza, C., Carvalho, A., Adriane, C., Tirloni, S., Cassemiro, N. S., Silva, D. B., Budel, J. M., & Junior, A. G. (2021). Atheroprotective Properties of *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. in Female Rats. *Life (Basel)*, 11(3), 1–21.
- Júnior, L. J. Q., Santana, M. T., Melo, M. S., De, D. P., Santos, I. S., Siqueira, R. S., Lima, T. C., Gabriela, O., Antonioli, Â. R., Ribeiro, L. A. A., Santos, M. R. V., Quintans, L. J., Santana, M. T., Melo, M. S., Antonioli, Â. R., Ribeiro, L. A. A., Antinociceptive, M. R. V. S., Júnior, L. J. Q., Santana, M. T., ... Sousa, D. P. De. (2010). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Costus spicatus* in experimental animals Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Costus spicatus* in experimental animals. *Pharmaceutical Biology*, 48(10), 1097–1102. <https://doi.org/10.3109/13880200903501822>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). *Free radicals , antioxidants and functional foods : Impact on human health*. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). *Role of flavonoids in human health using different analytical tools*. *Current Drug Discovery Technologies*. 5, e47, 1–15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 1–15. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Shomali, A., Das, S., Arif, N., Sarraf, M., Zahra, N., Yadav, V., Aliniaiefard, S., Chauhan, D. K., & Hasanuzzaman, M. (2022). Diverse Physiological Roles of Flavonoids in Plant Environmental Stress Responses and Tolerance. In *Plants* (Vol. 11, Issue 22). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants11223158>

ADDITIONAL INFORMATION

Publisher's Note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily reflect the views of the publisher, the editors, or the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher. The publisher remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access



This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. You may share and adapt the material with proper credit to the original author(s) and source, include a link to the license, and indicate if changes were made.