

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Hasil**

#### **1. Identifikasi Simplisia**

Bawang putih tunggal yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Adipuro Kecamatan Kaliangkrik, Magelang Jawa Tengah pada bulan Maret 2021. Identifikasi terhadap kebenaran bahan penelitian dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta pada tanggal 26 Maret 2021 dengan nomor 014987/S.Tb./III/2021. Hasil identifikasi tumbuhan menunjukkan bahwa bahan penelitian yang digunakan adalah (*Allium sativum* L.) “Solo garlic”. Hasil identifikasi tanaman bawang putih tunggal dapat dilihat pada lampiran 1.

#### **2. Proses Pembuatan Sampel Bawang hitam.**

Bawang putih tunggal (*Solo garlic*) sebanyak 1 kg dibersihkan dari kotoran dengan air mengalir kemudian dikeringkan dengan menggunakan *tissue*. Bawang putih tunggal dilakukan pemanasan pada suhu 40-50°C menggunakan *rice cooker* selama 12 hari. Bawang putih tunggal utuh diletakan pada tempat *rice cooker* secara merata, pada tiap lapis diberikan beberapa lembar *tissue* sebagai pembatas dan untuk menghindari bawang bawang putih tunggal dari tetesan uap air yang dihasilkan selama pemanasan. Kontrol suhu pemanasan dilakukan setiap 3 hari dengan menggunakan termometer digital. Dengan adanya pemanasan pada bawang putih tunggal akan terjadi perubahan warna menjadi bawang hitam, perubahan warna ini disebabkan oleh proses pencoklatan (*browning*) non-enzimatis. Proses pencoklatan (*browning*) pada bawang putih ini disebabkan reaksi *maillard* (Agustina dkk, 2020). Hasil pembuatan bawang hitam dapat dilihat pada gambar 8.



**Gambar 8. Proses Pembuatan Bawang Tunggal Hitam**

Berdasarkan hasil proses pembuatan bawang tunggal hitam pada suhu 40-50°C menggunakan *rice cooker* selama 12 hari, diperoleh bawang tunggal hitam dengan tekstur kenyal, bau khas, rasa manis, dan berwarna hitam dengan kulit kering kecoklatan.

### 3. Ekstraksi dan Kontrol Kualitas Sampel.

#### a. Ekstraksi

Bawang tunggal hitam dibagi menjadi dua bagian yaitu beserta kulit (200 gram) dan tanpa kulit (700 gram), kemudian dihaluskan menggunakan blender dengan tujuan untuk memperbesar luas permukaan kontak jaringan sel dengan pelarut sehingga dapat memudahkan dalam proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut etanol. Bawang tunggal hitam beserta kulit dan tanpa kulit kemudian diekstraksi. Pada penelitian ini ekstraksi bawang tunggal hitam menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Mekanisme pada proses maserasi akan terjadi difusi pelarut etanol 70% ke rongga sel dinding sampel sehingga zat aktif akan larut dan dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara di luar sel dengan di dalam sel maka zat aktif di dalam sel akan didesak ke luar.

Maserasi dilakukan selama 24 jam kemudian dilanjutkan dengan remaserasi satu kali yang bertujuan untuk menarik senyawa aktif lebih maksimal sehingga dapat diperoleh ekstrak yang lebih banyak. Selama proses maserasi, dilakukan pengadukan yang bertujuan untuk mempercepat terjadinya proses transfer senyawa dari bawang hitam oleh pelarut menjadi

lebih maksimal. Seluruh hasil maserasi kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain kafan. Hasil maserasi dipekatkan menggunakan penangas air dengan wadah (*chamber*) yang sudah terisi air dan wajan diletakan pada bagian atas sebagai tempat sampel. Selama proses pemekatan dipastikan suhu kurang dari 50°C dengan menggunakan termometer agar senyawa yang terkandung dalam sampel tidak rusak. Hasil ekstraksi bawang tunggal hitam dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Ekstraksi Ekstrak Etanol Bawang Tunggal Hitam**



Ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit dan tanpa kulit yang diperoleh yaitu mempunyai tekstur kental berwarna coklat kehitaman dengan rasa hambar dan bau khas.

b. Kontrol Kualitas ekstrak

1) Perhitungan nilai rendemen

Diperoleh ekstrak bawang tunggal hitam beserta kulit sebanyak 114,01gram dan tanpa kulit sebanyak 220,05 gram. Rendemen ekstrak bawang tunggal hitam yang diperoleh dihitung sebagai persentase perbandingan berat ekstrak terhadap berat serbuk yang digunakan dalam proses maserasi. Rendemen ekstrak bawang tunggal hitam beserta kulit sebesar 57,005% dan tanpa kulit sebesar 31,437%. Berdasarkan hasil rendemen yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang tunggal hitam telah memenuhi nilai yang telah dipersyaratkan dalam (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017)

## 2) Penentuan kadar lembab

Penentuan kadar lembab dilakukan dengan menggunakan alat *moisturizer balance*. Diperoleh hasil pada ekstrak bawang tunggal hitam beserta kulit sebesar 5,50% dan tanpa kulit sebesar 3,60%.

## 4. Uji Kualitatif

Skrining fitokimia merupakan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu sampel uji. Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia pada senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, dan steroid & triterpenoid.

**Tabel 3. Hasil Uji Senyawa fitokimia ekstrak etanol bawang tunggal hitam**

No.	Senyawa aktif	Hasil ekstrak bawang		Keterangan
		Beserta kulit	Tanpa kulit	
1.	Alkaloid	--	-	Tidak terdapat endapan
2.	Flavonoid	++	+	Terdapat warna merah
3.	Fenolik	++	+	Terdapat kehitaman
4.	Saponin	+	++	Terdapat busa stabil < 1 cm
5.	Tannin	++	+	Terdapat warna coklat kehitaman
6.	Steroid & triterpenoid	+	++	Terdapat warna kuning pucat dan merah kekuningan

Keterangan:

-- : intensitas warna lebih pekat

++ : intensitas warna lebih pekat

Berdasarkan tabel 3. hasil skrining fitokimia pada kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam negatif / tidak mengandung senyawa alkaloid serta positif / mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, tanin, steroid & triterpenoid. Pada uji senyawa flavonoid, kedua ekstrak direaksikan dengan serbuk MG dan HCl pekat untuk mereduksi ikatan glikosida yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga akan terjadi perubahan warna merah. Hasil yang didapatkan dalam uji senyawa flavonoid ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna merah.

Pada uji fenolik dan tanin, kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam direaksikan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$ . Adanya penambahan larutan  $\text{FeCl}_3$  maka akan terjadi reaksi dengan salah satu gugus hidroksil serta ion  $\text{Fe}^{3+}$  akan menimbulkan kompleks warna. Hasil yang didapatkan dalam uji senyawa fenolik dan tanin menunjukkan bahwa kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam positif mengandung senyawa fenolik ditandai dengan perubahan warna kehitaman dan tanin terhidrolisis dengan perubahan warna coklat kehitaman. Adanya gugus fenol dan tanin yang merupakan golongan senyawa polifenol dalam ekstrak akan memberikan perubahan warna menjadi kehitaman.

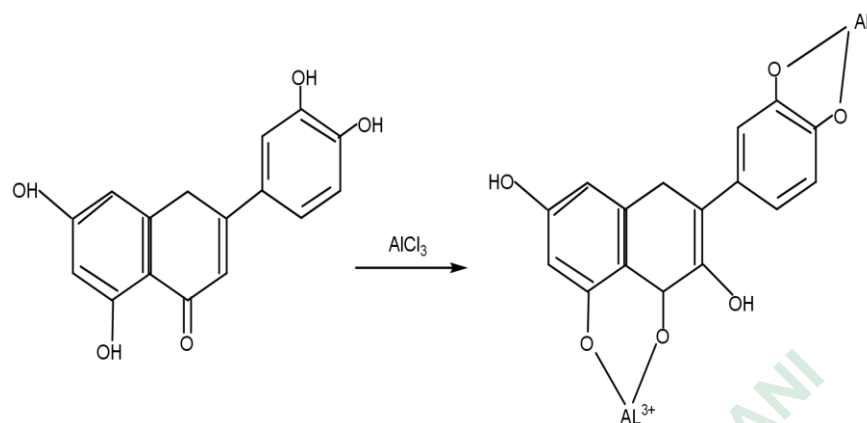
Pada uji saponin, kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam dikocok selama 30 detik. Hasil yang didapatkan dalam uji senyawa saponin menunjukkan bahwa kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam positif mengandung saponin ditandai dengan terbentuknya busa stabil  $<1$  cm, tetapi untuk intensitas warna yang ditimbulkan lebih pekat pada ekstrak tanpa kulit. Terbentuknya busa pada uji saponin ini dikarenakan adanya glikosida yang larut dalam air dan terhidrolisis menjadi senyawa lain seperti glukosa.

Pada uji steroid dan triterpenoid, kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam direaksikan dengan kloroform dan asam sulfat pekat. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam positif mengandung senyawa steroid & triterpenoid yang ditandai dengan adanya perubahan warna kuning pucat dan merah kekuningan.

#### 5. Uji Kuantitatif Flavonoid dan Fenolik.

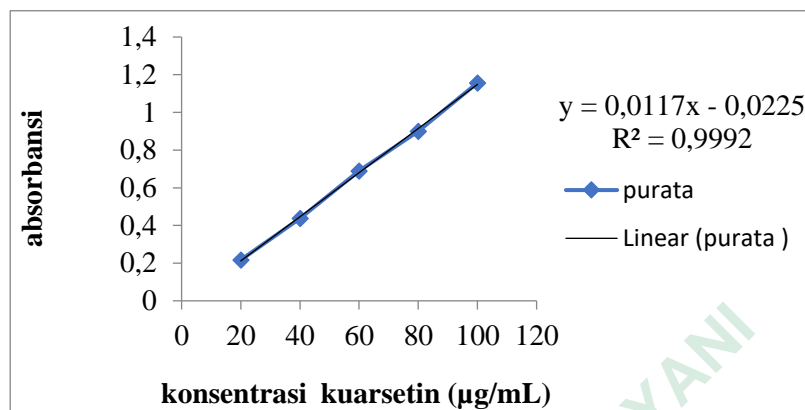
##### a. Flavonoid total.

Pada penentuan kadar flavonoid total, larutan sampel direaksikan dengan larutan  $\text{AlCl}_3$  10% yang akan membentuk kompleks sehingga akan terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah tampak yang ditandai dengan larutan sampel akan menghasilkan kompleks warna kuning. Pada penentuan kadar flavonoid total digunakan kuarsetin sebagai standar kurva baku sehingga total flavonoid yang diperoleh dihitung sebagai kuarsetin. Reaksi pembentukan senyawa kompleks antara kuarsetin dengan aluminium klorida dapat dilihat pada gambar 9.



**Gambar 9. Reaksi pembentukan senyawa kompleks antara kuarsetin-AlCl<sub>3</sub> (Harborne, 1996) dalam (Nofita dkk., 2020)**

Pengujian kadar flavonoid dilakukan dengan cara mereaksikan sampel dengan larutan AlCl<sub>3</sub> 10% dan asam asetat 5% kemudian didiamkan selama 10 menit sebagai *operating time*. *Operating time* dilakukan dengan tujuan agar sampel yang direaksikan dengan AlCl<sub>3</sub> 10% serta asam asetat 5% berjalan lebih stabil dan sempurna. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan pada rentang Panjang gelombang maksimal 350 - 450 nm. Berdasarkan hasil penentuan panjang gelombang maksimal yang diperoleh yaitu 430 nm. Adanya penentuan panjang gelombang maksimal bertujuan untuk menentukan hasil serapan agar lebih maksimal. Kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol bawang tunggal hitam didasarkan pada kurva absorbansi dari larutan standar kuarsetin. Pembuatan kurva kalibrasi kuarsetin dilakukan dengan menggunakan lima seri konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 (µg/mL). Hasil kurva kalibrasi konsentrasi terhadap absorbansi kuarsetin dapat dilihat pada gambar 10.



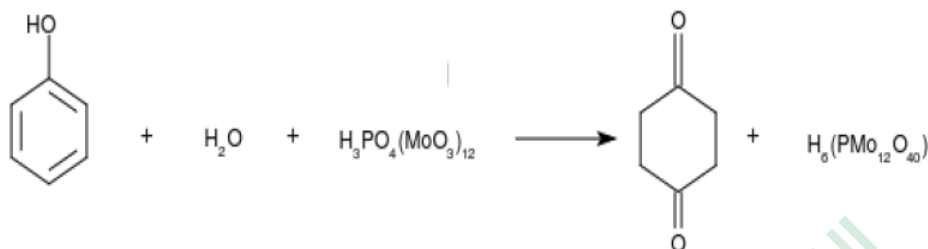
**Gambar 10. Kurva kalibrasi konsentrasi kuarsetin terhadap Absorbansi.**

Berdasarkan hasil kurva persamaan regresi linier antara konsentrasi kuarsetin terhadap absorbansi yang diperoleh yaitu  $y = 0,0117x - 0,0225$  dengan nilai  $r$  mendekati 1 yang menunjukkan bahwa data linier karena nilai  $r$  yang semakin mendekati 1 atau  $-1$  maka datanya semakin linier yaitu  $r = 0,9996$ . Berdasarkan kurva kalibrasi regresi linier yang telah diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak bawang beserta kulit sebesar  $0,407 \pm 0,012$  (% b/b) dan tanpa kulit sebesar  $0,345 \pm 0,010$  (% b/b). Berdasarkan hasil tersebut diketahui kandungan flavonoid pada ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa kulit, hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kim dkk (2016) bahwa kulit bawang putih mempunyai kandungan flavonoid total.

#### b. Fenolik total

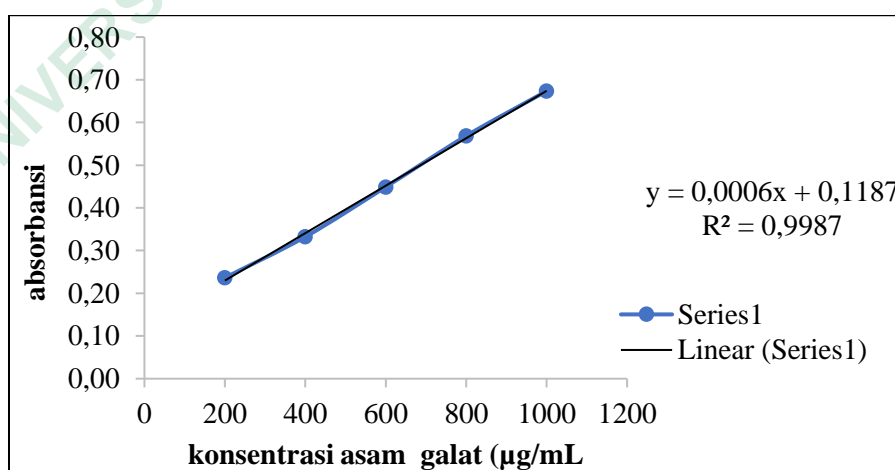
Pada penentuan fenolik total dilakukan dengan larutan sampel direaksikan dengan reagen Folin-ciocalteu yang kemudian akan dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis sesuai dengan metode Singleton dkk, (1974) dalam Sari (2014). Pada penentuan kadar fenolik total sampel akan bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu sehingga membentuk kompleks warna biru. Penentuan kadar fenolik total digunakan asam galat sebagai standar kurva baku sehingga total fenolik yang diperoleh dapat

dihitung sebagai asam galat. Reaksi senyawa fenol dengan reagen folin-ciocalteu dapat dilihat pada gambar 11.



**Gambar 11. Reaksi senyawa fenol dengan reagen folin-ciocalteu (Jayali dkk., 2017)**

Pengujian kadar fenolik dilakukan dengan cara mereaksikan larutan sampel dengan reagen Folin-Ciocalteu didiamkan selama 4 menit, selanjutnya direaksikan dengan larutan natrium karbonat 7% kemudian larutan didiamkan selama 2 jam dalam suhu ruangan. Penentuan kadar fenolik dilakukan pada Panjang gelombang maksimal 641 nm. Kandungan fenolik total pada ekstrak etanol bawang tunggal hitam didasarkan pada kurva absorbansi dari larutan standar asam galat. Pembuatan kurva kalibrasi asam galat dilakukan dengan menggunakan lima seri konsentrasi yaitu 200, 400, 600, 800, dan 1000 ( $\mu\text{g/mL}$ ). Hasil kurva kalibrasi konsentrasi terhadap absorbansi asam galat dapat dilihat pada gambar 12.



**Gambar 12. Kurva kalibrasi konsentrasi asam galat terhadap absorbansi**



Berdasarkan hasil kurva persamaan regresi linier antara konsentrasi asam galat terhadap absorbansi yang diperoleh yaitu  $y = 0,0006x + 0,1187$  dengan nilai  $r = 0,9993$ . Berdasarkan kurva kalibrasi regresi linier yang telah diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung kadar fenolik total yang terkandung dalam ekstrak bawang beserta kulit sebesar  $2,933 \pm 0,142$  (%b/b) dan tanpa kulit sebesar  $2,399 \pm 0,075$  (%b/b). Berdasarkan hasil tersebut diketahui kandungan fenolik pada ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit tinggi dibandingkan dengan tanpa kulit, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kim dkk (2016) bahwa kulit bawang mempunyai kandungan senyawa fenolik total.

6. Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

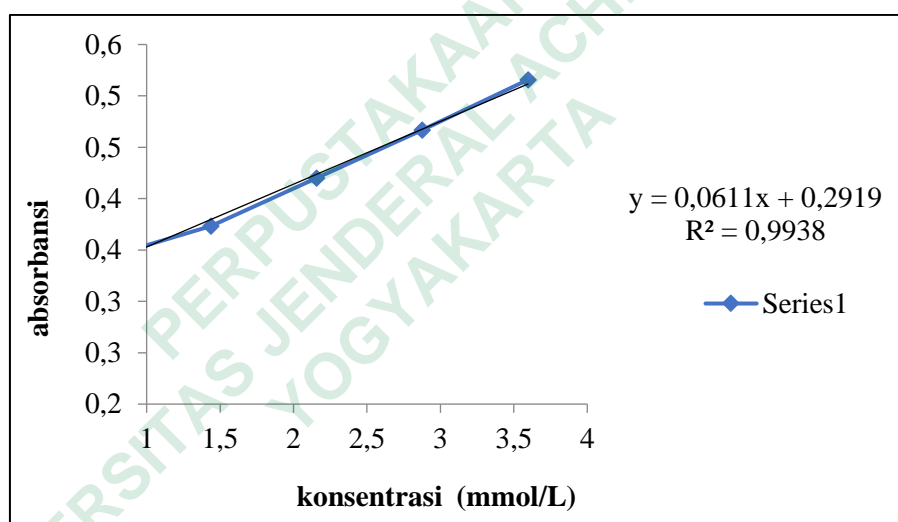
Prinsip metode FRAP yaitu larutan sampel direaksikan dengan reagen FRAP sehingga akan terjadi reduksi dari  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$  sehingga akan menimbulkan kompleks Fe (II) *tripyridyl-triazine* berwarna biru yang dapat dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis. Semakin pekat warna biru yang dihasilkan menandakan bahwa aktivitas antioksidan dalam sampel semakin kuat (Nurulita dkk., 2019).

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan dengan cara penentuan panjang gelombang dan *operating time*, penentuan panjang gelombang dilakukan untuk menentukan hasil absorbansi maksimal pada panjang gelombang tertentu yang nantinya akan digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan dalam penelitian ini. Penentuan panjang gelombang yang dilakukan pada range 580-610 nm diperoleh hasil pada 595 nm. Penentuan *operating time* dilakukan untuk mengetahui seberapa lama waktu yang dibutuhkan untuk sampel dan reagen FRAP bereaksi dengan maksimal yang ditandai dengan hasil absorbansi tetap atau stabil. Penentuan *operating time* yang dilakukan dengan interval waktu 5 menit diperoleh hasil *operating time* yaitu selama 2 jam.

Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimal yaitu pada 595 nm dan *operating time* selama 2 jam.

a. Penentuan kurva kalibrasi  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Pada penentuan aktivitas antioksidan dalam penelitian menggunakan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  sebagai kurva kalibrasi karena sudah umum digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP. Penetapan aktivitas antioksidan pada sampel dinyatakan dalam ekivalensi Fe (II) yang berarti konsentrasi larutan sampel yang menghasilkan absorbansi setara dengan absorbansi yang dihasilkan 1 mM  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Hasil kurva kalibrasi konsentrasi (mmol/L) terhadap absorbansi  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dapat dilihat pada gambar 15.



**Gambar 13. Kurva kalibrasi konsentrasi  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  terhadap absorbansi**

Berdasarkan hasil kurva kalibrasi persamaan regresi linier tersebut diperoleh hasil yaitu  $y = 0,0611x + 0,2919$  dengan nilai  $r = 0,9969$ . Berdasarkan hasil kurva kalibrasi tersebut selanjutnya dihitung konsentrasi sampel dengan cara rata-rata absorbansi dikurangi dengan nilai intersep (a) yaitu 0,2919 dan dibagi dengan nilai slope (b) yaitu 0,0611. Setelah didapatkan nilai konsentrasi sampel selanjutnya dilakukan perhitungan parameter dalam penentuan aktivitas antioksidan yaitu FRAP *value*. Perhitungan FRAP *value* dilakukan dengan konsentrasi sampel yang diperoleh dikalikan dengan volume cuplikan yang digunakan serta faktor

pengenceran kemudian dibagi dengan berat sampel yang digunakan dalam miligram.

b. Penentuan aktivitas antioksidan pada vitamin C

Penentuan aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan standar pembanding vitamin C karena sudah umum digunakan untuk standar pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan, selain itu vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan kuat serta dapat mencegah terjadinya proses oksidasi dalam tubuh. Vitamin C sebagai antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan elektron sehingga dapat mencegah terjadinya proses oksidasi (Rusiani dkk., 2019). Penentuan aktivitas antioksidan pada vitamin C dilakukan dalam tiga seri konsentrasi yang kemudian hasilnya diplotkan dalam persamaan regresi linear dari larutan standar  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Setelah hasil konsentrasi didapatkan kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan FRAP *value*. Hasil penentuan konsentrasi vitamin C dan FRAP *value* dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil Penetapan Konsentrasi dan FRAP Value Vitamin C**

Konsentrasi vitamin C (mmol/L)	FRAP <i>value</i> (mmol $\text{FeSO}_4$ /mg sampel)
2,271±1,661	12,491±2,087
3,335±1,661	12,806±2,087
5,528±1,661	16,253±2,087

Berdasarkan hasil penentuan konsentrasi dan FRAP *value* vitamin C yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai FRAP *value* yang dihasilkan maka aktivitas antioksidan akan semakin kuat.

c. Penentuan aktivitas antioksidan pada sampel

Penentuan aktivitas antioksidan pada sampel dilakukan dalam tiga seri konsentrasi yang kemudian hasilnya diplotkan juga ke dalam persamaan regresi linear dari larutan standar  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Setelah hasil konsentrasi didapatkan kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan FRAP *value*. Hasil penentuan konsentrasi sampel dan FRAP *value* dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil Penetapan Konsentrasi dan FRAP Value Sampel Ekstrak Etanol Bawang Tunggol Hitam Beserta Kulit dan Tanpa Kulit.**

Sampel	Konsentrasi sampel (mmol/L)	FRAP value (mmol FeSO <sub>4</sub> /mg sampel)
Beserta kulit	1,966±0,542	2,621±0,220
	2,375±0,542	2,714±0,220
	3,040±0,542	3,040±0,220
Tanpa kulit	1,660±0,440	2,211±0,163
	2,064±0,440	2,359±0,163
	2,538±0,440	2,538±0,163

Berdasarkan hasil pada tabel 7, dapat dilihat bahwa FRAP value yang diperoleh hasil pada ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit lebih tinggi dibandingkan tanpa kulit. Semakin pekat warna biru yang dihasilkan pada larutan uji maka konsentrasi sampel dan FRAP value akan semakin meningkat sehingga aktivitas antioksidan semakin kuat.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan bahwa adanya kandungan kulit bawang dalam sampel ekstrak etanol bawang tunggal berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar flavonoid dan fenolik total serta pada senyawa fitokimia.

#### 1. Uji statistik

Uji homogenitas data dilakukan dengan menggunakan Levene's untuk mengetahui data sampel homogen atau tidaknya, sedangkan uji distribusi data dilakukan dengan menggunakan Shapiro-Wilk untuk mengetahui data sampel terdistribusi normal atau tidak. Hasil yang diperoleh pada uji homogenitas dan distribusi data pada ketiga sampel (vitamin C, ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit dan tanpa kulit) menunjukkan data homogen serta terdistribusi normal yang ditandai dengan nilai signifikansinya >0,05. Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan *One Way Anova* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan pada ketiga sampel. Dilakukan menggunakan uji *One Way Anova* karena jumlah sampel yang akan diuji lebih dari 2 kelompok sampel. Hasil yang diperoleh pada uji *One Way Anova* untuk ketiga sampel (vitamin C, ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit dan tanpa kulit) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing sampel yang ditandai dengan nilai signifikansinya <0,05. Selanjutnya dilakukan uji host poc

tests menggunakan uji LSD karena pada ketiga sampel menunjukkan hasil yang signifikan. Hasil yang diperoleh pada uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara vitamin C dengan kedua sampel ekstrak etanol bawang tunggal hitam yang ditandai dengan nilai signifikansinya  $<0,05$ . Hasil uji statistik antara sampel vitamin C, ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit, dan tanpa kulit dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Hasil Uji Statistik Ekstrak Etanol Bawang Tunggal Hitam**

Sampel	Uji Normalitas Data	Uji Homogenitas Varian	<i>One Way Anova</i>	LSD
Vitamin C	* >0,05	** 0,419	*** <0,001	<0,05
Beserta kulit		** 0,679	*** <0,005	
Tanpa kulit		** 0,735	*** <0,001	

Keterangan:

\* : Data terdistribusi normal

\*\* : Data homogen

\*\*\* : Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok sampel

Berdasarkan tabel 8, hasil uji statistik vitamin C dan kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam menunjukkan bahwa pada data homogen dan terdistribusi normal serta terdapat perbedaan yang signifikan pada uji *One Way Anova*.

## B. Pembahasan

Penelitian pengaruh kulit terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol bawang tunggal hitam menggunakan metode FRAP ini termasuk dalam jenis eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh kulit terhadap aktivitas antioksidan dan profil senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol bawang tunggal hitam. Bawang putih tunggal (*Solo garlic*) di Indonesia memiliki banyak manfaat yang digunakan sebagai obat dalam dunia kesehatan seperti antihipertensi dan antioksidan (Gofur dkk., 2019). Pada penelitian ini digunakan bawang putih tunggal dikarenakan kandungan senyawa lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih lainnya, hal ini diketahui dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh

Pramitha dan Sundari (2020), menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara bawang hitam tunggal hitam dan majemuk menggunakan metode DPPH. Bawang tunggal hitam yang digunakan sebagai sampel penelitian merupakan hasil olahan dari pemanasan bawang putih tunggal pada suhu 40-50°C menggunakan *rice cooker* selama 12 hari. Diperoleh hasil pada hari ke-12 terjadi perubahan bawang putih menjadi bawang hitam dengan kulit bawang kering berwarna coklat kehitaman. Berdasarkan hal tersebut, diketahui hasil pemanasan bawang tunggal hitam sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Jurwita dkk (2020) menunjukkan bahwa pada hari ke-12 sudah ada perubahan bawang putih menjadi hitam.

Pada kontrol kualitas ekstrak diperoleh nilai rendemen pada ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit dan tanpa kulit secara berturut-turut sebesar 57,015% dan 31,437%. Pada hasil uji senyawa fitokimia kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, tanin, steroid & triterpenoid tetapi negatif tidak mengandung senyawa alkaloid. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang telah diperoleh sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Kimura dkk (2017) dalam (Agustina dkk, 2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang tunggal hitam mempunyai kandungan flavonoid, fenolik, tanin, saponin, steroid & triterpenoid akan tetapi tidak mengandung senyawa alkaloid. Hasil yang diperoleh pada uji senyawa fitokimia kedua ekstrak menunjukkan adanya perbedaan intensitas warna dimana pada ekstrak beserta kulit lebih pekat dibandingkan tanpa kulit.

Pada penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol bawang tunggal hitam diperoleh hasil pada ekstrak beserta kulit sebesar  $0,407 \pm 0,012$  (%b/b) dan tanpa kulit sebesar  $0,345 \pm 0,010$  (%b/b). Dari hasil tersebut ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari pada tanpa kulit, hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kim dkk (2016) bahwa kulit bawang mengandung senyawa flavonoid sehingga ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit mempunyai kandungan senyawa flavonoid lebih tinggi. Pada penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol bawang tunggal hitam berdasarkan metode kolorimetri yaitu pengukuran absorbansi dari perubahan warna. Penetapan

kadar flavonoid total dalam penelitian ini mengacu pada prosedur dari Das dkk (2014) dalam Ramadhani dkk (2020). Prinsip dari penetapan kadar flavonoid dengan aluminium klorida yaitu terbentuknya kompleks reaksi antara  $AlCl_3$  dengan gugus keto pada atom C-4 serta gugus hidroksil pada atom C-3 atau atom C-5 yang mempunyai warna kuning dari golongan flavon maupun flavonol (Nofita dkk., 2020). Senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan mempunyai mekanisme dengan menangkap radikal bebas dan menstabilkan ROS yang bereaksi dengan radikal bebas, (Januarti dkk., 2019). Pada uji kuantitatif flavonoid digunakan kuarsetin sebagai pembanding karena kuarsetin mempunyai reaktivitas tinggi (Dewi dkk, 2018), selain itu kuarsetin termasuk kedalam golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5, sehingga kompleks warna yang terjadi disebabkan oleh adanya reaksi reduksi oksidasi antara flavonoid dengan  $AlCl_3$  yang bersifat oksidator dan flavonoid bersifat reduktor (Nofita dkk (2020). Digunakannya kuarsetin sebagai standar pembanding dalam penelitian ini sehingga penetapan kadar flavonoid total dinyatakan dalam kuarsetin (mgQE/g ekstrak). Pada pengujian kadar flavonoid total ini dilakukan dalam suasana asam, larutan yang digunakan sebagai pembentuk suasana asam yaitu asam asetat. Asam asetat berfungsi untuk mendeteksi gugus 7-hidroksil sebelum dilakukan pengukuran absorbansi serta untuk menyempurnakan reaksi kimia yang terjadi, sedangkan penambahan aluminium klorida berfungsi untuk serta untuk membentuk kompleks warna kuning sehingga sehingga akan terjadi pergeseran panjang gelombang menjadi visible.

Pada penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol bawang tunggal hitam diperoleh hasil pada ekstrak beserta kulit sebesar  $2,933 \pm 0,142$  (% b/b) dan tanpa kulit sebesar  $2,399 \pm 0,075$  (% b/b). berdasarkan hasil tersebut, diketahui pada ekstrak beserta kulit menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak tanpa kulit, hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kim dkk (2016) bahwa kulit bawang mengandung senyawa fenolik sehingga ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit mempunyai kandungan senyawa fenolik yang lebih tinggi. Pada uji penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol bawang tunggal hitam mengacu prosedur dari (Singleton dkk (1974) dalam (Sari, 2014)). Pada penelitian

ini menggunakan metode folin-ciocalteu karena metode lebih sederhana dalam proses pengerjaan, selain itu senyawa fenolik termasuk ke dalam golongan fenol sederhana sehingga dapat bereaksi dengan pereaksi folin-ciocalteu (Januarti dkk., 2019). Adapun prinsip dari metode folin-ciocalteu yaitu akan terbentuknya kompleks warna biru dalam suasana basa sehingga dapat dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang visible atau tampak. Pada penelitian ini digunakan asam galat sebagai standar pembanding karena asam galat termasuk dalam golongan senyawa fenolik alami dan stabil serta mempunyai gugus 3-hidroksil fenolik yang akan dioksidasi oleh pereaksi folin-Ciocalteu dalam suasana basa. Gugus fenolik berfungsi untuk menyumbangkan atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal sehingga proses oksidasi dapat dihambat melalui proses transfer elektron (Januarti dkk., 2019). Pada penelitian ini digunakan larutan natrium karbonat sebagai pemberi suasana basa. Pada saat sampel direaksikan dengan reagen folin-ciocalteu maka akan terbentuk kompleks warna kuning yang menandakan bahwa sampel mempunyai kandungan fenolik, setelah itu direaksikan dengan larutan natrium karbonat sehingga akan terbentuk suasana basa dan terjadinya kompleks *molibdenum-tungsten* yang berwarna biru. Intensitas warna biru yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, sehingga semakin banyak kandungan senyawa fenolik dalam sampel maka semakin banyak ion fenolat yang dapat mereduksi kompleks *fosfomolibdat-fosfotungstat* menjadi kompleks *molybdenum-tungsten*. Kandungan senyawa fenolik dalam sampel semakin banyak apabila warna biru yang terbentuk dalam larutan sampel semakin pekat.

Penetapan antioksidan pada ekstrak etanol bawang tunggal hitam dan vitamin C dilakukan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Metode FRAP merupakan salah satu metode kolorimetri untuk menentukan kandungan aktivitas antioksidan dalam sampel dengan spektrofotometer UV-Vis. Prinsip dari metode FRAP berdasarkan kemampuan mereduksi kompleks ion besi ( $Fe^{3+}$ ) menjadi bentuk ( $Fe^{2+}$ ) yang menghasilkan warna biru dalam suasana asam (pH 3,6) (Munteanu dan Apetrei, 2021). Berdasarkan prinsip dari metode FRAP tersebut maka daya antioksidan yang dihasilkan oleh sampel ekstrak etanol bawang



tunggal hitam dapat dianalogikan dengan kemampuannya dalam mereduksi ion ( $\text{Fe}^{3+}$ ) menjadi ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Kelebihan dari metode FRAP yaitu sederhana dalam proses pengerjaan, murah, cepat, tidak membutuhkan alat khusus untuk menghitung antioksidan total, dan reagen yang digunakan cukup sederhana. Selain kelebihan, kekurangan FRAP yaitu tidak bisa bereaksi dengan cepat dengan beberapa golongan antioksidan seperti glutathion (Raharjo dan Haryoto, 2017). Reaksi yang terjadi pada penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP yaitu dengan mereduksi ion besi ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ )-TPTZ menjadi bentuk ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ )-TPTZ yang ditandai dengan adanya perubahan warna biru intens (Nurulita dkk., 2019).

Dalam penelitian ini digunakan vitamin C sebagai pembanding karena vitamin C merupakan golongan antioksidan sekunder yang dapat menghambat atau menangkal dari berbagai radikal bebas. Vitamin C mempunyai gugus hidroksil yang mempunyai fungsi untuk menangkap radikal bebas dan mempunyai gugus polihidroksil yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini digunakan larutan buffer asetat pH 3,6 yang berfungsi untuk melarutkan  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  selain itu sebagai pemberi suasana asam. Pengujian dilakukan pada suasana asam (pH 3,6) dengan tujuan untuk menjaga kelarutan dari ion besi yang dapat meningkatkan transfer elektron sehingga mekanisme reaksi akan lebih stabil (Munteanu dan Apetrei, 2021). Adanya penambahan TPTZ (*2,4,6-tripyridyl-striazine*) berfungsi untuk mengendapkan kompleks dari kalium ferosianida, sedangkan  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (*klorida heksahidrat*) berfungsi untuk membentuk kompleks warna hijau sampai warna biru (biru berlin). Digunakan larutan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (*Ferro sulfat heptahidrat*) sebagai larutan standar sehingga hasil yang diperoleh dalam penentuan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam mmol/L  $\text{Fe}^{2+}$ .

Penetapan aktivitas antioksidan pada vitamin C dan sampel ekstrak etanol bawang tunggal hitam dilakukan pengukuran absorbansi sampel pada tiga seri konsentrasi dengan tiga kali pembacaan absorbansi untuk setiap satu konsentrasi. Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini digunakan FRAP *value* sebagai parameter. FRAP *value* merupakan kemampuan suatu ekstrak yang dianalogikan untuk mereduksi ion besi ( $\text{Fe}^{3+}$ ) menjadi bentuk ( $\text{Fe}^{2+}$ ), sehingga semakin tinggi konsentrasi maka FRAP *value* akan semakin meningkat. Semakin

tinggi FRAP *value* yang dihasilkan menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol bawang tunggal hitam semakin kuat. Kemampuan ekstrak etanol bawang tunggal hitam dalam mereduksi besi pada reagen FRAP menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai kandungan senyawa yang bersifat donor elektron yang dapat bereaksi dengan radikal bebas sehingga dapat menghentikan reaksi berantai dan membuat produk lebih stabil. Pada penelitian ini diperoleh hasil FRAP *value* vitamin C sebesar 12,491; 12,806; 16,253  $\pm$ 2,087 mmol FeSO<sub>4</sub>/mg sampel. Sedangkan FRAP *value* pada sampel ekstrak etanol bawang tunggal hitam beserta kulit yaitu sebesar 2,621; 2,714; dan 3,040  $\pm$ 0,220 mmol FeSO<sub>4</sub>/mg sampel serta pada sampel ekstrak etanol bawang tunggal hitam tanpa kulit yaitu sebesar 2,211; 2,359; dan 2,538  $\pm$ 0,163 mmol FeSO<sub>4</sub>/mg sampel. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, pada FRAP *value* vitamin C untuk ketiga seri konsentrasi termasuk dalam kategori FRAP *value* rendah (10-50  $\mu$ g/gram), sedangkan pada FRAP *value* kedua sampel ekstrak etanol bawang tunggal hitam untuk ketiga seri konsentrasi termasuk dalam kategori FRAP *value* sangat rendah (<10  $\mu$ g/gram). Berdasarkan hasil tersebut maka semakin tinggi FRAP *value* dalam suatu sampel maka aktivitas antioksidan semakin baik (Fernandes dkk., 2016).

Pada hasil uji statistik menggunakan uji *One Way Anova* diperoleh hasil bahwa pada ketiga sampel yaitu vitamin C dan kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam terdapat perbedaan yang signifikan. pada uji LSD menunjukkan bahwa FRAP *value* pada sampel vitamin C berbeda signifikan dengan kedua ekstrak etanol bawang tunggal hitam, begitu juga dengan FRAP *value* pada kedua sampel ekstrak etanol bawang tunggal hitam untuk ketiga seri konsentrasi menunjukkan hasil yang sama yaitu terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikansi <0,05. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh maka diketahui kulit bawang mempengaruhi aktivitas antioksidan khususnya FRAP *value*, kadar flavonoid dan fenolik total pada sampel, serta pada uji senyawa fitokimia yang menunjukkan adanya perbedaan intensitas warna dimana pada ekstrak beserta kulit lebih pekat dibandingkan tanpa kulit. Berdasarkan hal tersebut maka hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kim dkk (2016) bahwa kadar flavonoid dan fenolik total berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan, sehingga semakin

tinggi kadar flavonoid dan fenolik total dalam sampel maka aktivitas antioksidan akan semakin baik. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada sampel dinyatakan dalam FRAP *value*, dimana semakin tinggi FRAP *value* maka antioksidan yang dihasilkan akan semakin baik (Fernandes dkk., 2016).

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI  
YOGYAKARTA