

## DETERMINASI TOTAL FLAVONOID DAN TOTAL FENOLIK RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* L.) DENGAN PERBEDAAN KONSENTRASI PELARUT

Ahmad Fuad Masduqi<sup>1\*)</sup>, Muhammad Ryan Radix Rahardhian<sup>1)</sup>

<sup>1</sup> Program Studi D-3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang, Indonesia

<sup>\*)</sup>email: ahmad\_fuadm@yahoo.com

### ABSTRAK

Rimpang jeringau merupakan salah satu keanekaragaman hayati di Indonesia yang mengandung senyawa fenolik golongan flavanoid yang memiliki banyak khasiat untuk kesehatan. Rimpang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis (KLT), determinasi total phenolic content (TPC) dan total flavanoid content (TFC) pada ekstrak etanol rimpang jeringau dengan metode perkolasi. Ekstrak rimpang jeringau mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavanoid, saponin dan terpenoid pada skrining fitokimia dan KLT. Nilai TPC pada konsentrasi pelarut 50%, 70% dan 96% berturut-turut adalah 12,115±0,05 mg/g Gallat Acid Equivalent (GAE); 14,17±0,08 mg/g Gallat Acid Equivalent (GAE); 16,699±0,12 mg/g Gallat Acid Equivalent (GAE). Nilai TFC pada konsentrasi pelarut 50%, 70% dan 96% berturut-turut adalah 4,917±0,01 mg/g Rutin Equivalent (RE); 7,20±0,01 mg/g Rutin Equivalent (RE); 6,42±0,01 mg/g Rutin Equivalent (RE). Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang jeringau memiliki potensi sebagai sumber fenolik dan flavonoid dengan nilai TPC tertinggi pada ekstrak konsentrasi pelarut 96% dan nilai TFC tertinggi pada ekstrak konsentrasi pelarut 70%.

**Kata kunci:** Rimpang jeringau, total fenolik, total flavonoid, perkolasi

### 1. PENDAHULUAN

Brazil, Indonesia, dan Zaire adalah tiga dari sepuluh negara dengan keanekaragaman hayati paling tinggi di dunia. Sementara ini, Brazil berada di posisi urutan tertinggi. Hutan Amazon sebagai hutan tropis terluas di dunia adalah latar belakang tingginya tingkat keanekaragaman hayati. Meskipun tak tertutup kemungkinan, posisi Indonesia sebenarnya berada di puncak dan di atas peringkat Brazil, karena proses pengambilan data hingga kini relatif belum meliputi semua (Widjaja, 2014).

Hal tersebut menjadikan Indonesia kaya akan potensi berbagai macam kategori tanaman antara lain tanaman obat. Salah satu contoh dari tanaman obat yang

memiliki banyak khasiat adalah *Acorus calamus* L (*A. calamus*). Tumbuhan yang termasuk dalam famili Araceae merupakan jeringau yang tumbuh liar di hutan-hutan tropis Kalimantan Barat, secara empiris telah digunakan oleh masyarakat pedalaman suku Dayak dalam mengobati berbagai macam penyakit diantaranya tifus dan demam berdarah (Sofyan dkk., 2017). Selain itu, tanaman obat akhir-akhir ini dijadikan sumber alternatif guna pengobatan (Ramonah dkk., 2020). Menurut penelitian (Ganjewala dan Srivastava, 2011), menunjukkan bahwa daun dan rizhome jeringau mengandung beberapa senyawa aktif yang berfungsi sebagai antiinflamasi, antimikroba dan fungisidal. Akar dan rhizome *A. calamus*

mengandung senyawa metabolit yang memiliki aktivitas antibakteri (Yende dkk., 2008). Ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus*) terhadap pertumbuhan *candida albicans* (Susanti, 2016). Rimpang jeringau juga berpotensi sebagai antioksidan (Sofyan dkk., 2017).

Hal tersebut mendasari peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif ekstrak rimpang jeringau dengan metode perkolasi perbedaan konsentrasi pelarut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan kadar fenolik total dan flavanoid total.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Persiapan Ekstraksi

Ekstraksi rimpang jeringau menggunakan metode perkolasi berdasarkan metode (Ramonah dkk., 2020) dengan sedikit modifikasi. Ditimbang 60 gram serbuk simplisia ditambah 200 ml etanol 50, 70 dan 96%, dimasukkan dalam *beakerglass*, diamkan selama 3 jam.

Dipindahkan kedalam perkolator sedikit demi sedikit, tuang larutan penyari secukupnya sampai cairan masih terdapat selapis cairan penyari. Tutup perkolator dan biarkan selama 24 jam. Perkolat dibiarkan menetes dan tambahkan berulang-ulang cairan penyari hingga jernih. Perkolat diuapkan diatas *rotary evaporator* (Heidolph®, Germany) hingga didapatkan ekstrak kental.

### 2.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari rimpang Jeringau dengan pereaksi warna atau reaksi pengendapan (Ramonah dkk., 2020). Preparasi sampel dengan melarutkan

ekstrak rimpang jeringau dengan etanol, dan aquadest hingga larut sempurna.

Sampel ditambah aquadest, panaskan dan saring setelah dingin, filtrat dibagi dua, filtrat a ditambah  $\text{FeCl}_3$  positif polifenol berwarna biru/hijau kehitaman, filtrat b ditambah garam gelatin, terbentuk endapan putih menunjukkan positif tanin. Terbentuk warna merah, kuning/jingga menunjukkan positif flavonoid dengan cara sampel ditambahkan serbuk Mg dan 1 mL HCl. Sampel ditambahkan HCl dan aquadest, panaskan dan saring saat dingin, filtrat dibagi dua, filtrat a ditambah reagen mayer, terbentuk endapan putih/kuning, filtrat b ditambahkan reagen dragendroff, terbentuk endapan merah bata menunjukkan positif alkaloid. terbentuk buih stabil menunjukkan senyawa saponin dengan cara sampel ditambah aquadest dipanaskan kemudian didinginkan ditambahkan HCl dan dikocok vertikal dengan kuat. Sampel ditambah eter, didiamkan selama 2 jam, diuapkan dan ditambah  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , terbentuk warna hijau mengandung steroid dan warna jingga/ merah/ ungu mengandung triterpenoid.

### 2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Elusi pertama menggunakan N Butanol: Asam asetat: Air (4:1:5) dan elusi ke dua asam asetat 6%, dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  terbentuknya bercak hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

N-Butanol:Asam asetat glasial: Air (4:1:5) Penampak bercak uap amonia, terbentuknya warna kuning atau

kuning coklat menunjukkan adanya flavonoid.

Kloroform: Etil Asetat (70:30) dan penampak bercak dragendroff, terbentuknya warna coklat menunjukkan positif alkaloid.

Kloroform: Metanol: Air (64:50:10) untuk KLT Saponin. n-Heksana : Etil asetat (4:6) untuk KLT Steroid dan triterpenoid, dengan penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat. Lempong KLT dipanaskan pada *hot plate* selama 5-10 menit pada suhu 100°C, terbentuknya warna kuning, hijau, merah, biru tua, ungu, kuning kecoklatan menunjukkan rimpang Jeringau mengandung saponin., terbentuknya warna biru atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid/steroid.

#### 2.4 Determinasi *Total Phenolic Content* (TPC)

TPC mengikuti metode (Suharsanti dkk., 2019) dengan sedikit modifikasi. Larutan standar asam galat dibuat dengan konsentrasi 100-600 µg/mL dan sampel dengan konsentrasi 2000 µg/mL. larutan standar/sampel diambil 1,0 ml dimasukkan tabung reaksi ditambah 4,5 ml Folin Ciocalteu 10 % ditambah 4,5 ml Na. Karbonat, homogenkan. Diinkubasi 30 menit, dibaca pada λ 760 nm menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu®) tipe 1240.

#### 2.5 Determinasi *Total Flavonoid Content* (TFC)

Determinasi TFC mengikuti metode (Chang dkk., 2002) dengan sedikit modifikasi (Ramonah dkk., 2020). Larutan standar Rutin dibuat dengan konsentrasi 10 – 140 µg/mL dan sampel dengan konsentrasi 1000

µg/mL. larutan standar/sampel diambil 1,0 ml dimasukkan tabung reaksi ditambah 3 ml metanol ditambah 0,2 ml AlCl<sub>3</sub> 10%, ditambah 0,2 ml Na.asetat 20% anhidrat, ditambah 5,6 ml aquadest, homogenkan. Diinkubasi 30 menit pada λ 420 nm menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu®) tipe 1240.

#### 2.6 Analisis Statistik

Analisis data menggunakan metode *analysis of variance* (ANOVA) dengan software IBM SPSS Statistic 23, USA. Perbedaan nilai dilihat dari *least significant difference* (LSD), *PostHoc test* pada probabilitas 5 %.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak rimpang jeringau (*Arocus calamus*) yang diperoleh dalam penelitian ini sebanyak 8,3 %. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah perkolasi dengan perbedaan pelarut etanol yaitu 50%, 70% dan 96%. Verawati dkk., (2017) menyatakan bahwa metode perkolasi memberikan rendemen ekstrak dan kadar fenolik total yang lebih tinggi dari soxhletasi dan maserasi, yang berarti metode perkolasi dapat mengekstraksi metabolit sekunder lebih maksimal.

Menurut Fitriah dkk., (2017) menyatakan bahwa pelarut etanol dapat mengekstraksi senyawa fenol, flavonoid, tanin terkondensasi, saponin dan alkaloid yang merupakan senyawa-senyawa yang mempunyai gugus fungsional, ikatan rangkap, atom nitrogen dan atom oksigen yang bersifat polar. Hal tersebut mendasari penelitian ini dengan konsentrasi yang berbeda. Hasil skrining fitokimia dan uji kromatografi lapis tipis ekstrak rimpang

jeringau dengan perbedaan konsentrasi pelarut dapat dilihat pada tabel 1. dan 2.

Hasil skrining fitokimia dan uji KLT ekstrak rimpang jeringau menunjukkan bahwa mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, tanin, flavanoid, saponin dan terpenoid. Alkaloid dengan pereaksi mayer tidak terbentuk endapan putih, hal ini dimungkinkan karena reagen mayer yang mengandung tidak dibuat pada hari perlakuan, sehingga kemampuan

merkuri pada reagen mayer untuk berikatan dengan alkaloid tidak terjadi. Larutan merkuri (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuri (II) iodide, yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Selanjutnya dilakukan uji kandungan fenolik total dan kadar flavanoid pada ekstrak rimpang jeringau dengan perbedaan konsentrasi pelarut.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Rimpang Jeringau dengan Perbedaan Konsentrasi Pelarut

Golongan Senyawa	Ekstrak Rimpang Jeringau		
	50 %	70 %	96 %
Flavonoid	+	+	+
Tanin			
• FeCl <sub>3</sub>	+	+	+
• Gelatin	+	+	+
Alkaloid			
• Dragendorff	+	+	+
• Mayer	-	-	-
Saponin	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+

Tabel 2. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Rimpang Jeringau dengan Perbedaan Konsentrasi Pelarut

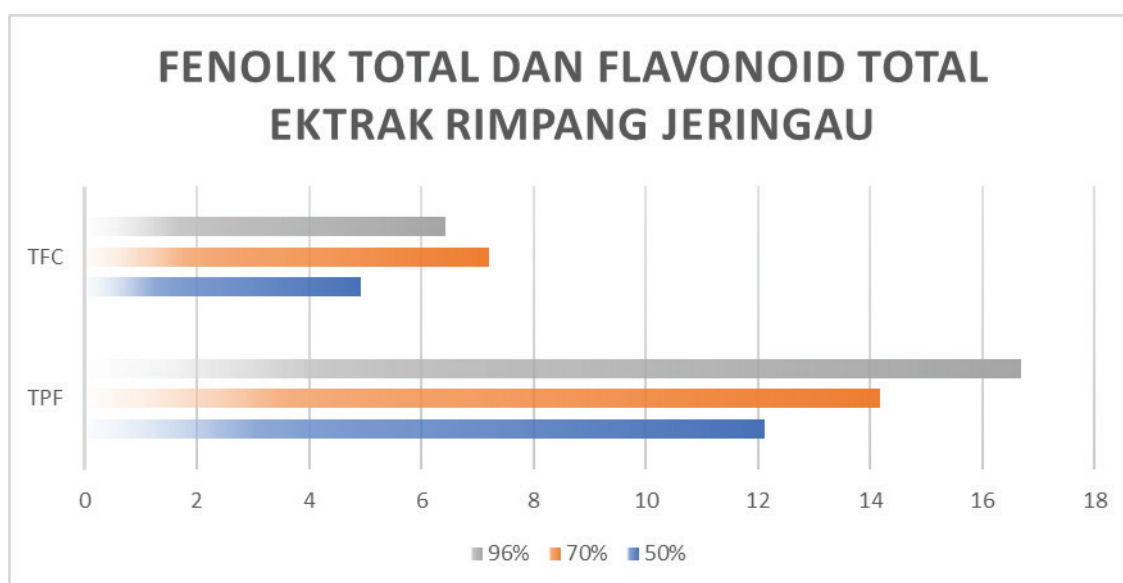
Golongan Senyawa	Fase Gerak (Eluen)	Retardation Factor (Rf)		
		50 %	70 %	96 %
Flavonoid	Butanol:Asam asetat glasial: Air (4:1:5)	0,22; 0,74	0,22; 0,74	0,28; 0,6; 0,7; 0,9
Tanin	Butanol: Asam asetat:Air (4:1:5) dan asam asetat 6%	0,18 ; 0,55 ; 0,66	0,18; 0,5; 0,66; 0,9	0,31; 0,9
Alkaloid	Kloroform:Etil Asetat (70:30)	0,19; 0,25; 0,36	0,18; 0,23; 0,32	0,29; 0,42; 0,45
Saponin	Kloroform: Metanol: Air (64:50:10)	0,55	0,48	0,58
Triterpenoid	n-Heksana : Etil asetat (4:6)	-	-	-

Metode Folin Ciocalteu digunakan dalam penelitian ini untuk mengukur kandungan fenolik total. Larutan standar yang digunakan adalah asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Hasil pengukuran serapan larutan standar asam galat diperoleh kurva kalibrasi berupa absorbansi versus konsentrasi larutan asam galat (mg / mL) dinyatakan sebagai mg GAE / g ekstrak rimpang jeringau. Sedangkan pengukuran kadar flavonoid total rimpang jeringau dilakukan dengan penambahan  $AlCl_3$  dan menggunakan Rutin (RE) sebagai larutan standar. Analisis kuantitatif senyawa flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui seberapa besar

kadar flavonoid total yang terkandung pada ekstrak rimpang jeringau, karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Harbone, 1987) dari sampel. Persamaan kurva kalibrasi asam galat dan Rutin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa fenolik dan flavonoid total pada ekstrak rimpang jeringau. Hasil pengukuran kandungan fenolik total dan flavanoid total ekstrak rimpang jeringau dengan perbedaan konsentrasi pelarut dapat dilihat pada tabel 3. dan gambar 1.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Rimpang Jeringau dengan Perbedaan Konsentrasi Pelarut

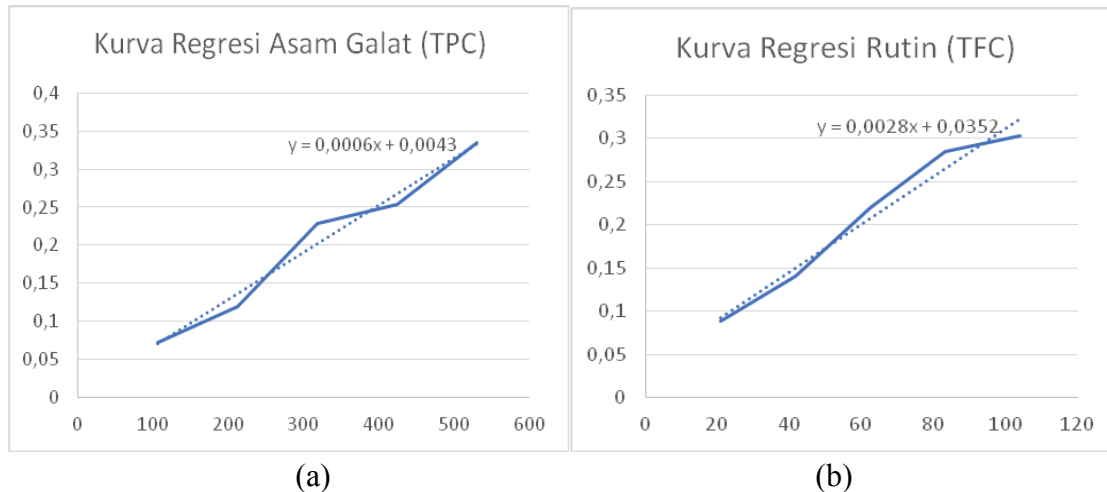
Replikasi	Fenolik Total (mg GAE /g)			Flavonoid Total (mg RE/ g)		
	50%	70%	96%	50%	70%	96%
1	12,08786	14,09848	16,59165	4,90897	7,21451	6,41482
2	12,08786	14,25933	16,67207	4,90897	7,20175	6,44084
3	12,16828	14,1789	16,83292	4,93449	7,18899	6,41482
<b>X±SD</b>	<b>12,115±0,05</b>	<b>14,17±0,08</b>	<b>16,699±0,12</b>	<b>4,917±0,01</b>	<b>7,20±0,01</b>	<b>6,42±0,01</b>



Gambar 1. Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Rimpang Jeringau

Hasil menunjukkan bahwa kandungan fenolik total tertinggi pada ekstrak rimpang jeringau pada konsentrasi pelarut 96% dengan nilai  $16,699 \pm 0,12$  mg/g *Gallat Acid Equivalent* (GAE). Sedangkan kandungan flavanoid total

tertinggi pada ekstrak ripang jeringau pada konsentrasi pelarut 70% dengan nilai  $7,20 \pm 0,01$  mg/g *Rutin Equivalent* (RE). Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa fenolik didalam rimpang jeringau lebih besar dibandingkan senyawa flavanoid.



**Gambar 2. Gambar Kurva Regresi Baku Asam Galat/TPC (a) dan Rutin/TFC (b)**

Hasil menunjukkan bahwa grafik kurva baku asam galat dan Rutin diperoleh persamaan regresi linier asam galat  $y = 0,0006x + 0,0043$  nilai  $r = 0,9861$  dan persamaan regresi linier Rutin  $y = 0,0028x + 0,0352$  dengan nilai  $r$  adalah  $0,9801$ . Pengukuran absorbansi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar  $0,98$  ini mendekati angka  $1$  yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut linier. Persamaan kurva kalibrasi asam galat dan Rutin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa fenolik total dan flavonoid total pada rimpang jeringau.

Kandungan fenolik dan flavanoid ini merupakan senyawa hasil metabolit sekunder yang bersifat fotoprotektif (Choquenot dkk., 2008). Penelitian (Rahardhian dkk., 2019) menyatakan bahwa aktivitas tabir surya dipengaruhi oleh adanya kandungan fenolik dan flavanoid. Selain itu juga flavonoid dan

fenolik berpotensi sebagai antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Ramonah dkk., 2020).

#### 4. SIMPULAN

Ekstrak rimpang jeringau memiliki potensi sebagai sumber fenolik golongan flavonoid dengan nilai TPC tertinggi pada ekstrak konsentrasi pelarut 96% yaitu  $16,699 \pm 0,12$  mg/g *Gallat Acid Equivalent* (GAE) dan nilai TFC tertinggi pada ekstrak konsentrasi pelarut 70% yaitu  $7,20 \pm 0,01$  mg/g *Rutin Equivalent* (RE).

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Mahasiswa DIII Farmasi angkatan 2017, dan Wening Harsanti, yang membantu penelitian ini.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C., 2002. Estimation of Total

- Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal of Food and Drug Analysis*.
- Choquenot, B., Couteau, C., Papis, E., Coiffard, L.J.M., 2008, *J. Nat. Prod.* 71, 1117–1118.
- Ganjewala, D., Srivastava, A.K., 2011. *Asian J. Plant Sci.* 10, 182–189.
- Harbone, J.B., 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, 2nd ed. ITB, Bandung.
- Rahardhian, M.R.R., Suharsanti, R., Sugihartini, N., Lukitaningsih, E., 2019. *J. Glob. Pharma Technol.* 11, 308–313.
- Ramonah, D., Rahardhian, M.R.R., Putri, C.N., 2020, *Media Farm. Indones.* 15, 1585–1592.
- Sofyan, A., Widodo, E., Natsir, H., 2017. *J. Teknol. Pertan.* 18, 173–180.
- Suharsanti, R., Sugihartini, N., Lukitaningsih, E., Rahardhian, M.R.R., 2019. *J. Glob. Pharma Technol.* 11, 154–162.
- Susanti, N., 2016. *J. Biodjati* 1, 55.
- Verawati, V., Nofiandi, D., Petmawati, P., 2017. *J. Katalisator* 2, 53.
- Widjaja, 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia 2014*, Igarss 2014.
- Yende, S.R., Harle, U.N., Rajgure, D.T., Tuse, T.A., Vyawahare, N.S., 2008. *Pharmacogn. Rev.* 2, 22–26.