

**TOTAL KADAR SENYAWA FENOLIK DAN FLAVONOID  
EKSTRAK BUNGA, DAUN, RIMPANG KECOMBRANG  
(*Etilingera Elatior* (Jack) R.M.Sm) SERTA FRAKSI  
TERPILIHNYA**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**FRANSISKA SILALAH**

**13151012**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG  
PROGRAM STUDI STRATA I  
FARMASI BANDUNG  
2017**

**TOTAL KADAR SENYAWA FENOLIK DAN FLAVONOID  
TOTAL EKSTRAK BUNGA, DAUN, RIMPANG  
KECOMBRANG (*Etlintera Elatior*  
(Jack) R.M.Sm) SERTA FRAKSI  
TERPILIHNYA**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan  
Program Strata Satu

**FRANSISKA SILALAH**

**13151012**

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

(R. Herni Kusriani, M.Si., Apt)

(Wempi Budiana, M.Si., Apt)

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi yang tidak dipublikasikan ini terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB), dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperbolehkan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan atas seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah yaitu menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah atas seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB).

**TOTAL KADAR SENYAWA FENOLIK DAN FLAVONOID  
EKSTRAK BUNGA, DAUN, RIMPANG KECOMBRANG  
(*Etilingera elatior*(Jack) R.M.Sm) SERTA FRAKSI  
TERPILIHNYA**

**ABSTRAK**

oleh

**Fransiska Silalahi**

**13151012**

Kecombrang (*Etilingera elatior*) adalah salah satu tanaman suku zingiberacea yang banyak digunakan masyarakat untuk mengobati beragam penyakit. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa fenolik dan flavonoid total dari berbagai bagian tanaman kecombrang. kecombrang dimaserasi dengan etanol 70 %. Fraksinasi dilakukan terhadap ekstrak yang memiliki kadar fenolik dan flavonoid yang paling tinggi, fraksinasi dengan ekstraksi cair cair menggunakan n-heksan dan etil asetat. Ekstrak dan fraksi dianalisis kandungan senyawa fenolik dan flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis dengan penampak bercak FeCl<sub>3</sub> dan sitroborat. Kadar fenol total menggunakan pereaksi follin-ciocalteu dengan asam galat sebagai standarnya di ukur menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada  $\lambda$  765 nm. Flavonoid total diukur dengan spektrofotometri Uv-Vis pada  $\lambda$  420 nm menggunakan perekasi AlCl<sub>3</sub> dan kuersetin sebagai standarnya. Pola kromatogram ekstrak dan fraksi menunjukkan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid tersebar di seluruh bagian tanaman kecombrang. Kadar fenolik total pada ekstrak daun, bunga, rimpang dan fraksi daun etil asetat secara berurutan 0,339 ; 0,144 ; 0,075 % mg GAE/mg ekstrak dan 0,67 % mg GAE/mg fraksi. Kadar Flavonoid total pada ekstrak daun, bunga rimpang dan fraksi daun etil asetat secara berurutan 0,227 ; 0,053 ; 0,023 % mg QE/mg ekstrak dan 0,42 % mg QE/mg fraksi . Kadar fenol total dan flavonoid total tertinggi terdapat pada ekstrak daun kecombrang dan fraksi etil asetat daun kecombrang.

**Kata kunci : Kecombrang, *Etilingera elatior*, Fenol, Flavonoid**

**TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENT OF  
FLOWER, LEAF AND RHIZOMES EXTRACTS OF  
THOURCH GINGER (*Etilingera Elatior* (Jack)  
RMSm) AND ITS SELECTED FRACTIONS**

**ABSTRACT**

by

**Fransiska Silalahi  
13151012**

Thorch ginger (*Etilingera elatior*) is one of the zingiberaceae plants that is widely used in communities to treat various diseases. This research was conducted to determine the total phenolic and flavonoid content of various parts of the thorch ginger plant. Flower, leaf, and rhizome were macerated with 70% of ethanol. Fractionation of the extract with has the highest levels of phenol and flavonoid content was done with liquid liquid extraction. Method with n-hexane and ethyl acetate as solvents. Extracts and fractions were then analyzed with thin layer chromatography with citroborat as spotting agent for flavonoid  $\text{FeCl}_3$  for phenolic compound and citroborat as spotting agent for flavonoid. Total phenolic content was performed using follin-ciocalteu reagent with gallic acid as the standard then measured with Uv-Vis spectrophotometry at  $\lambda$  765 nm, while total flavonoid  $\lambda$  420 nm using quercetin as standard and  $\text{AlCl}_3$  as reagent. The TLC chromatogram of all extracts and fraction showed phenolic and flavonoid compound. The total phenolic content the flower, leaf, rhizome extracts and ethyl acetate fraction. Were respectively total phenolic content 0,339 ; 0,144 ; 0,075 % mg GAE/mg extract and 0,67 % mg GAE/mg fraction. While total flavonoid content were 0,227 ; 0,053 ; 0,023 % mg QE/mg extract and 0,42 % mg QE/mg fraction. The highest total phenol and flavonoid content in leaves extract and its ethyl acetate fraction.

**Keywords:** Thorch ginger , *Etilingera elatior* , Phenols, Flavonoid

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur...

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Panyayang, penulis panjatkan puja dan puji syukur atas kehadirat-Nya, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul **“Total Kadar Senyawa Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Bunga, Daun, Rimpang Kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack) R.M.Sm) serta Fraksi terpilihnya”**. Laporan tugas akhir ini merupakan salah satu persyaratan wajib bagi mahasiswa program pendidikan Strata Satu (S1) untuk mengikuti Sidang Akhir di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB). Penyusunan laporan tugas akhir ini tentunya tidak terlepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih, terutama kepada :

1. Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, atas segala rahmat, hidayah serta nikmat dan karunia-Nya yang telah diberikan kepada penulis.
2. Orang tua tercinta, yang tak henti-hentinya memberikan dukungan berupa do'a, kasih sayang, semangat dan materil sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini.
3. Ibu R. Herni Kusriani, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan, bimbingan, dan motivasi yang

membangun kepada penulis hingga laporan tugas akhir ini terselesaikan dengan baik.

Bapak Wempi Budiana, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing serta atas ketulusan hati dan kesabaran dalam membimbing, mendukung, dan mengarahkan penulis hingga laporan tugas akhir ini terselesaikan dengan baik.

4. Serta berbagai pihak yang belum tertulis dan yang tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah berperan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini. Penulis hanya bisa berdoa, semoga Allah membalas kebaikan-kebaikan mereka dengan setimpal. Amin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, karena keterbatasan pengetahuan maupun pengalaman penulis. Oleh karena itu penulis mohon maaf bila ada kesalahan dalam penulisan proposal penelitian dan penulis mengharapkan segala bentuk kritik maupun saran yang bersifat membangun dari pembaca.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	i
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFRAT LAMPIRAN .....	x
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Rumusan Masalah .....	3
I.3 Tujuan Penelitian .....	3
I.4 Batasan Masalah .....	4
I.5 Manfaat penelitian .....	4
Bab II Tinjauan Pustaka .....	5
II.1 Tinjauan Botani .....	5
II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan.....	5
II.1.2 Morfologi Kecombrang .....	6
II.1.3 Kandungan Kimia .....	8
II.1.4 Manfaat Kecombrang .....	8
II.2 Flavonoid .....	8
II.2.1 Pengertian .....	8
II.2.2 Mekanisme Flavonoid.....	9
II.2.3 Metode Pengujian Flavonoid .....	12
II.3 Senyawa Fenolik.....	14
II.3.1 Pengertian .....	15

II.3.2 Metode Pengujian Fenolik .....	15
Bab III Metodologi Penelitian .....	18
Bab IV Alat dan Bahan .....	20
IV.1 Alat .....	20
IV.2 Bahan .....	20
Bab V Prosedur Penelitian.....	21
V.1 Penyiapan Sampel.....	21
V.2 Determinasi Tanaman.....	21
V.3 Penetapan Karakteristik Simplisia .....	21
V.3.1 Kadar Abu total .....	22
V.3.2 Kadar Abu larut air.....	22
VI.3.3 Kadar Abu tidak larut asam.....	22
VI.3.4 Kadar Air .....	24
VI.3.5 Uji Kadar Sari larut Air.....	24
VI.3.6 Uji Kadar Sari larut Etanol.....	24
VI.3.7 Susut Pengerinan .....	25
V.4 Skrining Fitokimia .....	25
V.4.1 Identifikasi Alkaloid .....	25
V.4.2 Ideikasi Flavonoid .....	26
V.4.3 Identifikasi Saponin.....	26
V.4.4 Identifikasi Kuinon .....	26
V.4.5 Identifikasi Polifenol dan Tanin .....	27
V.4.6 Identifikasi Steroid/Triterpenoid .....	27
V.5 Pembuatan Larutan Pereaksi .....	28
V.6 Pembuatan Ekstrak .....	29
V.7 Penetapan Kadar Fenolik total.....	29
V.8 Penetapan Kadar Flavonoid total .....	32
Bab VI Hasil dan Pembahasan .....	34

VI.1 Penyiapan Bahan . . . . .	34
VI.2 Karakterisasi Simplisia . . . . .	35
VI.3 Skrining Fitokimia . . . . .	36
VI.4 Ekstraksi . . . . .	37
VI.5 Fraksinasi . . . . .	37
VI.6 Pengujian kualitatif . . . . .	37
VI.7 Pengujian Kuantitatif . . . . .	40
VI.7.1 Penetapan Kadar Fenol Total . . . . .	40
VI.8 Penetapan Kadar Flavonoid Total . . . . .	43
VI.9 Pengujian Kuantitatif Fraksi Daaun . . . . .	47
Bab VII Kesimpulan dan Saran . . . . .	51
VII.1 Kesimpulan . . . . .	51
VII.2 Saran . . . . .	52
Daftar Pustaka . . . . .	53
Daftar Lampiran . . . . .	56

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Tanaman Kecombrang .....	5
Gambar VI.2 Kromatogram pengembang non polar .....	39
Gambar VI.3 Kromatogram pengembang semi polar.....	40
Gambar VI.4 Kromatogram pengembang polar .....	40
Gambar VI.5 Kurva Kalibrasi Standar Asam Galat $\lambda$ 765 nm.	42
Gambar VI.6 Kurva Kalibrasi Standar Kuersetn $\lambda$ 420 nm. ....	46
Gambar VI.7 Kromatogram pengembang non polar. ....	50
Gambar VI.8 Kromatogram pengembang semi polar.....	50
Gambar VI.9 Kromatogram pengembang polar. ....	50

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel VI.1 Hasil Pemeriksaan Karketerisasi Simplisia .....	36
Tabel VI.2 Hasil Pemeriksaan Skrining Fitokimia. ....	38
Tabel VI.3 Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Total Daun, Bunga Dan Rimpang <i>Etilingera elatior</i> (Jack) R.M.Sm)	43
Tabel VI.4 Penetapan Kadar Fenol Total Fraksi Daun Polar. ..	44
Tabel VI.5 Penetapan Kadar Fenol Total Fraksi Daun Semi Polar.	44
Tabel VI.6 Penetaan Kadar Fenol Total Fraksi Daun non Polar	44
Tabel VI.7 Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Total Daun, Buga Dan Rimpang Kecombrang( <i>Etilingera elatior</i> (Jack) R.M.Sm).....	47
Tabel VI.8 Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi Daun Polar.	48
Tabel VI. 9 Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi Daun Polar.	48
Tabel VI.10 Penetapan Kadar Fenol Total Fraksi Daun non Polar	48

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Pengukuran Standar Asam Galat .....	56
Lampiran 2 Hasil pengukuran Kadar Fenol Total.....	58
Lampiran 3 Perhitungan Kadar Fenol Total .....	59
Lampiran 4 Hasil Pengukuran Standar Kuersetin.....	60
Lampiran 5 Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total....	61
Lampiran 6 Perhitungan Kadar Flavonoid Total .....	63
Lampiran 7 Hasil Determinasi Tanaman .....	64

## **Bab I Pendahuluan**

### **I.1 Latar Belakang**

Indonesia terkenal dengan kekayaan alam yang memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena bermanfaat dan kegunaannya besar bagi manusia dalam hal pengobatan (Rohimah & Kurniasih, 2015). Banyaknya beredar produk obat yang terbuat dari tanaman yang telah digunakan di berbagai negara berkembang dan pemanfaatan obat tradisional pada umumnya lebih diutamakan untuk menjaga kesehatan, dan ditujukan sebagai pengobatan suatu penyakit (Suharmiati, et al, 2003).

Kecombrang (*Etlintera elatior* (Jack) R.M. Smith) merupakan tumbuhan jenis rempah-rempah yang dikenal oleh masyarakat Indonesia secara turun-temurun digunakan sebagai bumbu masak dan sebagai obat tradisional. Penggunaan Kecombrang (*Etlintera elatior* (Jack) sebagai obat tradisional yaitu: untuk mengobati atau mengatasi penyakit seperti: meningkatkan energi, mengobati penyakit campak, menghilangkan bau badan, mengobati anemia, melancarkan sirkulasi darah, menguatkan tulang, mengatasi luka baru, menguatkan memori, menguatkan gigi, mencegah dehidrasi, menurunkan demam, dan lain sebagainya (Gusnedi, 2013).

Kecombrang (*Etlintera elatior*) adalah salah satu jenis tumbuhan rempah yang termasuk suku zingiberaceae. Kecombrang

mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan polifenol terdapat dalam semua jenis tumbuhan hijau sehingga ditemukan juga dalam ekstrak tanaman. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder, kemungkinan keberadaannya dalam daun dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid. Kandungan golongan senyawa kimia seperti polifenol yang memiliki sifat sebagai antioksidan dan antibakteri banyak terdapat atau terkandung pada tanaman (Yang, Dari, & Melonguane, 2014). Flavonoid adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang tersebar dalam dunia tumbuhan dan merupakan salah satu golongan senyawa fenol yang terbesar (Sukandar, Radiastuti, Jayanegara, & Hudaya, 2010).

Senyawa metabolit sekunder yang menjadi objek utama dalam penelitian ini adalah flavonoid. Flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun dan kulit luar batang (Worotikan, 2011). Sejumlah tanaman yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker (Miller, 1996). Berdasarkan hasil penelitian Naufalin (2005), kandungan fitokimia bunga, batang, rimpang, buah dan daun kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) adalah senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida yang berperan aktif sebagai antioksidan maupun antilarvasida. Bunga, rimpang dan daun merupakan salah satu komponen yang terdapat pada tanaman kecombrang (*Etilingera*

*elatior* (Jack) R.M.Sm) yang memiliki kandungan fenolik didalamnya. Hal inilah yang mendasari dilakukannya penelitian pada buah dan daun kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) yang merupakan bagian tanaman ini yang paling sering dimanfaatkan (Ahmad, Afrianty, Ratulangi, Malik, & Sm, 2015).

Senyawa fenolik merupakan senyawa bahan alam yang cukup luas penggunaannya saat ini. Pada berbagai penelitian juga menyebutkan bahwa flavonoid diketahui memiliki sifat antioksidan yang sangat kuat. Selain itu, flavonoid juga memiliki khasiat sebagai antiradang, antihistamin (alergi), antimikrobia, antifungi, insektisida, antikanker, antiinflamasi dan antivirus (Gusnedi, 2013)

Berdasarkan uraian tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai kadar senyawa flavonoid dan fenolat total pada ekstrak daun, bunga dan rimpang kecombrang.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Total kadar senyawa Fenolik dan Flavonoid total ekstrak bunga, rimpang, dan daun kecombrang (*Etlingera elatior* Jack) serta fraksi terpilihnya ?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total kadar senyawa fenolik dan flavonoid total dari ekstrak bunga, rimpang, dan daun kecombrang (*Etlingera elatior* Jack) serta fraksi terpilihnya.

#### **I.4 Batasan Masalah**

Penelitian ini dibatasi pada penetapan kadar senyawa fenolik dan flavonoid total dari ekstrak bunga, rimpang, daun kecombrang (*Etilingera elatior* Jack) serta fraksi terpilihnya.

#### **I.5 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat dalam pemanfaatan senyawa fenolik dan flavonoid dari bunga, rimpang, dan daun kecombrang, serta memberikan informasi ilmiah total kadar senyawa aktifnya senyawa flavonoid dan senyawa fenolik untuk pengembangan produk sediaan farmasi dengan penelitian lebih lanjut.

## Bab II Tinjauan Pustaka

### II.1 Tinjauan Botani

#### II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

Kingdom	: Plantae(Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
Sub Kelas	: Commelinidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae (suku jahe-jahean)
Genus	: <i>Etilingera</i>
Spesies	: <i>Etilingera elatior</i> (Jack) R. M. Sm (Ahmad et al., 2015)



a



b



c

Gambar II.1: Tanaman Kecombrang

- Keterangan :
- (a) Daun Kecombrang
  - (b) Bunga Kecombrang
  - (c) Rimpang Kecombrang

### II.1.2. Morfologi Kecombrang (*Elingera elatior*)

Kecombrang merupakan jenis tanaman semak dengan tinggi 1-3 m, berbatang semu, tegak, berpelepah, membentuk rimpang dan berwarna hijau. Daunnya tunggal, lanset, ujung dan pangkal runcing, panjang daun sekitar 20-50 cm dan lebar 5-15 cm, pertulangan daun menyirip dan berwarna hijau. Bunga kecombrang merupakan bunga majemuk yang berbentuk bonggol dengan panjang tangkai 40-80 cm. Panjang benang sari  $\pm 7,5$  cm dan berwarna kuning. Putiknya kecil dan putih. Mahkota bunganya bertaju, berbulu jarang dan warnanya merah jambu. Biji kecombrang berbentuk kotak atau bulat telur dengan warna putih atau merah jambu. Buahnya kecil dan berwarna coklat. Akarnya berbentuk serabut dan berwarna kuning gelap (Sukandar et al., 2010).

#### a. Anatomi Daun

Tumbuhan yang termasuk ke dalam famili Zingiberaceae umumnya hidup didaerah tropis hingga subtropis. Termasuk kedalam daun tunggal. Daun ini umumnya mempunyai sel-sel minyak. Merupakan tanaman herba dengan daun yang rindang, sistem perakaran *rhizome*. Dalam mengidentifikasi karakteristik anatomis tumbuhan Zingiberaceae, dapat diketahui antara lain dari ukuran stomata, bentuk stomata, tipe stomata, tipe trikoma, distribusi jaringan vaskular, letak jaringan palisade, dan substansi ergastis (substansi yang tak hidup berasal dari bahan cadangan yang dihasilkan dari

sisia sel, yang berupa tepung protein, minyak, lilin, Kristal, badan silika dan tanin) (Renaninggalih, Si, Sadiyah, & Si, 2014).

#### b. Anatomi Bunga

Bunga kecombrang terpisah-pisah dan tersusun dalam bunga majemuk, tunggal dan berganda, kebanyakan banci, zigomorf atau asimetrik. Hiasan bunga terdiri dari tiga daun kelopak dan tiga daun mahkota yang berlekatan. Benang sari berjumlah tiga sampai lima benang sari, delapan ovarium mandul yang terkadang bersifat seperti daun mahkota, tangkai putik terletak di ujung, bebas atau bergigi dua (Sukandar et al., 2010).

#### c. Anatomi Rimpang

Rimpang merupakan modifikasi dari batang sehingga pada penampang melintang rimpang memiliki struktur anatomi yang menyerupai struktur anatomi batang. Rimpang merupakan batang yang tumbuh secara horizontal di bawah permukaan tanah (Tri, 2008). Struktur anatomi rimpang kecombrang famili Zingiberaceae ini terdiri dari sel epidermis, bagian korteks, endodermis serta bagian silinder pusat. Bagian korteks dan silinder pusat terdiri atas sel parenkim, sel sekresi dan berkas pengangkut. Di dalam sel parenkim terdapat butir pati atau amilum. Berkas pengangkut tersebar dibagian korteks dan silinder pusat, antara bagian korteks dan silinder pusat dibatasi oleh sel endodermis. Silinder pusat pada rimpang terdapat banyak sel sekresi dan berkas pengangkut. Tipe berkas pengangkut pada rimpang ada kolateral yaitu dimana xilem dan floem letaknya berdampingan. Sel sekresi merupakan tempat

penyimpanan metabolit sekunder yang secara anatomi terlihat berwarna jingga pada famili Zingiberaceae (Kuntorini dkk, 2011).

### **II.1.3 Kandungan Kimia**

Dari beberapa penelitian mengatakan bahwa. Kandungan kimia dari masing-masing bagian bunga, batang, daun, dan rimpang kecombrang mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai antioksidan yang mampu menagkap adanya radikal bebas (Nufalin dan Rukmini, 2014).

### **II.1.4 Manfaat Kecombrang**

Kecombrang banyak bermanfaat di antaranya adalah :menghilangkan bau badan, menyembuhkan penyakit yang berhubungan dengan kulit misalnya campak. Vitamin C yang terkandung didalamnya bermanfaat sebagai antioksidan untuk mengurangi akumulasi produk radikal bebas, menetralkan racun dan melindungi penyakit genetik. Selain itu bunga kecombrang juga dapat memperbanyak ASI, pembersih darah, hal ini sangat baik bagi ibu yang sedang menyusui. Dibeberapa kalangan masyarakat kecombrang juga dipercaya sebagai penetral kolesterol, juga sebagai antimikrobia (Hidayat dan Hutapea, 1991)

## **II.2 Flavonoid**

### **II.2.1 Pengertian**

Flavonoid merupakan salah satu produk metabolisme sekunder yang penyebarannya terbatas, yaitu pada tumbuhan dan mikroorganisme. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan atau disintesa pada sel dan grup taksonomi tertentu pada tingkat pertumbuhan atau stres tertentu. Senyawa ini diproduksi hanya dalam jumlah sedikit tidak terus-menerus untuk mempertahankan diri dari habitatnya dan tidak berperan penting dalam proses metabolisme utama (primer). Senyawa flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk akar, daun, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji. Banyaknya senyawa flavonoid di alam bukan disebabkan oleh banyaknya variasi struktur, akan tetapi disebabkan oleh tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, atau glikosilasi dari struktur flavonoid tersebut. Flavonoid adalah golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan bekerja sebagai antiinflamasi (Syahril, 2015)

### **II.2.2. Mekanisme Flavonoid**

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi dan Narasimhan, 1985). Flavonoid memiliki kemampuan antioksidan yang mampu mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan membentuk kompleks dengan logam.

Flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim (Harborne 1987).

Mekanisme kerja flavonoid yaitu adalah menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida, misalnya xanthin oksidase dan protein kinase. Sejumlah senyawa flavonoid efisien dalam mengikat logam, diantaranya logam besi bebas dan tembaga bebas yang dapat meningkatkan pembentukan spesies oksigen reaktif. Flavonoid mempunyai nilai potensial reduksi yang rendah, sehingga mudah mereduksi radikal superoksida, peroksil, alkoksil, dan hidroksil (Ahmad, 2015).

Pada tanaman, senyawa metabolit sekunder memiliki beberapa fungsi, diantaranya sebagai atraktan (menarik serangga penyerbuk), melindungi dari stres lingkungan, pelindung dari serangan penyakit (*phytoaleksin*), pelindung terhadap sinar ultra violet, sebagai zat pengatur tumbuh dan untuk bersaing dengan tanaman lain (alelopati). Prekursor (*Starting material*) biosintesis metabolit sekunder didapatkan dari proses metabolisme primer (Dewick, 1999). Struktur dan jumlah dari prekursor menentukan kerangka metabolit sekunder yang terbentuk. Oleh sebab itu, prekursor-prekursor ini sering disebut juga sebagai *building blocks* dari metabolit sekunder. Meskipun struktur metabolit sekunder pada umumnya berupa makro molekul yang kompleks. Akan tetapi, sangat mengherankan bahwa jumlah macam *building blocks*

metabolit sekunder (yang berasal dari senyawa antara/intermedier) tidaklah banyak. Secara garis besar hanya ada 3 senyawa antara pokok yaitu, asetat, shikimat dan mevalonat, ditambah beberapa L-asam amino (seperti ornitin dan lisin) yang berasal dari proses metabolisme primer, seperti fotosintesis, glikolisis, siklus pentosa dan Krebs Jadi senyawa antara tersebut merupakan "jembatan" antara metabolisme primer dan sekunder (Diniatik, 2013).

Senyawa metabolit sekunder diproduksi melalui jalur diluar biosintesa karbohidrat dan protein. Ada tiga jalur utama untuk pembentukan metabolit sekunder, yaitu 1) jalur Asam asetat (*Acetic pathway*), 2) Asam Mevalonat (*Mevalonate pathway*) dan 3) Asam Shikimat (*Shikimate pathway*). Berdasarkan jalur biosintesis tersebut maka senyawa-senyawa asam lemak (baik jenuh maupun tidak jenuh), prostaglandin, makrolid, poliketid aromatik biosintesisnya masuk ke dalam jalur asam asetat. Sedangkan senyawa-senyawa asam amino aromatik, flavonoid, terpenoid, lignan, lignin dan flavonolignan, biosintesisnya masuk ke dalam jalur shikimat. Biosintesis kelompok terpen (seperti monoterpen, diterpen, triterpen dan tetraterpen), steroid biosintesisnya masuk ke dalam jalur mevalonat (Dewick, 1999).

Pembentukan warna pada bunga dapat diketahui dari mekanisme biosintesis flavonoid atau biosintesis antosianin. Selain itu, ekspresi gen dari biosintesis setiap spesies dalam memproduksi pigmen warna juga dapat mempengaruhi pembentukan warna pada bunga. Sebab

setiap spesies memiliki spesifikasi yang berbeda-beda dalam menerima informasi genetik dan mengekspresikan suatu kode genetik yang diterima. Setiap spesies tumbuhan biasanya memiliki akumulasi antosianin sebagai pigmen warna bunga spesifik dipengaruhi oleh ekspresi biosintesis gen, substrat yang spesifik dari suatu enzim yang secara temporal maupun spasial teregulasi di dalam biosintesis gen. Pada jalur biosintesis antosianin, terdapat tiga kelompok utama antosianin dengan warna yang diekspresikannya berbeda-beda tergantung dari gugus kimia penyusunnya. Misalnya saja pada pelargonidin yang mengandung 4 gugus OH, menghasilkan warna oranye atau jingga. Cyanidin membentuk warna merah dengan 5 gugus OH, dan delphinidin dengan 6 gugus OH akan membentuk warna ungu (Nugrahaningtyas, Matsjeh, & Wahyuni, 2005)

### **II.2.3 Metode Pengujian Flavonoid**

Penentuan flavonoid total dalam ekstrak dilakukan untuk mengetahui presentase kandungan flavonoid total dalam ekstrak menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida dengan pengukuran absorbansi secara spektrofotometri. Kolorimetri adalah suatu metode analisa kimia yang berdasarkan pada perbandingan intensitas warna larutan dengan warna larutan standarnya (Azizah, Kumolowati, & Faramayuda, 2014). Penetapan kadar total senyawa flavonoid dalam sampel ekstrak *Etlingera elatior* dengan metode kolorimetri aluminium klorida dengan pengukuran absorbansi secara spektrofotometri. Ekstrak kecombrang daun, bunga, dan

rimpang di ambil masing-masing larutan baku ekstrak sebanyak 3 mL sampel dilarutkan dengan 3 mL  $\text{AlCl}_3$  2% perbandingan volume (1:1) dalam metanol p.a kemudian di inkubasi 1 jam pada suhu  $25^\circ\text{C}$  (pada suhu kamar) lalu ukur pada alat spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 420 nm dilakukan pengujian 3 kali (triplo) pengukuran dan kandungan flavonoid dinyatakan dengan kesetaraan perbandingan kuersetin (Ordon., *et all.*, 2006)

Metode ini merupakan bagian dari analisis fotometri. Fotometri adalah bagian dari optik yang mempelajari mengenai kuat cahaya (*intensity*) dan derajat penerangan (*brightness*). Penetapan kadar flavonoid dilakukan dengan kuantitatif pada ekstrak yang dianalisis menggunakan metode Ordon, yaitu metode kolorimetri dengan menggunakan aluminium klorida sebagai pembentuk berwarna di ukur secara spektrofotometri, absorban yang menunjukkan flavonoid. Kadar flavonoid dihitung dengan kuersetin sebagai pembanding (Renaningalih et al., 2014).

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air dapat di ekstraksi dengan etanol 70% tetap ada lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi mudah di deteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Redha, A, 2010 dan Markham, 1998). Kandungan total flavonoid ditetapkan menggunakan reagen  $\text{AlCl}_3$  berdasarkan metode ordon,  $\text{AlCl}_3$  akan bereaksi dengan gugus keto pada senyawa flavon atau flavonol

membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning. Reaksi flavonoid dengan  $\text{AlCl}_3$  akan membentuk kompleks, yang akan membentuk warna dengan flavonoid, intensitas warna yang diukur secara spektrofotometri, absorban yang diukur menunjukkan flavonoid. Kadar flavonoid dihitung dengan kuersetin sebagai pembandingan (Anwar & Triyasmono, 2016) .

Pada prinsipnya kolorimetri menggunakan aluminium klorida adalah bahwa aluminium klorida membentuk kompleks stabil pada gugus keto atom C-4 keto dan dengan gugus hidroksi pada gugus pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dengan flavon dan flavonol. Selain itu, aluminium klorida membentuk kompleks labil flavonoid (Ordon., *et al.*, 2006).

## **II.3 Senyawa Fenolik**

### **II.3.1 Pengertian**

Fenol adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Dengan kata lain, senyawa fenolik adalah senyawa yang sekurang-kurang memiliki satu gugus fenol. Senyawa fenolik memiliki cincin aromatik satu atau lebih gugus hidroksil (OH) dan gugus-gugus lain penyetaannya sehingga di sebut polifenol. senyawa fenolik di alam telah diketahui strukturnya, antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, melanin, tannin), dan kuinon fenolik. Dalam keadaan murni, senyawa fenol berupa zat padat yang tidak berwarna, tetapi jika teroksidasi akan berubah menjadi gelap.

Kelarutan fenol dalam air akan bertambah, jika gugus hidroksil makin banyak (Anwar & Triyasmono, 2016).

### **II.3.2 Metode Pengujian Fenolik**

Senyawa fenolik memiliki aktivitas biologik yang beranekaragam, dan dapat diketahui dengan mengukur kapasitas reduksi dengan pereaksi Follins-Ciocalteu menggunakan spektrofotometer, absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm (Pourmorad dkk; 2006). Jika murni fenol sederhana berupa zat padat tapi biasanya teroksidasi dan berwarna gelap jika terkena udara. Fenol yang kelarutannya kecil mudah larut dalam larutan natrium hidroksida sangat mengikat, sehingga pada setiap perlakuannya harus dihindari penggunaan basa kuat (Anwar & Triyasmono, 2016).

Untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana ialah dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam air atau metanol kepada larutan cuplikan yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Cara ini yang dimodifikasi dengan menggunakan campuran segar larutan besi (III) klorida 1% dalam air dan kalium heksasianoferat (III) 1%, masih tetap digunakan cara umum untuk mendeteksi senyawa fenol (terutama flavonoid) dapat dideteksi dengan kromatogram berdasarkan warnanya atau fluoresensinya di bawah lampu UV, warnanya diperkuat atau berubah bila di uapi amonia. Pigmen fenolik berwarna dan

warnanya ini dapat terlihat jadi mudah dipantau selama proses pemurnian (Harbone J.B, 1987).

Kandungan total fenolik ditetapkan menggunakan reagen Follins-Ciocalteu. Senyawa fenolik akan bereaksi dengan reagen Follins-Ciocalteu membentuk kompleks berwarna biru dengan intensitas warna yang sebanding dengan kadar senyawa fenolik yang ada. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm. Fenolik akan bereaksi dengan reagen Follins-Ciocalteu.

Prinsip pengukuran kandungan fenolat dengan reagen Follins-Ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 765 nm. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi Folin-Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten.

Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Follins-Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk menciptakan kondisi basa digunakan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk; artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-

fosfotungstat) menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Apsari & Susanti, 2011).

Namun reagen ini tidak hanya mengukur total fenol, akan tetapi bereaksi dengan zat pereduksi lain. Kemungkinan ada komponen lain yang dapat bereaksi dengan reagen seperti gula atau asam askorbat (Saeed et al., 2012). Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran dikarenakan asam galat merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Kandungan fenol asam organik ini bersifat murni dan stabil (Lee et al., 2003).

Senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semua semuanya menunjukkan serapan kuat di daerah spektrum UV. Selain itu secara khas senyawa fenol menunjukkan penting terutama untuk identifikasi dan analisis kuantitatif senyawa fenol (Harbone J.B, 1987).

### **Bab III Metodologi Penelitian**

Metodologi penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental di Laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Tahapan yang dilakukan antara lain penyiapan simplisia dan determinasi tanaman, skrining fitokimia, karakterisasi simplisia, dan ekstraksi penetapan kadar flavonoid dan fenolik total.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun, bunga dan rimpang Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) yang di peroleh dari Manoko, Lembang. Kemudian di determinasi di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA UNPAD, Bandung, Jawa Barat. Pembuatan sampel simplisia terhadap bunga, daun, dan rimpang dilakukan dengan cara sortasi basah, pencucian, perajangan dan pengeringan di oven pada suhu 40°C.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam simplisia masing-masing bagian tanaman kecombrang. Karakterisasi simplisia dilakukan untuk mengetahui kualitas simplisia yang digunakan. Yang meliputi pemeriksaan kadar air, kadar abu, kadar sari dan susut pengeringandi simplisia. Ekstraksi terhadap bunga, daun, dan rimpang kecombrang dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 3x24 jam, kemudian disaring dan dipekatkan

menggunakan *rotary vaporator* pada suhu 50°C hingga didapat ekstrak kental (Diniatik, Suwijiyono Pramono, 2013).

Penetapan kadar fenol total secara spektrofotometri menggunakan reagen Follins-Ciocalteu, diukur pada panjang gelombang 765 nm. Kadar fenol total dihitung terhadap asam galat sebagai pembandingan (GAE).

Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida yang diukur dengan spektrofotometri. Pada panjang gelombang 420 nm dengan kuersetin sebagai standar. Kadar flavonoid dihitung sebagai kuersetin ekivalen (QE)