

KANDUNGAN SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BAWANG MERAH NGANJUK (*Allium Cepa* L.)

BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTI-OXIDANT ACTIVITIES OF NGANJUK SHALLOT (*Allium Cepa* L.)

*Shela Insanul Hikmah and Mirwa Adiprahara Anggarani**

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

** Corresponding author, email: mirwaanggarani@unesa.ac.id*

Abstrak. Nganjuk, Jawa timur adalah daerah penghasil bawang merah, namun potensinya sebagai tanaman obat dan kosmetik belum banyak dikembangkan terutama dalam pemanfaatan senyawa bioaktifnya. Kandungan senyawa bioaktif dinilai berpotensi sebagai zat antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan dari bawang merah Nganjuk. Ekstraksi sampel menggunakan metode maserasi bertingkat dengan tiga jenis pelarut sesuai kepolarannya, yaitu etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan diklorometana (non polar). Jenis pengujian sampel yang dilakukan ialah analisis senyawa bioaktif dan penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Kadar flavonoid menggunakan metode $AlCl_3$ dan untuk penentuan kadar fenolik menggunakan metode Folin Ciocalteu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bawang merah Nganjuk mengandung senyawa bioaktif flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, dan kuinon. Kadar total flavonoid dan fenolik yang didapat rendah yakni secara berturut-turut sebesar 0,881% dan 0,966%. Aktivitas antioksidan ditunjukkan pada nilai IC_{50} pada ekstrak etanol, etil asetat, dan diklorometana berturut-turut yaitu 384,0341 ppm; 5336,7889 ppm; 884,2754 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan bawang merah Nganjuk sangat lemah karena nilai $IC_{50} > 200$ ppm.

Kata kunci : bawang merah nganjuk, senyawa bioaktif, aktivitas antioksidan

Abstract. Nganjuk, East Java is a shallot producing area, but its potential as a medicinal and cosmetic plant has not been developed much, especially in the use of its bioactive compounds. The content of bioactive compounds is considered to be potential as antioxidants. This study aimed to determine bioactive compounds and antioxidant activity. Extraction of the samples used a multilevel maceration method with three types of solvents according to polarity, namely ethanol (polar), ethyl acetate (semi-polar), and dichloromethane (non-polar). The type of sample testing carried out is the measurement of bioactive compounds analysis and determination of antioxidant activity using the DPPH method. Flavonoid levels used the $AlCl_3$ method and for the determination of phenolic levels using the Folin Ciocalteu method. The results showed that Nganjuk shallot extract contained bioactive compounds of alkaloids, flavonoids, phenolics, saponins, tannins, triterpenoids, and quinones. The total flavonoid and phenolic levels were weak, namely 0,881% respectively, and 0,966%. Antioxidant activity is shown at the IC_{50} values of in the ethanol, ethyl acetate, and dichloromethane extracts were 384,0341 ppm; 5336,7889 ppm; 884,2754 ppm. These results indicate that the antioxidant activity of Nganjuk activity is very weak because the value of $IC_{50} > 200$ ppm.

Key words: nganjuk shallot, bioactive compounds, antioxidant activity

PENDAHULUAN

Indonesia ialah negara beriklim tropis yang merupakan tempat strategis bagi

pertumbuhan berbagai tanaman obat. Masyarakat Indonesia lebih menyukai tanaman obat untuk digunakan sebagai alternatif penyembuhan

berbagai penyakit karena efek samping yang rendah dan mudah didapatkan langsung dari alam.

Nganjuk merupakan salah satu kabupaten di Jawa Timur dengan julukan surganya bawang merah. Namun, pada faktanya banyak sekali manfaat dari bawang merah Nganjuk yang belum diteliti. Bawang merah Nganjuk memiliki beberapa komponen bioaktif yang berguna bagi kesehatan. Komponen bioaktif merupakan komponen pada hewan atau tumbuhan yang bermanfaat bagi tubuh seperti sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, dan antiinflamasi. Beberapa contoh senyawa bioaktif ialah seperti flavonoid, fenolik, steroid, dan triterpenoid, kuinon, dan saponin.

Berdasarkan penelitian terdahulu oleh Hasibuan et al [1] Terdapat beberapa senyawa bioaktif di dalam bawang merah yaitu flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan triterpenoid. Selain itu, menurut Soebagio [2] Terdapat senyawa bioaktif yakni polifenol, seskuiterpenoid, monoterpenoid, serta kuinon di dalam bawang merah (*Allium cepa* L.). Senyawa bioaktif tersebut diekstrak menggunakan metode maserasi bertingkat dengan tiga pelarut yakni etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan diklorometana (non polar). Dengan perbedaan kepolaran tersebut, maka senyawa yang diinginkan akan terekstrak sesuai dengan kepolarannya.

Senyawa bioaktif flavonoid dan fenolik ialah senyawa yang berpotensi sebagai zat antioksidan alami. Menurut Lu et al [3] Antioksidan alami terdiri dari beberapa senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolat (fenol dan polifenol), steroid, tiol, dan karotenoid. Antioksidan merupakan zat yang berperan sebagai penghambat oksidasi dengan cara mengimbangi radikal bebas di dalam tubuh. Kurangnya antioksidan dapat menyebabkan stress oksidatif dan memicu timbulnya berbagai jenis penyakit yaitu, kanker, penuaan dini, dan lain-lain [4].

Proses penangkapan radikal oleh flavonoid dilakukan dengan memindahkan satu elektron ke dalam radikal bebas [5]. Antioksidan akan meningkat ketika adanya proses pencegahan pembentukan ROS, penangkapan ROS, dan perlindungan antioksidan lipofilik [6]. ROS atau *reactive oxygen species* ialah radikal bebas yang diturunkan oleh oksigen yang dihasilkan karena adanya proses metabolisme sel normal maupun kontaminasi dari lingkungan luar [4]. Sementara, senyawa fenolik mempunyai kemampuan menjadi sumber antioksidan karena dapat menyumbangkan atom H pada radikal bebas yang berasal dari gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis [7].

Berdasarkan penjelasan di atas, bawang merah Nganjuk ialah salah satu jenis bawang merah lokal yang berpotensi sebagai zat antioksidan alami. Zat tersebut nantinya dapat dikembangkan sebagai tambahan produk obat maupun kosmetik herbal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang potensi senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak bawang merah Nganjuk.

METODE PENELITIAN

Bahan

Penelitian ini membutuhkan beberapa bahan, yaitu bawang merah Nganjuk segar, aquades, ammonium, H₂SO₄ 98%, etanol 70%, etanol p.a., methanol p.a., diklorometana p.a., serbuk Mg, HCl 6N, FeCl₃ 1%, CH₃COOH anhidrat, NaCl 1%, gelatin 10%, DPPH 0,1 mM, folin ciocalteu 10%, Na₂CO₃ 7,5%, AlCl₃ 10%, CH₃COOK 1M, dan NaOH 1N.

Alat

Penelitian ini membutuhkan beberapa alat, yaitu labu ukur 10 mL, pipet tetes, pipet volum 5 mL, gelas kimia 600 mL, gelas kimia 50 mL, Erlenmeyer 250 mL, tabung reaksi, vial, spatula, kaki tiga dan kassa, bunsen dan spirtus, ayakan 100 mesh, neraca analitik, kertas *whattman* 42, blender, oven, *vacuum rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis, *freeze dryer*, pompa *vacuum*.

Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan dan Pengolahan Sampel

Sampel bawang merah yang digunakan berasal dari Nganjuk, Jawa Timur pada bulan November 2020. Sampel yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dikupas lalu dirajang dengan ketebalan 3 mm. Selanjutnya yaitu dikeringkan di bawah sinar matahari (secara tidak langsung). Untuk memastikan bahwa sudah tidak ada kadar air yang tersisa, maka dioven kembali pada suhu 110°C selama 30 menit. Lalu dilakukan penggilingan menggunakan blender hingga didapatkan serbuk umbi bawang merah. Agar ukuran seragam, maka disaring menggunakan ayakan 100 mesh dan didapatkan serbuk atau tepung kering bawang merah Nganjuk.

2. Pembuatan Ekstrak Bawang Merah

Ekstrak bawang merah Nganjuk didapat dengan cara merendam serbuk bawang merah sebanyak 500 gram ke dalam 2500 mL pelarut diklorometana (non polar). Setelah 1 x 24 jam, dilakukan penyaringan menggunakan pompa *vacuum*. Residu yang didapat kemudian

dikeringkan dan direndam kembali menggunakan pelarut etil asetat (semi polar). Begitupun untuk pelarut etanol (polar). Maserat yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Agar tidak ada pelarut yang masih tersisa, maka dilakukan penguapan kembali menggunakan *freeze dryer*. Hasil akhir yang didapatkan larutan pekat.

3. Pengujian Senyawa Bioaktif

a. Flavonoid

Dipipet 1 mL ekstrak dan ditambahkan 3 mL etanol 70% dan dipanaskan menggunakan penangas air lalu disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 0,1 gram Mg dan 2 tetes HCl 6 N. Uji positif flavonoid ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi jingga, kuning, atau merah [8].

b. Saponin

Dipipet 1 mL sampel dididihkan dengan 10 mL air dalam penangas air. Kemudian didinginkan dan dikocok kuat-kuat. Uji positif saponin ditandai dengan munculnya buih yang stabil [8].

c. Steroid dan Triterpenoid

Dipipet 1 mL sampel ditambahkan 3 mL etanol 70%, 2 mL H₂SO₄ 98%, 2 mL CH₃COOH anhidrat. Uji positif steroid ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi ungu ke biru atau hijau. Sementara uji triterpenoid ditandai dengan adanya warna merah kecoklatan atau ungu [8].

d. Fenolik

Dipipet 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 mL NaCl 1% dan 1 mL gelatin 10%. Uji positif fenolik ditandai dengan adanya endapan warna putih [8].

e. Kuinon

Dipipet 0,5 mL sampel dipanaskan di atas penangas air dan ditambahkan 3 tetes NaOH 1 N [9]. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya perubahan warna kuning hingga merah [10].

4. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak bawang merah Nganjuk menurut Amin dkk [11] diawali dengan pembuatan larutan DPPH 0,1 mM dengan cara mengencerkan 3,9 mg padatan DPPH ke dalam 100 mL etanol p.a. Untuk larutan sampel, dibuat larutan induk 500 ppm dengan cara masing-masing 5 mg ekstrak kental diencerkan dengan 10 mL methanol p.a. Dari induk tersebut dibuat konsentrasi 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm. Pengujian

dilakukan dengan menambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM ke dalam 2 mL larutan sampel, yang kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai blanko digunakan methanol p.a. dan DPPH 0,1 mM.

Efisiensi aktivitas antioksidan dilihat dari berkurangnya intensitas warna larutan. Hal ini ditunjukkan pada larutan blanko yang berwarna ungu dan larutan sampel yang berwarna ungu kekuningan. Pengurangan pada rumus akan menunjukkan hasil dari reaksi sebelum dan sesudah DPPH diberi sampel sebagai zat antioksidan. Nilai aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan cara perhitungan x pada persamaan regresi linear. Persamaan regresi didapatkan dari persen inhibisi yang dapat dirumuskan sebagai berikut:

% Inhibisi =

$$\frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\% \dots \dots (1)$$

5. Penentuan Total Flavonoid

a. Pembuatan Kurva Standar Quersetin

Quersetin sebanyak 25 mg diencerkan dengan etanol p.a. ke dalam labu ukur 25 mL, sehingga terbentuk larutan induk quersetin 1000 ppm. Selanjutnya dari induk tersebut, diencerkan kembali hingga didapatkan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing variasi konsentrasi ditambahkan dengan 1,5 mL etanol p.a., 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL CH₃COOK 1M, dan 2,8 mL aquades. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Pengukuran absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 439 nm. Lalu, dibuat kurva kalibrasi dengan koordinat (Y) sebagai nilai serapan dan koordinat (X) sebagai konsentrasi larutan standar. Sehingga persamaan regresi linier akan didapatkan sebagai penentu kadar ekstrak.

b. Penentuan Kadar Flavonoid

Sebanyak 50 mg ekstrak kental hasil *freeze dryer* bawang merah diencerkan dengan etanol p.a. ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya, 0,5 mL larutan ditambahkan dengan 1,5 mL etanol p.a., 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL CH₃COOK 1M, dan 2,8 mL aquades. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan blanko dibuat dengan mengganti larutan sampel menggunakan 0,5 mL etanol. Lalu, absorbansinya diukur pada panjang gelombang

439 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

6. Penentuan Total Fenolik

a. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Asam galat seberat 5 mg dilarutkan dengan 5 mL etanol dan 5 mL aquades ke dalam labu ukur 10 mL, sehingga didapatkan induk 500 ppm. Selanjutnya, dari induk tersebut dibuat diencerkan kembali hingga menjadi 10, 20, 30, 40, 50 ppm. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan 1,5 mL Folin Ciocalteu 10% dan didiamkan 3 menit. Lalu, ditambahkan 1,2 mL Na_2CO_3 7,5% dikocok, dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit [12]. Pengukuran absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 758 nm. Lalu, dibuat kurva kalibrasi dengan koordinat (Y) sebagai nilai serapan dan koordinat (X) sebagai konsentrasi larutan standar. Sehingga didapatkan persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menghitung kadar ekstrak.

b. Penentuan Kadar Fenolik

Sebanyak 50 mg ekstrak kental bawang merah hasil *freeze dryer* diencerkan dengan etanol p.a. ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya, 0,5 mL larutan ditambahkan dengan 1,5 mL Folin Ciocalteu 10% dan didiamkan 3 menit. Lalu, ditambahkan 1,2 mL Na_2CO_3 7,5% dikocok, dan didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit [12]. Larutan blanko dibuat dengan mengganti larutan sampel menggunakan 0,5 mL aquades. Pengukuran absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis dengan panjang gelombang 758 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan bawang merah Nganjuk (*Allium cepa* L.) sebagai sampelnya. Pengambilan sampel dilakukan saat musim hujan yaitu bulan Desember dari petani Nganjuk, Jawa Timur.

Ekstraksi Bawang Merah

Ekstraksi bawang merah Nganjuk diawali dengan pembuatan serbuk bawang merah. Sebanyak 4 kg bawang merah segar yang telah dikupas dan dirajang setebal 3 mm kemudian dijemur di bawah sinar matahari (secara tidak langsung). Hal tersebut bertujuan agar sampel terbebas dari air tanpa merusak senyawa aktif yang ada di dalamnya. Untuk memastikan bahwa sampel benar-benar kering dan tahan lama, maka

dilakukan proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 110°C dalam rentang waktu 30 menit. Sampel yang telah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 100 mesh yang bertujuan agar luas permukaan sampel lebih besar. Didapatkan serbuk bawang merah Nganjuk berwarna kuning kecoklatan sebanyak 500 gram yang kemudian dimaserasi bertingkat menggunakan 2500 mL pada tiga pelarut sesuai kepolarannya, yaitu etanol (polar), etil asetat (semi polar), diklorometana (non polar).

Maserasi bertingkat dinilai lebih efektif daripada maserasi parsial. Menurut Sediawan [13] Ekstrak hasil maserasi bertingkat dinilai lebih murni daripada maserasi parsial. Penggunaan tiga pelarut yang sesuai kepolarannya, diharapkan agar senyawa yang tidak diketahui kepolarannya akan terekstrak dengan salah satu pelarut tersebut. Hal terkait dengan prinsip maserasi yaitu *like dissolved like* yang mana senyawa polar akan tertarik dengan pelarut polar dan begitupun sebaliknya [14].

Waktu yang dibutuhkan saat maserasi ialah 24 jam. Perlakuan tersebut dapat menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimal, sementara jika kurang ataupun lebih dari 24 jam, maka aktivitas antioksidan mengalami penurunan. Dalam tahap ini target maserasi di dalam sitoplasma akan lebih tertarik oleh pelarut yang digunakan, dikarenakan adanya tekanan dari dalam dan luar sel. Hasil maserasi ekstrak etanol berwarna coklat keunguan, ekstrak etil asetat berwarna coklat (++), dan ekstrak diklorometana berwarna coklat (+).Warna coklat pada hasil ekstrak etil asetat lebih pekat daripada ekstrak diklorometana dikarenakan lebih banyaknya senyawa bioaktif yang tertarik pada pelarut etil asetat.

Proses selanjutnya ialah menyaring maserat dengan pompa *vacuum* yang bertujuan untuk memisahkan residu dengan filtrat. Filtrat selanjutnya diuapkan dengan *Rotary Vacuum Evaporator* sebagai proses penghilangan pelarut dan pemisahan ekstrak yang cukup pekat berwarna merah keunguan. Untuk memastikan bahwa ekstrak terbebas dari pelarut, maka dipekatkan kembali menggunakan *freeze dry* selama 1 jam.

Dari proses ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat ini, didapatkan hasil rendemen pada masing-masing pelarut. Ekstrak etanol memiliki rendemen tertinggi yakni sebesar 46,9242%, disusul oleh diklorometana sebesar 0,6537%, dan yang terakhir ialah etil asetat sebesar 0,5363%. Ekstrak etanol memiliki rendemen tertinggi dikarenakan banyak senyawa bioaktif yang bersifat polar di dalam ekstrak bawang

merah. Namun, selisih yang sangat jauh diduga karena bawang merah mengandung banyak serat dan lendir yang ikut tertarik. Sementara, ekstrak etil asetat memiliki rendemen terendah dikarenakan masih adanya ikatan hidrogen antara gugus metoksi dengan senyawa dalam sampel.

Analisis Senyawa Bioaktif Bawang Merah

Analisis senyawa bioaktif merupakan suatu penggambaran komponen bioaktif yang ada di dalam suatu ekstrak sampel [15]. Pengujian warna menggunakan pereaksi warna merupakan proses utama tahap ini [16]. Hasil pengujian senyawa bioaktif ekstrak bawang merah Nganjuk pada jenis pelarut etanol, etil asetat, dan diklorometana ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Senyawa Bioaktif Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan Diklorometana Bawang Merah Nganjuk

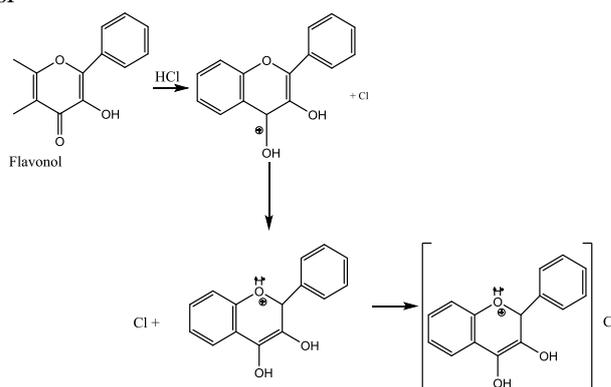
Senyawa	Hasil Pengujian			Keterangan
	Etanol	Etil Asetat	Diklorometana	
Flavonoid	+++	-	-	Larutan berwarna merah
Triterpenoid	+	-	++	Terdapat cincin merah kecoklatan
Steroid	++	-	++	Larutan merah kecoklatan
Saponin	++	-	-	Terdapat buih selama 1 menit
Fenolik	+++	-	-	Larutan berwarna putih
Kuinon	+	-	-	Larutan berwarna kuning kemerahan

Keterangan:

(+) lemah, (++) sedang, (+++) kuat, (-) tidak terdeteksi

Tabel 1. Menggambarkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang merah positif mengandung flavonoid, fenolik, steroid, saponin, triterpenoid, dan kuinon. Pelarut diklorometana hanya mampu menarik senyawa triterpenoid. Sementara, pelarut etil asetat tidak menunjukkan adanya reaksi. Hal ini sesuai dengan penelitian Hasibuan et al (2020) bahwa ekstrak etanol umbi bawang merah mengandung flavonoid, fenolik, steroid, saponin, dan triterpenoid.

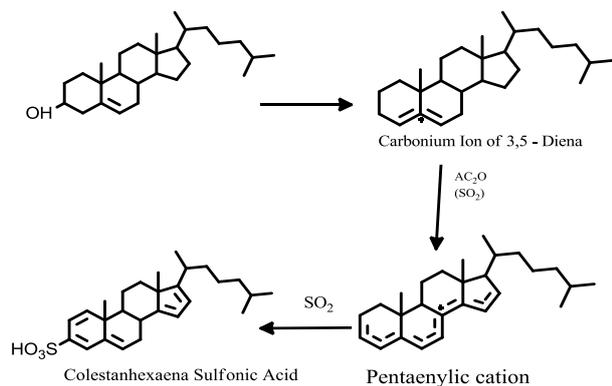
Flavonoid ialah senyawa dengan dua cincin aromatik dan lebih dari satu gugus hidroksil [17]. Flavonoid mempunyai sifat bioaktif yakni sebagai antioksidan dengan cara menghambat oksidasi [18]. Pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol bawang merah Nganjuk, dan negatif pada ekstrak etil asetat dan diklorometana. Flavonoid larut dalam pelarut polar karena adanya gugus hidroksil yang akan tertarik oleh pelarut polar seperti etanol dan tidak larut dalam senyawa non polar [19]. Perubahan warna coklat (+) menjadi merah (+) menunjukkan bahwa adanya senyawa flavonoid dalam sampel. Warna kemerahan tersebut dihasilkan oleh adanya penambahan logam Mg dan HCl sehingga terjadi reduksi dari inti benzopiron (struktur didalam flavonoid), dan terbentuklah garam flavilium [20]. Reaksi pada uji flavonoid ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi pada Uji Flavonoid [21]

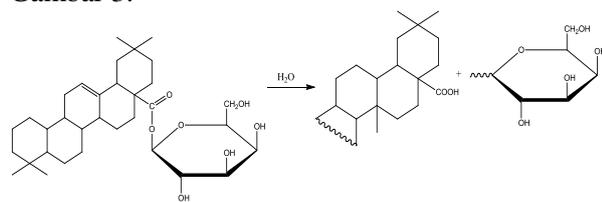
Steroid dan Triterpenoid merupakan senyawa yang berkerangka dasar siklopentanoperhidro fenantrena dengan 4 cincin terpadu [17]. Kedua senyawa ini mempunyai sifat bioaktif yakni sebagai antibakteri dengan cara menghambat pertumbuhan [22]. Pengujian steroid dan triterpenoid menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol dan diklorometana, namun negatif pada ekstrak etil asetat. Hal tersebut dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara etanol dengan gugus hidroksil pada kedua senyawa tersebut [21]. Pada steroid perubahan warna dari larutan berwarna coklat (+) menjadi merah kecoklatan (++) menunjukkan hasil positif. Sementara, pada triterpenoid terdapat cincin merah kecoklatan yang berada di permukaan larutan. Cincin merah dihasilkan oleh adanya hidrolisis air dari larutan asam yang bereaksi dengan turunan asetil [8].

Reaksi pada uji steroid dan triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Reaksi pada Uji Triterpenoid [8]

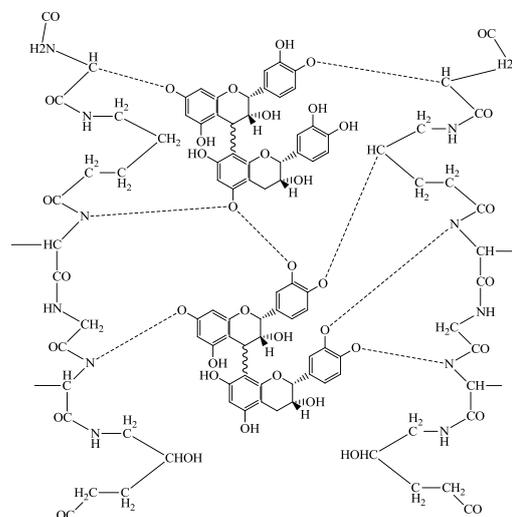
Saponin adalah senyawa yang memiliki gugus hidrofob dan hidrofilik. Saponin mempunyai sifat bioaktif sebagai antibakteri karena dapat merusak membran sel bakteri sehingga terjadi kebocoran sitoplasma yang mengakibatkan sel mati [23]. Pengujian saponin menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol bawang merah Nganjuk, dan negatif pada ekstrak etil asetat dan diklorometana. Hal tersebut dikarenakan saponin merupakan senyawa polar [21]. Adanya buih ketika dikocok merupakan tanda adanya senyawa saponin. Hal ini disebabkan karena adanya ikatan antara air dengan gugus hidrofil yang kemudian akan berikatan dengan udara. Busa yang dihasilkan dari percobaan ini juga karena adanya gugus polar yang menghadap keluar dan gugus non polar yang menghadap ke dalam [24]. Reaksi uji saponin ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi pada Uji Saponin [25]

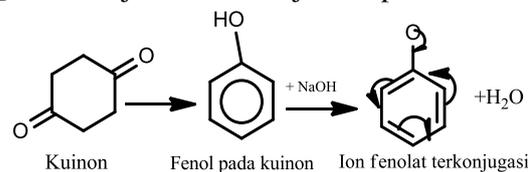
Fenolik merupakan senyawa berstruktur cincin aromatik dan bergugus -OH [17]. Fenolik mempunyai sifat bioaktif sebagai antioksidan karena dapat menyumbangkan atom H pada radikal bebas [7]. Pengujian fenolik menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol bawang merah Nganjuk, dan negatif pada ekstrak etil asetat dan diklorometana. Hal tersebut dikarenakan fenolik merupakan senyawa polar karena adanya glikosida

yaitu ikatan gula dengan fenolik di dalam vakuola sel [25]. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan larutan berwarna coklat (+) menjadi putih. Reaksi uji fenolik ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi pada Uji Fenolik [8]

Kuinon merupakan senyawa berwarna yang mengandung dua gugus karbonil yang berkonjugasi pada dua ikatan rangkap karbon-karbon [8]. Kuinon mempunyai sifat bioaktif yakni sebagai antioksidan karena mampu menjadi akseptor elektron. Pengujian kuinon menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol bawang merah Nganjuk, dan negatif pada ekstrak etil asetat dan diklorometana. Hal tersebut dikarenakan kuinon merupakan senyawa polar yang lebih larut dalam air karena adanya glikosida di dalam vakuola sel [25]. Perubahan larutan berwarna coklat (+) menjadi kuning kemerahan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung senyawa kuinon yang disebabkan oleh adanya ion enolat yang mengakibatkan ikatan rangkap dua mengalami resonansi antarelektron. Sehingga muncul warna merah akibat adanya penyerapan cahaya tertentu [8]. Reaksi uji kuinon ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi pada Uji Kuinon [8]

Dari hasil pengujian senyawa bioaktif, maka senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan ialah fenolik, flavonoid, dan kuinon.

Sementara, steroid, triterpenoid, dan saponin berpotensi sebagai antibakteri.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Dari pengujian senyawa bioaktif ekstrak bawang merah Nganjuk dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan. Antioksidan ialah zat yang berfungsi sebagai penghambat reaksi oksidasi suatu radikal bebas [4]. Metode pada penelitian ini ialah DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl). Metode DPPH lebih diunggulkan karena kecepatan dan kepekaan yang baik. Selain itu metodenya lebih sederhana dan sampel yang dibutuhkan sedikit.

Prinsip metode DPPH ialah pengukuran secara kuantitatif yang didasarkan dari suatu senyawa yang mengandung antioksidan melakukan penangkapan radikal DPPH. Pengukuran aktivitas tersebut dilakukan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Pada metode ini, warna ungu pada DPPH akan berubah menjadi kuning karena terbentuknya ikatan berpasangan antara semua elektron pada radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan dapat ditunjukkan dari nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} merupakan jumlah konsentrasi sampel yang memiliki aktivitas antioksidan dalam meredam 50% radikal bebas. Uji ini menghasilkan panjang gelombang maksimal DPPH dengan spektrofotometer Uv-Vis pada 519 nm. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak bawang merah Nganjuk pada tiga jenis pelarut yaitu etanol, etil asetat, dan diklorometana ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Merah Nganjuk pada Larutan Sampel

Pelarut	IC_{50} (ppm)
Etanol	384,0341
Etil Asetat	536,7889
Diklorometana	884,2754

Persen inhibisi merupakan persentase hambatan suatu bahan terhadap radikal bebas berdasarkan tingkat konsentrasi. Meningkatnya konsentrasi suatu bahan juga akan meningkatkan persen inhibisinya, sehingga penghambatan aktivitas radikal bebas akan semakin cepat [26]. Larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm menduduki persen inhibisi tertinggi larutan sampel 200 ppm pada ketiga pelarut (etanol, etil asetat, dan diklorometana) menduduki persen inhibisi terendah.

Nilai IC_{50} ekstrak bawang merah Nganjuk didapatkan dari hasil perhitungan persamaan regresi linier di atas. Pada ekstrak etanol $y = 0.0352x + 36.482$ dan $R^2 = 0.9839$. Pada ekstrak etil asetat $y = 0.0682x + 13.392$ dan $R^2 = 0.9142$. Pada ekstrak diklorometana $y = 0.0414x + 13.391$ dan $R^2 = 0.9854$.

Koefisien y melambangkan IC_{50} dan koefisien x melambangkan konsentrasi ekstrak yang nantinya di cari nilainya. Dimana x merupakan nilai IC_{50} itu sendiri. Nilai IC_{50} yang didapat pada ekstrak etanol, etil asetat, dan diklorometana berturut-turut sebesar 384,03 ppm; 536,79 ppm; dan 884,27 ppm. Dari ketiga jenis pelarut tersebut, ekstrak etanol merupakan kandidat antioksidan tertinggi. Hal ini dikarenakan adanya senyawa bioaktif yang terekstrak, terutama senyawa penghasil zat antioksidan yakni flavonoid dan fenolik. Flavonoid dan fenolik diketahui sebagai senyawa bioaktif yang bersifat polar sehingga lebih tertarik pada pelarut polar yakni etanol.

Menurut Molyneux [24] nilai IC_{50} yang berada diantara 200-1000 ppm ialah zat antioksidan yang memiliki potensi namun kurang aktif. Penggolongan aktivitas antioksidan dapat ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Penggolongan Aktivitas Antioksidan [27]

Tingkatan	IC_{50} (ppm)
Sangat Kuat	< 50
Kuat	50 - 100
Sedang	100 - 150
Lemah	150 - 200
Sangat Lemah	> 200

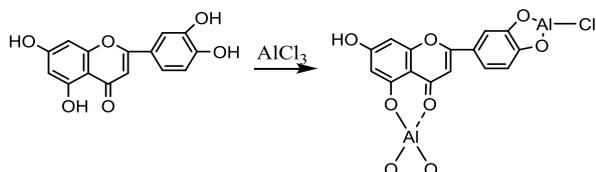
Kurangnya aktivitas antioksidan tersebut disebabkan oleh adanya beberapa faktor yakni diduga cuaca pada saat pengambilan sampel. Dimana pengambilan sampel dilakukan pada saat musim hujan, sehingga kadar air yang terkandung di dalam bawang merah Nganjuk tinggi dan dapat mempengaruhi antioksidannya. Selain itu, senyawa flavonoid dalam ekstrak bawang merah Nganjuk masih berbentuk ekstrak kasar dan belum murni. Sehingga, diduga flavonoid yang berada di dalam ekstrak masih berikatan dengan gugus glikosida. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fukumoto dan Mazza [26] bahwa aktivitas antioksidan akan meningkat ketika adanya penambahan gugus hidroksil dan penurunan gugus glikosida.

Menurut Zheng dan Wang [28] aktivitas antioksidan yang tinggi dapat berasal dari lebih dari 40 tanaman herbal di Cina yang mengandung senyawa fenol termasuk flavonoid. Oleh karena itu, flavonoid dan fenolik merupakan kandidat sumber antioksidan terbesar dari ekstrak bawang merah Nganjuk. Oleh karena itu, perlu dilakukannya pengujian kadar total flavonoid dan fenolik untuk mengetahui hubungan antara antioksidan dengan kedua senyawa bioaktif tersebut.

Penentuan Kadar Total Flavonoid

Dalam menentukan kadar flavonoid total digunakan metode AlCl_3 . Prinsipnya yaitu adanya kompleks asam dengan gugus ortohidroksil senyawa flavonoid dari penambahan AlCl_3 dan CH_3COOK . Sehingga, terbentuk kompleks stabil berwarna kuning dengan gugus hidroksil dari flavon dan flavonol pada C-3 atau C-5 dan gugus keto pada C-4. Penambahan kalium asetat sendiri ialah untuk mengetahui adanya gugus 7-hidroksil.

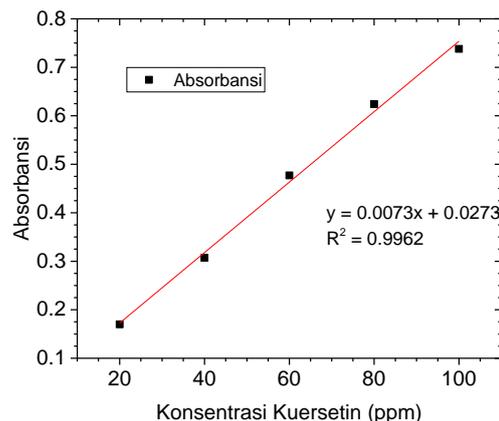
Larutan standar yang digunakan dalam penentuan kadar flavonoid ialah quersetin dikarenakan termasuk flavonoid golongan flavonol [29]. Pembentukan Kompleks flavonoid dengan AlCl_3 ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Pembentukan Kompleks flavonoid dengan AlCl_3 [30]

Flavonoid dapat merangsang terbentuknya antioksidan endogen berupa GPx, SOD, dan Katalase dengan proses penangkapan ROS dan pencegahan reaksi propagasi. Selain itu, dapat mencegah peroksidasi lemak (PUFA) dan menurunkan kadar 8-OHdG sehingga mengalami penurunan kadar MDA. Hal ini karena flavonoid melakukan adanya penangkapan HO^* yang di dalam DNA [4].

Panjang gelombang yang digunakan dalam penentuan kadar flavonoid dengan spektrofotometer Uv-Vis ialah 439 nm. Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin yang didapatkan ditunjukkan pada gambar 7.

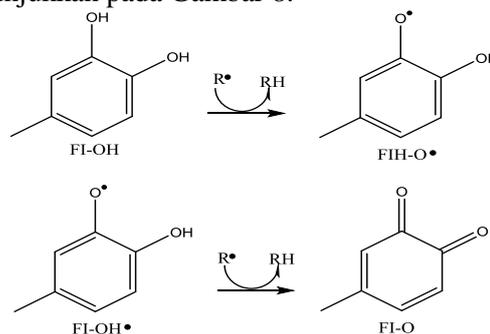


Gambar 7. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kuersetin

Dari kurva kalibrasi larutan standar kuersetin didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y = 0.0073x + 0.0273$ dan $R^2 = 0,9962$. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan bahwa adanya hubungan antara nilai serapan dengan konsentrasi larutan.

Berdasarkan persamaan regresi linier yang didapatkan, kadar flavonoid total ekstrak etanol bawang merah Nganjuk sebesar 881,4307 mg QE/100g atau 0,881%. Hal ini sesuai dengan penelitian Cheng et al [29] yang menyatakan bahwa kadar flavonoid total bawang merah sebesar $331 \pm 23 - 1658 \pm 41$ mg QE/100 g. Berdasarkan range tersebut, kadar flavonoid yang didapatkan termasuk rendah.

Flavonoid sangat berperan dalam antioksidan. Dimana R^* ialah radikal bebas, FI-OH ialah flavonoid, dan FI-OH * ialah radikal flavonoid [30]. Reaksi peredaman oleh flavonoid ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Reaksi Peredaman oleh Flavonoid [31]

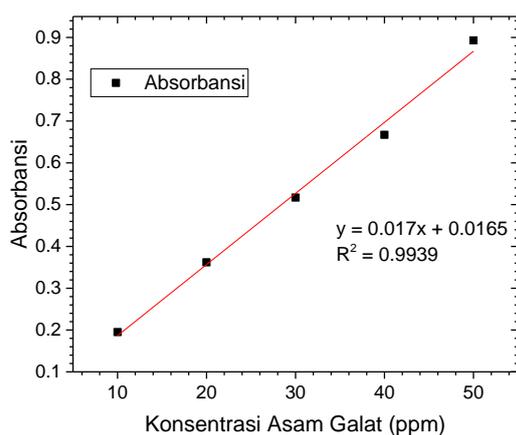
Penentuan Kadar Total Fenolik

Penentuan kadar total fenolik dilakukan untuk mengetahui potensinya sebagai kandidat antioksidan. Menurut Ramle et al [32] senyawa

fenolik tergolong sebagai senyawa bioaktif yang berperan menjadi sumber antioksidan alami. Metode yang digunakan ialah metode *Folin Ciocalteu* yang sesuai dengan penelitian Chun et al [31] Metode ini dipilih karena lebih sederhana dalam proses pengerjaannya, dimana reagen Folin akan bereaksi dengan senyawa fenolik pada sampel dan terbentuk larutan yang akan diukur absorbansinya.

Metode ini membutuhkan larutan pembanding atau standar berupa asam galat. Asam galat ialah asam fenolik sederhana yang diturunkan dari asam hidroksibenzoat [33]. Hasil reaksi asam galat dengan reagen *Folin Ciocalteu* yang menunjukkan adanya senyawa fenolik ialah berupa larutan berwarna kuning. Penambahan Na_2CO_3 berfungsi sebagai pemberi suasana basa. Pada reaksi ini terbentuk kompleks molibdenumtungsten berwarna yang berasal dari reaksi gugus hidroksil senyawa fenolik dengan reagen *Folin Ciocalteu*. Semakin pekat warna biru, maka senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel semakin banyak. Hal tersebut dikarenakan adanya proses reduksi ion fenolak yang berlebih terhadap heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat).

Proses penentuan kadar total fenolik diawali dengan tahap penentuan kurva kalibrasi larutan standar asam galat. Dalam proses ini, panjang gelombang spektrofotometer Uv-Vis yang digunakan ialah 758 nm. Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin yang didapatkan ditunjukkan pada gambar 9.



Gambar 9. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

Dari kurva kalibrasi larutan standar asam galat didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y = 0.017x + 0.0165$ dan $R^2 = 0,9939$. Berdasarkan

persamaan tersebut, kadar fenolik total ekstrak etanol bawang merah Nganjuk ialah sebesar 966,209 mg GAE/ 100 g atau 0,966%. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu oleh Cheng et al [29] yang menyatakan bahwa kadar fenolik total bawang merah sebesar $571 \pm 20 - 1858 \pm 62$ mg GAE/ 100g. Hasil yang didapat tergolong rendah. Menurut Safaa [34] jika kadar fenolik > 7000 mg GAE/100g termasuk tinggi, $1000 - 7000$ mg GAE/100g termasuk sedang, dan <1000 mg GAE/100g termasuk rendah.

Dari hasil pengujian senyawa bioaktif menunjukkan bahwa bawang merah Nganjuk mengandung flavonoid, fenolik, steroid, triterpenoid, saponin, dan kuinon. Beberapa senyawa bioaktif seperti saponin, triterpenoid, kuinon dan steroid nantinya mampu dikembangkan sebagai antibakteri. Sementara, senyawa flavonoid dan fenolik tidak hanya sebagai antioksidan, namun juga dapat sebagai antibakteri. Hal ini membuat fenolik dan flavonoid masih potensial untuk dikembangkan lebih lanjut. Aktivitas antioksidan flavonoid dan fenolik bawang merah Nganjuk menunjukkan hasil yang rendah. Namun, masih ada beberapa senyawa penghasil antioksidan seperti steroid dan kuinon yang belum diteliti. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antioksidan pada senyawa tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak etanol bawang merah Nganjuk ialah flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, fenolik, dan kuinon. Sedangkan, ekstrak etil asetat tidak menunjukkan reaksi dan ekstrak diklorometana hanya mengandung senyawa triterpenoid.

Kadar total flavonoid dan total fenolik ekstrak etanol bawang merah Nganjuk berturut-turut ialah sebesar 881,4307 QE/ 100g atau 0,881% dan 966,209 mg GAE/ 100g atau 0,966%. Sementara, tingkat aktivitas antioksidan menggunakan DPPH pada pelarut etanol, etil asetat, dan diklorometana secara berturut-turut ialah 384,03 ppm; 536,79 ppm; dan 884,27 ppm. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak bawang merah Nganjuk sangat lemah, tetapi masih bisa berpotensi menjadi zat antioksidan. Untuk menjadikan ekstrak bawang merah Nganjuk sebagai tambahan suatu produk obat atau kosmetik, maka perlu adanya

penambahan zat lain yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan produk tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Hasibuan, A. S., Edrianto, V. & Purba, N., 2020. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Umbi Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Farmasimed*, 2(2), pp. 45-49.
- Soebagio, B. D., 2003. Kimia Analitik II. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Lu, J., Lin, P.H., Yao, Q., Chen, C., 2010. Chemical and Molecular Mechanisms of Antioxidants: Experimental Approaches and Model Systems. *Journal of Molecular Medicine*, 14(4), pp. 840-860.
- Pawarta, I. M. O. A., 2016. Antioksidan. Bali: Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. H., 2001. *Antioxidants in Food: Practical Applications*. Florida: CRC Press.
- Markham, K. R., 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Bandung: ITB Bandung.
- Dhurhania, C. E. & Novianto, A., 2016. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 3(1), pp. 32-38.
- Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Noer, S. & Pratiwi, R. D., 2016. Uji Kualitatif Fitokimia Daun Ruta Angustifolia. *Faktor Exacta*, 9(3), pp. 200-206.
- Robinson, T., 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Amin, A., Wunas, J. & Anin, Y. M., 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), pp. 111-114.
- Lim, Y. Y. & Murtijaya, J., 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus Amarus* Extracts as Affected by Different Drying Methods. *LWT - Food Science and Technology*, 40(9), pp. 1664-1669.
- Sediawan, W. B., 2000. Berbagai Teknologi Proses Pemisahan. *Prosiding Presentasi Ilmiah Daur Bahan Bakar Nuklir*, Volume 5, pp. 10-11.
- Pratiwi, P., Suzery, M. & Cahyono, B., 2010. Total Fenolat dan Flavonoid dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah Serta Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 18(4), pp. 140-148.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M. & Kurniadi, B., 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Harborne, J. B., 1984. *Phytochemical Methods: a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. New York: Chapman and Hall.
- Tukiran, Pramudya, A., Wardana, Nurlaila, E., Santi, A. M., Hidayati, N., 2016. Analisis Awal Fitokimia pada Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan *Syzygium* (*Myrtaceae*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Workshop 2016, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya*, 17 September, pp. 1-7.
- Satria, E., 2005. Potensi Antioksidan dari Daging Buah Muda dan Daging Buah Tua Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB.
- Sjahid, S. L. R., 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Tandi, J., Melinda, B., Purwantari, A. & Widodo, A., 2020. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(1), pp. 74-80.
- Septyaningsih, D., 2010. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, S. A., Komari, N., Astuti, M.D., 2010. Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). *Alchemy*, 1(2), pp.53-103.
- Madduluri, Suresh, Rao, K. Babu. Sitaram, B., 2013. In Vitro Evaluation of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 5(4), pp. 679-684.
- Molyneux, P., 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for

- Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(December), pp. 211-219.
25. Marliana, S. D., Suryanti, V. & Suyono, 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 3(1), pp. 26-31.
26. Fukumoto, L. R. & Mazza, G., 2000. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), pp. 3597-3604.
27. Andriani, Y.N.M., Ramli, D.F., Syamsumir, M.N.I., Kassim, J., Jaafar, N.A., Aziz, L., Marlina, N.S., Musa, H., Mohamad, 2015. Phytochemical Analysis, Antioxidant, Anti bacterial and Cytotoxicity Properties of Keys and Cores Parts Of *Pandanus tectorius* Fruits. *Arabian Journal of Chemistry*.
28. Zheng, W. & Wang, S. Y., 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), pp. 5165-5170.
29. Cheng, A., Chen, X., Jin, Q., Wang, W., Shi, J., and Liu, Y., 2013. Comparison of Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Red and Yellow Onions. *Czech Journal of Food Sciences*, 31(5), pp. 501-508.
30. Kandaswami, C. & Middleton, E., 1997. *Flavonoids as Antioxidant*. Illinois: AOCS Press.
31. Chun, O. K., Kim, D.-O. & Lee, Y. C., 2003. Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), pp. 8067-8072.
32. Ramle, S. F. M., Kawamura, F., Sulaiman, O. & Hashim, R., 2008. *Study on Antioxidant Activities, Total Phenolic Compound, and Antifungal Properties of Some Malaysian Timbers from Selected Hardwoods Species*. Malaysia, International Conference of Environmental Research and Technology.
33. Viranda, P., 2009. Pengujian Kandungan Senyawa yang Terdapat dalam Tomat. *Jurnal Pendidikan Universitas Indonesia*.
34. A. N. & M. A. Safaa Y.Q., 2014. Screening Of Antioxidant Activity and Phenolic Content Of Selected Food Items Cited In The Holly Quran. *EJBS*, 3, pp. 123-127.