

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Rimpang Pacing *Costus Speciosus* (J.Koenig) Sm.

¹Adrian Permana Hisa Dilaga, ²Yani Lukmayani, ³Reza Abdul Kodir

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116

e-mail: ¹iunseven724@gmail.com, ²lukmayani@gmail.com, ³reza.abdul.kodir@gmail.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid ekstrak etanol rimpang pacing *Costus Speciosus* (J.Koenig) Sm. Tahapan isolasi meliputi ekstraksi dengan metode maserasi (95%) dengan rendemen ekstrak sebesar 8,4% menghasilkan ekstrak kental sebanyak 135 gram, fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair – cair (ECC) menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Terhadap fraksi etil asetat dilakukan subfraksinasi dengan kromatografi cair vakum dengan sistem elusi landaian dan pemurnian dengan menggunakan KLT preparatif. Identifikasi isolat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV - sinar tampak dengan pereaksi geser. Berdasarkan karakterisasi isolat, maka dapat disimpulkan bahwa isolat adalah senyawa flavonoid golongan flavonol.

Kata Kunci : Rimpang Pacing, Flavonoid, Spektrofotometri UV-Sinar Tampak, Pereaksi Geser.

A. Pendahuluan

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang beranekaragam dan memiliki manfaat bagi kehidupan. Tingginya keanekaragaman hayati di Indonesia memungkinkan dapat ditemukannya berbagai jenis senyawa kimia. Hampir semua jenis tumbuhan dapat tumbuh di wilayah negara ini. Tumbuhan yang digunakan sebagai obat pada zaman dahulu dikenal dengan obat tradisional.

Perkembangan obat tradisional semakin meningkat seiring dengan berjalannya waktu, sehingga banyak yang tertarik untuk melakukan penelitian mengenai obat bahan alam. Diantara tumbuhan yang digunakan dan diteliti adalah pacing *Costus speciosus*. Rimpang pacing sudah terbukti secara empiris digunakan sebagai obat antifungi, antioksidan dan sebagai bahan baku kontrasepsi (Sari dkk, 2013).

Pacing merupakan tanaman yang digunakan sebagai tanaman hias dan juga dapat digunakan sebagai tanaman obat. Pacing sudah banyak digunakan sebagai obat dan telah diteliti memiliki aktivitas farmakologi terhadap tubuh manusia. Dari hasil penelitian, bagian-bagian dari tanaman pacing hampir seluruhnya dapat digunakan atau dimanfaatkan sebagai obat. Pacing secara empiris digunakan oleh masyarakat sebagai kontrasepsi tradisional, contohnya di Pulau Wawonii Sulawesi Tenggara daun Pacing digunakan untuk KB dan perawatan pasca persalinan dengan cara direbus dan air rebusannya diminum. Ekstrak air dari daun dan rimpang pacing mengandung steroid, tanin, dan fenolik (Sari dkk, 2013:59-66). Pacing diketahui mengandung senyawa flavonoid dan senyawa fenolik lain yang terkandung dalam rimpang yang telah diketahui sebagai antioksidan, menetralkan radikal bebas sebelum menyerang sel sel dan mencegah kerusakan lipid, protein, dan enzim (Revathy *et al*, 2014:15).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan fenol alam yang terbesar, terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga ditemukan pada setiap telaah ekstrak tumbuhan (Markham, 1988). Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan hijau, seperti pada bagian akar, daun, kulit kayu, benang sari, bunga, buah dan biji buah dengan beberapa fungsi. Karena keberadaannya yang melimpah flavonoid sangat menarik perhatian untuk diteliti, karena flavonoid yang merupakan metabolit sekunder alam bertanggung jawab untuk berbagai aktivitas farmakologi (Kumar, 2013).

Berdasarkan informasi tersebut, perlu untuk melakukan isolasi dan identifikasi flavonoid dari rimpang pacing *Costus speciosus*. Dari proses isolasi akan dihasilkan isolat flavonoid yang perlu diidentifikasi untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid yang berada didalam simplisia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid yang dikandung dalam rimpang tanaman pacing. Hasil penelitian diharapkan dapat memberi manfaat yaitu untuk memperoleh informasi mengenai kandungan flavonoid yang terkandung dalam rimpang pacing.

B. Landasan Teori

Tanaman pacing *Costus speciosus* hampir secara keseluruhan hidup di daerah bagian tropis. Sebagian besar habitatnya berada di hutan yang lembab atau di tempat-tempat yang terbuka dengan tingkat kelembaban yang tinggi. Namun ada juga yang hidup dengan habitat yang kering. Pacing dapat beradaptasi terhadap lingkungannya dengan intensitas cahaya yang rendah (Cronquist, 1981).

Tanaman ini digunakan sebagai obat-obatan tradisional oleh Kannikars (suku bukit primitif India Selatan). Tanaman ini digunakan pula pada industri obat sebagai sumber alami diosgenin yang merupakan sapogenin steroid yang digunakan untuk sintesis hormon seks dan kontrasepsi (Pawar, V.A. 2012).

Bagian tanaman yang memiliki banyak kegunaan obat adalah bagian rimpang, daun, dan batangnya. Rimpang digunakan sebagai obat penurun panas, daun digunakan pada penyakit demam, dan rebusan batang digunakan untuk demam dan disentri. Pasien dengan demam tinggi, sebagian besar memanfaatkan rebusan daun, sedangkan pasien dengan penyakit diare menggunakan rebusan batang mudanya (Srivastava, S, 2011:118-128).

Didalam rimpang pacing terdapat kandungan flavonoid yang merupakan subclass dari polifenol, yang terbagi menjadi flavon, flavonol, isoflavon, antosianin, flavanol, proantosianidin dan fenolat yang umum ditemukan pada daun, jaringan berbunga dan kayu seperti batang dan kulit (Pawar, V.A. 2012).

Flavonoid merupakan senyawa polar yang mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau gugus gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

Senyawa flavonoida merupakan senyawa golongan polifenol yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C₆ – C₃ – C₆, yaitu 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan 3 karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham., 1988:1). Flavonoida terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran dari flavonoida yang berbeda golongan dan jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal.

Flavonoida pada tumbuhan terdapat dalam berbagai bentuk struktur molekul dengan beberapa bentuk kombinasi glikosida. Oleh karena itu, dalam menganalisis flavonoida lebih baik memeriksa aglikon yang telah terhidrolisis daripada dalam bentuk glikosida dengan strukturnya yang rumit dan kompleks (Harborne, 1987: 71).

Parameter standar simplisia dan ekstrak dilakukan untuk menjamin keamanan,

dan kualitas dari simplisia dan ekstrak. Parameter standar simplisia meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik.

Parameter spesifik merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan identitas senyawa atau senyawa tertentu yang menjadi petunjuk spesifik. Parameter organoleptik ekstrak dengan menggunakan panca indra mendeskripsikan bentuk, rasa, bau, dan warna. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (larut air dan etanol) dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam pelarut untuk menentukan jumlah solut yang identik. Parameter kadar kandungan kimia tertentu, dengan adanya suatu kandungan kimia yang berupa senyawa identitas tertentu, dilakukan dengan berbagai instrumen seperti kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi, atau instrumen lain yang sesuai (Depkes RI, 2000: 30-33).

Parameter non-spesifik dilakukan untuk menetapkan kualitas ekstrak dan simplisia yang terdiri dari susut pengeringan (untuk simplisia), bobot jenis (untuk ekstrak), kadar air (untuk simplisia), kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam (untuk simplisia dan ekstrak). Susut pengeringan dilakukan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Parameter bobot jenis dilakukan untuk mengetahui batasan besarnya masa per satuan volume untuk parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak kental. Parameter kadar abu dinilai untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2000: 13-20).

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok dari bahan dasar obat, baik yang berasal dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang dipilih, dimana zat yang diinginkan dapat larut atau disebut dengan ekstrak (Ansel, 2008: 605). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk proses ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan yang biasanya dilakukan pada temperatur 15° - 20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat yang diinginkan dapat larut (Ansel, 2008:608).

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Metode pemisahan yang banyak digunakan adalah metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi (Harborne, 1987:8).

Ekstraksi cair-cair merupakan proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Koefisien distribusi atau koefisien partisi yang merupakan tetapan keseimbangan yang merupakan kelarutan relatif dari suatu senyawa terlarut dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Prinsip ekstraksi cair-cair adalah like dissolves like yang berarti bahwa senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar, dan senyawa nonpolar mudah larut dalam senyawa nonpolar.

Ekstraksi cair-cair dalam prosesnya terjadi perpindahan solut dari satu fase ke fase lain. Pada ekstraksi cair cair, fase yang digunakan adalah dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya digunakan air dan pelarut organik (Harborne, 1987: 4).

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase. Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi diantara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Depkes RI, 1995:1002).

Kromatografi preparatif merupakan metode kromatografi untuk mendapatkan isolat murni, dimana pada kromatografi preparatif ini setiap senyawa akan terpisah menurut tingkat kepolarannya membentuk urutan pita-pita. Pita selanjutnya dipisahkan untuk dilarutkan pada pelarut yang sesuai sehingga akhirnya diperoleh isolat murni (Harborne, 1987).

C. Metodologi Penelitian

Tahapan penelitian ini meliputi penyiapan bahan, karakterisasi bahan, ekstraksi, fraksinasi, isolasi flavonoid, uji kemurnian serta identifikasi isolat. Penyiapan bahan terdiri dari pengumpulan bahan, determinasi tumbuhan, dan pembuatan simplisia. Pembuatan simplisia meliputi sortasi, pencucian, perajangan, pengeringan, dan pembuatan serbuk simplisia. Simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Bahan simplisia yang digunakan dikarakterisasi terlebih dahulu dengan melakukan penetapan parameter standar simplisia dan penapisan fitokimia. Penetapan parameter standar simplisia terdiri dari parameter spesifik (organoleptik, pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, penetapan kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol) serta parameter non spesifik (susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar air). Penapisan fitokimia dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid/triterpenoid, kuinon, senyawa polifenolat, dan monoterpen/seskuiterpen.

Ekstraksi rimpang pacing dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95% selama waktu tertentu dengan dilakukan penggantian pelarut setiap 24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan selama 3 hari. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup rapat. Selanjutnya terhadap ekstrak pekat dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda yaitu n-heksan, etil asetat dan air. Setelah difraksinasi, fraksi dan ekstrak dipantau dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen yang sesuai sehingga menghasilkan bercak yang baik. Terhadap fraksi terpilih dilakukan fraksinasi kembali menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV), kemudian fraksi hasil KCV diuapkan dan dipantau dengan KLT. Terhadap fraksi terpilih hasil KCV dilakukan pemurnian menggunakan metode KLT preparatif sehingga menghasilkan senyawa murni. Kemudian dilakukan uji kemurnian terhadap isolat dengan metode KLT pengembangan tunggal dengan tiga komposisi eluen yang berbeda dan KLT dua dimensi. Selanjutnya, dilakukan identifikasi terhadap senyawa flavonoid hasil isolasi menggunakan spektrofotometri UV-sinar tampak.

D. Hasil Penelitian

Pengumpulan Bahan dan Determinasi

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang pacing *Costus Speciosus* (J.Koenig) Sm. yang diperoleh dari Manoko-Lembang, Jawa Barat berupa simplisia segar sebanyak 10 kg. Untuk perlakuan awal dilakukan pencucian. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada simplisia, sehingga tidak menimbulkan kontaminasi dan tidak mempengaruhi hasil akhir. Rimpang pacing yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara di angin-anginkan sehingga tidak menimbulkan kerusakan pada simplisia dan disimpan di dalam wadah yang tertutup rapat.

Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik rimpang pacing memiliki bentuk bundar sampai lonjong atau tidak beraturan, panjang sampai 5 cm, lebar sampai 4 cm, tebal 2 mm sampai 7 mm. Permukaan bidang irisan berwarna kecoklatan agak pucat,

melengkung tidak beraturan, penuh dengan lekukan dan tonjolan.

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk rimpang pacing *Costus Speciosus* dilakukan pada pembesaran 10x dengan reagen I2KI. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa simplisia tersebut memiliki butir pati.

Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia rimpang pacing *Costus Speciosus* (J.Koenig) Sm. dapat dilihat dari **Tabel 4.1**

Tabel 4.1 Hasil penapisan fitokimia simplisia rimpang pacing

Senyawa	Simplisia
Alkaloid	(+)
Flavonoid	(+)
Polifenolat	(+)
Kunnon	(+)
Tanin	(+)
Saponin	(+)
Monoterpen/Sesquiterpe	(+)
ⁿ Triterpen/Steroid	(-)

Penetapan Parameter Standar Simplisia Organoleptik

Pengamatan organoleptik rimpang pacing berbentuk bundar sampai lonjong, dengan diameter berkisar antara 1-4 cm, berwarna coklat, dan berasa pahit.

Evaluasi parameter standar simplisia

Hasil parameter-parameter non spesifik dan spesifik dari simplisia dapat dilihat pada **Table 4.2**

Tabel 4.2 Evaluasi parameter standar simplisia biji kacang hijau

Parameter Standar	Simplisia	Syarat Menurut MMI
Kadar Sari Larut Air	33,14%	>13%
Kadar Sari Larut Etanol	9,45%	>5%
Kadar Air	8,20%	<10%
Kadar Abu Total	7,70%	<6%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,63%	<1,5%

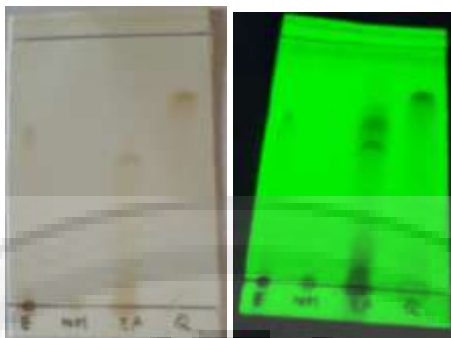
Ekstraksi dan Fraksinasi

Dalam penelitian ini proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu dapat menarik senyawa yang bersifat termolabil dan termostabil. Proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 95 % dan melakukan penggantian pelarut setiap 24jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan vacuum rotary evaporator dan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 135 gram dengan randemen 8,4%.

Terhadap ekstrak pekat yang dihasilkan dilakukan fraksinasi. Fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi cair-cair (ECC) dan Kromatografi cair vacuum (KCV).

Dari hasil fraksinasi dengan metode ECC diperoleh fraksi n-Heksana sebanyak 0,04 g dan faksi etil asetat sebanyak 1,21 g. Terhadap fraksi n-Heksana dan fraksi etil

asetat yang diperoleh kemudian dilakukan pemantauan KLT dengan menggunakan eluen n-Heksana : etil asetat (2:8). Hasil pemantauan KLT dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1 Kromatogram pemantauan fraksi hasil ECC

Keterangan :

FG : n-Heksan : etil asetat (2:8)

FD : Silika Gel₂₅₄

1 : Ekstrak Etanol

2 : Fraksi n-Heksan

3 : Fraksi Etil asetat

4 : Pembanding Kuersetin

Dalam kromatogram terlihat adanya bercak berwarna kuning kecoklatan pada fraksi etil asetat. Bercak berwarna kuning kecoklatan dalam fraksi etil asetat ini yang nantinya akan diisolasi. Selanjutnya terhadap fraksi etil asetat dilakukan pemisahan subfraksinasi dengan cara Kromatografi Cair Vacuum (KCV).

Dari 1,21 gram fraksi etil asetat dihasilkan 11 fraksi hasil KCV, kemudian dilakukan pemantauan terhadap fraksi hasil KCV dengan menggunakan plat KLT dan mentotolkan 11 fraksi di dalam 1 plat KLT dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (2:8) kemudian dilihat di bawah sinar uv dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pemantauan KLT dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



Gambar 4.2

Keterangan :

FG: etil asetat : n-Heksan(8:2)

FD: Silika Gel₂₅₄ dilihat pada panjang gelombang 254 nm

15 = Fraksi terpilih

Dari kromatogram diatas dihasilkan ada 3 fraksi yang memiliki bercak yang sejajar. Dari 3 fraksi dipilih lagi pemisahan yang terbaik, dari kromatogram dilihat bahwa pada fraksi no.15 terlihat bercak yang diduga senyawa flavonoid dengan pemisahan terbaik, terhadap fraksi terpilih kemudian dilakukan isolasi senyawa flavonoid dengan metode KLT preparatif menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (2:8).

Uji Kemurnian

Uji kemurnian dilakukan dengan KLT pengembang tunggal dan KLT 2 dimensi. KLT pengembang tunggal menggunakan tiga jenis pengembang yang berbeda kepolaran yaitu yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Dari ketiga pengembang diperoleh satu bercak yang menunjukkan bahwa isolat tersebut sudah murni.

Karakterisasi Isolat

Karakterisasi isolat pada penelitian ini menggunakan pereaksi geser. Pereaksi geser ini digunakan untuk menentukan kedudukan gugus gula dan gugus hidroksil fenol pada inti flavonoid dengan mengamati pergeseran puncak (peak) serapan yang terjadi. Hasil pengujian pada pereaksi geser dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

Pereaksi geser	Pita I	Pita II	Pergeseran Pita I	Pergeseran Pita II	Keterangan
Metanol	371	256 209	-	-	Flavonol (3-OH bebas)
NaOH	327	214	-	-	-
NaOH 5'	323	214	-	-	-
AlCl ₃ /HCl	427	266	56 (MeOH)	-	3-OH (dengan atau tanpa 5-OH)
	361	208	-	-	-
AlCl ₃	455	272 209	28 (AlCl ₃ /HCl)	-	<i>o</i> -diOH pada cincin B

Tabel 4.3 Hasil Penafsiran Spektrum UV-Vis dengan Pereaksi Geser

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa spektrum dengan pelarut metanol puncak serapan pertama mempunyai panjang gelombang 371 nm dan puncak kedua mempunyai panjang gelombang 256 nm dan 209 nm. Serapan pada panjang gelombang tersebut menunjukkan rentang serapan dari senyawa flavonoid (3-OH bebas) golongan flavonol yaitu pada rentang 350-385 nm (pita I) dan rentang 250-280 nm (pita II). Spektrum isolat dalam metanol bila dibandingkan dengan spektrum flavonoid yang umum memiliki kemiripan dengan spektrum kuersetin 7-*O* rhamnosida dengan panjang gelombang maksimum pada 256, 269 dan 372 (Markham, 1988: 52) dan 256, 269, 374 (Iwashina Tsukasa *et all*, 2012).

Pada tahapan Selanjutnya isolat ditambahkan NaOH, pada penambahan NaOH terjadi pergeseran hipsokromik sehingga data tidak bisa dibandingkan.

Selanjutnya pada penambahan pereaksi geser AlCl₃, terjadi pergeseran batokromik yang terjadi pada pita I, menunjukkan adanya *o*-diOH pada cincin B. Kemudian isolat direaksikan dengan AlCl₃/HCl untuk melihat pola hidroksilasi pada pita I, hasil pengujian menunjukkan adanya pergeseran batokromik sebesar 56 nm dengan kekuatan yang naik pada pita I menunjukkan mungkin 3-OH (dengan atau tanpa 5-OH) dengan panjang gelombang 266 nm dan 427 nm. Hasil ini mirip dengan penelitian (Iwashina Tsukasa *et all*, 2012) yang memiliki panjang gelombang 265 nm, 298 nm, 361 nm dan 427 nm, sehigga memperkuat dugaan bahwa isolat adalah kuersetin 7-*O*-rhamnosida dimana kuersetin 7-*O*-rhamnosida terdapat *o*-diOH pada cincin B dan terdapat 5-OH pda cincin A.

E. Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometri UV- sinar tampak isolat merupakan flavonoid golongan Flavonol dengan 3-OH bebas (dengan atau tanpa 5-OH) yang memiliki *o*-dihidroksi pada cincin B yang diduga senyawa

kuersetin 7-O rhamnosida.

Saran

Perlu dilakukan karakterisasi isolat lebih lanjut untuk mengetahui kepastian struktur senyawa isolat menggunakan NMR, serta pengukuran titik leleh untuk menguji kemurniannya. Selain itu perlu juga dilakukan isolasi senyawa lain pada tanaman pacing dengan menggunakan metode isolasi dan metode analisis yang lain.

Daftar Pustaka

- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV, terjemahan Ibrahim, F., Penerbit Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Cronquist, A (1981). “*An Integrated System of Classification of Flowering Plant*”. Columbia University Press:1166-1184, New York.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Depkes RI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Depkes RI. Jakarta.
- Farnsworth, N. R., (1966), Biological and Phytochemical Screening of Plants, *J. Pharm. Sci.*
- Harborne. (1987). *Metode fitokimia, Penentuan Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terbitan ke-2, Terjemahan Padmawinata, K. dan Soediro, I. Bandung : ITB
- Kumar, S., Pandey, A.K. (2013). “*Chemistry and Biological Activities of Flavonoids:An Overview*”, *The Scientific World Journal*:1-16.
- Markham, KR. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Padmawinata K, penerjemah; Niksolihin S, editor. Penerbit ITB. Bandung. Terjemahan dari: *Techniques of flavonoid Identification*.
- Flavonoida Dari *Crotalaria anagyroides*, *Majalah Kefarmasian*, Vol. II, No.1, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.
- Pawar, V.A., Pawar, P.R. (2012). “*Costus speciosus:An Important Medicinal Plant*”, *International Journal of Science and Research*:1-33.
- Revathy, J., Dr. Abdullah, S.S., Dr. Kumar, P.S. (2014). “*Antidiabetic Effect of Costus Speciosus Rhizome Extract in Alloxan Induced Albino Rats*”, *Journal of Chemistry and Biochemistry*., Vol. 2, No. 1.
- Sari, I.K., Rahayu, S., Rizal, D.M. (2013). “*Infuse of Costus Speciosus (KOEN.) JE SMITH Leaf as an Inhibitor of Spermatozoa Quantity and Quality of Male Mice Bal B / C*”, *Trad. Med. J.*, Vol. 18(1), p 59-66.
- Srivastava S., dkk, (2011). “*Costus speciosus (Keukand): A review*”, *Der Pharmacia Sinica*, 2 (1), pp. 118-128.
- Tsukasa Iwashina Tsukasa et all., 2012. *Flavonoids from Reaumuria soongarica (Tamaricaceae)*. Mongolia: 189-195