

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) DENGAN
METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI



**Oleh :
Muhammad Apriyandi
NIM. 18040063**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) DENGAN
METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S. Farm)



Oleh :
Muhammad Apriyandi
NIM. 18040063

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Penelitian Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember

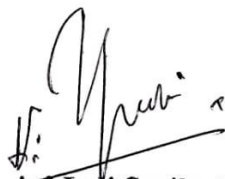
Jember, 28 September 2022

Pembimbing Utama



apt. Sholihati Hidayati, M. Farm.
NIDN. 0509088601

Pembimbing Anggota



Arief Judi Susilo, M. Kes.
NIK. 196512179890031001

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah (*Allium Cepa* Var. *Aggregatum* L.) Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu
Tanggal : 28 September 2022
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi

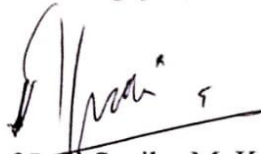
Universitas dr. Soebandi

Ketua Penguji,



apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm
NIK. 19890603 201805 2 148

Penguji I,



Arief Judi Susilo, M. Kes.
NIK. 196512179890031001

Penguji II,



apt. Sholihati Hidayati, M. Farm.
NIDN. 0509088601

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



Ns. Hella Mely Tursina, S.Kep., M.Kep
NIDN. 0706109104

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Apriyandi

NIM : 18040063

Program Studi : Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 28 September 2022

Yang menyatakan



(Muhammad Apriyandi)

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN
BAWANG MERAH (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) DENGAN
METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)**

Oleh:

Muhammad Apriyandi

NIM. 18040063

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Sholihati Hidayati, M. Farm

Dosen pembimbing Anggota : Arief Judi Susilo, M. Kes

PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur yang mendalam telah diselesaikannya Skripsi ini. Skripsi ini dengan penuh hati saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan karunianya, serta kepada junjungan nabi besar Muhammad SAW yang selalu menginspirasi penulis.
2. Orang tua saya yang telah melahirkan saya sampai di jenjang sekarang ini dan telah memberi dukungan, membimbing dan memberi kasih sayang sepenuh hati. Sehingga membuat segalanya terselesaikan dengan baik dan saya bisa sampai tahap dimana skripsi ini selesai.
3. apt. Sholihati Hidayati, M. Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama, Arief Judi Susilo, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota, apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm selaku Dosen Penguji, yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.
4. Kepada segenap Ibu dan Bapak Dosen Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman selama perkuliahan.
5. Victor agus sanjaya, Sendi Oktavian Sari, Ana Shella dan Evita Diah P menjadi sahabat dan penyemangat selama dalam perkuliahan ini.
6. Kepada teman seperjuangan dalam mengerjakan penelitian skripsi, Aldi Guswanto, Fajar Alif Kurnia Bahari, Daffa firisnanda. Yang mampu menjadi tim baik untuk saya

7. Kepada rekan tim selaku partner satu dosen pembimbing dan membantu dalam proses penyusunan skripsi
8. Kepada teman-teman farmasi, perawat dan semua teman yang terlibat secara langsung atau tidak langsung
9. Teman kuliah satu angkatan terutama kelas 18B Farmasi terimakasih untuk perjuangan yang telah kita lewati bersama dan sukses untuk kita semua.
10. Kepada rekan kerja Apotek Johar Medika Ahmad Yani yang tidak biasa saya sebutkan satu persatu.

MOTTO

Jika mereka bertanya padaku apakah aku menyesal, jawabanku adalah tidak.
Berhasil ataupun gagal, aku bangga hidup di atas keputusan yang kubuat sendiri

#Fiersa Besari#

By experiencing victory and defeat, running away and shedding tears, a man will
become a man. It's okay to cry. But you have to move on

#Shankes#

Bermimpi itu perlu, memulai juga perlu, dan yang kamu pikirkan sekarang semua itu
perlu di lakukan. Apapun yang di inginkan jangan pernah mengeluh dan jadilah
orang baik, meskipun tak diperlakukan baik oleh orang lain, tetapi baik belum tentu
ikhlas menerima orang lain yang seenaknya sendiri

#Muhammad Apriyandi#

ABSTRAK

Apriyandi, Muhammad*, Hidayati, Sholihati**, Susilo, arief J***. 2022
uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Skripsi, Program Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Dr. Soebandi Jember.

Latar Belakang: Tumbuhan bawang merah adalah sejenis tumbuhan semusim, yang memiliki umbi berlapis, berakar serabut, dengan 3 daun berbentuk silinder berongga. bawang merah mengandung senyawa - senyawa yang dipercaya berkhasiat sebagai antiinflamasi dan antioksidan seperti kuersetin yang bertindak sebagai agen untuk mencegah sel kanker. Kandungan lain dari bawang merah diantaranya protein, mineral, sulfur, antosianin, kaemferol, karbohidrat, dan serat. **Metode:** Desain penelitian pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bawang merah merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode DPPH dengan perbandingan kuersetin. Parameter yang digunakan dalam metode ini adalah nilai IC₅₀ yang ditentukan dari persamaan regresi linier antara konsentrasi dengan % inhibisi. **Hasil Penelitian:** kuersetin dan ekstrak dengan tiga kali replikasi menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 20,986 dan nilai RSD=1,369. **Analisis Data:** Menggunakan uji (*Shapiro-Wilk*) dengan aplikasi SPSS, pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan dengan hasil sig adalah 0,036 > 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa antara data kuersetin dan ekstrak berdistribusi normal dan independen sampel test nilai sig. sebesar 0,000 < 0,05 maka untuk H₀ ditolak dan untuk H₁ diterima **Kesimpulan:** Nilai aktivitas antioksidan untuk pembanding kuersetin ditunjukkan dengan nilai sebesar 160,553 dan nilai RSD=21,932 yang termasuk dalam kategori lemah. Maka dapat dilakukan penelitian lanjutan

Kata Kunci : *Allium cepa* L, Antioksidan, kuersetin, DPPH, IC₅₀

*peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2.

ABSTRACT

Apriyandi, Muhammad*, Hidayati, Sholihati**, Susilo, arief J***. 2022 ***Antioxidant Activity Test of Shallot Ethanol Extract (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) Using DPPH Method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil).*** Thesis, Undergraduate Program in Pharmacy, Faculty of Health, University Dr. Soebandi Jember.

Background: The onion plant is a kind of annual plant, which has layered tubers, fibrous roots, with 3 hollow cylindrical leaves. Shallots contain compounds that are believed to have anti-inflammatory and antioxidant properties such as quercetin which acts as an agent to prevent cancer cells. Other content of shallots include protein, minerals, sulfur, anthocyanins, kaempferol, carbohydrates, and fiber. **Methods:** The research design on the antioxidant activity test of the ethanol extract of shallots is a laboratory experimental study using the DPPH method with a ratio of quercetin. The parameter used in this method is the IC_{50} which is determined from the linear regression equation between concentration and % inhibition. **Result:** Quercetin and extract with three replications showed antioxidant activity in very strong category with IC_{50} value of 20.986 and RSD value = 1.369. **Data Analysis:** Using the (Shapiro-Wilk) test with SPSS application, the antioxidant activity test carried out with sig results was $0.036 > 0.05$, it can be concluded that the quercetin and extract data were normally distributed and independent of the sig value test sample. of $0.000 < 0.05$ then for H_0 is rejected and for H_1 is accepted **Conclusion:** The value of antioxidant activity for the comparison of quercetin is indicated by a value of 160.553 and the value of RSD = 21,932 which is included in the weak category. So, further research can be done

Keywords : *Allium cepa* L, Antioxidant, quercetin, DPPH, IC_{50}

*researcher

**Advisor 1

***Advisor 2.

KATA PENGANTAR

Allhamdulillah segala Puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan. Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Studi Farmasi STIKES dr. Soebandi dengan judul “Uji Aktivitas antioksidan daun bawang merah dengan metode DPPH”

Selama proses penyusunan Tugas Akhir ini penulisan dibimbing dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulisan mengucapkan terimakasih Kepada :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi Jember
2. Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
4. apt. Sholihati Hidayati, M. Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama
5. Arief Judi Susilo, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota
6. apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm selaku Dosen Penguji
7. Segenap dosen pendidik semua mata kuliah di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.
8. Kedua orang tuaku tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, dukungan dan doanya selama ini senantiasa mendampingi, memberikan motivasi dan dukungan dalam penyelesaian proposal skripsi ini.

9. Kepada semua pihak yang berjasa, serta pihak-pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan proposal skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan hidayahnya kepada kita dan semoga semua perbuatan kita mendapat ridho-Nya, semoga proposal skripsi ini dapat menambah pengetahuan dan manfaat bagi perkembangan ilmu kefarmasian

Dalam penyusunan tugas akhir ini penulis menyadari masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember 28 September 2022

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iii
SKRIPSI.....	iv
PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Keaslian Penelitian	5
BAB 2 TINJUAN PUSTAKA	7

2.1	Tanaman Daun Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>aggregatum</i> L.)	7
2.2.1	Klasifikasi Tanaman.....	7
2.2.2	Morfologi	8
2.2.3	Kandungan Kimia	10
2.2.4	Kandungan gizi dan Manfaat	11
2.2.5	Radikal Bebas.....	11
2.2	Antioksidan	13
2.2.6	Pengertian Antioksidan	13
2.2.7	Jenis-jenis Antioksidan	14
2.2.8	Mekanisme Kerja	18
2.3	Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH	19
2.4	Metode Ekstraksi.....	20
2.4.1	Jenis Metode Ekstraksi.....	21
2.4.2	Pelarut	25
2.5	Instrumen Spektrometer UV-VIS.....	25
2.5.1	Sumber Radiasi	26
2.5.2	Monokromator	26
2.5.3	Sel atau Kuvet	26
2.5.4	Fotosel.....	27
2.5.5	Display	27
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....		32
3.1	Kerangka Konsep	32
3.2	Hipotesis.....	33
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		34
4.1	Desain Penelitian.....	34
4.2	Populasi	34
4.3	Sampel.....	34
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	34
4.5	Variabel Penelitian	34
4.5.1	Variabel Bebas	34

4.5.2	Variabel Terikat	35
4.5.3	Variabel Terkendali.....	35
4.6	Definisi Oprasional.....	35
4.7	Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data	36
4.7.1	Alat dan Bahan.....	36
4.7.2	Determinasi Tanaman	37
4.7.3	Pembuatan Ekstrak daun Bawang Merah	37
4.7.4	Uji Fitokimia.....	37
4.7.5	Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	38
4.8	Analisis Data	41
4.9	SOP metode DPPH (<i>Diphenyl picryl hydrazine</i>)	41
4.10	Kerangka Operasional	43
BAB 5 HASIL PENELITIAN		44
5.1	Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>aggregatum</i> L)	44
5.1.1	Hasil Determinasi Tanaman.....	44
5.1.2	Pengambilan dan Pengolahan Sampel	44
5.1.3	Hasil Ekstraksi Daun Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>aggregatum</i> L.)	44
5.1.4	Skrinning Fitokimia	45
5.2	Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi (IC ₅₀) Kuersetin.....	46
5.2.1	Optimasi Panjang Gelombang.....	46
5.2.2	Optimasi Waktu Inkubasi.....	46
5.2.3	Pengukuran %Inhibisi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Dun Bawang Merah	47
5.2.4	Hasil Analisis Nilai IC ₅₀ Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah	48
BAB 6 PEMBAHASAN PENELITIAN.....		49
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		54
7.1.	Kesimpulan.....	54
7.2.	Saran.....	54

DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2.1 Nilai IC ₅₀	20
Tabel 4.1 Definisi operasional	35
Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah	45
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Bawang Merah	45
Tabel 5.3 Hasil % Inhibisi Kuersetin dan Ekstrak	47
Tabel 5.4 Nilai Kuersetin dan IC50 Daun Bawang Merah	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Bawang Merah	7
Gambar 2.2 vitamin C	15
Gambar 2.3 Struktur kimia β tokoferol	16
Gambar 2.4 Struktur Flavonoid	17
Gambar 2.5 Struktur kimia polifenol	17
Gambar 2.6 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH.....	19
Gambar 2.7 Alat perkolasi	23
Gambar 2.8 Skema Alat Proses Sokletasi	24
Gambar 2.9 Skema Alat Proses Refluks	24
Gambar 2.10 cahaya pembacaan spektrofotometer	29
Gambar 2.11 Gambar cahaya pembacaan spektrofotometer	30
Gambar 4.1 Kerangka Oprasional.....	43
Gambar 5.1 Kurva Panjang Gelombang DPPH	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tumbuhan.....	58
Lampiran 2 Proses Pembuatan Ekstrak.....	59
Lampiran 3 Perhitungan Rendemen.....	61
Lampiran 4 Skrinning Fitokimia.....	62
Lampiran 5 grafik panjang gelombang	63
Lampiran 6 Hasil uji ekstrak daun bawang merah.....	64
Lampiran 7 Perhitungan Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH..	66
Lampiran 8 Perhitungan % Inhibisi Uji Antioksidan.....	68
Lampiran 9 Hasil Uji Statistik.....	76
Lampiran 10 Laporan Perkembangan Skripsi.....	77
Lampiran 11 Bukti Seminar Proposal dan Seminar Hasil	78

DAFTAR SINGKATAN

ROS : *Reactive Oxygen Spesies*

IC₅₀ : *Inhibition Concertation*

DPPH : *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*

PG : *Propyl Gallate*

DG : *Dodecyl Gallate*

TBHQ : *Butylhydroquinone Tersier*

SDO : *Superoksida Dismutase*

CAT : *katalase*

GPX : *Glutathione Peroksidase*

FRAP : *Ferric Reducing Antioxidant Power*

ABTS : *2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid*

MDA : *Malonaldehida*

TBA : *TiobarburaSS*

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif merupakan penyakit tidak menular yang berlangsung kronis seperti penyakit jantung, hipertensi, diabetes dan lainnya. Penyakit ini telah menjadi penyebab kematian terbesar di dunia, bahkan di Indonesia telah terjadi peningkatan penyakit kronis degeneratif tiap tahunnya. Kontributor utama penyebab terjadinya penyakit degeneratif adalah kebiasaan yang tidak sehat seperti merokok, mengkonsumsi minuman alkohol, pola makan yang tidak sehat, aktifitas fisik yang kurang, dan pencemaran lingkungan yang dapat merangsang timbulnya radikal bebas dan stres oksidatif yang dapat merusak tubuh (Handajani *et al*, 2010).

Radikal bebas adalah suatu atom yang memiliki satu elektron tidak berpasangan dan bersifat reaktif sehingga cenderung bereaksi terus menerus membentuk radikal yang baru. Radikal bebas sangat berbahaya bagi tubuh manusia karena dapat merusak komponen-komponen sel tubuh seperti lipid, protein, dan DNA (Oktarini *et al*, 2014). Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil dari luar maupun dalam tubuh yang secara perlahan dapat menimbulkan berbagai penyakit yang mengganggu kesehatan. Penanganan radikal bebas, dapat digunakan zat antioksidan yang dapat diperoleh baik dari tanaman maupun hewan. Antioksidan adalah senyawa yang memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan karena kemampuannya menangkap molekul radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa yang secara signifikan dapat mencegah atau menunda proses terjadinya

oksidasi senyawa lain yang mudah teroksidasi walaupun dengan konsentrasi rendah (Ardawiah *et al*, 2015).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan dalam jumlah berlebihan sehingga jika terjadi paparan radikal bebas yang berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan dari luar. Berdasarkan sumber perolehannya antioksidan dibagi menjadi 2 kelompok yaitu, antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan alami lebih banyak diamati dibandingkan dengan antioksidan sintetis, karena antioksidan sintetis dikhawatirkan memiliki efek samping sehingga antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Bulla, 2020). Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alam) dan antioksidan buatan/sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) (Prabantini, 2010). Contoh dari antioksidan alami umumnya seperti senyawa flavonoid (kuersetin, kaempferol dan apigenin), tanin (katekin dan 3 asam galat), vitamin C, vitamin E dan lain-lain (Linder, 1985). Contoh antioksidan sintetis seperti BHA (Butil Hidroksi Anisol) dan BHT (Butil Hidroksi Toluena). Didapati bahwa antioksidan sintetis (BHA dan BHT) dapat menyebabkan kerusakan pada hati dan karsinogenesis. Hal ini menyebabkan penelitian dan penggunaan antioksidan alami meningkat (Basma *et al*, 2011).

Bawang merah merupakan salah satu komoditas sayuran yang berperan penting pada masyarakat, baik dari segi ekonomi maupun kandungan gizi yang tinggi dari bawang merah. Kebutuhan bawang merah sangat dibutuhkan masyarakat

sebagai pelengkap bumbu masak dalam sehari-hari. Selain digunakan sebagai bahan tambahan masakan, bawang merah juga sebagai obat tradisional yang banyak manfaatnya seperti dapat membantu mencegah kanker. Kandungan yang terdapat pada bawang merah disebut dengan zat kuercetin yaitu zat alami yang memberikan warna merah gelap pada bawang. Menurut University of Maryland Medical Center, zat kuercetin termasuk zat antioksidan yang berperan dalam melawan efek radikal bebas berbahaya dalam tubuh yaitu kanker. Manfaat lain dari kandungan bawang merah dapat melegakan tenggorokan, menurunkan tekanan darah, dan meningkatkan imunitas.

Banyak sekali tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat, baik sebagai bahan pangan ataupun sebagai obat. Tumbuhan bawang merah adalah sejenis tumbuhan semusim, yang memiliki umbi berlapis, berakar serabut, dengan 3 daun berbentuk silinder berongga. bawang merah mengandung senyawa - senyawa yang dipercaya berkhasiat sebagai antiinflamasi dan antioksidan seperti kuersetin yang bertindak sebagai agen untuk mencegah sel kanker. Kandungan lain dari bawang merah diantaranya protein, mineral, sulfur, antosianin, kaemferol, karbohidrat, dan serat (Putra, 2015).

Metode pengambilan senyawa polifenol dari daun bawang merah dapat dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bawang merah dilakukan dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini digunakan karena pengerjaannya relatif sederhana dan tidak memerlukan biaya yang mahal. Uji DPPH juga digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*inhibition concentration*)

terhadap jenis ekstrak yang didapatkan. Efektivitas suatu sampel untuk menangkal radikal bebas dari metode DPPH dinamakan dengan IC_{50} (*inhibition concentration*) yaitu konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} (*inhibition concentration*) maka semakin besar aktivitas antioksidannya (Yanuarti *et al.* 2017).

Berdasarkan uraian tersebut untuk melengkapi informasi yang ada, maka dilakukanlah penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan fraksi etanol daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil)

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Apakah kandungan senyawa kimia di ekstrak daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) ?
2. Berapa nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) ekstrak etanol daun (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) dengan menggunakan metode DPPH ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini merupakan senyawa antiokasidan yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Bawang (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) dengan menggunakan metode DPPH

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi nilai IC_{50} pada senyawa kimia ekstrak etanol dari daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.)

2. Menganalisis IC_{50} ekstrak etanol daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) menggunakan metode DPPH

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan diadakan hasil penelitian ini diharapkan beberapa manfaat. Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Dapat mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) dengan menggunakan metode DPPH

1.4.2 Manfaat bagi peneliti lain

Sebagai sumber informasi dan referensi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan

1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Menambah pengetahuan masyarakat tentang bahan alam yang dapat digunakan alternatif lebih untuk menangkal radikal bebas.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Noer <i>et al</i> , 2020	1. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70% 2. Memakai tanaman Bawang Merah 3. Menggunakan metode uji antioksidan menggunakan	1. Memakai sampel daun Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>aggregatum</i> L.) 2. Menggunakan daun Bawang Merah yang di

	DPPH	ambil di daerah jember
Dina <i>et al</i> , 2013	1. Memakai tanaman daun Bawang merah 2. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70% 3. Menggunakan metode uji antioksidan menggunakan DPPH	1. Memakai sampel daun Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> var. <i>aggregatum</i> L.) 2. Menggunakan daun Bawang Merah yang di ambil di daerah jember

BAB 2 TINJUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Daun Bawang Merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.)

2.2.1 Klasifikasi Tanaman



Gambar 2.1 Tanaman Bawang Merah (Sumber : Apriyandi)

Bawang merah disebut juga umbi lapis dengan aroma spesifik yang dapat merangsang keluarnya air mata karena kandungan minyak eteris alliin. Batangnya berbentuk cakram dan di cakram inilah tumbuh tunas dan akar serabut. Bunga bawang merah berbentuk bongkol pada ujung tangkai panjang yang berlubang di dalamnya. Bawang merah berbunga sempurna dengan ukuran buah yang kecil berbentuk kubah dengan tiga ruangan dan tidak berdaging (Putra, 2015).

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Class : Monocotyledonae
Ordo : Liliales
Famili : Liliaceas
Genus : *Allium*
Spesies : *Allium cepa* var. *aggregatum* L.
Nama lokal : Bawang Merah

2.2.2 Morfologi

Bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) termasuk jenis tanaman semusim, berumur pendek dan berbentuk rumpun. Tinggi tanaman berkisar 15-25 cm, berbatang semu, berakar serabut pendek yang berkembang di sekitar permukaan tanah, dan perakarannya yang dangkal, sehingga bawang merah tidak tahan terhadap kekeringan. Daunnya berwarna hijau berbentuk bulat, memanjang seperti pipa, dan bagian ujungnya meruncing (Ibriani, 2012).

Adapun morfologi atau bagian dari tanaman bawang merah sebagai berikut: (Nawangsari *et al*, 2008):

a. Umbi

Umbi bawang merah merupakan umbi lapis, jika ditinjau dari asalnya merupakan hasil metamorfosis batang beserta daunnya diseyang disebut umbi lapis karena memperlihatkan susunan berlapis–lapis, yang terdiri atas daun–daun yang telah menjadi tebal, lunak, dan berdaging, yang dimana bagian umbi yang menyimpan zat–zat makanan cadangan, sedangkan batangnya hanya merupakan bagian kecil pada bagian bawah umbi lapis itu bagian–bagian dari umbi lapis adalah sebagai berikut:

1. Subang atau cakram (*discus*), bagian ini merupakan batang yang sesungguhnya, tetapi hanya kecil dengan ruas–ruas yang sangat pendek, mempunyai bentuk seperti cakram, dan kuncup–kuncup.
2. Sisik–sisik (*tubica* atau *squama*) yaitu bagian yang merupakan metamorfosis daun yang menjadi tebal, lunak, berdaging dan tempat untuk menyimpan zat–zat makanan.

3. Kuncup (*gemmae*), dapat dibedakan menjadi :

- a) Kuncup pokok (*gemma bulbil*) merupakan bagian kuncup ujung yang terdapat pada bagian atas cakram yang tumbuh ke atas yang mendukung daun serta bunga.
- b) Kuncup samping merupakan umbi lapis kecil-kecil, berkelompok disekitar umbi induknya. Bagian ini disebut suing (*bulbus*) atau anak umbi lapis.

b. Akar

Berakar serabut dengan sistem perakaran dangkal dan bercabang terpencar, pada kedalaman antara 15 – 30 cm di dalam tanah.

c. Batang

Memiliki batang sejati atau disebut "*discus*" yang berbentuk seperti cakram, tipis dan pendek sebagai tempat melekatnya akar dan mata tunas (titik tumbuh), diatas diskus terdapat batang semu yang tersusun dari pelepah – pelepah daun dan batang semu yang berada di dalam tanah berubah bentuk dan fungsi menjadi umbi lapis.

d. Daun

Berbentuk silindris kecil memanjang antara 50 – 70 cm, berlubang dan bagian ujungnya runcing, bewarna hijau muda sampai tua, dan letak daun melekat pada tangkai yang ukurannya relatif pendek.

e. Bunga

Tangkai bunga keluar dari ujung tanaman (titik tumbuh) yang panjangnya antara 30 – 90 cm, dan di ujungnya terdapat 50 – 200 kuntum bunga yang tersusun melingkar (bulat) seolah berbentuk payung. Setiap kuntum bunga terdiri atas 5 – 6 helai daun bunga yang berwarna putih, 6 benang sari berwarna hijau atau kekuning-kuningan, 1 putik dan bakal buah berbentuk hampir segitiga. Bunga bawang merupakan bunga sempurna (hermaprodite) dan dapat menyerbuk sendiri atau silang.

f. Buah dan biji

Buah berbentuk bulat dengan ujungnya tumpul membungkus biji berjumlah 2-3 butir, bentuk biji agak pipih saat muda berwarna bening atau putih setelah tua berwarna hitam. Biji bawang merah dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan tanaman secara generatif

2.2.3 Kandungan Kimia

Kandungan Senyawa kimia pada tanaman daun bawang yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tannin dan terdapat kandungan fenol (Sulistiawaty, 2015). Tanin memiliki aktifitas bakteri yang berhubungan dengan kemampuan menghambat sel mikroba, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel, sedangkan mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yang membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel bakteri (Ngajow, 2013).

Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap

sejumlah mikroorganisme. Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang memiliki bermacam-macam efek antara lain efek antioksidan, anti tumor, anti radang, anti bakteri dan anti virus. Sedangkan kandungan fenol dapat merusak dinding bakteri dengan memutuskan ikatan peptidoglikan sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh (Parubak, 2013).

2.2.4 Kandungan gizi dan Manfaat

Kandungan zat gizi dalam umbi bawang merah dapat membantu sistem peredaran darah dan sistem pencernaan tubuh. Hal ini memungkinkan organ-organ dan jaringan tubuh dapat berfungsi dengan baik (Kuswardhani, 2016). Senyawa aktif dalam umbi bawang merah turut berperan dalam menetralkan zat-zat toksik yang berbahaya, dan membantu mengeluarkannya dari dalam tubuh. Dalam hal ini, manfaat yang cukup penting dari umbi bawang merah adalah peranannya sebagai antioksidan alami, yang mampu menekan efek karsinogenik dari senyawa radikal bebas (Kuswardhani, 2016). Sebagai bahan obat tradisional, bawang merah sering digunakan secara tunggal ataupun dipadukan dengan bahan obat herbal lainnya yang memiliki fungsi saling menguatkan dan melengkapi (Kuswardhani, 2016).

2.2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh seperti pada waktu kita bernapas (hasil samping proses oksidasi atau pembakaran), pada saat terjadi infeksi. Pada saat terjadi infeksi, radikal bebas diperlukan untuk membunuh mikroorganisme penyebab infeksi. Tetapi paparan radikal bebas yang berlebihan

dapat menyebabkan kerusakan sel, dan pada akhirnya dapat menyebabkan kematian sel. Radikal bebas bersifat reaktif, dapat menyebabkan kerusakan sel, mengurangi kemampuan adaptasi sel, bahkan kematian sel sehingga menyebabkan timbulnya penyakit (Ramadhan, 2015).

Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran), protein, karbohidrat, dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas dapat pula di peroleh dari luar tubuh (eksogen) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan, berbagai bahan kimia, makanan yang dibakar (carbonated). Radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh akan merusak sel target seperti lemak, protein, karbohidrat dan DNA (Yuswantina, 2009). Sebagian penyakit mematikan dan menyebabkan kerusakan tubuh disebabkan oleh radikal bebas. Selama bertahun-tahun para ahli kimia telah mengetahui bahwa aktivitas oksidasi oleh radikal bebas dapat di kendalikan atau bahkan di cegah oleh berbagai bahan antioksidan (Mitayani, 2010).

Kerja radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan yakni zat yang dapat memperlambat dan mencegah terjadinya oksidasi molekul. Adanya senyawa antioksidan mengurangi timbulnya penyakit kronis yang disebabkan karena kerja radikal bebas dalam tubuh seperti kanker, disfungsi otak dan inflamasi yang dapat menyebabkan kematian. Tubuh dapat menghasilkan antioksidan dari metabolisme sel tubuh namun dengan meningkatnya jumlah radikal bebas, tubuh perlu didukung oleh asupan antioksidan. Hal tersebut melatarbelakangi dilakukannya penelitian sebagai upaya menemukan sumber baru antioksidan yang dapat mengimbangi peningkatan radikal bebas di dalam tubuh (Ginting *et al*, 2009).

2.2 Antioksidan

2.2.6 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi (Simanjuntak 2012). Cara kerjanya yaitu menghentikan reaksi radikal bebas dari metabolisme di dalam tubuh ataupun dari lingkungan (Meigaria, Mudianta, and Martiningsih 2016). Pada umumnya, antioksidan dibagi menjadi dua jenis yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan berbahaya bagi kesehatan karena bersifat racun jika dikonsumsi dengan konsentrasi yang berlebih. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan alami yang cenderung tidak memiliki efek samping dan bermanfaat bagi kesehatan (Sarastani, 2002).

Senyawa antioksidan saat ini semakin banyak penggunaannya seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat berbagai jenis penyakit degeneratif seperti stroke, diabetes mellitus, penyakit jantung, *arterosclerosis*, kanker, serta gejala penuaan. Masalah-masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu penyebab penyakit-penyakit tersebut (Salamah, 2014). Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas dapat menginduksi penyakit kanker, dan aterosklerosis.

2.2.7 Jenis-jenis Antioksidan

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari 3 golongan yaitu : (Anonim, 2012)

1. Antioksidan Primer yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut adalah transferin, feritin, albumin.
2. Antioksidan Sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Superoxide Dismutase (SOD), Glutathion Peroxidase (GPx) dan katalase.
3. Antioksidan Tersier atau repair enzyme yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, Metionin sulfosida reduktase, *DNA repair enzymes*, *protease*, *transferase* dan *lipase*.

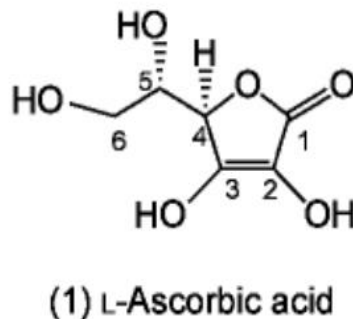
Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia di kelompokkan menjadi tiga yaitu :

1. Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan (enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutathion Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT).

2. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ). 17
3. Antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin C, vitamin E, senyawa fenolik (flavonoid) dan polifenol

1. Vitamin C

Asam askorbat atau vitamin C adalah antioksidan monosakarida yang ditemukan pada tumbuhan. Asam askorbat adalah komponen yang dapat mengurangi dan menetralkan oksigen reaktif, seperti hidrogen peroksida Antioksidan dan Pencegahan Kanker (Ortega, 2006).

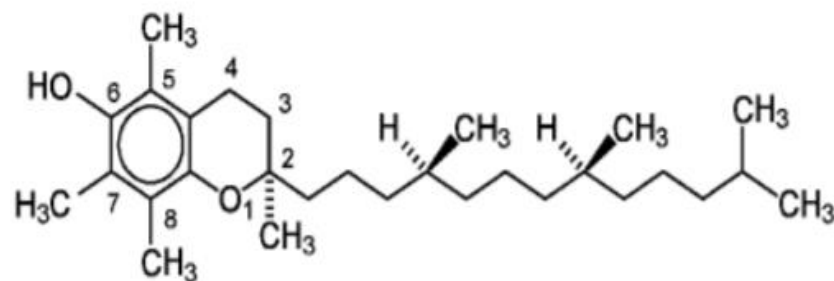


Gambar 2.2 vitamin C (Ortega, 2006).

2. Vitamin E

Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan memiliki sifat antioksidan, diantara vitamin E, yang paling banyak dipelajari adalah β tokoferol karena memiliki ketersediaan hayati yang tinggi (Herrera dan Barbas, 2001).

Tokoferol dapat melindungi membran sel dari oksidasi oleh radikal bebas pada reaksi rantai peroksidasi lipid. Tokoferol dapat menghambat radikal bebas dan mencegah tahap reaksi propagasi. Reaksi ini menghasilkan radikal tokoferosil yang dapat diubah kembali ke bentuk kurang aktif melalui pemberian elektron dari antioksidan lainnya, seperti askorbat dan retinol. Berikut ini adalah struktur kimia dari vitamin E :



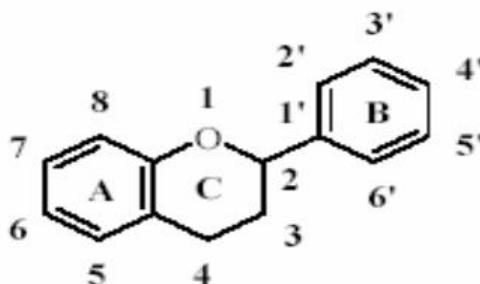
Gambar 2.3 Struktur kimia β tokoferol

(Sumber: Kirk Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology)

3. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok antioksidan penting dan dibagi menjadi 13 kelas, dengan lebih dari 4000 senyawa ditemukan sampai tahun 1990 (Harborne, 1993). Flavonoid merupakan senyawaan fenol yang dimiliki oleh sebagian besar tumbuhan hijau dan biasanya terkonsentrasi pada biji, buah, kulit buah, kulit kayu, daun, dan bunga (Miller 1996). Flavonoid memiliki kontribusi yang penting dalam kesehatan manusia. Menurut Hertog (1992) disarankan agar setiap hari manusia mengkonsumsi beberapa gram flavonoid. Flavonoid diketahui berfungsi sebagai antimutagenik dan antikarsinogenik, selain itu memiliki sifat sebagai antioksidan,

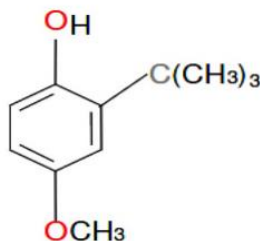
anti peradangan, anti alergi, dan dapat menghambat oksidasi LDL (Low Density Lipoprotein) (Rahmat, 2009).



Gambar 2.4. Struktur Flavonoid (Markham, 1988)

4. Polifenol

Polifenol adalah kelompok antioksidan yang secara alami ada di dalam sayuran, kacang-kacangan, dan minyak. Senyawa polifenol meliputi flavonol, isoflavon, flavanon, antosianidin, katekin, dan biflavan (Mokgope, 2006). Polifenol berperan dalam memberi warna pada tumbuhan misalnya seperti warna daun. Kandungan polifenol dapat melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif serta bekerja sebagai antibakteri (Saxton, K. *et al.*, 2013).



Gambar 2.5 Struktur kimia poliphenol (Sumber: Hamid *et al*, 2010)

2.2.8 Mekanisme Kerja

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1). Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3).

Inisiasi : $RH \rightarrow R\cdot + H\cdot$ (reaksi 1)

Propagasi : $R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$ (reaksi 2)

$ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$ (reaksi 3)

Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek (Kumalaningsih, 2006). Setelah propagasi, tahap terakhir adalah reaksi terminasi (Rohman, 2004).

Reaksinya sebagai berikut :

Terminasi : $ROO\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOR + O_2$ (reaksi 4)

$ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR$ (reaksi 5)

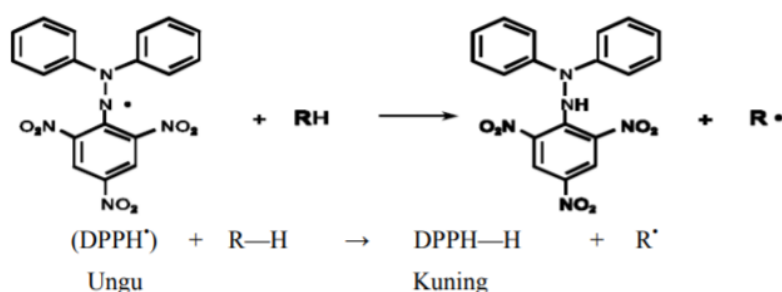
$R\cdot + R\cdot \rightarrow RR$ (reaksi 6)

Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk (Kumalaningsih, 2006).

2.3 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan mengetahui kapasitas senyawa aktif dalam ekstrak untuk menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun *Alocasia marcorrizhos* diukur menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini didasarkan pada hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan dalam sampel, sehingga menghasilkan senyawa DPP Hidrazin (DPPH) berwarna kuning. Metode ini tidak memerlukan substrat sehingga lebih sederhana dengan waktu analisis yang lebih cepat (Moluneux 2004).

Metode yang umum untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah dengan DPPH, DPPH adalah (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Pada metode ini antioksidan (AH) bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan cara mendonorkan atom hidrogen, menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning, intensitas warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Pada metode ini yang diukur adalah aktivitas penghambatan radikal bebas.



Gambar 2.6 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH (Schwarz *et al*, 2001)

Metode ini tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. DPPH digunakan secara luas untuk menguji aktivitas antioksidan makanan. Warna berubah menjadi kuning saat radikal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Berdasarkan rumus tersebut, makin kecil nilai absorbansi maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal. Aktivitas antioksidan dinyatakan secara kuantitatif dengan IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%.

Tabel 2.1 Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50}	Sifat Antioksidan
50 ppm <	Sangat kuat
50 ppm – 100 ppm	Kuat
100 ppm – 150 ppm	Sedang
150 ppm- 200 ppm	Lemah

Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} (Sumber : Molyneux 2004)

2.4 Metode Ekstraksi

Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke

dalam pelarut. Proses ini terus berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif di luar sel (Marjoni, 2016).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

2.4.1 Jenis Metode Ekstraksi

2.4.1.1 Maserasi

Maserasi adalah perendaman bahan alam yang dikeringkan (*simplisia*) dalam suatu pelarut. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Pratiwi, 2009). Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*).

Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam *simplisia nabati* dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat 16 aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan

terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada didalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidak seimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang ada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

2.4.1.2 Perkolasi

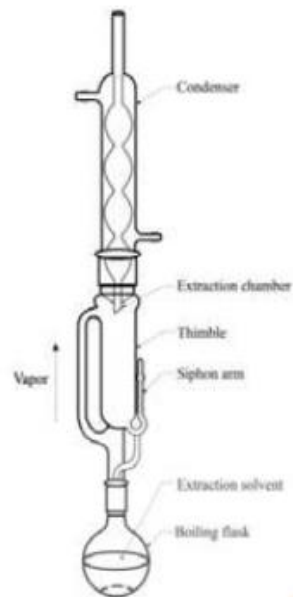
Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan bahan yang disusun secara unggun dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai prosesnya 10 sempurna dan umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prosedur metode ini yaitu bahan direndam dengan pelarut, kemudian pelarut baru dialirkan secara terus menerus sampai warna pelarut tidak lagi berwarna atau tetap bening yang artinya sudah tidak ada lagi senyawa yang terlarut. Kelebihan dari metode ini yaitu tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak, sedangkan kelemahan metode ini adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan proses juga memerlukan waktu yang cukup lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut (Sarker, S.D., *et al*, 2006).



Gambar 2.7 Alat perkolasi (Azwanida, 2015)

2.4.1.3 Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada titik didih (Mukhrani, 2014)



Gambar 2.8 skema alat proses sokletasi (Azwanida, 2015)

2.4.1.4 Reflukstasi

Metode refluks merupakan ekstraksi menggunakan pelarut pada temperature didihnya selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik (refluks). Pada metode refluks umumnya proses dilakukan secara berulang 3-5 kali hingga proses ekstraksi sempurna.(Joice, 2010)



Gambar 2.9 Skema alat proses refluks

(sumber: Wahyono, 2011)

2.4.2 Pelarut

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan beberapa faktor antara lain selektivitas, kemampuan untuk mengekstrak, toksisitas, kemudahan untuk diuapkan dan harga pelarut. Larutan pengekstraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip like dissolves like, suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama (Suryani, 2015)

2.5 Instrumen Spektrometer UV-VIS

Dalam penelitian ini, uji DPPH dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 Nanometer dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penurunan nilai absorbansi sebagai akibat dari penurunan intensitas warna dari larutan yaitu dari warna ungu menjadi warna kuning. Penurunan intensitas warna itu terjadi karena penambahan radikal hidrogen dari senyawa antioksidan pada elektron yang tak berpasangan pada radikal nitrogen dalam struktur senyawa DPPH (Rorong, 2008). Spektrofotometer UV-VIS (Ultra Violet-Visible) atau spektrofotometer ultraviolet-sinar tampak memanfaatkan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah UV dan 380-780 nm untuk daerah visible atau sinar tampak.

Spektrofotometer ini jenisnya terdiri Was berkas tunggal (*single beam*) dan berkas rangkap (*double beam*). Perbedaan pada keduanya adalah pada spektrofotometer *double beam* pengukuran dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan contoh atau standar dan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang sehingga pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan

tegangan listrik karena blanko dan zat diukur pada saat yang bersamaan (Warono dan Syamsudin, 2013).

Secara umum sistem spektrofotometer terdiri atas sumber radiasi, monokromator, sel, foto sel, detektor, dan tampilan (display)

2.5.1 Sumber Radiasi

Sumber radiasi berfungsi memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran. Sumber radiasi untuk spektrofotometer UV-VIS adalah lampu hidrogen atau deuterium dan lampu filamen. Lampu hidrogen digunakan untuk mendapatkan radiasi di daerah ultraviolet sampai 350 nm. Lampu filamen digunakan untuk daerah sinar tampak sampai inframerah dekat dengan panjang gelombang 350 nm sampai sekitar 250 nm.

2.5.2 Monokromator

Monokromator berfungsi menghasilkan radiasi monokromatis yang diperoleh dilewatkan melalui kuvet yang berisi sampel dan blanko secara bersamaan dengan bantuan cermin berputar.

2.5.3 Sel atau Kuvet

Tempat bahan yang akan diukur serapannya. Kuvet harus dibuat dari bahan yang tidak menyerap radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya terbuat dari kaca tembus sinar tetapi bisa pula terbuat dari plastik. Sel yang terbuat dari kuarsa baik untuk spektroskopi UV-VIS. Kuvet dari bahan kaca silikat biasa tidak dapat digunakan untuk spektroskopi ultraviolet karena bahan kaca silikat dapat menyerap ultraviolet.

2.5.4 Fotosel

Fotosel berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan zat dan kemudian mengubahnya menjadi energi listrik yang kemudian akan disampaikan ke detektor. Detektor adalah material yang dapat menyerap energi dari foton dan mengubahnya dalam bentuk lain, yaitu energi listrik.

2.5.5 Display

Display atau tampilan mengubah sinar listrik dari detektor menjadi pembacaan yang berupa meter atau angka yang sesuai dengan hasil yang dianalisis. Prinsip kerja spektrofotometer adalah berdasarkan hukum Lambert-Beer, yaitu seberkas sinar dilewatkan suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sehingga sinar tersebut sebagian ada yang diteruskan dan sebagian lainnya diserap oleh larutan.

Pada spektrofotometer UV-VIS, zat diukur dalam bentuk larutan. Analit yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak adalah analit berwarna atau yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna adalah analit yang memiliki sifat menyerap cahaya secara alami. Analit yang dibuat berwarna adalah analit yang tidak berwarna sehingga harus direaksikan dengan zat tertentu untuk membentuk senyawa yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna untuk zat atau senyawa yang tidak berwarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan cara oksidasi sehingga analit menjadi berwarna.

Tahap awal yang dilakukan pada penentuan aktivitas antioksidan ini adalah penetapan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) larutan DPPH. Penetapan panjang gelombang maksimum ini bertujuan untuk mengetahui pada panjang gelombang

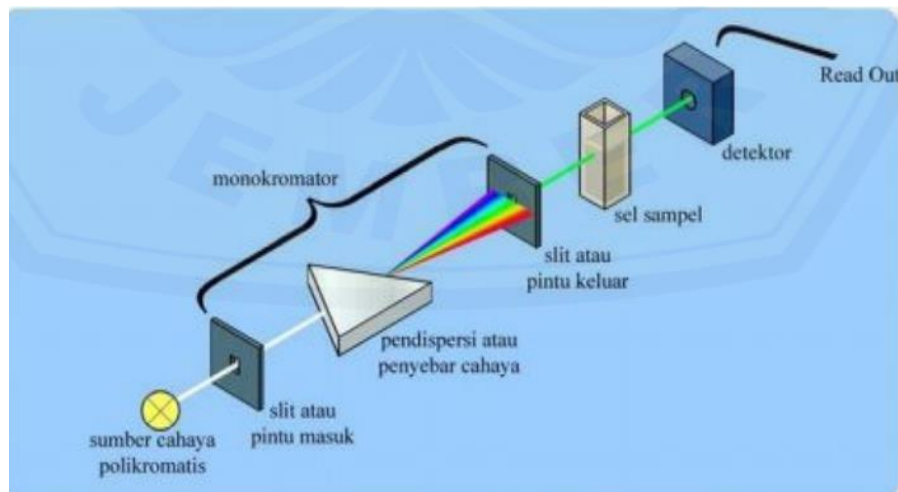
larutan DPPH yang dapat menghasilkan absorbansi maksimum pada spektrofotometer UV-Vis. Hal ini berkenaan dengan kepekaan analisis, dimana perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar pada panjang gelombang maksimum sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimum (Chow *et al.*, 2003). Panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk pengujian antioksidan ini adalah 514 nm dengan absorbansi maksimum 0,692 A dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar (Anita, 2015).

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki Asnah, 2012). Spektrum absorpsi dalam daerah ultra ungu dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah UV tampak. Oleh karena itu mereka mengandung electron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat electron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energy tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunas, 2011).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat

oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S, 2013). Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari :

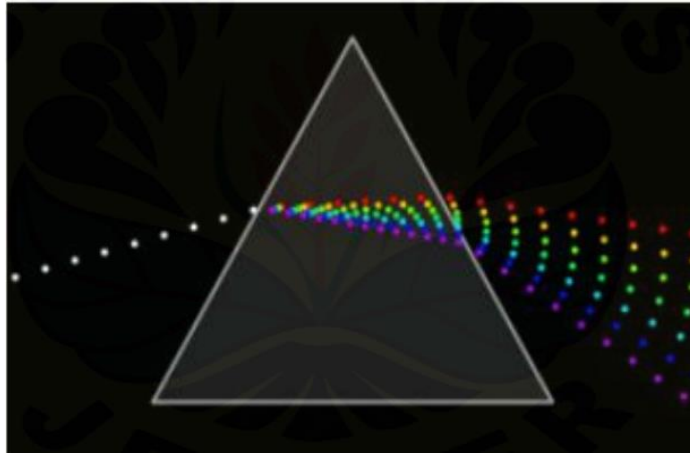
Sumber cahaya –monokromatis –sel sampel –detector- read out



Gambar 2.10 cahaya pembacaan spektrofotometer (Sumber: Arsyad 2013)

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya seperti tertera pada gambar :



Gambar 2.11 Gambar cahaya pembacaan spektrofotometer (Arsyad 2013)

1. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS dan UV VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas.
2. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
3. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector.

Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Jika sinar monokromatik dilewatkan melalui suatu lapisan larutan dengan ketebalan (db), maka penurunan intensitas sinar (dI) karena melewati lapisan larutan tersebut berbanding langsung dengan intensitas radiasi (I), konsentrasi spesies yang menyerap (c), dan dengan ketebalan lapisan larutan (db). Secara matematis, pernyataan ini dapat dituliskan : $-dI = kIcd b$ bila diintegrasikan maka diperoleh persamaan ini :

$$I = I_0 e^{-kbc}$$

dan bila persamaan di atas diubah menjadi logaritma basis 10, maka akan diperoleh persamaan :

$$I = I_0 10^{-kbc} \text{ dimana : } k/2,303 = a ,$$

maka persamaan di atas dapat diubah menjadi persamaan

$$\log I_0/I = abc \text{ atau } A = abc \text{ (Hukum Lambert-Beer)}$$

Dimana :

A = Absorban

a = absorptivitas

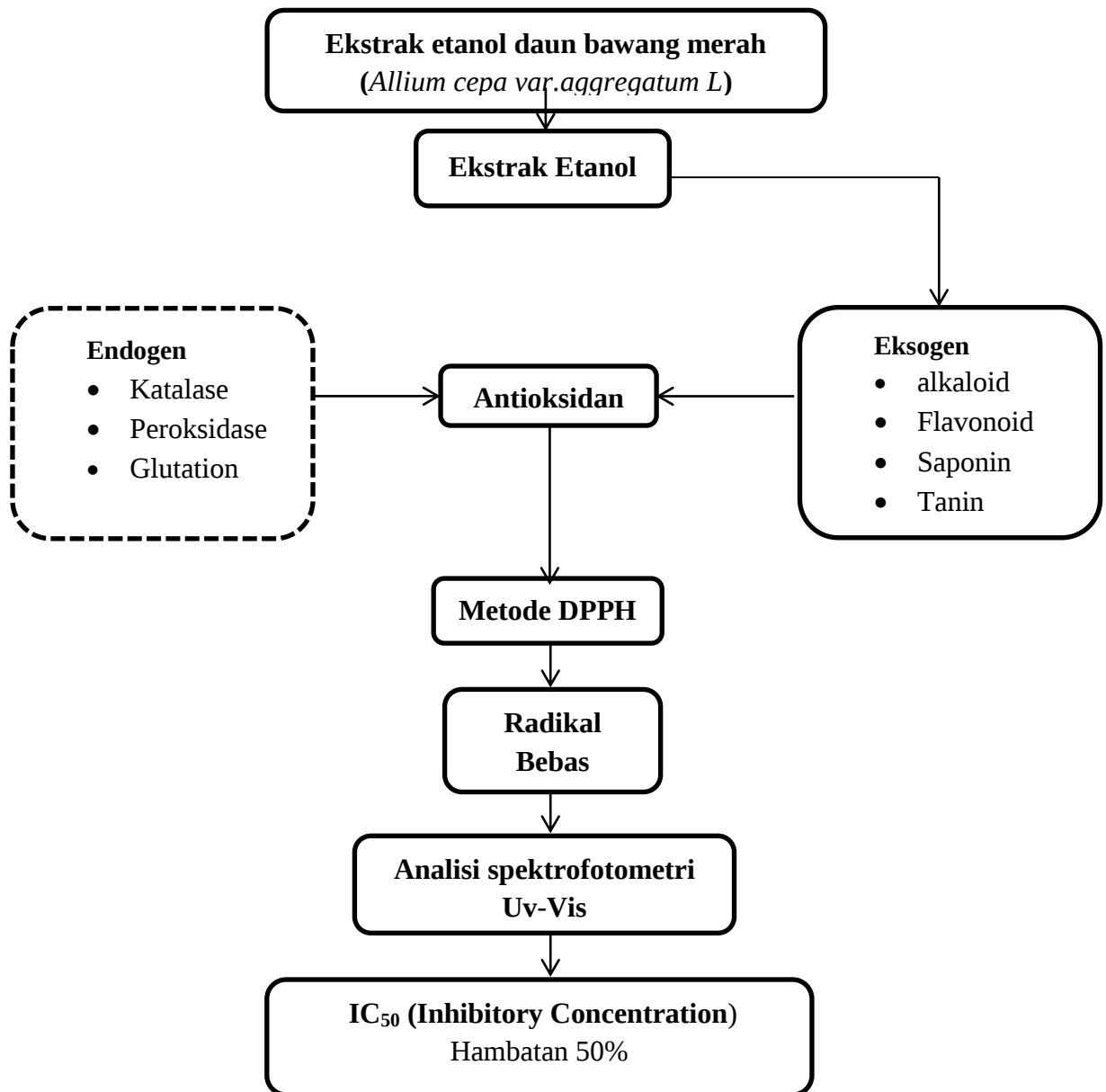
b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Bila Absorbansi (A) dihubungkan dengan Transmittan (T) = I/I_0 maka dapat diperoleh $A = \log 1/T$. *Absorptivitas* (a) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Tetapi tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi (Hariadi Arsyad, 2013).

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

 : Yang diteliti

 : Yang Tidak diteliti

3.2 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap masalah yang menjadi objek dalam penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual di atas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah :

Ha : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bawang merah dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

H0 : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bawang merah dengan pelarut etanol menggunakan metode DPPH.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian pada uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bawang merah merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (*Diphenyl-picrylhydrazyl-radical*) (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

4.2 Populasi

Populasi adalah jumlah keseluruhan dari obyek yang diteliti. Populasi pada penelitian ini adalah daun bawang merah yang diperoleh dari kabupaten Jember diambil secara acak.

4.3 Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang diharapkan mampu mewakili populasi dalam sebuah penelitian. Sampel pada penelitian ini menggunakan daun Bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) yang diperoleh dari Bangsalsari Jember sebagian diambil secara acak

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Instrumen Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus - September 2022

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun Bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L)

4.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . (*Inhibition Concentration*)

4.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode pengujian DPPH

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Aktivitas antioksidan	Antioksidan merupakan senyawa yang dapat memperlambat proses oksidasi dari radikal bebas. Antioksidan diperoleh dari daun Bawang Merah yang telah diekstraksi kemudian dilihat nilai absorbansinya, kemudian dihitung persen peredaman dan	Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga	Spektro UV -VIS	Skala Ordinal	• Sangat kuat, jika hasil yang di dapat < 50ppm • Kuat, Jika yang di dapat 50-100 ppm • Sedang, jika yang di dapat 101-150 ppm • Lemah, jika yang didapat 100 - 200ppm

ditentukan	homogen.
konsentrasi	Campuran
penghambatan	selanjutnya
50% (IC ₅₀)	dilakukan
	inkubasi pada
	suhu ruang
	sesuai dengan
	hasil optimasi
	waktu. Serapan
	diukur pada
	panjang
	gelombang
	maksimum.

4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain destilator, spektrofotometer, *rotary evaporator*, ultrasonik, timbangan analitik, toples maserasi corong buchner, alat-alat gelas, aluminium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet disposable, mikropipet, blender, penyaring, cawan, desikator, dan stopwatch.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun Bawang Merah. Kertas saring, etanol 70%, terdestilasi, metanol, senyawa DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), serbuk Mg, HCl pekat, aquades, NaCl 10%, FeCl₃, reagen Dragendroff, kloroform, asetat anhidrat, H₂SO₄, kuersetin, natrium asetat dan AlCl₃.

4.7.2 Determinasi Tanaman

Sebelum dilakukan penelitian terhadap Daun Bawang merah, terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran simplisia. Determinasi dilakukan di Politeknik Negeri Jember.

4.7.3 Pembuatan Ekstrak daun Bawang Merah

Pembuatan ekstrak etanol daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) dilakukan berdasarkan metode maserasi secara umum. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Sejumlah bagian serbuk daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.) ditimbang kemudian dimasukkan dalam wadah, dan ditambahkan pelarut etanol terdestilasi selama 3 hari, dan dilanjutkan dengan remaserasi dua kali hingga diperoleh maserat yang jernih. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesering mungkin agar semua simplisia dapat larut dalam pelarut. Ekstrak selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Fatoni, 2019).

4.7.4 Uji Fitokimia

a) Uji Alkaloid

Sebanyak 2 ml larutan uji diuapkan diatas cawan porselin hingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan yang didapat ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendroff. Terbentuknya endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid (Farnsworth, 2014).

b) Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2-4 tetes HCl pekat. Kemudian campuran dikocok. Terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon. (Rahayu *et al*, 2014).

c) Tanin

Sebanyak 1 ml larutan uji ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman atau kehijauan (Minarno, 2015).

d) Saponin

Sebanyak 10 ml larutan uji dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (Depkes RI, 2014).

4.7.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH**a. Pembuatan Larutan DPPH**

Ditimbang sebanyak 2 mg DPPH dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dilarutkan menggunakan pelarut etanol dan ditepatkan volumenya hingga tanda batas. Larutan DPPH dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung cahaya (Purwanto *et al.*, 2017).

b. Pengukurann Panjang Gelombang Maximum

Pegujian dilakukan dengan memipet 4 mL DPPH kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37°C pada ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517nm (Handayani *et al*, 2014).

c. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak daun bawang merah menggunakan etanol 70%

Ekstrak daun bawang merah dimasukan ke dalam labu ukur 25 ml, kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol dan ditepatkan volumenya menjadi 25 ml. Selanjutnya ambil masing-masing larutan ekstrak tersebut sebanyak 1 ml, 3 ml, 5 ml, 7 ml, dan 9 ml, lalu diencerkan kembali dalam labu ukur 100 ml sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm (Purwanto *et al*, 2017).

d. Pembuatan Larutan Pembanding Kuercetin

Ditimbang sebanyak 2 mg kuercetin dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml ditambahkan etanol 70% 10 ml dikocok hingga homogen di cukupkan dengan metanol sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi larutan kuarcetin 200ppm. Lalu dibuat larutan uji pembanding dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50ppm dengan pipet sebanyak 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml 2 ml, dan 2,5 ml dari larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml ditambahkan etanol sampai tanda batas (Hasanah, 2017)

e. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Daun bawang merah dan Larutan Kuercetin

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara memipet 0,5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm dan 125 ppm) dan Larutan Vitamin C dengan konsentrasi (2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm dan 6 ppm), kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml DPPH hingga homogen. Inkubasi selama 30 menit Campuran selanjutnya dilakukan pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum (Handayani, 2014).

Persentase hambatan (IC_{50}) terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} : \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan

A kontrol : absorbansi tidak mengandung sampel

A sampel : absorbansi sampel

Adapun rumus persamaan linier sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

keterangan :

x : absorbansi sampel

y : konsentrasi sampel

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$ (Zakky & Wahyu, 2008).

4.8 Analisis Data

Pengolahan data dilakukan menggunakan aplikasi Microsoft Excel dengan cara analisis probit. Analisis regresi probit adalah analisis yang digunakan untuk melihat hubungan antara variabel dependen yang bersifat kategori (kualitatif) dan variabel-variabel independen yang bersifat kualitatif maupun kuantitatif. Data diolah menggunakan analisa probit antara log konsentrasi larutan uji (x) dengan persentase aktivitas antioksidan (y) sehingga diperoleh IC_{50} . Data nanti semua dimasukan ke dalam aplikasi Microsoft Excel, setelah proses dari aplikasi, kemudian data akan muncul yaitu persamaan linier. Persamaan linier digunakan untuk menghitung IC_{50} .

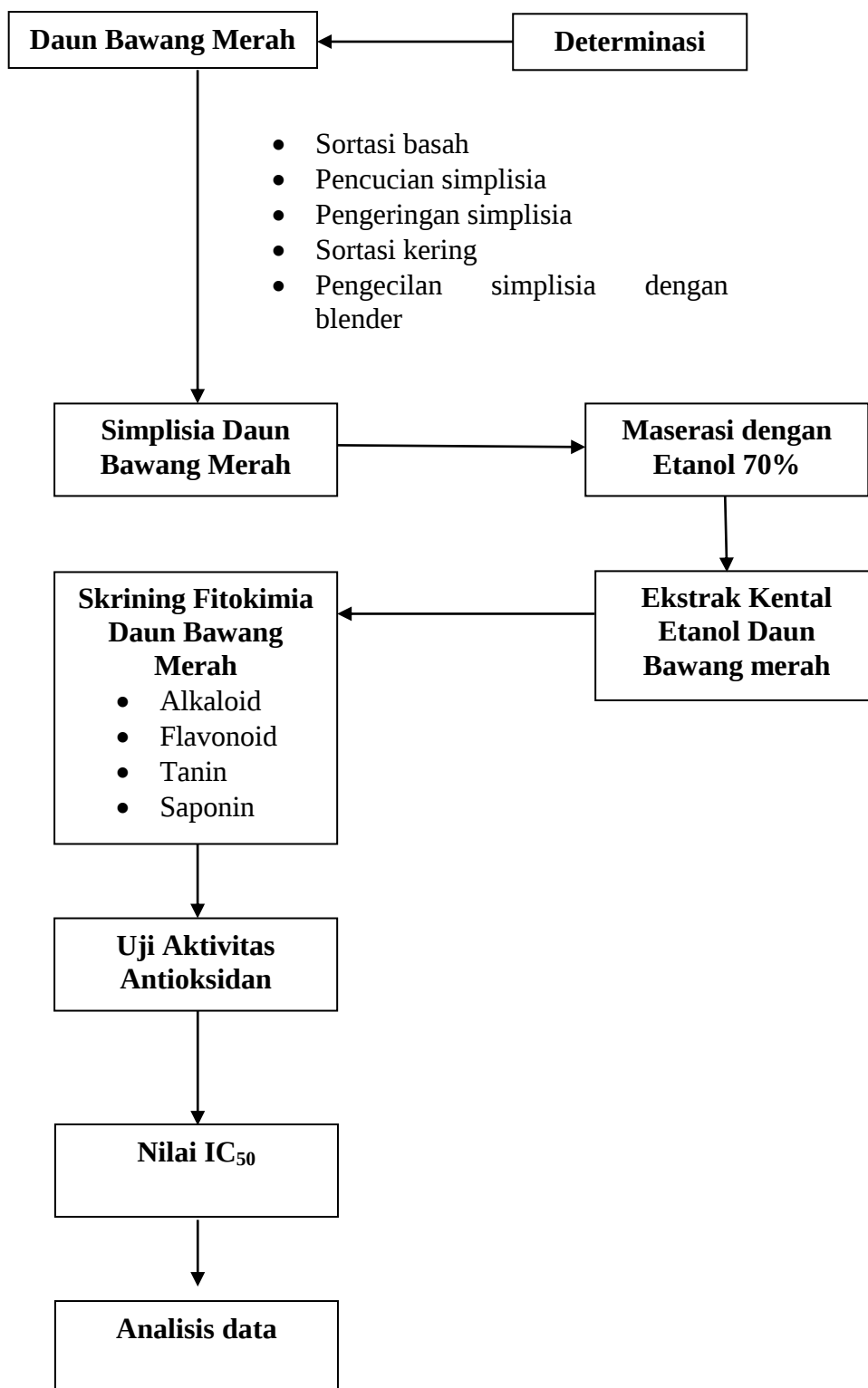
Dalam pengolahan data IC_{50} dari ekstrak etanol daun bawang merah dan kuersetin yang di peroleh dari hasil penelitian, diuji normalitas menggunakan (*Shapiro-Wilk*) sebagai syarat uji analisis independent T-test. Data IC_{50} masing-masing di analisis menggunakan uji T tidak berpasangan untuk melihat perbedaan IC_{50} antara ekstrak etanol daun bawang dengan kuersetin

4.9 SOP metode DPPH (*Diphenyl picryl hydrazine*)

Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*Diphenyl picryl hydrazyl*) menjadi senyawa non-radikal (*Diphenyl picryl hydrazine*). Hal ini ditandai dengan perubahan

warna dari ungu menjadi kuning (senyawa radikal bebas tereduksi oleh adanya antioksidan (Setiawan *et al.*, 2018)).

4.10 Kerangka Operasional



Gambar 4.1 kerangka oprasional

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah

(*Allium cepa* var. *aggregatum* L)

5.1.1 Hasil Determinasi Tanaman

Pada penelitian ini determinasi dilakukan di UPT (pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil Determinasi menunjukkan bahwa daun bawang merah yang di gunakan dalam penelitian merupakan spesies *Allium cepa* var. *aggregatum* L

5.1.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak dari desa Bangsalsari kabupaten Jember . Bagian tanaman yang di gunakan dalam penelitian adalah daun bawang merah. Kemudian aun di proleh dilakukan sortasi basah, pencucian perajangan, pengeringan, sortasi kering, penghalusan sampel. Berat serbuk di peroleh sebanyak 300gram.

5.1.3 Hasil Ekstraksi Daun Bawang Merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.)

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Ekstrak etanol daun bawang merah yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 31,164 gram dari 300 gram daun bawang merah (rendemen 10,388%) pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah

Serbuk Simplisia (g)	Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
300	31,164	10,388

5.1.4 Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada masing-masing sampel dan juga untuk memperkirakan senyawa apa saja yang memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan data yang dihasilkan, daun bawang merah memiliki golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak daun bawang merah

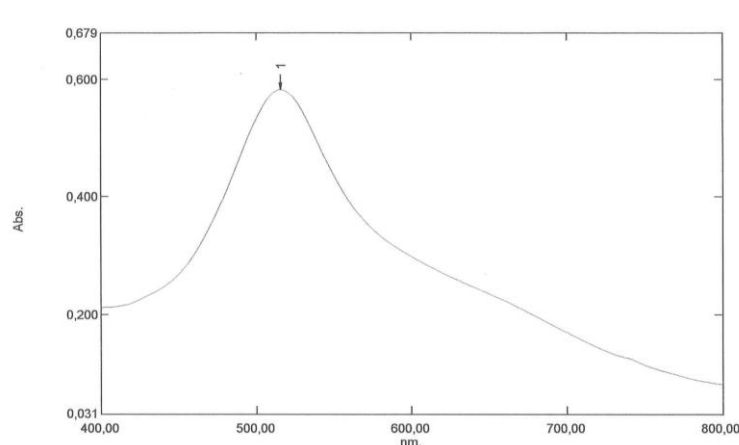
Senyawa	Pustaka	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	Sampel positif mengandung alkaloid jika terbentuknya endapan jingga	Terdapat endapan warna jingga	Positif
Flavonoid	Sampel positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna jingga	Terdapat endapan warna jingga	Positif
Saponin	Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10	Tidak Terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit	negatif

menit			
Tanin	Positif bila terjadi warna biru tua atau hitam kehijaun	Terjadi perubahan warna biru tua atau hitam kehijaun	Positif

5.2 Analisis Nilai Inhibisi Konsentrasi (IC_{50}) Kuersetin

5.2.1 Optimasi Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis serapan maksimum menunjukkan hasil 0,583 pada panjang gelombang 516,00 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan DPPH dapat dilihat pada gambar 5.1



Gambar 5.1 kurva panjang gelombang DPPH

5.2.2 Optimasi Waktu Inkubasi

Pada penelitian ini optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet 0, 5 ml dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm) kemudian ditambahkan dengan larutan 3,5 ml

DPPH. Nilai absorbansi selanjutnya diamati pada panjang gelombang 516 nm yang dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit. Pada penelitian ini didapatkan waktu terbaik di menit 40 (Bina,2022)

5.2.3 Pengukuran %inhibisi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Dun Bawang Merah

Pengujian kuersetin dan ekstrak dilakukan inkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang 516 nm sesuai dengan optimasi yang sudah dilakukan. Hasil pengujian dihitung untuk mencari % inhibisi.

Tabel 5.3 Hasil %inhibisi Kuersetin dan Ekstrak

Sampel	konsentrasi	%inhibisi		
		Rep I	Rep II	Rep III
Kuersetin	10 ppm	35,593	36,158	38,418
	20 ppm	51,977	53,296	54,802
	30 ppm	59,698	60,452	60,640
	40 ppm	63,653	64,407	64,595
	50 ppm	71,375	72,505	73,635
Ekstrak	50 ppm	39,062	41,840	42,013
	100 ppm	41,666	46,701	48,958
	150 ppm	48,611	50,694	52,083
	200 ppm	52,777	53,993	53,819
	250 ppm	53,645	55,729	55,208

5.2.4 Hasil Analisis Nilai IC₅₀ Kuersetin dan Ekstrak Etanol Daun Bawang Merah

Hasil Nilai IC₅₀ pada penelitian didapatkan dari persamaan regresi linier dari setiap larutan uji dan pembanding kuersetin dari hubungan antara persen inhibisi sebagai ordinat dan konsentrasi sebagai absis, hasil nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun bawang merah dan pembanding kuersetin dapat di lihat pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Nilai kuersetin dan IC₅₀ daun bawang merah

Kuersetin	IC ₅₀ (Replikasi)			X ± RSD	Kategori
	1	2	3		
	22,24	21,212	19,506	20,986 ± 1,369 µg/mL	Sangat kuat

Ekstral	IC ₅₀ (Replikasi)			X ± RSD	Kategori
	1	2	3		
	185,248	153,067	143,344	160,553 ± 21,932 µg/mL	Lemah

Berdasarkan tabel 5.4 kuersetin dan ekstrak dengan tiga kali replikasi menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 20,986 dan nilai RSD=1,369. Nilai aktivitas antioksidan untuk pembanding kuersetin ditunjukkan dengan nilai sebesar 160,553 dan nilai RSD=21,932 yang termasuk dalam kategori lemah

BAB 6 PEMBAHASAN PENELITIAN

Determinasi tanaman dilakukan pada awal penelitian sebelum proses ekstraksi dilakukan untuk menunjukkan bahwa bagian tanaman yang akan digunakan dalam penelitian benear adalah daun bawang merah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.). Determinasi dilakukan di UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu Politeknik Negeri Jember dengan nomer 135/PL17.8/PG/2022. Hasil determinasi menunjukan bahw tanaman yang di gunakan adalah (*Allium cepa* var. *aggregatum* L.).

Pada penelitian ini daun bawang merah yang digunakan berasal dari Desa Bangsalsari Kabupaten Jember. Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan meliputi pencabutan tanamandan di ambil daunnya, sortasi daun untuk memilah daun yang rusak, pencucian daun dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, perajangan daun untuk mempercepat proses pengeringan daun, sortasi daun dari kotoran yang meempel pada proses pengeringandan penghalusan daun menggunakan blender. Proses pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam sampel dan penghalusan sampel bertujuan untuk memaksimalkan proses penyarian (M. Sari *et al.*, 2021)

Skrinning fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji. Senyawa fitokimia merupakan senyawa golongan metabolit sekunder dalam tumbuhan yang memiliki fungsi tertentu bagi manusia. Berdasarkan data yang dihasilkan Bawang Merah mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan pada

uji saponin terbentuk busa yang tidak stabil dan hilang setelah 10 menit ditetesi HCL yang menandakan uji negatif pada golongan saponin.

Sebelum melakukan uji aktivitas antioksidan terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimal. Larutan DPPH yang telah dibuat dengan konsentrasi 35 $\mu\text{g/mL}$, dimasukkan dalam tabung reaksi yang dibungkus aluminium foil sebanyak 2 mL kemudian didiamkan selama 30 menit. Setelah itu ukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Salim, 2018). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 516 nm dengan absorbansi 0,583

Kemudian dibuat larutan stok 200 ppm kuersetin dengan cara menimbang sebanyak 2 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dengan etanol PA sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm dengan dipipet sebanyak 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5 mL (Brand Williams, 2014).

Selanjutnya dilakukan pengujian untuk menentukan waktu inkubasi optimum. Pengujian dilakukan dengan memipet 0,3 mL larutan sampel dari satu konsentrasi (30 ppm untuk kuersetin dan 150 ppm untuk ekstrak) kemudian ditambahkan dengan larutan 0,6 mL DPPH hingga homogen. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi tiap 5 menit mulai menit ke 0 sampai menit ke 60 (Retnaningtyas *et al*, 2017). Dari hasil waktu inkubasi optimum yang didapat pada menit ke-30 untuk ekstrak dan kuersetin dapat dilihat pada jurnal (Lusi, 2017) mulai stabil pada menit ke-40.

Pengujian aktivitas dilakukan dengan memipet 0,3 mL larutan sampel dari berbagai konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. Kemudian

ditambahkan dengan larutan 0,6 ml DPPH hingga homogen. Campuran selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu ruang sesuai dengan hasil optimasi waktu. Serapan diukur pada panjang gelombang 516 nm (Brand Williams, 2014).

% Inhibisi bisa dihitung berdasarkan persentase peredaman antara radikal DPPH dengan larutan sampel (Rahmayani., 2013). Parameter yang dipakai untuk pengukuran aktivitas antioksidan berupa nilai IC_{50} (Inhibitor Concentration 50%), yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapat dari hasil inhibisi dan konsentrasi yang dihitung dengan rumus pada

Berdasarkan Hasil nilai pengujian kuersetin replikasi 3 kali nilai IC_{50} kuersetin sebesar 20,986 termasuk dalam kategori sangat kuat.

Dibuat larutan stok 1000 ppm dengan cara menimbang ekstrak etanol daun bawang merah sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol PA sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm (Brand Williams, 2014).

Lima konsentrasi dipilih karena pada penelitian antioksidan menggunakan metode DPPH perlu dilakukan pembuatan kurva baku untuk menghasilkan persamaan regresi linier. Nilai absorbansi dapat di pengaruhi oleh konsentrasi sampel, semakin rendah konsentrasi dan absorbansinya meningkat maka persentase peredaman yang dihasilkan semakin kecil. Jika konsentrasi sampel semakin meningkat dan absorbansinya rendah maka persentase peredaman yang dihasilkan semakin besar

Niai IC50 yang dihasilkan dari daun bawang merah adalah $160,553 \pm 21,932$ menunjukkan aktivitas antioksidan yang lemah karena nilai IC50 yang dihasilkan 100-200 $\mu\text{g/ml}$. Pada larutan pembanding kuersetin dihasilkan rata-rata nilai IC50 $20,986 \pm 1,369$ dengan ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC50 yang dihasilkan $<50 \text{ ug/ml}$.

Nilai IC50 yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan daun bawang merah dan kuersetin memiliki nilai yang berbeda. Kuersetin memiliki antioksidan yang lebih kuat di bandingkan sampel karena nilai IC50 yang di hasilkan kuersetin lebih kecil. Sedangkan ekstrak daun bawang merah menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun bawang merah lebih besar

Menurut Ghozali (2012) Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah dalam model regresi, variabel pengganggu atau residual memiliki distribusi normal. Berfungsi untuk mengetahui apakah suatu data terdistribusi secara normal atau tidak, dapat dilakukan dengan pengujian normalitas menggunakan one sample kolmogorov-smirnov test pada residual persamaan dengan kriteria pengujian jika probability value $> 0,05$ maka data terdistribusi normal dan jika probability value $< 0,05$ maka data terdistribusi tidak normal, dalam hasil uji statistik yang pertama dilakukan adalah uji normalitas Saphiro-wilk dengan hasil yang didapat Sig untuk kuersetin 0,728 dan ekstrak metanol daun belimbing wuluh 0,427, jika nilai Sig yang didapat kuersetin dan ekstrak metanol daun belimbing wuluh yang didapatkan probability value $> 0,05$ maka hasil analisis terdistribusi normal.

Selanjutnya hasil pengujian statistik didapatkan nilai sig. Levene's Test For Equality Of Variance adalah $0,036 > 0,05$ maka dapat diartikan bahwa varians data

antara kuersetin dan ekstrak tidak homogen atau tidak sama dan independen sampel test nilai sig. Levene's Test For Equality Of Variance sebesar $0,000 < 0,05$ maka untuk H_0 ditolak dan untuk H_1 diterima.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak etanol bawang merah adalah senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik
2. Nilai aktivitas antioksidan IC_{50} dari ekstrak etanol daun bawang merah menggunakan metode DPPH menunjukkan aktivitas antioksidan lemah dengan rata-rata $160,553 \pm 21,932 \mu\text{g/mL}$

7.2. Saran

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode yang lain untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bawang merah.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bawang merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, cholid nabuko abu. (2015). Metodologi Penelitian: Metodologi penelitian Skripsi. *Rake Sarasin*, 36.
- Aditya, H. T. (2015). Ekstraksi Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) dan Daun Mindi (*Melia azedarach*) Untuk Uji Kandungan Azadirachtin Menggunakan Spektrofotometer. *Universitas Diponegoro*, 6–22. http://eprints.undip.ac.id/48056/8/10._BAB_II.pdf
- Bruno, L. (2019). Kadar fenolik dan aktivitas antiradikal dpph ekstrak gambir pada berbagai suhu ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689-1699 <http://eprints.ums.ac.id/14809/>.
- Damayanti, Y. (2020). Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Merah (*Allium Cepa* L.) Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri Salmonella Sp. Pada Telur Retak Sebagai Sumber Belajar Biologi. *Universitas Muhammadiyah Malang*, 1–32. <http://eprints.umm.ac.id/id/eprint/60282>
- Isnindar, I. (2014). Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (*Eleutherine Americana* Merr.) Dengan Metode Dpph (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 6(1), 73–81. <https://doi.org/10.33096/jifa.v6i1.35>
- Nur'amala, P. I. (2019). Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Skripsi Diterbitkan Lampung Fakultas Tabiyah Dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Intn*, 1511060128, 26–33.
- Putra, I. G. S. W. (2019). Daya Hambat Perasan Umbi Bawang Merah Terhadap Pertumbuhan (*Staphylococcus Aureus*) Secara In Vitro. 45, 1–70.
- Rahmah, S. (2019). Pengaruh Variasi Pencampuran Kulit Buah Naga Terhadap Sifat Fisik, Sifat Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan pada Puding. *Sustainability (Switzerland)*, 11(1), 1–1
- Rohmaniyah, M. (2016). Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) Menggunakan Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*.
- Romadhoni. (2017). Isolasi Pektin Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana* Abb) Dengan Metode Refluks Menggunakan Pelarut Hcl Encer. *Manajemen Pengembangan Bakat Minat Siswa Di Mts Al-Wathoniyyah Pedurungan Semarang*, 2–3.

- Safrudin, N., & Nurfitasari, F. (2018). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Dari Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). (*Analysis of Secondary Metabolite Compounds and Antioxidant Activity Test of Bidara Leaves (Ziziphus Spina-Christi L.) Extract*) *Nandang*, 4(2), 11–20.
- Sari, & Melda. (2017). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kenikir. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 44–59.
- Sari, Saebani, & Dhanardhonos. (2018). Antioksidan BHT. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., 9–38.
- Siti, N. (2009). *Perbandingan Aktivitas Antioksidan pada Pisang Raja (Musa AAB)*. 6–19. [http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/123362-S09092fk-Perbandingan aktivitas-Literatur.pdf](http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/123362-S09092fk-Perbandingan%20aktivitas-Literatur.pdf)
- Suwardi, F., & Noer, S. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *Sinasis*, 1(1), 117.
- Syahir, AhmadJainuri, M. (2016). Pembelajaran Konvensional. *Matedukasia*, III(2), 25–30. https://www.academia.edu/6942550/Pembelajaran_Konvensional. (2017). Tinjauan Pustaka Tinjauan Pustaka. *Convention Center Di Kota Tegal*, 4(80), 4.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Universitas Indonesia*, 2.
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.
- Wijaya, H., & Junaidi, L. (2011). Antioksidan: Mekanisme Kerja dan Fungsinya dalam Tubuh Manusia. In *Journal of Agro-Based Industry* (Vol. 28, Issue 2, pp. 44–55).
- Zuliani, N. E., Erwin, & Kusuma, I. W. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH) Ekstrak Metanol dan Fraksi-fraksinya dari Daun Rumpun Knop (*Hyptis capitata* Jacq.). *Jurnal Atomik*, 4(1), 36–40.
- Minarno, E. B. (2015). Skrining fitokimia dan kandungan total flavanoid pada buah carica pubescens lenne & k. koch di kawasan Bromo,Cangar, dan dataran tinggi Dieng. El-Hayah: *Jurnal Biologi*, 5(2), 73- 82.

- Maryam, S., Baits, M., & Nadia, A. (2015). Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menggunakan metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 115-118.
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Review Artikel Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH
- Suhartati, T. (2017). Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 135/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 1942/FIKES.UDS/U/VII/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Muhammad Apriyadi
NIM : 18040063
Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Subdevisio: Magnoliophyta; Kelas: Liliopsida (Monocotyledoneae); Ordo: Liliales; Famili: Liliaceae; Genus: Allium; Spesies: Allium cepa, L

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.



Jember, 03 Agustus 2022

Ka. UPA Pengembangan Pertanian Terpadu

Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 2. Proses Pembuatan Ekstrak

Pembuatan simplisia



Pencucian simplisia



Pengeringan simplisi



Perendaman simplisia



Penyaringan ekstrak



Pengentalan ekstrak



Ekstrak kental daun bawang merah



Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun bawang merah

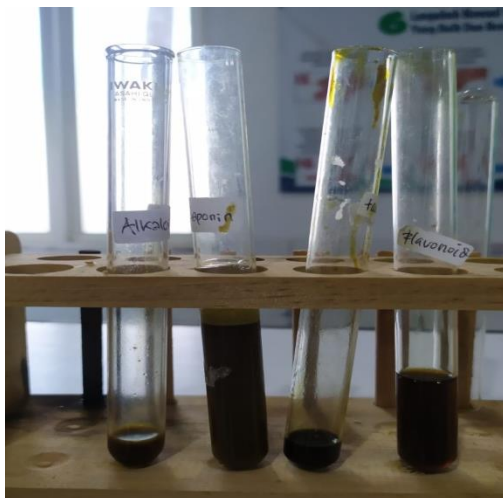
➤ **Diketahui:**

- Berat serbuk simplisia : 300 gram
- Berat ekstrak kental : 31,164 gram

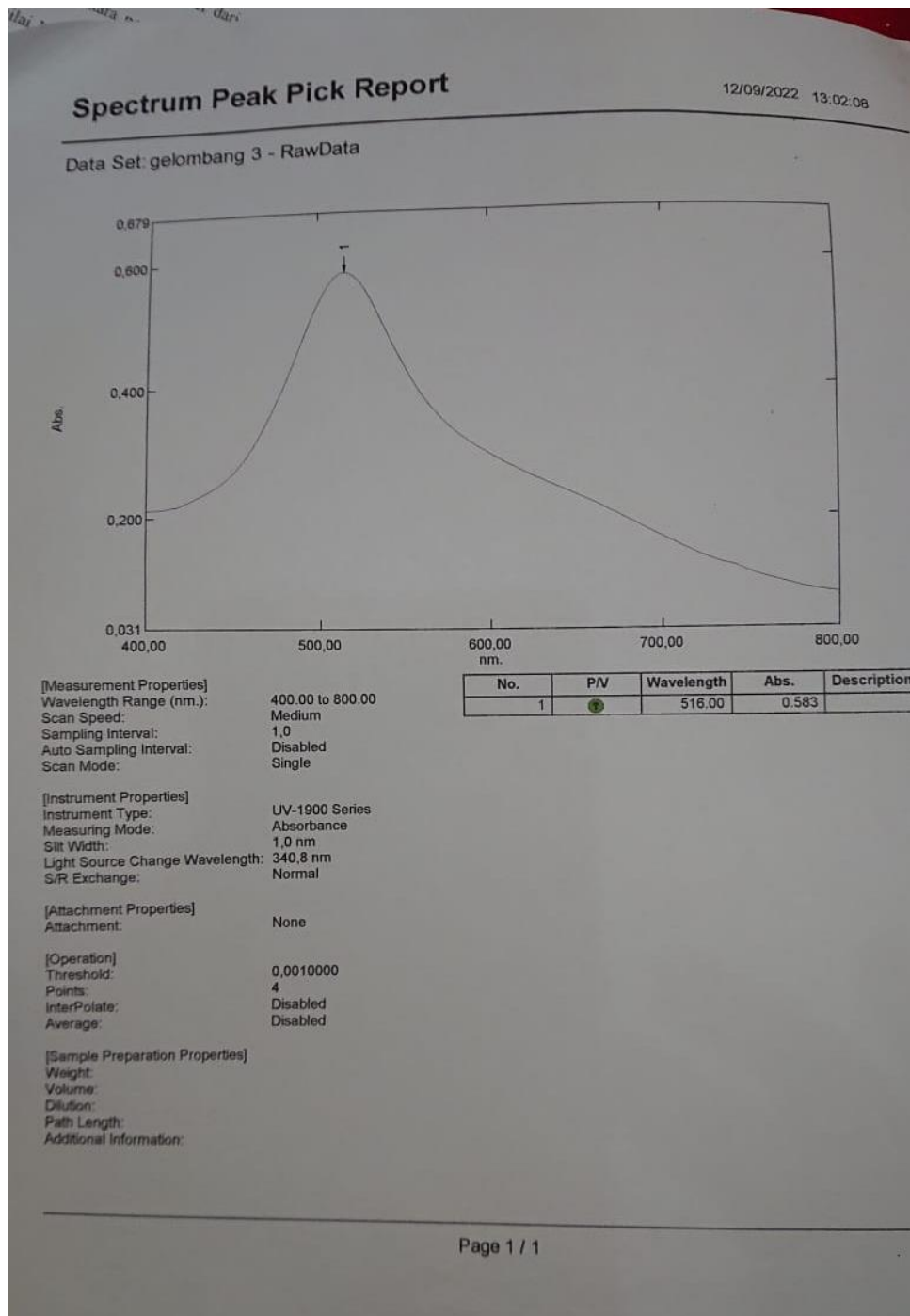
Rendemen ekstrak:

$$\begin{aligned}\text{Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{31,164}{300} \times 100\% = 10,388\%\end{aligned}$$

Lampiran 4. Skrinning Fitokimia



Lampiran 5 Grafik Panjang Gelombang

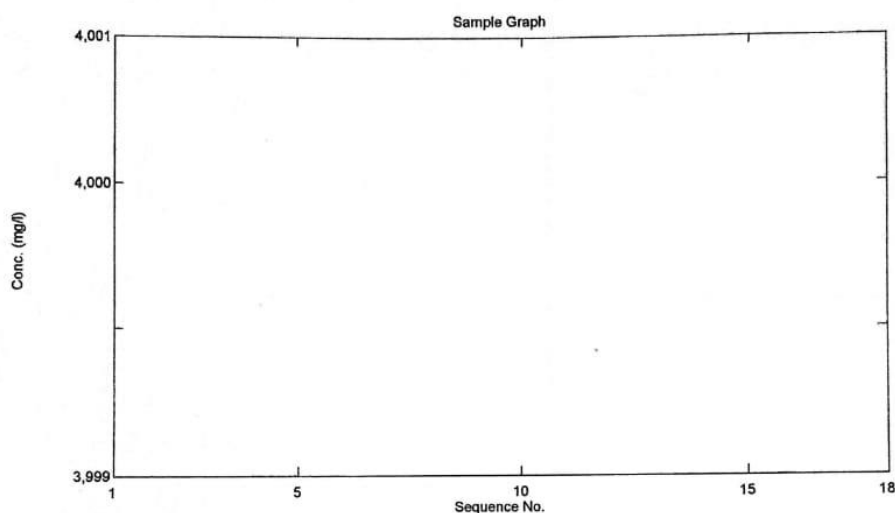


Lampiran 6 Hasil uji ekstrak daun bawang merah

Sample Table Report

23/09/2022 14:58:12

File Name: F:\Trio wakawwww\yan.pho



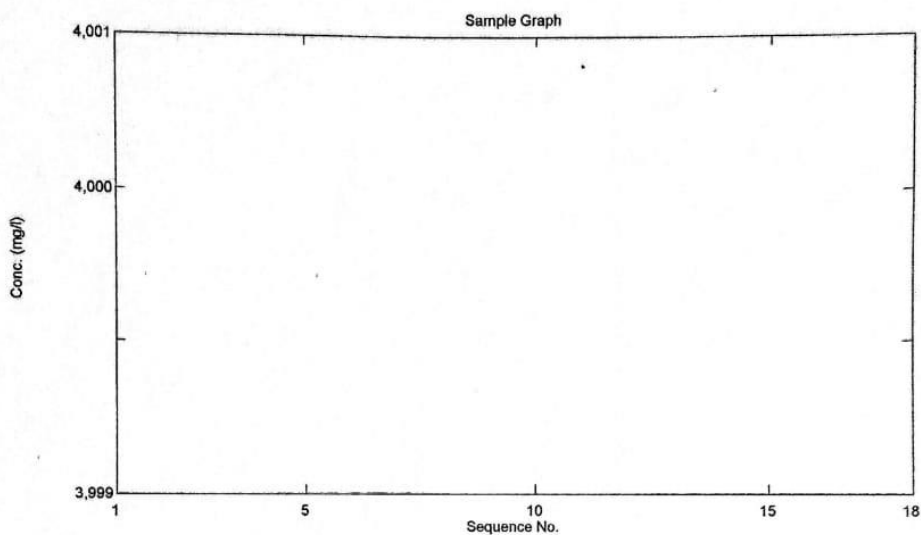
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.576	
2	50ppm	Unknown		*****	0.351	
3	100ppm	Unknown		*****	0.336	
4	150ppm	Unknown		*****	0.296	
5	200ppm	Unknown		*****	0.272	
6	250ppm	Unknown		*****	0.267	
7	50ppm2	Unknown		*****	0.335	
8	100ppm2	Unknown		*****	0.307	
9	150ppm2	Unknown		*****	0.284	
10	200ppm2	Unknown		*****	0.265	
11	250ppm2	Unknown		*****	0.255	
12	50ppm3	Unknown		*****	0.334	
13	100ppm3	Unknown		*****	0.294	
14	150ppm3	Unknown		*****	0.276	
15	200ppm3	Unknown		*****	0.266	
16	250ppm3	Unknown		*****	0.258	
17	50ppm4	Unknown		*****	0.319	
18	100ppm4	Unknown		*****	0.271	

Sample Table Report

23/09/2022 14:58:12

File Name: F:\Trio wakwawwww\yan.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Comments
19	150ppm4	Unknown		*****	0.258	
20	200ppm4	Unknown		*****	0.253	
21	250ppm4	Unknown		*****	0.247	
22	50ppm5	Unknown		*****	0.305	
23	100ppm5	Unknown		*****	0.274	
24	150ppm5	Unknown		*****	0.263	
25	200ppm5	Unknown		*****	0.255	
26	250ppm5	Unknown		*****	0.244	
27						

Lampiran 7. Perhitungan Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

1. Pembuatan larutan DPPH

Diketahui:

- Serbuk DPPH : 1,25 mg
- Volume Pelarut : 25 mL

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi larutan DPPH (PPM)} &= \frac{mg}{mL} \times 1000 \\ &= \frac{1,25mg}{25mL} \times 1000 \\ &= 50ppm\end{aligned}$$

2. Pembuatan larutan uji kuersetin

a. Pembuatan larutan induk kuersetin

- Kuersetin = 2 mg
- Volume pelarut = 10 mL
- Konsentrasi larutan induk $= \frac{mg}{mL} \times 1000$
 $= \frac{2mg}{10mL} \times 1000$
 $= 200 \text{ ppm}$

b. Pengenceran konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm

Rumus $M_1.V_1 = M_2.V_2$

- 10 ppm $= \frac{10ppm \times 10mL}{200ppm} = 0,5mL$
- 20 ppm $= \frac{20ppm \times 10mL}{200ppm} = 1mL$

- $30 \text{ ppm} = \frac{30\text{ppm} \times 10\text{mL}}{200\text{ppm}} = 1,5\text{mL}$
- $40 \text{ ppm} = \frac{40\text{ppm} \times 10\text{mL}}{200\text{ppm}} = 2\text{mL}$
- $50 \text{ ppm} = \frac{50\text{ppm} \times 10\text{mL}}{200\text{ppm}} = 2,5\text{mL}$

3. Pembuatan larutan uji ekstrak etanol daun bawang merah

a. Pembuatan larutan induk ekstrak etanol daun bawang merah

- Ekstrak kental = 10 mg
- Volume pelarut = 10 mL
- Konsentrasi larutan induk = $\frac{10\text{mg}}{10\text{mL}} \times 1000$
= 1000ppm

b. Pembuatan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm

Rumus $M_1.V_1 = M_2.V_2$

- $50 \text{ ppm} = \frac{50\text{ppm} \times 10\text{mL}}{1000\text{ppm}} = 0,5\text{mL}$
- $100 \text{ ppm} = \frac{100\text{ppm} \times 10\text{mL}}{1000\text{ppm}} = 1\text{mL}$
- $150 \text{ ppm} = \frac{150\text{ppm} \times 10\text{mL}}{1000\text{ppm}} = 1,5\text{mL}$
- $200 \text{ ppm} = \frac{200\text{ppm} \times 10\text{mL}}{1000\text{ppm}} = 2\text{mL}$
- $250 \text{ ppm} = \frac{250\text{ppm} \times 10\text{mL}}{1000\text{ppm}} = 2,5\text{mL}$

Lampiran 8. Perhitungan % Inhibisi Uji Antioksidan

Perhitungan % Inhibisi Kuersetin

Replikasi 1			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
10 ppm	0,531	0,342	35,593
20 ppm	0,531	0,255	51,977
30 ppm	0,531	0,214	59,698
40 ppm	0,531	0,193	63,653
50 ppm	0,531	0,152	71,375
Replikasi 2			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
10 ppm	0,531	0,339	36,158
20 ppm	0,531	0,248	53,296
30 ppm	0,531	0,210	60,452
40 ppm	0,531	0,189	64,407
50 ppm	0,531	0,146	72,505
Replikasi 3			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
10 ppm	0,531	0,327	38,418
20 ppm	0,531	0,240	54,802
30 ppm	0,531	0,209	60,64
40 ppm	0,531	0,188	64,595
50 ppm	0,531	0,140	73,635

Perhitungan % Inhibisi Ekstrak

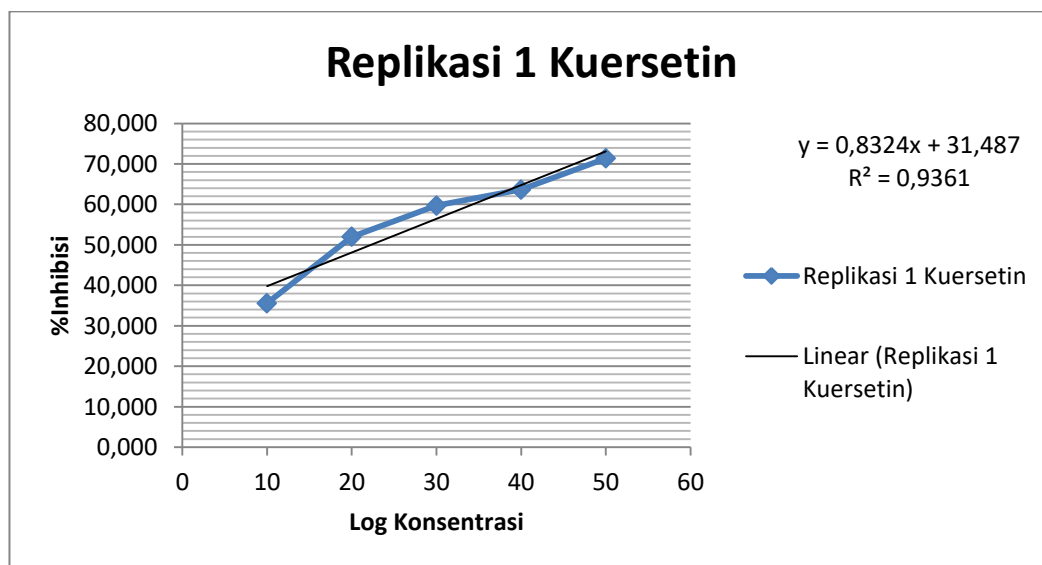
Replikasi 1			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
50	0,576	0,351	39,062
100	0,576	0,336	41,666
150	0,576	0,296	48,611
200	0,576	0,272	52,777
250	0,576	0,267	53,645

Replikasi 2			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
50	0,576	0,335	41,840
100	0,576	0,307	46,701
150	0,576	0,284	50,694
200	0,576	0,265	53,993
250	0,576	0,255	55,729

Replikasi 3			
Konsentrasi	Blanko	Absorbansi	% Inhibisi
50	0,576	0,334	42,013
100	0,576	0,294	48,958
150	0,576	0,276	52,083
200	0,576	0,266	53,819
250	0,576	0,258	55,208

Replikasi 1

Konsentrasi	% Inhibisi
10	35,593
20	51,977
30	59,698
40	63,653
50	71,375



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

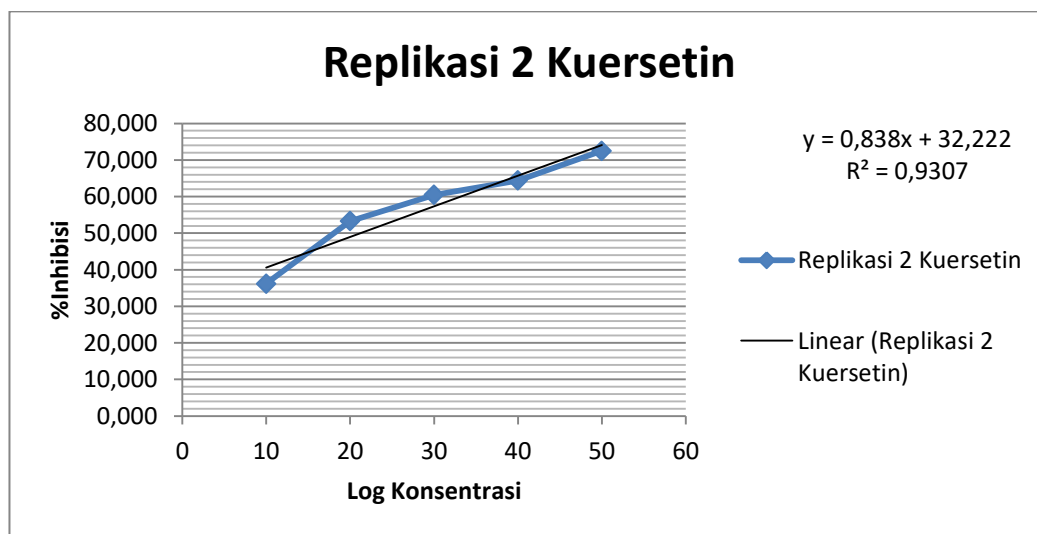
$$50 = 0,8324x + 31,487$$

$$50 - 31,487 : 0,8324$$

$$X = 22,24 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 2

Konsentrasi	% Inhibisi
10	36,158
20	53,296
30	60,452
40	64,407
50	72,505



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

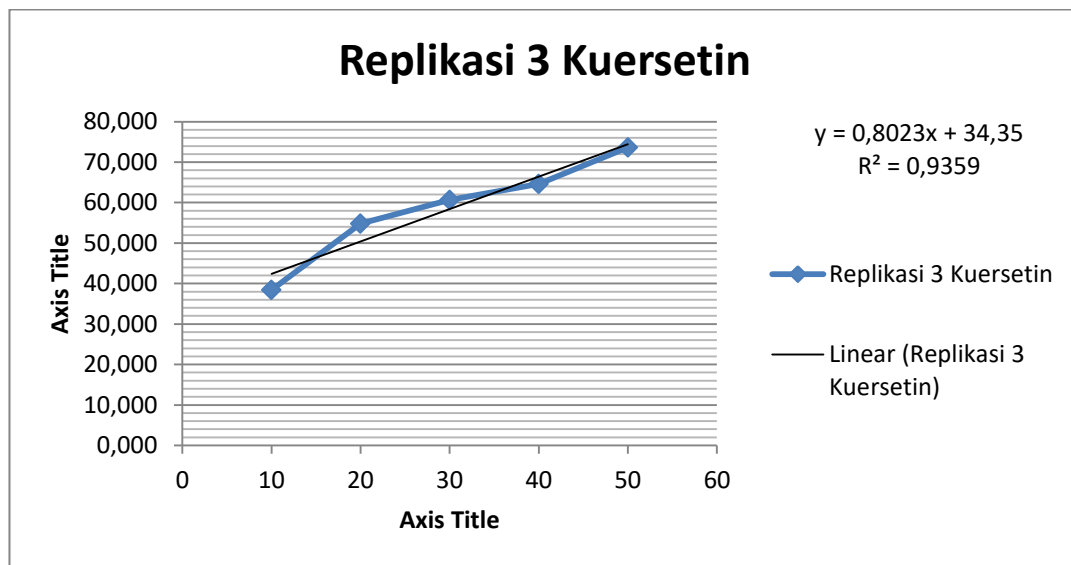
$$50 = 0,8381x + 32,222$$

$$50 - 32,222 : 0,8381x$$

$$X = 21,212 \mu\text{g/mL}$$

Replikasi 3

Konsentrasi	% Inhibisi
10	38,418
20	54,802
30	60,64
40	64,595
50	73,635



Persamaan Linier

$$Y = bx + a$$

$$50 = 0,8023x + 34,35$$

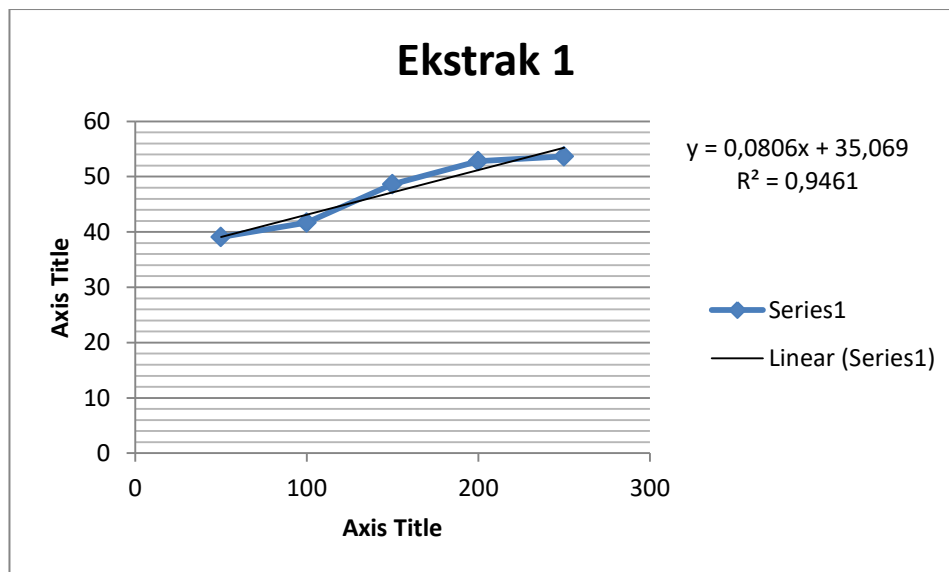
$$50 - 34,35 : 0,8381x$$

$$X = 19,506 \mu\text{g/mL}$$

IC ₅₀ (Replikasi)			X ± RSD	Kategori
1	2	3		
22,24	21,212	19,506	20,986 ± 1,369 μg/mL	Sangat kuat

Perhitungan IC50 Ekstrak

Konsentrasi	% Inhibisi
10	38,418
20	54,802
30	60,64
40	64,595
50	73,635



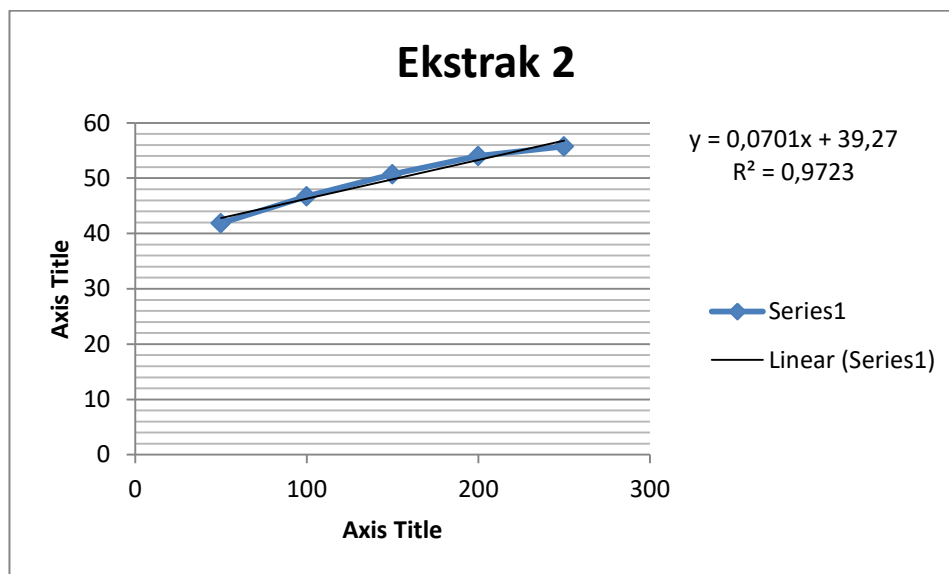
$$Y = bx + a$$

$$y = 0,0806x + 35,069$$

$$50 - 35,069 : 0,0806$$

$$X = 185,248 \mu\text{g/mL}$$

Konsentrasi	% Inhibisi
10	38,418
20	54,802
30	60,64
40	64,595
50	73,635



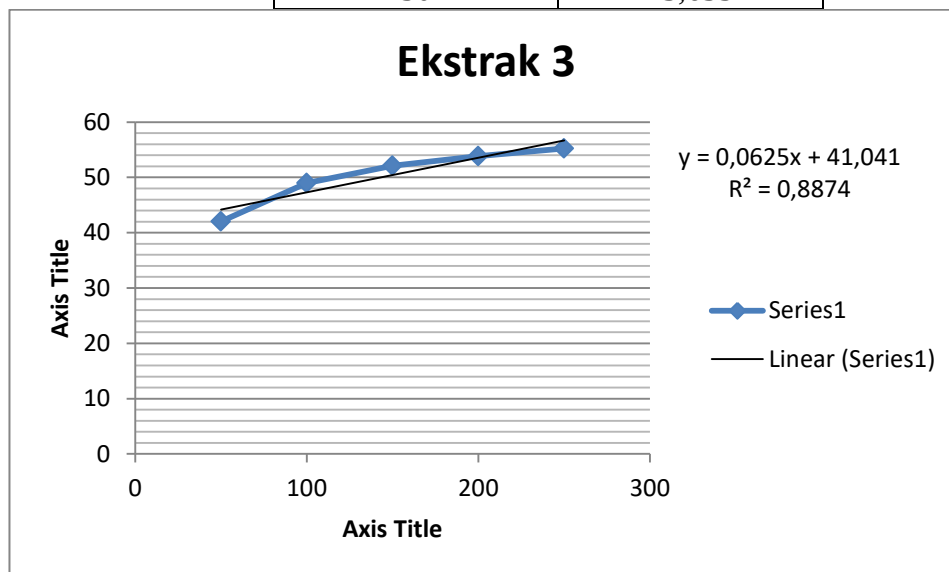
$$Y = bx + a$$

$$y = 0,0701x + 39,27$$

$$50 - 39,27 : 0,0701x$$

$$X = 153,067 \mu\text{g/mL}$$

Konsentrasi	% Inhibisi
10	38,418
20	54,802
30	60,64
40	64,595
50	73,635



$$Y = bx + a$$

$$y = 0,0625x + 41,041$$

$$50 - 41,041 : 0,0625$$

$$X = 143,344 \mu\text{g/mL}$$

IC ₅₀ (Replikasi)			X ± RSD	Kategori
1	2	3		
185,248	153,067	143,344	160,553 ± 21,932 μg/mL	Lemah

Lampiran 9 Hasil Uji Statistik

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kuersetin	.232	3	.	.980	3	.728
ekstrak	.300	3	.	.913	3	.427
a. Lilliefors Significance Correction						

Levene's Test for Equality of Variances				t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
ekstrak dan kuersetin	Equal variances assumed	9.594	.036	-11.000	4	.000	-139.567000	12.687572	-174.793347	-104.340653
	Equal variances not assumed			-11.000	2.016	.008	-139.567000	12.687572	-193.747750	-85.386250

Lampiran 11 Bukti Seminar Proposal dan Seminar Hasil

BUKTI SEMINAR PROPOSAL

Nama : Muhammad Apriyandi

NIM : 18040063



BUKTI SEMINAR HASIL

Nama : Muhammad Apriyandi

NIM : 18040063

