



Identifikasi Komponen Aktif Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*) sebagai Sumber Antioksidan dengan Pendekatan Metabolomik Berbasis HPLC

(Identification of Active Components of Red Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*) as a Source of Antioxidants with HPLC-Based Metabolomics Approach)

Diny Agustini Sandrasari^{a,c}, Nuri Andarwulan^{a,b*}, Didah Nur Faridah^a, Fitriya Nur Annisa Dewi^d

^aDepartemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jalan Lingkar Akademik, Bogor, 16680, Indonesia

^bSoutheast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFASST) Center, Institut Pertanian Bogor
Jalan Ulin 1, Bogor, 16680, Indonesia

^cProgram Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pangan dan Kesehatan, Universitas Sahid, Jakarta
Jalan Prof. Dr. Supomo, SH 84, Jakarta Selatan, 12870, Indonesia

^dPusat Studi Satwa Primata, Institut Pertanian Bogor
Jalan Lodaya II No.5, Bogor, 16151, Indonesia

*Corresponding author: andarwulan@apps.ipb.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.19.1.64737.32-43

Receive 27 August 2022, Accepted 9 December 2022, Published 22 March 2023

Kata kunci:

antioksidan;
HPLC;
jahe merah;
komponen aktif;
metabolomik.

ABSTRAK. Jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*) merupakan tanaman rempah yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional. Penelitian tentang senyawa bioaktif jahe merah telah banyak diteliti, namun penelitian untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif sebagai sumber antioksidan menggunakan pendekatan metabolomik berbasis HPLC belum dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi komponen bioaktif jahe merah sebagai antioksidan dengan pendekatan metabolomik. Profil senyawa kimia dari ekstrak dan fraksi (heksana, kloroform, etil asetat, dan air) dianalisis menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang dilanjutkan dengan analisis metabolomik *Orthogonal Projection to Latent Structure* (OPLS). Hasil uji metabolomik OPLS diperoleh fraksi etil asetat sebagai sampel yang paling berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Sampel ini kemudian diidentifikasi menggunakan UHPLC-MS/MS dan diketahui bahwa komponen bioaktif atau *specific marker* pada jahe merah adalah senyawa [6]-gingerol. Kandungan senyawa [6]-gingerol merupakan senyawa yang paling dominan diikuti oleh 8-gingerol dan 10-gingerol dengan nilai masing-masing secara berurutan adalah $88,61 \pm 0,52$; $23,59 \pm 0,41$; dan $21,85 \pm 0,63$ mg/g ekstrak.

Keywords:

antioxidant;
HPLC;
red ginger;
active component;
metabolomics.

ABSTRACT. Red ginger (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*) is a rhizome used as a traditional medicine. Research on red ginger bioactive compounds has been widely studied but research to identify bioactive compound as source of antioxidant using HPLC-based metabolomic approaches has not been carried out. This study aims to identify the active compound of red ginger as an antioxidant with a metabolomic approach. Chemical profiles of the extracts and fractions (hexane, chloroform, ethyl acetate, and water) were analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC), followed by Orthogonal Projection to Latent Structure (OPLS) metabolomic analysis. The results of the OPLS metabolomic analysis showed that the ethyl acetate fraction is the sample that contributed the most to antioxidant activity. This sample was then identified using UHPLC-MS/MS showing that the bioactive component or specific marker in red ginger was [6]-gingerol. The [6]-gingerol content was the most dominant component, followed by [8]-gingerol and [10]-gingerol with values respectively 88.61 ± 0.52 , 23.59 ± 0.41 , and 21.85 ± 0.63 mg/g extract.

PENDAHULUAN

Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat mencegah dan memperbaiki kerusakan sel-sel dalam tubuh akibat paparan radikal bebas. Antioksidan diketahui dapat mencegah terjadinya reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas. Radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dapat dinetralkan oleh pertahanan dari dalam tubuh sendiri, tetapi seringkali tubuh tidak mempunyai cadangan antioksidan yang mencukupi, sehingga ketika

Cite this as: Sandrasari, D., Andarwulan, N., Faridah, D., & Dewi, F. 2023. Identifikasi Komponen Aktif Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*) sebagai Sumber Antioksidan dengan Pendekatan Metabolomik Berbasis HPLC. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 19(1), 32-43. <https://dx.doi.org/10.20961/alchemy.19.1.64737.32-43>

terpapar radikal bebas dalam jumlah yang besar, maka tubuh memerlukan asupan senyawa yang dapat mencegah reaksi oksidasi dari luar. Konsumsi senyawa tersebut dalam porsi yang sesuai dapat mengurangi resiko terserang penyakit degeneratif akibat stress oksidatif.

Tanaman Indonesia yang mempunyai kandungan antioksidan tinggi adalah Jahe. Jahe merupakan jenis rempah yang berpotensi sebagai sumber antioksidan (Bellik, 2014). Terdapat tiga jenis jahe yang biasa dikonsumsi masyarakat Indonesia yaitu jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*), jahe gajah (*Zingiber officinale* var. *Officinarum*), dan jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). Dari ketiga jenis jahe tersebut, jahe merah merupakan jenis jahe dengan kandungan oleoresin dan minyak atsiri yang paling tinggi serta mempunyai level kepedasan paling tinggi sehingga banyak dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional. Sifat pedas jahe dipengaruhi oleh senyawa fenolik yang merupakan bagian dari komponen oleoresin jahe. Singh *et al.* (2008) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada oleoresin jahe merah paling baik dibandingkan varietas lainnya. Hasil penelitian Bode and Dong (2011) diperoleh hasil bahwa komponen dominan pada jahe segar yang banyak ditemukan adalah gingerol, sedangkan pada jahe yang dikeringkan, kandungan gingerol cenderung mengalami penurunan. Hal tersebut berbanding terbalik dengan kandungan shogaol dimana pada jahe yang dikeringkan jumlah shogaolnya lebih tinggi dibandingkan dengan jahe segar karena shogaol merupakan hasil dekomposisi dari senyawa gingerol. Kandungan gingerol dan shogaol pada jahe merah ditemukan lebih banyak dibandingkan jahe gajah dan jahe emprit dengan rata-rata kandungan gingerol sebesar 23% hingga 25% dan shogaol 18% hingga 25% (Prasad and Tyagi, 2015). Metode pengujian komponen gingerol maupun shogaol paling baik adalah menggunakan metode HPLC dengan kolom *reversed-phase* (RP-18) karena dilihat dari struktur kimia gingerol dan shogaol, kedua senyawa tersebut merupakan senyawa polar sehingga senyawa dengan tingkat polaritas yang lebih rendah akan berinteraksi lebih lama dengan fase diam yang juga bersifat non-polar (Lee *et al.*, 2007; Novelina *et al.*, 2011).

Metabolomik adalah area penelitian yang berfokus pada karakterisasi senyawa metabolit dalam matriks biologis (Krastanov, 2010). Metabolomik adalah metode analisis melalui pendekatan holistik yang dirancang untuk mengatasi kendala dalam penelitian produk hayati (Yuliana *et al.*, 2011). Melalui pendekatan metabolomik, komposisi senyawa bioaktif yang terkandung dalam sel jaringan atau organisme dapat dideteksi secara komprehensif dan kuantitatif (Tugizimana *et al.*, 2019). Selain itu, metabolomik juga dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa *targeted* dan *untargeted* (Sévin *et al.*, 2015; Blasco *et al.*, 2015; Aminudin *et al.*, 2021). Metode metabolomik telah banyak dimanfaatkan untuk menstandarisasi dan mengontrol kualitas produk-produk herbal di dunia. Yeung *et al.* (2018) menemukan bahwa ekstrak teh hitam terfermentasi memiliki 3 profil metabolit yaitu glukosamin, 4-guanidinobutanoat dan asam glutarat. Penelitian menggunakan pendekatan metabolomik, menghasilkan data multidimensi seperti panjang gelombang, waktu retensi, dan konsentrasi senyawa yang diperoleh dari ekstrak atau fraksi. Oleh karena itu, analisis statistik multivariat perlu dilakukan untuk memproses kumpulan data yang kompleks tersebut (Aminudin *et al.*, 2021). Salah satu analisis data multivariat yang berkembang saat ini dan telah banyak digunakan untuk mengetahui adanya hubungan antara waktu retensi dengan aktivitas antioksidan adalah *Orthogonal Projection to Latent Structure* (OPLS). Analisis OPLS merupakan analisis multivariat yang banyak diaplikasikan pada penelitian metabolomik yang didalamnya mempelajari hubungan antara profil kimia bioaktif dan bioaktivitas ekstrak tumbuhan (Yuliana *et al.*, 2011; Aminudin *et al.*, 2021).

Pada penelitian metabolomik, teknik pengujian menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) yang dikombinasi dengan uji statistik multivariat digunakan untuk mengetahui profil metabolit seperti senyawa antibakteri dari ekstrak bunga kecombrang (Maser *et al.*, 2017), komposisi senyawa fenol pada kulit citrus kering (Choi *et al.*, 2011), komponen bioaktif daun torbangun (Yulianto *et al.*, 2017), dan senyawa antioksidan dari rumput kebar (Aminudin *et al.*, 2021). Demikian juga dengan penelitian-penelitian terhadap senyawa bioaktif jahe merah telah banyak diteliti, namun riset untuk mengetahui adanya korelasi antara aktivitas antioksidan dengan senyawa bioaktif dalam jahe merah menggunakan pendekatan metabolomik berbasis HPLC belum dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komponen bioaktif yang terdapat dalam jahe merah sebagai sumber antioksidan melalui pendekatan metabolomik menggunakan HPLC.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan bahan uji seperti jahe merah segar berumur 9-10 bulan yang diperoleh dari Desa Nagrak, Sukabumi. Bahan kimia seperti etanol 80%, n-heksana, kloroform, etil asetat, Folin-Ciocalteu, natrium karbonat (Na_2CO_3) 20%, dan asetonitril diperoleh dari Merck, Germany. Reagen DPPH (*1,1 diphenyl,2 picrylhydrazyl*), asam galat dan asam askorbat (Sigma Aldrich, Germany). Alat yang digunakan adalah oven

(Memmert®), *freeze dryer* (Labconco, Missouri 64132), vortex (ZX-3), sonikator (Branson 3510), *rotary evaporator* (Buchi, Interface I-300 Pro), inkubator 37 °C (Memmert®), HPLC Perkin Elmer Series 200, detektor UV-VIS 785A dengan jenis kolom C18, 4 µm, 150 × 3,9 mm, dan *software* SIMCA (v.14.01), UHPLC *Vanquish Tandem Q Exactive Plus Orbitrap HRMS* (ThermoScientific) dengan kolom C18, 100 × 2,1 mm; 1,5 µm (ThermoScientific).

Persiapan Sampel dan Ekstraksi

Jahe merah disortasi, dicuci, dikeringkan menggunakan *freeze dryer* selama 72 jam. Jahe yang telah kering selanjutnya dihaluskan kemudian diayak dengan ayakan 30 mesh sehingga diperoleh bubuk jahe kering. Ekstraksi dilakukan dengan menimbang sebanyak 20 g bubuk jahe merah dan ditambahkan 200 mL etanol 80% kemudian dicampur selama 20 menit menggunakan *shaker* dengan kecepatan 125 rpm. Campuran disonikasi selama 50 menit lalu disentrifugasi pada putaran 2000 rpm. Ekstrak selanjutnya disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu pemanasan 40 °C hingga didapatkan ekstrak etanol kering jahe merah.

Fraksinasi

Pada penelitian ini, proses fraksinasi dilakukan secara bertingkat menggunakan pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda yang diawali dari pelarut non polar hingga polar yaitu n-heksana, kloroform, etil asetat dan air. Fraksinasi dengan pelarut non polar seperti n-heksana dan kloroform dimaksudkan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat non polar seperti steroid dan terpenoid yang terdapat pada ekstrak jahe merah. Penggunaan etil asetat sebagai pelarut yang bersifat semi polar bertujuan untuk mengikat senyawa-senyawa yang bersifat polar ataupun non polar seperti golongan polifenol maupun flavonoid. Sedangkan air yang bersifat polar akan menarik senyawa-senyawa polar seperti golongan fenol yang terdapat dalam ekstrak jahe merah. Sebanyak 9 g ekstrak etanol dicampur dengan 225 mL akuades, dicampur dan disonikasi selama 30 menit. Fraksinasi pertama dengan menambahkan pelarut n-heksana ke dalam campuran dalam corong pemisah, dikocok selama 5 menit kemudian didiamkan hingga terjadi pemisahan antara fraksi polar dan non polar. Fraksi non polar dipisahkan kemudian fraksi polar difraksinasi kembali secara berurut dengan menggunakan pelarut kloroform, etil asetat, dan air. Masing-masing fraksi yang diperoleh selanjutnya dikeringkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Analisis Nilai Total Fenol

Nilai total fenol dianalisis menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu metode spektrofotometri mengacu pada [Sharif and Bennett \(2016\)](#). Ekstrak etanol jahe merah dicampur dengan Folin-Ciocalteu. Setelah 5 menit, natrium karbonat (Na₂CO₃) 20% ditambahkan dan campuran disimpan selama 90 menit dalam suhu ruang. Absorbansi campuran diukur pada 760 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan asam galat dan kandungan total fenol dinyatakan dalam mg asam galat equivalen (GAE) per gram ekstrak.

Kandungan Flavonoid Total

Kandungan total flavonoid ditentukan menggunakan metode aluminium kolorimetri ([Chang et al., 2002](#); [Stankovic \(2011\)](#)) dengan sedikit modifikasi menggunakan kuersetin sebagai standar ([Iqbal et al., 2015](#)). Kurva kalibrasi kuersetin disiapkan pada kisaran 0 sampai 200 µg/mL. Ekstrak etanol tanaman indigenos dan larutan standar dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Sebanyak 0,1 ml aluminium klorida 10%; 0,1 mL potasium asetat (1M); 1,5 ml MeOH 80%; dan 2,8 mL akuades dimasukkan ke dalam masing-masing tabung dan diaduk. Semua tabung diinkubasi disuhu kamar selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 415 nm. Konsentrasi flavonoid dinyatakan dalam mg kuersetin (QE)/g ekstrak.

Pengujian Kadar Gingerol dan Shogaol

Pengujian senyawa [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol dan [6]-shogaol ekstrak jahe merah mengacu pada penelitian [Lee et al. \(2007\)](#). Ekstrak jahe merah dalam keadaan homogen ditimbang kemudian dimasukkan kedalam labu takar. Metanol sebanyak 10 mL ditambahkan ke dalam labu takar kemudian disonikasi selama 10 menit kemudian ditera hingga tanda batas menggunakan metanol. Penyaringan dilakukan menggunakan membran filter ukuran 0,45 µm lalu dimasukkan ke dalam vial.

Persiapan Larutan Standar [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol dan [6]-shogaol

Masing-masing standar [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol dan [6]-shogaol dilarutkan dengan metanol dalam labu takar berukuran 5 mL untuk memperoleh larutan stok 2000 ppm. Larutan standar [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol dan [6]-shogaol dengan konsentrasi 500 ppm disiapkan untuk memperoleh *single retention time* dengan cara mencampur larutan stok sebanyak 0,25 mL dengan 0,75 mL metanol kemudian diaduk hingga homogen. Larutan disaring menggunakan filter berukuran 0,45 μm . Standar [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol dan [6]-shogaol ditutup dan disimpan pada dalam refrigerator pada suhu 4 °C hingga saat digunakan.

Uji Aktivitas Antioksidan.

Aktivitas antioksidan diuji menggunakan larutan DPPH. Larutan stok 1000 $\mu\text{g/mL}$ dibuat dengan cara menimbang sampel ekstrak dan fraksi lalu dilarutkan dalam etanol, selanjutnya dibuat berbagai konsentrasi (25, 50, 100, 150, dan 200 $\mu\text{g/mL}$). Masing-masing ekstrak selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 500 μL larutan DPPH 1 mM dalam EtOH kemudian ditera hingga 2 mL untuk selanjutnya disimpan pada suhu 37 °C selama 30 menit. Nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Data nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung % inhibisi. Konsentrasi ekstrak dan nilai % inhibisi diplotkan untuk memperoleh kurva inhibisi. Kurva tersebut menghasilkan persamaan regresi linier $y = bx + a$. Perhitungan % inhibisi dan nilai IC_{50} dihitung masing-masing menggunakan persamaan regresi yang ditunjukkan dalam [Persamaan \(1\) dan \(2\)](#).

$$\% \text{ inhibisi DPPH} = \frac{(A-B)}{A} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{50-a}{b} \quad (2)$$

Keterangan:

- A = nilai absorbansi kontrol
- B = nilai absorbansi ekstrak etanol jahe merah
- a = nilai intersep dari persamaan regresi linier
- b = nilai kemiringan (*slope*) dari persamaan regresi linier

Analisis Profil Komponen Bioaktif Ekstrak/Fraksi Jahe Merah dengan HPLC

Analisis profil kimia ekstrak dan fraksi komponen bioaktif jahe merah menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC *Agilent Technologies*, multi detektor panjang gelombang dengan kolom C18 (5 m, 150 \times 4,6 mm). Analisis profil kimia komponen bioaktif jahe merah mengacu pada [Andarwulan *et al.* \(2010\)](#) dan [Aminudin *et al.* \(2021\)](#) dengan sedikit modifikasi. Adapun kondisi HPLC mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh [Lee *et al.* \(2007\)](#) dan [Novelina *et al.* \(2011\)](#). Sampel ekstrak dan fraksi dilarutkan dalam metanol, kemudian disaring dengan membran regenerasi 0,45 m. Sebanyak 40 μL filtrat diinjeksikan ke dalam HPLC dan diukur menggunakan 5 panjang gelombang 250 nm, 260 nm, 270 nm, 280 nm, dan 290 nm. HPLC dioperasikan pada suhu ruang dengan laju alir 1 mL/menit. Gradiasi fase gerak yang digunakan mengacu pada penelitian [Lee *et al.* \(2007\)](#) dan [Rahmadani *et al.* \(2018\)](#) dengan fase gerak asetonitril (A) dan air (B) yaitu menit ke-0 (40% A), menit ke-10 (40% A), menit ke-40,5 (100% A), menit ke-45 (100% A), menit ke-45,5 (40% A), dan menit ke-50 (40% A). Data hasil kromatogram HPLC yang dikumpulkan adalah waktu retensi (RT, min) dan luas area (mAU.s). Data HPLC ini yang merupakan komponen bioaktif ekstrak/fraksi jahe merah selanjutnya digunakan dalam analisis metabolomik dengan model OPLS.

Pengolahan Data dengan Metabolomik

Pengolahan data dengan metabolomik pada penelitian ini mengacu pada [Aminudin *et al.* \(2021\)](#). Model metabolomik yang digunakan sebagaimana diilustrasikan oleh [Worley and Powers \(2013\)](#) yaitu matriks X adalah data informasi hasil pengujian profil kimia dan matriks Y adalah data aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi jahe merah yang dinyatakan dalam IC_{50} .

Data komposisi kimia yang didapat dari kromatogram HPLC dalam penelitian ini adalah sebanyak 75 sampel. Data tersebut dinormalisasi dan diskalakan menggunakan metode Pareto. Data dianalisis dengan OPLS menggunakan *software* SIMCA 14.1. Model dideskripsikan dengan akurasi model kriteria, $R^2Y > 0,65$ dan akurasi

prediksi, $Q^2Y > 0,50$ (Eriksson *et al.*, 2013 dan Mabuchi *et al.*, 2019). Validasi model OPLS terpilih dilakukan menggunakan CV Score yang dilanjutkan dengan uji permutasi.

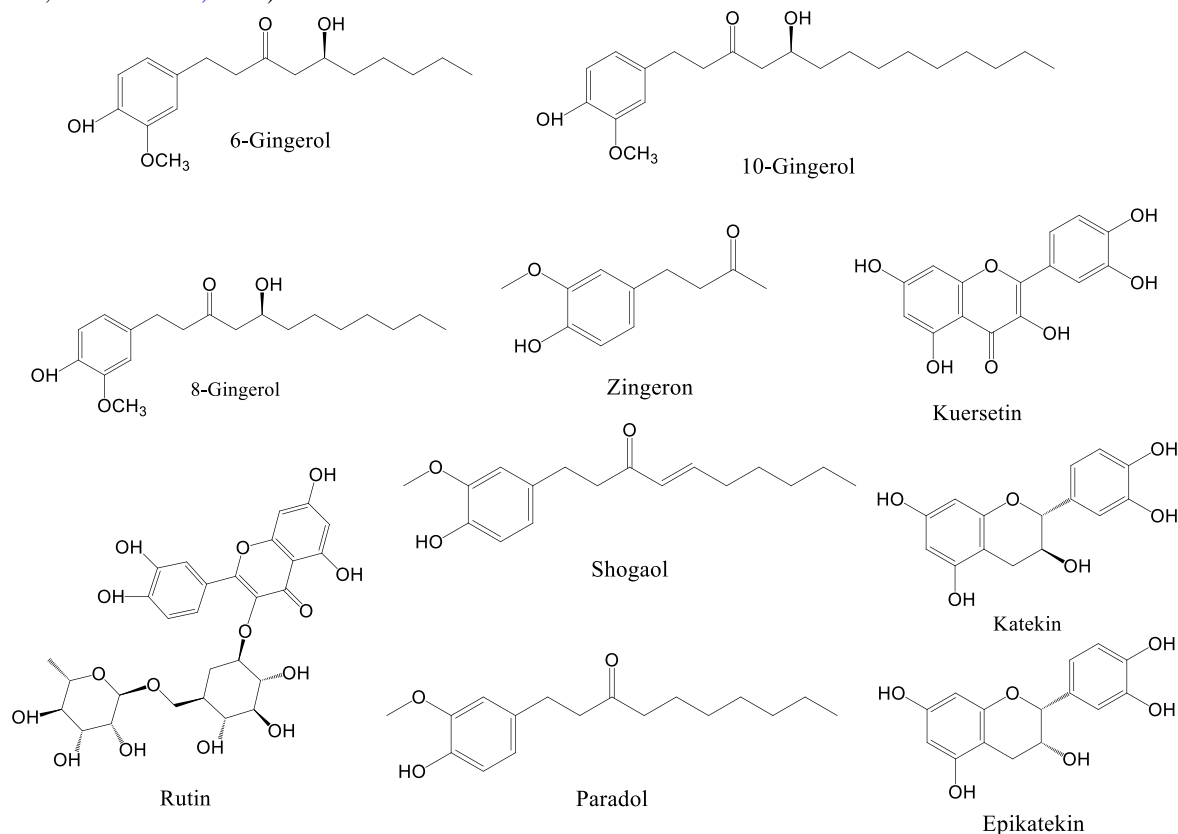
Hasil OPLS yang dapat digunakan untuk menginterpretasikan data antara lain *score plot* dan *Y-related coefficient plot*. Model analisis OPLS yang digunakan dalam penelitian ini adalah *score scatter plot* dan *score plot* (S-plot). *Score plot* pada OPLS digunakan untuk mengelompokkan sampel berdasarkan karakteristik aktivitas antioksidan dari matriks Y. *Score plot* menghasilkan pemisahan sampel berdasarkan kuadran sehingga sampel tertentu dengan skor tertentu akan terpisah dengan baik dengan kriteria nilai $p(\text{corr}) > 0,50$ (Black *et al.*, 2017). Kuadran yang diidentifikasi untuk aktivitas antioksidan (IC_{50}) adalah kuadran tiga. Berdasarkan dua atribut analisis kriteria model OPLS akan diperoleh satu sampel yang dianggap paling dominan aktivitas antioksidannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Senyawa Fenol dan Flavonoid

Hasil pengujian ekstrak dan fraksi jahe merah sebagaimana disajikan pada Tabel 1 menunjukkan sampel dengan kandungan fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dari yang tertinggi hingga terendah yaitu fraksi etil asetat, ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi heksan, dan fraksi air. Fraksi etil asetat merupakan fraksi dengan aktivitas antioksidan terkuat. Etil asetat adalah reagen semi polar sehingga dapat menarik senyawa polar dan non polar (Baki and Alexander, 2015).

Senyawa gingerol, shogaol, paradol dan zingeron merupakan senyawa fenolat yang terdapat dalam jahe merah (Li *et al.*, 2016) sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1. Senyawa fenolat merupakan senyawa yang bersifat polar (Apak *et al.*, 2007). Struktur senyawa fenolat mempunyai *tail* hidrokarbon yang cukup panjang sehingga menyebabkan senyawa fenolat dalam jahe merah memiliki polaritas yang rendah (Siswando *et al.*, 2000; Pratoko *et al.*, 2018).



Gambar 1. Senyawa-senyawa fenolik dan flavonoid yang terdapat pada jahe merah.

Jahe merah mengandung senyawa flavonoid yang berupa aglikon flavonoid dan glikosida flavonoid. Aglikon flavonoid yang terdapat pada jahe merah terdiri dari kuersetin, rutin, katekin, dan epikatekin. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol yang bersifat kurang polar atau semi polar. Sedangkan senyawa glikosida flavonoid adalah flavonoid yang aglikonnya terikat dengan satu atau lebih gugus gula. Terikatnya gula pada flavonoid menyebabkan senyawa flavonoid tersebut menjadi kurang reaktif dan lebih larut

dalam pelarut polar. Oleh karena itu, glikosida flavonoid memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi daripada aglikonnya. Salah satu glikosida flavonoid yang terdapat pada jahe merah adalah rutin. Adanya gugus 3-O-glikosida pada rutin menjadikan rutin bersifat lebih polar dibanding kuersetin (Heim *et al.*, 2002). Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat agak polar hingga agak non polar. Dengan demikian tidak menutup kemungkinan pelarut etil asetat dapat menarik rutin yang bersifat agak polar (Andersen and Marukam, 2006). Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Chavan and Amarowicz (2013) yang menyatakan bahwa pada pelarut yang bersifat semi-polar ditemukan kandungan senyawa fenolik yang lebih banyak dibandingkan dengan pelarut polar.

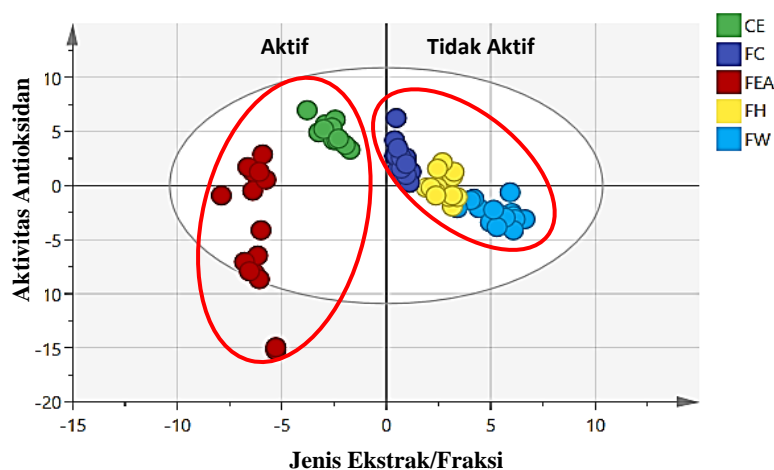
Tabel 1. Kandungan senyawa fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi jahe merah.

Sampel	Kandungan Senyawa		Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀)
	Fenolik (mg GAE/g ekstrak)	Kandungan Flavonoid (mg QE/g ekstrak)	
Ekstrak etanol	196,73 ± 6,93	55,82 ± 2,90	40,49 ± 0,43
Fraksi heksana	160,13 ± 5,16	23,63 ± 3,66	69,89 ± 0,43
Fraksi kloroform	175,07 ± 6,15	36,19 ± 2,21	58,31 ± 0,94
Fraksi etil asetat	219,17 ± 6,78	75,66 ± 2,17	24,20 ± 0,60
Fraksi air	35,18 ± 2,50	15,92 ± 2,71	83,08 ± 0,97

Aktivitas Antioksidan

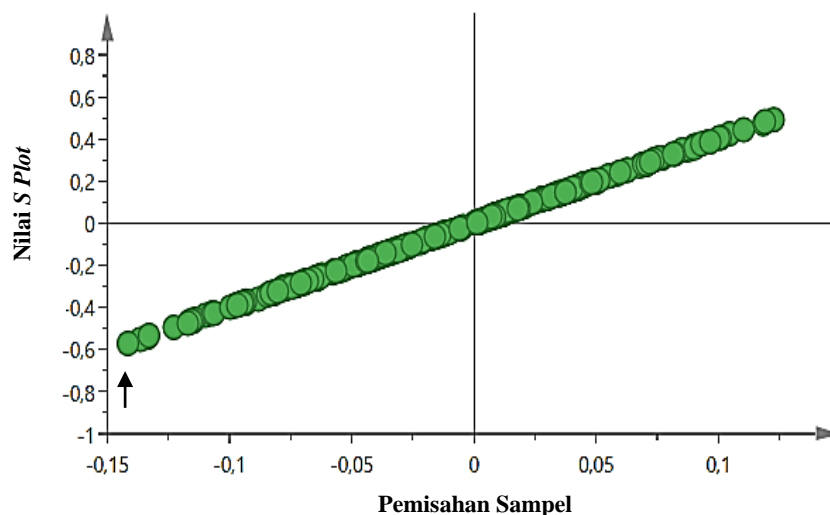
Penetapan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam IC₅₀ dilakukan menggunakan metode DPPH. Data pada Tabel 1 memperlihatkan sampel yang memiliki aktivitas antioksidan mulai dari yang terkuat hingga terlemah secara berurut yaitu fraksi etil asetat, ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi heksana, dan fraksi air. Suatu senyawa dapat disebut sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 50, kuat antara 50 sampai 100, sedang antara 100 sampai 150, dan dikatakan lemah jika nilai IC₅₀ antara 151 hingga 200. Nilai IC₅₀, yang semakin rendah menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Badarinath *et al.*, 2010). Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak jahe merah merupakan fraksi yang mempunyai aktivitas antioksidan paling kuat (Suciyanti *et al.*, 2017; Pratoko *et al.*, 2018). Kaban *et al.* (2016) menyatakan bahwa fraksi etil asetat ekstrak jahe merah mempunyai nilai IC₅₀ yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak ataupun fraksi lainnya. Hal yang sama juga ditunjukkan pada fraksi etil asetat *Alpinia phahangensis* (Phang *et al.*, 2013); buah berenuk (Das *et al.*, 2014); dan ekstrak bunga *Halimium halimifolium* (Rebaya *et al.*, 2015) juga menunjukkan fraksi etil asetat dari masing-masing tanaman tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya. Dalam penelitian ini, metode fraksinasi yang digunakan adalah metode fraksinasi bertingkat menggunakan reagen mulai dari yang non-polar, semi polar, hingga polar. Senyawa aktif dalam ekstrak yang bersifat semi polar cenderung lebih tertarik pada pelarut etil asetat yang bersifat semi polar. Dengan demikian, etil asetat akan menarik lebih banyak senyawa aktif semi polar sehingga aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat cenderung lebih kuat dibandingkan dengan pelarut lainnya.

Identifikasi Komponen Bioaktif Ekstrak Jahe Merah dengan Pendekatan Metabolomik



Gambar 2. Kurva OPLS Score plot aktivitas antioksidan ekstrak etanol (CE), fraksi heksana (FH), fraksi kloroform (FC), fraksi etil asetat (FEA), fraksi air (FA).

Tahap awal dari proses metabolomik adalah mengamati pemisahan pada sampel berdasarkan aktivitas antioksidannya. Pemisahan ini dilakukan dengan menggunakan *score scatter plot*. Pada metode OPLS, *score plot* digunakan untuk mengklasifikasikan sampel yang didasarkan pada hasil data matriks Y yaitu aktivitas antioksidan. Black *et al.* (2017) menyatakan bahwa pemisahan yang baik ditentukan setidaknya satu variabel yang memiliki koefisien korelasi S-plot ($I_p(\text{corr})L$) > 0,50 dengan nilai signifikansi S-plot (I_pI) > 0,03 dan dengan nilai kriteria model $R^2Y > 0,5$ dan prediksi $Q^2Y > 0,4$ (Mehmood *et al.*, 2012; Alexander *et al.*, 2015; Aminudin *et al.*, 2020). Pada Gambar 2 terlihat sampel aktif yaitu ekstrak etanol dan fraksi etil asetat terpisah dengan baik dari sampel yang tidak aktif (fraksi *n*-heksana, kloroform, dan air). Terjadinya pemisahan yang baik antara sampel yang mempunyai aktivitas tinggi dan aktivitas rendah menunjukkan bahwa metode OPLS dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari senyawa aktifnya.

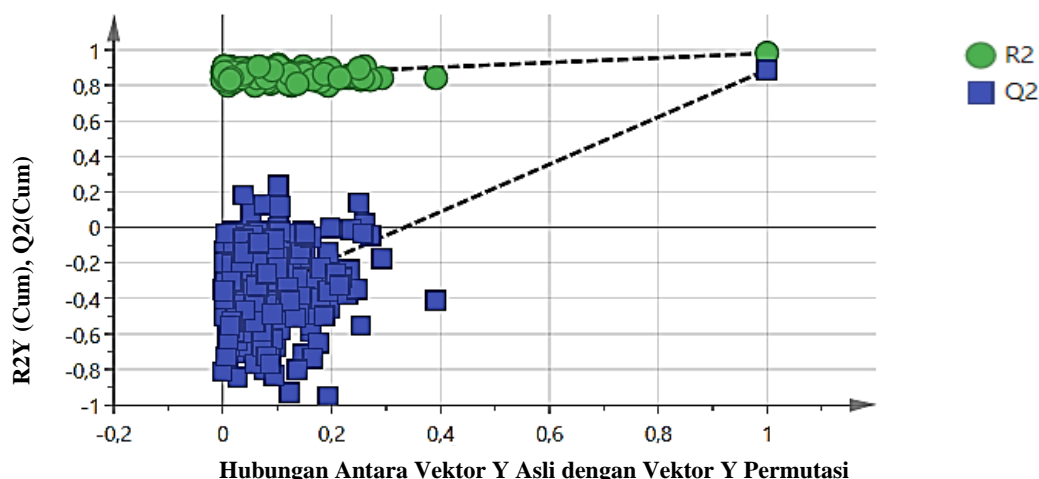


Gambar 3. Grafik S-plot dimana terdapat satu variabel dengan nilai S-plot ($I_p(\text{corr})I = 0,569$).

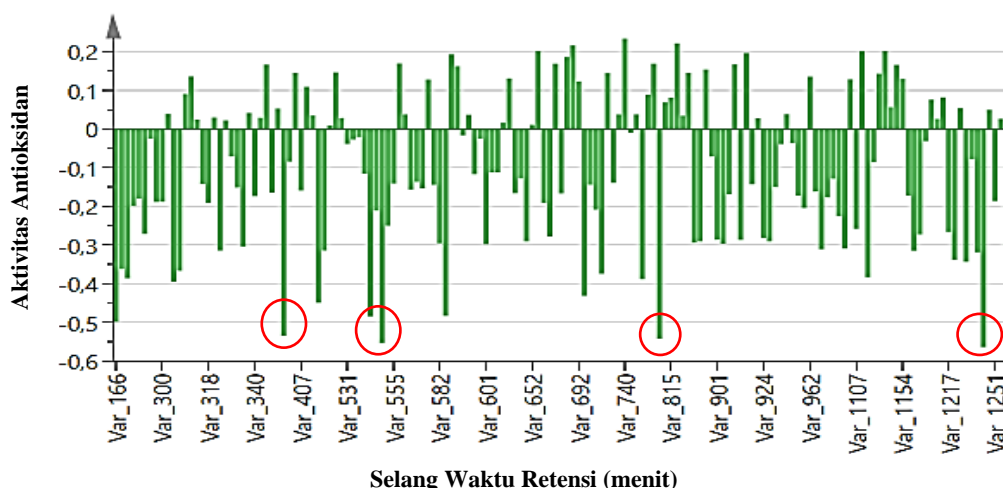
Nilai R^2Y dan Q^2Y digunakan untuk mengetahui ketepatan model OPLS. Nilai R^2Y adalah banyaknya variabel Y yang dinyatakan dalam model dan peninjauan keselarasan model, sedangkan Q^2Y merupakan hasil validasi silang dan pengukuran secara kuantitatif antara hasil prediksi dengan data sesungguhnya. Nilai R^2Y yang dihasilkan pada model ini adalah sebesar 0,981 sedangkan nilai Q^2Y adalah 0,89. Model yang dapat diterima harus memiliki nilai R^2Y dan Q^2Y yang berada pada kisaran 0,5 – 1. Kedua nilai pada model OPLS ini berada pada kisaran 0,5 – 1 sehingga model yang diperoleh merupakan model yang sesuai (Eriksson *et al.*, 2006).

Kurva S-plot digunakan untuk menjelaskan *score plot* yaitu untuk mengetahui waktu retensi yang dominan pada sampel yang aktif dan yang tidak aktif. Posisi waktu-waktu retensi tersebut bersesuaian dengan sampel pada *score plot*. Dalam penelitian ini, semakin ke kiri maka sampel semakin aktif. Dengan demikian, waktu retensi yang dominan pada sampel yang aktif adalah waktu retensi yang terletak disebelah kiri S-plot (tanda panah) sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 3.

Menurut Worley and Powers (2013), tahapan validasi sangat diperlukan untuk memastikan nilai reabilitas dari model. Pada penelitian ini, validasi dilakukan menggunakan CV ANOVA dan uji permutasi. Metode validasi CV ANOVA dalam penelitian menghasilkan nilai p sebesar 0,015. Nilai tersebut lebih rendah dibandingkan dengan nilai p maksimum yang dapat diterima yaitu $p < 0,05$. Dengan demikian, model yang diperoleh memiliki reliabilitas yang baik (Eriksson *et al.*, 2006). Sejalan dengan CV ANOVA, uji permutasi menghasilkan nilai intersep $R^2 = 0,851$ dan $Q^2 = -0,445$. Menurut Mabuchi *et al.* (2019) respon uji permutasi dianggap baik jika nilai intersep dari permutasi berada di bawah model OPLS dan intersep prediksi Gambar 4. Nilai *Y related coefficient plot* merupakan nilai yang menjelaskan korelasi antara waktu retensi dan aktivitas antioksidan dimana nilai yang lebih tinggi dari 0,5 memperlihatkan adanya korelasi yang signifikan antara waktu retensi dan aktivitas antioksidan (Eriksson *et al.*, 2001). Pada penelitian ini, *Y related coefficient plot* menunjukkan bahwa pada selang waktu retensi 10,88; 24,75; 33,32; dan 43,44 menit berkorelasi signifikan dengan aktivitas antioksidan masing-masing sebesar $-0,535$; $-0,553$; $-0,569$; $-0,588$. Korelasi yang bernilai negatif menunjukkan kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam IC_{50} dimana semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan kekuatan penghambatan yang semakin tinggi.



Gambar 4. Validasi model OPLS dengan plot permutasi berdasarkan aktivitas antioksidan dengan nilai $R^2Y = 0,851$ dan $Q^2Y = -0,445$.



Gambar 5. *Y related coefficient* plot pada selang waktu 10,88; 24,75; 33,32 dan 43,44 menit terhadap aktivitas antioksidan. Nilai koefisien relatif *Y* negatif menyatakan selang waktu retensi berkorelasi terhadap aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas DPPH.

Pada **Gambar 5**, setidaknya terdapat 4 senyawa dengan selang waktu retensi 10,88; 24,75; 33,32; dan 43,44 yang berkorelasi signifikan dengan aktivitas antioksidan. Nilai tersebut ditunjukkan dengan nilai *Y related coefficient* masing-masing adalah 0,535; 0,553; 0,569; dan 0,588. Nilai yang berada pada selang waktu retensi tersebut merupakan puncak-puncak target yang diduga sebagai komponen aktif. Puncak ekstrak dan fraksi yang dominan diidentifikasi menggunakan *X varian plot*. Pada penelitian ini diperoleh hasil nilai *S-plot* ($I_p(\text{corr})I$) sebesar 0,569. Nilai tersebut lebih tinggi dari 0,50 sehingga dapat diasumsikan bahwa sampel-sampel tersebut merupakan sampel yang paling signifikan dalam aktivitas antioksidan. Mengacu pada hasil pengujian menggunakan masing-masing standar, terkonfirmasi bahwa senyawa tersebut adalah [6]-gingerol, [8]-gingerol, [6]-shogaol, dan [10]-gingerol. Sampel-sampel tersebut selanjutnya diidentifikasi menggunakan UHPLC-MS/MS dan teridentifikasi senyawa yang paling dominan mempunyai nilai m/z 277 dengan rumus molekul $C_{17}H_{26}O_4$. Senyawa tersebut adalah [6]-gingerol Waktu retensi yang berbeda dapat diakibatkan oleh interaksi antara senyawa dengan fase diam yang digunakan. Fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah kolom C18 dengan sifat nonpolar sehingga senyawa dengan sifat polar akan lebih dulu terelusi, sementara senyawa yang sifatnya nonpolar

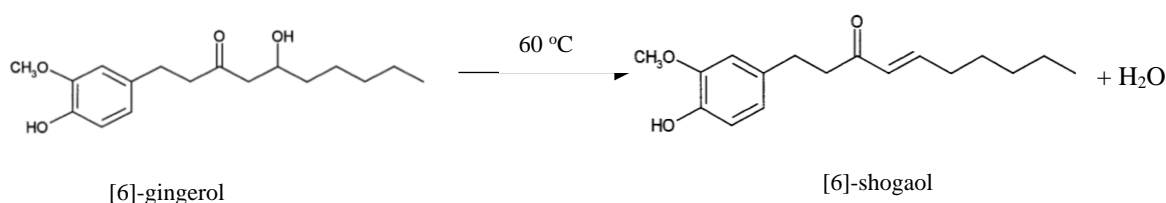
akan lebih lama tertahan di fase diam seperti senyawa [10]-gingerol yang memiliki waktu retensi terbesar diantara senyawa lainnya (Yeung *et al.*, 2018).

Tabel 2. Kandungan [6]-, [8]-, [10]-gingerol dan [6]-shogaol.

Senyawa	Kadar (mg/g ekstrak)	Kadar (mg/g bubuk)	Referensi (mg/g bubuk)*
[6]-gingerol	88,61 ± 0,52	14,68	12,23
[8]-gingerol	23,587 ± 0,41	3,69	1,54
[10]-gingerol	21,85 ± 0,63	3,42	2,29
[6]-shogaol	9,64 ± 0,51	1,51	3,02

*Sumber: Rafi *et al.* (2013)

Berdasarkan data Tabel 2 diketahui bahwa kandungan [6]-gingerol mempunyai nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan [8]-gingerol, [10]-gingerol, dan [6]-shogaol. Kelimpahan tertinggi ditunjukkan oleh [6]-gingerol yaitu 88,61 mg/g ekstrak atau 14,68 mg/g bubuk jahe. Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan Raffi *et al.* (2013) dimana kandungan [6]-gingerol paling tinggi dibanding senyawa lainnya (Tabel 2). Hasil penelitian lain juga menyatakan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak jahe merah merupakan turunan fenol, yaitu [6]-gingerol (Kimura *et al.*, 2005; Shukla and Singh, 2006). Gingerol pada jahe bertindak sebagai pembawa rasa pedas. Berdasarkan rantai cabangnya, senyawa gingerol dibedakan menjadi [6]-, [8]-, dan [10]-gingerol, namun senyawa yang paling banyak ditemukan adalah [6]-gingerol. Senyawa shogaol dalam penelitian ini dihasilkan dari perubahan gingerol menjadi shogaol seperti ditunjukkan pada Gambar 6, akibat adanya reaksi dehidrasi selama pemanasan atau penyimpanan (Nwaoha *et al.*, 2013). Senyawa [6]-gingerol akan terdekomposisi menjadi [6]-shogaol pada suhu 60 °C.



Gambar 6. Perubahan [6]-gingerol menjadi [6]-shogaol.

KESIMPULAN

Nilai aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat yang dinyatakan dalam IC₅₀ merupakan sampel yang mempunyai aktivitas terkuat diikuti dengan ekstrak etanol, fraksi kloroform, fraksi heksana dan fraksi air. Senyawa aktif dari ekstrak dan fraksi jahe merah yang berperan sebagai sumber antioksidan dapat diidentifikasi menggunakan pendekatan metabolomik berbasis HPLC. Hasil identifikasi komponen aktif pada jahe merah dengan metode OPLS menunjukkan bahwa senyawa [6]-gingerol merupakan senyawa aktif yang dominan terdapat dalam jahe merah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis berterimakasih pada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi, Republik Indonesia yang telah memberikan dana melalui dana Hibah Disertasi Doktor guna penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, D. L., Tropsha, A., and Winkler, D. A., 2015. Beware of R2: Simple, Unambiguous Assessment of the Prediction Accuracy of QSAR and QSPR Models. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55(7), 1316–1322. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00206>.
- Aminudin A., Andarwulan N., Palupi S.N., and Arifiantini R.I., 2021. Identification of Antioxidant Bioactive Compounds as Potential Functional Food Ingredient from Kebar Grass (*Biophytum petersianum*) by Metabolomik Approach. *Food Science and Technology*, 12(2), 178–185. <https://doi.org/10.1590/fst.71520>.

- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D. A., Bolling, B., and Wijaya, H., 2010. Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*, 121(4), 1231–1235. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.033>.
- Andarwulan, N., Kurniasih, D., Apriady, R., Rahmat, H., Roto, A., and Bolling, B., 2012. Polyphenols, Carotenoids, and Ascorbic Acid in Underutilized Medicinal Vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 339–347. <http://10.1016/j.jff.2012.01.003>.
- Andersen, O. V., and Marukam, K. R., 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Application*. Boca Ranton: Taylor and Francis Group.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S.E., Bektaşoğlu, B., Işıl Berker, K., and Özyurt, D., 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12, 1496–1547. <https://doi.org/10.3390/12071496>
- Baki, G. and Alexander, K. S., 2015. *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*. New Jersey: John Wiley Publisher.
- Badarinath A.V., Rao K., Chetty, C.S., Ramkanth, S., Rajan T.V.S., and Gnanaprakash, K., 2010. A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1276–1285.
- Bellik, Y., 2014. Total Antioxidant Activity and Antimicrobial Potency of The Essential Oil and Oleoresin of Zingiber Officinale Roscoe. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(1), 40–44. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60311-X](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60311-X).
- Black, C., Chevallier, O. P., Haughey, S. A., Balog, J., Stead, S., Pringle, S. D., Riina, M. V., Martucci, F., Acutis, P. L., Morris, M., Nikolopoulos, D. S., Takats, Z., and Elliott, C. T., 2017. A Real Time Metabolomik Profiling Approach to Detecting Fish Fraud Using Rapid Evaporative Ionisation Mass Spectrometry. *Metabolomiks*, 13(12), 153. <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1291-y>.
- Blasco, H., Blaszczyński, J., Billaut, J. C., Nadal-Desbarats, L., Pradat, P. F., Devos, D., Moreau, C., Andres, C. R., Emond, P., Corcia, P., and Słowiński, R., 2015. Comparative Analysis of Targeted Metabolomiks: Dominance-Based Rough Set Approach Versus Orthogonal Partial Least Square-Discriminant Analysis. *Journal of Biomedical Informatics*, 53, 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2014.12.001>.
- Bode A, and Dong Z., 2011. The Amazing and Mighty Ginger, in: Benzie, I., WachtelGalor, S. (Eds.) *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b10787-8>.
- Chang, C.C, Yang, M.H., Wen, H.M., and Chern, J.C., 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.
- Choi, M.Y., Chai, C., Park, J.H., Lim, J., Lee J., Kwon, S.W., 2011. Effects of storage period and heat treatment on phenolic compound composition in dried *Citrus* peels (Chenpi) and discrimination of Chenpi with different storage periods through targeted metabolomic study using HPLC-DAD analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54(4), 638–645. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.09.036>
- Chavan, U. D. and Amarowicz, R., 2013. Effect of Various Solvent Systems on Extraction of Phenolics, Tannins and Sugars From Beach Pea (*Lathyrus maritimus* L.). *International Food Research Journal*, 20(3), 1139–1144.
- Das, N., M. E. Islam, N. Jahan, M. S. Islam, A. Khan, M. R. Islam, and M. S. Parvin., 2014. Antioxidant Activities of Ethanol Extracts and Fractions of *Crescentia cujete* Leaves and Stem Bark and The Involvement of Phenolic Compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-45>.
- Eriksson, L., Byrne, T., Johansson, E., Trygg, J., and Vikstrom, C., 2013. *Multi- and Megavariate Data Analysis: Basic Principles and Applications*. Malmo Sweden: MKS Umetrics AB
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., and Rahmat, A., 2010. Synthesis of Phenolic and Flavonoids in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and Their Effect on Photosynthesis Rate. *Molecular Science*, 11, 4539–4555. <https://doi.org/10.3390/ijms11114539>.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure – Activity Relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572–584. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00208-5).
- Iqbal, E., Kamariah, A. S., and Linda, B.L. Lim., 2015. Phytochemical Screening, Total Phenolics and Antioxidant Activities of Bark and Leaf Extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University-Science*, 27, 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.02.003>.

- Kaban, A. N., Daniel. and Saleh, C., 2016. Photochemical, Toxicity, and Activity Antioxidant Fraction n-Hexane and Ethyl Acetate Extract of Ginger (*Zingiber officinale* var. *Amarum*). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14(1), 24–28.
- Kimura I., Pancho LR., and Tsuneki H., 2005. Pharmacology of Ginger. *Ravindran PN dan Babu KN (eds.). Ginger: The Genus Zingiber*: CRC Press. Washington DC, 469. <https://doi.org/10.1201/9781420023367>.
- Krastanov, A., 2010. Metabolomics – The State of Art. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 24(1), 1537–1543. <https://dx.doi.org/10.2478/v10133-010-0001-y>.
- Lee, S., Khoo, C., Halstead, C.W., Huynh, T., and Bensoussan A., 2007. Liquid Chromatographic Determination of 6-, 8-, 10-Gingerol, and 6-Shogaol in Ginger (*Zingiber Officinale*) as The Herb and Dried Aqueous Extract. *Journal of AOAC International*, 90(5), 1219–1226. <https://doi.org/10.1093/JAOAC/90.5.1219>.
- Li, Y., Hong, T., Han, Y., Wang, Y., and Xia, L., 2016. Chemical Characterization And Antioxidant Activities Comparison In Fresh, Dried, Stir-Frying And Carbonized Ginger. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1011(16), 223–232. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.01.009>
- Mabuchi, R., Tanaka, M., Nakanishi, C., Takatani, N., and Tanimoto, S., 2019. Analysis of Primary Component Bioactive in Cabbage (*Brassica Oleracea* Var. *Capitata*) Varieties Correlated with Antioxidant Activity and Taste Attributes by Metabolic Profiling. *Molecules*, 24(23), 4282. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24234282>.
- Maser, W.H., Rusmarilin, H., and Yuliana, N.D., 2017. Aplikasi Metabolomik Berbasis HPLC untuk Mengidentifikasi Waktu Retensi Komponen Antibakteri *Stapylococcus Aureus* pada Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etilingera Elatior*). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 13(2), 241–251, <https://doi.org/10.20961/alchemy.v13i2.4890>.
- Mehmood, T., Liland, K. H., Snipen, L., and Sæbø, S., 2012. A Review of Variable Selection Methods in Partial Least Squares Regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 118, 62–69, <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemolab.2012.07.010>.
- Mensor, L.L., Boylan, F., S., Menezes, G. G., Leita, A. S., Reis, T. C., Santos, C. S., Coube, S. G., and Leita., 2001. Screening of Brazilian Plant Extract for Antioxidant Activity by The Use of DPPH Free Radical Method. *Phytotherapy Research*, 15, 127–130, <https://doi.org/10.1002/ptr.687>.
- Novelina, Y.M., Rohaman, M., and Wijaya, H., 2011. Metode Analisis Senyawa Aktif dalam Jahe (*Zingiber officinale*) Menggunakan HPLC. *Journal of Agro-Based Industry*, 28(2), 30–43,
- Nwaoha, M.I., Elizabeth, Okafor G., Ifeanyi., and Veronica A.O., 2013. Production of Oleoresin from Ginger (*Zingiber Officinale*) Peels and Evaluation of Its Antimicrobial and Antioxidative Properties. *African Journal of Microbiology Research*, 7(42), 4981–498, <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6125>.
- Phang, C., S. N. B. Malek, and H. Ibrahim., 2013. Antioxidant Potential, Cytotoxic Activity and Total Phenolic Content of *Alpinia pahangensis* Rhizomes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-243>.
- Prasad, S. and Tyagi, K.A., 2015. Ginger and Its Constituents: Role In Prevention and Treatment of Gastrointestinal Cancer. *Gastroenterology Research and Practice*, 2015, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/142979>.
- Pratoko, D.K., Wardhani, F.A., Kristiningrum, N., Aprilia, F., and Pangaribowo, A., 2018. Kadar Fenolat dan Flavonoid Total serta Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). *Al-Kimia*, 6(2), 171–183. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v6i2.6316>.
- Rafi, M., Lim, W.L., Takeuchi, T., and Darusman, L.K., 2013. Simultaneous Determination of Gingerols and Shogaol using Capillary Liquid Chromatography and Its Application in Discrimination of Three Ginger Varieties from Indonesia. *Talanta*, 103, 28–32. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.09.057>.
- Rahmadani, N., Ruslan, and Satrimafitrah, P., 2018. Penerapan Metode Ekstraksi Pelarut dalam Pemisahan Minyak Jahe Merah. *Jurnal Kovalen*, 4(1), 74–81.
- Rebaya, A., Belghith, S.I., Baghdikian, B., Leddet, M., Abrouki, F., Olivier, E., Cherif, J.K., and Ayadi, M.T., 2015. Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(1), 052–057. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50110>.
- Sévin, D.C., Kuehne, A., Zamboni, N., and Sauer, U., 2015. Biological Insights Through Nontargeted Metabolomics. *Current Opinion in Biotechnology*, 34, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.10.001>.
- Sharif, M.F. and Bennett, M.T., 2016. The Effect of Different Methods and Solvents of The Extraction of Polyphenols in Ginger (*Zingiber officinale*). *Jurnal Teknologi (Sciences and Engineering)*, 78(11), 49–54. <https://doi.org/10.11113/jt.v78.9943>.

- Shukla, Y. and Singh, M., 2006. Cancer Preventive Properties of Ginger: A Brief Review. *Journal Food and Chemical Toxicology*, 45, 683–690. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.11.002>.
- Singh, G., Kapoor, I.P.S., Singh, P., de Heluani, C.S., de Lampasona, M.P., and Catalan, C.A.N., 2008. Chemistry, Antioxidant and Antimicrobial Investigations on Essential Oil and Oleoresins of *Zingiber officinale*. *Journal Food and Chemical Toxicology*, 46, 3295–3302. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.017>.
- Siswandono, Soekardjo, B., and Purwanto., 2000. Kimia Medisinal. Surabaya: Airlangga. University Press
- Stankovic, M.S. 2011. Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of *Marrubium Peregrinum* L. Extracts. *Kragujevac Journal of Science*, 33, 63–72.
- Suciyanti, S. W., Sukrasno, Kurniati, N.F., and Adnyana, I.K., 2017. Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Fraction and Volatile Oil from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Sunti* Val). *The Second International Seminar and Expo on Jamu*, 44(1).
- Tugizimana, F., Steenkamp, P., Piater, L., Labuschagne, N., and Dubery, I. A., 2019. Unravelling The Metabolic Reconfiguration of The Post-Challenge Primed State in Sorghum Bicolor Responding to *Colletotrichum Sublineolum* Infection. *Metabolites*, 9(10), 194. <https://doi.org/10.3390/metabo9100194>.
- Worley, B., and Powers, R., 2013. Multivariate Analysis in Metabolomics. *Current Metabolomics*, 1(1), 92–107. <https://doi.org/10.2174/2213235X11301010092>.
- Yeung L., 2018. *Assessment of Energetic Heterogeneity of Reversed-Phase Surfaces Using Excess Adsorption Isotherms for HPLC Column Characterization [Disertasi]*. New Jersey: Seton Hall University.
- Yuliana, N.D., Khatib, A., Choi, Y.H., Verpoorte, R., 2011. Metabolomics for Bioactivity Assessment of Natural Products. *Phytotherapy Research*, 25(2), 157–169. <https://doi.org/10.1002/ptr.3258>.
- Yulianto, W., Andarwulan, N., Giriwono, P.E. and Pamungkas, J., 2017. Bioactive Compounds from Torbangun [*Plectranthus Amboinicus* (Lour.) Spreng] Chloroform Fraction Induce Apoptosis in Breast Cancer (MCF-7 Cells) in Vitro. *Majalah Obat Tradisional*, 22(1), 37–44.