

PENENTUAN FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BAWANG LANANG (*Allium sativum L.*)

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC, TOTAL FLAVONOIDS, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SINGLE BULB GARLIC EXTRACT (*Allium sativum L.*)

Dhini Tri Wilujeng 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. Radikal bebas adalah molekul tidak stabil yang dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif dapat memicu kerusakan sel, jaringan, hingga organ yang kemudian akan menyebabkan penyakit degeneratif. Stres oksidatif dapat dikurangi dengan cara meningkatkan imunitas tubuh melalui antioksidan, dimana antioksidan ini dapat ditemukan pada salah satu bahan alam yaitu bawang lanang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi bawang lanang impor dengan berbagai pelarut sebagai sumber antioksidan alami berdasarkan kadar total fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan. Metode Follin-ciocalteu digunakan untuk menentukan total fenol, flavonoid total ditentukan secara kolorimetri dengan AlCl_3 , dan aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Hasil penelitian menunjukkan bahwa total fenolik ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan diklorometan secara berturut-turut adalah 13,77 (tergolong sedang); 26,60 (tergolong sedang); dan 6,36 (tergolong rendah) mgGAE/gr ekstrak. Total flavonoid ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan diklorometan secara berturut-turut adalah 0,97; 2,88; dan 0,47 mgQE/gr ekstrak. Sementara itu, aktivitas antioksidan (nilai IC_{50}) untuk ekstrak etanol 96% yaitu 339,69 ppm (tergolong lemah), untuk ekstrak etil asetat sebesar 174,03 ppm (tergolong sedang), dan untuk ekstrak diklorometan sebesar 430,48 ppm (tergolong lemah). Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa bawang lanang impor dengan ketiga pelarut memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami, namun hasil uji tidak lebih baik daripada total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan bawang lanang lokal.

Kata kunci: Fenolik total, flavonoid total, antioksidan, bawang lanang

Abstract. Free radicals are unstable molecules that can cause oxidative stress. Oxidative stress can lead to damage to cells, tissues, and organs, which can lead to degenerative diseases. Oxidative stress can be reduced by increasing the body's immunity through antioxidants, where these antioxidants can be found in one of the natural ingredients, namely single bulb garlic. The purpose of this study was to determine the potential of imported single bulb garlic with various solvents as a source of natural antioxidants based on total phenolic levels, flavonoids, and antioxidant activity. The Follin-ciocalteu method was used to determine total phenol, total flavonoids were determined colorimetrically with AlCl_3 , and antioxidant activity was determined by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The results showed that the total phenolic extract of ethanol 96%, ethyl acetate, and dichloromethane were 13.77 (medium); 26.60 (medium); and 6.36 (low) mg GAE/gr extract. The total flavonoids of ethanol 96% extract, ethyl acetate, and dichloromethane were 0.97; 2.88; and 0.47 mgQE / gr extract. Meanwhile, the antioxidant activity (IC_{50} value) for 96% ethanol extract was 339.69 ppm (weak), 174.03 ppm for ethyl acetate extract (medium), and 430.48 ppm for dichloromethane extract (weak). Based on the research results, it can be concluded that imported single bulb garlic with the three solvents have potential as a source of natural antioxidants, but the test results are no better than total phenolic, total flavonoids, and antioxidant activity of local single bulb garlic.

Key words: Total Phenolic, flavonoid, antioxidant, single bulb garlic

PENDAHULUAN

Pola hidup masyarakat berubah sejalan dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi dari tradisional menjadi praktis dan instan. Perubahan pola hidup ini memberi dampak buruk bagi kesehatan [1]. Contohnya adalah mengonsumsi makanan cepat saji yang mengandung senyawa radikal akibat pemanasan dan pembakaran. Selain itu, kondisi lingkungan sekitar seperti polusi akibat kendaraan bermotor, meningkatnya suhu bumi akibat penipisan lapisan ozon, dan sinar ultraviolet yang semakin intens menyerang manusia juga dapat memicu terbentuknya radikal bebas [2] [3] [4].

Radikal bebas adalah molekul dengan satu atau lebih elektron bebas sehingga relatif tidak stabil [5]. Ketidakstabilan tersebut mengakibatkan radikal bebas akan berupaya mencari pasangan elektron dari molekul lain [6]. Radikal bebas memiliki arti penting bagi kesehatan dalam membunuh bakteri, mengatasi peradangan, dan mengontrol tonus otot vaskular [5]. Namun, jika radikal bebas melebihi kemampuan antioksidan seluler dalam melindungi, maka radikal bebas akan menyerang sel itu sendiri. Antioksidan dan radikal bebas yang tidak seimbang akan memicu stres oksidatif, dimana hal ini dapat menyebabkan kerusakan sel, jaringan, hingga organ tubuh seperti penuaan dini, kanker, gangguan paru-paru, hati, ginjal, aterosklerosis, katarak, diabetes, dan penyakit degeneratif lainnya [6] [7] [8]. Langkah yang tepat untuk mengurangi stres oksidatif ini adalah dengan melakukan terapi antioksidan, mengubah gaya hidup, dan mengubah kebiasaan makan seperti membatasi asupan kalori serta olahraga [9]. Namun demikian, terapi antioksidan dinilai lebih efektif karena pertahanan tubuh dapat meningkat karena adanya aktivitas antioksidan tersebut [10].

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu mereduksi radikal bebas dengan melepaskan elektron ke senyawa oksidan [5]. Macam antioksidan ada dua, yaitu eksogen dan endogen. Antioksidan yang bersumber dari luar tubuh seperti makanan dan minuman disebut antioksidan eksogen, sedangkan antioksidan endogen merupakan antioksidan yang bersumber dari dalam tubuh seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GPx). Ketiga antioksidan tersebut adalah antioksidan endogen enzimatis [4].

Antioksidan eksogen dapat ditemukan secara alami ataupun sintesis, tetapi antioksidan sintesis seringkali menimbulkan efek tertentu

seperti peradangan, kerusakan hati, hingga meningkatkan resiko penyakit kanker [4]. Hal ini mengakibatkan diperlukannya antioksidan alami untuk menghindari efek tersebut. Antioksidan sintesis yang banyak ditemukan dalam produk pangan adalah *butylate hydroxyanisole* (BHA), *butyl hydroxy toluene* (BHT), *tertiary butylhydroquinone* (TBHQ), dan *propyl 3,4,5-trihydroxybenzoate* [11]. Antioksidan alami dapat dihasilkan dari tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder (seperti fenol dan flavonoid). Fenol dan flavonoid adalah salah satu senyawa antioksidan karena dapat mendonorkan atom hidrogen pada senyawa radikal sehingga senyawa radikal dapat bersifat lebih stabil [12]. Kemampuan antioksidan dalam meredam radikal bebas akan semakin baik apabila nilai total fenolik dan flavonoid semakin tinggi [13].

Antioksidan dapat ditemukan pada genus *Allium*. Hal ini dikarenakan *Allium* memiliki komponen utama senyawa organosulfur dan polifenol (lignan, fenolik, dan flavonoid) [14] [15]. Tanaman dari genus *Allium* diantaranya adalah bawang merah, bawang putih, bawang kucai, bawang bombay, dan bawang lanang. Bawang lanang merupakan bawang putih biasa yang tumbuh di daerah yang kurang tepat sehingga hanya memiliki satu buah siung [16]. Bawang lanang pada saat ini banyak sekali dibudidayakan karena manfaatnya sebagai obat seperti antidiabetes, antihipertensi, antikolesterol, antiaterosklerosis, antibakteri dan antioksidan [17] [11].

Bawang lanang banyak tumbuh diberbagai daerah di Indonesia seperti Tawangmangu, Magetan, Malang, dan Lumajang. Bawang-bawang yang tumbuh di Indonesia tersebut biasa disebut sebagai bawang lanang lokal. Selain bawang lanang lokal, saat ini banyak beredar bawang lanang impor yang menguasai pasar. Bawang lanang impor memiliki keunggulan yaitu diimpor dalam skala besar sehingga stok selalu ada, harga jual yang relatif murah bila dibandingkan dengan bawang lanang lokal, dan mudah ditemukan dimana saja, namun belum dilakukan pengujian terkait potensi antioksidan bawang lanang impor. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat bawang lanang dari daerah Majalengka secara berturut-turut memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yaitu 13,85 ppm dan 7,27 ppm [11]. Ekstrak etanol bawang lanang lokal dari Magetan dan Tawangmangu secara berturut-turut adalah sebesar 20,216 ppm dan 13,777 ppm, serta ekstrak bawang lanang dari daerah Malang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 65,074 ppm [18] [19].

Aktivitas antioksidan yang berbeda pada tiap penelitian disebabkan oleh adanya perbedaan daerah tumbuh, suhu, iklim, serta pelarut yang digunakan untuk ekstraksi [20]. Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan pengujian total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak bawang lanang impor yang diperoleh dari Pasar Jagir Wonokromo, Surabaya dengan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi bawang lanang impor sebagai sumber antioksidan alami berdasarkan kadar total fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Pelarut yang digunakan adalah diklorometana, etil asetat, dan etanol 96%.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi pyrex iwaki, gelas kimia herma 50 mL, labu ukur pyrex 10 mL dan 100 mL, Pipet tetes, pipet volume, spatula kaca, botol kaca gelap, kertas saring, vial kaca, blender (Yongma), ayakan, mikropipet, *blue tip*, *freeze dryer* (Buchi), corong buchner, *moisture balance* (*Determination Balance* FD-610), neraca analitik (*Adventure Ohaus*), *rotary evaporator* (Buchi B-491), tanur (*Select-Horn*), pompa vakum (*Gast DOA-P-504-BN*), dan Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang lanang impor dari Pasar Jagir Wonokromo Surabaya, etanol 96%, etil asetat, diklorometan, kloroform, ammonium, H₂SO₄ 2N, pereaksi mayer, pereaksi wagner, pereaksi dragendorf, etanol 70%, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl₃ 1%, aquades, CH₃COOH anhidrat, NaCl 10%, gelatin 1%, NaOH 1 N, etanol p.a., methanol p.a., asam galat, reagen *follin ciocalteu* 10%, Na₂CO₃ 7,5%, kuersetin, AlCl₃, CH₃COOK 1 M, dan DPPH 0,1 mM.

PROSEDUR PENELITIAN

Preprasi Sampel

Bawang lanang segar sebanyak 5 kg dari Pasar Jagir Wonokromo Surabaya dipisahkan dari kotoran dan dikupas. Bawang lanang kemudian dipotong dengan ketebalan 2 mm dan dijemur dengan sinar matahari secara tidak langsung

(diberi pelindung) hingga kadar air kurang dari 10%. Bawang lanang kering diblender dan dihomogenkan ukurannya dengan ayakan 80 mesh. Serbuk bawang lanang dikemas dengan plastik dan disimpan dalam toples.

Menghitung Kadar Air Serbuk Bawang Lanang

Kadar air serbuk bawang lanang ditentukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Alat *moisture balance* dinyalakan dan dinolkan angkanya. Sampel sebanyak 1 gram diratakan diatas cawan aluminium di dalam *moisture balance*. Alat ditutup, ditekan tombol *start* dan ditunggu hingga 10 menit. Angka yang tercantum pada *display* menyatakan kadar air sampel dalam satuan persen [21].

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel bawang lanang dilakukan dengan menggunakan metode maserasi bertingkat. Maserasi ini mampu memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% (polar), etil asetat (semipolar), dan diklorometan (non-polar). Sampel dimaserasi selama 1x24 jam untuk setiap pelarutnya kemudian disaring dengan menggunakan pompa vakum. Pelarut pada ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai ekstrak menjadi kental [22]. Rendemen ekstrak dihitung dengan cara berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Uji Pendahuluan Ekstrak Bawang Lanang Flavonoid

Sampel sejumlah 1 mL ditambah serbuk Mg 0,1 gr dan HCl pekat 5 tetes. Sampel yang positif mengandung flavonoid ditandai dengan berubahnya warna sampel menjadi kuning, jingga, atau merah [23].

Fenolik

Sampel sejumlah 1 mL ditambah 10 tetes larutan FeCl₃ 1% dalam tabung reaksi. Sampel yang berubah warna menjadi ungu, merah, hijau, biru, atau hitam adalah sampel yang positif mengandung fenolik [23].

Penentuan Kadar Total Fenolik

Kadar fenolik total ditentukan menggunakan metode *Follin-Ciocalteu* secara kolorimetri yang dimodifikasi [13]. Larutan standar asam galat dan ekstrak (etanol 96%, etil asetat, diklorometan) dipipet 0,5 mL dan ditambah 1,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu*. Setelah 3 menit, ditambahkan

Na_2CO_3 7,5% 1,2 mL. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 762 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis setelah 30 menit. Kadar total fenolik dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Total Fenolik} = \frac{c \times V \times fp}{g}$$

Dimana C adalah konsentrasi fenolik yang merupakan nilai x dan telah dikonversi dalam satuan mg/mL, V adalah volume sampel dalam mL, Fp adalah faktor pengenceran, dan g adalah berat sampel dalam satuan gram [24].

Penentuan Kadar Total Flavonoid

Kadar total flavonoid ditentukan dengan metode AlCl_3 secara kolorimetri yang dimodifikasi. Larutan standar dan larutan ekstrak (etanol 96%, etil asetat, dan diklorometan) dipipet sejumlah 0,5 mL lalu ditambah etanol p.a. 1,5 mL., AlCl_3 10% sebanyak 0,1 mL, 0,1 mL CH_3COOK 1 M, dan aquades sebanyak 2,8 mL. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C dan setelah 30 menit diukur absorbansi pada panjang gelombang 437 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis. Total Flavonoid dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Total Flavonoid} = \frac{c \times V \times fp}{g}$$

Dimana C adalah konsentrasi flavonoid yang telah dikonversi menjadi mg/mL, V adalah volume sampel dalam mL, Fp adalah faktor pengenceran, dan g adalah berat sampel dalam satuan gram [24].

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Larutan DPPH 0,004% dan sampel disiapkan. Ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan diklorometan masing-masing diambil 10 mg lalu dilarutkan dengan metanol p.a. hingga 10 mL (1000 ppm). Larutan ekstrak dipipet 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; dan 1,6 hingga dihasilkan konsentrasi 10, 20, 40, 80, dan 160 ppm. Larutan DPPH kemudian ditambahkan pada masing-masing konsentrasi sampel dengan perbandingan 1:1. Campuran selanjutnya diinkubasi kurang lebih 30 menit dalam inkubator pada 37°C . Setelah itu diukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 515 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Persen inhibisi dapat dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Setelah nilai persen inhibisi diketahui, maka nilai IC_{50} juga dapat diketahui. Persamaan tersebut menunjukkan hubungan antara persen inhibisi dan konsentrasi [25].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk bawang lanang mengandung kadar air sebesar 6,2%. Kadar air ini sesuai dengan syarat mutu simplisia yaitu kurang dari atau samadengan 10% [26]. Apabila kadar air simplisia lebih dari 10%, maka mikroba dapat tubuh dan menyebabkan terjadinya reaksi enzimatik serta kerusakan. Enzim dalam simplisia tersebut lama kelamaan akan mengubah kandungan kimia yang mungkin dapat menghilangkan efek farmakologinya [27].

Serbuk kemudian di ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat memiliki keunggulan yaitu dapat mengekstrak senyawa dalam sampel sesuai dengan tingkat kepolarannya dan tidak memerlukan panas saat proses ekstraksi berlangsung [28]. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi pada penelitian ini adalah diklorometan (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 96% (polar). Pelarut-pelarut ini akan mengikat senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Hasil ekstraksi 700 gram serbuk umbi bawang lanang selama 24 jam menghasilkan ekstrak kental sebesar 3,7367 gram untuk pelarut diklorometan, 2,0257 gram untuk pelarut etil asetat, dan 31,5897 gram untuk pelarut etanol 96%. Rendemen ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan diklorometan masing-masing 4,51%, 0,28%, dan 0,53%. Ekstrak etanol memiliki rendemen yang paling tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan diklorometan karena etanol adalah pelarut polar. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar kandungan dalam bawang lanang bersifat polar, seperti protein dan karbohidrat.

Uji Pendahuluan Ekstrak Bawang Lanang Impor

Skrining fitokimia adalah suatu analisis yang dirancang untuk menentukan metabolit sekunder dalam sampel baik secara kualitatif, semi kuantitatif, maupun kuantitatif [29]. Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia secara kualitatif sebagai uji pendahuluan dengan tujuan untuk memperoleh gambaran tentang kandungan senyawa yang ada dalam bawang lanang. Senyawa-senyawa tersebut dapat teridentifikasi karena adanya penambahan pereaksi yang dapat memunculkan warna khas dari setiap golongan metabolit sekunder [30]. Uji pendahuluan senyawa flavonoid dan fenolik untuk ekstrak

bawang lanang dengan pelarut diklorometan, etil asetat, dan etanol 96% ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Senyawa Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Diklorometan, Etil Asetat, dan Etanol 96% Bawang Lanang Impor.

Senyawa Kimia	Pelarut			Keterangan
	Dikloro- metan	Etil Asetat	Etanol 96%	
Flavonoid	-	+	+	Terbentuk larutan warna kuning
Fenolik	-	+	+	Terbentuk larutan warna hijau

Larutan FeCl_3 adalah pereaksi untuk menguji senyawa fenol dengan hasil positif yaitu adanya perubahan warna sampel menjadi ungu, merah, hijau, biru, atau hitam. Uji untuk flavonoid adalah dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pada sampel. Hasil positif untuk uji flavonoid ditandai dengan berubahnya warna sampel menjadi kuning, jingga, atau merah [23]. Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 1, dapat diketahui bahwa ekstrak etil asetat dan etanol 96% positif mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan berubahnya warna sampel menjadi kuning. Uji fenolik pada ekstrak etil asetat dan etanol 96% mengubah sampel menjadi berwarna hijau, sehingga ekstrak ini positif mengandung fenolik. Ekstrak diklorometan menunjukkan hasil negatif baik untuk uji flavonoid maupun fenolik.

Uji pendahuluan yang dilakukan adalah uji fitokimia, dimana reaksi yang terjadi pada uji fitokimia seringkali tidak spesifik. Sebagai contoh, adanya atom oksigen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada gugus gula juga dapat berikatan dengan Fe^{3+} dan membentuk kompleks [31]. Selain itu, uji pendahuluan pada ekstrak diklorometan seharusnya menunjukkan hasil yang positif karena bawang lanang memiliki senyawa antioksidan yang bersifat non-polar seperti tokoferol. Tidak terdeteksinya fenolik dan flavonoid pada ekstrak diklorometan disebabkan oleh kadar senyawa yang rendah dalam sampel tersebut. Hal ini mengakibatkan perlunya dilakukan uji kuantitatif untuk menentukan fenolik dan flavonoid total dalam ekstrak bawang lanang. Tingkat fenolik total digolongkan berdasarkan Tabel 2.

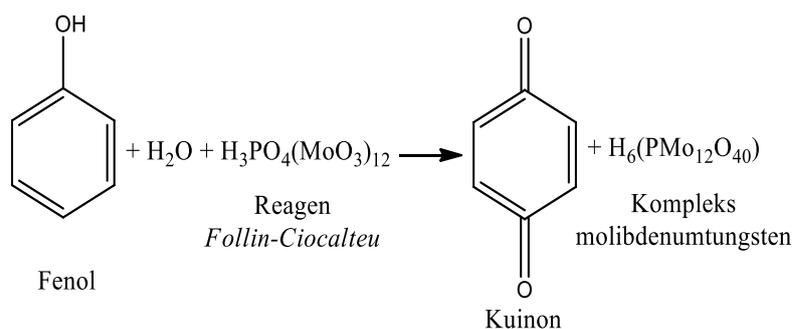
Tabel 2. Penggolongan Fenolik Total [32].

Golongan Fenolik Total	mgGAE/gr ekstrak
Tinggi	>70
Sedang	10-70
Rendah	<10

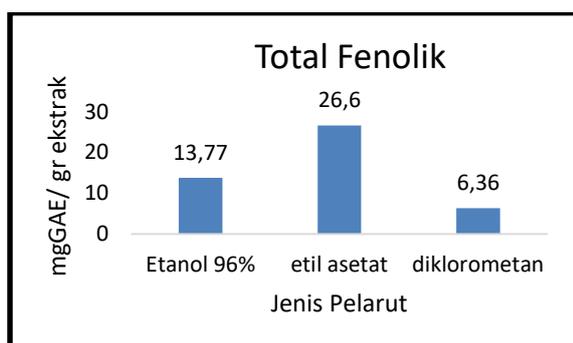
Penentuan Kadar Fenolik Total

Kadar fenolik total ditentukan dengan tujuan untuk memperkirakan aktivitas antioksidan ekstrak bawang lanang dengan berbagai pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda. Senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan karena adanya gugus hidroksil dalam senyawa fenol. Gugus ini akan mendonasikan atom H pada senyawa radikal bebas sehingga dapat menghambat proses oksidasi [12]. Metode yang digunakan pada penentuan total fenolik adalah *Follin-Ciocalteu* dengan asam galat sebagai standarnya. Asam galat adalah turunan yang tergolong asam fenol sederhana sehingga digunakan sebagai standar baku penentuan total fenolik [33].

Asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat adalah bahan yang digunakan untuk membuat pereaksi *Follin-Ciocalteu*. Prinsip dari metode ini adalah asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat akan tereduksi oleh ion fenolat dalam suasana basa membentuk kompleks molibdenumtungsten yang berwarna biru (Gambar 1). Konsentrasi senyawa fenolik yang semakin tinggi menjadikan warna biru yang dihasilkan semakin jenuh (absorbansi semakin tinggi). Hal ini terjadi karena semakin banyak ion fenol yang mereduksi asam fosfomolibdat dan fosfotungstat, sehingga kompleks molibdenumtungsten yang terbentuk juga semakin banyak [34]. Reaksi antara fenolik dengan *Follin-Ciocalteu* ditunjukkan pada Gambar 1.

Gambar 1. Reaksi fenolik dengan *Follin Ciocalteu* [35].

Kurva standar asam galat ditentukan menggunakan persamaan regresi linier. Persamaan ini merepresentasikan hubungan antara konsentrasi dan nilai absorbansi asam galat yang telah direaksikan dengan reagen *Follin-ciocalteu*. Persamaan kurva standar yang dihasilkan adalah $y = 0,0114x + 0,1483$ dan koefisien regresi 0,9967. Kandungan fenol total dinyatakan dalam ekuivalen asam galat (GAE), yang setara dengan asam galat per 1 gram sampel. Hasil perhitungan total fenolik ekstrak bawang lanang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Total Fenolik Ekstrak Bawang Lanang.

Berdasarkan gambar 2 dan tabel 2, dapat dilihat bahwa ekstrak etil asetat mengandung total fenolik yang sedang yaitu sebesar 26,6 mgGAE/gr ekstrak. Total fenolik ekstrak etil asetat lebih tinggi bila dibandingkan dengan total fenolik ekstrak etanol 96% dan diklorometan yaitu sebesar 13,77 dan 6,36 mgGAE/gr ekstrak. Hasil penelitian sesuai dengan teori bahwa senyawa fenolik dapat diekstraksi dengan baik menggunakan pelarut etil asetat [36]. Hal ini terjadi karena maserasi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi bertingkat. Dimana sampel dimaserasi terlebih dahulu dengan menggunakan etil asetat baru kemudian etanol, sehingga senyawa dalam sampel yang bersifat polar kemungkinan telah terekstrak oleh pelarut etil asetat yang bersifat semipolar. Sifat semipolar etil asetat

menunjukkan bahwa etil asetat mampu mengekstrak senyawa yang bersifat polar maupun non-polar [37].

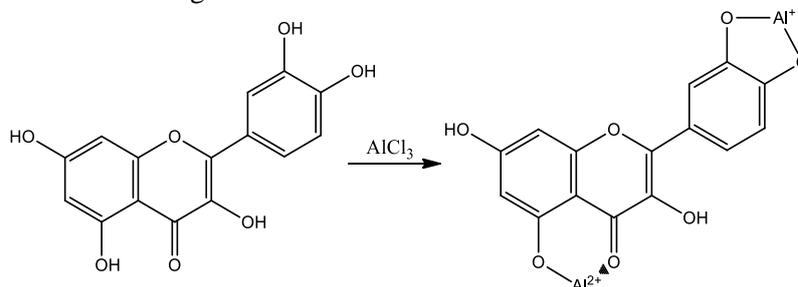
Fenolik total ekstrak diklorometan tergolong rendah yaitu sebesar 6,36 mgGAE/gr ekstrak. Diklorometan adalah pelarut yang bersifat non-polar, namun mengandung fenolik karena terdapat senyawa antioksidan yang bersifat non-polar seperti tokoferol. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa senyawa tokoferol semakin mudah larut dalam pelarut yang bersifat non-polar [38]. Penelitian tentang maserasi bertingkat dengan hasil terbaik pada ekstrak etil asetat telah dilakukan sebelumnya, namun pelarut non-polar yang digunakan adalah n-heksana. Fenolik total daun sesewanua dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol secara berturut-turut adalah sebesar 5,795 mg/L, 36,25 mg/L, dan 14,659 mg/L [36].

Total fenolik ekstrak etanol bawang lanang lokal dari daerah Tawangmangu dan Magetan secara berturut-turut adalah 92,22 dan 70,24 mgGAE/gr ekstrak [18]. Selain itu, ekstrak metanol bawang lanang telah diketahui mengandung total fenolik sebesar 9,69 mgGAE/gr ekstrak [39]. Berdasarkan beberapa data total fenolik bawang lanang lokal dari penelitian sebelumnya, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol bawang lanang impor memiliki total fenolik yang tidak lebih baik daripada total fenolik ekstrak etanol bawang lanang lokal.

Penentuan Kadar Flavonoid Total

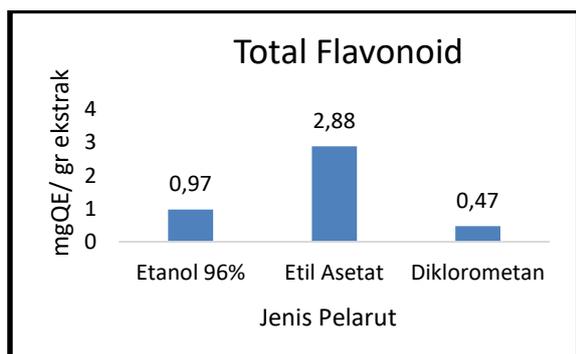
Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan karena mempunyai gugus hidroksil yang melekat pada karbon cincin aromatik sehingga mampu menangkal radikal bebas. Metode yang digunakan untuk menentukan kadar total flavonoid ekstrak bawang lanang adalah kolorimetri $AlCl_3$ dengan kuersetin sebagai standarnya. Kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang berdekatan serta gugus keton pada atom C-4,

sehingga kuersetin cocok digunakan sebagai standar pada penelitian ini [24]. Metode ini memiliki prinsip terbentuknya kompleks antara gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 dari golongan flavon dan flavonol dengan $AlCl_3$ dan



Gambar 3. Reaksi Flavonoid dengan $AlCl_3$ [20].

Larutan standar kuersetin dibuat dalam konsentrasi yang beragam yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Persamaan kurva standar yang diperoleh berdasarkan nilai absorbansi kuersetin adalah $y = 0,01x - 0,0208$ dengan r^2 sebesar 0,9919. Hasil perhitungan total flavonoid ekstrak bawang lanang disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Total Flavonoid Ekstrak Bawang Lanang.

Seperti yang terlihat pada Gambar 4, ekstrak etil asetat mengandung flavonoid total tertinggi bila dibandingkan dengan ekstrak pelarut lainnya (2,88 mgQE/gr ekstrak). Ekstrak bawang lanang dengan pelarut etanol 96% dan diklorometan secara berturut-turut adalah sebesar 0,97 dan 0,47 mgQE/gr ekstrak. Ekstrak etil asetat memiliki flavonoid total paling baik karena sampel dimaserasi secara bertingkat. Maserasi bertingkat mengakibatkan terjadinya kontak antara sampel dengan pelarut etil asetat terlebih dahulu daripada antara sampel dengan pelarut etanol. Hal ini memungkinkan senyawa yang bersifat polar telah terekstrak pada pelarut etil asetat karena etil asetat adalah pelarut yang bersifat semipolar sehingga mampu mengekstrak senyawa yang bersifat non-polar maupun polar [37]. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, bahwa senyawa fenolik dapat

gugus keton pada atom C-4 dengan $AlCl_3$ (Gambar 3) [20]. Reaksi flavonoid dengan $AlCl_3$ ditunjukkan pada Gambar 3.

diekstraksi dengan baik menggunakan pelarut etil asetat [36].

Ekstrak diklorometan bawang lanang mengandung total fenolik dalam jumlah yang kecil yaitu 0,47 mgQE/gr ekstrak sehingga pada uji pendahuluan tidak terdeteksi adanya senyawa flavonoid. Diklorometan adalah pelarut yang bersifat non-polar, namun mampu mengekstrak senyawa antioksidan yang bersifat non-polar seperti tokoferol. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa senyawa tokoferol semakin mudah larut dalam pelarut yang bersifat non-polar [38]. Total flavonoid ekstrak etanol bawang lanang lokal Tawangmangu dan Magetan adalah 14,4833 dan 12,1833 mgQE/gr ekstrak [18]. Berdasarkan data total flavonoid bawang lanang dari penelitian sebelumnya, dapat diketahui bahwa ekstrak etanol bawang lanang impor memiliki total flavonoid yang tidak lebih baik daripada ekstrak etanol bawang lanang lokal.

Penentuan Aktivitas Antioksidan

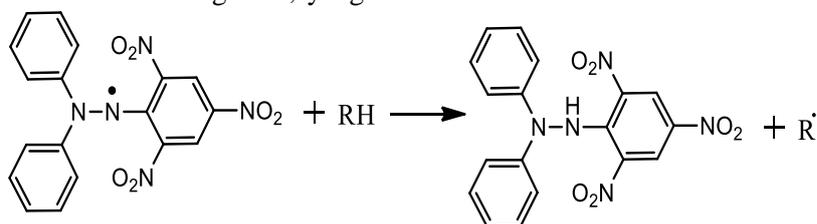
Uji Aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dan dinyatakan sebagai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Tingkat aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} digolongkan berdasarkan Tabel 3.

Tabel 3. Tingkat Antioksidan berdasarkan Nilai IC_{50} [25].

Tingkat Kekuatan Antioksidan	IC_{50} (ppm)
Sangat Kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	100-250
Lemah	250-500

Prinsip metode DPPH adalah menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada

panjang gelombang tertentu untuk mengukur peredaman radikal bebas DPPH oleh antioksidan. Panjang gelombang yang digunakan dalam penelitian ini adalah 515 nm. Larutan DPPH dalam metanol berwarna ungu tua, yang



Gambar 5. Reaksi DPPH dengan antioksidan [40].

Berdasarkan gambar 5 dapat diketahui bahwa DPPH merupakan senyawa yang memiliki elektron bebas. DPPH kemudian direaksikan dengan antioksidan (RH). Antioksidan mendonorkan satu atom hidrogen kepada DPPH, sehingga larutan yang mulanya berwarna ungu memudar hingga berubah menjadi kuning. Nilai

kemudian warna ini akan memudar saat terjadi reaksi dengan senyawa lain yang dapat mendonorkan proton. Reaksi antara DPPH dengan antioksidan diterangkan pada Gambar 5.

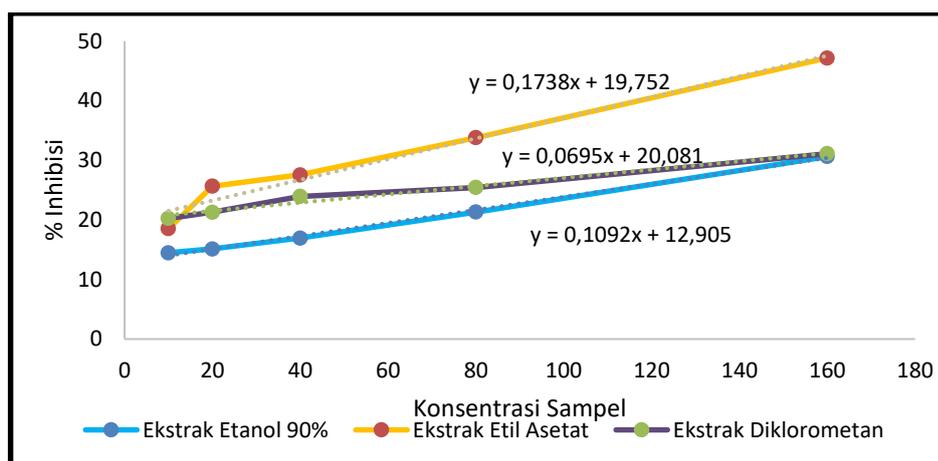
IC_{50} dapat ditentukan dengan persamaan regresi linier yang merepresentasikan hubungan antara persen inhibisi dan konsentrasi larutan dalam bentuk grafik. Persamaan regresi linier dan nilai IC_{50} ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan diklorometan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol 96%, Etil Asetat, dan Diklorometan Bawang Lanang Impor.

Sampel	Persamaan Regresi Linier	Nilai IC_{50} (ppm)
Ekstrak Etanol 96%	$y = 0,1092x + 12,905$ $R^2 = 0,9971$	339.69
Ekstrak Etil Asetat	$y = 0,1738x + 19,752$ $R^2 = 0,9667$	174,03
Ekstrak Diklorometan	$y = 0,0695x + 20,081$ $R^2 = 0,9795$	430,48

Grafik yang menyatakan hubungan antara persen inhibisi dengan konsentrasi sampel ekstrak

etanol 96%, etil asetat dan diklorometan bawang lanang ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Lanang.

Berdasarkan Tabel 4 dan Gambar 6, dapat diketahui bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% adalah sebesar 339,69 ppm. Kekuatan aktivitas antioksidan ini tergolong lemah karena berada pada rentang 250-500 ppm [25]. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat bawang lanang

tergolong sedang yaitu sebesar 174,03 ppm, sedangkan ekstrak diklorometan bawang lanang memiliki nilai IC_{50} sebesar 430,48 ppm. Kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak diklorometan tergolong lemah karena berada pada rentang 250-500 ppm [25]. Ketiga ekstrak telah terbukti

memiliki aktivitas antioksidan, namun yang paling baik dalam meredam radikal bebas adalah ekstrak etil asetat bawang lanang.

Aktivitas antioksidan pada ekstrak etil asetat paling baik karena sampel diekstraksi dengan cara maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat adalah maserasi dengan tiga pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda yaitu non-polar, semipolar, dan polar [28]. Hal ini mengakibatkan terjadinya kontak antara sampel dengan etil asetat terlebih dahulu sebelum dengan etanol, sehingga senyawa yang bersifat polar kemungkinan telah terekstrak pada etil asetat karena bersifat semipolar (mampu mengekstrak senyawa polar maupun non-polar) [29]. Aktivitas antioksidan pada ekstrak diklorometan dapat disebabkan karena adanya senyawa antioksidan yang bersifat non-polar seperti tokoferol. Tokoferol adalah senyawa antioksidan yang dapat larut dalam lemak dan merupakan pengoksidasi lemak yang paling baik [41].

Aktivitas antioksidan ini dipengaruhi oleh adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian aktivitas antioksidan bawang lanang lokal yang diperoleh dari Majalengka, Tawangmangu, Magetan, dan Malang. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat bawang lanang dari Majalengka memiliki aktivitas antioksidan secara berturut-turut 13,85 ppm dan 7,27 ppm. Sementara itu, ekstrak etanol bawang lanang lokal dari Magetan dan Tawangmangu adalah sebesar 20,216 ppm dan 13,777 ppm, serta ekstrak bawang lanang dari daerah Malang memiliki nilai IC_{50} sebesar 65,074 ppm [11] [18] [19]. Nilai IC_{50} ekstrak diklorometan, etil asetat, dan etanol 96% pada penelitian ini tidak lebih baik daripada nilai IC_{50} beberapa bawang lanang lokal dari penelitian sebelumnya. Perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti adanya perbedaan daerah tumbuh, suhu, iklim, serta pelarut yang digunakan untuk ekstraksi [20].

Penelitian tentang maserasi bertingkat dengan hasil terbaik pada ekstrak etil asetat telah dilakukan sebelumnya, namun pelarut non-polar yang digunakan adalah n-heksana. Aktivitas antioksidan daun sesewanua dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol secara berturut-turut adalah sebesar 23,737 mg/L, 13,084 mg/L, dan 17,85 mg/L [36].

Total fenolik dan flavonoid berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan ekstrak bawang lanang, dimana semakin tinggi total

fenolik dan total flavonoid maka aktivitas antioksidan semakin kuat. Hasil ini sesuai dengan penelitian Syamsu *et al.*, yang menyatakan bahwa kemampuan antioksidan dalam meredam radikal bebas akan semakin baik apabila nilai total fenolik dan flavonoid semakin tinggi [13]. Berdasarkan hasil penelitian, setiap uji yang dilakukan menunjukkan bahwa bawang lanang impor memiliki total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami. Namun hasil dari ketiga uji tersebut tidak lebih baik daripada total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bawang lanang lokal dari penelitian sebelumnya. Sehingga kemampuan bawang lanang impor dalam meredam radikal bebas juga tidak lebih baik dari bawang lanang lokal.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak diklorometan, etil asetat, dan etanol 96% bawang lanang impor memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami. Total fenolik ekstrak etanol, etil asetat, dan diklorometan secara berturut-turut adalah 13,77; 26,60; dan 6,36 mgGAE/gr ekstrak. Total flavonoid ekstrak etanol, etil asetat, dan diklorometan secara berturut-turut adalah sebesar 0,97; 2,88; 0,47 mgQE/gr ekstrak, dan pada uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, nilai IC_{50} ekstrak etanol, etil asetat, dan diklorometan adalah 339,69; 174,03; 430,48 ppm. Ekstrak dengan ketiga pelarut memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami, namun hasil uji ekstrak etanol bawang lanang impor tidak lebih baik daripada total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bawang lanang lokal.

SARAN

Bawang lanang impor memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami namun tidak lebih baik dari bawang lanang lokal. Sehingga untuk pengembangan produk antioksidan dari bawang lanang impor diperlukan substitusi bahan lain yang memiliki aktivitas antioksidan kuat agar kemampuan produk dalam meredam radikal bebas juga semakin baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Adawiyah, R., 2018. *Hubungan Perilaku Konsumsi Makanan, Minuman Instan da*

- Aktivitas Fisik dengan status Gizi Siswa/i di SMP Dharma Pancasila Medan.* Medan: Universitas Sumatera Utara.
- [2] Yusnita & Nugraha, G. I., 2013. Pengaruh Pemberian Jeruk dengan Nanas pada Kadar Malondialdehid Plasma Subjek Terpapar Polusi Gas Buang Kendaraan Bermotor. *MKB*, Volume 45, pp. 91-97.
- [3] Anliza, S. & Hamtini, 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dari Daun *Alocasia Macrorrhizos* dengan Metode DPPH. *Jurnal Medikes*.
- [4] Parwata, M., 2016. *Bahan Ajar Antioksidan*. Bali: Kimia Terapan, Pascasarjana, Universitas Udayana.
- [5] Sayuti, K. & Yenrina, R., 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- [6] Berawi, K. N. & Agverianti, T., 2017. Efek Aktivitas Fisik pada Proses Pembentukan Radikal Bebas sebagai Faktor Risiko Ateroklerosis. *Majority*, Volume 6, pp. 85-90.
- [7] Prawitasari, D. S., 2019. Diabetes Melitus dan Antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, Volume 1, pp. 48-52.
- [8] Fasya, A. & Assidiqy, H. P., 2020. Potensi Cengkeh sebagai Pencegah Kerusakan Mata Akibat Stres Oksidatif. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, Volume 2, pp. 45-54.
- [9] Zalukhu, M. L., Phyma, A. R. & Pinzon, R. T., 2016. Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Antioksidan. *CDK-245*, Volume 43.
- [10] Wibawa, J. C., Arifin, M. Z. & Herawati, L., 2020. Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif setelah Aktivitas Fisik. *Journal of Spor and Education*, pp. 57-63.
- [11] Amin, S., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Bawang Lanang terhadap Radikal Bebas DPPH. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, pp. 124-129.
- [12] Miguel, C. R., 2017. *Phenolic Antioxidant Capacity: A Review of the State of the Art*. London: IntechOpen Limited.
- [13] Syamsu, N. et al., 2019. Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.) terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika*.
- [14] Wedhasari, A., 2014. Peran Antioksidan bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, pp. 59-68.
- [15] Kothari, D., Lee, W. & Kim, S., 2020. Allium Flavonols: Health Benefits, Molecular Targets, dan Bioavailability. *Antioxidants IX*, pp. 1-35.
- [16] Bhara, P. & et al., 2014. Comparative Analytical Study of Single Bulb and Multi Bulb Garlic (*Allium sativu* Linn). *Int. J. Ayu. Alt.Med.*, pp. 86-91.
- [17] Dewi, S. T. R., Salim, H. & Karim, D., 2020. Efek Pemberian Perasan Bawang Putih Lanang terhadap Daya Hambat Prtumbuhan *Candida* lbicans, *Streptococcus* mutans, dan *Propionibacterium*. *Media Farmasi* .
- [18] Januarti, I. B., Taufiq, H. & Sulistyaningsih, 2019. The Correlation of Total Flavonoid and Total Phenolic with Antioxidant Activity of Single Bulb Garlic (*Allium sativum*) from Tawangmangu and Magtan. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* , Volume 16, pp. 96-103.
- [19] Harianto & Hasian, T., 2019. Uji Efektivitas Sifat Hepatoprotektor Ekstrak Bawang Lanang pada Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*.

- [20] Fachriyah, E. et al., 2020. Phytochemical Test, Determination of Total Phenol, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam). *Jurnal Of Scientific and Applied Chemistry*.
- [21] Sediarmo, Saputra, E. & Efendi, K., 2018. Ekstrak Biji Petai (*Parkia Speciosa* Hassk) sebagai Hepatoprotektor Berdasarkan Kadar SGPT, SGOT dan Histologi Hati Tikus Putih Jantan yang Diinduksi CCL-4. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, Volume 10, pp. 181-189.
- [22] Permaidi, A., Sutanto & Wardatun, S., 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan secara Kolorimetri. *JOM Farmasi Unpak*.
- [23] Harborne, J., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- [24] Wirasti, 2019. Penetapan Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Petai (*Scurrula atropurpurea* Dans.) Beserta Penapisan Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, pp. 1-5.
- [25] Sari, D. P., Oktavia, I. N. & Sutoyo, S., 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang Tumbuhan Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, pp. 174-184.
- [26] Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R. & Kadullah, R., 2017. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, pp. 32-39.
- [27] Siswati, 2020. *Analisa Kadar Air dan Kadar Abu pada Simplisia Temu Giring dan Simplisia Kunyit di Balai Riset Standarisasi Industri Batam*. Batam: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- [28] Widyastuti, Maulifia, D. N. & Rohdiana, D., 2019. Karakteristik Mutu Ekstrak Teh Putih yang Dihasilkan dari Metode Maserasi Bertingkat dengan Pelarut n-heksana, Aseton 70%, dan Etanol 96%. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, pp. 293-299.
- [29] Vifta, R. L. & Advistasari, Y. D., 2018. Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, pp. 8-14.
- [30] Chezem, W. & Clay, N., 2016. Regulation of Plant Secondary Metabolism and Associated Specialized Cell Development by MYBs and bHLHs. *Phytochemistry*, pp. 26-47.
- [31] Djaafar, et al., 2012. Pengaruh Perendaman dan Perebusan terhadap Kandungan Protein, Gula, Total Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Kerandang. *Agritech*, pp. 294-300.
- [32] Safaa, Y., Ahmed, N., & Mona, A., 2014. Screening of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Food Items Cited in The Holy Quran. *EJBS*, vol. 4
- [33] Kupina S, Fields C, Roman MC & Brunelle SL, 2018. Determination of Total Phenolic Content Using the Follin-C Assay. *JAOAC Int*.
- [34] Andriani D & Murtisiwi L., 2018. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Cendikia J Pharm*, pp. 32-38.
- [35] Mukhriani, et al., 2019. Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L). *ad-Dawaa' J. Pharm*, Volume 2, pp. 95-102.

- [36] Huliselan, Runtuwene & Wengkang, 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Etil Asetat, dan N-Heksana dari Daun Sesewanua. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*, pp. 155-163.
- [37] Tensiska, Marsetio & Yudiastuti, S. O. N., 2017. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon dari Ampas Tahu. *Hasil Penelitian Universitas Padjajaran*, pp. 1-5.
- [38] Yulianthi, N.N.S., Suhendra, L., & Wrasati, P., 2017. Pengaruh Perbandingan Jenis Pelarut terhadap Kandungan Senyawa Total Fenol, Tokoferol, dan Total Karetinoid Ekstrak *Surgassym polycytum*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, pp. 1-10,
- [39] Zhafira, R., 2018. Pengaruh Lama Aging Terhadap Sifat Fisik, Sifat Kimia, dan Aktivitas Antioksidan Produk Bawang Hitam Lanang. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, pp. 34-42.
- [40] Liang, N. & Kitts, D., 2014. Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*, pp. 19180-19208.
- [41] Yosihara, D., Fujiwara, N., & Suzuki, K., 2010. Antioxidants: Benefits and Risk For Long-Term Health. *Journal Maturitas*, pp. 1-5.