

# Validasi Metode Analisa Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum* rhizoma) dengan Spektroskopi UV-Vis

Hermawan Purba<sup>1\*</sup>, Bonar Sinaga<sup>2</sup>, Junius Gian Ginting<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup>Program Studi Sarjana Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Senior Medan, Indonesia  
*hermawanpurba7@gmail.com*

## ABSTRACT

*A validation study of the phenolic content analysis method has been carried out using the Galic acid method for jahe merah. Jahe merah in this study was previously characterized microscopically and macroscopically and a filter phytochemical test was carried out to determine the content of secondary metabolites in jahe merah. Furthermore, extraction is carried out by the maceration method. The resulting extract was then analyzed to determine the phenolic content in the sample. Determination of phenolic content uses a method that has been calibrated first, which includes linearity, LOD and LOQ, precision, accuracy, and sensitivity. The results of the analysis of the analytical parameters are as follows: linearity = 0.9909, Precision = 0.046; 0.06; 0.019 recovery = 98 and 102 %, sensitivity = 1.02. 105 L. Mol-1 cm-1. Analysis of the phenolic sample of the sample showed a concentration value of 180,2 mg GAE/gram jahe extract*

**Keywords:** *Jahe merah, Gallic Acid, Method validation*

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian validasi metode analisa kadar fenolik dengan menggunakan metode Asam Galat terhadap ekstrak etanol Jahe Merah. Rimpang jahe merah pada peneltiian ini sebelumnya di karakterisasi secara mikroskopis dan makroskopis serta dilakukan uji fitokimia skring untuk mengetahui kandungan metabolite sekunder pada Jahe merah. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Ekstrak yang telah dihasilkan kemudian dianalisa untuk menentukan kadar fenolik pada sample. Penentuan kadar fenolik ini menggunakan metode yang terlebih dahulu dikalibrasi yaitu mencakup linearitas, LOD dan LOQ, Presisi, Akurasi, dan sensitifitas. Hasil analisa parameter analitik tersebut masing-masing adalah sebagai berikut linearitas = 0,9909, Presisi = 0,046; 0,06; 0,019 recovery = 98 dan 102 %, sensitifitas = 1,02. 105 L. Mol-1 cm-1. Analisa sampel fenolik sampel menunjukkan nilai konsentrasi yaitu sebesar 180,2 mg GAE/gram ekstrak Jahe merah.

**Kata kunci:** Jahe merah, Asam Galat, Validasi metode

## PENDAHULUAN

Negara Indonesia merupakan negara kedua terbesar dengan kekayaan spesies nabati setelah negara Brasil. Kekayaan alam ini mencakup puluhan ribu spesies tumbuhan obat yang belum dimaksimalkan. Kekayaan alam yang berlimpah ini disebabkan dari posisi geografis Indonesia yang berada pada garis khatulistiwa dengan hutan tropis yang tersebar hampir diseluruh pulau di Indonesia seperti di pulau Sumatera, Kalimantan,

Sulawesi, Papua, dan sebahagian pulau Jawa. Hutan tropis ini menyimpan berbagai jenis tumbuhan yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai obat herbal (Fiolin, 2015).

Pemanfaatan obatan herbal di Indonesia dalam mengobati penyakit atau pencegahan penyakit telah berlangsung selama berabad-abad. Hal ini terlihat dari berbagai jenis pengobatan tradisional menggunakan tumbuhan obat banyak ditemukan di berbagai daerah seperti di daerah Karo, Simalungun,

Toba, Jawa, Kalimantan, Sulawesi dan Papua. Pengobatan ini didasari dari penggunaan bahan alami tumbuhan yang tumbuh di daerah-daerah tersebut. Kekayaan tumbuhan obat ini masih perlu dieksplorasi lebih lanjut secara ilmiah untuk mendukung kemajuan industry obat herbal di Indonesia (Widaryanto, eko dan Nur Azizzah, 2018).

Jahe merah adalah tanaman rimpang yang sangat populer sebagai rempah-rempah dan bahan obat. Rimpangnya berbentuk jemari yang menggebu-gebu diruas-ruas tengah. Rasa dominan pedas disebabkan senyawa keton bernama zingeron (Aljupri, 2014). Jahe merah diketahui memiliki antialkohol, antialergi, antimikroba, antitusif, antikanker, antidepresan, anti-inflamasi, antinarkotik, antipenggumpalan darah, penurun panas, dan peningkat imunitas (Utami dan Puspaningtyas, 2013).

Salah satu contoh bahan aktif dalam tumbuhan yang dapat digunakan dalam pengobatan kanker adalah fenolik (Rahman, MDM., dkk., 2022). Senyawa fenolik merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respons terhadap stres lingkungan. Senyawa fenolik berfungsi sebagai pelindung terhadap sinar UV-B dan kematian sel untuk melindungi DNA dari dimerisasi dan kerusakan. Komponen pada senyawa ini diketahui memiliki peranan penting sebagai agen pencegah dan pengobatan beberapa gangguan penyakit seperti arteriosklerosis, disfungsi otak, diabetes dan kanker (Gargh, dkk., 2016; Rosa, dkk., 2019).

Bahan aktif yang terdapat dalam tumbuhan obat diekstraksi terlebih dahulu sebelum dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Proses ekstraksi bahan aktif ini merupakan suatu proses pemisahan analit atau bahan aktif dari matriks sampel tumbuhan obat tersebut. Ekstraksi memiliki peran yang sangat penting dalam mengembangkan tumbuhan obat menjadi Obat Herbal Terstandar (OHT). Pemilihan metode ekstraksi harus dipertimbangkan dengan baik supaya tidak merusak bahan aktif yang akan diekstraksi.

Metode maserasi merupakan salah satu contoh model ekstraksi zat padat yang mudah dilakukan namun tetap memiliki nilai recovery analisis yang baik (Gultom, RA, 2018). Metode maserasi memiliki keunggulan yaitu proses ekstraksi yang sederhana tidak membutuhkan peralatan yang modern. Ekstraksi rimpang jahe merah dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi yaitu dengan metode perendaman sampel yang terlebih dahulu telah dikeringkan. Berdasarkan hal tersebut di atas peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul Validasi Metode Analisa Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum rhizoma*) dengan Menggunakan Instrumentasi Spektroskopi Uv-Vis.

## METODOLOGI

Penelitian yang dilakukan merupakan eksperimen di dalam laboratorium. Penelitian dimulai dari tahap 1 (persiapan) meliputi pengambilan, penyortiran, pembersihan, pengeringan dan penimbangan sampel, tahap 2 (pelaksanaan) karakteristik simplisia, skrining fitokimia, ekstraksi simplisia, dan tahap 3 penentuan kadar validasi metode analisa kadar fenolik dengan menggunakan spectroscopy UV-Vis.

### Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 600 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam sebuah bejana lalu dimaserasi dengan 750 mL pelarut etanol 96%, ditutup dibiarkan selama 5 hari dan terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, diserkai, diperas dan disaring, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Kemudian dibiarkan selama 2 hari untuk proses dekantasi, terlindung dari cahaya, disaring. Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan dengan menggunakan *evaporator rotary vaccum* pada suhu 50°C sampai tidak terdapat tetesan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental Jahe

## Validasi Metode Analisa Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum* rhizoma) dengan Spektroskopi UV-Vis

Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum* rhizoma) (Ditjen POM RI, 1979).

### Pengujian Kadar Fenolik

#### 1. Preparasi Larutan Standar Asam Galat 1000 ppm

Sebanyak 100 mg asam galat dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan etanol 96%. Dari larutan stok tersebut dibuat larutan standar asam galat dengan konsentrasi 10 ppm yang diencerkan selanjutnya menjadi 1,2,3,4 dan 5 ppm. Hal ini digunakan untuk mengukur kurva standar asam galat. Pada masing-masing standar selanjutnya ditambahkan reagent folin-ciocalteu sebanyak 0,4 mL/10 mL larutan standar. Larutan selanjutnya diinkubasi selama 4-8 menit dan ditambahkan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%.

#### 2. Penetapan Panjang Gelombang

Diambil salah satu konsentrasi larutan baku, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum.

#### 3. Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan standar dengan hasil serapannya yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 740 nm.

#### 4. Penentuan Linearitas

Linearitas diukur dengan melihat koefisien korelasi yang diperoleh dari kurva standar sebelumnya. Nilai regresi linear yang baik harus memiliki nilai  $r^2 \geq 0,97$ .

#### 5. Penentuan Presisi

Penentuan presisi atau keterulangan dilakukan sama halnya dengan melakukan pengukuran absorbansi dari larutan standar asam galat 1 ppm, 3 ppm dan 5 ppm pada

panjang gelombang maksimum yaitu 740 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan pada hari yang sama dengan waktu yang berbeda dan pada hari yang berbeda di waktu yang sama. Hasil analisa dilakukan dengan menghitung nilai RSD dengan rumus berikut:

$$RSD = \frac{100 \times SD}{\bar{x}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{X})^2}{(N-1)}}$$

#### 6. Penentuan Akurasi

Penentuan akurasi dilakukan dengan teknik adisi yaitu dengan menambahkan larutan standar sebesar 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm pada larutan sampel. Hasil analisa absorbansi akan menunjukkan akurasi dari metode yang digunakan. Pengukuran nilai akurasi dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ recovery} = \frac{C_{\text{spike sampel}} - C_{\text{unspike sampel}}}{C_{\text{ditambahkan}}}$$

#### 7. Penentuan LOD dan LOQ

Penentuan LOD dan LOQ dilakukan sama dengan penentuan kurva standar seperti yang dilakukan sebelumnya. Kurva standar yang diperoleh selanjutnya dihitung nilai LOD dan LOQ dengan rumus sebagai berikut:

$$LOQ = \frac{10 \times sb}{m}$$

$$LOD = \frac{3,3 \times Sb}{m}$$

#### 8. Penentuan Sensitivitas

Dengan metode yang sama seperti di atas dilakukan pengukuran nilai sensitivitas dengan menggunakan persamaan baku sebagai berikut:

$$\text{Sensitivity } (\epsilon) = \frac{\text{Slope}}{b}$$

$$b = \text{cuvette thickness (cm)}$$

### 9. Penetapan Kadar Fenolik Pada Sampel

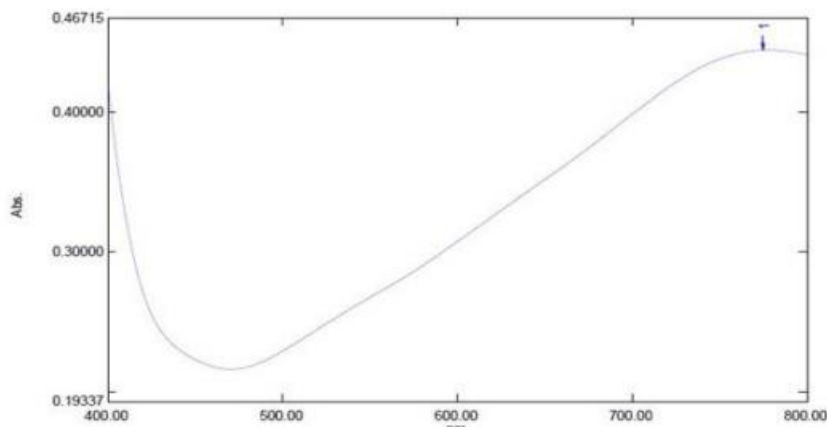
Sebanyak 0,5 gram maserat ditimbang dan dilarutkan dengan aquabidestilata sampai 10 ml. Jika belum larut sempurna bisa dibantu dengan alat yang berfungsi untuk menghomogenkan larutan. Dipipet 1,0 ml sampel dengan seksama, dimasukkan ke dalam wadah berukuran 10 ml yang telah berisi 7,5 ml aquabidestilat. Ditambahkan 0,4 ml pereaksi folin ciocalteu, didiamkan selama 4-8 menit, ditambahkan 4,0 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%. Diinkubasi selama 15 menit, kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum. Dihitung dengan menggunakan kurva baku yang telah didapat sehingga diketahui konsentrasi dari sampel yang diukur.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Validasi Metode Analisa Kadar Fenolik Kurva Kalibrasi

#### a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Analisis kadar fenolik juga menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan untuk melihat panjang gelombang maksimum suatu larutan dimana larutan tersebut memberikan serapan terbesar. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan dengan konsentrasi 100 ppm ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% dan didiamkan selama 17 menit (operating time). Kemudian larutan dibaca serapannya pada rentang 400-800 nm dan serapan terbesar pada panjang gelombang tertentu tersebut yang digunakan sebagai panjang gelombang maksimum.



Gambar 1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Hasil analisa menunjukkan bahwa nilai panjang gelombang maksimum sebesar 775 nm. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan kisaran panjang gelombang maksimum asam galat sebesar 775 nm.

#### b. Penentuan Kurva Standar

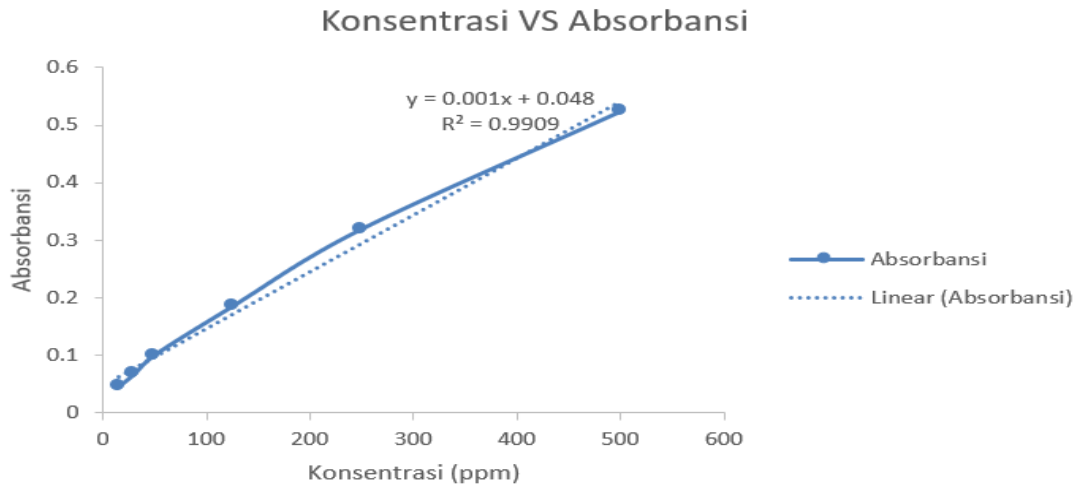
Kurva standar yang dilakukan dalam menentukan linearitas antara konsentrasi dengan absorbansi asam galat. Data konsentrasi dengan absorbansi asam galat dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2.

Tabel 1. Data Konsentrasi dan Absorbansi Asam Galat

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	15	0,0452
2	30	0,0671

Validasi Metode Analisa Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum* rhizoma) dengan Spektroskopi UV-Vis

3	50	0,1009
4	125	0,1852
5	250	0,3201
6	500	0,5246



Gambar 2. Kurva standar Asam Galat

c. Penentuan nilai LOD dan LOQ

Penentuan LOD dan LOQ dilakukan dengan menggunakan persamaan sebelumnya. Hasil analisa menunjukkan bahwa nilai LOD dan LOQ adalah sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3,3 \times Sb}{m} = 0.781077885 \text{ mg/L}$$

$$LOQ = \frac{10 \times Sb \times x}{m} = 2.366902681 \text{ mg/L}$$

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa nilai LOD dan LOQ tergolong sangat

rendah terutama jika dibandingkan dengan konsentrasi minimal yang digunakan dalam penentuan kurva kalibrasi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode ini memiliki nilai parameter analitik LOQ dan LOD sangat baik.

d. Penentuan Presisi

Nilai presisi yang diperoleh dengan perlakuan pengukuran pada 3 jenis konsentrasi asam galat dan pengulangan 3 kali yaitu terlihat pada lampiran, yaitu diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 2. Pengukuran nilai Presisi

Konsentras i Asam galat (mg/L)	Absorbansi ( $\lambda_{maks} = 775 \text{ nm}$ )				RSD
	I	II	III	Rata-rata	
15	0.0455	0.0452	0.0451	0.0453	0,046
125	0.1852	0.1854	0.1854	0.1853	0,06
500	0.5246	0.5247	0.5248	0.5247	0,019

Dari data terlihat bahwa nilai presisi atau keterulangan sangat bagus sehingga metode

ini dapat diaplikasikan dalam mengukur nilai konsentrasi asam galat.

e. *Penentuan Akurasi*

Penentuan nilai akurasi menunjukkan nilai keakuratan dari metode analisa. Nilai akurasi dilakukan dengan metode adisi yaitu dengan menambahkan konsentrasi larutan standar dengan ukuran tertentu dalam sampel dan melihat nilai konsnetrasi akhir yang

terukur melalui konversi nilai absorbansi yang diperoleh. Nilai ini dikenal dengan istilah persen recovery. Nilai recovery yang baik dari suatu metode adalah berada pada range 80-120%.

**Tabel 3.** Nilai recovery

Asam galat yang ditambahkan (mg/L)	Absorbansi ( $\lambda = 775 \text{ nm}$ )				%Recovery
	I	II	III	Rata-rata	
30	0,0671	0,0671	0,0672	0,0671	98
50	0,0882	0,0881	0,0882	0,0882	108

Data tersebut menunjukkan bahwa nilai recovery metode analisa asam galat yang dilakukan sangat baik. Hal ini terlihat dari kesesuaian anatra nilai persen recovery dengan aturan teoritis yang menunjukkan bahwa nilai recovery dari suatu metode yang baik adalah berada pada range 80-120%.

f. *Penentuan Sensitivitas*

Nilai sensitifitas metode ini memiliki besaran yaitu dengan membagi nilai slope terhadap nilai tebal kuvet. Dalam peneltian ini terlihat bahwa nilai slope pada kurva kalibrasi merupakan satuan ppm maka diubah terlebih dahulu kedalam satuan molaritas. Sehingga diperoleh persamaa baru yaitu slopenya sebesar  $1,02 \cdot 10^5$ . Maka nilai sensitifitas =  $1,02 \cdot 10^5 \text{ L. Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  tergolong sensitifitas tinggi.

g. *Penentuan Kadar Fenolik pada Sampel*

Kadar fenolik dari sampel terlihat dari data absorbansi yang diperoleh sesuai prosedur yaitu sebesar 180,2 mg GAE/g Ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa nilai dari kandungan fenolik total pada ekstrak etanol kunyit kuning tergolong tinggi. Hasil penelitian ini juga didukung data sebelumnya bahwa nilai kadar fenolik total dari sampel ekstrak etanol jahe merah berkisar 160 mg GAE/ g Ekstrak (Wiendarlina, dkk, 2019).

**KESIMPULAN**

Penelitian ini menunjukkan nilai parameter analitik yang sangat baik mencakup nilai linearitas, presisi, akurasi, LOD, LOQ dan sensitifitas yang sangat baik yaiutu dengan nilai linearitas = 0,9909, Presisi = 0,046; 0,06; 0,019 recovery = 98 dan 102 %, sensitifitas =  $1,02 \cdot 10^5 \text{ L. Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  dan kadar fenolik total pada rimpang jahe merah sangat tinggi yaitu sebesar 180,2 GAE/ g ekstrak etanol jahe merah.

**DAFTAR PUSTAKA**

Ditjen POM RI, 1979. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Fiolin, R. (2015). *Agrowisata Sainifikasi Tanaman Obat Herbal Scientific Agrotourism*. Tangerang: Skripsi UNTAR.

Garg, N., Abdel-Aziz, S.M., Aeron, A. (2016) *Microbes in Food and Health*, Springer, Switzerland 42-45.

Ginting JG. (2022). Metabolit sekunder ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) fosberg) dan Potensinya sebagai obat. *Journal of Natural Sciences*. Vol. 3(3): 145-154.

Gultom. RA. (2018). *Isolasi Minyak Kacang Tanah (Arachis Hypogaea L.) Dengan Metode Maserasi Dan Soxhlet Dan Analisis Produknya*. Yogyakarta: Thesis UGM.

Purba H., Adhitasari S., and Eko S. (2018). Validation of spectrophotometric

**Validasi Metode Analisa Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum* rhizoma) dengan Spektroskopi UV-Vis**

method for analysis of anionic surfactant dodecyl benzene sulphonate (DBS) in catfish (*Clarias batrachus*) Using malachite Green. *Journal of Applied Chemical Science*. Vol.5(2): 483-487.

- Rahman, MDM., Mds. Rahaman, Md. Rezaul Islam, Firoza Rahman, Faria Mannan Mithi, Taha Alqahtani, Muhannad A. Almikhailafi, Samia Qasem Alghamndi, Abdullah S Alruwailli, Md. Sohel Hoesain, Muniruddin Ahmed, Rajib Das, Talha bin Emran, Md. Sahab Udin. (2022). Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Molecules*. Vol.27, No. 1.
- Rosa, LA., Jesus Omar Moreno-Escamilla, Joaquin Rodrigo-Garcia, Emilio Alvarez-Parrilla. (2019). Phenolic Compounds. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*. Vol.12.
- Utami, Prapti. dan Puspaningtyas, D. Ervira. (2013). *The Miracle of Herbs*. Jakarta Selatan: PT. AgroMedia Pustaka.
- Widaryanto, Eko dan Nur Azizah. (2018). *Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat: Peluang, Budidaya, Pengelolaan Hasil, dan Pemanfaatan*. Malang: Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Wiendarlina, Ike Yulia, Runi Sukaesih, 2019, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Var Amaram) Dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var Rubrum) Dalam Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih Dan Korelasinya Dengan Kadar Fenol Dan Vitamin C, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol 6, No.1