

**PENGARUH PROSES FERMENTASI BAWANG PUTIH LANANG
(*Allium sativum* L.) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN
METODE DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL)**

Lilis Tuslinah, Rani Yulifah Elkanawati, Rosmaya Dewi
Program Studi S-1 Farmasi Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya
Jl. Cilolohan No. 36 Tasikmalaya 46115
e-mail : lilituslinah@universitas-bth.ac.id

Received: 23 / 10 / 2022; Reviewed : 01 / 11 / 2022 Accepted: 16 / 12 / 2022 ; Available online: 31 / 12 / 2022

ABSTRACT

Lanang garlic (Allium sativum L.) is a white tuber that contains allicin as the main antioxidant. Garlic can be processed by fermentation and produce black garlic or black garlic. The processing can allow for differences in the antioxidant activity of lanang garlic and black garlic. This studied aims to determine the antioxidant activity of lanang garlic that has been fermented into black garlic using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) radical reduction method. Simplicia was extracted in stages using the maceration method with n-hexane, ethyl acetate, ethanol as solvents. The antioxidant activity calculated as IC₅₀ black garlic from n-hexane, ethyl acetate and ethanol extracts were 73.1962 ppm, 18.7779 ppm, 8.6284 ppm respectively, while the IC₅₀ of n-hexane, ethyl acetate and ethanol extract of garlic lanang was 97.5 pp, 28.3049 ppm, 20.8787 ppm respectively. Black garlic has better antioxidant activity than lanang garlic.

Key words : Lanang garlic (Allium sativum L.), Black garlic, Antioxidant, DPPH

ABSTRAK

Bawang putih lanang (*Allium sativum* L.) merupakan umbi lapis berwarna putih yang mengandung senyawa allicin sebagai antioksidan utamanya. Bawang putih dapat diolah dengan cara fermentasi dan menghasilkan bawang hitam atau *black garlic*. Proses pengolahan dapat memungkinkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan yang dimiliki bawang putih dengan *black garlic*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan antara bawang putih lanang yang telah difermentasi menjadi *black garlic* menggunakan metode peredaman radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Simplisia diekstraksi secara bertingkat menggunakan metode maserasi dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol. Aktivitas antioksidan yang dihitung sebagai IC₅₀ *black garlic* dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol berturut-turut sebesar 73,1962 ppm; 18,7779 ppm; dan 8,6284 ppm, sedangkan IC₅₀ dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol bawang putih lanang secara berurutan sebesar 97,5 ppm; 28,3049 ppm; dan 20,8787 ppm. *Black garlic* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan bawang putih lanang.

Kata kunci : Bawang putih lanang (*Allium sativum* L.), *Black garlic*, Antioksidan, DPPH.

PENDAHULUAN

Radikal bebas (Bahasa Latin: *radicalis*) adalah molekul yang mempunyai sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan (Robins, 2007). Radikal bebas adalah bentuk radikal yang sangat reaktif dan mempunyai waktu paruh yang sangat pendek. Jika radikal bebas tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat (Kunwar A, 2011). Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu munculnya berbagai penyakit, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker (Winarsi, 2007). Reaktifitas radikal bebas dapat dihambat oleh suatu antioksidan (Kumalaningsih, 2006).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas (Winarsi, 2007). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Hertiani, T., Pramono, 2000). Berdasarkan sumbernya, antioksidan eksogen dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik (Winarsi, 2007). Antioksidan alami dapat dipilih sebagai sumber antioksidan yang aman untuk dikembangkan (Majewksi, 2014)

Organosulfur dan senyawa fenolik sebagai antioksidan yang terdapat dalam kandungan bawang putih memegang peranan sangat penting untuk mencegah kerusakan sel dan organ dari proses oksidasi (Prasonto, D., Riyanti, E., Gartika, 2017). Senyawa fenolik dari bawang putih memiliki kelompok berjumlah satu atau lebih yaitu sebagai donor proton hidrogen dan menetralkan radikal bebas (Prasonto, D., Riyanti, E., Gartika, 2017). Antioksidan melindungi tubuh dari radikal bebas dan efek *Reactive Oxygen Species* (ROS). *Reactive Oxygen Species* (ROS) seperti anion superoksida (O_2^-), hidroksil ($-OH$), peroksil (ROO^-), radikal alkoksil (RO^-), dan hidrogen peroksida (H_2O_2) inilah yang akan menyerang protein, lipid dan atau membuat kerusakan DNA sehingga menyebabkan penyakit (Gawad M.A, Aziz M.A., Sayed M.E. & E.A, 2014).

Bawang putih mengandung vitamin- vitamin, seperti A, B dan C, serta merupakan antioksidan yang baik (Rahmawati, 2012). Kandungan utamanya yang berkhasiat sebagai antioksidan kuat adalah *S-allyl cysteine* (SAC) (Kumalaningsih, 2006). Selain *S-allyl cysteine* (SAC), Senyawa antioksidan lain yang terdapat dalam bawang putih adalah allisin, senyawa polar fenolik dan steroid (Gebreyohannes, G. Gebreyohannes, 2013), diallil sulfida (Jaksa, 2010) dan flavonoid (Kim, M.Y., S.W. Choi., 2000).

Bawang putih (*Allium sativum* L.) memiliki varietas yang bermacam-macam, salah satu diantaranya adalah bawang putih lanang (Wibowo, 2007). Bawang putih lanang merupakan varietas bawang putih yang terbentuk secara tidak sengaja karena lingkungan penanaman yang tidak cocok (Wibowo, 2007). Umbi dari tanaman ini hanya berisi satu umbi utuh yang kecil. Bawang putih lanang memiliki bau yang sangat tajam bila dibandingkan dengan bawang yang lain (Wibowo, 2007). Bawang putih lanang mempunyai aktivitas imunostimulan pada mencit yang diinduksi *Escherichia coli* (Oki Sandra Agnesa, Herawati Susilo, 2017), aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Nadia Pudiarianti, 2022), aktivitas sebagai antioksidan (Salma Fadhilah Azhar, 2021).

Bawang putih dapat diolah dengan cara fermentasi dan menghasilkan bawang hitam atau *black garlic* (Banerjee, S.K., Pulok K. Mukherjee., 2013). Di beberapa negara seperti China dan Korea sudah banyak produk olahan yang berasal dari bawang putih salah satunya adalah *black garlic*. *Black garlic* merupakan produk fermentasi dari bawang putih yang dipanaskan pada suhu 60 – 70°C dalam kondisi kelembapan yang dikontrol tanpa penambahan zat lainnya (Kang, 2016).

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan antara bawang putih lanang dengan *black garlic* pada fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah neraca analitik (Mettler Toledo), *rotary evaporator vacum* (EYELA OSB-2100), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis), tanur (wisetherm), plat silika gel GF254, oven (Memmert), mikroskop (SMIC) , dan peralatan gelas laboratorium

Bahan

Bahan yang digunakan adalah n-heksana, etil asetat, etanol (PT. Brataco®), DPPH (Sigma Aldrick®), metanol p.a (e-merck®), vitamin C (e-merck®), $FeCl_3$ (e-merck®) , NaOH (e-merck®),

toluene(e-merck®), CHCl₃(e-merck®), eter (e-merck®), KI (Sigma Aldrick®), I₂, Bismutsubnitrat (Sigma Aldrick®), H₂SO₄ (e-merck®) dan HCl (e-merck®)

Determinasi Tanaman

Determinasi bawang putih lanang dan *black garlic* dilakukan di Fakultas Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung No. 1052/II.CO2.2/PL/2017. Determinasi bertujuan untuk memastikan identitas tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan secara organoleptik dengan melihat karakteristik meliputi ukuran, bentuk, warna, bau dan rasa. Sedangkan pemeriksaan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk mengetahui fragmen pengenal meliputi parenkim, epidermis, serabut, berkas pengangkut, korteks, serabut sklerenkim dan trakea yang ada dalam bawang putih lanang dan *black garlic*

(Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017)

Penetapan Parameter Mutu Simplisia Bawang Putih Lanang dan *Black Garlic*

Parameter mutu bawang putih lanang dan *black garlic* meliputi kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air dan kadar air.

Penetapan Kadar Abu Total diperoleh dengan cara memijarkan simplisia sampai terbentuk abu Kadar abu total dihitung terhadap berat uji, dinyatakan dalam % b/b.

Penetapan Kadar Abu tidak Larut Asam dihitung nilai kadar abu yang tidak larut asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b

Penetapan Kadar Air dilakukan menggunakan metode azeotrope dan dihitung volume air setelah air dan toluena memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam % v/b.

Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Air diperoleh dengan cara melarutkan simplisia dalam air kemudian disaring dan diuapkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam % sari larut air Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Etanol diperoleh dengan cara melarutkan simplisia dalam etanol dan saring untuk menghindari kemudian uapkan pada 105°C dan Hitung kadar dalam % sari larut etanol. (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017)

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada bawang putih lanang dan *black garlic* serta ekstrak bawang putih lanang dan *black garlic*. Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan senyawa, alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, steroid, triterpenoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid serta tanin dan polifenol (Farnsworth, N.R).

Ekstraksi Bawang Putih Lanang dan *Black Garlic*

Bawang putih lanang dan *black garlic* masing-masing sebanyak 500 gram diekstraksi dengan cara maserasi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol. Masing-masing ekstrak yang didapatkan ditampung dan diuapkan hingga pekat dengan menggunakan *rotary evaporator* dilanjutkan dengan penguapan pada watherbath. (Anna Capasso, 2013).

Pemantauan Ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemantauan ekstrak dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa dalam masing-masing ekstrak dan memilih eluen terbaik untuk uji kualitatif dengan metode DPPH. Pemantauan ekstrak dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak N-Heksana : Etil Asetat (7:3) pada Ekstrak N-Heksana, Fase Gerak N-Heksana : Etil Asetat (2:8) pada Ekstrak Etil Asetat dan Fase Gerak Butanol : Asam Asetat : Air (6:1:3). Kemudian dilakukan penotolan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) dan dielusi. Setelah dielusi plat dikeringkan, dilihat bercak pada sinar UV 254 nm dan 365 nm (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017)

Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Menggunakan KLT

Ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol bawang putih lanang dan *black garlic* diuji aktivitas antioksidannya secara kualitatif dengan metode KLT dengan menggunakan plat silika gel GF254 dielusi dengan fase gerak N-Heksana : Etil Asetat (7:3) pada Ekstrak N-Heksana, Fase Gerak N-Heksana : Etil Asetat (2:8) pada Ekstrak Etil Asetat dan Fase Gerak Butanol : Asam Asetat : Air (6:1:3). Untuk menentukan bercak yang mempunyai aktivitas antioksidan, pereaksi semprot yang digunakan adalah larutan DPPH 0,2% dalam metanol dengan hasil positif berupa zona kuning dengan latar belakang ungu (Erawati, 2012).

Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan dengan Spektrofotometer UV-Vis

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 500 ppm dibuat dengan cara melarutkan 50 mg DPPH dalam 100 mL metanol p.a. Kemudian encerkan menjadi 50 ppm, ambil 1 mL DPPH 50 ppm ditambahkan dengan 1 mL metanol p.a. Selanjutnya ditentukan panjang gelombang maksimumnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, 2004) (Erna Cahyaningsih, Putu Era Sandhi Kusuma Yuda, 2019).

b. Penentuan *Operating Time*

Masukkan larutan DPPH dan larutan uji ekstrak, diinkubasi dan diukur tiap lima menit sekali pada panjang gelombang maksimum DPPH yang telah diperoleh, sehingga didapat rentang waktu yang stabil yang selanjutnya dijadikan acuan untuk waktu pengukuran aktivitas antioksidan.

c. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Pembanding

Pembanding yang digunakan adalah vitamin C. Sampel dan pembanding dibuat 6 variasi konsentrasi, kemudian diambil 1 mL dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 50 ppm. Campuran larutan kemudian dikocok hingga homogen dan diinkubasi dalam ruang gelap dengan waktu yang diperoleh dari hasil *operating time*. Selanjutnya ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH, kemudian dihitung % peredaman radikal DPPH oleh sampel dan pembanding, menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(\frac{A_{DPPH} - A_{Sampel}}{A_{DPPH}} \right) \times 100\%$$

d. Penentuan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ diperoleh dari konsentrasi sampel atau pembanding terhadap persen inhibisinya yang diplot pada sumbu x dan y. Kemudian dibuat persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀.

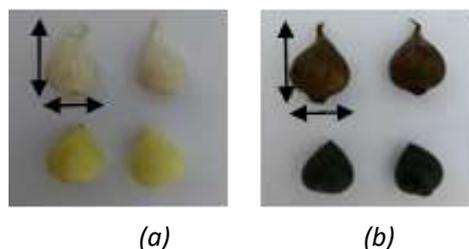
HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Berdasarkan hasil determinasi meliputi ciri – ciri morfologi dari umbi yang dilakukan di Fakultas Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung, sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang putih lanang dan *black garlic* dengan nama latin *Allium sativum* L.

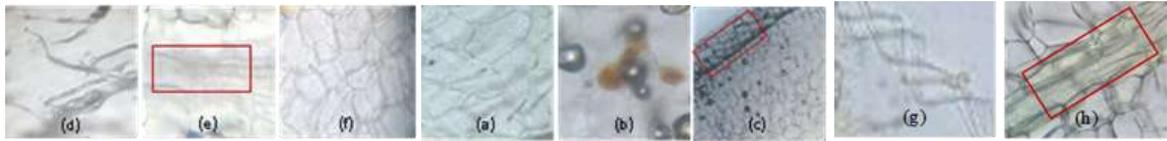
Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik

Dari pemeriksaan makroskopik diperoleh hasil dari bawang putih lanang yaitu berupa umbi tunggal, berbentuk hampir bulat, berwarna putih kekuningan, bau khas menyengat, dan rasa agak pahit. Sedangkan *black garlic* bertekstur lembut, rasanya menjadi sedikit manis, dan terasa kenyal, serta baunya yang tidak terlalu tajam.

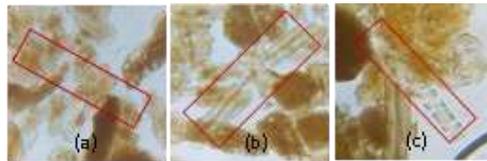


Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Makroskopik (a) Bawang putih lanang; (b) *Black garlic*

Hasil pemeriksaan mikroskopik menunjukkan bahwa dalam bawang putih lanang dan *black garlic* terdapat fragmen-fragmen seperti yang terlihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Hasil pemeriksaan mikroskopik bawang putih lanang, (a) Parenkim, (b) Parenkim dengan tetes minyak, (c) Epidermis, (d) Serabut, (e) Berkas pengangcut, (f) Korteks, (g) Serabut sklerenkim, (h) Trakea.



Gambar 3. Hasil pemeriksaan mikroskopik *black garlic* (a) Serabut, (b) Berkas pengangcut, (c) Serabut sklerenkim

Pemeriksaan Parameter Mutu Bawang Putih Lanang dan *Black Garlic*

Pemeriksaan parameter bawang putih lanang dan *black garlic* meliputi kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar air. Hasil pemeriksaan parameter bawang putih lanang dan *black garlic* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Parameter Mutu Bawang Putih Lanang dan *Black Garlic*

Parameter	Kadar (%)	
	Bawang Putih Lanang	<i>Black Garlic</i>
Kadar sari larut air	30,0237	38,7348
Kadar sari larut etanol	28,3783	37,1103
Kadar abu total	1,1948	1,3097
Kadar abu tidak larut asam	0,6099	0,5249
Kadar air	44,9940	29,9950

Penentuan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui gambaran jumlah senyawa yang tersari dalam pelarut air dan pelarut etanol (Saefudin, A., Rahayu, V., Teruna, 2011). Berdasarkan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017) kadar sari larut air tidak kurang dari 5% dan kadar sari larut etanol tidak kurang dari 4%. Nilai yang didapat pada penetapan ini telah memenuhi persyaratan. Hasil penentuan kadar sari larut air lebih besar dibandingkan kadar sari larut etanol, menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang bersifat polar pada bawang putih lanang dan *black garlic* lebih banyak.

Penentuan kadar abu total dilakukan untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal yang ada pada bawang putih lanang dan *black garlic*. Kadar abu tidak larut asam dilakukan untuk mengetahui kandungan pengotor yang tidak larut asam baik yang didapat secara internal maupun eksternal yang terdapat dalam bawang putih lanang dan *black garlic*. Berdasarkan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017) kadar abu total tidak lebih dari 3%. Sedangkan kadar abu tidak larut asam tidak lebih dari 1%. Nilai yang didapat pada penetapan ini telah memenuhi persyaratan.

Penentuan kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam bawang putih lanang dan *black garlic*. Kadar air ini sangat menentukan mutu dari suatu bahan, karena apabila terdapat banyak kandungan air maka dapat memicu timbulnya mikroorganisme sehingga mudah rusak dan tidak tahan dalam waktu penyimpanan. Hasil penetapan kadar air menunjukkan bahwa kadar air dalam bawang putih lanang lebih tinggi daripada *black garlic*. Proses fermentasi bawang putih dapat

mengurangi kadar air sehingga pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim penyebab kerusakan dapat dihambat, serta dapat memperpanjang waktu simpan dari *black garlic*. (Kang, 2016)

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Bawang Putih Lanang dan *Black Garlic*

Golongan Senyawa Kimia	Hasil	
	Bawang Putih Lanang	<i>Black Garlic</i>
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Polifenol	+	+
Tanin	-	-
Monoterpen dan Seskuiterpen	+	+
Steroid	-	-
Triterpenoid	-	-
Kuinon	+	+
Saponin	+	-

Keterangan: (+) senyawa teridentifikasi
(-) senyawa tidak teridentifikasi

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Bawang Putih Lanang dan Ekstrak *Black Garlic*

Golongan Senyawa	Hasil					
	Bawang Putih Lanang			<i>Black Garlic</i>		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Etanol	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Etanol
Alkaloid	+	-	-	+	-	-
Flavonoid	-	+	+	-	+	+
Polifenol	-	+	+	-	+	+
Tanin	-	-	-	-	-	-
Monoterpen dan Seskuiterpen	+	+	+	+	+	+
Steroid	-	-	-	-	-	-
Triterpenoid	-	-	-	-	-	-
Kuinon	-	-	+	-	-	+
Saponin	-	+	+	-	-	-

Keterangan: (+) senyawa teridentifikasi
(-) senyawa tidak teridentifikasi

Metabolit sekunder yang menunjukkan hasil positif pada uji skrining fitokimia diduga mendukung aktivitas antioksidan dari ekstrak bawang putih lanang dan *black garlic*. Aktivitas antioksidan dari polifenol dan flavonoid dengan cara mereduksi radikal bebas tergantung pada jumlah gugus hidroksi pada struktur molekulernya (Kim, M.Y., S.W. Choi., 2000), (Saeed A.S & Ahmed B, 2014) (Erna Cahyaningsih, Putu Era Sandhi Kusuma Yuda, 2019).

Ekstraksi Bawang Putih Lanang dan *Black Garlic*

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan (Hanani Endang, Abdul Mun'im, 2005), (Saeed A.S & Ahmed B, 2014). Metode maserasi dipilih untuk menghindari kerusakan senyawa yang terkandung dalam bawang putih lanang dan *black garlic* akibat adanya pemanasan, khususnya senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Bawang putih lanang dan *black garlic* diekstraksi bertingkat menggunakan tiga jenis pelarut dengan derajat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol sehingga senyawa atau zat-zat yang terdapat dalam bawang putih lanang dan *black garlic* dapat dipisahkan berdasarkan kepolarannya.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pelarut etanol menunjukkan rendemen yang paling besar, karena komponen senyawa yang terdapat dalam bawang putih lanang terdiri dari senyawa polar yang berkhasiat sebagai antioksidan kuat adalah S-allyl cysteine (SAC) (Kumalaningsih, 2006). Selain S-allyl cysteine (SAC), senyawa antioksidan lain dalam bawang putih adalah allisin, senyawa polar fenolik dan steroid (Gebreyohannes, 2013), diallil sulfida (Jaksa, 2010), flavonoid (Kim et al., 2000),

scordinin berupa senyawa kompleks thioglosida (Yuwono, 1991), vitamin C dan selenium (Solihin, 2009).

Hasil ekstraksi berupa ekstrak kental digunakan untuk uji identifikasi dan uji aktivitas antioksidan. Hasil ekstraksi bawang putih lanang dan *black garlic* dapat dilihat pada Tabel 4.

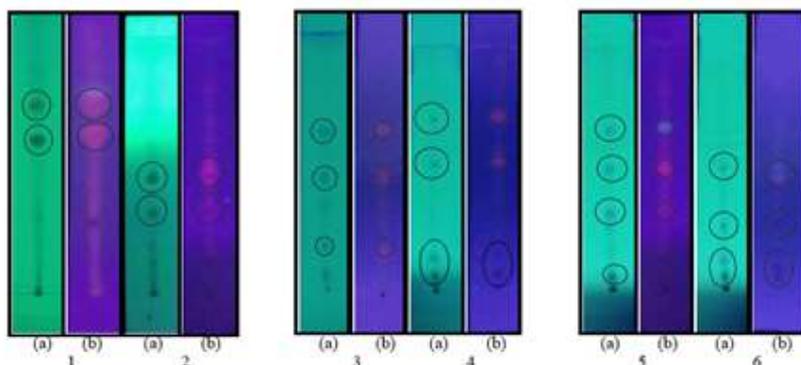
Tabel 4. Rendemen Ekstrak Bawang Putih Lanang dan *Black Garlic*

Sampel	Rendemen (%)		
	Ekstrak N-Heksana	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Etanol
Bawang putih lanang	2,0643	6,9920	20,8588
<i>Black garlic</i>	5,31	8,1308	26,1127

Ekstraksi dengan jenis pelarut yang berbeda menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda. Pada ekstrak etanol diperoleh rendemen yang lebih besar, menunjukkan senyawa yang bersifat polar seperti flavonoid dan polifenol yang terekstrak lebih banyak hal ini terjadi karena methanol memiliki gugus polar yang lebih kuat daripada gugus nonpolar (Nur Candra Eka Setiawan, 2017)

Pemantauan Ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

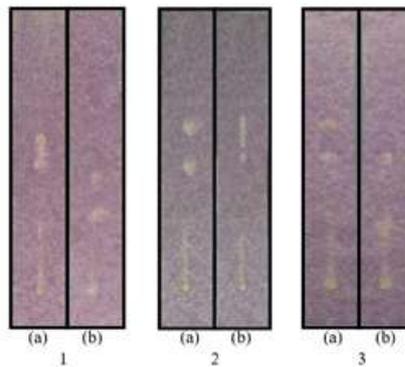
Pemantauan ekstrak dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa yang terkandung pada masing-masing ekstrak secara kualitatif dan memilih eluen terbaik untuk uji kualitatif antioksidan dengan metode DPPH. Hasil pemantauan ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4. Ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol bawang putih lanang dan *black garlic* dielusi menggunakan eluen yang berbeda-beda yang diperoleh dari hasil optimasi yaitu n-heksana : etil asetat (7:3), n-heksana : etil asetat (2:8) dan butanol : asam asetat : air (6:1:3).



Gambar 4. Pemantauan Ekstrak 1. Ekstrak N-Heksana Bawang Putih Lanang, 2. Ekstrak N-Heksana *Black Garlic*, 3. Ekstrak Etil Asetat Bawang Putih Lanang, 4. Ekstrak Etil Asetat *Black Garlic*, 5. Ekstrak Etanol Bawang Putih Lanang, 6. Ekstrak Etanol *Black Garlic*, menggunakan Fase Diam Silika Gel GF254, Fase Gerak N-Heksana : Etil Asetat (7:3) pada Ekstrak N-Heksana, Fase Gerak N-Heksana : Etil Asetat (2:8) pada Ekstrak Etil Asetat dan Fase Gerak Butanol : Asam Asetat : Air (6:1:3) pada Ekstrak Etanol, dilihat pada (a) Sinar UV 254 nm, (b) Sinar UV 365 nm

Uji Kualitatif Aktifitas Antioksidan Menggunakan KLT

Hasil pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa pada ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol bawang putih lanang dan *black garlic* mempunyai aktivitas antioksidan karena ekstrak tersebut memberikan perubahan warna kuning pada plat KLT dengan latar ungu setelah disemprot DPPH 0,2% dalam metanol. Senyawa yang bersifat sebagai antioksidan adalah *S*-allyl cysteine (SAC) (Kumalaningsih, 2006), allisin, senyawa fenolik (Gebreyohannes, 2013), flavonoid (Kim et al., 2000), vitamin C dan selenium (Solihin, 2009).



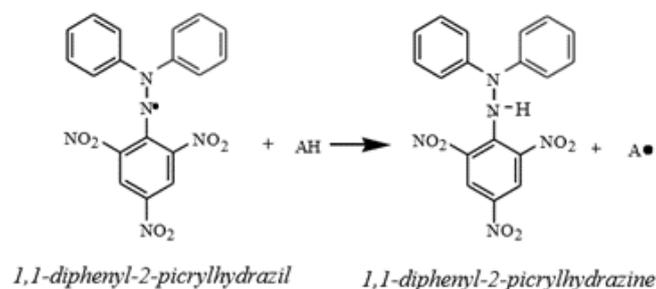
Gambar 5. Hasil Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan 1. Ekstrak N-Heksana, 2. Ekstrak Etil Asetat, 3. Ekstrak Etanol, dengan menggunakan DPPH 0,2%, (a) Bawang Putih Lanang, (b) *Black Garlic*.

Bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu terbentuk karena terjadinya reaksi redoks antara senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak dengan DPPH. Senyawa yang bertindak sebagai antioksidan akan mereduksi radikal DPPH. Elektron yang tidak berpasangan dari radikal DPPH akan berpasangan dengan atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang akan membentuk DPPH-H dan menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Anif Nur Artanti., 2018), (Molyneux, 2004).

Uji Kuantitatif Aktifitas Antioksidan dengan Spektrofotometer UV-Vis

DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. *Operating time* (OT) dilakukan untuk mendapatkan waktu pengukuran pada saat reaksi telah berjalan optimal yang ditandai dengan diperolehnya nilai absorbansi yang stabil pada rentang waktu tertentu (Willigis Danu Patria Dan C.J.Soegihardjo, 2013). Berdasarkan hasil pengukuran yang diperoleh, absorbansi yang stabil terjadi pada menit ke-35 sampai menit ke-45 untuk ekstrak etanol bawang putih lanang dan *black garlic*, untuk ekstrak etil asetat bawang putih lanang dan *black garlic* absorbansi yang stabil terjadi pada menit ke-30 sampai menit ke-40. Sedangkan untuk ekstrak n- heksana bawang putih lanang dan *black garlic* absorbansi yang stabil terjadi pada menit ke-25 sampai menit ke-35.

Pada metode ini, DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin). Antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal DPPH dan membentuk radikal antioksidan yang lebih stabil (Prakash, A., Rigelhof, F. dan Miller, 2001). Mekanisme reaksi antara DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Mekanisme reaksi penangkapan radikal DPPH (Molyneux, 2004)

Pengukuran aktivitas antioksidan ditandai dengan adanya penurunan absorbansi DPPH setelah ditambahkan dengan ekstrak. Absorbansi yang terukur adalah absorbansi sisa DPPH yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan. Semakin besar konsentrasi ekstrak dalam pelarut pengeksrak yang sama maka absorbansi sisa DPPH yang dihasilkan semakin kecil, berarti aktivitasnya sebagai penangkap radikal bebas semakin besar (Irda Fidrianny et al, 2015).

Nilai absorbansi dari masing-masing ekstrak dan pembanding digunakan untuk penentuan nilai persen inhibisi terhadap radikal bebas. Berdasarkan perhitungan didapatkan nilai IC₅₀ dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol bawang putih lanang dan black garlic yang dapat dilihat pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5. Nilai IC₅₀ Vitamin C dan Ekstrak Bawang Putih Lanang

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
Vitamin C	1	31,4993	$y = 8,2099x + 22,595$ $R^2 = 0,9983$	3,3380	Sangat kuat
	2	38,5144			
	3	47,0426			
	4	54,6080			
	5	64,3741			
	6	71,9395			
Ekstrak n-heksana	20	23,6589	$y = 0,3344x + 17,396$ $R^2 = 0,9981$	97,5	Kuat
	40	31,3618			
	60	37,9642			
	80	43,3287			
	100	50,7565			
	120	57,7717			
Ekstrak etil asetat	10	23,1087	$y = 1,4494x + 8,9749$ $R^2 = 0,9984$	28,3049	Sangat kuat
	15	30,6740			
	20	37,9642			
	25	46,2173			
	30	52,4071			
Ekstrak etanol	35	59,1471	$y = 1,2757x + 23,365$ $R^2 = 0,9976$	20,8787	Sangat kuat
	5	30,2613			
	10	36,1761			
	15	41,9532			
	20	48,0055			
	25	55,8459			
	30	61,8982			

Tabel 6. Nilai IC₅₀ Ekstrak Black Garlic

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Regresi Linier	IC ₅₀ (ppm)	Keterangan
Ekstrak n-heksana	30	32,7373	$y = 0,4083x + 20,114$ $R^2 = 0,9974$	73,1962	Kuat
	40	35,9010			
	50	40,7153			
	60	44,7043			
	70	48,2806			
	80	53,0949			
Ekstrak etil asetat	10	39,3397	$y = 1,2749x + 26,06$ $R^2 = 0,9971$	18,7779	Sangat kuat
	15	44,2916			
	20	51,3067			
	25	58,4594			
	30	64,9243			
	35	70,1513			
Ekstrak etanol	5	45,3920	$y = 1,0878x + 40,614$ $R^2 = 0,9953$	8,6284	Sangat kuat
	10	51,3067			
	15	57,7717			
	20	62,9986			
	25	68,0880			
	30	72,3521			

Besarnya aktivitas antioksidan dinyatakan dalam IC₅₀, yaitu konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil IC₅₀ yang dimiliki suatu senyawa semakin kuat aktivitas antioksidan senyawa tersebut. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat jika IC₅₀ bernilai 50-100 ppm, antioksidan sedang jika IC₅₀ bernilai 100 - 150 ppm, dan antioksidan lemah jika IC₅₀ bernilai 151-200 ppm (Molyneux, 2004).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih lanang dan *black garlic* pada Tabel 5 dan Tabel 6 menunjukkan bahwa semua ekstrak yaitu ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol bawang putih lanang dan *black garlic* memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan paling kuat dalam bawang putih lanang maupun *black garlic* terdapat pada ekstrak etanol, diikuti dengan ekstrak etil asetat kemudian ekstrak n-heksana.

Aktivitas antioksidan suatu sampel ditentukan oleh keberadaan senyawa oksidan didalamnya. Senyawa utama paling kuat yang berperan aktif sebagai antioksidan yaitu senyawa golongan fenol misalnya flavonoid. Senyawa flavonoid pada strukturnya mengandung gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas, sehingga senyawa flavonoid berpotensi sebagai antioksidan (Winarsi, 2007), .

Berdasarkan hasil skrining fitokimia sebagaimana terlihat pada Tabel 3 ekstrak etanol bawang putih lanang dan *black garlic* positif mengandung senyawa flavonoid, polifenol, monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Sedangkan pada ekstrak n-heksana bawang putih lanang dan *black garlic* hanya positif mengandung senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan tertinggi baik pada bawang putih lanang maupun *black garlic* terdapat pada ekstrak etanol dan terendah terdapat pada ekstrak n-heksana.

Nilai IC_{50} bawang putih lanang dan *black garlic* dalam pelarut pengekstrak yang sama memberikan aktivitas antioksidan yang sama tetapi IC_{50} yang dihasilkan berbeda, dimana pada *black garlic* nilai IC_{50} yang didapat lebih kecil dibandingkan pada bawang putih lanang, sehingga aktivitas antioksidan *black garlic* lebih kuat. Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada Tabel 2 menunjukkan bahwa bawang putih lanang dan *black garlic* positif mengandung senyawa flavonoid, polifenol, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, tetapi kemungkinan konsentrasi senyawa yang terkandung dalam bawang putih lanang dan *black garlic* berbeda, dimana senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan lebih banyak terkandung dalam *black garlic*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa bawang putih lanang dan *black garlic* memiliki aktivitas antioksidan yang dapat ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol bawang putih lanang masing-masing sebesar 97,5 ppm; 28,3049 ppm; dan 20,8787 ppm. Adapun nilai IC_{50} ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol *black garlic* masing-masing sebesar 73,1962 ppm; 18,7779 ppm; dan 8,6284 ppm. Proses fermentasi bawang putih lanang menjadi *black garlic* dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anif Nur Artanti., R. L. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ethanol Daun Family Solanum Menggunakan Metode Reduksi Radikal Bebas DPPH. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 02, 62–69.
- Anna Capasso. (2013). Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules*, 18(1), 690–700.
- Banerjee, S.K., Pulok K. Mukherjee., S. K. M. (2013). Garlic as an antioxidant: the good, the bad and the ugly. *Phytotherapy Research*, 17(2), 97–106.
- Erna Cahyaningsih, Putu Era Sandhi Kusuma Yuda, P. S. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5(1), 51–57.
- Farnsworth, N. . (n.d.). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science*, 55(3), 1996.
- Gawad M.A, Aziz M.A., Sayed M.E., W. E. E. & E.A, L. (2014). In vitro antioxidant, total phenolic and flavonoid contents of six allium species growing in Egypt. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(4), 343–346.
- Gebreyohannes, G. Gebreyohannes, M. (2013). Medical Values of Garlic: A Review. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 5(9), 401–409.
- Hanani Endang, Abdul Mun'im, R. S. (2005). Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* Sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 127–133.

- Hertiani, T., Pramono, S. (2000). Uji daya antioksidan senyawa flavonoid daun Palntago mayor L. *Majalah Farmasi Indonesia*, 11(4), 234–244.
- Irda Fidrianny et al. (2015). Antioxidant activities of various fruit extract from three Solanum sp using DPPH and ABTS method and correlation with phenolic, flavonoid and carotenoid content. *J Chem Pharm. Res*, 7(5), 666–672.
- Jaksa, S. (2010). Minyak Atsiri dari Beberapa Tanaman Obat. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 6(1), 1–8.
- Kang. (2016). Physicochemical Characteristics of Black Garlic After Different Thermal Processing Steps. *Prev. Nutr. Food Sci*, 21(4), 348–354.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta.
- Kim, M. Y., S. W. Choi., S. K. C. (2000). Antioxidative Flavonoids from the Garlic (*Allium sativum* L.) Shoot. *Food Science and Biotechnology*, 9(4), 199–203.
- Kumalaningsih, S. (2006). *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan*. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Kunwar A, P. (2011). Free radicals oxidative stress and importance of antioxidants in huma health. *J Med Allied Sci*, 1(2), 53–60.
- Majewksi, M. (2014). *Allium sativum: Facts and Myths Regarding Human Health*. *Rocz Panstw Zaki Hig*, 65(1), 1–8.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211–219.
- Nadia Pudiarifanti, J. F. (2022). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Putih Tunggal terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Higea*, 14(1), 66–71.
- Nur Candra Eka Setiawan, A. F. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr dengan Metode DPPH. *Current Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 1–5.
- Oki Sandra Agnesa, Herawati Susilo, S. R. L. (2017). Aktivitas imunostimulan ekstrak bawang putih tunggal pada mencit yang diinduksi *Escherichia coli*. *Pharmaciana*, 7(1), 105–112.
- Prakash, A., Rigelhof, F. dan Miller, E. (2001). Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*, 10(2).
- Prasonto, D., Riyanti, E., Gartika, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*). *Odonto : Dental Journal*, 4(2), 122–128.
- Robins. (2007). *Buku Ajar Patologi* (7th ed.). Jakarta: Kedokteran ECC.
- Saeed A.S & Ahmed B. (2014). Qualitative analysis of various component of *Allium sativum* (fresh garlic bulb), extracted in different organik solvents using GC-high resolution mass spectrophotometer (JMS700). *International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 1(8), 122–126.
- Saefudin, A., Rahayu, V., Teruna, H. . (2011). *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Salma Fadhilah Azhar, K. M. Y. (2021). Pengaruh Waktu Aging dan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Black Garlic yang Dibandingkan dengan Bawang Putih (*Allium sativum* L.). *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 16–23.
- Wibowo, S. (2007). *Budidaya Bawang Putih, Bawang Merah dan Bawang Bombay*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Willigis Danu Patria Dan C.J. Soegihardjo. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etilasetat Ekstrak Etanolik Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra* L. Miq.) yang Tumbuh di Pohon Kepel (*Stelechocarpus Burahol* (Bl. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 10(1), 51–60.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.