

Penetapan Kadar Fenol Total dan Pengujian Aktivitas Antioksidan Minyak Jahe Gajah (*Zingiber officinale* var. *officinale*) (*Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Jahe Gajah (Zingiber officinale* var. *officinale*) Oil)

Tsabit Barki, Nia Kristiningrum, Endah Puspitasari, Fifteen April Fajrin
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jalan Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: niakristiningrum.farmasi@unej.ac.id

Abstract

Jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *officinale*) is one of export commodity plant in Indonesia. Part of jahe gajah often to be used is the rhizome, that content lots of essentials oil. One of the essential oil content is a phenolic compound. Phenolic compound is a natural product function as antioxidant reducing oxidative damage in the body that cause inflammation. The aim of this study was to determine the total phenolic content and antioxidant activity of jahe gajah oil. The total phenol content was determined using Folin-Ciocalteu method and the antioxidant activity assay was done using DPPH method. The total phenol content for jahe gajah oil was 0.626 ± 0.022 mg GAE/g. The IC_{50} of jahe gajah oil was $5,766 \pm 0,087$ μ l/ml. Antioxidant activity from jahe gajah oil was suggested to be contributed by the phenolic compound and result from synergistic action of all constituents.

Keywords: essential oil, aktivitas antioxidant, phenolic content

Abstrak

Jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *officinale*) adalah salah satu tanaman komoditas ekspor di Indonesia. Bagian jahe yang sering dimanfaatkan adalah rimpang dengan banyak kandungan minyak atsiri. Salah satu kandungan senyawa dalam minyak atsiri adalah fenolik. Senyawa fenolik merupakan produk alami yang memiliki sifat sebagai antioksidan yang dapat meredam kerusakan oksidatif dalam tubuh penyebab inflamasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui kadar fenol total dan aktivitas antioksidan minyak jahe gajah. Penetapan kadar fenol total dengan reagen Folin-Ciocalteu dan metode untuk pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan DPPH. Kadar fenol total minyak jahe gajah $0,626 \pm 0,022$ mg GAE/g minyak, aktivitas antioksidan IC_{50} minyak jahe gajah $5,766 \pm 0,087$ μ l/ml. Aktivitas antioksidan minyak jahe gajah dikontribusi oleh adanya senyawa fenol dan hasil dari efek sinergis komponen senyawa di dalamnya

Kata kunci: minyak jahe gajah, aktivitas antioksidan, fenol total

Pendahuluan

Indonesia telah lama dikenal menjadi negara penghasil rempah-rempah yang sangat berguna sebagai bumbu dan obat-obatan. Beragam etnis di Indonesia, salah satunya di Jawa menggunakan pengobatan tradisional dengan tanaman dari suku Zingiberaceae. Jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *officinale*) merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk suku Zingiberaceae [1].

Jahe mengandung dua komponen minyak menguap (volatil) dan minyak tidak menguap (non-volatil). Komponen minyak menguap seperti minyak atsiri atau minyak jahe memiliki banyak kandungan senyawa. Salah satu kandungan senyawa dalam minyak jahe seskuiterpen hidrokarbon paling dominan adalah seperti zingiberen (35%), kurkumen (18%), dan farnesen (10%). Minyak atsiri juga mengandung senyawa fenol yaitu senyawa fenol seperti 1,8-cineol, eugenol, zingerone, gingerdiols [2].

Senyawa fenol dalam jahe diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi [3].

Rimpang jahe merupakan bagian yang banyak mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri dari rimpang dapat diperoleh dengan menyuling rimpang jahe yang sudah dirajang atau dihancurkan terlebih dahulu [2].

Berdasarkan penelitian sebelumnya minyak jahe gajah dapat meredakan edema pada inflamasi. Hal ini dimungkinkan karena adanya aktivitas antioksidan pada minyak jahe yang dapat meredam radikal bebas penyebab inflamasi [3]. Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti tertarik untuk menetapkan kadar fenol total dan aktivitas antioksidan pada minyak jahe gajah.

Penetapan kadar fenol total pada minyak jahe gajah dilakukan dengan dua tahapan, yaitu ekstraksi dari sampel minyak dan analisis kuantitatif dengan spektrofotometer uv-vis. Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan reagen Folin Ciocalteu [4]. Metode analisis untuk metode ini merupakan yang termudah dan umum digunakan untuk mengukur kadar fenol total yang berasal dari produk alami [5]. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) karena metode tersebut umum digunakan, lebih cepat, sederhana, akurat, relatif tidak mahal, dan mampu mengukur segala komponen yang bertindak sebagai antioksidan [6].

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah jahe gajah yang berasal dari Desa Kencong, Kecamatan Kencong, Kabupaten Jember dan berumur lebih dari 8 bulan, metanol teknis, metanol p.a (Sigma-Aldrich), n-heksana p.a (Sigma-Aldrich), standar asam galat (Sigma-Aldrich), vitamin C (PT. Brataco), *difenilpikrilhidrazil*/DPPH (Sigma-Aldrich), larutan Folin Ciocalteu (Merck), natrium karbonat (teknis), aluminium foil, dan akuades.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spektrofotometer vis (Hitachi U-1800), *vortex* (Health), *sentrifus* (Hermle), timbangan analitik (Ohaus), kuvet plastik (Brand), *ultrasonic cleaner* (Elma), mikropipet (Socorex).

Destilasi Jahe

Rimpang jahe segar yang telah dipanen lalu dibersihkan dari tanah yang menempel. Pencucian dengan menggunakan air mengalir,

kemudian disortasi, dan dirajang. Rimpang yang telah dirajang lalu ditimbang sebanyak 3 kg untuk dilakukan penyulingan, kemudian rimpang dimasukkan ke dalam ketel suling bersamaan dengan air. Perbandingan penambahan air dan bahan sebanyak 2 : 1, selanjutnya dilakukan pemanasan untuk memulai penyulingan, kemudian dibiarkan proses penyulingan berjalan selama 5-6 jam pada suhu 100-121 °C. Setelah proses penyulingan selesai, minyak hasil sulingan ditampung dengan botol gelap dan disimpan pada lemari pendingin.

Penetapan kadar fenol total

a. Fraksinasi dan pembuatan larutan uji minyak jahe gajah

Minyak jahe gajah ditimbang sebanyak 2,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Minyak jahe kemudian diekstrak dengan menambahkan n-heksana p.a 5 ml dan 3 ml larutan metanol/air (60:40 v/v) dan dilakukan *vortex* selama 2 menit. Kedua campuran fase tersebut disentrifus dengan kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit. Fase metanol/air dipisahkan dan ditampung ke dalam vial. Lakukan refraksinasi dengan menambahkan 3ml metanol/air pada sisa fase n-heksana. Hasil fase metanol/air yang kedua dicampurkan dengan fase metanol/air sebelumnya. Fase metanol/air masing-masing jahe dipipet sebanyak 1 mL, selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan dilarutkan dengan air sampai tanda batas [4].

b. Pembuatan larutan baku asam galat

Standar asam galat ditimbang sebanyak 3 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas sehingga konsentrasi standar asam galat yaitu 300 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk asam galat dengan memipet sejumlah tertentu larutan induk, kemudian masukkan ke dalam labu ukur dan menambahkan akuades sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan standar asam galat akhir yaitu 3, 6, 12, 18, 24, 30, 36, dan 48 µg/mL.

c. Penetapan panjang gelombang maksimum

Sebelum Penetapan kadar fenol total, dilakukan dulu penentuan panjang gelombang maksimum asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu. Larutan standar asam galat 4 ml dengan konsentrasi 100 µg/mL ditambah dengan 4,6 ml akuades lalu ditambah 4,6 ml reagen Folin-Ciocalteu dan

didiamkan selama 3 menit. Kemudian, ditambahkan 1 ml larutan Na_2CO_3 . Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu ruang selama 75 menit pada tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer vis yang telah diatur panjang gelombangnya pada 628 nm [7], 725 nm [8], dan 765 nm [9].

d. Penentuan waktu Inkubasi

Larutan uji ekstrak konsentrasi 100 $\mu\text{l/ml}$ dan perbandingan (asam galat) konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ ditambah dengan 4,6 ml akuades lalu ditambah 4,6 ml reagen Folin-Ciocalteu dan didiamkan selama 3 menit. Kemudian, ditambahkan 1 ml larutan Na_2CO_3 . Campuran dikocok sampai homogen dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-150 dengan selang waktu 10 menit.

f. Penetapan kadar fenol total

Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan cara 0,5 mL dari larutan uji fraksi metanol/air minyak jahe gajah dan larutan standar ditambahkan dengan 0,5 mL reagen Folin-Ciocalteu dan didiamkan selama 3 menit. Setelah 3 menit, ditambahkan 0,5 mL Na_2CO_3 10%. Campuran ini diinkubasi selama waktu yang telah ditentukan pada suhu kamar dalam keadaan gelap. Diukur dengan panjang gelombang maksimum.

g. Perhitungan

Nilai absorbansi yang diperoleh konsentrasi larutan fraksi metanol/air minyak dimasukkan ke dalam persamaan regresi larutan standar asam galat sehingga diperoleh kadar fenol total yang ditunjukkan dengan miligram asam galat ekuivalen per gram minyak (mg GAE/g minyak).

Pengujian aktivitas antioksidan

a. Pembuatan larutan uji minyak dan vitamin C

Minyak jahe gajah ditimbang sejumlah tertentu dan dilarutkan ke dalam metanol, sehingga didapatkan konsentrasi minyak jahe gajah 5-40 $\mu\text{l/ml}$. Vitamin C ditimbang sebanyak sejumlah tertentu dan dilarutkan dengan metanol p.a sehingga konsentrasi vitamin C sebesar 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan dipipet, dimasukkan labu ukur ditambahkan metanol p.a sejumlah tertentu sehingga konsentrasi larutan vitamin C akhir yaitu 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 $\mu\text{g/mL}$.

b. Pembuatan larutan dan Penetapan panjang gelombang DPPH

Serbuk DPPH ditimbang 2 mg, dilarutkan pada 50,0 mL metanol p.a sampai tanda batas, diperoleh konsentrasi 0,1 mM. Penentuan panjang gelombang maksimum yaitu dengan mengambil 1,2 mL larutan DPPH 0,1 mM. Kemudian menambahkan 0,3 mL metanol p.a. Campuran dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit pada tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis yang telah diatur panjang gelombangnya dari 400–600 nm.

c. Penentuan waktu inkubasi

Larutan uji minyak jahe gajah direaksikan dengan larutan DPPH dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimumnya mulai menit ke-0 sampai menit ke-100 dengan selang waktu 5 menit.

d. Uji aktivitas antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 0,75 ml dari masing-masing larutan uji minyak dan larutan vitamin C dimasukkan ke dalam kuvet plastik, ditambahkan 0,75 ml DPPH 0,1 mM. Campuran dikocok sampai homogen kemudian larutan uji dan larutan vitamin C diinkubasi pada suhu ruangan sesuai dengan optimasi waktu inkubasinya. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya.

e. Perhitungan

Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persentase peredaman terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan. Setelah didapatkan persentase peredaman dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi minyak ($\mu\text{l/ml}$), vitamin C ($\mu\text{g/ml}$) dan y adalah persentase peredaman DPPH (%). Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan nilai 50.

Hasil Penelitian

Hasil destilasi rimpang jahe yang diperoleh dinyatakan dalam bentuk nilai persen rendemen. Rendemen adalah perbandingan antara minyak yang diperoleh dengan jumlah simplisia awal. Hasil destilasi yang didapat 0,18%.

Penetapan kadar fenol total dilakukan pada fraksi metanol/air dari hasil fraksinasi. Hasil penentuan panjang gelombang adalah 725 nm, sedangkan waktu inkubasi 120 menit.

Penetapan kadar fenol dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi standar asam galat sehingga didapatkan persamaan regresi $y=0,0827x+0,162$. Hasil perhitungan kadar fenol total minyak jahe gajah sebesar $0,626 \pm 0,027$ mg GAE/g minyak.

Berdasarkan kurva panjang gelombang terhadap absorbansi, larutan DPPH memberikan absorbansi yang maksimum pada panjang gelombang 516 nm. Penentuan waktu inkubasi vitamin C selama 30 menit dan ketiga minyak jahe selama 60 menit. Selanjutnya Hasil pengujian aktivitas antioksidan yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil nilai IC₅₀

Bahan uji	Nilai IC ₅₀
Vitamin C	3,544 ± 0,106 µg/ml
Minyak jahe gajah	5,766 ± 0,087 µl/ml

Keterangan: Data disajikan dalam rata-tara ± SD

Pembahasan

Proses destilasi yang digunakan adalah hidrodestilasi. Metode destilasi dengan air (hidrodestilasi) dapat menghasilkan minyak atsiri yang lebih banyak karena rimpang yang akan didestilasi kontak langsung dengan air mendidih. Berdasarkan hasil destilasi diatas persen rendemen minyak jahe gajah yang didapatkan hanya 0,18 %. Penelitian sebelumnya minyak jahe gajah didapatkan rendemen 2 % [9]. Perbedaan hasil rendemen yang didapatkan karena perbedaan umur tanaman, musim pemanenan, tanah, tempat penanaman [10], dan metode destilasi yang digunakan [11].

Pada pengukuran kadar fenol total dibutuhkan sampel yang dapat terlarut sempurna dengan reagen Folin-Ciocalteu dan larutan Na₂CO₃. Sampel minyak jahe yang digunakan secara langsung tidak dapat terlarut sempurna, sehingga dilakukan penarikan senyawa fenol dengan fraksinasi [Fuentes *et al.*, 2012]. Hasil fraksinasi fase metanol/air dipisahkan untuk penetapan kadar fenol total.

Penentuan panjang gelombang maksimum tidak dilakukan dengan *scanning* campuran reagen Folin-Ciocalteu dengan larutan standar dan larutan uji karena campuran tersebut tidak menghasilkan spektra dengan puncak yang pasti. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan membandingkan absorbansi dari tiga panjang gelombang yang telah ditentukan, sehingga penentuan panjang gelombang dan waktu inkubasi dapat dilakukan secara bersama. Panjang gelombang yang

dipilih adalah 725 nm karena menghasilkan absorbansi yang tertinggi pada standar dan sampel dibandingkan dengan dua panjang gelombang yang lain. Waktu inkubasi yang dipilih adalah 120 menit karena pada waktu tersebut sudah tidak ada perubahan absorbansi setelah direaksikan dengan Folin-Ciocalteu, hal ini menandakan bahwa reaksi telah berhenti atau sempurna.

Berdasarkan persamaan yang didapatkan regresi $y = 0,0827x + 0,162$. dapat menetapkan kadar fenol dengan memasukkan hasil pengukuran absorbansi pada larutan fraksi metanol/air minyak jahe yang telah direaksikan dengan Folin-Ciocalteu dan Na₂CO₃ sebagai nilai (x). Kadar fenol total yang diperoleh dalam fraksi diinterpretasikan dalam milligram ekuivalen asam galat per gram minyak (mg GAE/g minyak) sehingga didapatkan kadar fenol total minyak jahe gajah $0,626 \pm 0,027$ mg GAE/g minyak.

Menurut penelitian sebelumnya panjang gelombang pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah 515-520 nm [12]. Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka panjang gelombang yang didapatkan sesuai dengan kriteria panjang gelombang di atas. Panjang gelombang maksimum dipilih karena pada panjang gelombang maksimum dapat memberikan absorbansi yang maksimum.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan, dapat dilihat pada Tabel 1. bahwa nilai IC₅₀ vitamin C paling kecil, hal ini menunjukkan bahwa metode yang dilakukan telah benar. Nilai IC₅₀ minyak jahe gajah 5,766 µl/ml, sehingga pada konsentrasi tersebut larutan uji dapat meredam DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar kemampuan antioksidannya karena hanya dengan konsentrasi yang kecil telah mampu meredam radikal bebas DPPH sebesar 50%. Kemampuan meredam radikal bebas minyak jahe gajah apabila dibandingkan dengan vitamin C sangat jauh karena vitamin C yang digunakan adalah sintesis yang dapat dipastikan memiliki aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan pada minyak jahe gajah dikontribusi oleh adanya kandungan senyawa fenol total. Pada umumnya aktivitas antioksidan minyak jahe disebabkan oleh adanya efek sinergis senyawa organik yang kompleks seperti *β-sesquiphellandrene*, *zingiberene*, *α-farnesen*, *benzene*, *sitral*, dan *kamfen* [13].

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dari pada minyak jahe gajah. Aktivitas antioksidan minyak jahe gajah dikontribusi oleh adanya senyawa fenol dan efek sinergis senyawa organik di dalamnya. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai landasan penelitian selanjutnya untuk pengembangan sediaan farmasi berbasis minyak jahe gajah.

Daftar Pustaka

- [1] Kuntorini EM. Botani ekonomi suku Zingiberaceae sebagai obat tradisional oleh masyarakat di Kotamadya Banjarbaru. Bios. 2005. 2(1): 25-36.
- [2] Singh G, IPS Kapoor, P Singh, CS Heluani, MP Lampasona, & CAN Catalan. Chemistry, antioxidant, and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. FCT. 2008. 46(10): 3295-3302.
- [3] Jeena K, VB Liju, & R Kuttan. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. Indian J Phycol and Pharmacol. 2003. 57(1): 51-62.
- [4] Pancorbo C, L Cerretani, Bendini, Segura-Carretero, Del Carlo, Gallina-Toschi, & Fernandez-Gutierrez. Evaluation of the Antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. JAFC. 2005. 53(23): 8918-8925.
- [5] Agbor GA, E Oben, JY Ngogang, C Xinxing, & JA Vinson. Antioxidant capacity of some herbs/spices from cameroon: a comparative study of two methods. JAFC. 2005. 53(17): 6819-6824.
- [6] Prakash A, Rigelhof F, & Miller E. Antioxidant activity. Medallion Labs. 2001. 19(2): 1-4.
- [7] Cahyani YN. Perbandingan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kopi Robusta (*Coffea cenephora*) dan Arabika (*Coffea arabica*). Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember; 2015.
- [8] Ratnasari FA. Penentuan Kadar Fenol Total pada Ekstrak Daun Tanaman Menggunakan Metode Spektroskopi NIR dan Kemometri. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember; 2016.
- [9] Fuentes E, ME Báez, M Bravo, C Cid, & F Labra. Determination of total phenolic content in olive oil samples by uv-visible spectrometry and multivariate calibration. Food Anal Methods. 2012. 5(6): 1311-1319.
- [10] Jacoby, Anley, Meadors, & Huffman. Epicultivar wax in honey mesquite: Seasonal accumulation interspecific variation. J RANGE MANAGE. 1990. 43: 347-350.
- [11] Bryant, Provenza, Pastor, Reichardt, Clausen, & Toit. Interaction between woodyplants and browsing mammals mediated by secondary metabolites. ANNU REV ECOL SYST. 1991. 22: 431-449.
- [12] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. JUST. 2004. 26(2): 211-219.
- [13] El-Baroty GS, El-Baky HA, Farag RS, & Saleh MA. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. AJBR. 2010. 4(6): 167-174.