



## Aktivitas Imunomodulator dan Kandungan Fenol Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum)

*The Immunomodulatory Activity and Phenolic Content of Red Ginger Rhizome Extract (Zingiber officinale Rosc. Var. Rubrum)*

Fania Putri Luhurningtyas<sup>(1)</sup>, Jatmiko Susilo<sup>(2)</sup>, Richa Yuswantina<sup>(3)</sup>, Erma Widhihastuti<sup>(4)</sup>,  
Firman Wahyu Ardiyansah<sup>(5)</sup>

<sup>(1)(2)(3)(4)(5)</sup> Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo, Ungaran

Email : [faniaputri@unw.ac.id](mailto:faniaputri@unw.ac.id)

### ABSTRAK

Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) terbukti mempengaruhi sel imun dengan menurunkan level TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  pada kelompok perlakuan. Adanya senyawa pengotor pada ekstrak seperti lemak, resin, gula, serat, pati dapat menyebabkan penurunan aktivitas pada uji farmakologis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh purifikasi ekstrak rimpang jahe merah terhadap aktivitas imunomodulator dan kandungan fenolnya. Penarikan metabolit sekunder pada rimpang jahe merah menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 96%. Purifikasi ekstrak dilakukan dengan cara partisi, dimurnikan dengan pelarut n-heksana. Penentuan kandungan fenol diuji menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Metode bersihan karbon pada hewan coba bertujuan untuk mengetahui aktivitas imunomodulator berdasarkan nilai konstanta fagositosis. Hasil pengujian kadar fenol total ekstrak kasar jahe merah sebesar 338,567 mg GAE/g sampel dan ekstrak purifikasi n-heksana sebesar 862,883 mg GAE/g sampel. Aktivitas imunomodulator ekstrak purifikasi jahe merah tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif *Phyllanthus niruri* ( $p>0,05$ ). Hasil pengujian diketahui bahwa ekstrak terpurifikasi rimpang jahe merah memberikan hasil yang signifikan baik kadar fenol maupun aktivitas imunomodulator dibandingkan sediaan ekstrak kasarnya.

**Kata kunci** : Jahe Merah, Purifikasi, Fenol, Imunomodulator

### ABSTRACT

Red ginger rhizome (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) was shown to affect immune cells by reducing TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  levels in the treatment group. The presence of impurities in extracts such as fat, resin, sugar, fiber, starch can cause a decrease in activity in pharmacological tests. This study was conducted to determine the effect of purification of red ginger rhizome extract on immunomodulatory activity and phenol content. Withdrawal of secondary metabolites from red ginger rhizome used maceration with 96% ethanol solvent. Extract purification was carried out by partitioning, purified with n-hexane solvent. Determination of phenol content was tested using the Folin-Ciocalteu method. The method of carbon clearance in animals aims to determine the immunomodulatory activity based on the value of the phagocytosis constant. The total phenol content of the crude extract of red ginger was 338.567 mg GAE / g sample and purified extract of n-hexane was 862.883 mg GAE / g sample. The immunomodulatory activity of the purified red ginger extract was no meaningful difference between with the positive control group of *Phyllanthus niruri* ( $p>0,05$ ). The test results showed that the purified extract of red ginger rhizome gave significant results in both phenol content and immunomodulatory activity compared to the crude extract preparation

**Keywords**: Red Ginger, Purification, Phenolic, Immunomodulatory

## PENDAHULUAN

Imunitas menjadi faktor penting untuk mempertahankan diri dari patogen (virus, bakteri, dan jamur) (Mak *et al*, 2013). Hal ini bertujuan untuk melindungi tubuh dari patogen yang dapat menyebabkan infeksi, salah satunya adalah virus yang menjadi perhatian saat ini yaitu Novel *coronavirus 2019 (2019-nCoV)*. Virus tersebut dapat menyebabkan berbagai permasalahan di sistem pernafasan, pneumonia, dan sampai kematian. Penyakit karena infeksi virus ini disebut COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*) (Velavan & Meyer, 2020).

Langkah preventif dapat dilakukan untuk pencegahan masuknya virus maupun patogen infeksius masuk ke dalam tubuh. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional telah diterima luas di negara maju maupun berkembang. World Health Organization (WHO) menjelaskan bahwa kurang lebih 65% penduduk negara maju menggunakan obat herbal sebagai upaya preventif, kuratif, rehabilitatif, dan promotive (Patel *et al*, 2011). Imunomodulator adalah obat atau senyawa yang mampu memodulasi fungsi dan kerja sistem imun. Imunomodulator mampu mempengaruhi respon imun selular dan humoral, sehingga dapat mengatur sistem imun yang fungsinya terganggu atau menekan sistem imun yang fungsinya berlebihan (Yu *et al*, 2017)

Penelitian Fadilah (2019) dan Saputri (2019), menjelaskan kandungan senyawa fenolik gingerol, zingeron, dan shogaol pada Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) mampu menurunkan level TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  pada kelompok perlakuan, dan potensial sebagai agen anti inflamasi. Selain kandungan senyawa tersebut, pada jahe merah terdapat lemak, resin, gula, karbohidrat, serat, pati dan yang lain dapat mengganggu aktivitas imunomodulator dari rimpang jahe merah.

Purifikasi ekstrak diharapkan dapat meningkatkan khasiat ekstrak disamping memperkecil jumlah dosis pemberian pada pengguna. Tujuan purifikasi yaitu untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengganggu

namun tetap mempertahankan senyawa aktifnya (Puspitasari & Pramonono, 2015). Senyawa pengganggu tersebut antara lain lemak, resin, gula, serat, pati yang dapat memberikan kerugian pada saat proses formulasi sediaan. Senyawa yang belum murni perlu dilakukan purifikasi untuk meminimalkan gangguan pada uji farmakologis (Warditiani *et al*, 2014) dan ditujukan untuk mendapatkan produk biofarmaka dengan kandungan senyawa aktif yang tinggi. Berdasarkan uraian permasalahan tersebut, maka dilakukan pengujian tentang pengaruh purifikasi ekstrak jahe merah pada mencit jantan galur Balb/c dengan metode carbon clearance, berdasarkan parameter konstanta fagositosis.

## METODE PENELITIAN

### 1. Alat dan Bahan

#### a. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas beker (IWAKI), gelas ukur (IWAKI), labu takar, spektrofotometer (UV mini-1240), kuvet, spuit injeksi (One Med), jarum berujung tumpul, pipet ukur (PYREX), pipet tetes, tabung reaksi (IWAKI), batang pengaduk, neraca analitik (OHAUS PA214), penangas air (PT ANM), pipet mikro (Topette Nesco), alat sentrifuge (GEMMY TAIWAN), toples,

#### b. Bahan

##### • Bahan kimia

Etanol 96% (BRATACO), aquadest, asam asetat 1% (MERCK), tinta karbon (4001 Brilliant Red), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (MERCK), n-heksana (BRATACO), methanol, reagen Folin Ciocalteu, asam galat, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, EDTA (V-Tube), heparin, NaCl 0,9% (WIDATARA BHAKTI).

##### • Bahan uji

Bahan uji yang digunakan adalah Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc.) yang diperoleh dari Ungaran, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah

- **Hewan uji**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan galur balb/c berumur 8-12 minggu (2-3 bulan), dengan berat 20-30 gram sebanyak 25 ekor mencit diperoleh dari daerah Babadan, Ungaran. Penelitian ini telah memperoleh *ethical clearance* dari Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang NO.390/VII/2019/Komisi Bioetik.

## 2. Metode Penelitian

### a. Determinasi tanaman

Determinasi Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* (Rosc.)Var.Rubrum) dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.

### b. Pembuatan ekstrak terpurifikasi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi dingin, yaitu maserasi. Sebanyak 500 gram simplisia direndam pada pelarut dengan perbandingan 1:10. Diukur etanol 96% sebanyak 5000 ml, dimaserasi dengan 3750 ml bagian pelarut ditutup dan dibiarkan selama 24 jam pada suhu ruang sambil berulang-ulang diaduk agar zat aktif terekstraksi sempurna. Setelah 1 hari ekstrak disaring menggunakan kain flannel, kemudian residu diremaserasi kembali dengan 1250 ml pelarut etanol. selama 2 x 24 jam lalu disaring menggunakan kain flannel. Filtrat dipekatkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 78°C lalu diuapkan lagi dengan menggunakan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. dan ditimbang untuk mengetahui bobot ekstrak tersebut.

Metode purifikasi ekstrak menggunakan metode partisi, ditimbang 10 gram ekstrak kemudian dilarutkan dengan 100 ml etanol 96% dan dimasukkan corong pisah ke dalam larutan tersebut ditambahkan 100 ml n-

heksan (1:1). Corong dikocok secara terus menerus, kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan dimana lapisan n-heksana akan berada dilapisan atas etanol. Purifikasi diulangi hingga lapisan n-heksana berubah warna menjadi bening menunjukkan sudah tidak ada pengotor. Larutan hasil pemisahan dikumpulkan dan di evaporasi sehingga didapatkan ekstrak terpurifikasi.

Rendemen ekstrak purifikasi jahe merah :

$$\frac{\text{berat ekstrak purifikasi jahe merah}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

### c. Penentuan kadar fenol

- **Pembuatan larutan standar asam galat**

Larutan standar asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10mg asam galat dengan etanol p.a hingga volume 10 ml. Dari larutan stock dipipet sebanyak 2,5 ml diencerkan etanol 96% hingga volume 25 ml dihasilkan konsentrasi 100 ppm. Dari larutan tersebut dipipet 1,2,3,4,5 ml dan dicukupkan dengan etanol 96% hingga 10 ml, sehingga dihasilkan 10,20,30,40 dan 50 ppm.

- **Penentuan operating time**

Larutan asam galat 100 ppm diambil sebanyak 0,5 mL ditambahkan dengan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 2mL, selanjutnya ditambahkan dengan 4 mL natrium karbonat 1M Baca absorbansi larutan setiap 5 menit dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 765 nm selama 60 menit (Anna et al, 2017).

- **Penentuan panjang gelombang maksimum**

Larutan asam galat 100 ppm diambil sebanyak 0,5 mL ditambahkan dengan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 2 ml, selanjutnya ditambahkan dengan 4 mL natrium karbonat 1M. Diamkan selama operating time lalu baca absorbansi pada

panjang gelombang 600-800 nm sebanyak 3x replikasi (Sari & Ayuhecacia, 2017).

• **Pengukuran larutan standar asam galat**

Untuk masing-masing konsentrasi 10,20,30,40 dan 50 ppm ditambahkan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% kocok hingga homogen. Ditambahkan aquadest hingga 10 ml dan didiamkan selama 25 menit pada suhu ruangan. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum 760,5 nm, di buat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi.

• **Pembuatan larutan ekstrak terpurifikasi**

Sampel ekstrak purifikasi dibuat dengan cara menimbang 10 mg kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol 96%

• **Penetapan kadar fenol total ekstrak terpurifikasi**

Diambil 1 ml larutan ekstrak terpurifikasi jahe merah, kemudian sampel ditambahkan dengan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit ditambahkan 4,0 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% kocok hingga homogen. Ditambahkan aquadest hingga 10 ml dan didiamkan selama 25 menit pada suhu ruangan. Diukur serapan panjang gelombang maksimum 760,5 nm. Dilakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenol diperoleh hasilnya didapat sebagai ekuivalen asam galat/g ekstrak.

**d. Penentuan aktivitas imunomodulator**

Pemilihan tahapan uji aktivitas imunomodulator menggunakan bersihan karbon, berdasarkan penelitian Muthia&Astuti (2019). Sebanyak 24 ekor mencit jantan galur BALB/C dibagi dalam 4 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Dosis ekstrak jahe merah

(100mg/kgBB ) yangdigunakan berdasarkan penelitian Bachri (2013)

**Tabel 1. Tabel kelompok perlakuan**

Kelompok Perlakuan	Perlakuan
• Kontrol negative CMC Na 0,1%	Diberi CMC Na 0,1% secara peroral sebanyak 2.5 ml/20grBB
• Kontrol positif <i>Phyllanthus niruri</i>	Diberi <i>Phyllanthus niruri</i> 9,1 mg/kgBB
• Ekstrak purifikasi	Diberi ekstrak purifikasi jahe merah 100 mg/kgBB
• Ekstrak kasar	Diberi ekstrak kasar jahe merah 100 mg/kgBB

Masing-masing kelompok perlakuan diberikan sediaan selama satu kali sehari secara peroral selama 7 hari. Hari ke 7 setelah 48 jam mendapat dosis terakhir untuk blanko dilakukan pengambilan darah dari seluruh kelompok mencit melalui vena orbital diteteskan pada tabung dan ditambah 4 ml asam asetat 1% (melisiskan darah). Kemudian mencit diinjeksi dengan suspensi karbon melalui vena ekor, darah diambil pada menit ke-0 dan 15 melalui retro vena orbital dengan menggunakan pipa kapiler, dan masukkan ke dalam tabung (yang mengandung Na EDTA sebagai anti koagulan), dan di sentrifuge selama 10 menit kemudian diambil plasma dan dipipet sebanyak 25µL ditabung reaksi *Eppendorf*, dicampur dengan 4 ml larutan asam asetat. Absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 634 nm.

Data yang diperoleh dari pengukuran serapan di hitung kembali dengan perhitungan konstanta fagositosis (K) dan dengan menggunakan rumus:

$$K = \frac{\ln OD1 - \ln OD2}{t2 - t1}$$

**Keterangan:**

- K : Konstanta fagositosis  
 In<sub>OD1</sub> : Absorban awal  
 In<sub>OD2</sub> : Absorban akhir  
 T1 : Waktu awal  
 T2 : Waktu akhir

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Hasil**

**a. Determinasi tanaman**

Di Asia Tenggara ditemukan sekitar 80-90 jenis Zingiber, secara umum jahe dibagi di dalam tiga macam, yaitu jahe merah, emprit, dan gajah. Jahe merah mempunyai karakteristik rimpangnya berwarna hijau kemerahan, dan aroma khas pedas. Ukuran rimpang jahe merah agak kecil, ruas rata dan sedikit menggebung. Berikut adalah kunci hasil determinasi rimpang jahe merah : 1b, 2b, 3b, 4b, 13b, 14b, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23b, 24b, 25b, 26b, 27a, 28b, 29b, 30b, 31a, 32a, 33b, 34a, 35b, 37b, 38b, 39b, 41b, 42b, 44b, 45b, 46b, 46e, 50b, 51b, 53b, 54b, 56b, 57b, 58b, 59d, 72b, 73b, 74a, 75b, 76b, 333b, 334b, 335a, 336a, 337b, 338a, 339b, 340..... Famili 207. Zingiberaceae ..... 1a, 2a, 3b, 4b .... Genus Zingiber ..... Spesies Zingiber officinale Roscoe Var. rubrum (Jahe Merah) (Backer, 1963)

**b. Penentuan kadar fenol**

Di dalam penetapan kadar fenol, diketahui bahwa waktu optimum untuk pengukuran kadar fenol di dalam penelitian ini adalah menit ke-25. Hal ini berdasarkan hasil serapan yang stabil. Berdasarkan penelitian sebelumnya ada beberapa operating time larutan asam galat, antara lain dengan operating time antara 20-30 menit (Ratnasari *et al*, 2016), (Sari & Ayuhecacaria, 2017), serta ada beberapa operating time larutan asam galat berkisar antara 60-120 menit (Sugiat, 2010).

Panjang gelombang maksimum yang didapat pada larutan asam galat adalah 760,5 nm. Panjang gelombang tersebut termasuk dalam spektrofotometri vis (visible) karena terletak di antara 380-780 nm dan senyawa yang di uji merupakan senyawa yang berwarna.

Pembuatan kurva baku asam galat dilakukan dengan mengukur serapan yang diberikan oleh larutan uji dengan konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; 30 ppm; 40 ppm; dan 50 ppm pada panjang gelombang maksimum yaitu 760,5 nm, dan pada waktu optimum yaitu 25 menit setelah reaksi. Hasilnya adalah didapat kurva baku asam galat dengan persamaan regresi linier  $y = 0,011x + 0,209$ . Persamaan regresi linier yang didapat dari kurva baku tersebut selanjutnya akan digunakan untuk menghitung kadar fenol total dalam sampel.

**Tabel 2. Kadar fenol ekstrak kasar dan purifikasi rimpang jahe merah**

Sampel	Kadar Fenol (mg GAE/g)
Ekstrak Kasar	347,56
Ekstrak Purifikasi	862,88

**c. Penentuan aktivitas imunomodulator**

Pada pengujian aktivitas imunomodulator ekstrak terpurifikasi rimpang jahe merah telah

**Tabel 3. Hasil Rata-rata Nilai Indeks Fagositosis Kelompok Perlakuan**

Perlakuan	Rata-rata konstanta fagositosis
Kontrol (+)	0,0395 ± 0,0010
Kontrol (-)	0,0063 ± 0,0002
EK	0,0363 ± 0,0009
EP	0,0401 ± 0,0010

**Tabel 4. Hasil Post Hoc Test LSD**

Perlakuan	Nilai p value perlakuan			
	K (+)	K (-)	EK	EP
K (+)	-	0,000*	0,000*	0,378
K (-)	0,000*	-	0,000*	0,000*
EK	0,000*	0,000*	-	0,000*
EP	0,378	0,000*	0,000*	-

Keterangan :

Tanda \*: p value <0,05, berbeda signifikan

K (+) : Kontrol pembanding fitofarmaka *Phyllanthus niruri*

K (-) : Kontrol negative pelarut CMC Na 0,1%

EK : Ekstrak kasar 100 mg/kgBB

EP : Ekstrak purifikasi 100 mg/kgBB

## Pembahasan

### a. Determinasi tanaman



**Gambar 1.** Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum).

Tujuan determinasi untuk mengetahui kebenaran tanaman, menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum).

### b. Karakterisasi ekstrak terpurifikasi

Tujuan purifikasi (pemurnian) ekstrak adalah untuk mendapatkan kadar senyawa aktif yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar. Peningkatan kandungan senyawa aktif diharapkan dapat meningkatkan aktivitas farmakologis bahan alam tersebut. Prinsip purifikasi ekstrak metode partisi adalah proses kontak larutan dengan solvent (pelarut) yang tidak saling tercampur. Solvent yang digunakan mempunyai berat jenis yang

berbeda dengan larutan sampel, sehingga akan membentuk dua lapisan (fase).

Penggunaan pelarut n-heksan karena n-heksan bersifat non polar sehingga diharapkan dapat menarik pengotor yang bersifat non polar seperti minyak atsiri, resin dan senyawa polar lainnya. (Romadanu, 2014) (Herliyanti *et al*, 2014). Penelitian Widhihastuti (2018) menunjukkan rendemen ekstrak rimpang jahe yang dipurifikasi menggunakan pelarut n-heksana lebih kecil (46,2 % b/b) dibandingkan ekstrak yang dipurifikasi menggunakan pelarut etil asetat (59,2 % b/b). Nilai rendemen etil asetat lebih besar dibandingkan dengan rendemen n-heksana, hal ini di karenakan pelarut n-heksana telah mengikat pengotor yang terkandung dalam ekstrak jahe merah yang bersifat non polar. Ekstrak purifikasi n-heksana tersisa senyawa yang bersifat polar, salah satunya adalah senyawa fenol yang mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator.

Ekstrak purifikasi etil asetat hanya mengikat senyawa pengotor bersifat polar-semipolar, sehingga senyawa pengotor yang bersifat non polar masih terdapat dalam ekstrak purifikasi etil asetat. Hasil purifikasi ekstrak kental jahe merah sebanyak 7,9 gram dengan rendemen sebesar 79 % b/b.

### c. Penentuan kadar fenol

Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Prinsip dari metode folin ciocalteu adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur pada panjang gelombang 760,5 nm. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) yang terdapat dalam pereaksi

Folin Ciocalteu menjadi suatu kompleks molybdenum-tungsten. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi senyawa fenolat (Blainski *et al*, 2013).

Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli menjadi kompleks molybdenum-tungsten sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Alfian *et al.*, 2012).

Kadar fenol total masing-masing sampel dapat dihitung dengan menggunakan regresi linier standar asam galat yang didapat sebelumnya, sehingga didapatkan hasil untuk kadar fenol total ekstrak kasar jahe merah sebesar 338,567 mg GAE/g sampel dan ekstrak purifikasi n-heksana sebesar 862,883 mg GAE/g sampel. Hasil pengujian diketahui bahwa ekstrak purifikasi n-heksana jahe merah memiliki kandungan kadar fenol terbanyak dibandingkan dengan kadar fenol total ekstrak kasar jahe merah. Hal ini dikarenakan ekstrak purifikasi n-heksana mengikat senyawa pengotor yang bersifat non polar sehingga didapatkan senyawa aktif yang lebih murni seperti senyawa golongan fenol.

Keuntungan proses purifikasi ekstrak yaitu memurnikan kandungan metabolit aktif pada ekstrak dari zat ballast (pengotor), sehingga jumlah kandungan senyawa aktif pada rimpang jahe merah terutama senyawa fenol lebih tinggi. Penelitian Agustina Dian Puspitasari dan Suwijiyo Pramonopada tahun 2015 kadar flavonoid ekstrak propolis terpurifikasi menggunakan air panas lebih tinggi ( $11,78 \pm 1,30$  %b/b) dibandingkan dengan kadar flavonoid ekstrak sebelum purifikasi ( $1,23 \pm 0,37$  %b/b)

#### d. Penentuan aktivitas imunomodulator

Pada penelitian dilakukan pengujian untuk melihat efek imunomodulator ekstrak kasar dan ekstrak purifikasi jahe merah terhadap respon imun non spesifik. Respon imun non spesifik dilakukan dengan menggunakan metode *Carbon clearance* (bersihan karbon). Pengujian ini berdasarkan kemampuan sel fagosit mengeliminasi patogen yang masuk ke dalam tubuh (George *et al*, 2014). Sel fagosit yaitu salah satu jenis sel darah putih yang mempunyai peranan di dalam imunitas tubuh dengan cara fagositosis (mencerna benda asing seperti bakteri dan virus). Sel fagosit merupakan pertahanan garis depan dan bersifat non spesifik. Sel yang berperan dalam fagositosis adalah neutrophil dan makrofag (Motlagh *et al*, 2020).

Semakin besar nilai konstanta fagositosis, semakin besar juga peristiwa fagositosis senyawa karbon oleh sel fagositosis. Semakin banyak karbon yang difagosit, maka semakin sedikit karbon yang tertinggal di dalam darah.

Ekstrak kasar dan ekstrak purifikasi jahe merah diberikan selama 7 hari berturut-turut, tujuannya untuk memberikan kesempatan bagi zat uji dalam meningkatkan respon imun non spesifik. Kecepatan karbon sebagai marker dalam darah mencit adalah sebagai parameter yang diamati. Hasil pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 634 nm. Panjang gelombang ini merupakan panjang gelombang darah pada mencit jantan,

Hasil analisis *post hoc*, kontrol negatif CMC Na berbeda bermakna ( $P$  Value = 0,000), dibandingkan 3 perlakuan (*Phyllanthus niruri*, ekstrak kasar, ekstrak purifikasi). Kontrol negatif tidak ada pengaruh aktivitas imunomodulator. Ekstrak purifikasi jahe merah tidak berbeda signifikan dengan kelompok *Phyllanthus*

*niruri* yang menunjukkan bahwa ekstrak purifikasi 100 mg/kgBB sebanding dengan kontrol positif *Phyllanthus niruri* 9,1 mg/kgBB.

Ekstrak purifikasi memiliki nilai konstanta fagositosis lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak purifikasi lebih baik dari pada ekstrak kasar jahe merah dikarenakan ekstrak purifikasi mengikat senyawa pengotor yang lebih banyak bersifat non polar sehingga didapatkan senyawa aktif yang lebih murni, dan aktivitas farmakologis yang lebih optimal. Senyawa golongan fenol yang terkandung dalam ekstrak purifikasi jahe merah dapat meningkatkan kerja makrofag dalam memfagositosis partikel karbon yang masuk ke dalam aliran darah.

Kandungan fenolik pada rimpang jahe merah diduga berperan sebagai pengatur imunitas dengan cara mempengaruhi regulasi sel imun, sintesa sitokin pro inflamasi, ekspresi gen (da Cunha *et al*, 2019). Aktivasinya juga mampu menghambat enzim tertentu yang terlibat di dalam produksi radikal bebas (ROS), seperti NADPH oksidase (NOX) dan xantin oksidase (Yahfoufi *et al*, 2018)

### SIMPULAN

Ekstrak etanol rimpang jahe yang diberikan perlakuan purifikasi pelarut n-heksana memiliki nilai Kadar fenol (862,883 mg GAE/g sampel) lebih tinggi dibanding dengan kadar fenol ekstrak kasar. Ekstrak purifikasi jahe merah (100mg/kgBB) mempunyai aktivitas imunomodulator yang sebanding dengan kontrol pembanding fitofarmaka yang mengandung herbal *Phyllanthus niruri*.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Rekan sejawat Prodi S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo dan rekan mahasiswa tim penelitian purifikasi rimpang jahe merah.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*hibiscus sabdariffa linn*) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Pharmaciana*, 2(1).
- Bachri, M. S. (2013). Efek hepatoprotektif ekstrak metanol jahe merah (*zingiber officinale roscoe*) pada mencit jantan yang diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Pharmaciana*, 1(2).
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense L.* *Molecules*, 18(6), 6852-6865.
- Da Cunha, L. R., Muniz-Junqueira, M. I., & dos Santos Borges, T. K. (2019). Impact of polyphenols in phagocyte functions. *Journal of inflammation research*, 12, 205.
- Fadilah, M. N. (2019). *Pengaruh ekstrak jahe merah (zingiber officinale var. Rubrum theilade) terhadap kadar tnf-α pada tikus putih jantan (rattus norvegicus strain wistar) yang diinduksi etambutol, pirazinamid, dan levofloksasin* (Doctoral dissertation, University of Muhammadiyah Malang).
- George, A., Chinnappan, S., Choudhary, Y., Bommu, P., & Sridhar, M. (2014). Immunomodulatory activity of an aqueous extract of *Polygonum minus* Huds on Swiss albino mice using carbon clearance assay. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(5), 398-400.
- Herliyanti, K., Franyoto, Y. D., & Sulistyowati, E. (2014). Pengaruh kombinasi ekstrak terpurifikasi herba artemisia (*artemisia annua* (l.)) Dan herba sambiloto (*andrographis paniculata* (burm. F) nees) terhadap kadar glukosa darah pada tikus diabetes mellitus tipe 2 resisten insulin.



- Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 11(2), 27-31.
- Mak, T. W., Saunders, M. E., & Jett, B. D. (2013). *Primer to the immune response*. Newnes.
- Motlagh, H. A., Safari, O., Selahvarzi, Y., Baghalian, A., & Kia, E. (2020). Non-specific immunity promotion in response to garlic extract supplemented diets in female Guppy (*Poecilia reticulata*). *Fish & shellfish immunology*, 97, 96-99.
- Muthia, R., & Astuti, K. I. (2018). Efek imunomodulator infusa umbi bawang dayak (*eleutherina palmifolia* merr) dengan metode bersihan karbon. *Jurnal Pharmascience*, 5(1)
- Patel, P., Patel, N. M., & Patel, P. M. (2011). Who guidelines on quality control of herbal medicines. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2(4).
- Puspitasari, A. D., & Pramono, S. (2015). Perbandingan metode pembuatan ekstrak terpurifikasi bee propolis dari lebah madu (*apis mellifera*) berdasarkan kadar flavonoid total dihitung sebagai rutin. *Trad. Med. J*, 20(2), 76-81.
- Ratnasari, F. A., Wulandari, L., & Kristiningrum, N. (2016). Penentuan kadar fenol total pada ekstrak daun tanaman menggunakan metode spektroskopi nir dan kemometrik (determination of total phenolic in leave extracts using spectroscopy nir and chemometric). *Pustaka Kesehatan*, 4(2), 235-240.
- Saputri, A. A. (2019). Pengaruh ekstrak jahe merah (*zingiber officinale* var. *Rubrum theilade*) terhadap kadar ifn- $\gamma$  (interferon gamma) tikus putih jantan strain wistar (*rattus novergicus* l.) Yang diinduksi dengan pirazinamid, levofloksasin dan etambutol (Doctoral dissertation, University of Muhammadiyah Malang).
- Sari, A. K., & Ayuchecaria, N. (2017). Penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak beras hitam (*Oryza sativa* L) Dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), 327-335.
- Sugiat, D. (2010). Penetapan kadar fenol total dan aktivitas antioksidan ekstrak metanol dedak beberapa varietas padi (*Oryza sativa*). *Skripsi*.
- Velavan, T. P., & Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. *Tropical medicine & international health*, 25(3), 278.
- Warditiani, N. K., Larasanty, L. P. F., Widjaja, I. N. K., Juniari, N. P. M., Nugroho, A. E., & Pramono, S. (2014). Identifikasi kandungan kimia ekstrak terpurifikasi herba sambiloto. *Jurnal Farmasi Udayana*.
- Widhihastuti, E. (2018). Penentuan kadar senyawa fenol ekstrak terpurifikasi jahe merah (*zingiber officinale* rosc, var. *rubrum*) menggunakan variasi pelarut ekstraksi cair-cair. *Skripsi*.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618.
- Yu, Y., Shen, M., Wang, Z., Wang, Y., Xie, M., & Xie, J. (2017). Sulfated polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* enhances the immunomodulatory activity of macrophages. *Carbohydrate polymers*, 174, 669-676.