

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN UMBI BAWANG LANANG (*Allium sativum*) TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRIHIDRAZIL)

SAEFUL AMIN

Program studi Farmasi, STIKes BTH Tasikmalaya.

email: saeful_amin@stikes-bth.ac.id

Abstrak : Telah dilakukan uji aktivitas antioksidan umbi bawang lanang (*Allium sativum*). Umbi lapis bawang lanang diekstraksi dengan pelarut etanol, dan difraksinasi masing-masing dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Ekstrak dan fraksi yang dibuat dengan konsentrasi 1, 10, 100, 500, 1000 ppm diuji menggunakan pereaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil). Pengukuran kemampuan peredaman radikal bebas DPPH dilakukan secara spektrofotometri pada 517 nm. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dengan harga IC_{50} ekstrak etanol adalah 13,85 ppm dan fraksi etil asetat adalah 7,27 ppm. Sebagai pembandingan digunakan asam askorbat standar dengan IC_{50} sebesar 0,25 ppm.

Kata kunci: Antioksidan, Radikal Bebas, Bawang lanang (*Allium Sativum*), DPPH, IC_{50} .

1. LATAR BELAKANG

Salah satu tanaman tradisional yang digunakan sebagai obat adalah bawang putih. Bawang putih memiliki manfaat dan kegunaan yang besar bagi kehidupan manusia. Bagian utama yang paling penting dari tanaman bawang putih adalah umbinya. Pendayagunaan umbi bawang putih selain sudah umum untuk dijadikan bumbu dapur, juga merupakan bahan obat tradisional yang memiliki banyak khasiat (Rukmana, 1994).

Hampir dari sebagian besar penyakit yang menyerang manusia diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Karena kita harus sadar pula bahwa oksigen merupakan sesuatu yang paradoksial dalam kehidupan. Reaksi oksidasi terjadi setiap saat, ketika kita bernapas pun terjadi reaksi oksidasi, reaksi ini melahirkan radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Namun reaktivitas radikal bebas itu dapat di hambat oleh sistem yang dinamakan antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh manusia (Winarsi, 2007).

Lain hal saat ini sangat banyak sekali produk-produk baik makanan maupun minuman yang mengandung antioksidan dan dikatakan dapat melawan kerja jahat radikal bebas. Produk tersebut dijual dengan harga yang cukup mahal padahal, komponen antioksidan terdapat di alam secara melimpah, baik dalam sayur-sayuran maupun buah-buahan. Ragam senyawa yang dihasilkan dari bawang putih sangat banyak sekali umumnya hasil dari perubahan dan degradasi senyawa alisin. Tetapi pengetahuan masyarakat mengenai khasiat bawang putih, yang diantaranya sebagai antioksidan masih sangat terbatas (Winarsi, 2007).

2. METODE PENELITIAN

Bahan Tumbuhan : Umbi lapis Bawang lanang (*Allium sativum*) diperoleh dari daerah Argapura, majalengka. Dan dideterminasi di Herbarium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH), Institut Teknologi Bandung.

Bahan Kimia : Bahan kimia yang digunakan adalah Air, Amil Alkohol, Amonia, Asam Klorida, Etanol 95 %, Etil asetat, Kloroform, N-Heksana, Magnesium, pereaksi radikal bebas DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil), pelat KLT GF 254, Silika gel GF 254, Asam Askorbat standar, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, Natrium Hidroksida, besi (III) Klorida, Liebermann-Burchard, kertas saring bebas abu.

Alat: Timbangan analitis, maserator, botol penampung, evaporator merek Buchi R-124, mikroskop optik, corong pisah, pelat KLT, spray penyemprot, mikropipet, penangas air, Spektrofotometer Shimadzu UV-1601 UV-Vis, volume pipet, Juicer.

Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik Umbi Bawang Lanang

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan pemeriksaan secara organoleptik dengan melihat karakteristik meliputi bentuk, warna, rasa. Sedangkan pemeriksaan mikroskopik menggunakan alat mikroskop optik.

Pemeriksaan Karakteristik Umbi Bawang Lanang

Dilakukan pemeriksaan kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, serta penetapan susut pengeringan.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Umbi bawang lanang diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 95 %, setelah didapat ekstrak difraksinasi dengan pelarut masing-masing n-heksana, etil asetat, dan air. Masing-masing ekstrak dan fraksi yang didapatkan ditampung dan diuapkan hingga pekat dengan menggunakan evaporator.

Uji Aktivitas Antioksidan

Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air di uji aktivitasnya secara kualitatif dengan metode KLT dengan pengembang air : asam asetat : propanol : etanol (1:1:1:2).

Secara kuantitatif ekstrak dan fraksi dibuat seri konsentrasi yaitu 1, 10, 100, 500, 1000 ppm dan diuji aktivitas antioksidannya terhadap peredaman radikal bebas DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) yang dilakukan dengan mengukur serapan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm.

Absorbansi atau serapan cahaya dari pengukuran secara spektrofotometri dihitung persen peredamannya yaitu:

$$\% \text{ Peredaman} = \left[1 - \left[\frac{\text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \right] \right] \times 100\%$$

Dari persen peredaman yang diperoleh dihitung persamaan regresinya terhadap konsentrasi larutan uji mengikuti persamaan :

$$Y = ax + b$$

Dimana :

Y = % Peredaman , X = Konsentrasi Larutan Uji

Dari semua data hasil percobaan kemudian ditentukan IC_{50} , yaitu konsentrasi ekstrak dan masing-masing fraksi yang efektif dan mampu meredam 50% radikal bebas DPPH.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan senyawa, alkaloid, flavonoid saponin, kuinon, Steroid dan Triterpenoid, serta Tanin Dan polifenol.

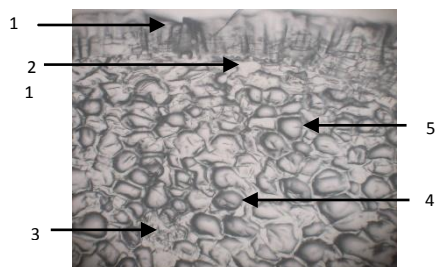
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik Umbi Bawang Lanang

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan pemeriksaan secara organoleptik, sedangkan pemeriksaan mikroskopik menggunakan alat mikroskop optik. Gambar pemeriksaan makroskopik dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil pemeriksaan mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Makroskopik



Gambar 2. Pemeriksaan Mikroskopik

Keterangan :
1. Epidermis
2. Hipodermis
3. Berkas pembuluh
4. Parenkim
5. Parenkim dengan tetes minyak

Pemeriksaan Karakteristik

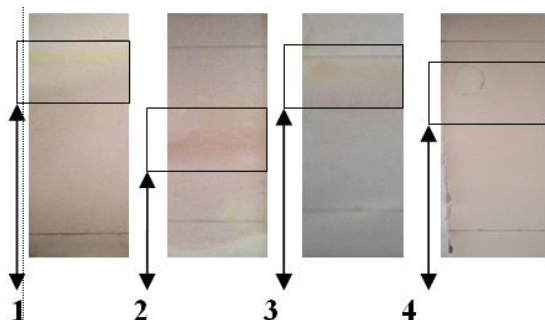
Pemeriksaan karakteristik umbi bawang lanang dihasilkan kadar air sebesar 30%, kadar abu total 1,10%, kadar abu larut air 1,15%, kadar abu tidak larut asam 1,37%, kadar sari larut etanol 3,35%, kadar sari larut air 32,35%, dan penetapan susut pengeringan sebesar 62,25%.

Ekstraksi dan fraksinasi

Hasil ekstraksi secara maserasi dari umbi bawang lanang 650 gram didapatkan ekstrak kental 119,04 gram, hasil fraksinasi didapatkan fraksi n-heksan 2,26 gram, fraksi etil asetat 1,74 gram, dan fraksi air sebanyak 8,72 gram.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) diketahui pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air mempunyai aktivitas antioksidan karena ekstrak dan fraksi tersebut memberikan perubahan warna kuning pada pelat KLT dengan latar ungu setelah disemprot DPPH., dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 3. komatogram uji kualitatif

Keterangan :

1. Bercak kuning Pada Ekstrak Etanol
2. Bercak kuning Pada Fraksi N-Heksan
3. Bercak kuning Pada Fraksi Etil ASetat
4. Bercak kuning Pada Fraksi Air

Hasil pengujian secara kuantitatif dilakukan secara spektrofotometri dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 517 nm. Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, dan asam askorbat standar memberikan penurunan serapan dan itu menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada sampel uji tersebut, hasil pengukuran ekstrak, fraksi dan asam askorbat standar tertera pada tabel 1, dan tabel 2.

Tabel 1. Absorbansi Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air

Kadar (ppm)	Ekstrak Etanol	Fraksi		
		N-Heksan	Etil asetat	Air
1	0,679	0,751	0,485	0,842
10	0,676	0,720	0,465	0,821
100	0,139	0,656	0,442	0,768
500	0,040	0,630	0,419	0,728
1000	0,031	0,443	0,399	0,425

Tabel 2. Absorbansi Asam Askorbat Standar

Konsentrasi(ppm)	Asamaskorbat
0,2	0,470
03	0,456
0,4	0,437
0,5	0,292
0,6	0,210

Pada konsentrasi 100, 500, 1000 ppm ekstrak etanol mampu meredam radikal bebas DPPH sebesar 85,07%, 95,71%, 96,68%. Fraksi n-heksan dan air pada konsentrasi 1000 ppm hanya mampu meredam radikal bebas DPPH sebesar 52,42% dan 54,35%. Untuk fraksi etil asetat pada konsentrasi 10, 100, 500, 1000 ppm mampu meredam radikal bebas DPPH masing-masing sebesar 50,05%, 52,52%, 54,99%, 57,15%. Jika dibandingkan dengan asam askorbat standar, dari konsentrasi 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 ppm, asam askorbat mampu meredam radikal bebas DPPH pada konsentrasi yang kecil

dengan persen peredaman masing-masing sebesar 51,02%, 53,06%, 68,64%, 77,44%. Bila dibandingkan dengan asam askorbat sebagai pembanding dengan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat umbi bawang lanang, persen peredaman ekstrak etanol dan fraksi etil asetat terhadap radikal bebas masih rendah. Tetapi bagaimanapun ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik dibandingkan dengan fraksi n-heksana, fraksi air pada berbagai konsentrasi. Persen peredaman dapat dilihat pada tabel 3, dan tabel 4.

Tabel 3. Persen Peredaman Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air

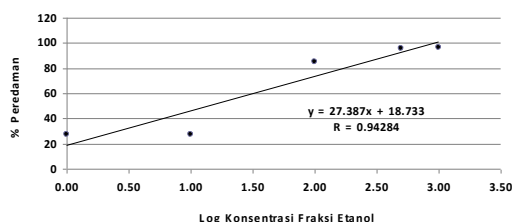
Kadar(ppm)	Ekstrak Etanol (%)	Fraksi (%)		
		N-Heksan	Etil asetat	Air
1	27,06	19,33	47,90	9,55
10	27,39	22,66	50,05	11,81
100	85,07	29,54	52,52	17,50
500	95,71	32,33	54,99	21,80
1000	96,68	52,42	57,15	54,35

Tabel 4. Persen Peredaman Asam Askorbat Standar.

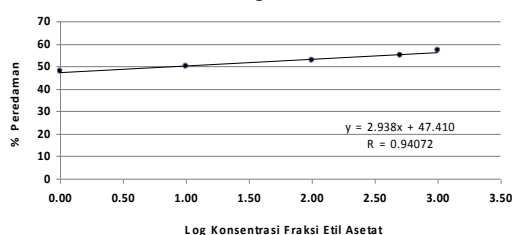
Konsentrasi (ppm)	Asam Askorbat (%)
0,2	49,52
0,3	51,02
0,4	53,06
0,5	68,64
0,6	77,44

Untuk IC₅₀ atau konsentrasi ekstrak dan fraksi-fraksi yang efektif yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH. Dari persamaan regresi linier ekstrak etanol memiliki R = 0,94284 dengan IC₅₀ 13,85 ppm, dengan konsentrasi tersebut ekstrak etanol sudah efektif dapat meredam 50% radikal bebas, dan dapat dilihat pada Gambar 3. Fraksi etil asetat pada Gambar 4, memiliki R = 0,94072 dengan IC₅₀ sekitar 7,27ppm. Pada Gambar 5, Fraksi n-heksana mempunyai IC₅₀ pada 7249,25 ppm, dengan persamaan regresi linier diperoleh R = 0,84807 ppm, dan fraksi air dari persamaan regresi linier diperoleh R = 0,98013 dengan harga IC₅₀ pada 205.417.697,5 ppm, dapat dilihat pada Gambar 6.

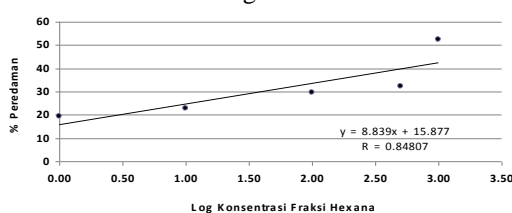
Pada gambar 7, sebagai pembanding yaitu asam askorbat, didapatkan harga IC₅₀ pada konsentrasi 0,25 ppm, dengan persamaan regresi linier diperoleh R= 0,87327.



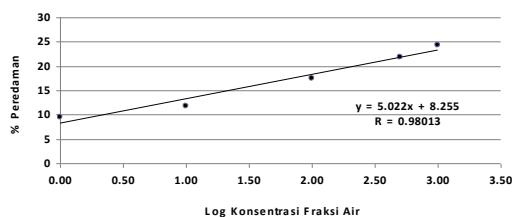
Gambar 3. Persamaan Regresi Linier Ekstrak Etanol



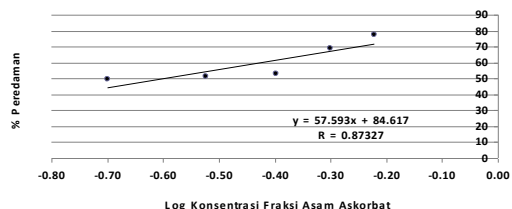
Gambar 4. Persamaan Regresi Linier Fraksi Etil Asetat



Gambar 5. Persamaan Regresi Linier Fraksi N-Heksan



Gambar 6. Persamaan Regresi Linier Fraksi Air



Gambar 7. Persamaan Regresi Linier Asam Askorbat

Diketahui bahwa sampel uji yang mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat adalah sampel yang dapat meredam radikal bebas pada konsentrasi yang kurang dari 200 ppm, (Hanani, *et al*, 2005), dan itu membuktikan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat yaitu mampu meredam radikal bebas DPPH pada konsentrasi yang kurang dari 200 ppm.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia ini dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air umbi bawang lanang. Hasil penapisan fitokimia diketahui bahwa pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air terdeteksi adanya senyawa saponin. Senyawa alkaloid hanya terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi air, Senyawa flavonoid terdapat pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, senyawa steroid dan triterpenoid hanya terdeteksi pada fraksi etil asetat dan fraksi air, dan senyawa tanin hanya terdeteksi pada fraksi etil asetat saja.

Dari berbagai laporan penelitian dapat diketahui bahwa senyawa flavonoid adalah senyawa yang bersifat antioksidan, senyawa ini dapat ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Senyawa fitokimia ini membantu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penapisan Fitokimia Umbi Bawang Lanang

Golongan senyawa kimia	Ekstrak etanol	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Alkaloid	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	-
Saponin	+	+	+	+
Kuinon	-	-	-	-
Steroid dan Triterpenoid	-	-	+	+
Tanin dan polifenol	-	-	+	-

Keterangan : + = Mengandung senyawa
 - = Tidak mengandung senyawa

4. KESIMPULAN

Pada penentuan aktivitas peredaman radikal bebas secara kualitatif ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air positif mempunyai aktivitas antioksidan karena memberikan perubahan warna menjadi kuning pada lempeng KLT.

Secara kuantitatif dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat karena ekstrak dan fraksi tersebut dapat meredam 50% radikal bebas DPPH pada konsentrasi yang kurang dari 200 ppm. Ekstrak etanol dapat meredam 50% radikal bebas DPPH pada konsentrasi 60,2099 ppm dan fraksi etil asetat mampu meredam radikal bebas DPPH pada konsentrasi 1,770 ppm. Sebagai pembanding, digunakan asam askorbat yang mempunyai nilai IC₅₀ pada 0,265 ppm.

5. DAFTAR PUSTAKA

- _____. 1995. *MedicalHerb Index In Indonesia*. 2th Edition. P.T Eisai Indonesia, hal 284
- Aji Wicaksono W. 2005. Uji aktivitas peredam radikal bebas beberapa jamur yang dapat dikonsumsi dan isolasi senyawa aktif peredam radikal bebas dari jamur merang (*volvariella volvacea*) [Skripsi]. Bandung: Jurusan Farmasi ITB.
- Departemen Kesehatan Dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. hal 15, 16
- Ditjen POM, Depkes RI, 1986. *Sediaan Galenik*. Depkes RI : Jakarta, hal 10
- Ditjen POM, Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI: Jakarta, hal 321, 324, 325
- Djaeni sediaotama, Achmad. 2004. *Ilmu Gizi*. Dian Rakyat: Jakarta, hal 131
- Fransworth, N, R. 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *J. Pharm. Sci.* 55, hal 245-265
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisi*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta, hal 323-324, 353-360, 228
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia*. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB, hal 21
- Hanani Endang, *et al.* 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dalam *callyspongia sp* dari kepulauan seribu. *Majalah ilmu kefarmasian*, hal127-133.
- Herliani A P L, *et al.* 2006. Aktivitas antioksidan ekstrak buah salak varietas bongkok (*Salacca edulis reinw*). *ACTA Phamaceutica Indonesia*, Vol 31, no 1, hal 24-27.
- Hernani dan Mono Raharjo. 2004. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Penebar Swadaya: Bogor, hal 5
- Khopkar, SM. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. A. Saptorahardjo, penerjemah. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; Hal. 100, 201, 215-216
- Robinson, Trevor. 1991. *The Organic Constituents Of Higher Plants*. Department of Biochemistry University of Massachusetts: Amherst, hal 50, 51
- Roser, David. 1997. *Bawang Putih Untuk Kesehatan*. Bumi Aksara: Jakarta, hal 150
- Rukmana, Rahmat. 1994. *Budi Daya Bawang Putih*. Kanisus: Yogyakarta, hal 14
- Sastroamidjojo, Seno. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Dian Rakyat: Jakarta, hal 14, 23.
- Schulz V, Hansel R, Tyler Varro E. 1996. *Rational Phytotherapy*. Springer: USA, p 109
- Stecher. G Paul, Windholz Martha, Leahy. Dolores S, editor. 1968. *The Merck Index*. 8th Edition. U.S.A : Merck & Co, Inc. P 389
- Sudjana. 2001. *Metoda Statistika*. Bandung: Tarsito. Hal 315
- Syamsiah, Iyam Siti dan Tajudin. 2003. *Khasiat Dan Manfaat Bawang Putih*. Agromedia Pustaka; Jakarta, hal 1, 6, 11-21, 53, 58
- Wibowo, Singgih. 1987. *Budidaya Bawang*. Penebar Swadaya: Jakarta, hal 77,78
- Winarsi,Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius: Yogyakarta, hal 7, 21
- Windono T, *et al.*2004. Studi hubungan struktur-aktivitas kapasitas peredaman radikal bebas senyawa flavonoid terhadap 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). *Artocarpus*, Vol 4, no 2, hal 47