



Profil Metabolit Volatil dan Non Volatil Bangle Hitam

[Volatile and Non-Volatile Metabolite Profiling of Black Bangle]

Ning Ima Arie Wardayanie^{1,4)}, Endang Prangdimurti¹⁾, Dase Hunaefi¹⁾, Irmanida Batubara^{2,3)}, Fitra Tunnisa¹⁾, Dian Rosalina¹⁾, Ani Afriyanti¹⁾, dan Nancy Dewi Yuliana^{1)*}

¹⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor, Indonesia

²⁾ Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor, Indonesia

³⁾ Pusat Studi Biofarmaka Tropika, IPB University, Bogor, Indonesia

⁴⁾ Balai Besar Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Agro, Kementerian Perindustrian, Bogor, Indonesia

Received February 20th 2024 / Revised May 15th 2025 / Accepted June 20th 2025

ABSTRACT

The study discovering chemical compounds of black bangle (*Zingiber ottensii* Val.), which is a member of Zingiberaceae family, is rather scarce. This research aimed to determine the composition of volatile and non-volatile compounds of the rhizome. The volatile compound was analyzed using solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry (SPME GC-MS), while non-volatile compound was determined by Ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS). The experiment by SPME GC-MS successfully identified 31 compounds with monoterpenes showing the most abundant group at 54 %. The main volatile compounds are β -Phellandrene, β -pinene, γ -Terpinene and α -pinene, then followed by sesquiterpene and terpene, namely humulene and terpinen-4-ol, respectively. Furthermore, analysis using UHPLC-HRMS detected 37 compounds with some pre dominant compounds, i.e. zerumbone, choline, isoleucine, phenylalanine, afzelin and malic acid. These findings indicate that black bangle rhizome is rich in various volatile and non-volatile compounds, especially terpenoid, flavonoid, amino acid and malic acid, some of which have certain bioactivities.

Keywords: β -Phellandrene, SPME GC-MS, UHPLC-HRMS, zerumbone, *Zingiber ottensii* Val.

ABSTRAK

Bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) merupakan rempah dari famili Zingiberaceae yang informasi komposisi senyawanya masih terbatas. Penelitian ini bertujuan menentukan komposisi senyawa volatil dan non volatil rimpang bangle hitam. Kandungan senyawa volatil dianalisis menggunakan *solid phase microextraction gas chromatography mass spectrometry* (SPME GC-MS) sedangkan senyawa non volatil dianalisis menggunakan *ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry* (UHPLC-HRMS). Analisis menggunakan SPME-GCMS berhasil mengidentifikasi 31 senyawa dengan golongan monoterpen sebagai golongan senyawa terbesar yaitu 54%. Komponen volatil utamanya adalah β -fellandrena, β -pinena, γ -terpinena, α -pinena, humulena dan terpinen-4-ol. Berdasarkan analisis UHPLC HRMS teridentifikasi 37 jenis senyawa dengan komponen dominan yaitu zerumbone, kolin, isoleusin, fenilalanin, afzelin dan asam malat. Temuan ini menunjukkan bahwa rimpang bangle hitam kaya akan berbagai komponen volatil dan non volatil terutama golongan senyawa terpenoid, flavonoid, asam amino dan asam malat, yang beberapa komponen diantaranya memiliki bioaktivitas tertentu.

Kata kunci: β -fellandrena, SPME GC MS, UHPLC HRMS, zerumbone, *Zingiber ottensii* Val.

PENDAHULUAN

Indonesia terkenal memiliki sumberdaya alam yang berlimpah, termasuk jenis rempah-rempahan

yang bagian tanamannya tidak hanya digunakan untuk memasak tetapi juga memiliki manfaat dalam kesehatan (Yashin *et al.*, 2017; Paramita *et al.*, 2021). Penggunaan tanaman rempah yang memiliki manfaat kesehatan telah banyak diuji dan diteliti kandu-

*Penulis Korespondensi: E-mail: nancy_dewi@apps.ipb.ac.id

ngan di dalamnya yang mempunyai peran dalam aktivitas biologis tertentu. Jenis tanaman rempah yang masih sedikit pemanfaatannya adalah bangle hitam yang termasuk dalam famili *Zingiberaceae*. Bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) merupakan anggota dari famili *Zingiberaceae* (Karnchanatat *et al.*, 2011). Bangle hitam juga biasa disebut bunglai hantu di Melayu Deli, Sumatera Utara atau panglai hideung di daerah Sunda, Jawa Barat, berseh hitam, lampoyang hitam, kunyit hitam, (Malaysia), plai minang dan phai dam (Thailand). Rimpang bangle hitam berukuran besar, bagian luarnya berwarna kuning kecokelatan dan bagian dalamnya berwarna merah ungu serta berbau khas (Sinaga *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian terkait dengan aktivitas biologis bangle hitam telah dilaporkan, seperti bahan nefroprotektif (Suprihatin *et al.*, 2020), antidiabetes (Tiengburanamat *et al.*, 2010), antiobesitas (Sulaeman *et al.*, 2018), antihipertensi (Setiawati, 2020), dan antioksidan (Juna'ia, 2019). Aktivitas biologis pada suatu tanaman biasanya bukan berasal dari satu komponen saja tetapi dapat berupa gabungan dari beberapa senyawa yang dikandungnya. Efek sinergitas dari berbagai senyawa juga berperan dalam aktivitas biologis tersebut. Jumlah dan komposisi senyawa aktif berupa metabolit sekunder pada suatu tanaman dapat menentukan kualitas serta khasiat yang diperlihatkan dari tanaman tersebut. Selain itu bangle hitam juga digunakan sebagai rempah yang digunakan dalam pangan. Bangle hitam biasa digunakan untuk menggantikan lengkuas (*Alpinia galanga*) pada masakan di Vietnam (Ly *et al.*, 2016). Hal ini disebabkan oleh karakteristik yang mirip satu sama lain. Karakteristik aroma ini bergantung dari jenis komponen yang terkandung pada rimpang tersebut.

Komposisi kimia dari bangle hitam yang telah dilaporkan berupa komposisi kimia dari minyak atsirinya (Huong *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2025). Beberapa penelitian tentang kandungan minyak atsiri bangle hitam dilaporkan menggunakan *Gas Chromatography* (GC) ataupun *Gas Chromatography Mass Spectrofotometer* (GC-MS). Kandungan senyawa volatil minyak atsiri bangle hitam menggunakan GC-MS memperlihatkan bahwa komponen utamanya didominasi oleh monoterpen dan sesquiterpenoid, meskipun dengan konsentrasi yang berbeda antara minyak atsiri yang didapatkan dari bangle hitam yang dilaporkan dari Thailand, Malaysia, Indonesia, dan Vietnam. Minyak atsiri bangle hitam dari Chiang Mai, Thailand didominasi oleh zerumbone, sabinena, dan terpinen-4-ol, sedangkan dari Petchaburi, Thailand didominasi oleh zerumbone, terpinen-4-ol dan p-simena. Minyak atsiri bangle hitam dari Johor baru Malaysia didominasi oleh zerumbone, terpinen-4-ol dan α -humulena, sedangkan dari Sabah, Malaysia didominasi oleh zerumbone, α -humulena dan sabinena. Minyak atsiri bangle hitam dari Bandung, Indonesia didominasi

oleh terpinen-4-ol, zerumbone, sabinena, dan dari Vietnam didominasi oleh sabinena, terpinen-4-ol, zerumbone (Chen *et al.*, 2025).

Penelitian lain menunjukkan kandungan dari minyak atsiri dari bagian tanaman lain yaitu daun, sedangkan kandungan senyawa volatil dari rimpang bangle hitam segar belum ada yang melaporkan. Kandungan senyawa non volatil dari bangle hitam sangat terbatas. Akiyama *et al.* (2006) melaporkan bahwa ada 16 jenis senyawa dan 4 jenis terpenoid dan diarylheptanoid baru yang berhasil diisolasi dari ekstrak bangle hitam dan strukturnya dikonfirmasi menggunakan HPLC, NMR dan EIMS, dan HREIMS. sedangkan zingipain yang diisolasi dari bangle hitam dianalisis menggunakan *liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) untuk menentukan sekuens asam aminonya (Karnchanatat *et al.*, 2011). Kandungan senyawa non volatil dari bangle hitam masih terbatas yang menggunakan *liquid chromatography mass spectrometry* (LC-MS).

Metode analisis yang baik digunakan untuk menentukan profil metabolit perlu mempunyai keterulangan tinggi, dapat mengidentifikasi dan mengukur secara kuantitatif berbagai metabolit dalam sampel. Instrumen LC-MS mempunyai sensitivitas yang baik dibandingkan dengan *nuclear magnetic resonance spectroscopy* (NMR) (Zhang *et al.*, 2012). Selain itu, identifikasi komponen volatil dapat dilakukan menggunakan *gas chromatography mass spectrometry* (GC-MS) (Wall *et al.*, 2018). Pada penelitian ini, LC-MS digunakan untuk identifikasi senyawa non volatil dan *solid phase microextraction* GC-MS (SPME GC-MS) untuk identifikasi senyawa volatil dari rimpang bangle hitam. LC-MS yang digunakan adalah *Ultra High Performance Liquid Chromatography Vanquish Tandem Q Exactive Plus Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry* (UHPLC-HRMS) yang sesuai untuk non-target metabolit dengan sensitivitas yang tinggi dan mampu memberikan data massa dengan resolusi tinggi dan akurasi yang sangat baik (Agüera *et al.*, 2017; Wood, 2019). Ekstraksi rimpang bangle hitam menggunakan SPME diharapkan mampu memperlihatkan profil metabolit volatil yang ada dalam rimpang bangle hitam karena selain proses ekstraksi yang mudah, senyawa yang terekstrak pada fiber SPME dapat langsung diinjeksi ke dalam GC-MS untuk dianalisis (Joguet *et al.*, 2023). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil metabolit baik senyawa volatil maupun senyawa non-volatil dari rimpang bangle hitam sehingga diharapkan akan memberikan gambaran menyeluruh profil metabolit komponen volatil dan non volatilnya. Penelitian tentang profil volatil dan non volatil bangle hitam sangat penting untuk mendukung pengembangan produk bangle hitam ini. Keterpaduan analisis kedua profil metabolit tersebut dapat memberikan gambaran yang lebih lengkap mengenai potensi bioaktif dan karakteristik aromanya.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama pada penelitian ini adalah bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) yang merupakan koleksi dari kebun percobaan BSIP Tanaman Rempah dan Aromatik (BSIP TROA) yang telah diidentifikasi oleh Dedi Rosadi dari BSIP TROA (Gambar 1). Bahan pelarut untuk ekstraksi menggunakan 80% metanol jenis *pro analysis*.



Gambar 1. Rimpang bangle hitam
Figure 1. Black bangle rhizome

Persiapan bahan

Persiapan sampel untuk uji UHPLC HRMS adalah sebagai berikut: rimpang bangle hitam dicuci, disortir (memisahkan rimpang yang busuk dari yang masih segar) dan diiris dengan arah melintang dan ketebalan 3–5 mm (Utami *et al.*, 2016), kemudian dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan *fluidized bed dryer*, yang dikembangkan oleh Peneliti di IPB University, Indonesia (Muhandri *et al.*, 2023), pada suhu 45 °C sampai bangle hitam kering mudah dipatahkan (Muhandri *et al.*, 2019). Setelah kering, sample digiling menggunakan blender sehingga menjadi bubuk bangle hitam dan sampel disimpan dalam *freezer* suhu -20 °C setelah sebelumnya dimasukkan dalam kemasan yang tertutup rapat. Proses ekstraksi sampel mengikuti metode yang dideskripsikan oleh Yuliana *et al.* (2020). Bubuk rempah sebanyak 20 g ditambahkan metanol 80% dengan dua kali volume bubuk. Kemudian, disonikasi menggunakan *ultrasonic bath* (Branson Cleaner 8510E, MTH, Amerika Serikat) selama 20 menit pada suhu ruang. Selanjutnya disaring dan diambil filtratnya. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali ulangan. Hasil ekstraksi disatukan dan diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R-300, Buchi Labortechnik, Swiss) pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kering. Persiapan sampel untuk uji SPME GC-MS menggunakan rimpang bangle hitam yang diiris seragam (3–5 mm).

Solid phase microextraction (SPME)

Sampel rimpang bangle hitam diletakkan pada *headspace vial* sebanyak 4 g. Diklorometan ditambahkan sebanyak 2 µL sebagai internal standar, kemudian vial ditutup menggunakan PTFE *silicon septum*. Kemudian SPME dimasukkan dalam *headspace vial* dan sampel dipanaskan pada suhu ±40 °C selama 30 menit. Setelah itu SPME dikeluarkan dan langsung disuntikkan ke dalam GC-MS dengan mempertahankannya selama 2 menit dalam injektor sebelum dilepaskan. SPME fiber yang digunakan untuk ekstraksi adalah SPME DVB/CAR/PDMS (Supelco, Sigma Aldrich, Jerman). SPME perlu dikondisikan dahulu pada suhu 250 °C selama 2 menit pada injektor GC-MS, sebelum dimasukkan dalam *headspace vial* (Huang *et al.*, 2012).

Analisis komponen volatil rimpang bangle hitam menggunakan GC-MS

GC-MS yang digunakan adalah GC (Shimadzu Nexis GC-2030, Jepang) yang dihubungkan dengan detector MS (Shimadzu GC-MS-QP2020 NX, Jepang). Kondisi analisis dijelaskan dalam Tunnisa *et al.* (2022). Kolom yang digunakan adalah kolom *stabilized wax* (60 m, 0,25 mm ID, ketebalan film 0,25 m) dengan suhu injektor sebesar 80 °C. Pengaturan suhu kolom berdasarkan gradien dengan suhu awal 40 °C selama 5 menit, kemudian dinaikkan sebesar 4 °C/menit sampai tercapai suhu 150 °C. Setelah itu suhu dinaikkan sebesar 30 °C/menit sampai tercapai suhu 350 °C dan dipertahankan selama 5 menit. Helium digunakan sebagai *mobile phase* sebesar 1 mL/menit, *split injection mode* 1:20.

Kondisi MS dioperasikan menggunakan mode EI ionisasi, suhu *detector* sebesar 230 dan suhu *interface* sebesar 250 °C. dan waktu proses 40 menit. Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan dengan nilai LRI dan spektra massa dengan nilai RI dan spektra massa NIST Library (NIST14 *standard version*). Perhitungan nilai LRI analit dilakukan dengan menghitung menggunakan seri homolog dari larutan alkana (Larutan C10-40, 5 mg/L; Polyscience, Niles, IL, Amerika Serikat) dalam diklorometan pada kondisi kromatografik yang sama dengan sampel. Senyawa yang diidentifikasi dipilih berdasarkan nilai LRI <20 dan tingkat kemiripan data spektral >75% menggunakan software NIST Library pada GC-MS (Shimadzu). Perhitungan persentase area senyawa dilakukan dengan membandingkan area senyawa dengan total area dari semua senyawa (% relatif).

Analisis komponen non volatil rimpang bangle hitam menggunakan UHPLC-HRMS

Analisis senyawa kimia dilakukan menggunakan UHPLC-HRMS (Thermo Scientific, Waltham, Amerika Serikat). Kolom yang digunakan adalah kolom *accucore* C18 (100x2,1 mm, 1,5 µm) dengan suhu kolom diatur pada 35 °C. Pemisahan senyawa

dilakukan dengan menggunakan sistem pelarut gradien linier. Pelarut yang digunakan ada dua jenis yaitu pelarut A (campuran air dengan asam format 0,1%) dan pelarut B (campuran asetonitril dengan asam format 0,1%) dengan elusi gradien sebagai berikut: 0–1 menit (95% A), 1–25 menit (5% A), 25–28 menit (5% A) dan 28–30 menit (95% A) dengan volume injeksi 2,5 μ L. Rentang akuisisi yang digunakan 100–1500 m/z. Akuisisi data dilakukan baik pada positif maupun negatif mode yang membutuhkan 70000 dan 17500 FWHM berturut turut. Identifikasi komponen kimia dari hasil analisis UHPLC-HRMS ditentukan dengan menggunakan perangkat lunak detektor MS Orbitrap dengan *library Compounds Discoverer* 3.2. dan menggunakan *online library* (FoodDB, HMDB, Pubchem dan Mz Cloud). Kesesuaian MS2 dari senyawa yang teridentifikasi dianalisis menggunakan ThermoXcalibur 4.2 (Thermo Scientific, Waltham, MA, Amerika Serikat). Senyawa yang teridentifikasi dipilih menggunakan Annot. DeltaMass. <5 ppm (Rosalina *et al.*, 2023).

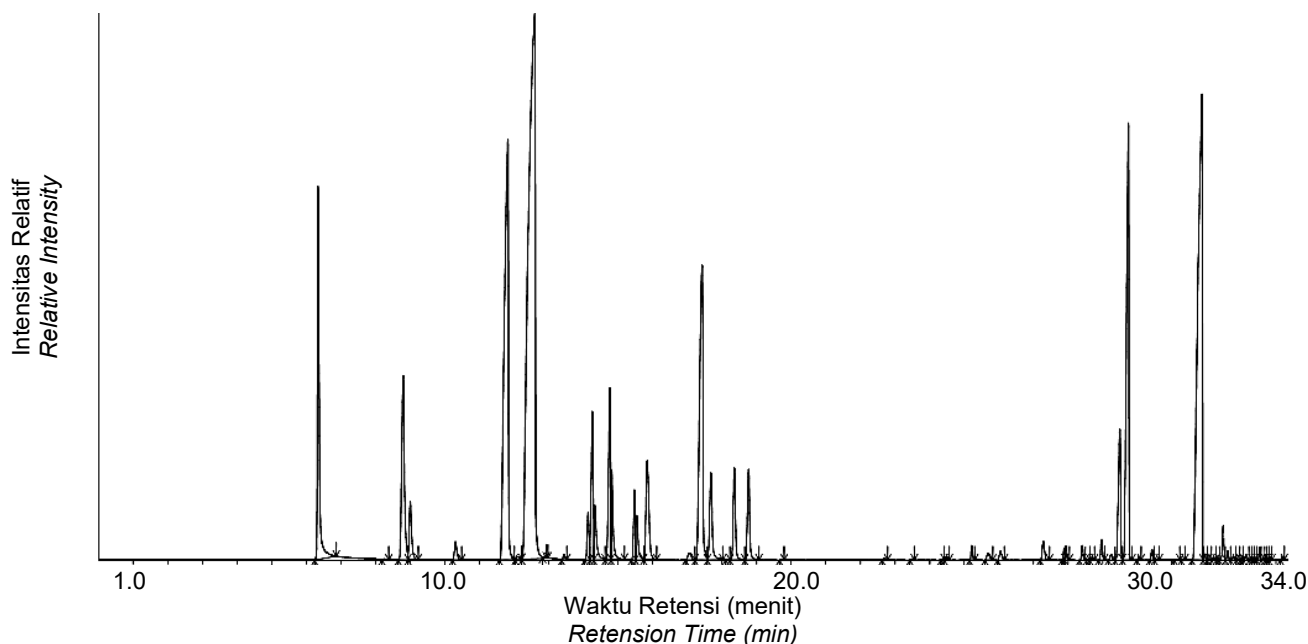
HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil metabolit volatil bangle hitam

Profil metabolit volatil rimpang bangle hitam dianalisis menggunakan SPME GC-MS. Kromatogram diperlihatkan pada Gambar 2. Secara keseluruhan, pada waktu retensi 1–10 menit hanya terdapat beberapa puncak dibandingkan dengan waktu re-

tensi 10–20 menit, dan 23–34 menit. Puncak pada waktu retensi 10–20 menit mempunyai lebih banyak puncak dengan intensitas puncak yang lebih besar dibandingkan puncak pada waktu retensi 1–10 menit dan 23–34 menit. Hal ini menunjukkan perbedaan konsentrasi metabolit pada waktu retensi 10–20 menit.

Identifikasi puncak pada kromatogram dilakukan dengan program pencarian pustaka dari NIST (NIST 14 *standard version* pada Shimadzu) dengan membandingkan nilai LRI dengan perbedaan <20 dan kemiripan data spectral >75%. Metabolit volatil yang berhasil diidentifikasi adalah 31 senyawa (Tabel 1). Penelitian tentang profil metabolit volatil dari rimpang segar bangle hitam masih terbatas pada senyawa volatil dari minyak atsiri rimpang bangle hitam. Perbandingan antara minyak atsiri rimpang bangle hitam dari berbagai geografi memperlihatkan profil volatil grup yang hampir sama dengan metabolit volatil utamanya seperti β -pinena, humulena, terpinen-4-ol, dan γ -terpinena (Huong *et al.*, 2020). Berbeda dengan rimpang bangle hitam dari Malaysia, Thailand, dan Vietnam, metabolit volatil dominan pada rimpang bangle hitam pada penelitian ini adalah β -fellandrena (27,1%), β -Pinena (11,6%), Humulena (11,6%), Terpinen-4-ol (8,2%) dan γ -Terpinena (5,8%). Metabolit volatil terbesar dari minyak atsiri rimpang bangle hitam asal Johor dan Sabah Malaysia serta Thailand adalah zerumbone dan asal dari Chiang mai, Thailand, dan Vietnam adalah sabinena, sedangkan dari Bandung adalah terpinen – 4-ol.



Gambar 2. Kromatogram rimpang bangle hitam menggunakan SPME GC-MS
Figure 2. Chromatogram of Black bangle rhizome using SPME GC-MS

Tabel 1. Profil metabolit volatil bangle hitam
 Table 1. Volatile metabolite profile of black bangle

No	Nama Metabolit (Metabolite Name)	Rumus Molekul (Molecular Formula)	Waktu Retensi (menit) (Retention Time (min))	Indeks Retensi (Retention Index)	Indeks Kemiripan (Similarity Index)	Berat Molekul (Molecular Weight)	Persentase Area (%) (Percentage of Area (%))	Aroma**	Referensi (Reference)
<i>Monoterpenes</i>									
1	<i>α-Pinene</i>	C ₁₀ H ₁₆	8.803	948	97	136	3.27	Sweet, pine, cool, ginger like. Woody pine, terpenic, camphoraceous* Herbal, sharp, fresh, pine, Fresh, champor. Resin, woody.	Pang et al. (2017) Campelo et al. (2020) Zhao et al. (2023) Wu et al. (2023)
2	<i>α-Phellandrene</i>	C ₁₀ H ₁₆	9.006	969	94	136	0.77	Mint, pepper.	Pang et al. (2017)
3	<i>Camphene</i>	C ₁₀ H ₁₆	10.314	943	97	136	0.27	Terpenic citrus, lime, fresh. Camphor Woody, herbal	Campelo et al. (2020) Pang et al. (2017) Zhao et al. (2023)
4	<i>β-Pinene</i>	C ₁₀ H ₁₆	11.849	943	96	136	11.6	Camphoraceous, cooling, minty, citrus* woody, Fresh, herbal, camphoraceous Woody-green pine-like Woody, minty Pine, fresh, woody, terpenic* herbal, dry, woody, fresh, pine Pine, resin	Campelo et al. (2020) Pang et al. (2017) Zhao et al. (2023) Wu et al. (2023)
5	<i>β-Phellandrene</i>	C ₁₀ H ₁₆	12.649	964	94	136	27.1	Mint, terpenic	Pang et al. (2017)
6	<i>3-Carene</i>	C ₁₀ H ₁₆	13.478	948	95	136	0.06	-	
7	<i>(+)-3-Carene</i>	C ₁₀ H ₁₆	32.318	948	93	136	0.01	-	
8	<i>D-Limonene</i>	C ₁₀ H ₁₆	15.504	1018	96	136	1.53	Fruity and citrus odor Lemon Citrus, sweet, orange, terpenic* citrus, orange, fresh, sweet Pleasant fresh like orange, lemon Citrus	Pang et al. (2017) Zhao et al. (2023) Campelo, et al. (2020) Wang et al. (2022) Wu et al. (2023)
9	<i>β-Myrcene</i>	C ₁₀ H ₁₆	14.286	958	96	136	2.63	Fresh, herbal Woody, vegetable, citrus, fruity* spicy, peppery, terpenic, balsamic Balsamic, rosin Resinous	Zhao et al. (2023) Campelo, et al. (2020) Hong et al. (2022) Wu et al. (2023)
10	<i>trans β-Ocimene</i>	C ₁₀ H ₁₆	17.076	976	97	136	0.14	Sweet basil	Pang et al. (2017)
11	<i>γ-Terpinene</i>	C ₁₀ H ₁₆	17.439	998	97	136	5.79	Citrus, with tropical and lime nuances, terpy	Pang et al. (2017)

No	Nama Metabolit (Metabolite Name)	Rumus Molekul (Molecular Formula)	Waktu Retensi (menit) (Retention Time (min))	Indeks Retensi (Retention Index)	Indeks Kemiripan (Similarity Index)	Berat Molekul (Molecular Weight)	Persentase Area (%) (Percentage of Area (%))	Aroma**	Referensi (Reference)
12	Thujone	C ₁₀ H ₁₆ O	24.486	1062	97	152	0.08	Sweet, herbaceous, floral Terpenic, citrus, lime, oily* Terpenic, oily, woody, lemon Menthol	Wu et al. (2023) Campelo, et al. (2020) Pang et al. (2017)
13	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	27.890	1082	93	154	0.16	Sweet lavender with little bit citrus flower, lavender Floral	Wang et al. (2022) Wu et al. (2023)
14	Pinocarpone	C ₁₀ H ₁₄ O	28.688	1114	94	150	0.04	Floral, citrus, fruity Mint	Hong et al. (2022) Wu et al. (2023)
15	Bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	28.972	1277	96	196	0.28	Ginger like woody	Pang et al. (2017)
16	Neral	C ₁₀ H ₁₆ O	32.099	1174	90	150	0.01	Citrus-like	Wu et al. (2023)
17	α-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	32.482	1143	96	154	0.34	Pine, lilac, woody floral, terpene, citrus, citrus, woody, lemon, lime* pine, floral, lilac Pine and lilac-like, fruity Anise, mint	Pang et al. (2017) Campelo et al. (2020) Wang et al. (2022) Wu et al. (2023)
Monoterpenoid									
18	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	15.886	1059	96	154	3.71	Eucalyptus Camphor, herbal Camphor scent, refreshing herbal taste	Pang et al. (2017) Zhao et al. (2023) Wang et al. (2022)
Terpenes									
19	o-Cymene	C ₁₀ H ₁₄	18.380	1042	97	134	1.98	Sweet, soft, fresh, lemon, bergamot	Pang et al. (2017)
20	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	29.757	1137	96	154	8.23	Woody, herbal Cooling, woody, earthy, clove* Spicy, peppery, woody, earthy Nutmeg, must	Zhao et al. (2023) Campelo et al. (2020) Wu et al. (2023)
21	endo-Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	32.612	1138	96	154	0.1	Pine woody camphor Camphoraceous, minty, herbal, earthy*. Balsamic, pine, woody, camphoraceous	Pang et al. (2017) Campelo et al. (2020)
Alkanes									
22	(+)-4-Carene	C ₁₀ H ₁₆	14.794	919	96	136	3.03	-	
Sesquiterpenes									
23	γ-Muurolene	C ₁₅ H ₂₄	25.691	1435	92	204	0.12	-	
24	Copaene	C ₁₅ H ₂₄	26.051	1221	95	204	0.13	Woody, spice	Wu et al. (2023)
25	γ-Elemene	C ₁₅ H ₂₄	33.646	1431	87	204	0.02	-	
26	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	29.491	1494	96	204	1.57	Sweet and dry (like allspice, marjoram, and camomile) Spicy, clove, woody, nut* Spicy, sweet, woody, dry	Pang et al. (2017) Campelo et al. (2020)

No	Nama Metabolit (Metabolite Name)	Rumus Molekul (Molecular Formula)	Waktu Retensi (menit) (Retention Time (min))	Indeks Retensi (Retention Index)	Indeks Kemiripan (Similarity Index)	Berat Molekul (Molecular Weight)	Persentase Area (%) (Percentage of Area (%))	Aroma**	Referensi (Reference)
								Pale lilac-like scent	Wang et al. (2022)
								Clove, turpentine	Hong et al. (2022)
27	β -Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	27.291	1523	89	204	0.24	-	
28	Humulene	C ₁₅ H ₂₄	31.843	1579	96	204	11.57	Floral	Zhao et al. (2023)
								Woody*, Woody	Campelo et al. (2020)
								Balsamic, hop, spice, wood	Hong et al. (2022)
29	Germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	32.792	1515	90	204	0.03	woody spice	
Alcohols									
30	2-Nonanol acetate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	18.165	1218	91	186	0.01	Green, fatty	Wu et al. (2023)
Ketones									
31	2-Nonanone	C ₉ H ₁₈ O	22.699	1052	96	142	0.03	Cheesy	Shen et al. (2021)
								Cheese, butter, strawberry	Tian et al. (2019)
								Fruity	Wu et al. (2023)

Keterangan: *Deskripsi rasa, **Aroma dari literatur

Note: *Flavor description, **Aroma from reference

Kandungan β -pinena dalam rimpang bangle hitam hampir sama dengan minyak atsiri rimpang bangle hitam dari Vietnam (11,7%) namun lebih tinggi dibandingkan dari Malaysia, Thailand dan Bandung (3,2–8,3%). Kandungan Humulena pada rimpang bangle hitam cenderung lebih tinggi dibandingkan minyak atsiri rimpang bangle hitam dari Vietnam, Thailand, Johor Malaysia, dan Bandung (3,3–10,9%). Namun lebih rendah dibandingkan minyak atsiri rimpang bangle hitam dari Sabah Malaysia dan Chiang Mai Thailand (15,6–18,3%). Kandungan Terpinen-4-ol pada rimpang bangle hitam cenderung lebih rendah dibandingkan minyak atsiri rimpang bangle hitam dari Vietnam, Thailand, Johor Malaysia, dan Bandung (11,2–19,7%). Namun lebih tinggi dibandingkan minyak atsiri rimpang bangle hitam dari Sabah Malaysia (3,2%). Kandungan γ -Terpinena pada rimpang bangle hitam cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan minyak atsiri rimpang bangle hitam dari Vietnam, Thailand, Malaysia, dan Bandung (3,7–5,5%).

Komposisi kimia tanaman sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan geografis tempat tumbuhnya, seperti kondisi iklim dan cuaca, jenis tanah dan kandungan mineral, serta variasi geografi dan ketinggian tempat tumbuh. Suhu, intensitas cahaya matahari dan curah hujan pada suatu daerah dapat memengaruhi metabolisme tanaman. Menurut Pant et al. (2021), perubahan suhu dapat memengaruhi produksi metabolit, namun bersifat spesifik terhadap spesies. Contohnya kenaikan suhu akan menurunkan kandungan total alkaloid dan flavonoid dari *Dendrobium officinale*. Namun, hal ini berbanding terbalik dengan kandungan *tanshinones* pada *Salvia*

miltiorrhiza yang meningkat saat terjadi kenaikan suhu. Kandungan mineral yang tidak cukup akan memengaruhi kandungan metabolit. Pupuk yang tidak mengandung nitrogen akan menghasilkan kandungan polifenol tertinggi pada *Lactuca sativa* L. Geografi dan ketinggian tempat tumbuh dapat memengaruhi komposisi dari metabolit, ada beberapa jenis metabolit yang mungkin tidak terdeteksi pada ketinggian tempat tumbuh tertentu. Contohnya pada spesies kunyit (*Curcuma longa*), kandungan minyak atsirinya lebih tinggi pada tanaman yang tumbuh di dataran tinggi. Komposisi metabolit kunyit antara dataran tinggi dan rendah cukup bervariasi, terdapat perbedaan metabolit yang dominan pada setiap daerah. Hal ini tidak hanya tergantung dari dataran tinggi atau rendah serta geografi saja, namun juga dipengaruhi oleh lingkungan dan iklim (Gururani et al., 2022). Perbedaan geografi ini akan menyebabkan perbedaan mutu, tidak hanya dari rendemen namun juga komposisi metabolit. Pada akhirnya perbedaan mutu ini juga akan memengaruhi aktivitas biologi dari kunyit ataupun spesies lainnya termasuk bangle hitam.

Profil metabolit volatil rimpang bangle hitam dapat dilihat pada Tabel 1. Distribusi grup metabolit volatil memperlihatkan bahwa rimpang bangle hitam mempunyai kandungan monoterpen tertinggi sebesar 54%, diikuti dengan sequiterpen dan terpenes. Huang et al. (2020) juga menyatakan bahwa grup komponen terbesar mintak atsiri rimpang asal Vietnam adalah monoterpen. Grup volatil yang lain seperti monoterpenoid, alkanes, alkohol dan keton ditemukan dengan jumlah yang relatif sedikit (6,8%) pada rimpang bangle hitam.

Pada monoterpen, komponen utama rimpang bangle hitam selain β -hellandrena adalah β -pinena, γ -terpinena, α -pinena, β -mircena, D-limonen sebesar 11,6; 5,8; 3,3; 2,6; dan 1,5% berturut-turut, sedangkan monoterpen yang lain jumlahnya relatif sedikit (total sebesar 2,2%). Kandungan sequisterpen dan terpen terbesar adalah humulena dan terpinen-4-ol berturut-turut sebesar 11,6 dan 8,2%.

Metabolit volatil dalam tumbuhan rempah sangat erat hubungannya dengan aroma. Masing masing metabolit memiliki aroma tertentu yang dapat menggambarkan deskripsi aroma keseluruhan dari tanaman rempah tersebut. Tidak terkecuali pada rimpang bangle hitam ini. Menurut Sommano dan Tangpao (2021), profil aroma dari minyak atsiri bangle hitam memberikan profil aroma lengkuas yang kuat, rempah dan aroma jeruk yang manis.

Deskripsi aroma dari setiap metabolit berdasarkan literatur dapat dilihat pada Tabel 1. Setiap metabolit memperlihatkan aroma tertentu berdasarkan literatur. Menurut Campelo *et al.* (2020) dan Pang *et al.* (2017), α -pinena dan β -pinena memberikan aroma herbal, pinus dan segar sedangkan γ -terpinena, D-limonen, o-simena dan β -mircena memberikan aroma jeruk-jerukan. Aroma yang dihasilkan γ -terpinena, merupakan aroma manis dari jeruk dengan sedikit aroma *tropical* dan jeruk limo, begitu juga dengan D-limonen yang memberikan aroma jeruk manis, serta o-simena yang memberikan aroma jeruk segar (Pang *et al.*, 2017 dan Campelo *et al.*, 2020). Deskripsi aroma pada β -mircena memberikan aroma herbal dan rempah lada di samping juga terdeteksi aroma buah jeruk (Campelo *et al.*, 2020).

Aroma yang dihasilkan pada humulena adalah aroma kayu, sedangkan pada kariopilena selain aroma kayu juga terdapat aroma rempah-rempahan, rempah manis, dan cengkeh (Campelo *et al.*, 2020). Sommano dan Tangpao (2021) mendeskripsikan aroma yang unik dari minyak atsiri bangle hitam berupa *top note* dari sabinena, pinena, γ -terpinena, D-limonen, o-simena dan β -mircena, sedangkan *base note* berasal dari beberapa senyawa seperti humulena dan kariopilena.

Profil metabolit non-volatil bangle hitam

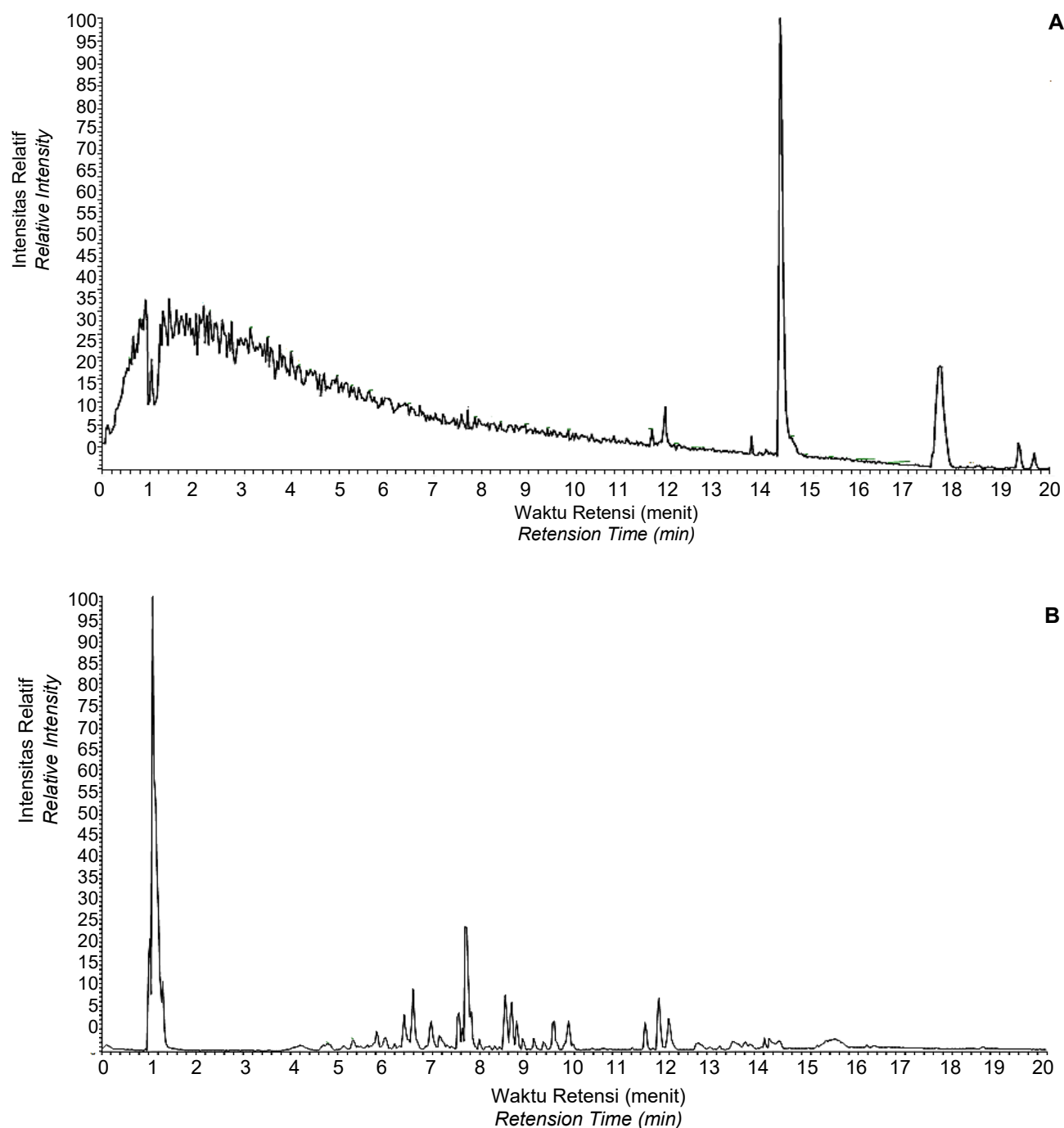
Profil metabolit non volatil dari bangle hitam dianalisis menggunakan UHPLC HRMS. Identifikasi senyawa dilakukan pada mode ionisasi positif dan negatif dengan menggunakan pustaka *library Compounds Discoverer* 3.2 dan juga membandingkan dengan *online library* (FoodDB, HMDB, Pubchem dan Mz Cloud). Penentuan senyawa dipilih menggunakan Annot deltamass 5 ppm. Kesesuaian MS2 dari senyawa yang teridentifikasi dianalisis menggunakan ThermoXcalibur 4.2. Hasil analisis menunjukkan ada 37 senyawa yang berhasil teridentifikasi, 32 diantaranya berada pada mode ionisasi positif dan 5 diantara-

nya berada pada mode ionisasi negatif, kromatogram ditampilkan pada Gambar 3.

Empat senyawa termasuk golongan flavonoid (kaemferol, afzelin, isokaemferid, 4''-O-Acetylafzelin). Delapan senyawa termasuk golongan terpenoid (zerumbone, kariopilena oksida, pulegone, timol, kurkumena, α -farnesen, 3,4 dihydrocaladene, p-simena). Sembilan senyawa termasuk golongan asam amino (asam pipekolat, isoleusin, asam gamma aminobutirat, prolin, L-valin, L-tirosin, L-fenilalanin, triptofan, dan 4 asam guanin butirat). Empat senyawa termasuk golongan asam fenolik (asam sitrat, asam malat, asam fumarat dan asam metilmalonat). Terdapat 2 senyawa golongan vitamin yaitu *choline* dan *demethylphyloquinone*. Terdapat beberapa golongan senyawa lain yaitu senyawa asam lemak, nukleotida, indol, *nacylpyrrolidines*, *quinic acids*, asam aspartat, *alkyl-phenyl ketones*, fenol, dibenzylbutanedio lignan dan monosakarida.

Kelompok flavonoid pada ekstrak metanol 80% rimpang bangle hitam adalah kaemferol, afzelin, isokamferid dan 4''-O-acetylafzelin. Kaemferol (3,4',5,7-tetrahidroksiflavon) adalah salah satu anggota flavonol yang tersebar pada banyak tanaman pada berbagai bagiannya seperti biji, daun, buah, dan bunga (Ren *et al.*, 2019; Imran *et al.*, 2019). Beberapa family *Zingiberaceae* juga mengandung kaemferol seperti pada *Kaempferia rotunda*. Kaemferol dan glikosidik derivatifnya dilaporkan menunjukkan bioaktivitas anti-inflamasi, antidiabetes, anti oksidan, antimikroba, anti tumor, dan antikanker (Calderon-Montano *et al.*, 2011), Kaemferol pada *K. rotunda* juga dilaporkan memiliki aktivitas antikanker, anti reumatik dan hepatoprotektif (Pan *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2018).

Pada kelompok flavonoid, afzelin merupakan senyawa dengan kandungan tertinggi dengan luas area $4,14 \times 10^9$. Afzelin juga dikenal dengan kaempferol 3-O-rhamnoside ditemukan pada berbagai tanaman seperti *Annona purpurea* dan *Phyllanthus emblica* (Mediani *et al.*, 2023). Afzelin dilaporkan mempunyai berbagai bioaktivitas seperti kaempferol seperti antioksidan, anti inflamasi, antikanker, antidiabetes, antibakteri, neuroprotektif dan kardioprotektif. Beberapa famili *Zingiberaceae* juga dilaporkan mengandung afzelin seperti pada *Zingiber zerumbet* (Murata *et al.*, 2017), *Stahlianthus involucratus* (Li *et al.*, 2021), dan *Curcuma longa* (Tran *et al.*, 2023). Afzelin pada ekstrak etil asetat dari rimpang *Z. zerumbet* dilaporkan mempunyai aktivitas antikolinesterase (Murata *et al.*, 2017). Kandungan asam amino dari tanaman telah banyak dilaporkan termasuk pada rimpang *Zingiberaceae* (Chumroenphat *et al.*, 2019). Ekstrak metanol 80% rimpang bangle hitam mengandung 9 jenis asam amino termasuk 4 asam amino esensial yaitu isoleusin, valin, fenilalanin dan triptofan. Asam amino esensial yang dominan adalah isoleusin dan fenilalanin (Tabel 2).



Gambar 3. Kromatogram rimpang bangle hitam menggunakan UHPLC- HRMS mode ionisasi positif (A) dan negatif (B)

Figure 3. Chromatogram of black bangle rhizome using UHPLC-HRMS with positive ionization mode (A) dan negative ionization mode (B)

Chumroenphat *et al.* (2019) melaporkan bahwa asam amino esensial yang dominan pada 8 jenis *Zingiberaceae* adalah isoleusin, fenilalanin dan triptofan. Asam amino valin tidak terdeteksi pada ke 8 jenis *Zingiberaceae* tersebut namun terdeteksi pada ekstrak bangle hitam. Asam amino pada tanaman *Zingiberaceae* juga telah dilaporkan. Pada rimpang *Etlingera Philippinensis*, isoleusin merupa-

kan salah satu senyawa penanda bersama dengan asam amino treonin, serine, glutamine, dan homoserine. Selain itu, asam gamma amino butirat juga terdeteksi pada rimpang *Curcuma longa* dan *Zingiber officinale*, *Alpinia hainanensis* dan *Amomum villosum* (Barbosa *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2023).

Tabel 2. Profil metabolit non volatil bangle hitam
Table 2. Non-volatile metabolite profile of black bangle

No	Nama Metabolit* (Metabolite Name)	Rumus Molekul (Molecular Formula)	Waktu Retensi (menit) (Retention Time (min))	Berat Molekul (Molecular Weight)	Mass Error (ppm)	Ion Fragment	Luas Area Relatif (%) (Relative Area (%))	Bioaktivitas** (Bioactivities)**	Sumber** (Source)**	Referensi (Reference)
<i>Flavonoid</i>										
1	<i>Kaempferol</i>	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	7.71	286.05	-2.85	287, 153, 121	1.07	Anti rheumatic: attenuated the rheumatic arthritis progression and inhibited cartilage destruction	<i>K. rotunda</i>	Pan et al. (2018)
								Anticancer: inhibited migration and invasion of several cancer cell lines	<i>K. rotunda</i>	Pan et al. (2018)
								Hepatoprotective activity: protect acute liver injury acute induced by overdose propacetamol (a prodrug of paracetamol)	<i>K. rotunda</i>	Tsai et al. (2018)
								Potent inhibitors of α-glucosidase enzyme, aldose reductase enzyme and glycation reaction	<i>Z. zerumbet</i>	Ajish et al. (2015)
2	<i>Afzelin</i>	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	7.71	432.1	-2.1	287, 129	3.85	Anti-Acetylcholinesterase and anti butyrylcholinesterase	<i>Z. zerumbet</i>	Murata et al. (2017)

No	Nama Metabolit* (Metabolite Name)	Rumus Molekul (Molecular Formula)	Waktu Retensi (menit) (Retention Time (min))	Berat Molekul (Molecular Weight)	Mass Error (ppm)	Ion Fragment	Luas Area Relatif (%) (Relative Area (%))	Bioaktivitas** (Bioactivities)**	Sumber** (Source)**	Referensi (Reference)
3	Isokaempferide	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	9.8	300.06	-2.09	286	0.08			
4	4''-O-Acetylfazelin	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₁	8.55	474.11	-2.57	287, 189, 171, 129	1.64			
<i>Amino acid</i>										
5	Pipecolic acid	C ₆ H ₁₁ NO ₂	1.12	129.08	-0.33	84	2.09	Therapeutic activity: asthma, hyperglycemia, cough, gout	Momordica charantia	Katrolia et al. (2024)
6	Isoleucine	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1.29	131.09	-1.45	86, 69	4.55	Therapeutic activity: hyperglycemia	Ficus religiosa, Momordica charantia	Katrolia et al. (2024)
7	Gamma aminobutyric acid	C ₄ H ₉ NO ₂	1.07	103.06	2.12	60	0.43	Therapeutic activity: asthma, hyperglycemia, cough, gout	Momordica charantia	Katrolia et al. (2024)
8	Proline	C ₅ H ₉ NO ₂	1.09	115.06	0.71	70	0.69			
9	L-Valine	C ₅ H ₁₁ NO ₂	1.12	117.08	0.41	72	1.52	Therapeutic activity: hyperglycemia	Momordica charantia	Katrolia et al. (2024)
10	L-Tyrosine	C ₉ H ₁₁ NO ₃	1.28	181.07	-0.55	165, 136, 123, 147	0.24	Therapeutic activity: asthma, vomiting, cough	Ficus religiosa	Katrolia et al. (2024)
11	L-Phenylalanine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	1.48	165.08	-1.18	120	3.88	Therapeutic activity: hyperglycemia	Momordica charantia	Katrolia et al. (2024)
12	Tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	4.18	204.09	-1.13	188, 159, 146, 149	0.99	Therapeutic activity: asthma, vomiting, cough	Ficus religiosa	Katrolia et al. (2024)
13	4-Guanidinobutyric acid	C ₅ H ₁₁ N ₃ O ₂	1.11	145.09	-0.71	146, 86, 87	0.39			
<i>Vitamin</i>										
14	Choline	C ₅ H ₁₃ NO	1.05	103.1	1.52	60	6.78			
15	Demethylphyloquinone	C ₃₀ H ₄₄ O ₂	14.32	436.33	-1.62	219, 201, 163, 151, 123	0.74			
<i>Sequesterpenoid</i>										
16	Zerumbone	C ₁₅ H ₂₂ O	14.38	218.17	-2.42	151, 123, 109, 81, 69	34.11	Immunomodulator, anti cancer	Z. zerumbet Z. montanum	Yuandani et al. (2023)

No	Nama Metabolit* (Metabolite Name)	Rumus Molekul (Molecular Formula)	Waktu Retensi (menit) (Retention Time (min))	Berat Molekul (Molecular Weight)	Mass Error (ppm)	Ion Fragment	Luas Area Relatif (%) (Relative Area (%))	Bioaktivitas** (Bioactivities)**	Sumber** (Source)**	Referensi (Reference)
17	<i>Caryophyllene oxide</i>	C ₁₅ H ₂₄ O	15.09	220.18	-2.1	203, 147, 123, 109, 95	0.12	Anticancer, anti inflammatory, anti microbial <i>Anticholinesterase, antioxidant, anticancer</i>	<i>Salvia verticillata subsp. amasiaca</i>	Devkota <i>et al.</i> (2021) Karakaya <i>et al.</i> (2020)
18	<i>(E,E)-alpha-Farnesene</i>	C ₁₅ H ₂₄	10.44	204.19	-1.39	149, 135, 123, 109	0.71	<i>Anti-inflammatory modulator of human neutrophils</i>	<i>Artemisia dracunculus</i>	Schepetkin <i>et al.</i> (2022)
19	<i>3,4-Dihydrocadalene</i>	C ₁₅ H ₂₀	14.32	200.16	0.79	173, 159, 145, 131, 107	0.40			
20	<i>Alpha-Curcumene</i>	C ₁₅ H ₂₂	15.54	202.17	-1.88	147, 133, 121, 107, 95	0.18			
<i>Fatty acid</i>										
21	<i>9-Oxo-ODE</i>	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	14.53	294.22	-2.06	277, 151, 95, 81	0.11			
<i>Nucleotide</i>										
22	<i>Hypoxanthine</i>	C ₅ H ₄ N ₄ O	1.25	136.04	-1.54	136	0.52			
<i>Monoterpenoid</i>										
23	<i>Pulegone</i>	C ₁₀ H ₁₆ O	5.32	152.12	-1.48	135, 113, 107, 93, 81	0.19	<i>Anti inflammatory, anti-hyperalgesic</i>	<i>Calamintha nepeta</i>	Hilfiger <i>et al.</i> (2021)
24	<i>Thymol</i>	C ₁₀ H ₁₄ O	14.32	150.1	-1.74	149, 121, 107, 93, 81	1.47	<i>Inhibition of lipogenesis in HepG2 cell</i>	<i>Curcuma longa</i>	Kang <i>et al.</i> (2020)
25	<i>p-cymene</i>	C ₁₀ H ₁₄	6.59	134.11	-0.95	107, 93, 91, 79	0.29			
<i>Indole</i>										
26	<i>Trans-3 indoleacrylic acid</i>	C ₁₁ H ₉ NO ₂	4.16	187.06	-0.83	149, 133, 118, 105	0.52			
<i>Nacetylpyrrolidines</i>										

No	Nama Metabolit* (Metabolite Name)	Rumus Molekul (Molecular Formula)	Waktu Retensi (menit) (Retention Time (min))	Berat Molekul (Molecular Weight)	Mass Error (ppm)	Ion Fragment	Luas Area Relatif (%) (Relative Area (%))	Bioaktivitas** (Bioactivities)**	Sumber** (Source)**	Referensi (Reference)
27	1-Hexadecanoylpyrrolidine	C ₂₀ H ₃₉ NO	19.34	309.3	-3.24	275, 149, 135, 111, 83	1.21			
<i>Quinic acids</i>										
28	Cynarine	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	9.89	516.13	-2.06	153, 111, 83	0.59	<i>α-glucosidase inhibitor</i>	<i>Dorema ammoniacum</i> D. Don	Etemadi-Tajbakhsh et al. (2020)
<i>Aspartic acid-derivate</i>										
29	Indoleacetylaspargate	C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₅	6.96	290.09	-2.68	245, 227, 188, 159, 130	0.37			
<i>Alkyl-phenyl ketones</i>										
30	Valerophenone	C ₁₁ H ₁₄ O	14.32	162.1	-1.23	145, 121, 105, 107	0.32			
<i>Phenol</i>										
31	P-cresol	C ₇ H ₈ O	14.32	108.06	1.32	109, 91, 81, 79, 67	0.24			
<i>Phenolic acid</i>										
32	Citric acid	C ₆ H ₈ O ₇	1.2	192.03	-3.79	111, 87, 85	5.32			
33	Malic acid	C ₄ H ₆ O ₅	1.11	134.02	-8.27	115, 71	43.89			
34	Fumaric acid	C ₄ H ₄ O ₄	1.13	116.01	-9.25	71	4.41			
35	Methylmalonic acid	C ₄ H ₆ O ₄	1.3	118.03	-9.04	99, 73	4.45			
<i>Dibenzylbutanediol lignans</i>										
36	Secoisolariciresinol	C ₂₀ H ₂₆ O ₆	7.81	362.17	-2.55	163, 149, 137, 123	0.14			
<i>Monosaccharide</i>										
37	D-Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	1.07	180.06	-5.03	101, 89, 71, 59	0.47			

Keterangan: *nama metabolit dan rumus molekul diperoleh dari UHPLC-HRMS, **bioaktivitas dan sumber dari literatur

Note: *metabolite name and molecular formula from UHPLC-HRMS, **bioactivities and source from reference

Beberapa asam amino isoleusin, fenilalanin, valin pada *Ficus religiosa* dan *Momordica charantia* dilaporkan mempunyai efek terapeutik terhadap kondisi hiperglikemia sedangkan asam gamma amino butirrat dan asam pipikolat mempunyai efek terapeutik terhadap kondisi asma, hiperglikemia, batuk, dan asam urat (Katrolia *et al.*, 2024).

Zerumbone merupakan golongan sesquiterpenoid yang banyak dilaporkan terkandung dalam tanaman *Zingiberaceae* (Devkota *et al.*, 2021). Penelitian ini menunjukkan bahwa zerumbone merupakan senyawa utama pada ekstrak metanol rimpang bangle hitam. Zerumbone juga merupakan senyawa utama pada rimpang *Z. zerumbet* (Yuandani *et al.*, 2023) dan *Z. montanum* (Hassan *et al.*, 2019).

Zerumbone dilaporkan mempunyai aktivitas anti kanker, anti-inflamasi, anti mikroba, antioksidan, dan hepatoprotektif. Aktivitas anti kanker zerumbone telah dilaporkan pada berbagai penelitian baik dengan cara *in vivo* dan *in vitro* serta *in silico*. Penelitian tersebut telah dilakukan pada berbagai jenis sel kanker seperti sel, MCF-7 sel, Jurkat sel, Hep G2 sel. Penelitian aktivitas anti-inflamasi zerumbone juga menggunakan berbagai model dengan cara *in vitro* dan *in vivo* (Girisa *et al.*, 2019; Yuandani *et al.*, 2023).

Jenis sesquiterpenoid pada rimpang bangle hitam adalah kariofilena oksida, α -farnesen, 3,4-dihydrocadalene dan α -kurkumena. Kariofilena oksida dilaporkan mempunyai aktivitas anti kolinesterase, antioksidan, dan anti kanker (Karakaya *et al.*, 2020) sedangkan α -farnesene mempunyai aktivitas anti inflamasi modulator pada neutrophil manusia (Schepetkin *et al.*, 2022).

Ekstrak rimpang bangle hitam juga terdeteksi golongan terpenoid yaitu pulegone, timol, dan p-simena. Pulegone dari *Calamintha nepeta* dilaporkan mempunyai aktivitas anti inflamasi dan hiperalgiesik (Hilfiger *et al.*, 2021). Timol pada *Curcuma longa* dilaporkan dapat menghambat adipogenesis pada sel HepG2 (Kang *et al.*, 2020). Beberapa senyawa yang diidentifikasi menggunakan UHPLC HRMS ini dilaporkan mempunyai aktivitas biologis yang berbeda, baik sebagai anti inflamasi, anti kanker, imunomodulator, ataupun lainnya. Oleh karena itu rimpang bangle hitam ini mempunyai potensi juga untuk mempunyai aktivitas yang dipunyai oleh masing masing senyawa yang telah terdeteksi.

KESIMPULAN

Profil senyawa volatil dan non volatil rimpang bangle hitam telah dapat diidentifikasi pada studi ini. Profil tersebut memberikan gambaran yang menyeluruh senyawa yang terkandung dalam rimpang bangle hitam. Senyawa volatil yang teridentifikasi menggunakan SPME GC-MS adalah sebanyak 31 jenis senyawa yang didominasi oleh senyawa monoterpen

sebesar 54%. Komponen volatil utama adalah β -fellandrena, β -pinena, humulena, dan terpinen-4-ol, γ -terpinena, α -pinena, masing masing sebesar 27,1; 11,6; 11,6; 8,2; 5,8; dan 3,3% berturut-turut. Aroma yang dapat dihasilkan oleh komponen volatil utama tersebut merupakan aroma *mint*, *terpentine*, aroma herbal, pinus, segar, aroma jeruk-jerukan, dan aroma kayu.

Senyawa non volatil pada rimpang bangle hitam yang dapat diidentifikasi menggunakan UHPLC HRMS adalah sebanyak 37 senyawa. Senyawa yang dominan adalah zerumbone, kolin, isoleusin, fenilalanin, afzelin, dan asam malat. Rimpang bangle hitam yang kaya akan senyawa metabolit seperti zerumbone dan afzelin memiliki potensi aktivitas biologis seperti anti-inflamasi dan imunomodulator. Rimpang bangle hitam dapat dimanfaatkan untuk pengembangan produk fungsional di masa depan

DAFTAR PUSTAKA

- Agüera, A., Martínez-Piernas, A. B., & Campos-Mañas, M. C. (2017). Chapter 3 - Analytical strategies used in HRMS. In *Applications in high resolution mass spectrometry*, (pp. 59–82). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809464-8.00003-8>
- Ajish, K. R., Antu, K. A., Riya, M. P., Preetharani, M. R., Raghu, K. G., Dhanya, B. P., & Radhakrishnan, K. V. (2015). Studies on α -glucosidase, aldose reductase and glycation inhibitory properties of sesquiterpenes and flavonoids of *Zingiber zerumbet* Smith. *Natural Product Research*, 29(10), 947–952. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.956741>
- Akiyama, K., Kikuzaki, H., Aoki, T., Okuda, A., Lajis, N. H., & Nakatani, N. (2006). Terpenoids and a diarylheptanoid from *Zingiber ottensii*. *Journal of Natural Products*, 69(11), 1637–1640. <https://doi.org/10.1021/np0603119>
- Barbosa, G. B., Jayasinghe, N. S., Natera, S. H. A., Inutan, E. D., Peteros, N. P., & Roessner, U. (2017). From common to rare *Zingiberaceae* plants-A metabolomics study using GC-MS. *Phytochemistry*, 140, 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.05.002>
- Calderon-Montano, J. M., Burgos-Morón, E., Pérez-Guerrero, C., & López-Lázaro, M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(4), 298–344. <https://doi.org/10.2174/138955711795305335>
- Campelo, P. H., Filho, E. G. A., Silva L. M. A., de Brito, E. S., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. N. (2020). Modulation of aroma and flavor using

- dielectric barrier discharge plasma technology in a juice rich in terpenes and sesquiterpenes. *LWT*, 130, 109644. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109644>
- Chen, T. V., Boonma, T., & Hien, N. T. T. (2025). An overview of the chemical compositions and biological activities of essential oils from selected *Zingiber* species (*Zingiberaceae*). *Natural Product Communications*, 20(3). <https://doi.org/10.1177/1934578X251329422>
- Chumroenphat, T., Somboonwatthanaku, I., Saensouk, S., & Siriamornpun, S. (2019). The diversity of biologically active compounds in the rhizomes of recently discovered *Zingiberaceae* plants native to North Eastern Thailand. *Pharmacognosy Journal*, 11(5), 1014–1022. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.160>
- Devkota, H. P., Paudel, K. R., Hassan, M. M., Dirar, A. I., Das, N., Adhikari-Devkota, A., Echeverría, J., Logesh, R., Jha, N. K., Singh, S. K., Hansbro, P. M., Chan, Y., Chellappan, D. K., & Dua, K. (2021). Bioactive compounds from *Zingiber montanum* and their pharmacological activities with focus on zerumbone. *Applied Science*, 11(21), 102025. <https://doi.org/10.3390/app112110205>
- Etemadi-Tajbakhsh, N., Faramarzi, M. A., & Delnavazi, M. R. (2020). 1, 5-dicaffeoylquinic acid, an α -glucosidase inhibitor from the root of *Dorema ammoniacum* D. Don. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 15(5), 429–436. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.297845>
- Girisa, S., Shabnam, B., Monisha, J., Fan, L., Halim, C. E., Arfuso, F., Ahn, K. S., Sethi, G., & Kunnumakkara, A. B. (2019). Potential of zerumbone as an anti-cancer agent. *Molecules*, 24(4), 734. <https://doi.org/10.3390/molecules24040734>
- Gururani, S., Gairola, K., Kumar, R., Prakash, O., & Dubey, S. K. (2022). Altitudinal and geographical variations in phytochemical composition and biological activities of *Curcuma longa* accession from Uttarakhand, the Himalayan region. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), 16384. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16384>
- Hassan, M. M., Adhikari-Devkota, A., Imai, T., & Devkota, H. P. (2019). Zerumbone and kaempferol derivatives from the rhizomes of *Zingiber montanum* (J. Koenig) Link ex A. Dietr. from Bangladesh. *Separations*, 6(2), 31. <https://doi.org/10.3390/separations6020031>
- Hilfiger, L., Triaux, Z., Marcic, C., Héberlé, E., Emhemmed, F., Darbon, P., Marchioni, E., Petitjean, H., & Charlet, A. (2021). Anti-hyperalgesic properties of menthol and pulegone. *Frontiers in Pharmacology*, 12(2021), 753873. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.753873>
- Hong, K., Xu, Z., Wang, L., Johnpaul, A., Cheng, Y., Lv, C., & Ma, C. (2022). Varietal differences in the phytochemical components' accumulation and aroma profile of three *Humulus lupulus* cultivars. *Food Control*, 132, 108499. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108499>
- Huang, B., Wang, G., Chu, Z., & Qin, L. (2012). Effect of oven drying, microwave drying, and silica gel drying methods on the volatile components of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) by HS-SPME-GC-MS. *Drying Technology*, 30(3), 248–255. <https://doi.org/10.1080/07373937.2011.634976>
- Huong, L. T., Chung, N. T., Huong, T. T., Sam, L. N., Hung, N. H., Ogunwande, I. A., Dai, D. N., Linh, L. D., & Setzer, W. N. (2020). Essential oils of *Zingiber* species from Vietnam: chemical compositions and biological activities. *Plants*, 9(10), 1269. <https://doi.org/10.3390/plants9101269>
- Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Gondal, T. A., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., Fokou, P. V. T., Arshad, M. U., Khan, H., & Guerreiro, S. G. (2019). Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 24(12), 2277. <https://doi.org/10.3390/molecules24122277>
- Joguet, N., Jing, L., Jamois, F., & Dumargue, P. (2023). Characterization of volatile organic compounds (VOCs) from farms effluents: interest of HS-SPME-GC-MS technique for laboratory and field test. *Atmosphere*, 14(6), 928. <https://doi.org/10.3390/atmos14060928>
- Juna'ia. (2019). Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi rimpang bangle hantu (*Zingiber ottensii*) dengan menggunakan metode DPPH dan CUPRAC. [Laporan Tugas Akhir]. Bandung (ID): Universitas Bhakti Kencana.
- Kang, D. H., Lee, Y. S., Oh, S. M., Yoon, D., Choi, D. J., Kwon, D. Y., Kang, O. H., & Lee, D. Y. (2020). Inhibitory effects of thymol isolated from *Curcuma longa* L. on Adipogenesis in HepG2 cells. *Processes*, 8(9), 1191. <https://doi.org/10.3390/pr8091191>
- Karakaya, S., Yilmaz, S. V., Özdemir, Ö., Koca, M., Pinar, N. M., Demirci, B., Yıldırım, K., Sytar, O., Turkez, H., & Baser, K. H. C. (2020). A caryophyllene oxide and other potential anticholinesterase and anticancer agent in *Salvia verticillata* subsp. amasiaca (Freyn & Bornm.) Bornm. (Lamiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 32(6), 512–525. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1813212>

- Karnchanatat, A., Tiengburanatam, N., Boonmee, A., Puthong, S., & Sangvanich, P. (2011). Zingipain, a cysteine protease from *Zingiber ottensii* Valetton rhizomes with antiproliferative activities against fungi and human malignant cell lines. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 41(2), 138–153. <https://doi.org/10.1080/10826068.2011.547347>
- Katrolia, A., Pal, V., Shukla, V. K., & Singh, R. (2024). Exploring the therapeutic potential of herbal plants in managing blood sugar levels: a comprehensive evaluation. *Pharmacognosy Research*, 16(1), 10–18. <https://doi.org/10.5530/pres.16.1.2>
- Li, W., Wu, B., Wang, Y., Lin, Y., An, L., & Zhang, G. (2021). The potential antioxidant activity and characterization of bioactive compounds of *Stahlianthus involucrat*. *BioMed Research International*, 2021(1), 949012. <https://doi.org/10.1155/2021/9490162>
- Ly, S. N., Truong, V. B., & Huong, L. T. (2016). *Zingiber ottensii* Valetton (Zingiberaceae) — a newly recorded species for Vietnam. *Bioscience Discovery*, 7(2), 93–96.
- Mediani, A., Hamezah, H. S., Rohani, E. R., Kamal, N., Perumal, V., Salim, F., Rozlan, I. N., Hellal, K., Mahmood, S., & Al-Mekhlafi, N. A. (2023). Afzelin: advances on resources, biosynthesis pathway, bioavailability, bioactivity, and pharmacology. In *Handbook of Dietary Flavonoids*, 1–45. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-94753-8_63-1
- Muhandri, T., Subarna, Agista, A. Z., Hariyadi, P., & Aminullah. (2019). Optimization of drying process of corn noodles using fluidized bed dryer. *Science Study & Research: Chemistry & Chemistry Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 20(1), 43–52.
- Muhandri, T., Taqi, F. M., Subarna, S., & Widiawati, D. (2023). Karakteristik pengeringan rempah daun menggunakan fluidized bed drier dan tray drier. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 34(2), 187–199. <https://doi.org/10.6066/jtip.2023.34.2.187>
- Murata, K., Ishida, Y., Nishio, A., Nakagawa, S., Kawamoto, H., & Matsuda, H. (2017). Screening of spice extracts possessing anti-acetylcholinesterase activity and active principle of bitter ginger, rhizome of *Zingiber zerumbet*. *Natural Product Communications*, 12(7), 1053–1056. <https://doi.org/10.1177/1934578X1701200713>
- Pan, D., Li, N., Liu, Y., Xu, Q., Liu, Q., You, Y., Wei, Z., Jiang, Y., Liu, M., Guo, T., & Cai, X. (2008). Kaempferol inhibits the migration and invasion of rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes by blocking activation of the MAPK pathway. *International Immunopharmacology*, 55, 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.12.011>
- Pang, X., Cao, J., Wang, D., Qiu, J., & Kong, F. (2017). Identification of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) volatiles and localization of aroma-active constituents by GC–Olfactometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(20), 4140–4145. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00559>
- Pant, P., Pandey, S., & Dall'Acqua, S. (2021). The influence of environmental conditions on secondary metabolites in medicinal plants: A literature review. *Chemistry & Biodiversity*, 8(11), e2100345. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100345>
- Paramita, A., Wibowo, I., & Insanu, M. (2021). A study of genus *Zingiber*: The role of condiments in science. *Current Research on Biosciences and Biotechnology*, 3(1), 186–195. <https://doi.org/10.5614/crb.2021.3.1/CKHEYSRT>
- Ren, J. I., Lu, Y., Qian, Y., Chen, B., Wu, T. A., & Ji, G. (2019). Recent progress regarding kaempferol for the treatment of various diseases. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18(4), 2759–2776. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7886>
- Rosalina, D., Yuliana, N. D., Anggraeni, R., & Prangdimurti, E., (2023). Immunostimulant compounds identification in Indonesian underutilized *Zingiberaceae* spices. *Molekul*, 18(3), 508–523. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2023.18.3.7589>
- Schepetkin, I. A., Özek, G., Özek, T., Kirpotina, L. N., Khlebnikov, A. I., Klein, R. A., & Quinn, M. T. (2022). Neutrophil immunomodulatory activity of farnesene, a component of *Artemisia dracuncul* essential oils. *Pharmaceuticals*, 15(5), 642. <https://doi.org/10.3390/ph15050642>
- Setiawati, A. (2020). Pengaruh kombinasi simplisia rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val) dengan simplisia daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) terhadap tekanan darah pada tikus wistar jantan obes. [Laporan Tugas Akhir]. Bandung (ID): Universitas Bhakti Kencana.

- Shen, D. Y., Li, M. K., Song, H. L., Zou, T. T., Zhang, L., & Xiong, J. (2021). Characterization of aroma in response surface optimized no-salt bovine bone protein extract by switchable GC/GC× GC-olfactometry-mass spectrometry, electronic nose, and sensory evaluation. *LWT*, 147, 111559. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111559>
- Sinaga, E., Suprihatin, & Wiryanti, I. (2013). Anticancer Activity of Bangle Hantu (*Zingiber officinale* Val.) Rhizomes on Breast cancer Cell Line MCF-7. *Proceeding of The 4th International Conference Green Technology*, 9 November 2013, Indonesia. 86–92.
- Sommano, S. R., & Tangpao, T. (2021). Aromatic profile of rhizomes from the ginger family used in food. In *Aromatic Herbs in Food*. 123–165. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822716-9.00004-4>
- Sulaeman, A., Patonah, & Negara, G. G. (2018). Black bangle (*Zingiber officinale* Val.) rhizome and katuk leaves (*Sauropus androgynus* L. Merr.) extract combination protective role on adipose tissues histologic profile of high-fat and carbohydrate diet-induced obese male rats. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(1), 225–228. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11s1.26613>
- Suprihatin, Wiryanti, I., Syairendra, F., & Sinaga, E. (2020). Potensi ekstrak rimpang bangle hantu (*Zingiber officinale*) sebagai bahan nefroprotektif. *Kalwedo Science (KASA)*, 1(1), 10–19 <https://doi.org/10.30598/kasav1i1p10-19>
- Tian, H., Xu, X., Chen, C., & Yu, H. (2019). Flavoromics approach to identifying the key aroma compounds in traditional Chinese milk fan. *Journal of Dairy Science*, 102(11), 9639–9650. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16796>
- Tiengburanatham, N., Boonmee, A., Sangvanich, P., & Karnchanatat, A. (2010). A novel α-glucosidase inhibitor protein from the rhizomes of *Zingiber officinale* Valet. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(7), 1938–1951. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-8971-7>
- Tran, G. H., Lee, H. D., Kim, S. H., Lee, S., & Lee, S. (2023). Profiling of the leaves and stems of *Curcuma longa* using LC-ESI-MS and HPLC analysis. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 66(1), 338–344. <https://doi.org/10.3839/jabc.2023.046>
- Tsai, M. S., Wang, Y. H., Lai, Y. Y., Tsou, H. K., Liou, G. G., Ko, J. L., & Wang, S. H. (2018). Kaempferol protects against propacetamol induced acute liver injury through CYP2E1 inactivation, UGT1A1 activation and attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis in mice. *Toxicology Letters*, 290, 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.03.024>
- Tunnisa, F., Faridah, D. N., Afriyanti, A., Rosalina, D., Syabana, M. A., Darmawan, N., & Yuliana, N. D. (2022). Antioxidant and antidiabetic compounds identification in several Indonesian underutilized Zingiberaceae spices using SPME-GC/MS-based volatilomics and *in silico* methods. *Food Chemistry: X*, 14, 100285. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100285>
- Utami, M. R., Prihastanti, E., & Suedy, S. W. (2016). Pengaruh irisan rimpang terhadap berat kering dan performa simplisia lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) setelah pengeringan. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 1(1), 1–5. <https://doi.org/10.14710/baf.1.1.2016.1-5>
- Wall, M. M., Mille, S., & Siderhurst, M. S. (2018). Volatile changes in Hawaiian noni fruit, *Morinda citrifolia* L., during ripening and fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(9), 3391–3399. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8850>
- Wang, Z., Su, D., Ren, H., Lv, Q., Ren, L., Li, Y., & Zhou, H. (2022). Effect of different drying methods after fermentation on the aroma of Pu-erh tea (ripe tea). *LWT*, 171, 114129. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114129>
- Wood, M. (2019). High-resolution mass spectrometry: an emerging analytical method for drug testing. In *Critical Issues in Alcohol and Drugs of Abuse Testing*. 173–188. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815607-0.00014-9>
- Wu, Y., Xin, R., Liang, M., Zhang, Z., Guan, W., Wang, R., & Liu, Y. (2023). Investigation on the changes of odor-active compounds of Amomum tsao-ko during natural drying. *Journal of Food Composition and Analysis*, 122, 105432. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105432>
- Yashin, A., Yashin, Y., Xia, X., & Nemzer, B. (2017). Antioxidant activity of spices and their impact on human health: A review. *Antioxidants*, 6(3), 70. <https://doi.org/10.3390/antiox6030070>
- Yuandani, Jantan, I., Haque, M. A., Rohani, A. S., Nugraha, S. E., Salim, E., Septama, A. W., Juwita, N. A., Khairunnisa, N. A., Nasution, H. R., & Utami, D. S. (2023). Immunomodulatory effects and mechanisms of the extracts and secondary compounds of *Zingiber* and *Alpinia* species: a review. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1222195. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1222195>
- Yuliana, N. D., Arifin, A. S., & Rafi, M. (2020). Multiple spectroscopic fingerprinting platforms for rapid characterization of α-glucosidase inhibitors and antioxidants from some commonly consumed Indonesian vegetables and spices. *Journal of*

Food Measurement and Characterization, 14(3), 1699–1707. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00418-z>

Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y., & Wang, X. (2012). Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*, 137(2), 293–300. <https://doi.org/10.1039/C1AN15605E>

Zhang, Y., Su, R., Yuan, H., Zhou, H., Jiangfang, Y., Liu, X., & Luo, J. (2023). Widely targeted volatilomics and metabolomics analysis reveal

the metabolic composition and diversity of *Zingiberaceae* plants. *Metabolites*, 13(6), 700. <https://doi.org/10.3390/metabo13060700>

Zhao, Y., Chen, Y., Gao, M., Wu, L., & Wang, Y. (2023). Comparative investigation of key aroma terpenoids of *Litsea cubeba* essential oil by sensory, chromatographic, spectral and molecular studies. *LWT*, 176, 114519. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114519>