

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum* L. var. solo)**

##### **1. Deskripsi Bawang Putih Tunggal**

Bawang putih ditemukan di Mesir sekitar tahun 3.000 SM. Bawang putih merupakan tanaman yang telah lama dikenal di India dan Tiongkok. Bawang putih diperkenalkan ke benua Amerika dan kemudian menyebar ke seluruh dunia oleh bangsa Spanyol, Portugis, dan Prancis (BPOM, 2016:7).

Bawang putih dilindungi oleh selaput luar yang tebal dan selaput dalam yang tipis. Bawang putih memiliki umbi lapis utuh dan licin, bagian pangkal yang keras dan ujung yang runcing. Bawang putih memiliki aroma khas, berwarna putih atau putih keunguan, dan memiliki rasa sedikit pedas dan pahit (Farmakope Herbal Indonesia, 2017:44).

Bawang putih tunggal adalah salah satu jenis bawang putih yang hanya ditemukan di daerah tertentu. Bawang putih tunggal merupakan bawang yang secara morfologi hanya tersusun satu umbi. Umbi tunggal yang terjadi merupakan dampak lingkungan tidak sesuai yang dialami bawang putih karena ketinggian tempat dan nutrisi dalam tanah. Hal ini menyebabkan gagalnya pembentukan tunas utama dan menekan pembentukan tunas-tunas bakal siung, daun yang biasanya membungkus siung-siung hanya mampu membungkus umbi utuh sehingga kulit umbi utuh lebih tebal daripada kulit luar umbi yang bersiung. Bawang putih tunggal tidak cocok di tanam pada dataran rendah yang mengandung banyak air karena dapat memicu terjadinya pembusukan (Lestari, 2021:2).



Sumber: Dokumen Pribadi

Gambar 2.1 Bawang Putih Tunggal

## 2. Klasifikasi Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum* L. var. solo)

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Liliopsida
- Ordo : Liliales
- Famili : Liliaceae
- Genus : *Allium*
- Species : *Allium sativum* L.
- Varietas : *Allium sativum* L. var. solo (Neeraj et al., 2014:524).

## 3. Senyawa Bioaktif Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum* L. var. solo)

Bawang putih tunggal memiliki kandungan berbagai jenis senyawa bioaktif, diantaranya senyawa organosulfur, saponin, senyawa fenolik, dan polisakarida. *Allium sativum* segar berisi 63% air, 28% karbohidrat (fruktan), 2,3% senyawa organosulfur, 2% protein (alliinase), 1,2% asam amino bebas (arginin), dan 1,5% serat. *Allium sativum* segar, tanpa pengolahan, mengandung *γ-glutamylcysteine* yang bisa mengalami hidrolisis dan teroksidasi untuk membentuk alliin. Alliin merupakan senyawa precursor alkil-alkana sitotoksik dan tiosulfinat seperti *allicin*. *Allicin* dan tiosulfinat lainnya terurai menjadi *dialil sulfide* (DAS), *dialil disulfide* (DADS) dan *diallyl trisulfida* (DATS), *ditiins*, dan *ajoene*. Pada saat yang sama, *γ-glutamylcysteine* diubah menjadi *S-allyl cysteine* (SAC) yang berkontribusi

pada aktivitas antidiabetes, antioksidan, dan anti-inflamasi (Dewi; dkk, 2022:163).

#### 4. Reaksi Pencoklatan

Reaksi pencoklatan (*browning*) dimaksud adalah proses perubahan pigmen kuning menjadi coklat gelap. Reaksi pencoklatan ini dapat terjadi karena reaksi enzimatik atau tanpa enzim (Basuki; dkk, 2019:30).

##### a. Pencoklatan Enzimatis

Reaksi pencoklatan enzimatik merupakan proses kimiawi pada saat jaringan tanaman atau hewan terpapar dengan oksigen (pengirisan, pemotongan, pengecilan ukuran). Enzim yang berperan dalam pencoklatan enzimatik adalah polifenol oksidase/fenol oksidase dan fenolase/polifenolase (Basuki; dkk, 2019:30).

##### b. Pencoklatan Non-Enzimatis

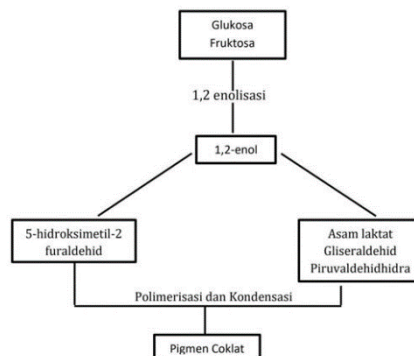
Pencoklatan non-enzimatik merupakan proses kimia yang menghasilkan warna coklat pada makanan tanpa aktivitas enzim. Karamelisasi, reaksi Maillard, dan pembentukan warna coklat yang dipicu oleh vitamin C adalah contoh reaksi pencoklatan non-enzimatik. Peristiwa pencoklatan bahan pangan ada yang disengaja untuk meningkatkan palatibilitas, penampilan, kualitas aroma dan warna (Basuki; dkk, 2019:31).

##### 1) Karamelisasi

Pada pemanasan gula sukrosa akan terjadi peningkatan konsentrasi dan titik didih sehingga terjadi penguapan air sampai terbentuk larutan sukrosa yang mencapai titik lebur pada suhu 160°C. Karamelisasi terjadi bila pemanasan sukrosa dilanjutkan sampai melampaui titik leburnya misalnya 170°C (Basuki; dkk, 2019:31).

Reaksi karamelisasi adalah reaksi yang melibatkan gula sederhana yang menghasilkan pembentukan warna coklat karamel dan pembentukan komponen *flavour*. Gugus amina tidak diperlukan untuk karamelisasi, berbeda dengan reaksi Maillard yang memerlukan gugus amina. Jenis gula yang dapat mengalami reaksi karamelisasi juga tidak harus gula pereduksi. Reaksi karamelisasi terjadi apabila gula sederhana (misal glukosa, fruktosa, sukrosa) dipanaskan pada suhu di atas titik lelehnya, misalnya pada suhu di atas 170°C

untuk sukrosa. Reaksi karamelisasi berlangsung kompleks yang melewati reaksi-reaksi intermediat, seperti reaksi inversi dan fragmentasi yang diakhiri dengan pigmen coklat yang membentuk warna coklat (Kusnandar, 2019:20).



Sumber: Kimia Pangan Konstruktivisme (Ibrahim; dkk, 2021:12)

Gambar 2.2 Reaksi Karamelisasi

## 2) Reaksi Maillard

Reaksi Maillard adalah pencoklatan pada bahan pangan merupakan reaksi antara gugus aldehid dari gula dengan gugus amina dari asam amino atau protein. Reaksi pencoklatan tersebut dapat dikehendaki untuk menghasilkan rasa dan aroma, atau warna pangan pada bahan pangan. Gugus karbonil pada gula bereaksi dengan gugus amino pada protein untuk menghasilkan N-substitusi glikosamin dan air yang merupakan langkah pertama dalam mekanisme reaksi Maillard. Ketidakstabilan glikosamin membentuk ketosamin melalui reaksi Rearrangement Amadori. Reaksi Maillard menghasilkan ratusan komponen rasa yang berbeda dan bahkan dapat menghasilkan berbagai turunan senyawa *flavour* baru yang reaksinya tergantung komponen dalam bahan pangan tersebut (Basuki; dkk, 2019:32).

## B. Bawang Hitam (*Black Garlic*)

Bawang putih memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, namun konsumsi bawang putih mentah terbatas. Hal ini karena beberapa orang tidak menyukai bau dan rasa yang kuat dari bawang putih mentah yang diakibatkan oleh senyawa organosulfur. Bawang putih mentah dapat diproses menggunakan berbagai teknik, termasuk fermentasi dan pemanasan yang lama untuk

menghilangkan bau yang menyengat, memberikan rasa manis, dan meningkatkan manfaatnya untuk kesehatan. Salah satunya ialah bawang hitam yang merupakan produk olahan bawang putih dengan cara pemanasan bawang putih segar pada suhu tinggi serta kelembaban terkontrol sehingga dapat menghilangkan aroma organosulfur pada bawang putih (Sailah dan Miladulhaq, 2021:88-89).



Sumber: LPPOM MUI

Gambar 2.3 *Black Garlic*

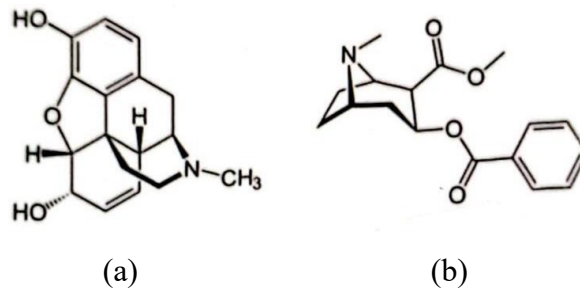
Fermentasi bawang putih segar menggunakan suhu tinggi menghasilkan bawang putih hitam. Selama proses pemanasan, senyawa yang tidak stabil dari bawang putih segar yaitu alliin (*S-Allyl-L-cysteine sulfoxide*) diubah menjadi senyawa yang stabil yaitu *S-allyl cysteine* (SAC). *Black garlic* sebagai salah satu bahan herbal yang dibutuhkan sebagai suplemen untuk menjaga stamina dan vitalitas tubuh. Flavonoid, fenol, piruvat, tiosulfat, *S-allyl cysteine* (SAC), dan *S-allylmercaptocysteine* (SAMC) merupakan beberapa senyawa bioaktif yang terdapat dalam bawang hitam (Pramitha dan Yani, 2020:84-85).

### C. Senyawa Metabolit Sekunder

#### 1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik bersifat basa atau alkali dan sifat basa ini disebabkan adanya atom N (Nitrogen) dalam molekul senyawa tersebut dalam struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis. Alkaloid bebas dan garam alkaloid umumnya berupa zat padat yang memiliki bentuk kristal tidak berwarna

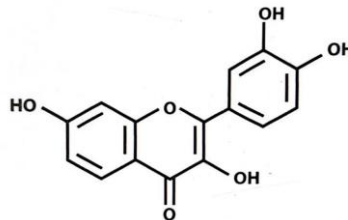
(berberina dan serpentine berwarna kuning) dan memiliki bentuk cair. Sebagian besar alkaloid memiliki rasa yang pahit (B. A. Dewi; dkk, 2021:107).



Sumber: Farmakognosi (Emelda, 2019:134).

Gambar 2.4 Jenis Alkaloid (a) Morfin dan (b) Kokain

## 2. Flavonoid



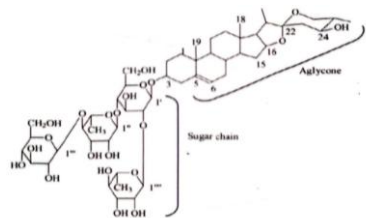
Sumber: Farmakognosi (Emelda, 2019:128).

Gambar 2.5 Struktur Flavonoid

Flavonoid dengan berbagai struktur kimia menyumbang 5-10% dari senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid terdiri atas 15 atom karbon (C), satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah heterosiklik dengan kandungan oksigen yang membentuk kerangka dasarnya. Terdapat dua C<sub>6</sub> (cincin benzene) yang terikat pada rantai propane (C<sub>3</sub>) sehingga membentuk C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Struktur tersebut kemudian dapat menghasilkan tiga struktur lainnya yaitu flavonoid, isoflavonoid, dan neoflavonoid. Istilah flavonoid dipakai untuk menyebutkan senyawa-senyawa fenol yang berasal dari kata flavon yaitu nama salah satu flavonoida yang terbesar jumlahnya dalam tanaman. Senyawa flavonoid merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan pada tanaman. Flavonoid dikenal sebagai komponen biotif pada makanan khususnya sebagai antioksidan. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan didalam tubuh disebut bioflavonoid. Biasanya flavonoid dapat ditemukan pada

daun, bunga, buah, biji-bijian, rempah, dan pada tumbuhan berkhasiat obat. Beberapa bentuk flavonoid adalah isoflavone, antosianidin, flavan, flavonol, flavon, dan flavonon (Emelda, 2019:159).

### 3. Saponin

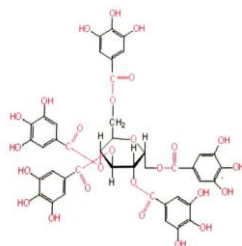


Sumber: Farmakognosi (Emelda, 2019:167).

Gambar 2.6 Struktur Saponin

Saponin memiliki bagian utama dalam bentuk turunan triterpen dengan sedikit steroid, di mana residu gula dihubungkan dengan gugus -OH yang umumnya adalah C3-OH dari aglikon (*monodesmoside saponin*) dan jarang menggunakan 2 gugus OH atau satu gugus OH dan satu gugus karboksil (*bis-desmoside saponin*) (Emelda, 2019:166).

### 4. Tanin

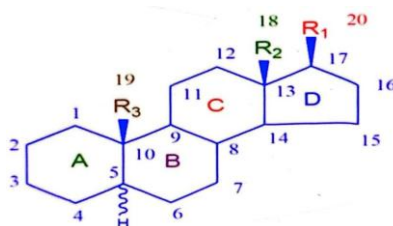


Sumber: Farmakognosi (Emelda, 2019:164).

Gambar 2.7 Struktur Tanin

Salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang penting dan terdapat pada berbagai jenis tumbuhan adalah tanin. Tanin mampu menjadi pengompleks dan mengendapkan protein lebih cepat serta mengikat makromolekul lainnya. Tanin merupakan campuran senyawa polifenol yang jika semakin banyak jumlah gugus fenolik maka semakin besar ukuran molekul tanin. Tanin dapat ditemukan didaun, tunas, biji, akar, dan batang jaringan (B. A. Dewi; dkk, 2021: 117-118).

## 5. Steroid

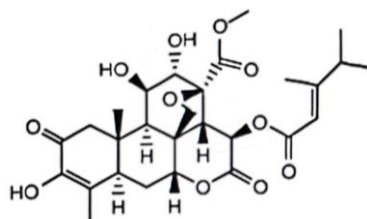


Sumber: Farmakognosi (Emelda, 2019:125).

Gambar 2.8 Struktur Steroid

Steroid adalah kelompok senyawa bahan alam yang sebagian besar membentuk struktur *1,2-siklo-pentenoperhidrofenantren* yang terdiri dari 17 atom karbon. Steroid terdiri atas sterol, aglikon kardiak beserta bentuk glikosidanya yaitu glikosida jantung dan sapogenin beserta dengan bentuk glikosidanya. Steroid terdiri dari molekul saponin dengan 27 atom karbon. Saraponin adalah aglikon yang terbentuk ketika saponin steroid mengalami hidrolisis (Emelda, 2019:125-126)

## 6. Terpenoid



Sumber: Farmakognosi (Emelda, 2019:161).

Gambar 2.9 Struktur Triterpenoid

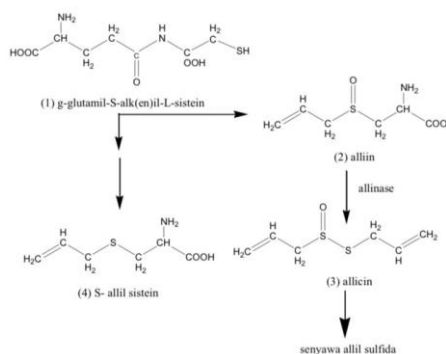
Terpenoid merupakan suatu senyawa yang termasuk metabolit sekunder dimana merupakan modifikasi dari golongan terpena. Terpenoid merupakan derivat dari senyawa terpen melalui mekanisme dehidrogenasi dan oksigenasi. Terpenoid merupakan penyusun utama dari minyak atsiri, dan selain diketemukan dalam keadaan bebas, seringkali terpenoid berada dalam bentuk glikosida ataupun glikosil ester. (Emelda, 2019:160).

### 1. Organosulfur

Lebih dari 100 metabolit sekunder yang bermanfaat dapat ditemukan dalam bawang putih. Sebagian besar merupakan zat yang mengandung belerang yang memberikan rasa, aroma, dan karakteristik obat pada bawang



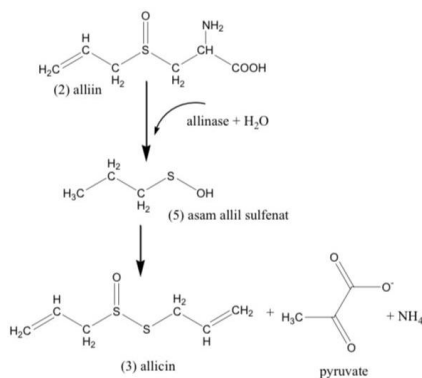
putih. Minyak atsiri *S-alk(en)il-sistein sulfoksida* juga dikenal sebagai alliin dan asam amino *non-volatil  $\gamma$ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein* adalah dua senyawa organosulfur yang paling signifikan yang ditemukan dalam umbi bawang putih.



Sumber: (Song and Milner, 2001)

Gambar 2.10 Jalur Pemecahan  $\gamma$ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein

Senyawa  $\gamma$ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein ialah senyawa intermediet biosintesis untuk membentuk senyawa organosulfur lainnya, termasuk alliin. Senyawa ini dihasilkan melalui jalur biosintesis asam amino. Dari  $\gamma$ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein, reaksi enzimatik yang terbentuk akan memproduksi berbagai senyawa turunan, melewati dua cabang reaksi, yaitu jalur pembentukan thiosulfinat dan *S-allil sistein* (SAC) (Gambar 2.10).



Sumber: (Song and Milner, 2001)

Gambar 2.11 Reaksi Pembentukan *Allicin*

*Allicin* akan dihasilkan melalui rute pembentukan thiosulfinat. Kemudian melalui jalur ini akan terbentuk kelompok *allil sulfida*, *dithiin*, *ajoene*, dan senyawa sulfur lain. Proses reaksi penguraian  $\gamma$ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein

berjalan menggunakan bantuan enzim  *$\gamma$ -glutamyl-transpeptidase* dan  *$\gamma$ -glutamyl-peptidase oksidase*, serta akan menghasilkan alliin. Pada saat umbi bawang di iris, enzim alliinase menjadi aktif dan menghidrolisis alliin untuk memproduksi senyawa intermediet asam *allil sulfenat*. Kondensasi asam tersebut membentuk *allicin*, asam piruvat, dan ion  $\text{NH}_4^+$  (Gambar 2.11).

#### D. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya menggunakan sejumlah pelarut sebagai pemisah. Semakin besar luas permukaan serbuk yang bersentuhan dengan pelarut, semakin baik hasil ekstraksi yang diperoleh. Ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas adalah metode ekstraksi yang didasarkan pada ada atau tidaknya proses pemanasan pada ekstraksi (Hujjatusnaini; dkk, 2021: 5-8).

##### 1. Ekstraksi dengan Cara Panas

###### a. Soxhletasi

Salah satu metode ekstraksi yang menggunakan pelarut baru disebut ekstraksi soxhletasi. Adanya pemanasan menyebabkan pelarut ke atas kemudian setelah di atas akan diembunkan oleh pendingin udara menjadi tetesan-tetesan yang akan terkumpul kembali dan bila melewati batas lubang pipa samping soxhlet, maka akan terjadi sirkulasi yang berulang-ulang akan menghasilkan penyarian yang baik (Hujjatusnaini; dkk, 2021:12-13).

###### b. Refluks

Refluks adalah teknik ekstraksi yang menggunakan pendingin balik untuk meningkatkan atau menyempurnakan hasil ekstraksi. Refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut. Biasanya, refluks dilakukan pada residu pertama sebanyak tiga hingga enam kali (Hujjatusnaini; dkk, 2021:11)

###### c. Infusa

Infusa merupakan cara mengekstraksi bahan nabati dengan pelarut air pada suhu  $90^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Biasanya, infusa dihasilkan dari simplisia yang berupa jaringan lunak seperti bunga dan daun yang memiliki kandungan

minyak atsiri, dan zat-zat yang tidak dapat bertahan dengan pemanasan dalam waktu yang lama (Hujjatusnaini; dkk, 2021:14)

d. Dekoktasi

Dekoktasi adalah metode ekstraksi dengan merebus, di mana air digunakan sebagai pelarut dan dipanaskan hingga 90-95°C selama 30 menit. Jika tidak terjadi kontaminasi, jenis sediaan ini bisa disimpan untuk durasi waktu yang panjang di suhu dingin (Hujjatusnaini; dkk, 2021:14).

e. Digesti

Digesti merupakan modifikasi dari maserasi. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengocokan tertentu), biasanya pada temperatur 40-50°C. Dengan penambahan pengadukan dan atau pemanasan proses transfer masa lebih cepat, dengan demikian proses ekstraksi juga lebih cepat. Selain itu, terjadi peningkatan kelarutan senyawa target dengan adanya peningkatan temperatur (Munin dan Ahmad, 2023:25).

2. Ekstraksi dengan Cara Dingin

a. Maserasi

Bahan atau simplisia yang tidak tahan panas dapat diekstraksi menggunakan proses maserasi yang melibatkan perendaman bahan tersebut dalam pelarut tertentu selama waktu yang telah ditentukan. Untuk mencegah penguapan pelarut yang berlebihan akibat faktor suhu, proses maserasi dilakukan pada suhu ruang yaitu 20-30°C. Pengadukan dilakukan selama 5 menit untuk memastikan komponen dan pelarut tercampur dengan baik. Maserasi dikerjakan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari, cairan penyari tersebut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif tersebut akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka dari itu larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga menyebabkan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Hujjatusnaini; dkk, 2021:9-10).

Kelemahan metode maserasi terletak pada ketidakefisienannya dalam hal rendemen dan waktu. Selain itu, maserasi juga membutuhkan pelarut dengan

volume yang lebih banyak, dan peluang hilangnya senyawa metabolit selama proses juga lebih banyak, karena menempel pada bahan, menempel pada kertas saring, dan menempel pada bejana. Ada kemungkinan terjadinya perubahan struktur kimia dari metabolit yang tidak stabil karena lamanya proses dan kontak dengan air atau pelarut (Nugroho, 2017:75).

#### a. Perkolasi

Perkolasi adalah suatu proses ketika simplisia yang sudah halus, diekstraksi dengan pelarut yang cocok. Bahan herbal yang telah dihaluskan ditempatkan dalam wadah silinder dengan penghalang berpori di bagian bawah merupakan prinsip perkolasi. Proses ini memerlukan lebih banyak pelarut dan waktu yang lebih lama (Hujjatusnaini; dkk, 2021:10).

### E. Antioksidan

Secara kimia antioksidan adalah zat yang menyumbangkan elektron. Senyawa yang dikenal sebagai antioksidan memiliki kemampuan untuk mengurangi atau menangkal dampak negatif oksidan. Cara kerja antioksidan dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Sayuti & Yenrina, 2015:7). Jenis uji yang dipakai untuk antioksidan ialah FRAP, DPPH, ORAC, ABTS dan CUPRAC

#### 1. Metode Analisis FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

FRAP merupakan metode analisis yang biasa digunakan untuk mengukur kekuatan antioksidan dalam mereduksi Fe (III)-TPTZ menjadi Fe (II)-TPTZ dan terjadi perubahan warna dari kuning ke biru. TPTZ (*4,6-tri(2-pyridyl-s-triazine)*) sendiri adalah *colorants* dan Fe (III) merupakan radikal bebas (Mu'Nisa, 2023:5-6).

#### 2. Metode Analisis ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

ORAC menggunakan pengukuran reaksi antioksidan dengan senyawa radikal bebas AAPH (*2,2'-azobis-(2-amidino-propane) dihydrochloride*), dimana antioksidan akan mengubah atom hidrogen untuk mereduksi radikal bebas. Aktivitas terjadi ketika adanya substitusi OH dengan struktur antioksidan yang diteliti. Prinsip dari metode ini adalah ketika radikal bebas,

yaitu azo-initiator ditambahkan molekul berwarna atau fluoresen seperti  *$\beta$ -phitocoerythrin* ( $\beta$ -PE) kemudian dipanaskan, azo-initiator akan menghasilkan radikal bebas peroksil yang merusak  *$\beta$ -phitocoerythrin* sehingga kehilangan warnanya atau menjadi tidak berwarna (Mu'Nisa, 2023:8).

3. Metode Analisis ABTS (*2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiaz-oline-6-sulphonic acid)*)

ABTS merupakan senyawa radikal kation organik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yang bereaksi pada pH 7,4. Aktivitas dari ABTS ditandai dengan perubahan warna yang terjadi dari biru atau hijau, menjadi tidak berwarna. Pengukuran ABTS dilakukan untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam mendonorkan radikal proton sehingga tercapai kestabilan (Mu'Nisa, 2023:6-7).

4. Metode Analisis CUPRAC (*Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity*)

Pada metode CUPRAC kompleks *bis-neokuproin-tembaga* (II) akan mengoksidasi persenyawaan antioksidan dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks *bis-neokuproin-tembaga* (I). Prinsip metode ini adalah pembentukan kelat oleh *bis-neokuproin-tembaga* (II) menggunakan redoks kromogenik pada Ph 7 (Irianti; dkk, 2020:100).

5. Metode Analisis DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Uji aktivitas antioksidan dalam pengujian menggunakan DPPH untuk radikal bebas yang bersifat stabil. Pada uji ini, DPPH akan berwarna ungu karena adanya delokalisasi, yang kemudian akan berubah warna menjadi kuning hydrazine ketika bereaksi dengan antioksidan dan mengalami proses reduksi. Proses reduksi terjadi karena adanya donor hidrogen dari substrat yang mengakibatkan warna ungu pada DPPH berkurang (Mu'Nisa, 2023:7).

Metode DPPH berfungsi dalam mengevaluasi potensi antioksidan dalam meredam radikal bebas. Dalam proses evaluasi antioksidan menggunakan uji DPPH, terdapat proses skrining yang bertujuan sebagai uji kuantitatif aktivitas antioksidan dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal yaitu 517 nm. DPPH hanya larut dalam pelarut organik juga digunakan untuk pengujian antioksidan yang bersifat polar. Konsentrasi aktivitas antioksidan yang diuji dengan menggunakan uji DPPH dinyatakan

dengan parameter IC<sub>50</sub> (berasal dari *Inhibition Concentration* IC<sub>50</sub> atau bisa dinyatakan sebagai *Efficiency Concentration* EC<sub>50</sub>), dimana angka ini menyatakan konsentrasi antioksidan yang digunakan dalam mengurangi konsentrasi DPPH sebanyak 50%. Semakin sedikit nilainya maka menyatakan bahwa semakin besar aktivitas antioksidannya.

Tabel 2.1 Potensi antioksidan dengan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH)

Intensitas Kekuatan Antioksidan	Nilai IC <sub>50</sub>
Sangat Kuat	<50 µg/mL
Kuat	50-100 µg/mL
Sedang	101-150 µg/mL
Lemah	>150 µg/mL

## F. Spektrofotometer Uv-Vis

Spektrofotometer adalah pengukuran jauhnya pengabsorsian energi cahaya sebagai fungsi dari panjang gelombang. Semua molekul dapat mengabsorpsi radiasi dalam daerah UV-tampak karena mengandung elektron, baik sekutu maupun menyendiri, yang dapat dieksitasikan ke tingkat energi yang lebih tinggi. Panjang gelombang di mana absorpsi itu terjadi, bergantung ada berapa kuat elektron itu terikat dalam molekul itu. Elektron dalam suatu ikatan kovalen tunggal terikat dengan kuat dan diperlukan radiasi berenergi tinggi atau panjang gelombang pendek untuk eksitasinya (R.A. Day & Underwood, 1998:382).

### 1. Tipe-tipe Spektrofotometer UV-Vis

#### a. *Single-beam*

*Single-beam instrument* dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar ultraviolet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm. *Double-beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm (Suhartati, 2017:2-3).

#### b. *Double-beam*

*Double-beam instrument* memiliki dua sinar yang dihasilkan oleh potongan cermin yang berbentuk V yaitu pemecah sinar. Sementara sinar kedua

secara bersamaan bergerak melalui sampel, sinar pertama melewati larutan kosong. Sumber cahaya polikromatik adalah lampu wolfram untuk cahaya tampak dan lampu deuterium untuk cahaya UV (Suhartati, 2017:3-4).

## 2. Bagian-bagian spektrofotometer

### a. Sumber cahaya

Lampu pijar dengan kawat rambut tungsten biasanya digunakan sebagai sumber energi radiasi untuk bagian spektrum daerah tampak, ultraviolet, dan inframerah. Dalam kondisi operasional yang umum, keluaran lampu wolfram ini cukup memadai antara 325 dan 350 nm dan 3  $\mu$ m. Dibawah kira-kira 350 nm, keluaran lampu wolfram, tak memadai untuk spektrofotometer dan haruslah menggunakan sumber yang berbeda. Paling lazim adalah lampu tabung discas (*discharge tube*) hidrogen (*deuterium*) yang digunakan dari kira-kira 175 ke 375 atau 400 nm (R.A. Day & Underwood, 1998:397).

### b. Monokromator

Perangkat optik yang disebut monokromator digunakan untuk memisahkan sinar radiasi dengan panjang gelombang yang diinginkan dan kemurnian spektral yang tinggi dari sumber yang kontinu. Lebar celah keluar dan daya dispersi prisma menentukan kemurnian spektral radiasi yang keluar dari dalam monokromator (R.A. Day & Underwood, 1998:399).

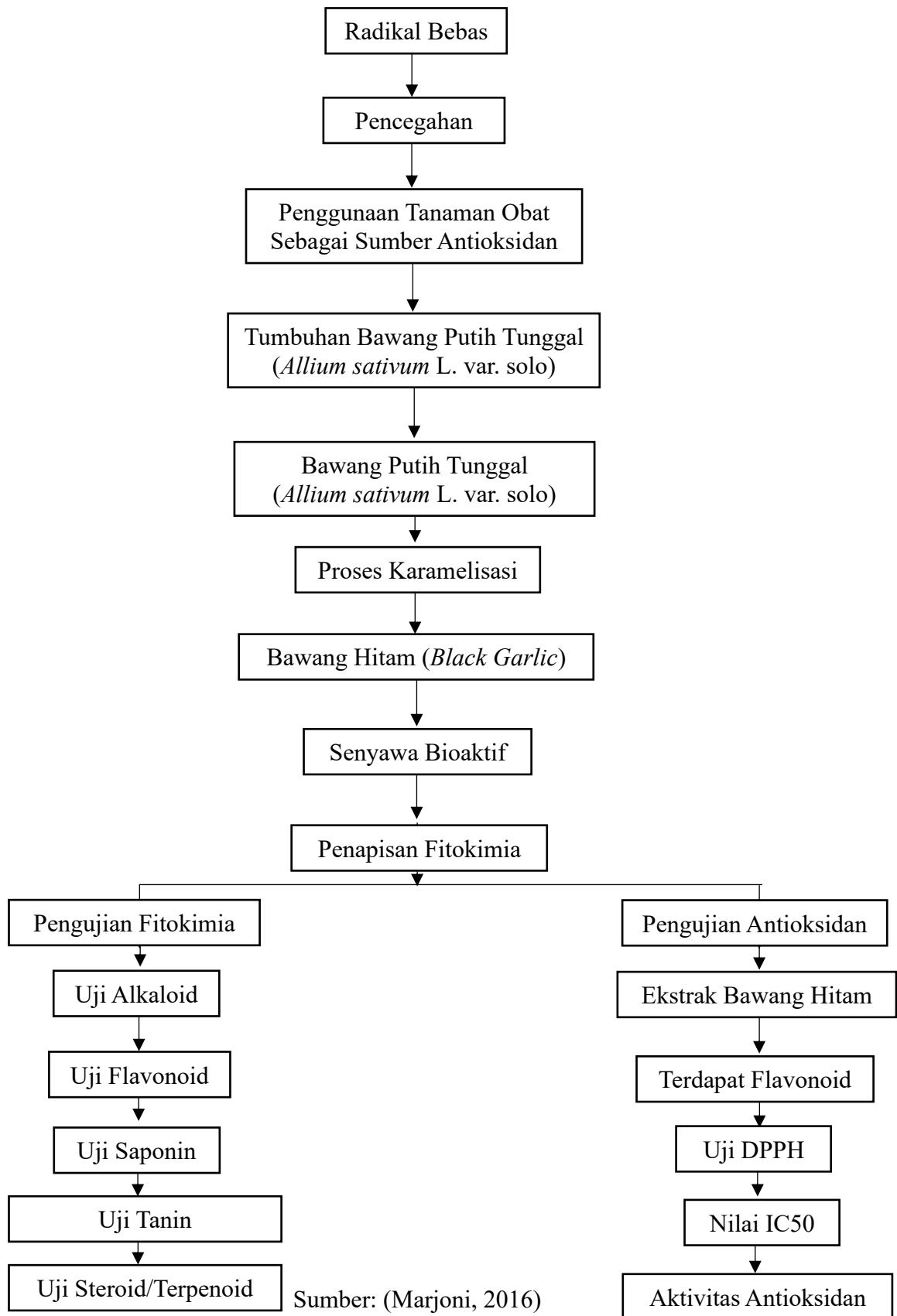
### c. Kuvet

Wadah sampel adalah sel untuk menaruh cairan kedalam berkas cahaya spektrofotometer. Sel kaca melayani daerah tampak, sel kuarsa atau kaca silika tinggi untuk daerah ultraviolet dan garam dapur alam untuk inframerah. Sel-sel harus di isi sedemikian rupa sehingga berkas cahaya menembus larutan, dengan miniskus terletak seluruhnya diatas berkas (R.A. Day & Underwood, 1998:402).

### d. Detektor

Intensitas radiasi diukur oleh detektor. Fotografi, efek fotolistrik, dan efek termoelektrik adalah jenis pendeteksian yang sudah digunakan. Detektor fotolistrik digunakan dalam daerah tampak dan ultraviolet dan detektor yang didasarkan pada efek termal digunakan pada inframerah (R.A. Day & Underwood, 1998:402).

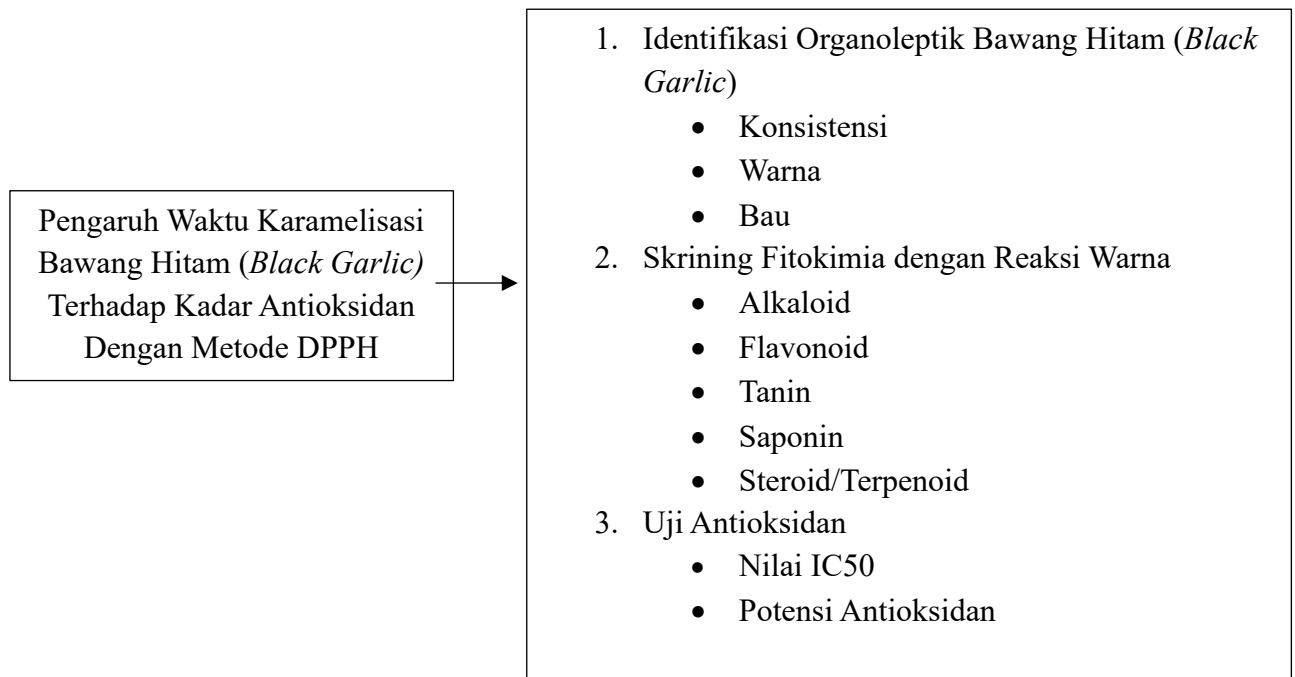
### G. Kerangka Teori



Gambar 2.12 Kerangka Teori



## H. Kerangka Konsep



Gambar 2.13 Kerangka Konsep

## I. Definisi Operasional

Tabel 2.2 Definisi Operasional

No.	Variable Penelitian	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Skor
1.	Identifikasi Organoleptis Ekstrak Bawang Hitam	Ekstrak bawang hitam dengan kandungan antioksidan yang tinggi dan memiliki sifat organoleptis yang baik (Faturochman dkk., 2023)	Observasi	Panca Indra <ul style="list-style-type: none"> <li>• Indra penglihatan</li> <li>• Indra penciuman</li> <li>• Indra peraba</li> </ul>	Konsistensi ekstrak, warna dan aroma	Nominal
2. Mengidentifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Bawang Hitam						
a.	Senyawa Alkaloid	Senyawa yang setelah penambahan pereaksi Dragendrof, Bouchardat, dan Mayer terbentuk endapan (Marjoni, 2016)	Observasi	Indra penglihatan	(+) apabila terbentuk endapan paling sedikit 2 atau 3 pada sampel yang sudah direaksikan dengan reagen (-) apabila tidak terbentuk endapan pada ketiga sampel yang sudah direaksikan dengan ketiga reagen	Nominal
b.	Senyawa Flavonoid	Senyawa yang pada lapisan amil alkohol terbentuk warna merah, kuning, atau jingga (Marjoni, 2016)	Observasi	Indra penglihatan	(+) apabila terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol (-) apabila tidak terbentuk warna	Nominal

No.	Variable Penelitian	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Skor
					merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkool	
c.	Senyawa Saponin	Senyawa yang setelah penambahan larutan HCL 2N buih tidak hilang (Marjoni, 2016)	Observasi	Indra penglihatan	(+) apabila buih tidak hilang pada saat penambahan larutan HCL 2N (-) apabila buih hilang pada saat penambahan larutan HCL 2N	Nominal
d.	Senyawa Tanin	Senyawa yang terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan $\text{FeCl}_3$ (B. A. Dewi; cdkk, 2021)	Observasi	Indra penglihatan	(+) apabila terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan pereaksi $\text{FeCl}_3$ . (-) apabila tidak terbentuk warna biru atau hijau kehitaman saat penambahan pereaksi $\text{FeCl}_3$	Nominal
e.	Senyawa Steroid/ Terpenoid	Senyawa yang setelah penambahan pereaksi Lieberman Burchard terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan steroid atau terbentuk warna merah hingga ungu menunjukkan terpenoid (Marjoni, 2016)	Observasi	Indra penglihatan	(+) apabila terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan steroid atau terbentuk warna merah hingga ungu menunjukkan	Nominal

No.	Variable Penelitian	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Skor
					terpenoid (-) apabila tidak terbentuk warna biru hingga hijau atau tidak terbentuk warna merah hingga ungu	
3.	Uji Antioksidan					
a.	Nilai IC50	IC50 merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas (Sukma; dkk, 2022)	Observasi dan spektrofotometer UV-Vis	Indra penglihatan dan spektrofotometer UV-Vis	Semakin besar nilai IC50 maka aktivitas antioksidan semakin berkurang, semakin kecil nilai IC50 berarti semakin besar daya antioksidannya (Sukma; dkk, 2022)	Rasio
b.	Potensi Antioksidan	Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan dengan melihat besarnya nilai IC50 (Agustina; dkk, 2020)	Observasi	Perbandingan dengan parameter IC50	Sangat kuat = (<50 µg/mL) Kuat = (50-100 µg/mL) Sedang = (101-150 µg/mL) Lemah = (>150 µg/mL)	Rasio