

ANALISIS SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium Sativum L.*) PROBOLINGGO

ANALYSIS OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF PROBOLINGGO GARLIC (*Allium sativum L.*) EXTRACT

Lailatul Wakhidah and Mirwa Adiprahara Anggarani*

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

State University of Surabaya

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

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

Abstrak. Bawang putih adalah tanaman dari genus *Allium* yang banyak ditemukan di daerah pegunungan Probolinggo. Potensi kandungan bioaktif dari produk local ini belum diteliti untuk dikembangkan dalam pengembangan diversifikasi produk bawang putih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komponen bioaktif, kadar fenol, kadar flavonoid serta aktivitas antioksidan pada umbi bawang putih di Probolinggo. Metode dalam penelitian ini dibagi menjadi dua bagian yakni proses ekstraksi dan pengujian sampel. Proses ekstraksi menggunakan metode bertingkat dengan tiga macam pelarut yakni diklorometana (non polar), etil asetat (semi polar), dan etanol (polar). Pengujian sampel yang dilakukan meliputi analisis senyawa bioaktif, kadar fenol menggunakan metode Folin Ciocalteu, kadar flavonoid menggunakan metode $AlCl_3$, serta aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil dari penelitian ekstrak umbi bawang putih Probolinggo dengan pelarut diklorometana dan etil asetat mengandung senyawa bioaktif steroid dan triterpenoid sedangkan dengan pelarut etanol mengandung senyawa bioaktif flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan fenolik. Ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol memiliki total fenolik sebesar 28,756 mg GAE/g dan total flavonoid sebesar 21,601 mg QE/g. Nilai IC_{50} pada ekstrak diklorometana, etil asetat, dan etanol berturut-turut sebesar 421.9643 $\mu\text{g/mL}$, 310.5998 $\mu\text{g/mL}$, 257.7503 $\mu\text{g/mL}$. Dari sisi komponen flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan fenolik, ekstrak umbi bawang putih memiliki nilai aktivitas antioksidan yang tergolong sangat lemah.

Kata kunci : umbi bawang putih, senyawa bioaktif, aktivitas antioksidan.

Abstract. Garlic is a plant from the *Allium* genus which is found in the mountainous area of Probolinggo. The potential bioactive content of this local product has not been studied to be developed in the development of garlic product diversification. This study aims to see the bioactive components, phenol content, flavonoid levels, and antioxidant activity in Probolinggo garlic tubers. The method in this research is divided into two parts, namely the extraction process and sample testing. The extraction process uses a multilevel method with three kinds of solvents, namely dichloromethane (non polar), ethyl acetate (semi polar), and ethanol (polar). The sample tests carried out included analysis of bioactive compounds, phenol levels using the Folin Ciocalteu method, flavonoid levels using the $AlCl_3$ method, and antioxidant activity using the DPPH method. The results of the research on Probolinggo garlic tuber extract with dichloromethane and ethyl acetate solvents containing bioactive steroids and triterpenoids, while ethanol solvent contains bioactive compounds of flavonoids, saponins, steroids, triterpenoids and phenolics. Garlic tuber extract with ethanol solvent has a total phenolic value of 28,756 mg GAE / g and total flavonoids of 21,601 mg QE / g. The IC_{50} values in the extracts of dichloromethane, ethyl acetate, and ethanol were 421.9643 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 310.5998 $\mu\text{g} / \text{mL}$, 257.7503 $\mu\text{g} / \text{mL}$, respectively. In terms of the components of flavonoids, saponins, steroids, triterpenoids and phenolic, garlic tuber extract has a very weak antioxidant activity value.

Keywords : garlic tubers, bioactive compounds, antioxidant activity.

PENDAHULUAN

Kebiasaan nenek moyang berupa konsumsi obat-obatan herbal mengakibatkan kesadaran konsumsi obat herbal ini semakin tinggi. Hal tersebut telah diketahui dari Menteri Perindustrian yang menunjukkan omset industri obat herbal nasional saat ini terus naik. Pada tahun 2015

pendapatan industri herbal di Indonesia mencapai 16 triliun. Pada tahun 2016 jumlah meningkat menjadi 17 triliun [1]. Hingga saat ini pada tahun 2021 terus meningkat seiring kesadaran masyarakat untuk mengkonsumsi obat herbal.

Indonesia adalah suatu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Menurut Edward Basilianus dalam

webinar Markplus The 2nd Series Industry Roundtable mengatakan bahwa di dunia ini terdapat sekitar 45 ribu tanaman obat dan 33 ribu berada di Negara Indonesia.

Salah satu kota di Indonesia yang cocok untuk ditanami bawang putih ialah Probolinggo. Hasil bawang putih dari Probolinggo terkenal sangat bagus karena memiliki kulit yang bening serta bentuk bonggol yang keras. Selama ini banyak penelitian tentang bawang putih, namun masih belum ada penelitian mengenai bawang putih yang berasal dari Probolinggo.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rouf [2] bahwa bawang putih mengandung berbagai jenis senyawa bioaktif diantaranya yakni flavonoid, steroid, saponin. Selain itu, menurut Soraya [3] kandungan senyawa aktif pada bawang putih adalah saponin, tanin, minyak atsiri, dan flavonoid. Sehingga bawang putih dapat dijadikan sebagai suplemen untuk mengatasi penyakit hipertensi [4] untuk mengurangi tekanan darah [5], sebagai antioksidan [6], antidiabetes [7].

Antioksidan diartikan sebagai senyawa penghambat reaksi oksidasi yang mana prosesnya dilakukan dengan mengikat molekul yang reaktif dan radikal bebas. Antioksidan diketahui dapat menghambat terjadinya kerusakan sel dan induksi suatu penyakit degeneratif akan terhenti. Antioksidan dapat diperoleh secara sintetik maupun alami. Penggunaan antioksidan sintetik dalam waktu lama dapat menimbulkan kerusakan pada organ hati dan dapat menimbulkan peradangan. Sedangkan penggunaan antioksidan alami lebih bermanfaat karena memiliki banyak senyawa aktif seperti senyawa fenol, vitamin C, flavonoid, vitamin E, asam lipoid dan β -karoten [8]. Senyawa bioaktif yang memiliki potensi sebagai antioksidan yaitu flavonoid [9], saponin [10], steroid, triterpenoid [11], dan fenolik [12].

Bawang putih memiliki peran sebagai antioksidan karena mengandung kurkumin flavonoid, dan vitamin E [13]. Flavonoid diketahui memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas [14]. Golongan flavonoid merupakan pijakan dasar dalam mengisolasi senyawa potensial sebagai antioksidan [15].

Menurut beberapa penelitian bahwa bawang putih lokal memiliki nilai aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar 13,61 mg/mL [16]. Bawang putih biasa memiliki nilai IC_{50} sebesar 299.542 ppm [17]. Berdasarkan data tersebut,

muncul pemikiran untuk menguji bawang putih khas Probolinggo. Adanya penelitian ini akan mengetahui kandungan senyawa-senyawa didalamnya, sehingga masyarakat menjadi lebih tau manfaat bawang putih Probolinggo tidak hanya sebagai penyedap masakan saja. Bawang putih Probolinggo dapat dikembangkan sebagai bahan tambahan produk obat-obatan herbal dalam bentuk salep atau kosmetik dalam bentuk krem.

Berdasarkan penjelasan diatas maka dilakukan pengujian sampel bawang putih yang dibagi menjadi dua. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dan pengujian sampel yang bertujuan untuk mengetahui komponen bioaktif, kadar fenol, kadar flavonoid serta aktivitas antioksidan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan yaitu serbuk bawang putih etanol 96%, asam galat, Na_2CO_3 , folin ciocalteau 10%, aquades, kuersetin, $AlCl_3$ 10%, etanol 70%, CH_3COOK , H_2SO_4 aquades, CH_3COOH etanol, $FeCl_3$, $CHCl_3$, larutan DPPH, metanol, serbuk Mg, HCl pekat, NaCl 1%, gelatin 10%.

Alat

Penelitian ini menggunakan alat yaitu corong kaca, pro pipet, oven, desikator, pipet volum 10 mL, kasa, bunsen, gelas kimia 1000 mL, korek api, pipet tetes, mikro pipet, erlenmeyer 250 mL, spatula kaca, vial kaca, gelas kimia 100 mL, rak tabung kayu, botol kaca 100 mL, labu ukur 10 mL, pompa vacuum, corong Buchner, *rotatory evaporator*, tabung reaksi, neraca analitik, *freeze dryer*, ayakan 100 mesh, Spektrofotometer, blender, Uv-Vis, kuvet.

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel

Bawang putih (*Allium sativum* L.) sebagai bahan utama yang diambil dari Probolinggo, Jawa Timur. Langkah pertama membersihkan bawang putih dari kulitnya. Umbi bawang putih dipotong tipis dengan ketebalan 0,2 cm dan dijemur dibawah sinar matahari dengan pelindung hingga kering. Proses pengeringan dibantu dengan oven pada suhu 70-90°C dalam waktu 10 menit. Selanjutnya umbi bawang putih yang kering akan dihancurkan sampai halus menggunakan blender, lalu diayak menggunakan ayakan 100 mesh hingga dihasilkan produk serbuk atau tepung kering.

Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat. Langkah pertama merendam serbuk bawang putih sebanyak 1000 gram dengan 2500 mL pelarut diklorometana (non polar) selama 24 jam ditempat yang terlindungi cahaya. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring yang dibantu alat *pompa vacuum*. Residu diklorometana dikeringkan dengan oven lalu dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat (semi polar) dalam waktu 24 jam, setelah itu disaring menggunakan kertas saring yang dibantu alat *pompa vacuum*. Residu etil asetat dikeringkan dengan oven lalu dimaserasi kembali dengan pelarut etanol (polar). Didapatkan filtrat dari tiga jenis pelarut yang kemudian diuapkan menggunakan *rotatory evaporator* dengan suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ dan kecepatan 60 rpm. Kemudian ketiga ekstrak tersebut di freeze dryer dalam waktu 1 jam.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Total Ekstrak (g)}}{\text{Berat awal Sampel (g)}} \times 100\%$$

Uji Senyawa Bioaktif

Uji ini dilakukan pada tiga macam ekstrak umbi bawang putih. Pertama ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut diklorometana, kedua ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etil asetat, dan ketiga ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol 96%.

1. Uji Flavonoid

Ekstrak diambil sebanyak 2 mL lalu ditambahkan 3 mL etanol. Selanjutnya dipanaskan menggunakan penangas air dalam waktu 2 menit. Kemudian dikocok hingga homogen dan disaring. Filtrat yang didapatkan ditambah serbuk sebanyak 0,1 gram Mg dan ditambah 5 tetes HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan berubahnya warna putih menjadi kuning jingga sampai merah. [18].

2. Uji Saponin

Ekstrak diambil sebanyak 1 mL lalu ditambah dengan 10 mL aquades. Selanjutnya dipanaskan menggunakan penangas air dalam waktu 2 menit. Berikutnya disaring menggunakan kertas saring, lalu hasil filtrat yang didapat dikocok hingga homogen. Hasil positif ditandai dengan adanya buih dan tetap bertahan meski setelah ditambah dengan 3 tetes HCl [19].

3. Uji Steroid

Ekstrak diambil sebanyak 1 mL lalu dilarutkan dalam 3 mL etanol 70%.

Selanjutnya ditambah dengan 2 mL H_2SO_4 dan 2 mL CH_3COOH . Hasil positif terlihat perubahan warna pada sampel menjadi ungu kebiruan atau kehijauan [20].

4. Uji Triterpenoid

Ekstrak diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambah dengan 2 mL CHCl_3 dan 3 mL H_2SO_4 . Hasil positif ditandai dengan sampel berubah menjadi berwarna merah kecoklatan [20].

5. Uji Fenolik

Ekstrak diambil sebanyak 1 mL lalu ditambah dengan 1 mL NaCl 1% dan 1 mL larutan gelatin 10%. Hasil uji dinyatakan positif bila ditandai dengan munculnya endapan berwarna putih [20].

Uji Kadar Flavonoid

1. Pembuatan Larutan Blanko

Diambil sebanyak 2 mL etanol, kemudian ditambah dengan 0,1 AlCl_3 , 0,1 CH_3COOK 1 M, dan 2,8 mL aquades. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 25°C dalam waktu 30 menit [21].

2. Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan pelarut etanol. Setelah itu dibuat variasi konsentrasi 20 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$, 80 $\mu\text{g/mL}$, dan 100 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian dipipet sebanyak 0,5 mL dari variasi konsentrasi tersebut. Selanjutnya ditambahkan 1,5 mL etanol, 0,1 AlCl_3 , 0,1 CH_3COOK 1 M, dan 2,8 mL aquades. Lalu diinkubasi pada suhu 25°C dalam waktu 30 menit. Setelah itu diukur pada λ 439 nm menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Setelah itu membuat kurva kalibrasi [21].

3. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji ini dibuat dengan konsentrasi sebanyak 2000 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan pelarut etanol. Sampel yang diuji adalah hasil ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol. Langkah pertama diambil larutan uji sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan 1,5 mL etanol, 0,1 AlCl_3 , 0,1 CH_3COOK 1 M, dan 2,8 mL aquades. Kemudian diinkubasi pada suhu 25°C dalam waktu 30 menit. Selanjutnya diukur dengan panjang gelombang λ 439 nm menggunakan spektrofotometri Uv-Vis [21].

Uji Kadar Fenolik

1. Pembuatan Larutan Blanko

Diambil sebanyak 0,5 mL aquades, lalu ditambahkan 0,1 folin ciocalteau. Selanjutnya didiamkan selama 3 menit, kemudian ditambah dengan 1,2 mL Na_2CO_3 7,5%. Setelah itu didiamkan pada suhu kamar dalam waktu 30 menit.

2. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Larutan induk dibuat konsentrasi sebanyak 500 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan pelarut etanol. Setelah itu, dibuat variasi konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 30 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, dan 50 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian dipipet sebanyak 0,5 mL dari variasi konsentrasi tersebut dan ditambahkan 1,5 mL folin ciocalteau. Selanjutnya didiamkan selama 3 menit, kemudian ditambahkan 1,2 mL Na_2CO_3 7,5%. Setelah itu, didiamkan pada suhu kamar dalam waktu 30 menit. Lalu diukur pada λ 758 nm menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Setelah itu membuat kurva kalibrasi [22].

3. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan konsentrasi sebanyak 1000 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan pelarut etanol. Sampel yang diuji adalah hasil ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol. Langkah pertama diambil larutan uji sebanyak 0,5 mL lalu ditambahkan 1,5 mL folin ciocalteau. Selanjutnya didiamkan selama 3 menit, kemudian ditambahkan 1,2 mL Na_2CO_3 7,5%. Setelah itu, didiamkan pada suhu kamar dalam waktu 30 menit. Lalu diukur dengan panjang gelombang λ 758 nm menggunakan alat spektrofotometri Uv-Vis [22].

Uji Kadar Antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH ini dibuat dengan konsentrasi 0.1 mM. Berat serbuk DPPH sebanyak 3,9 g dibuat pada labu ukur 100 mL dengan pelarut metanol. Pada proses pembuatan dilakukan diruang gelap [23].

2. Pembuatan Larutan Blanko

Diambil 4 mL metanol dan ditambahkan dengan larutan DPPH 0.1 mM sebanyak 2 mL dimasukkan dalam vial gelap dan dilakukan diruang gelap. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C dengan waktu 30 menit.

3. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Sampel yang diuji adalah hasil ekstrak umbi bawang putih dengan tiga jenis pelarut.

Larutan induk dibuat konsentrasi sebanyak 1000 $\mu\text{g/mL}$ menggunakan pelarut metanol. Setelah itu dibuat variasi konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$, 220 $\mu\text{g/mL}$, 240 $\mu\text{g/mL}$, 260 $\mu\text{g/mL}$, dan 280 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya diambil 4 mL dari variasi konsentrasi tersebut dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,1 mM. Perlakuan tersebut dimasukkan pada vial gelap dan dilakukan pada ruang gelap. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam waktu 30 menit. Lalu diukur pada panjang gelombang λ 516 nm menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Nilai IC_{50} dapat diperoleh dari regresi grafik konsentrasi sampel dengan persen inhibisi. Berikut rumus mencari persentase inhibisi menurut Wahyuni [24] :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{abs blanko} - \text{abs sampel}}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu umbi bawang putih (*Allium sativum* L.), sampel ini diperoleh dari petani Probolinggo, Jawa Timur.

Simplicia dan Ekstraksi Bawang Putih

Proses pembuatan serbuk bawang putih dilakukan dengan cara pengupasan kulit hingga bersih, lalu dipotong tipis dengan ketebalan 0,2 cm. Setelah itu, dijemur dibawah sinar matahari dengan pelindung plastik hingga kering selama 10 hari. Proses pengeringan ini bertujuan agar sampel tidak terpapar langsung oleh sinar matahari karena bisa merusak senyawa aktif didalamnya. Proses pengeringan dibantu dengan oven pada suhu 70-90°C dalam waktu 10 menit. Proses ini bertujuan untuk memastikan agar sampel benar-benar kering. Bila sudah kering sampel yang semula bertekstur basah, lentur dan berwarna putih akan berubah menjadi padat, keras dan berwarna coklat. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga akan lebih mudah dalam proses pengujian dan untuk mencegah reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu. Setelah sampel kering, maka dihancurkan sampai halus menggunakan alat blender dan kemudian diayak menggunakan ayakan 100 mesh hingga dihasilkan produk serbuk atau tepung kering. Proses ini bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel saat proses ekstraksi. Serbuk bawang putih berwarna coklat muda dengan berat sebanyak 1000 gram dimaserasi dalam pelarut 2500 mL.

Pada proses maserasi dilakukan secara bertingkat yaitu pertama-tama menggunakan

diklorometana bersifat non polar, kedua menggunakan etil asetat bersifat semi polar, dan ketiga etanol bersifat polar. Pelarut yang digunakan akan menarik senyawa aktif

berdasarkan tingkat kepolaran. Urutan dalam proses ini diawali dengan menggunakan pelarut yang bersifat non polar terlebih dahulu karena dalam suatu ekstrak sampel jumlah senyawa non polar lebih sedikit, selain itu massa jenis pelarut non polar lebih kecil dari pelarut polar sehingga dalam pengambilan pelarut saat ekstraksi sangat sulit dilakukan. Menurut Harborne [25] pelarut etanol ini dapat menarik senyawa aktif seperti asam amino, alkaloid, fenolik, gula, kuartener, karotenoid, glikosida, dan tannin.

Proses maserasi dilakukan selama 24 jam agar pelarut memiliki waktu banyak dalam berinteraksi dengan sampel untuk melakukan suatu proses pembelahan dinding sel. Senyawa aktif di dalam sitoplasma akan keluar bersamaan dengan pelarut yang digunakan, hal itu dikarenakan pada saat proses maserasi diketahui adanya tekanan dari dalam dan luar sel [26].

Tabel 1. Hasil uji senyawa bioaktif ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan diklorometana bawang putih (*Allium savivum* L.)

Senyawa Kimia	Hasil Reaksi			Keterangan
	Dikloro -metana	Etil Asetat	Etanol 96%	
Flavonoid	-	-	++	Perubahan jingga/orange/merah
Saponin	-	-	+++	Terbentuk busa/buih
Steroid	+	++	+++	Perubahan warna hijau/biru
Triterpenoid	+	++	++	Perubahan warna merah/ungu kecoklatan
Fenolik	-	-	++	Perubahan warna hijau hingga biru kehitaman

Keterangan: ++++ sangat kuat, +++ kuat, ++ Sedang, + lemah, - tidak terdeteksi.

Langkah selanjutnya adalah menyaring dengan kertas saring yang dibantu menggunakan alat *pompa vacuum*. Proses ini dilakukan untuk memisahkan pelarut dengan serbuk umbi bawang putih. Setelah itu filtrat yang didapat akan diuapkan menggunakan alat *Rotatory Evaporator*. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan hasil ekstrak yang lebih pekat sehingga mudah dalam mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam sampel. Kemudian ketiga ekstrak tersebut di freeze dryer dalam waktu 1 jam. Proses ini bertujuan agar kandungan air dalam sampel semakin sedikit.

Hasil nilai rendemen tertinggi diperoleh pada pelarut etanol yakni sebesar 11,5367%. Rendemen dengan pelarut diklorometana sebesar 0,77%. Sedangkan rendemen paling rendah dengan pelarut etil asetat sebesar 0,5365%. Rendemen dengan pelarut etil asetat ini memiliki hasil paling rendah. Hal ini disebabkan adanya gugus metoksi pada etil asetat yang membentuk ikatan hidrogen pada senyawa dalam sampel. Ikatan hidrogen yang terbentuk tersebut diduga lebih lemah dari ikatan hidrogen pada etanol dan diklorometana.

Analisis Senyawa Bioaktif

Analisis senyawa bioaktif memiliki tujuan untuk mengetahui komponen senyawa aktif didalam ekstrak umbi bawang putih. Uji ini dilakukan pada ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut diklorometana, etil asetat, dan etanol. Berdasarkan hasil pada tabel 1. ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol mengandung senyawa bioaktif flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan fenolik. Hal ini sama dengan penelitian terdahulu,

komponen bioaktif umbi bawang putih yang diekstrak dengan pelarut etanol adalah flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan fenolik [27].

Ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol menunjukkan hasil positif pada semua uji karena pelarut ini mempunyai kemampuan dalam menarik senyawa aktif dari yang bersifat non polar hingga polar [28]. Etanol bersifat universal karena memiliki gugus non polar $-CH_3$ dan gugus polar $-OH$. Selain itu ting ginya nilai rendemen membuktikan mampu mengekstrak lebih banyak komponen bioaktif dan dapat diduga bahwa komponen bawang putih banyak mengandung senyawa polar.

Ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etil asetat mengandung senyawa bioaktifsteroid dan triterpenoid. Menurut Harborne [25] pelarut etil asetat memiliki kemampuan dalam menarik senyawa aktif yang bersifat semi polar. Ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut diklorometana mengandung senyawa bioaktif steroid, dan triterpenoid. Pelarut ini bersifat non polar sehingga memiliki kemampuan dalam menarik senyawa aktif non polar. Menurut Saidi [29] golongan terpenoid dan steroid pada umumnya bersifat non polar hingga semi polar.

Adanya kandungan flavonoid pada sampel ditandai dengan timbulnya warna kuning [30]. Penambahan serbuk magnesium dan asam klorida menyebabkan senyawa flavonoid tereduksi sehingga menimbulkan perubahan warna. Ekstrak umbi bawang putih diperoleh hasil positif flavonoid dengan pelarut etanol. Dari hasil tersebut disimpulkan bahwa senyawa flavonoid bersifat polar, hal ini disebabkan flavonoid mempunyai gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi.

Adanya kandungan saponin pada sampel ditandai dengan timbulnya buih. Buih tersebut menandakan adanya glikosida. Glikosida dapat Saat pengocokan gugus hidrofil akan berikatan dengan udara sehingga akan terbentuk buih dalam beberapa waktu. Pada struktur misel, gugus polar menghadap keluar dan gugus non polar menghadap ke dalam sehingga mengakibatkan munculnya busa [31]. Ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol menunjukkan hasil positif saponin sedangkan dengan pelarut etil asetat dan diklorometana menunjukkan hasil negatif. Hasil ini sesuai dengan penelitian [29] bahwa saponin bersifat polar karena memiliki banyak gugus hidroksil. Menurut Yoshiki [10] saponin dapat dijadikan sebagai antioksidan alami.

Adanya kandungan steroid pada sampel ditandai dengan timbulnya warna ungu kehijauan [20]. Ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut diklorometana, etil asetat dan etanol menunjukkan hasil positif steroid. Hasil ini sesuai dengan penelitian [32] bahwa steroid bersifat polar dan non polar. Senyawa steroid berperan sebagai antioksidan [11].

Adanya kandungan triterpenoid pada sampel ditandai dengan timbulnya warna menjadi merah kecoklatan [20]. Senyawa triterpenoid memiliki struktur siklik berupa alkohol sehingga bersifat semi polar [33]. Menurut beberapa

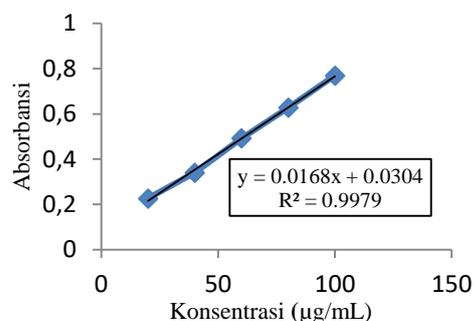
peneliti senyawa ini memiliki banyak manfaat sebagai antibakteri, anti inflamasi, antikanker [34], antivirus [35], antioksidan [11].

Adanya kandungan fenolik pada sampel ditandai dengan adanya endapan berwarna putih [20]. Penambahan NaCl berfungsi sebagai penghilang pengotor, kemudian saat ditambah gelatin sampel menghasilkan endapan putih. Hal ini terjadi karena adanya reaksi tanin terhadap gelatin dengan membentuk suatu senyawa kopolimer mantap (endapan) yang tidak larut.

Total Fenol dan Total Flavonoid

Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan, antiradang, menghambat populasi bakteri dan mencegah munculnya kanker. Uji flavonoid ini dilakukan dengan menggunakan reagen aluminium klorida. Senyawa flavonoid memiliki gugus orto hidroksi dan gugus hidroksi keton yang akan bereaksi dengan reagen aluminium sehingga dapat membentuk kompleks aluminium flavonoid [36].

Senyawa fenolik maupun senyawa flavonoid adalah senyawa yang dapat dijadikan sebagai antioksidan, senyawa tersebut bekerja sebagai penangkal radikal bebas. Hal ini dikarenakan sifat kimianya, yang mana senyawa tersebut dapat dijadikan pendonor dari atom hidrogen, pengkelat logam, dan mempunyai aktivitas biologis sehingga dapat membantu dalam menjaga sistem metabolisme [9].



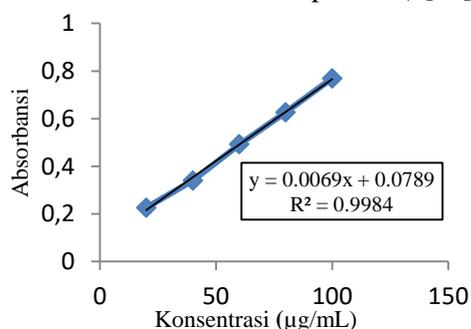
Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar asam galat

Uji fenolik dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Uji ini bertujuan untuk mengetahui besar nilai kandungan senyawa fenolik pada umbi bawang putih dengan pelarut etanol. Hasil uji fenolik diperoleh persamaan garis kurva asam galat yakni $y = 0.0168x + 0.0304$ dan nilai regresi sebesar 0.9979 ditunjukkan pada gambar 1. Persamaan tersebut untuk memperoleh kadar total fenolik rata-rata,

dalam penelitian ini diperoleh sebesar 28,756 mg GAE/g. Total nilai fenolik yang diperoleh tergolong sedang, hal ini sesuai dengan pernyataan dari Safaa [37] kandungan total fenolik tergolong tinggi bila diperoleh nilai sebesar >70 mg GAE/g, tergolong sedang bila diperoleh nilai 10-70 mg GAE/g, dan tergolong rendah bila diperoleh nilai sebesar <10 mg GAE/g.

Adanya gugus hidroksil dalam senyawa fenol mengakibatkan senyawa fenolik memiliki potensi sebagai antioksidan. Gugus hidroksil bermanfaat dalam penyumbangan atom H saat bereaksi dengan senyawa radikal melalui proses mekanisme transfer elektron, hal tersebut mengaktifkan proses oksidasi menjadi terhambat [12].

Selanjutnya pada uji flavonoid ekstrak etanol umbi bawang putih dilakukan menggunakan metode kalorimetri $AlCl_3$. Prinsip kerja dengan metode kalorimetri yaitu pembentukan senyawa kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keton pada suatu atom C4 serta gugus hidroksida pada atom C3 atau C5. Senyawa yang digunakan untuk larutan standar yakni kuersetin. Kuersetin dipilih karena memiliki tingkat penyebaran yang luas dan paling efektif dalam menangkap radikal bebas (radikal hidroksil, sueroksida, dan peroksil) [38].



Gambar 2. Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin.

Hasil uji flavonoid diperoleh persamaan garis kurva standar kuersetin $y = 0.0069x + 0.0789$ dan nilai regresi sebesar 0.9984 ditunjukkan pada gambar 2. Dari persamaan diatas maka dapat diperoleh total flavonoid rata-rata sebesar 21,601 mg QE/g. Total fenol didapatkan sebesar 28,756 mg GAE/g lebih tinggi dari pada total flavonoid. Hal ini dikarenakan senyawa flavonoid adalah senyawa dari golongan fenol. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian Banuriawan [17] total fenol diperoleh sebesar 274,294 mg GAE/g dan

total flavonoid diperoleh sebesar 494,017 mg QE/g. Menurut Engka [39] semakin tinggi nilai flavonoid maka semakin tinggi potensi antioksidannya. Hasil flavonoid dan fenolik yang diperoleh lebih rendah dari hasil penelitian Banuriawan [17] sehingga dari sisi komponen flavonoid dan fenolik penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan yang rendah.

Perbedaan total fenol dan total flavonoid yang didapatkan lebih kecil dari penelitian Banuriawan [17], hal ini dikarenakan perbedaan tempat asal tumbuhnya tanaman dan perbedaan pelarut yang digunakan. Sampel umbi bawang putih yang digunakan berasal dari Pasar Gadang, Malang dan diekstrak dengan aquades. Menurut Khoddami [40] senyawa flavonoid dapat tersebar luas dalam jaringan tanaman berupa glikosida. Sebab itu, pelarut air lebih unggul dalam menarik senyawa flavonoid dari pada dengan pelarut etanol. Selain itu menurut Borges [41] bahwa ada beberapa faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi hasil fenol dan flavonoid yaitu struktur tanah, tinggi rendahnya suhu, musim hujan, serta radiasi ultraviolet.

Pengujian secara kuantitatif ini bertujuan untuk membuktikan bahwa bawang putih memiliki kandungan senyawa tersebut, yang mana senyawa tersebut telah memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia selain itu sebagai pendukung untuk uji aktivitas antioksidan. Menurut Kurniawati [42] tingginya nilai fenol dan flavonoid dapat dikembangkan sebagai bahan tambahan obat. Fenol memiliki manfaat dalam menurunkan kadar gula darah dan sebagai antimikroba, sedangkan flavonoid memiliki manfaat sebagai antidiabetes dengan meningkatkan sensitivitas insulin.

Total Aktivitas Antioksidan

Ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut diklorometana, etil asetat dan etanol diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Menurut Nurcholis [43] radikal bebas dari serbuk DPPH ini setelah dilarutkan dengan metanol akan berwarna ungu dan memiliki panjang gelombang maksimum sebesar 517 nm, sedangkan pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang sebesar 516 nm. Menurut Astuti [44] radikal bebas DPPH yang berwarna ungu akan bereaksi setelah diaplikasikan dengan sampel dan berubah warna menjadi kuning. Radikal bebas berwarna ungu terjadi karena adanya elektron yang tidak berpasangan dan bila

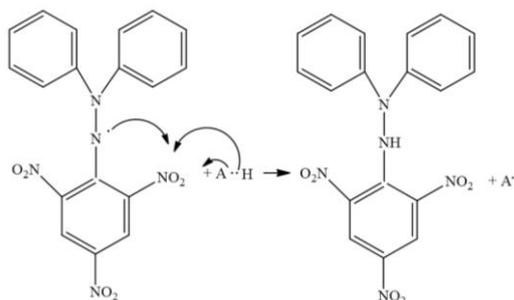
warna berubah menjadi kuning maka diduga bahwa elektron sudah berpasangan. Peredaman radikal bebas DPPH dengan atom H dari suatu senyawa sampel akan terbentuk menjadi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine (gambar 3). Perubahan warna juga mengakibatkan berubahnya nilai absorbansi, sehingga akan diperoleh suatu peredaman radikal berupa nilai IC_{50} .

Tabel 2. Total aktivitas antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium savivum* L.)

Pelarut	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Etanol	257.7503
Etil asetat	310.5998
Diklorometana	421.9643

Berdasarkan tabel 2. diperoleh aktivitas antioksidan ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol paling tinggi sebesar 257.7503 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dapat dikaitkan pada hasil analisis senyawa bioaktif, bahwa pelarut etanol mampu mengekstrak semua senyawa aktif yang diujikan, sehingga memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi. Selanjutnya aktivitas antioksidan ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antioksidan sebesar 310.5998 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian aktivitas antioksidan ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut diklorometana memiliki aktivitas antioksidan paling kecil sebesar 421.9643 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut dikarenakan pada hasil uji senyawa bioaktif pelarut diklorometana ini hanya mampu mengekstrak sedikit komponen bioaktif.

Tingginya nilai IC_{50} pada pelarut etanol dapat didukung oleh hasil uji fenol dan flavonoid. Menurut Rezaeizadeh [45] senyawa fenol dan flavonoid dapat dijadikan sebagai antioksidan. Hal ini disebabkan oleh gugus hidroksi dalam senyawa fenolik yang akan menyumbangkan atom H, sehingga senyawa radikal dapat bersifat lebih stabil.



Gambar 3. Reaksi radikal bebas DPPH dengan

Antioksidan [46].

Menurut Purwanto [47] aktivitas antioksidan tergolong sangat kuat bila nilai IC_{50} sebesar $<50 \mu\text{g/mL}$, tergolong kuat bila nilai IC_{50} sebesar $50-100 \mu\text{g/mL}$, tergolong sedang bila nilai IC_{50} sebesar $100-150 \mu\text{g/mL}$, tergolong lemah bila nilai IC_{50} sebesar $>150 \mu\text{g/mL}$, dan tergolong sangat lemah bila nilai IC_{50} sebesar $>200 \mu\text{g/mL}$. Sehingga berdasarkan nilai IC_{50} pada tabel 2. ekstrak umbi bawang putih dari Probolinggo memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Hal ini dikarenakan faktor tempat asal tumbuhnya tanaman, dan curah hujan. Akan tetapi hasil yang didapatkan tidak jauh berbeda dengan hasil Sulistyorini [48] yang mana sampel umbi bawang putih diperoleh dari Balai Materia Medica Batu Malang yang memiliki nilai IC_{50} dengan pelarut etanol, kloroform, dan n-heksan berturut-turut sebesar 151,5 ppm, 187,9 ppm, dan 2801 ppm.

Meskipun tergolong sangat lemah, akan tetapi menurut Molyneux [49] yang mengatakan bahwa suatu sampel akan terindikasi sebagai antioksidan apabila nilai IC_{50} yang didapatkan berkisar $200-1000 \mu\text{g/mL}$, sehingga bawang putih ini masih dikatakan berpotensi sebagai zat antioksidan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada umbi bawang putih dari Probolinggo. Hasil ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut diklorometana dan etil asetat mengandung senyawa bioaktif steroid dan triterpenoid sedangkan dengan pelarut etanol mengandung senyawa bioaktif flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan fenolik. Ekstrak bawang putih dengan pelarut etanol memiliki kadar total fenolik dan flavonoid secara berturut-turut sebesar 28,756 mg GAE/g dan 21,601 mg QE/g. Tingginya kandungan nilai fenol dan flavonoid dapat dikembangkan sebagai bahan tambahan obat. Fenol memiliki manfaat dalam menurunkan kadar gula darah dan sebagai antimikroba, sedangkan flavonoid memiliki manfaat sebagai antidiabetes dan mencegah munculnya kanker.

Hasil uji peredaman radikal bebas (DPPH) pada ekstrak umbi bawang putih dengan pelarut etanol diperoleh sebesar 257.7503 $\mu\text{g/mL}$, dengan pelarut etil asetat diperoleh sebesar 310.5998 $\mu\text{g/mL}$, dan dengan pelarut diklorometana

diperoleh IC₅₀ sebesar 421.9643 µg/mL. Dari sisi komponen flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid dan fenolik, ekstrak umbi bawang putih masih memiliki aktivitas antioksidan meski termasuk kategori sangat lemah.

Dari hasil pengujian, dapat mendukung untuk menjadikan bawang putih Probolinggo sebagai bahan tambahan suatu produk obat-obatan herbal dalam bentuk salep atau kosmetik dalam bentuk krem, akan tetapi perlu adanya penambahan senyawa lain yang sekaligus memiliki potensi antioksidan tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Julianto, Pramdia Arhando. (2016). *Industri Obat Tradisional Serap 15 Juta Tenaga Kerja*. Diakses pada. Diakses pada 1 Agustus 2020, dari www.kompas.com.
2. Rouf, Razina., Et al. (2020). Antiviral Potential Of Garlic (*Allium sativum*) and Its Organosulfur Compounds: A Systematic Update Of Pre-Clinical and Clinical Data. *Trends In Food Science & Technology*.
3. Soraya, C., Chismirina, S., dan Novita, R. (2015). Pengaruh Perasan Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Dalam Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro. *Jurnal Cakradonya Dent J*, Vol. 10, No. 1, Hal. 1-9.
4. Ebadi, M. (2006). *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. 2nd ed.* New York: Taylor & Francis.
5. Untari, Ida. (2010). Bawang Putih Sebagai Obat Paling Mujarab Bagi Kesehatan. *Jurnal Kesehatan*, Vol. 7, No. 1, Hal. 547-554.
6. Sudjatini. (2020). Pengaruh Cara Pengolahan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) Varietas Kating dan Sinco. *Jurnal Kimia*, Vol. 3, No. 1.
7. Setiawan, Ame Suciati., et al.. (2011). Efek Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum L.*) dan Rimpang Kunyit (*Curcumma domestica Val.*) Dengan Pembanding Glibenklamid Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Penelitian*, Vol. 43, No. 1.
8. Sayuti, Kesuma dan Rina Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia.
9. Widhi, Astuti Ambar Dwi. (2011). Efektivitas Pemberian Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale roscoe varr Rubrum*) Dalam Mengurangi Nyeri Otot Pada Atlet Sepak Takraw. *Artikel Penelitian*, Semarang: Universitas Diponegoro.
10. Yoshiki, Y., Kudo, dan K. Okobo. (1998). Relationship between Chemical Structure and Biologica Activities of Triterpenoid Saponin from Soybean (Review). *Biotechnology and Biochemistry*. Vol. 62, Hal. 2291-2292.
11. Setzer W. N. (2008). Non-intercalative topoisomerase ii: a molecular docking study. *Compounds Journal*. Vol. 1, Hal. 13-17.
12. Miguel, Chavez R. S. (2017). Phenolic Antioxidant Capacity: A Review of The State of The Art. *Intech Open Limited*, 59-74.
13. D, Yoranda Ari.f, Christine Jose., Hilwan Yuda Teruna. (2014). Total Fenolik, Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Diklorometan dan Metanol *Amaranthus Spinous L EM5-Bawang Putih*. *Jom Fmipa*, Vol. 1, No. 2.
14. Banjarnahor, S., dan Artanti, N. (2014). Antioxidant Properties Of Flavonoids. *Medical Journal of Indonesia*, Vol. 23, No. 4, Hal. 239-244.
15. Pambudi, Arief, dkk. (2014). Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica L.*). *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, Vol. 2, No. 3.
16. Gartika, Meirina., Eriska Riyanti., Djunned Prasonto. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*). *Odonto Dental Journal*, Vol. 4, No. 2.
17. Banuriawan, Try. (2016). Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Bawang Putih (*Allium sativum L.*) Dengan Bawang Putih Tunggal Menggunakan Metode Ekstraksi dan Soikasi (Kajian Pengaruh Lama Perendaman). *Skripsi*, Malang: Universitas Brawijaya.
18. Mustikasari, K dan Ariyani, D. (2010). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea angulata*). *Sains dan Terapan Kimia*, Vol. 4, No. 2, Hal.131-136.
19. Farnsworth, N. R. 1966. Biological dan Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 55, No. 3, Hal. 263.

20. Rohmah, Jamilatur., Chylen Setiyo Rini., Fitria Eka Wulandari. (2019). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca Sativa* Var. *Crispa*) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Riset*, Vol. 4, No. 1.
21. Azizah, Dyah Nur., Endang Kumolowati., Fahrauk Faramayuda. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 2, No. 2.
22. Andriani, Disa, Lusya Murtisiwi. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Spektrofotometri Uv Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, Vol. 2, No. 1.
23. Yoga, IB Ketut Widnyan. (2015). Penentuan Konsentrasi Optimum Kurva Standar Antioksidan; Asam Galat, Asam Askorbat dan Trolox® terhadap Radikal Bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0,1 mM. *Proceedings Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA V*.
24. Wahyuni, Wulan Tri., Latifah K. Darusman, Pitria, Aprilani Rahmat. (2018). Analisis Kadar Flavonoid dan Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*), Rumpun Mutiara (*Oldenlandia corymbosa*) Dan Sirsak (*Annona muricata*) Dengan Teknik Spektrometri. *Analytical and Environmental Chemistry*. Vol. 3, No. 1.
25. Harborne, J. (1987). *Metode Fitokimia, Edisi Ke Dua*. Bandung: ITB.
26. Silva, G.L., I.S. Lee, dan A.D. Kinghom. (1998). *Special Problem with Extraction of Plants in Chanell R.JP. (ed) Methods in Biotechnology 4*. New York: Natural.
27. Ponnulakshmi, R. and Balasubramania, Ezhilarasi S. (2013). Efficacy of Bulb Extracts of *Allium cepa* Varieties (Red, White And Small Onion): An In Vitro Antifungal and Antioxidant Activity. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*.
28. Saifudin, Azis., et al. (2011). *Stansarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
29. Saidi, Nurdin., Binawati., Murniana., Mustanir. (2018). *Analisis Metabolit Sekunder*. Aceh: Anggota Ikatan Penerbit Indonesia.
30. Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
31. Simaremare, Eva Susanty. (2014). Skrining Firokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Alportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, Vol. 11, No. 1.
32. Harlita, D. T., Oedjijono, Asnani A. (2018). The Antibacterial Activity of Dayak Onion (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) towards Pathogenic Bacteria. *Sciences Research*, Vol. 29, No. 2, Hal. 39-52.
33. Harborne, J. (1996). *Metode Fitokimia*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
34. Nassar, Zeyad., dan Abdalrahim, Amin M. S. (2010). The Pharmacological Properties of Terpenoid from *Sandoricum Koetjape*. *Journal Medcentra*, Hal 1-11.
35. Andayani, Y. (2003). Mekanisme Aktivitas Antihiperqlikemik Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) Pada Tikus Diabetes dan Identifikasi Komponen Aktif. *Disertasi*, Bogor: Institut Pertanian Bogor.
36. Prior, RL, Hoang HA, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Hampsch-Woodill M, Huang D, Ou B, Jacob R. 2003. (2003). Assay For Hydrophilic And Lipophilic Antioxidant Capacity (Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORACFL)) of Plasma And Other Biological And Food Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 5, No. 1, Hal. 3273-3279.
37. Safaa Y.Q., Ahmed N.A. & Mona A.L. (2014). Screening Of Antioxidant Activity and Phenolic Content Of Selected Food Items Cited In The Holly Quran. *EJBS*. Vol. 4, No. 1.
38. Pekal, A, Pyszynska K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction For Flavonoid Content Essay. *Food Ana Methods*, Vol. 7, No. 9. Hal. 1776-17782.
39. Engka, Theresia., Max R.J. Runtuwene., Jemmy Abidjulu. (2017). Penentuan Kandungan Total Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Dari Kuso Mafola (*Drynaria quercifolia* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 6, No. 1.
40. Khoddami, A., Wilkes, M. A., dan Roberts, T. H. (2013). Techniques For Analysis Of Plant Phenolic Compound. *Molecules*, doi:10.3390/molecules18022328.
41. Borges, L., Alves, S., Sapaio, B., Conceicao, E., Bara, M., dan Paula, J. (2013). Environmental Factors Affecting The

- Concentration Of Phenolic Compounds In Myrcia Tomentosa Leaves. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, Vol. 23, No. 2, Hal. 230-238.
42. Kurniawati, Evy, dan Christine Yohana Sianturi. (2016). Manfaat Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) sebagai Terapi Antidiabetes. *Medical Journal Of Lampung University*. Vol. 5, No. 3.
43. Nurcholis, W, Khumaida N, Syukur M, Bintang M. (2017). Evaluation Of Free Radical Scavenging Activity Of Ethanolic Extract From Promising Accesions Of *Curcuma Aeruginosa* Roxb. 1. *Moleku*, Vol. 12, No. 2, Hal. 133-138.
44. Astuti, Asih, I. A. R., dkk. (2015). Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Flavonoid Ekstrak Etanol Daging Buah Terong Blanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Jurnal Kimia*, Vol. 9, No. 1.
45. Rezaeizadeh .A, Zuki ABZ., M Abdollahi., Goh YM., Noordin MM., Hamid M., dan Azmi TI. (2011). Determination of Antioxidant Activity In Methanolic and Chloroformic Extract of *Momordica Charantia*. *African. Journal of Biotechnology*. Vol. 10, No. 24, Hal. 4932-4940.
46. Windono, dkk. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 2,2-Diphenyl-1-picrylhidrazil (DDPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo Biru dan Bali. *Artikel Hasil Penelitian Artoarpus*. Vol. 1, No. 1, Hal. 34-43.
47. Purwanto, Didit., Syaiful Bahri., & Ahmad Ridhay. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan
48. Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia Arborea* Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*. Vol. 3, No. 1, Hal. 24-32.
49. Sulistyorini, Arsinta. 2015. Potensi Antioksidan dan Antijamur Ekstrak Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) Dalam Beberapa Pelarut Organik. *Skripsi*. Malang: Maulana Malik Ibrahim.
50. Molyneux E, Y. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal Science Technology*, Vol. 26, No. 2. Hal 211-219.