

Penentuan Kandungan Fenolik Total dan Model Klasifikasi Serbuk Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum Roscoe*) di Dataran Sedang dan Tinggi

Determination Total Phenolic and Classification Model of Emprit Ginger Rhizomes (*Zingiber officinale* var. *Amarum Roscoe*) in Medium and Highland

Harinditha Pramana Putra¹, Evi Umayah Ulfa¹, Lesty Wulandari^{1*}

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jl. Kalimantan no 37, Kec. Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur 68121, Indonesia
*Corresponding author email: lestyowulandari@unej.ac.id

ABSTRAK

Jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum Roscoe*) merupakan salah satu varietas jahe di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai obat anti inflamasi, obat nyeri sendi, tonikum, serta obat batuk. Salah satu senyawa yang mempengaruhi khasiat dari jahe emprit adalah senyawa golongan fenol. Penelitian ini bertujuan menentukan kandungan fenolik total dan menentukan model klasifikasi menggunakan spektroskopi NIR dan kemometrik pada jahe emprit yang di tanam di dataran sedang dan dataran tinggi. Penentuan model klasifikasi menggunakan analisis multivariat LDA (*Linear Discriminant Analysis*), SVM (*Support Vector Machines*), dan SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analyze*), dan SVM (*Support Vector Machines*). Selanjutnya dilakukan validasi LOOCV (*Leave-one-out cross-validation*) dan validasi eksternal. Penentuan fenolik total menggunakan spektroskopi uv-vis dengan reagen folin. Hasil rata-rata dari kandungan fenolik total pada dataran sedang adalah (23,592 ± 6,705) mg GAE/g serbuk, dan pada dataran tinggi adalah (13,382 ± 1,2700) mg GAE/g serbuk. Model klasifikasi LDA, SVM, dan SIMCA menghasilkan %akurasi sebesar 100%. Hasil validasi LOOCV model LDA dan SIMCA adalah 100%, dan SVM sebesar 60%. Hasil validasi eksternal model LDA dan SIMCA memiliki akurasi sebesar 100%. Setelah itu aplikasi pada sampel nyata pada model LDA dan SIMCA masing-masing memiliki akurasi sebesar 100%.

Kata kunci: Fenolik total, kemometrik, *Zingiber Officinale* var. *Amarum Roscoe*

ABSTRACT

In Indonesia, emprit ginger (*Zingiber officinale* var. *Amarum Roscoe*) is a type of ginger used as an anti-inflammatory drug, joint pain medication, tonic, and cough medicine. A phenol group component is one of the substances that influence the effectiveness of emprit ginger. In this study, emprit ginger grown in temperate and highland regions will have its total phenolic content and classification model determined using NIR (near infrared) spectroscopy and chemometrics. LDA (*Linear Discriminant Analysis*), SVM (*Support Vector Machines*), and SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analyze*), and SVM (*Support Vector Machines*) are used in multivariate analysis to determine the classification model. Furthermore, LOOCV (*Leave-one-out cross-validation*) and external validation were carried out—determination of total phenolic using UV-vis spectroscopy with Folin-Ciocalteu reagent. The average yield of total phenolic content in the moderate plateau was (23.592 ± 6.705) mg GAE/g powder, and in the highlands was (13,382 ± 1,2700) mg GAE/g powder. Classification models using LDA, SVM, and SIMCA all produce 100% accuracy. The LOOCV validation results for the LDA and SIMCA models were 100%, and the SVM was 60%. The results of the external validation of the LDA and SIMCA models have an accuracy of 100%. After that, the application to real samples in the LDA and SIMCA models each has an accuracy of 100%.

Keywords: Chemometrics, total phenolic, *Zingiber Officinale* var. *Amarum Roscoe*

Pendahuluan

Sejak jaman dahulu bangsa Indonesia telah menggunakan tanaman obat tradisional sebagai pencegahan terhadap penyakit dan pemeliharaan kesehatan (Kemenkes RI, 2017). Jahe di bedakan menjadi 3 varietas berdasarkan bentuk dari rimpangnya, yaitu jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum Roscoe*), jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *Officinarum Roscoe*), serta jahe merah (*Zingiber*

officinale var. *Rubrum* Theilade) (Gholib, 2008). Jahe emprit memiliki rimpang kecil pipih dan bergerombol berwarna putih yang berbeda dengan varietas jahe merah atau gajah (Rostiana dkk., 2005). Jahe emprit sering dimanfaatkan sebagai obat seperti obat anti inflamasi, obat nyeri sendi dan otot, tonikum, serta obat batuk (Putri dkk., 2016). Salah satu senyawa yang berperan dalam efek farmakologi jahe adalah senyawa golongan fenol, pada jahe

senyawa fenolik mempengaruhi aktivitas antioksidan (Stoilova dkk., 2007). Senyawa fenol pada jahe antara lain seperti *1,8-cineol*, *eugenol*, *zingiberone*, *gingerdials* (Singh dkk., 2008). Kandungan senyawa fitokimia dari tumbuhan obat di pengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya lokasi penanaman, iklim, ketinggian tempat tanam, dan ketersediaan air (Yusron dkk., 2005). Ketinggian tempat tanam dapat mempengaruhi suhu dan intensitas sinar matahari. Semakin tinggi suatu lokasi dari permukaan laut semakin sedikit intensitas matahari dan juga semakin rendah suhu, begitupun juga sebaliknya (Sangadji dkk., 2008). Menurut (Rukmana, 2002) ketinggian suatu tempat di bedakan menjadi tiga, yaitu dataran rendah (0-200 mdpl), sedang (201-700 mdpl), dan tinggi (<700 mdpl).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kandungan fenolik total serbuk rimpang jahe emprit dan pembentukan model klasifikasi pada dataran sedang dan dataran tinggi. Perbedaan kandungan fenolik total dilakukan untuk mengetahui kandungan fenolik total paling tinggi dari serbuk rimpang jahe emprit pada dataran sedang atau dataran tinggi. Penentuan kandungan fenolik total dalam penelitian ini menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan metode kolorimetri *Folin-Ciocalteu*. Sementara untuk model klasifikasi digunakan untuk mempermudah pengklasifikasian rimpang jahe emprit menggunakan spektroskopi NIR dan kemometrik.

Spektroskopi NIR menjadi metode alternatif karena cepat, tidak merusak sampel, dan relative lebih murah. Namun spektrum yang di hasilkan dari NIR sangat rumit dan tumpang tindih sehingga sulit untuk di terjemahkan, sehingga untuk menganalisis data dari spektrum NIR dibutuhkan metode kemometrik supaya dapat membantu dalam menganalisis (Hong dan Chia, 2020).

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah rimpang jahe emprit yang berasal dari Kabupaten Bondowoso dan Kabupaten Jember untuk dataran sedang, Kabupaten Malang dan Kota Batu untuk dataran tinggi, metanol 98%, aquadest, baku asam galat pro analisis (Merck). Identifikasi sampel dilakukan di UPT laboratorium herbal Materia Medika Batu, Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pemotong jahe (Fujika, Tokyo, Jepang), blander (Vaganza, Sidoarjo, Indonesia), ayakan, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1280, Kyoto, Jepang), spektroskopi NIR (Brimrose Luminar 3070, Maryland, USA), perangkat lunak Brimrose (Brimrose, Maryland, USA), perangkat lunak The Unscrambler X 10.4 (Camo, Oslo, Norwegia), timbangan analitik (Sartorius, Göttingen, Germany), dan alat-alat gelas.

Jalannya Penelitian

1. Preparasi sampel

Cara pengambilan sampel menerapkan metode *purposive sampling* yang bertujuan agar mendapatkan sampel yang representatif atau dapat mewakili dan dapat menggambarkan kriteria yang diinginkan. Sampel pada dataran sedang dipilih kabupaten Bondowoso dan kabupaten Jember, sedangkan pada dataran tinggi dipilih kabupaten Malang dan kota Batu. Sampel rimpang jahe emprit sebanyak 1 kg disortir dan dicuci bersih menggunakan air mengalir. Rimpang selanjutnya dipotong setipis mungkin menggunakan alat pemotong, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan suhu ruangan dan tidak terkena sinar cahaya matahari secara langsung. Selanjutnya rimpang diblender sampai berbentuk serbuk kemudian diayak.

2. Penentuan kandungan fenolik total

Sampel ditimbang 25 mg dan direplikasi tiga kali, lalu dilarutkan dalam metanol teknis 98% dalam labu ukur 10 mL. Pembuatan larutan baku asam galat dengan melarutkan asam galat ke dalam metanol teknis 98% sebanyak 9 konsentrasi dengan rentang 5,0 sampai 80,0 µg/mL. Larutan sampel dan asam galat masing-masing dipipet 100 µl ditambahkan *Folin-Ciocalteu* sebanyak 500 µl (1:10 v/v air). Campuran tersebut diinkubasi selama 6 menit dan ditambah Na₂CO₃ sebanyak 400 µl (7,5% b/v air), lalu diinkubasi selama 35 menit. Setiap campuran yang telah diinkubasi, diukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 746 nm. Nilai absorbansi dari larutan standar dihubungkan dengan konsentrasi membentuk kurva baku larutan standar. Kurva baku ini digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total larutan sampel.

3. Penentuan model klasifikasi

Pengukuran spektrum serbuk rimpang jahe emprit menggunakan instrumen spektrometer NIR pada panjang gelombang 800-2500 nm. Pertama alat dinyalakan selama 30 menit dan jalankan aplikasi Brimrose. Serbuk dari rimpang jahe emprit ditempatkan diatas plat (tempat sampel) dan ditekan hingga setiap replikasinya memiliki tebal dan tinggi yang sama. Masing masing dari setiap sampel direplikasi hingga 3 kali dan untuk setiap replikasinya dilakukan penembakan sebanyak 5 kali. Model klasifikasi dibentuk memakai data spektrum NIR dari sampel training set (6 sampel) menggunakan LDA (*Linear Discriminant Analyze*), SIMCA (*Soft Independent Modelling of Class Analyze*), dan SVM (*Support Vector Machines*) pada program The Unscrambler X 10.4. Dalam penelitian ini digunakan validasi *Leave-one-out cross-validation* (LOOCV) dan validasi eksternal. LOOCV menggunakan data dari sampel training set yang dipisahkan satu

set data untuk divalidasi. Sampel yang tersisa di gunakan untuk membentuk model klasifikasi baru (Wulandari dkk., 2020). Sementara validasi eksternal menggunakan set data yang berasal di luar training set atau set data yang berasal dari luar populasi *training set* (*test set*). Pada validasi eksternal, *training set* digunakan untuk pembentukan model, sedangkan *test set* digunakan untuk validasi metode (Wulandari dkk., 2022). Model kalibrasi terpilih dan tervalidasi selanjutnya diterapkan untuk klasifikasi sampel nyata. Sampel nyata dipindai dengan spektroskopi NIR dan dianalisis menggunakan model terpilih.

Analisis Data

Kandungan fenolik total dilakukan uji t-test untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang bermakna antara sampel pada dataran sedang dan tinggi menggunakan perangkat lunak SPSS Statistik 22. Hasil uji dikatakan bermakna jika nilai sig. <0,05 dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%.

Hasil dan Pembahasan

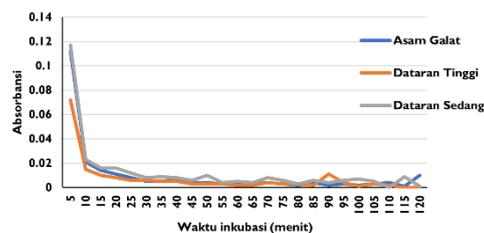
Pengumpulan sampel rimpang jahe emprit berdasarkan pada ketinggian dari tempat tumbuh jahe. Sampel dari dataran sedang didapat pada ketinggian 391-480 mdpl dan sampel dari dataran tinggi didapat dari ketinggian 759-1193 mdpl.

Pada penelitian ini, digunakan panjang gelombang 746 nm karena memiliki nilai absorbansi paling tinggi. Sementara hasil dari penetapan waktu inkubasi untuk standar asam galat adalah 35 menit, sampel dataran tinggi 45 menit, dan sampel dataran sedang 60 menit. Waktu inkubasi dipilih saat nilai absorbansi mencapai nilai stabil atau *steady state* (gambar2). Kurva baku standar asam galat didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,0642x + 0,0951$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9954. Hasil dari regresi yang didapat sudah sesuai dengan kriteria regresi yang baik dan dapat digunakan dalam penentuan kandungan fenolik total, dimana kriteria regresi yang baik adalah $0,98 \geq r \leq 1$ (Harmita, 2004).

Pada Gambar 3 menunjukkan serbuk rimpang jahe emprit pada dataran sedang (201-700 mdpl) memiliki kandungan fenolik total lebih tinggi dari dataran tinggi (>700 mdpl). Hal ini menunjukkan jika ketinggian tempat tumbuh jahe emprit dapat mempengaruhi kandungan fenolik total yang terkandung dalam rimpang. Ketinggian tempat tumbuh jahe dapat mempengaruhi produktifitas dari rimpang jahe tersebut. Selain ketinggian tempat tanam, kandungan air pada tanah, cahaya matahari dan oksigen yang terkandung didalam tanah berperan dalam proses pembentukan rimpang jahe. Jahe dapat tumbuh pada ketinggian 0 sampai 1500 mdpl, dan tumbuh optimum pada ketinggian 300 sampai 900 mdpl.



Gambar 1. Rimpang jahe emprit



Gambar 2. Optimasi waktu inkubasi

Pada dataran sedang (391-480 mdpl) memiliki kandungan fenolik total yang lebih tinggi karena jahe tumbuh pada ketinggian yang optimum. Sementara pada dataran tinggi (759-1193 mdpl) memiliki kandungan fenolik total yang lebih rendah, karena pada ketinggian lebih dari 1000 mdpl rimpang jahe akan sulit untuk berkembang dan pada ketinggian 0-200 mdpl tanaman jahe mudah terserang penyakit seperti layu karena bakteri (Muchlas dan Slameto, 2008).

Pada uji normalitas kandungan fenolik total pada sampel rimpang jahe emprit memiliki nilai signifikansi 0,360 (dataran sedang), dan 0,420 (dataran tinggi), dengan nilai homogenitas 0,101. Jika nilai signifikansi (Sig) >0,05 maka dapat dikatakan data terdistribusi secara normal dan homogen (Santos, 2018). Dari hasil signifikansi yang didapatkan, maka data telah terdistribusi secara normal dan homogen. Sementara pada uji independent-sampel T-test, memiliki nilai signifikansi 0,024. Dapat dikatakan jika ada perbedaan bermakna antara data fenolik total rimpang jahe emprit pada dataran sedang dan tinggi.

Dalam penentuan model klasifikasi, setiap model menghasilkan nilai akurasi yang memperlihatkan kemampuan dari setiap model untuk mengelompokkan sampel ke dalam dua kategori yaitu dataran tinggi dan dataran sedang. Kemampuan model dalam mengklasifikasikan sampel, ditunjukkan dengan nilai % akurasi (Yulia dkk., 2017). Pada Gambar 4, model LDA, SVM dan SIMCA menghasilkan nilai akurasi masing-masing 100%, hal ini menunjukkan bahwa semua model mampu mengelompokkan sampel dengan benar dan sesuai dengan kategori yang telah ditetapkan.

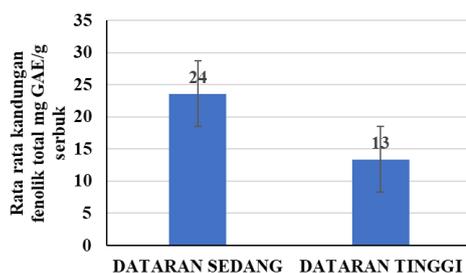
Tabel 1. Lokasi sampling sampel rimpang jahe emprit

Lokasi			Mdpl*	Kategori Dataran	Literatur
Kota	Kecamatan	Desa			
Malang	Singosari	Gunungrejo	1193	Tinggi	>700 mdpl
Batu	Bumiaji	Bulukerto	1206		
Batu	Bumiaji	Bumiaji	1121		
Malang	Singosari	Toyomarto	759	Sedang	200-700 mdpl
Bondowoso	Prajejan	Bandilan	480		
Bondowoso	Crème	Jirek Mas	599		
Bondowoso	Botolinggo	Lanas	391		
Jember	Silo	Pace	536		

*Mdpl: meter di atas permukaan laut

Tabel 2. Kandungan fenolik total serbuk rimpang jahe emprit

Kode	Kadar (mg GAE/g serbuk (n=3))
Gunungrejo	13,049 ± 0,622
Bulukerto	13,156 ± 1,818
Bumiaji	12,158 ± 1,310
Toyomarto	15,165 ± 1,403
Bandilan	21,929 ± 0,535
Jirek Mas	22,178 ± 0,529
Lanas	33,048 ± 1,192
Pace	17,213 ± 0,179



Gambar 3. Grafik rata-rata kandungan fenolik total

Tabel 3. Hasil akurasi model klasifikasi

Model Klasifikasi	%Akurasi
LDA	100%
SVM	100%
SIMCA	100%

Tabel 4. Hasil validasi LOOCV

Model Klasifikasi	%Akurasi
LDA	100%
SVM	60%
SIMCA	100%

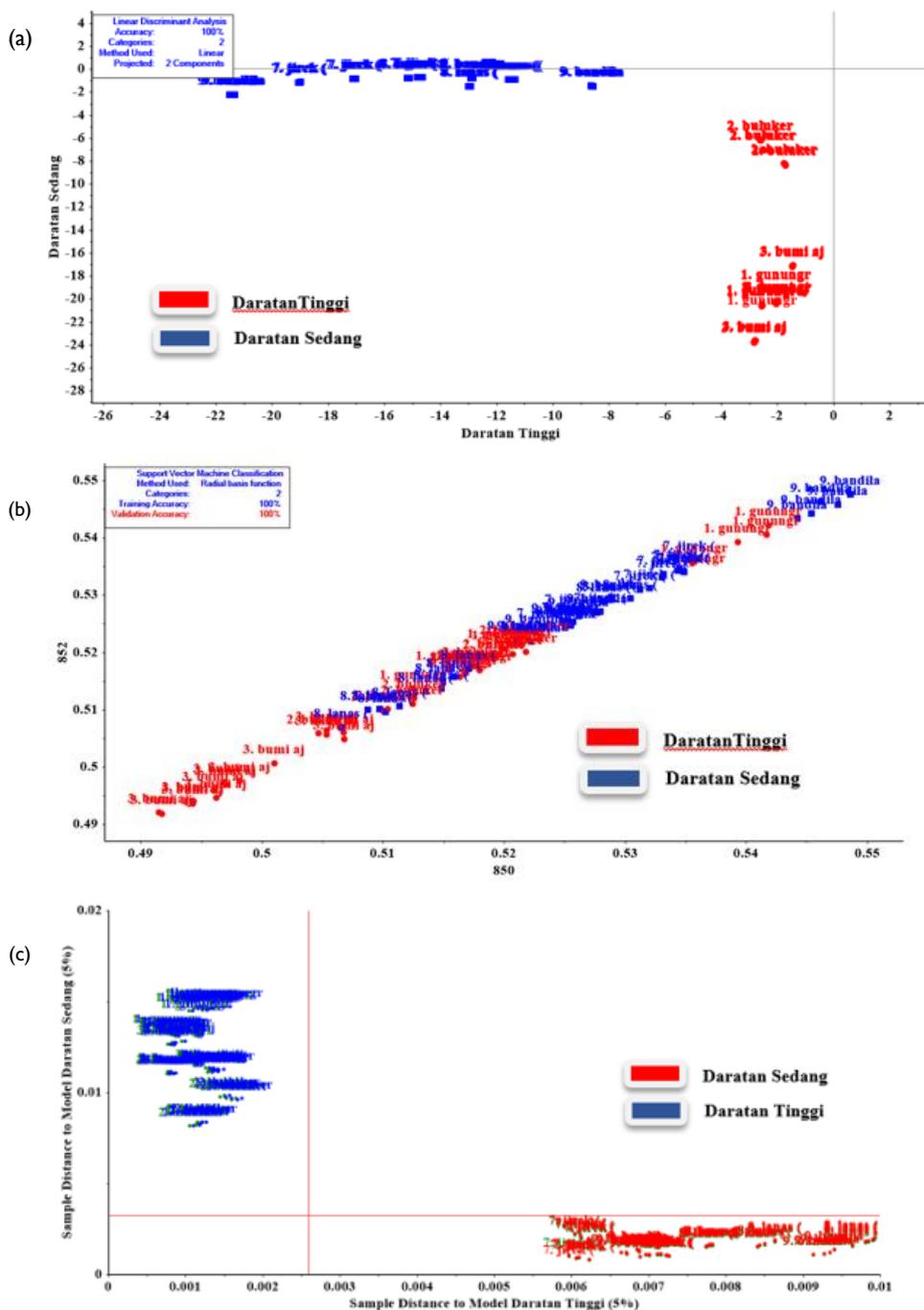
Validasi silang adalah salah satu metode yang banyak digunakan untuk memperkirakan kesalahan dalam prediksi. Terdiri dari beberapa teknik yang digunakan untuk mencapai tujuan statistik dengan memisahkan hasil dan bagian. Satu subset data setiap bagian diambil dan digabungkan hasilnya untuk memastikan kesimpulan dari hasil tersebut valid (Arlot dan Celisse, 2010).

Validasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah LOOCV (*Leave-One-Out-Cross Validation*) dan validasi Eksternal. Validasi dilakukan pada model yang telah memenuhi syarat yaitu dengan tingkat akurasi 100% untuk mengetahui apakah model tersebut dapat di terapkan. Hasil validasi LOOCV model LDA dan SIMCA memiliki nilai akurasi masing-masing 100%, hal ini menunjukkan bahwa model tersebut mampu mengklasifikasikan dan membedakan sampel sesuai dengan kategori yang sebenarnya. Sementara model SVM memiliki nilai akurasi 60%, yang menunjukkan model SVM tidak mampu membedakan dan mengelompokkan seluruh sampel dengan benar sesuai kategori yang ditetapkan.

Hasil validasi eksternal menunjukkan bahwa model LDA dan SIMCA mampu mengklasifikasikan dan membedakan sampel sesuai dengan kategori yang sebenarnya dengan nilai akurasi masing-masing 100%. Model LDA dan SIMCA telah tervalidasi dan selanjutnya diterapkan pada sampel nyata. Hasil dari model LDA dan SIMCA pada sampel nyata yaitu semua sampel nyata dapat terprediksi sesuai dengan klasifikasi yang sebenarnya, masing-masing akurasi untuk LDA dan SIMCA adalah 100%. Hal ini menunjukkan model LDA dan SIMCA dapat digunakan untuk mengklasifikasikan serbuk rimpang jahe emprit tidak hanya pada wilayah sampling tetapi juga pada wilayah diluar sampling.

Kesimpulan

Dari penelitian ini, didapatkan hasil rata-rata kandungan fenolik total rimpang jahe emprit pada dataran sedang adalah 23,592 mg GAE/g serbuk dan dataran tinggi adalah 13,382 mg GAE/g serbuk. Kadar fenolik total rimpang jahe emprit pada dataran sedang dan dataran tinggi menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikansi 0,024. Metode NIR dan kemometrik mampu mengklasifikasikan sampel serbuk rimpang jahe emprit pada dataran sedang dan tinggi dengan nilai akurasi 100% pada model LDA dan SIMCA.



Gambar 4. Hasil Model Klasifikasi LDA (a), SVM (b) dan SIMCA (c)

Daftar Pustaka

Arlot, S. dan A. Celisse. 2010. A survey of cross-validation procedures for model selection. *Statistics Surveys*. 4:40–79.

Gholib. 2008. Uji daya hambat ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Cryptococcus*

neoformans. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.

Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi dan cara penggunaannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3):117.

Hong, F. W. dan K. S. Chia. 2020. A review on recent near infrared spectroscopic measurement setups and *Measurement*. 108732.

- Kemendes RI. 2017. *Keputusan menteri kesehatan republik indonesia nomor hk.01.07/menkes/187/2017 tentang formularium ramuan obat tradisional indonesia*. 1–135.
- Muchlas dan Slameto. 2008. *Teknologi Budidaya Jahe*. Bogor: Agro Inovasi.
- Putri, A. R., M. S. Poku, S. Yani, dan L. Wiyani. 2016. Pengaruh suhu terhadap karakteristik oleoresin pada ekstraksi jahe. *Journal of Chemical Process Engineering*, 1(2):23–29.
- Rostiana, O., N. Bermawie, dan M. Rahardjo. 2005. *Budidaya tanaman jahe*. Edisi 11.
- Rukmana, H. R. 2002. *Usaha Tani Cabai Rawit*. Edisi 1. Yogyakarta: Kanisius.
- Sangadji, I., A. Parakkasi, K. G. Wiryawan, dan B. Haryanto. 2008. Perubahan nilai nutrisi ampas sago selama pada fase pertumbuhan jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) yang berbeda (Change of nutritive values of sago meal at different growth stage of *pleurotus ostreatus*). *Jurnal Ilmu Ternak*. 8(1):31–34.
- Singh, G., I. P. S. Kapoor, P. Singh, C. S. de Heluani, M. P. de Lampasona, dan C. A. N. Catalan. 2008. Chemistry, Antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*. 46(10):3295–3302.
- Stoilova, I., A. Krastanov, A. Stoyanova, P. Denev, dan S. Gargova. 2007. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*. 102(3):764–770.
- Wulandari, L., B. D. Permana, dan N. Kristiningrum. 2020. Determination of total flavonoid content in medicinal plant leaves powder using infrared spectroscopy and chemometrics. *Indonesian Journal of Chemistry*. 20(5):1044–1051.
- Wulandari, L., Kristiningrum, N., & Ratnasari, F. A. (2020). Rapid determination of total phenol in leaf extracts of a medicinal plant using infrared spectroscopy and chemometric methods. *Journal of Analytical Chemistry*, 75(4), 479–486. doi:10.1134/s1061934820040176
- Wulandari, L., R. Idroes, T. R. Novandy, dan G. Indrayanto. 2022. *Profile of Drug Substances, Excipients, and Relate Methodology*. Edisi 1.
- Yulia, M., R. Iriani, D. Suhandy, S. Waluyo, dan C. Sugianti. 2017. Studi penggunaan uv-vis spectroscopy dan kemometrika untuk mengidentifikasi pemalsuan kopi arabika dan robusta secara cepat. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*. 6(1):43–52.
- Yusron, M. J. M, dan E. R. Pribadi. 2005. *Budidaya Tanaman Sambaloto*.