

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 BAWANG PUTIH (*Allium sativum L.*)

Bawang putih merupakan tanaman yang berumbi lapis atau tersusun berlapis lapis. Bawang putih (*Allium sativum L.*) adalah tanaman musiman berumpun yang ketinggiannya sekitar 60 cm. Tanaman ini banyak ditanam di kebun pada daerah pegunungan yang kurang terpapar dari sinar matahari. Bawang putih berasal dari Asia Tengah yaitu Cina dan Jepang yang memiliki iklim subtropik. Penyebaran bawang putih pertama kali datang ke Indonesia berawal dari pedagang Cina, kemudian dibudidayakan oleh masyarakat yang ada di Indonesia. Peran bawang putih sering dipergunakan sebagai bumbu penyedap masakan modern sampai sekarang belum tergantikan oleh penyedap masakan buatan lainnya yang sering ditemui di pasar tradisional yang dikemas sedemikian menariknya (Syamsiah & Tajudin, 2016).

Bawang putih (*Allium Sativum L*) salah satu tanaman yang tumbuhnya hanya ditanam pada jenis tanah gromosol (ultisol), teksturnya berlempung pasir (gembur) dan draniase baik dengan kedalaman air tanah 50cm-150cm dari permukaan tanah. Bawang putih merupakan salah satu tanaman tertua dari semua tanaman budidaya. Sering digunakan sebagai obat tradisional selama lebih dari 4000 tahun, dan merupakan sejenis tanaman obat yang paling banyak diteliti. Bawang putih termasuk tanaman rempah yang memiliki harga ekonomi yang tinggi karena mempunyai bermacam-macam khasiat. Tidak hanya di dapur bawang putih juga berperan sebagai TOGA (Tanaman Obat Keluarga) (Ryan et al., 2013).

Tidak hanya sebagai bumbu masak, bawang putih dipercaya sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Secara tradisional, bangsa-bangsa di dunia sudah banyak memakai bawang putih dalam berbagai ragam ramuan obat. Penggunaannya sebagian besar masih bersifat empiris, artinya digunakan secara turun temurun (Ryan et al., 2013).



Gambar 2. 1 Bawang Putih

2.1.1 Klasifikasi bawang putih (*Allium Sativum L*)

Menurut, (Ariana, 2016b) tanaman bawang putih dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

| | |
|--------------|---------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Super Divisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Liliopsida |
| Sub Kelas | : Liliidae |
| Ordo | : Liliales |
| Famili | : Liliaceae |
| Genus | : Allium |
| Spesies | : Allium sativum L. |

2.1.2 Morfologi Tumbuhan

Bawang putih memiliki akar perdu (terna) berumbi lapis atau siung yang bersusun, mempunyai batang semu yang terbentuk dari pelepah daun dan termasuk dalam genus Allium. Akar bawang putih terdiri atas serabut-serabut kecil, setiap umbi bawang putih terdiri dari sejumlah anak bawang (siung) yang setiap siungnya terbungkus kulit tipis berwarna putih. Bawang putih merupakan tumbuhan yang tumbuh di daerah dataran tinggi tetapi di Indonesia jenis ini juga dibudidayakan di dataran rendah. Bawang putih berkembang baik pada ketinggian tanah berkisar 200-250 meter di atas permukaan laut. Bawang putih termasuk klasifikasi tumbuhan berumbi lapis atau siung yang bersusun. Bawang putih tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak hingga mencapai tinggi 30-75

cm, memiliki batang semu yang terbentuk dari pelepah-pelepah daun (Ryan et al., 2013).

Helaian daunnya mirip pita, berupa pipih dan memanjang. Akar bawang putih terdiri dari serabut-serabut kecil yang berjumlah banyak. Setiap umbi bawang putih terdiri dari beberapa anak bawang (siung) yang setiap siungnya terbungkus kulit tipis berwarna putih. Bawang putih yang awalnya tumbuh pada daerah dataran tinggi. sekarang di Indonesia, jenis tertentu dikembang biakan di dataran rendah. Bawang putih berkembang baik pada ketinggian tanah berkisar 200-250 meter di atas permukaan laut. Menurut karakter bawang putih sebagai berikut :

1. Bawang putih termasuk umbi majemuk dengan kebanyakan bentuknya hampir bulat dan berdiameter sekitar 4 - 6 cm.
2. Memiliki warna putih, tersusun dari beberapa siung (8-20 siung), keseluruhannya terbungkus hingga 3-5 selaput tipis berwarna putih.
3. Tiap siungnya terbungkus pula dalam selaput tipis, selaput luar hampir berwarna putih dan agak pudar, sedangkan selaput dalam membungkus ketat-melekat pada bagian luar daging siung, berwarna merah muda yang mudah dipisahkan atau dikupas.

2.1.3 Manfaat Bawang Putih

Bawang putih (*Allium sativum* L.) mempunyai banyak manfaat dalam bidang kesehatan, seperti menyembuhkan bermacam penyakit seperti hipertensi, hiperkolesterolemia, diabetes, rheumatid arthritis, demam dan sebagai obat mengatasi terjadinya aterosklerosis dan untuk menghambat pertumbuhan tumor. Bawang putih ini juga mempunyai potensi aktivitas farmakologi yaitu antibakteri, antitrombotik, dan antihipertensi (TEMA, 2018).

Kandungan kimia bawang putih per 100 gr yaitu protein 4,5 gram, lemak 0,20 gram, hidrat arang 23,10 gram, vitamin B1 0,22 mg, vitamin C 15 mg, kalori 95 kalori, posfor 134 mg, kalsium 49 mg dan besi 1 mg. Beberapa penelitian bawang putih juga mengandung zat aktif allicin, enzim alinase, germanium (dapat mengatasi rusaknya sel darah merah), sativine (mempercepat pertumbuhan sel dan jaringan juga dapat merangsang susunan sel saraf), selenium (mikromineral juga penting untuk antioksidan), skordinin (antioksidan). kandungan bawang putih bermanfaat sebagai bakterisida, dan fungisida juga dapat menghambat pertumbuhan jamur maupun mikroba lainnya (Ryan et al., 2013).

Tanaman bawang putih juga bermanfaat sebagai zat aktif pertama yaitu allicin yang menghasilkan bau khas bawang putih (aroma) yang dihasilkan pada

saat senyawa sulfur dan allicin bereaksi dengan enzim alinase. *Allicin* merupakan zat aktif yang berfungsi untuk membunuh bakteri penyakit (bersifat antibakteri). berperan ganda untuk membunuh bakteri, seperti bakteri gram positif ataupun gram negatif karena memiliki gugus asam amino para amino benzoate.

Adapun kandungan sulfur lainnya diantaranya *alliiri*, *ajoene*, *allylpropyl disulfide*, *diallyl trisulfide*, *sallylcysteine*, *vinylidithinnes*, dan lainnya. Tidak hanya itu saja bawang putih juga memiliki kandungan enzim-enzim seperti : *allinase*, *peroxides*, *mirosinase* dan lain-lain. Walaupun bawang putih juga terlihat sederhana, akan tetapi terkandung berbagai macam zat kimia yang berkomposisi sedemikian rupa serta memiliki manfaat yang baik untuk semua orang (Ryan et al., 2013).

2.1.4 Kandungan Bawang Putih

Menurut (TEMA, 2018), Komposisi kimia yang terdapat dalam 100 gram bawang putih (*Allium sativum L.*) ditunjukkan pada tabel dibawah ini :

Tabel 2. 1 Kandungan Bawang Putih

| Mineral | Jumlah (mg/100g) | Vitamin | Jumlah (mg/100g) |
|---------------|------------------|-----------------|------------------|
| Sodium (Na) | 17 | Vitamin A | 9 |
| Calcium (Ca) | 181 | Vitamin E | 0,08 |
| Potassium (K) | 401 | Vitamin K | 1,7 |
| Fosfor (P) | 153 | Piridoksin (B6) | 1,235 |
| Tembaga (Cu) | 0,29 | Asam askorbat | 31,2 |
| Besi (Fe) | 9 | | |
| Mangan (Mn) | 9 | | |
| Zinc (Zn) | 1,7 | | |
| | 1,67 | | |
| | 2 | | |
| | 1,16 | | |

(USDA,2010)

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu simplisia hewani, simplisia nabati, dan simplisia pelikan (mineral) (Ani et al., 2021).

a. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang dapat berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni, misalnya minyak ikan dan madu.

b. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman.

c. Simplisia pelikan (Mineral)

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni, contoh serbuk seng dan serbuk tembaga.

2.2.1 Pembuatan Simplisia

Tahapan dalam pembuatan simplisia ada 7 yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu (TEMA, 2018).(nel arianty, 2014)

a) Pengumpulan bahan baku

Waktu panen berkaitan dengan pembentukan senyawa aktif dalam tanaman yang akan di panen. Waktu panen yang baik adalah saat tanaman mengandung senyawa aktif yang besar. Senyawa aktif tanaman akan terbentuk dalam bagian tanaman atau pada waktu tertentu. Kadar senyawa aktif pada bagian tanaman tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman saat panen, waktu panen, lingkungan tempat tumbuh.

b) Sortasi basah

Sortasi basah adalah pemisahan atau pemilahan kotoran atau benda asing dari tanaman segar. Misalnya pada bagian akar tanaman terdapat bahan-bahan asing seperti tanah, serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan bagian tanaman dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba.

c) Pencucian

Pencucian dilakukan untuk membersihkan tanaman yang akan dibuat simplisia seperti tanah atau kotoran lainnya yang melekat pada simplisia. Proses pencucian dilakukan menggunakan air bersih seperti air dari mata air, air sumur atau air PAM. Tanaman yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air yang mengalir, pencucian harus dilakukan dalam waktu sesingkat mungkin.

Proses sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah awal mikroba dalam simplisia.

d) Perajangan

Tujuan dalam perajangan bahan simplisia adalah untuk mempermudah dalam proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Sebelum bahan simplisia dirajang, sebaiknya jangan langsung dirajang tetapi dijemur terlebih dahulu selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Apabila irisan terlalu tipis dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang dari tanaman.

e) Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mengurangi jumlah kadar air dalam tanaman untuk mencegah terjadinya kerusakan, penurunan mutu simplisia, dan agar simplisia dapat disimpan dalam waktu lama. Pengeringan simplisia dapat menggunakan alat pengering simplisia. Hal yang dapat diperhatikan saat proses pengeringan seperti suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

f) Sortasi kering

Sebelum simplisia dilakukan penyimpanan dan pemeriksaan mutu maka simplisia harus dilakukan proses sortasi kering. Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda - benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan zat pengotor lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses sortasi kering dapat dilakukan dengan atau secara mekanik.

g) Penyimpanan

Tujuan dari penyimpanan adalah untuk menghindari kerusakan simplisia karena ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan simplisia rusak seperti cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang. Penyebab utama terjadinya kerusakan pada simplisia disebabkan oleh air dan kelembaban. Kerusakan simplisia dapat menurunkan mutu sehingga tidak sesuai dengan syarat simplisia. Dalam penyimpanan harus diperhatikan dalam hal yaitu cara pengepakan, pembungkusan dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya.

h) Pemeriksaan mutu

Simplisia yang diperoleh harus dalam bentuk simplisia murni dan memenuhi persyaratan yang ada dibuku farmakope Indonesia, ekstra farmakope Indonesia ataupun Materia Medika Indonesia edisi terakhir. Simplisia dikatakan bermutu jika persyaratannya masuk dalam buku - buku tersebut. Proses pemeriksaan mutu meliputi cara organoleptik, makroskopik dan atau cara kimia.

2.3 Ekstrak dengan Pelarut Etanol

Ekstrak merupakan larutan pekat yang diambil dengan cara mengekstrak kandungan aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang telah disesuaikan, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa dipergunakan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ryan et al., 2013).

Ekstraksi merupakan suatu proses memisahkan kandungan senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Sehingga diketahui senyawa aktif yang terkandung di simplisia dapat mempermudah dalam memilih pelarut dan cara ekstraksi yang tepat dan benar (nel arianty, 2014).

Etanol merupakan pelarut golongan alkohol yang paling sering dipakai untuk proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan semua senyawa metabolit sekunder, karena etanol memiliki gugus alkil yang bersifat non polar. Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut karena etanol lebih selektif, tidak gampang ditumbuhi kapang dan jamur tidak beracun, netral dan absorbabsinya baik. Etanol dapat bercampur dengan semua perbandingan panas yang diperlukan untuk perekatan yang lebih sedikit (Ryan et al., 2013).

Etanol disebut juga dengan etil alkohol atau lebih dikenal dengan alkohol yang merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Pada kondisi ruangan, etanol merupakan cairan yang mudah menguap, mudah terbakar dan tidak berwarna. Etanol sering digunakan untuk mengekstraksi bahan aktif yang bersifat antioksidan, antibakteri dan antijamur. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut etanol lebih baik dari pada air, metanol ataupun pelarut lainnya dalam mengekstraksi senyawa antioksidan atau antibakteri.

Menurut (Ariana, 2016a), ada beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan antara lain yaitu:

2.3.1 Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah penyarian dengan cara yang sederhana yang merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (pelarut). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan alat perkolator dengan pelarut baru sampai penyarian selesai, biasanya pada suhu kamar. Proses perkolasi terdiri dari fase pengembangan bahan, fase maserasi antara fase perkolasi yang sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) hingga diperoleh perkolat.

2.3.2 Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah proses penyarian simplisia pada suhu titik didihnya menggunakan alat dengan pendingin balik dalam waktu tertentu dimana pelarut akan terkondensasi menuju pendingin dan kembali ke labu.

b. Digesti

Digesti adalah proses penyarian dengan pengadukan kontinu pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

c. Sokletasi

Sokletasi adalah proses penyarian menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan dengan menggunakan alat khusus (soklet) dimana pelarut akan terkondensasi dari labu menuju pendingin, kemudian jatuh membasahi sampel.

d. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 15 menit.

e. Dekotasi

Dekotasi adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit.

2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan juga berguna untuk mencegah oksidasi komponen makanan yang mengandung senyawa tidak jenuh

(mempunyai ikatan rangkap) misalnya minyak dan lemak. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan kerja fungsi sistem imunitas tubuh, terutama untuk menjaga integritas dan berfungsinya membran lipid, protein sel, dan asam nukleat serta mengontrol transduksi sinyal dan ekspresi gen dalam sel imun.

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, dan menahan pembentukan oksigen reaktif atau radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan elektron dengan mengikat sel-sel tubuh. Apabila hal tersebut terjadi secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Antioksidan ditujukan untuk mencegah dan mengobati penyakit seperti aterosklerosis, stroke, diabetes, alzheimer, dan kanker (Aditya & Ariyanti, 2016).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini serta penyakit degeneratif lainnya.

Persyaratan (sesuai peraturan undang-undang) : Antioksidan sebagai bahan tambahan pangan batas maksimum penggunaannya telah diatur oleh Peraturan Menteri kesehatan RI Nomor 772/Menkes/Per/IX/88 tertulis dalam lampiran I, antioksidan yang diizinkan penggunaannya antara lain asam askorbat, asam eritrobat, askorbil palmitat, askorbil stearat, butil hidroksilanisol (BHA), butil hidrokinin tersier, butil hidroksitoluen, dilauril tioldipropionat, propil gallat, timah (II) klorida, alpha tokoferol, tokoferol, campuran pekat.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia). Sedangkan berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier.

Antioksidan primer disebut juga sebagai antioksidan enzimatis. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase. Enzim-enzim ini menghambat pembentukan radikal bebas dengan

cara memutus reaksi berantai (polimerisasi), dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan kelompok ini disebut juga chain-breaking antioxidant.

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non enzimatis. Cara kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen seluler. Contoh antioksidan sekunder ialah vitamin E, vitamin C, flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin.

Antioksidan tersier contohnya enzim DNA-repair dan metionin sulfoksida reduktase yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang dirusak oleh radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya single dan double stand, baik gugus basa maupun non-basa. Perbaikan kerusakan basa dalam DNA yang diinduksi senyawa oksigen reaktif terjadi melalui perbaikan jalur eksisi basa. Pada umumnya, eksisi basa terjadi dengan cara memusnahkan basa yang rusak, yang dilakukan oleh DNA glikosilase.

2.5 Uji Efek Antioksidan

a. Uji DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat adalah radikal bebas stabil dengan warna ungu gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk nonradikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Cahyani, 2017).

Metode DPPH adalah metode yang paling sering digunakan untuk skrining aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman obat. Peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambat radikal bebas. Prosedur ini melibatkan pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya yang sebanding terhadap konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan ke larutan reagen

DPPH. Aktivitas tersebut dinyatakan sebagai konsentrasi efektif (effective concentration), EC_{50} atau inhibitory concentration, IC_{50} .

Nilai IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%. Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi ($Y=AX+B$) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % perendaman (antioksidan) sebagai koordinatnya (sumbu Y). Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/ml}$, kuat untuk IC_{50} bernilai 50-100 $\mu\text{g/ml}$, sedang jika IC_{50} bernilai 100-150 $\mu\text{g/ml}$ dan lemah jika IC_{50} bernilai 151-200 $\mu\text{g/ml}$.

Parameter penentuan potensi aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dinyatakan dengan parameter IC_{50} yaitu konsentrasi uji yang menyebabkan peredaman radikal bebas sebesar 50%. Kategori kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 2.5.

Tabel 2. 5 Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan

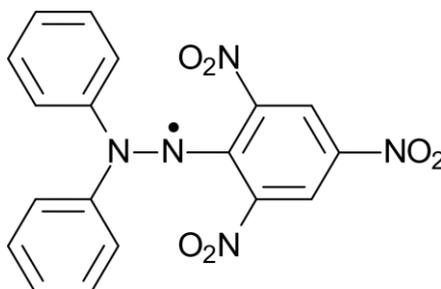
| No | Kategori | Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) |
|----|-------------|----------------------------------|
| 1. | Sangat Kuat | <50 |
| 2. | Kuat | 50-100 |
| 3. | Sedang | 101-150 |
| 4. | Lemah | 151-200 |

2.6 Penentuan Efek Antioksidan dengan Metode DPPH

Salah satu uji yang dapat dilakukan untuk menentukan potensi antioksidan suatu senyawa adalah dengan menguji kemampuannya dalam meredam senyawa radikal DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam (Cahyani, 2017).

DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan radikal bebas dari DPPH dan membentuk reduksi DPPH. Warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 516 nm akan

hilang jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan. Perubahan inidapat diukur sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat reduktor. Suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan.



Gambar 2. 2 Struktur DPPH

Lama pengukuran metode DPPH menurut beberapa literatur yang direkomendasikan adalah selama 60 menit, tetapi dalam beberapa penelitian waktu yang digunakan sangat bervariasi yaitu 5 menit, 10 menit, 20 menit, 30 menit dan 60 menit. Kenyataannya waktu reaksi yang benar adalah ketika reaksi sudah mencapai kesetimbangan. Kecepatan reaksi dipengaruhi oleh sifat dari aktivitas antioksidan yang terdapat di dalam sampel. Cara ini biasanya dilakukan jika digunakan pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Kestabilan senyawa

produk diketahui dengan mengamati absorbansi mulai dari saat direaksikan hingga tercapai serapan yang stabil.

Panjang gelombang maksimum (λ maks) yang digunakan dalam pengukuran uji sampel uji sangat bervariasi. Menurut beberapa literatur panjang gelombang maksimum untuk DPPH antara 515-520 nm. Pada prakteknya hasil pengukuran yang memberikan puncak maksimum itulah panjang gelombangnya yaitu sekitar panjang gelombang yang disebutkan diatas. Nilai absorbansi yang mutlak tidaklah penting, karena panjang gelombang dapat diatur untuk memberikan absorbansi maksimum sesuai dengan alat yang digunakan. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi linier, sehingga memenuhi hukum Lambert-beer.

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer Ultraviolet-Visibel (UV-Vis) merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190nm-380nm) dan sinar tampak (380nm-780nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri serapan merupakan metode pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang diserap zat. Spektrofotometri yang sering digunakan untuk mengukur serapan larutan atau zat yang diperiksa adalah spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang antara 200-400 nm dan visible (cahaya tampak) dengan panjang gelombang antara 400-800 nm (Cahyani, 2017).

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer paling baik jika berada antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan.

Tahapan-tahapan dalam penggunaan spektrofotometer adalah:

a. Pemilihan pelarut

Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem terkonjugasi pada struktur molekulnya atau tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang diukur dan mempunyai kemurnian yang tinggi.

b. Pemilihan panjang gelombang

Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari satu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

c. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antar absorbansi (y) dengan konsentrasi (x).

d. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

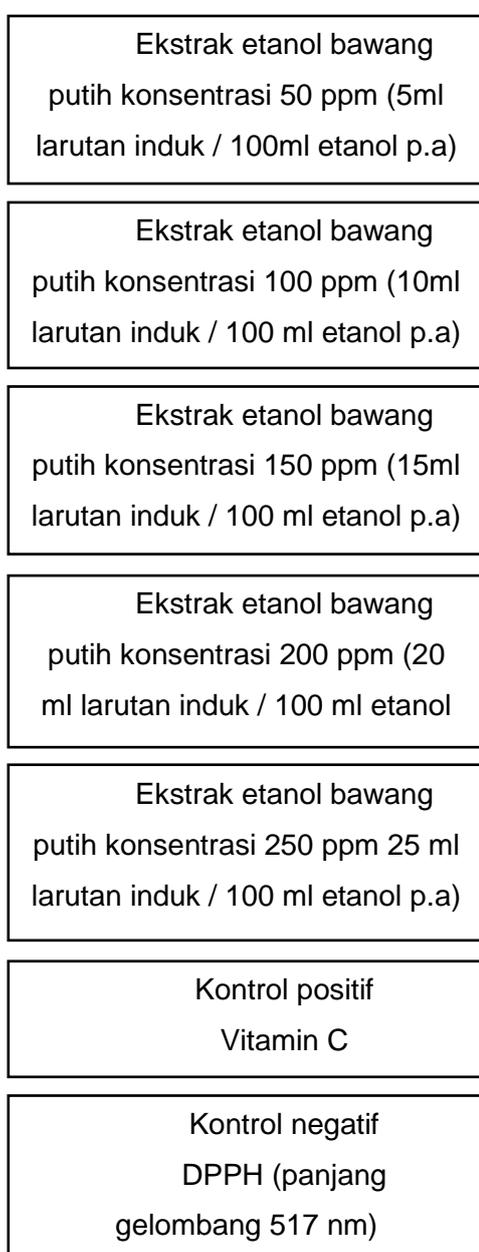
Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer paling baik jika berada antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan.

e. Waktu operasional (Operating Time)

Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Pada saat awal terjadi reaksi, absorbansi senyawa yang berwarna ini meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa yang berwarna tersebut menjadi rusak sehingga intensitas warnanya turun akibat absorbansinya juga turun.

2.8 Kerangka Konsep

VARIABEL BEBAS



VARIABEL TERIKAT

Menentukan Nilai Absorbansi yaitu (0,2 – 0,8)



*Inhibitor
Concentration
50 % (IC₅₀)*

Gambar 2. 3 Kerangka Konsep

2.9 Definisi Operasional

- a) Ekstrak etanol bawang putih adalah bawang putih yang sudah diambil dan dicuci bersih lalu dibuat simplisia dan diekstrak dengan metode maserasi memperoleh ekstrak etanol bawang putih dan dibuat variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm.
- b) Inhibitor concentration 50% (IC_{50}) adalah IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/ml}$) yang memberikan perendaman DPPH sebesar 50%.

2.10 Hipotesis

Ekstrak etanol bawang putih mempunyai efek Antioksidan pada konsentrasi tertentu yang dengan mengukur DPPH dengan $IC_{50} < 50\%$.