

**UJI FITOKIMIA, TOKSISITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN
DAN ETIL ASETAT TERHADAP EKSTRAK JAHE MERAH
(*Zingiber officinale* var. *amarum*.)**

**PHYTOCHEMICAL, TOXICITY AND ACTIVITY ANTI-OXIDANT FRACTION *n*-
HEXANE AND ETHYL ACETATE EXTRACT OF RED GINGER
(*Zingiber officinale* var. *amarum*.)**

Alpina Nora Kaban^{1*}, Daniel¹, Chairul Saleh¹

¹ Jurusan Kimia FMIPA Universitas Mulawarman Samarinda

*Corresponding author : nora_kaban@ymail.com

ABSTRACT

Has conducted research on the phytochemical test, toxicity test and test the antioxidant activity of the fraction of n-hexane and ethyl acetate to extract red ginger (Zingiber officinale amarum var.). The dried leaves weighing 382 grams, was macerated using methanol, filtered and concentrated by rotary evaporator. Then the total extract of red ginger in fractionation with n-hexane and ethyl acetate. Based on the test results of secondary metabolites phytochemical extracts of total red ginger (Zingiber officinale var amarum.) Are alkaloids, flavonoids, triterpenoids and phenolic. N-hexane fraction contains alkaloids, flavonoids, steroids, triterpenoids and phenolic. Ethyl acetate fractions contain alkaloids, flavonoids, triterpenoids and phenolic. Toxicity test showed the mortality rate of shrimp larvae Artemia salina Leach using Probit Analysis SAS (Statistical Analysis System) to determine the value of 50% Lethal Concentration (LC₅₀), showed that the fraction of n-hexane toxicity with LC₅₀ values of 63.8130 ppm; extracts of total was 71.0121 ppm and ethyl acetate was 3821.89 ppm. Test the antioxidant activity using DPPH free radical reduction in the spectrophotometer and IC₅₀ values obtained on a total extract was 32.19 ppm; n-hexane was fraction 35.63 ppm; and ethyl acetate fraction was 25.69 ppm.

Keywords: *Zingiber officinale* var. *amarum*., phytochemical, Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), antioxidants, DPPH.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki ribuan jenis tumbuhan yang tersebar di berbagai daerah, dimana keanekaragaman hayati yang ada tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan memakai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Salah satu tanaman yang sering digunakan masyarakat adalah jahe (*Zingiber officinale rosc*). Jahe (*Zingiber officinale rosc*) merupakan salah satu rempah-rempah dalam suku temu-temuan (*Zingiberaceae*), sejenis dengan temu-temuan lainnya seperti temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), temu hitam (*Curcuma aeruginosa*), kunyit (*Curcuma domestica*), kencur (*Kaempferia galanga*), lengkuas (*Languas galanga*), dan lain-lain yang telah digunakan secara luas di dunia baik sebagai bumbu dapur maupun sebagai obat. Ada tiga jenis varian jahe di Indonesia, yaitu jahe gajah (*Zingiber officinale* var *officinarum*), jahe emprit (*Zingiber officinale* var *amarum*), dan jahe merah (*Zingiber officinale* var. *amarum*) Survey tentang obat diakui oleh *Food and Drug*

Administration AS pada periode 1983-1994 menunjukkan bahwa 157 dari 520 jenis obat berasal dari bahan alam atau turunannya, di mana 61 % senyawa antikanker yang diakui juga berasal dari bahan alam atau turunannya. [1].

Dari ketiga jenis jahe yang ada jahe merah yang lebih banyak digunakan sebagai obat, karena kandungan minyak atsiri dan oleoresinnya paling tinggi dibandingkan dengan jenis jahe yang lain sehingga lebih ampuh menyembuhkan berbagai macam penyakit, dibandingkan dengan jahe gajah atau jahe emprit. Meskipun demikian, kebanyakan orang umumnya lebih mengenal jahe gajah, yakni sebagai bumbu dapur, rempah-rempah, dan bahan obat-obatan. Berdasarkan penelitian para ahli, dalam maupun manca negara, jahe memiliki efek farmakologis yang berkhasiat sebagai obat dan mampu memperkuat khasiat obat yang dicampurkannya.

Uji toksisitas ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var *amarum*.) terhadap larva *Artemia salina* Leach. Menunjukkan bahwa fraksi n-hexan bersifat toksik diketahui dari tingkat kematian terhadap larva *Artemia salina* Leach

tersebut pada konsentrasi 1000 ppm dan 500 ppm [2].

Suatu sampel dikatakan memperlihatkan toksisitas terhadap larva udang apabila mempunyai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ sedangkan sebagai anti tumor atau anti kanker bila mempunyai $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/mL}$ [3].

Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dari fraksi etil asetat terhadap ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.) menunjukkan bahwa diperoleh dari nilai IC_{50} (*Inhibisi Concentration*) yaitu sebesar 25,69 ppm. [4].

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan apabila memiliki nilai IC_{50} apabila mempunyai $IC_{50} < 50$ ppm. [5]

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui tentang senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.) kemudian pada ekstrak mana yang paling aktif terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) melalui uji mortalitas larva udang dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Setelah itu dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dan identifikasi senyawa kimia yang diperoleh menggunakan GC-MS.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, erlenmeyer, beaker glass, timbangan digital, rotari evaporator, pipet tetes, pipet mikro, tabung reaksi, batang pengaduk, spatula, kertas saring, gelas ukur, corong pisah, corong kaca, kamera digital, hot plate, Spektrofotometer UV-Vis, GC-MS (*Gas Chromatography –Spectrometry Mass*), plat mikro, labu takar, alat tulis, botol reagent, labu ukur dan lampu TL.

Bahan

Jahe merah, metanol, *n*-heksana, etil asetat, aquades, H_2SO_4 2M, asam asetat glasial, $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, HgCl_2 , HNO_3 pekat, KI, FeCl_3 , HCl, serbuk Mg, kertas saring, tissue, aluminium foil, aquades, air laut, DMSO, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), kertas label dan vitamin C.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa

Jahe merah yang telah halus dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstraksi

dilakukan hingga larutan ekstrak tidak berwarna lagi, kemudian dilanjutkan dengan proses penyaringan. Setelah disaring, pelarut diuapkan dengan rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak total yang kemudian ekstrak total tersebut difraksinasi berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut-pelarut organik.

Fraksinasi ekstrak total jahe merah dilakukan dengan *n*-heksana dan etil asetat sehingga diperoleh 2 fraksi yaitu fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana. Fraksi *n*-heksana dan etil asetat dipekatkan dengan rotari evaporator dan disebut sebagai ekstrak fraksi *n*-heksana dan ekstrak fraksi etil asetat.

Pada ekstrak total jahe merah terhadap fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui jenis senyawa kimia metabolit sekunder yang dikandung disetiap fraksi dan ekstrak total. Selanjutnya dilakukan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH serta analisa GC-MS (*Gas Chromatography –Spectrometry Mass*) untuk mengetahui senyawa yang paling aktif.

Uji Fitokimia

Sampel masing-masing ekstrak dibagi dalam 6 tabung reaksi. Uji alkaloid dilakukan dengan pereaksi *Dragendorff*, uji flavonoid dilakukan dengan pita mg dan HCl pekat, uji steroid/triterpenoid dengan pereaksi *Lieberman-Burchard*, uji fenolik dengan penambahan larutan FeCl_3 , uji saponin dengan cara penambahan air panas kemudian dikocok kuat.

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji bioaktivitas dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam ke dalam botol yang telah berisi larutan ekstrak dan air laut. Untuk setiap konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan (*triplo*). Sebagai kontrol adalah air laut yang tidak diberi ekstrak sampel. Botol percobaan disimpan di bawah pencahayaan lampu TL. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dicatat kemudian dihitung persentase kematiannya. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisis probit.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan uji dan larutan kontrol positif yang sudah disiapkan, masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam masing-masing tabung ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM kemudian ditambahkan dengan metanol hingga 4 mL, homogenkan. Larutan blanko,

larutan uji dan larutan vitamin C (pembanding) segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang 518 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Serapan yang diperoleh kemudian dicatat dan dihitung persen hambat aktivitas radikal bebasnya.

Penentuan Senyawa Kimia

Fraksi Etil asetat dilakukan analisis senyawa kimia Spektrofotometri Massa – Kromatografi Gas (GC-MS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi

Determinasi tumbuhan yang dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Fakultas MIPA Universitas Mulawarman yang menyatakan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.) dari suku *Loranthus*.

Hasil Ekstraksi

Sampel jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.) yang sudah bersih, dikeringanginkan lalu dihaluskan. Sampel jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.) tersebut kemudian dimaserasi dengan metanol selama 5 hari sampai larutan ekstrak tidak berwarna lagi. Lalu disaring dan diuapkan pelarutnya dengan rotari evaporator hingga diperoleh ekstrak total metanol sebesar 40,12 gram dari 382 gram sampel.

Ekstrak total metanol yang diperoleh lalu difraksinasi dengan *n*-heksana dan etil asetat. Selanjutnya hasil fraksinasi dipekatkan dengan rotari evaporator, kemudian digunakan untuk uji fitokimia, uji toksisitas (BSLT) dan uji aktivitas antioksidan (DPPH) serta analisa GC-MS (*Gas Chromatography-Spectrometry Mass*)

Uji Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak total metanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat dari jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.) diketahui kandungan jenis senyawa

metabolit sekundernya yang diperlihatkan pada tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Hasil uji fitokimia dari ekstrak total metanol dan masing-masing fraksi jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.)

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak		
	Ekstrak total metanol	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat
Alkaloid	(+)	(+)	(+)
Flavonoid	(+)	(+)	(+)
Fenolik	(+)	(+)	(+)
Triterpenoid	(+)	(+)	(+)
Steroid	(-)	(+)	(-)
Saponin	(-)	(-)	(-)

Keterangan :

- (+) : terdapat senyawa metabolit sekunder
 (-) : tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Uji Toksisitas (BSLT)

Berdasarkan perhitungan dengan analisis Probit SAS terhadap ekstrak total metanol, *n*-heksana, dan etil asetat dari ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.) diperoleh dengan nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration 50%*).

Tabel 2. Nilai LC₅₀ uji toksisitas larva udang ekstrak total metanol dan masing-masing fraksi jahe merah (*Zingiber officinale var amarum*.)

Jenis Ekstrak	Nilai LC ₅₀ (ppm)
Ekstrak total metanol	71,0121
Fraksi <i>n</i> -heksana	63,8130
Fraksi etil asetat	3821,89

Dimana tingkat toksisitas suatu ekstrak adalah sebagai berikut :

- LC₅₀ ≤ 30 ppm = Sangat Toksik
 31 ppm ≤ LC₅₀ ≤ 1000 ppm = Toksik
 LC₅₀ ≥ 1000 ppm = Tidak Toksik [5].

Dapat dilihat ekstrak *n*-heksana menunjukkan memiliki sifat toksik dibandingkan ekstrak yang lain.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan menggunakan Metode DPPH

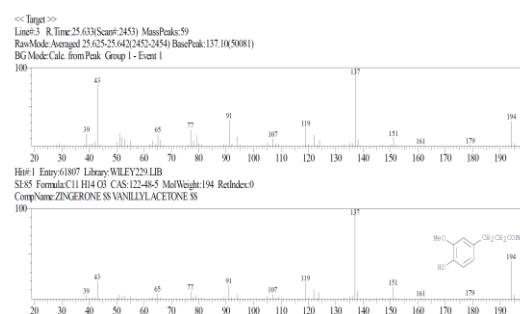
Tabel 3. Hasil persentase Aktivitas Antioksidan pada ekstrak total metanol dan masing-masing fraksi dari Jahe Merah (*Zingiber officinale var amarum*.)

Jahe Merah (<i>Zingiber officinale var amarum</i> .)	Persen Peredaman Radikal Bebas DPPH (%)			
	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm
Ekstrak total metanol	63,19%	81,11%	88,62%	90,79%
Fraksi <i>n</i> -heksana	59,32%	77,48%	83,78%	85,96%
Fraksi etil asetat	75,78%	88,13%	90,80%	92,74%

Hasil Analisis Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GC-MS)

Berdasarkan hasil analisis GC-MS untuk fraksi etil asetat fraksi memberikan beberapa puncak kromatogram yang menunjukkan adanya beberapa senyawa kimia di dalam fraksi tersebut. Dimana hasil identifikasi kandungan kimia pada fraksi etil asetat dengan menggunakan analisa GC-MS (*Gas Chromatography – Spectrometry Mass*) menghasilkan 27 puncak senyawa dan 5 senyawa dominan yaitu puncak 15 senyawa 3,5-octadiene memiliki persen area 27,73% dengan waktu retensi 39,017 menit; puncak 3 senyawa zingerone memiliki persen area 11,02% dengan waktu retensi 25,631 menit; puncak 22 senyawa pentane memiliki persen area 7,86% dengan waktu retensi 42,606 menit; puncak 7 senyawa 1,6,10-Docdecatrien-3-ol memiliki persen area

7,01% dengan waktu retensi 29,488 menit dan puncak 14 senyawa benzeneacetic acid memiliki persen area 10,30% dengan waktu retensi 37,337 menit.



Gambar 1. Spektrum massa dari fraksi etil asetat jahe merah (*Zingiber officinale var amarum.*)

Tabel 4. Perkiraan Senyawa yang Terdapat Pada Isolat E.A 4.2 dengan GC-MS

No	Waktu Retensi (Menit)	Area (%)	Bobot Molekul (m/z)	Kemungkinan Senyawa	Perkiraan Struktur Senyawa	Rumus Molekul
1	25.631	11.02	194	Zingerone		C ₁₁ H ₁₄ O ₃

Berdasarkan hasil interpretasi instrumen yang digunakan, dimana pada kromatogram GC-MS didapat *peak* (puncak) memiliki nilai kemiripan diatas 80%. Perkiraan hasil analisis yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat diduga adalah senyawa Zingerone yang merupakan turunan dari senyawa flavonoid dan fenolik yaitu senyawa yang mengandung C11.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada fraksi *n*-heksan dan etil asetat dari ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum.*) adalah alkaloid, flavonoid, fenolik dan triterpenoid.
2. Berdasarkan hasil uji toksisitas dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dari ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum.*) diperoleh bahwa fraksi *n*-heksan memiliki toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 63,8130 ppm, sedangkan fraksi etil asetat memiliki toksisitas yang rendah dengan nilai LC₅₀ sebesar 3821,89 ppm.

3. Besarnya aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH pada masing-masing fraksi dari ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var amarum.*) yang diperoleh dari nilai IC₅₀ (*Inhibisi Concentration*), yaitu untuk ekstrak total sebesar 32,19 ppm; fraksi *n*-heksan sebesar 35,63 ppm; dan fraksi etil asetat sebesar 25,69 ppm.
4. Hasil identifikasi kandungan kimia pada fraksi etil asetat dengan menggunakan analisa GC-MS (*Gas Chromatography – Spectrometry Mass*) menghasilkan 27 puncak senyawa dan 5 senyawa dominan yaitu puncak 15 senyawa 3,5-octadiene memiliki persen area 27,73% dengan waktu retensi 39,017 menit; puncak 3 senyawa zingerone memiliki persen area 11,02% dengan waktu retensi 25,631 menit; puncak 22 senyawa pentane memiliki persen area 7,86% dengan waktu retensi 42,606 menit; puncak 7 senyawa 1,6,10-Docdecatrien-3-ol memiliki persen area 7,01% dengan waktu retensi 29,488 menit dan puncak 14 senyawa benzeneacetic acid memiliki persen area 10,30% dengan waktu retensi 37,337 menit.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak batang dan daun tumbuhan jahe merah (*Zingiber officinale var amarum.*) untuk mengetahui isolasi senyawa aktif dan bioaktivitas lainnya, misalnya antijamur, antiacne dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [2] Tim lentera, 2002. *Khasiat dan Manfaat Jahe Merah si Rimpang Ajaib*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- [3] Sitorus, M. 2010. *Kimia Organik Umum*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- [4] Winarsi, Hery M. S. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal*. Jogjakarta: Penerbit Kanisius.
- [5] Meyer, B. N, N.R. Ferrigni, J.E. Putman, L.B. Jacobsen, D.E. Nichol and J.L. Melaughlin. 1982. *Brine Shrimp: A Vonvenient General Bioassay for Avtive Plant Constituents*. *Planta Medica* Vol.45, pp. 31-34.
- [6] Molyneux, P., 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. *Jurnal Songklanarkin J. Sci. Technol.* 26 (2) : 211-219.