

Standarisasi Spesifik dan Non Spesifik Simplisia dan Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal Terfermentasi (*Allium sativum* Linn.)

Renna Yulia Vernanda*, Maria Revina Puspitasari, Hadiano Nur Satya
Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

Bawang putih yang telah mengalami proses fermentasi (Black garlic) telah terbukti memiliki kandungan total polifenol dan flavonoid yang lebih besar dibandingkan bawang putih segar. Salah satu varietas bawang putih adalah bawang putih tunggal (*Allium sativum* Linn.) yang hanya berisi satu umbi utuh yang kecil. Pada penelitian ini dilakukan standarisasi spesifik dan non spesifik simplisia dan ekstrak bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) yang diambil dari tiga daerah berbeda: Temanggung, Bromo, dan Banyuwangi. Hasil standarisasi spesifik dan non spesifik simplisia adalah bentuk bulat lonjong, warna coklat kehitaman, dan bau khas; kadar sari larut air >25%, kadar sari larut etanol >26%, total senyawa polifenol >4,5% b/b, total senyawa flavonoid >0,6% b/b, kandungan kimia yang terdapat pada simplisia adalah polifenol, flavonoid, dan saponin; kadar abu total <1,69%; kadar abu tidak larut asam <0,39%; kadar abu larut air <1,5%; pH 5 -6,5, dan susut pengeringan <13,50%. Hasil standarisasi spesifik dan non spesifik ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum* Linn.) terfermentasi adalah bentuk ekstrak kental, warna hitam kecoklatan, dan bau khas; kadar sari larut air >81%, kadar sari larut etanol >84%, total senyawa polifenol >12% b/b, total senyawa flavonoid >2% b/b; kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak adalah polifenol dan flavonoid; kadar abu total <4%, kadar abu tidak larut asam <0,25%, kadar abu larut air <3,5%, pH 5,5 – 6,5, dan bobot jenis 1,004-1,011.

Kata kunci: Bawang putih tunggal, Fermentasi, *Black garlic*, *Allium sativum* Linn., Standarisasi spesifik, Standarisasi non spesifik

Standardization of Specific and Non-Specific Dried Fermented Single Bulb Garlic and Fermented Single Bulb Garlic Extract (*Allium sativum* Linn.)

Garlic that has undergo a fermentation process (Black garlic) has been shown to have a total content of flavonoids and polyphenols greater than fresh garlic. One of garlic varieties is single bulb Garlic (*Allium sativum* Linn.) which contains only one small bulb. This study aims to determine specific and non specific standardization of dried fermented single bulb Garlic and ethanol extract of fermented single bulb Garlic (*Allium sativum* Linn.). Samples were collected from three different regions: Temanggung, Bromo and Banyuwangi. The results of the study showed that dried fermented single bulb garlic have round shape oval, brown color blackish, and aromatic odor; water soluble content >25%, ethanol soluble content >26%, total polyphenols >4.5% b/b, total flavonoids >0.6% b/b; dried fermented single bulb Garlic contain polyphenols, flavonoids, and saponins; total ash content <1.69%, insoluble ash content <0.39%, water soluble ash content <1.5%, pH 5-6.5, and shrinkage drying <13.50%. The specific and nonspecific standardization result of ethanol extract showed were semisolid paste, a brownish black color, and a aromatic odor; water soluble content >81%, ethanol soluble content >84%, total polyphenols >12% b/b, total flavonoids >2% b/b; the ethanol extract contain polyphenols and flavonoids; total ash content <4%, acid insoluble ash content <0.25%, water soluble ash content <3.5%, pH 5.5 – 6.5, and density 1.004-1.011.

Keywords: Garlic, Fermentation, *Black garlic*, *Allium sativum* Linn., Specific parameter standardization, Non-specific parameter standardization

*Corresponding author: Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jl. Raya Kalisari Selatan No. 1 Surabaya, e-mail: rena_yulia@ukwms.ac.id

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kematian. Banyak upaya telah dilakukan untuk mengatasi penyakit kanker, diantaranya adalah mencari sumber obat baru. Salah satu upaya penemuan obat baru yang banyak dilakukan adalah dengan pengembangan senyawa aktif atau obat melalui modifikasi struktur senyawa yang telah diketahui aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Untuk mendapatkan senyawa baru yang mempunyai aktivitas lebih tinggi maka diperlukan suatu pemrosesan.

Proses fermentasi pada bawang putih menyebabkan komponen yang tidak stabil pada bawang putih, seperti *allicin* dapat diubah menjadi komponen yang lebih stabil yaitu *S-allylcysteine* (SAC) dan *tetrahydro-β-carbolines* yang merupakan antioksidan yang larut dalam air (Lee *et al.*, 2009; Choi, Cha dan Lee, 2014). Proses fermentasi ini menghasilkan bawang hitam (*black garlic*) yang sebelumnya banyak ditemukan di Korea dan Jepang sebagai produk makanan kesehatan. *Black garlic* dibuat melalui proses yang membutuhkan temperatur tinggi dan kelembaban tinggi yang nantinya menyebabkan perubahan warna dari putih menjadi hitam karena komponen di dalamnya yang mengalami *browning*.

Black garlic yang dibuat dengan cara fermentasi selama 21 hari mengandung total polifenol ($58,33 \pm 1,90$ mg GAE/g) dan total flavonoid ($15,37 \pm 0,52$ mg RE/g) lebih tinggi dibanding proses fermentasi selama 7 dan 14 hari (Choi, Cha dan Lee, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Kima, Kanga dan Gweonb (2013) menyatakan bahwa ekstraksi *black garlic* yang difermentasi pada suhu 70°C dan kelembaban 60% mengandung epikatekin, epigallocatekin, galat, dan kuersetin.

Black garlic yang diekstraksi secara panas mengandung komponen kimia dan memiliki biofungsional yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak bawang putih segar. *Black garlic* mengandung sejumlah asam amino dan substansi organo-sulfur, *S-allyl-L-cysteine* (SAC) yang mempunyai potensi antitumor (Jin-ichi Sasaki *et al.*, 2007). *Black garlic* yang diekstraksi secara panas kaya akan *S-allyl-L-cysteine* (SAC) dan memiliki aktivitas antitumor sampai 50% pada tikus fibrosarkoma (Wang *et al.*, 2010).

Pada penelitian ini akan dilakukan penelitian standarisasi simplisia dan ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum* Linn.) secara spesifik dan non spesifik. Bawang putih tunggal merupakan varietas yang terbentuk tidak sengaja karena lingkungan penanaman yang tidak cocok. Umbi dari tanaman ini hanya berisi satu umbi utuh yang kecil. Parameter standarisasi spesifik yang dilakukan meliputi organoleptis, identitas, makroskopis, mikroskopis, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, *skinning* fitokimia, dan penetapan kadar bahan aktif. Parameter standarisasi non spesifik yang

dilakukan meliputi parameter kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, bobot jenis, dan pH.

Umbi bawang putih tunggal yang distandarisasi dalam penelitian ini berasal dari tiga wilayah berbeda, yaitu: Temanggung, Bromo, dan Banyuwangi. Temanggung merupakan daerah yang terletak di Provinsi Jawa Tengah dengan luas wilayah 87,065 Ha. Umumnya berhawa dingin dimana udara pegunungan berkisar antara 20°C - 30°C. Bercurah hujan cukup tinggi dan permukaan wilayahnya termasuk dataran tinggi. Daerah ini memiliki ketinggian antara 500-1450 m di atas permukaan laut. Secara geomorfologi, termasuk daerah dengan dataran, perbukitan, pegunungan, lembah, dan gunung dengan sudut lereng antara 0-70% (landai sampai dengan sangat curam) (Pemerintah Kabupaten Temanggung, 2017). Daerah Bromo terletak di Provinsi Jawa Timur. Daerah Bromo memiliki suhu udara 3°C – 20°C dengan curah hujan rata-rata 6.600 mm/tahun dan ketinggian 2.329 m di atas permukaan laut (Dinas Kominfo, 2008). Daerah Banyuwangi terletak di Provinsi Jawa Timur. Daerah ini umumnya memiliki suhu udara 22°C – 30°C dengan curah hujan 81,45 mm dan ketinggian 25-100 m di atas permukaan laut (Pemerintah Kabupaten Banyuwangi, 2019).

METODE PENELITIAN

Alat

Timbangan analitik (Santorius, Germany); *oven* (Memmert, Germany); *multiplate reader* (Multiskan GoThermo Scientific); spektrofotometer UV-VIS (Hitachi, Japan); *waterbath*; alat fermentasi; pipa kapiler 10 µL; *microtube sentrifuge* (Eppendorf, Germany); mikropipet ukuran 1-10 µL (Orange, USA), 10-100 µL (Orange, USA), dan 100-1000 µL (Orange, USA); cawan porselen; gelas ukur; beker gelas; labu erlenmeyer; batang pengaduk; corong; corong pisah; *blue tip*; *yellow tip*; alat-alat gelas; kertas saring bebas abu (Whatman No 1); kertas saring; dan tabung reaksi.

Bahan

HCl pekat, HCl 2M, HCl 10%, CHCl₃, H₂SO₄ 2 N, NH₄OH, NaOH 1 N, FeCl₃, NaCl, AlCl₃, Na₂CO₃ 7%, Vanilin Sulfat, Kalium asetat, Na-asetat, Amoniak, Pereaksi Steasny, Pereaksi Liebermann Burchard, reagen Dragendorff, reagen Mayer, reagen Folin Ciocalteu, Quersetin, Asam galat, Eter, Gelatin, serbuk Mg, Butanol, Asam asetat glasial, Metanol, Toluena, Etil asetat, Amil alkohol, Etanol 96%, Etanol p.a, Akuades, dan bawang putih tunggal (*Allium sativum*). Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari tiga wilayah yang berbeda.

Tahapan Penelitian

Proses Fermentasi dan Pembuatan Simplisia

Black garlic dibuat dengan menjaga bawang putih tunggal yang segar dalam suhu 65-75°C dan kelembaban 70-75% selama 21 hari

tanpa penambahan perlakuan dan zat tambahan lainnya. Bawang putih tunggal segar akan mengalami perubahan warna dari putih menjadi coklat dan akhirnya menjadi berwarna hitam kurang lebih sebulan kemudian. Proses ini disebabkan oleh reaksi *Maillard* dan *Browning*. Hasil yang didapat merupakan simplisia bawang putih tunggal yang terfermentasi (Wang *et al.*, 2010)

Proses Pembuatan Ekstrak

Simplisia bawang putih tunggal terfermentasi sebanyak 250 gram dihaluskan, kemudian diekstraksi secara dingin dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% (1:3). Remaserasi sebanyak 3x tiap 1 jam kemudian disaring dengan kain sebanyak 2x dan disaring dengan kertas saring sebanyak 1x. Lalu, filtrat yang diperoleh diuapkan pada suhu 50-60°C.

Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Pengamatan secara makroskopis umbi bawang putih tunggal (*Allium sativum* Linn.) dilakukan dengan mengamati bentuk, warna kulit, panjang, dan diameter umbi. Pengamatan mikroskopis dengan membuat irisan melintang dan membujur pada umbi, lalu diamati pada media air, kloralhidrat, dan Floroguchin HCl.

Standarisasi Simplisia

a. Standarisasi Spesifik

1. Identitas

Parameter identitas dilakukan dengan tujuan memberikan identitas objektif dari nama tumbuhan. Deskripsi tata nama mencakup nama ekstrak atau simplisia, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan serta nama Indonesia tumbuhan (Dirjen POM RI, 2000).

2. Pemeriksaan Organoleptis

Uji organoleptik dilakukan dengan pengamatan terhadap bentuk, warna, bau, dan rasa (Dirjen POM RI, 2000).

3. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Sampel sejumlah 5 gram dimaserasi selama 24 jam dengan menggunakan 100 mL campuran air kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Sejumlah 20 mL filtrat disaring dan diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal (Dirjen POM RI, 2000).

4. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Sampel sejumlah 5 gram dimaserasi selama 24 jam dengan menggunakan 100 mL etanol (95%) menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Sejumlah 20 mL filtrat disaring kemudian diuapkan hingga

kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar persen senyawa yang larut dalam etanol dihitung terhadap ekstrak awal (Dirjen POM RI, 2000).

5. Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sampel ditambah dengan serbuk Magnesium, ditambah 2 mL alkohol klorhidrik, dan ditambah 1 mL amil alkohol lalu dikocok kuat dan dibiarkan hingga memisah. Warna kuning pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

b. Uji Alkaloid

Sejumlah sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditetesi dengan HCl 2 N, lalu dibagi dalam beberapa tabung reaksi. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan reaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi Dragendorff, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga (Harborne, 1987).

c. Uji Tanin dan Polifenol

Sebanyak 3 mL sampel ditambah 100 mL akuades panas, diekstraksi, didinginkan, dan disaring. Filtrat diambil lalu dipisah menjadi 3: filtrat A, B, dan C. Filtrat A ditambah 3 tetes FeCl₃ dan jika positif akan berwarna hitam kehijauan/biru kehitaman dan menunjukkan kandungan polifenol. Filtrat B ditambah NaCl dan gelatin, positif akan muncul endapan putih. Filtrat C ditambah pereaksi Steasny, positif jika muncul endapan pink (Harborne, 1987).

d. Uji Steroid dan Triterpenoid

Larutan sampel ditambah dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Hasil positif steroid ditunjukkan oleh warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987).

e. Uji Saponin

Sebanyak 2-3 mL larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 10 mL air panas lalu didinginkan. Setelah itu, dikocok kuat-kuat selama 10 detik dan ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Hasilnya positif dengan terbentuknya buih stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit (Harborne, 1987).

6. Penetapan Total Senyawa Polifenol (Choi *et al.*, 2014)

Pembuatan Larutan Standar

Sebagai standar, dibuat kurva baku asam galat dengan konsentrasi 1000 ppm (0,025 gram dalam 100 mL etanol 96%). Larutan ini kemudian diencerkan hingga menjadi 5 macam konsentrasi untuk simplisia dan

ekstrak, yaitu: 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm. Masing-masing larutan dipipet 40 µl, kemudian ditambahkan 16 µl reagen *Folin Ciocalteu*. Larutan Na_2CO_3 7% ditambahkan sebanyak 16 µl, dikocok hingga homogen, kemudian ditambah dengan akuades hingga 400 µl, dan didiamkan selama 1 jam pada suhu ruangan. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimal 756 nm.

Pembuatan Larutan Sampel

Sampel dibuat konsentrasi 1% dengan menggunakan etanol 96% lalu diambil sebanyak 20 µL. Ditambahkan 8 µL reagen *Folin-Ciocalteu*. Setelah itu, ditambah 80 µL Na_2CO_3 7%, dan 92 µL akuades. Inkubasi selama 60 menit dalam tempat yang gelap kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 765 nm. Kadar total fenol ekstrak dan simplisia ditentukan dengan menghitung absorbansi ekstrak dan simplisia dengan pereaksi *Folin-Ciocalteu*, kemudian hasil absorbansi diplotkan dengan kurva standar total asam galat yang digunakan sebagai standar.

7. Penetapan Total Senyawa Flavonoid (Choi *et al.*, 2014)

Pembuatan Larutan Standar

Sebagai standar, dibuat kurva baku kuadrat dengan konsentrasi 1000 ppm (0,025 gram dalam 100 ml etanol 96%). Larutan ini kemudian diencerkan hingga menjadi 5 macam konsentrasi untuk simplisia dan ekstrak, yaitu: 10, 20, 40, 60, dan 80 ppm. Masing-masing larutan dipipet 30 µl kemudian ditambahkan 90 µl etanol 96%, 6 µl AlCl_3 , 6 µl kalium asetat dan 168 µl aquades. Larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit di suhu ruangan, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm.

Pembuatan Larutan Sampel

Sampel dibuat konsentrasi 1% dengan menggunakan etanol 96% lalu diambil sebanyak 20 µL. Ditambahkan 60 µL etanol p.a, 4 µL AlCl_3 , 4 µL Kalium asetat, dan 112 µL akuades. Inkubasi selama 30 menit kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 415 nm. Kadar total flavonoid ekstrak dan simplisia ditentukan dengan menghitung absorbansi ekstrak dan simplisia dengan pereaksi AlCl_3 , kemudian hasil absorbansi diplotkan dengan kurva standar total flavonoid dari quercetin yang digunakan sebagai standar (Rao, Abdurrazak dan Mohd, 2016).

b. Standarisasi Non Spesifik

1. Kadar Abu

Sampel ditimbang sebanyak 2 sampai 3 gram dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, lalu diratakan. Selanjutnya krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian

didinginkan dan ditimbang. Jika metode ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Sisa kertas dan kertas saring dalam krus yang sama kemudian dipijarkan. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, kemudian diuapkan, selanjutnya dipijarkan hingga bobot tetap dan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Dirjen POM RI, 2000).

2. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer P selama 5 menit. Bagian yang tidak larut asam dikumpulkan dan disaring melalui kertas saring bebas abu, lalu dicuci dengan air panas dan dipijarkan hingga bobot konstan dan timbang. Kadar abu yang tidak larut asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Dirjen POM RI, 2000).

3. Kadar Abu Larut Air

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu dididihkan dengan 25 mL air selama 5 menit, bagian yang tidak larut dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, lalu dicuci dengan air panas dan dipijarkan hingga bobot konstan. Kadar abu yang larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Dirjen POM RI, 2000).

4. Kadar Air

Pengukuran kadar air menggunakan metode gravimetri dilakukan dengan cara sampel sebanyak 10 gram dimasukkan dan ditimbang dengan seksama dalam wadah yang telah ditara. Ekstrak tersebut kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Setelah itu dilanjutkan dengan pengeringan dan penimbangan dengan jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%. Penetapan kadar air dengan metode ini tidak sesuai untuk ekstrak yang mempunyai kandungan minyak atsiri tinggi (Dirjen POM RI, 2000).

5. pH

pH meter dikalibrasi terlebih dahulu pada pH 4 dan pH 7. Lalu, sampel dibuat konsentrasi 1%. pH meter dimasukkan pada larutan sampel yang akan diukur. Setiap selesai mengukur satu larutan, penunjuk pada gagang pH meter disemprot dengan air bersih secukupnya dan bersihkan dengan *tissue*. Hal ini dilakukan agar pengukuran pH larutan yang diukur tidak tercampur dengan larutan yang sudah diukur sebelumnya.

6. Susut Pengeringan

Sampel sebanyak 1-2 gram diletakkan dalam botol timbangan dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu

penetapan lalu ditara. Ratakan bahan dalam botol timbangan dengan menggoyangkan botol hingga menjadi lapisan setebal kurang lebih 5-10 mm. Dimasukkan dalam ruang pengering, dibuka tutupnya, dan dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu ruang (Kemenkes RI, 2009).

7. Bobot Jenis Ekstrak

Bobot jenis sampel ditentukan terhadap hasil pengenceran sampel 1% dalam pelarut etanol 96% dengan alat piknometer. Digunakan piknometer kering, bersih, dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air pada suhu 25°C, lalu dimasukkan kedalam piknometer yang telah diisi hingga suhu 25°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

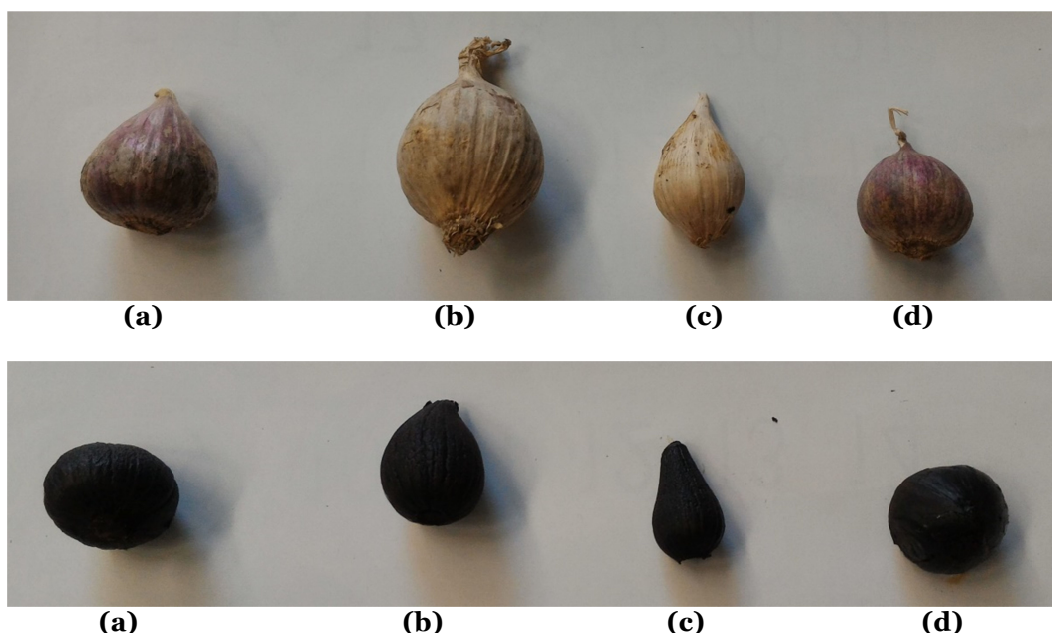
Bawang putih tunggal merupakan varietas yang terbentuk tidak sengaja karena lingkungan penanaman yang tidak cocok. Umbi dari tanaman

ini hanya berisi satu umbi utuh yang kecil. Berdasarkan hasil determinasi dari LIPI Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya Nomor B-320/IPH.3./KS/II/2019 maka umbi bawang putih tunggal dari Temanggung merah (TM), Temanggung putih (TP), Bromo (BR), dan Banyuwangi (BW) merupakan famili Amaryllidaceae. Memiliki nama latin *Allium sativum* Linn. dengan nama Indonesia bawang putih lanang atau bawang putih tunggal.

Pengamatan makroskopis pada umbi bawang putih tunggal (*Allium sativum* Linn.) memberikan hasil, yaitu: bentuk bulat lonjong, warna kulit umbi putih kemerahan/keunguan, panjang 1,5-5 cm, dan diameter 0,6-4 cm (Tabel 1 dan Gambar 1). Pengamatan mikroskopis dilakukan pada umbi bawang putih tunggal (*Allium sativum* Linn.) yang segar dengan mengamati pada irisan melintang dan membujur. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya beberapa fragmen, antara lain: epidermis, korteks, parenkim dengan tetes minyak, jaringan vaskuler (xilem dan floem), serabut, trakea, dan stomata tipe anisositik (Gambar 2).

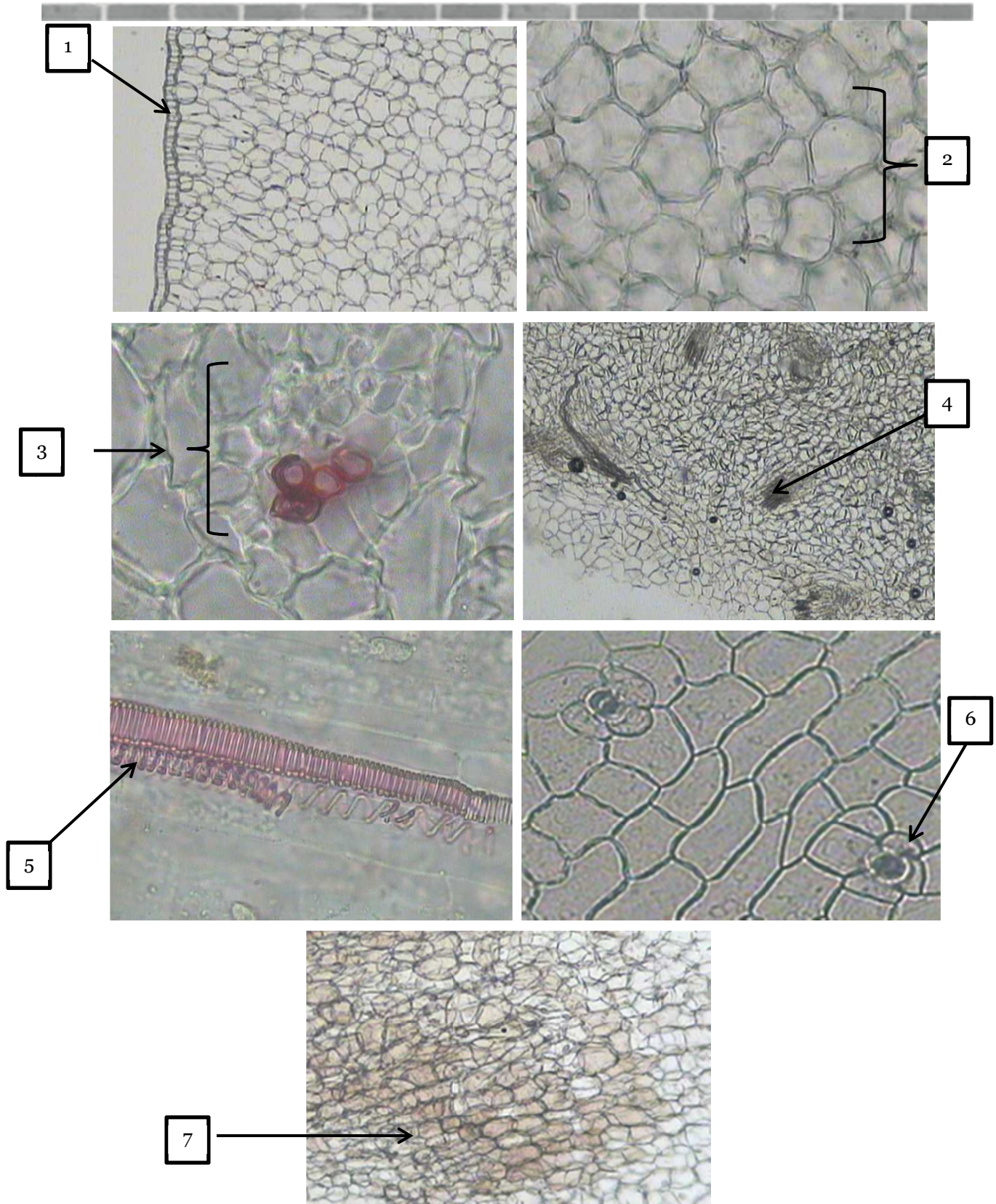
Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopis

Organoleptis	Temanggung		Bromo	Banyuwangi	Kesimpulan
	Putih	Merah			
Bentuk	Bulat lonjong	Bulat lonjong	Bulat lonjong	Bulat lonjong	Bulat lonjong
Warna kulit	Putih	Putih kemerahan	Putih	Putih keunguan	Putih Merah keunguan
Panjang	3 -4,7 cm	1,8-3 cm	2,2 – 4,6 cm	2,3 – 8 cm	1,5 – 9 cm
Lebar	1,4 -3,8 cm	1,6-2,8 cm	0,8 – 2,7 cm	2,4 – 3,2 cm	0,6 – 4 cm



Gambar 1. Bawang putih tunggal yang segar (atas) dan yang telah mengalami fermentasi selama 21 hari (bawah).

Keterangan: a) Temanggung merah, b) Temanggung putih, c) Bromo, d) Banyuwangi



Gambar 2. Umbi Bawang Putih Tunggal pada Media Air dengan Perbesaran 10 x 42,3

Keterangan: 1. Epidermis, 2. Kortex, 3. Jaringan vaskular (xilem dan floem), 4. Serabut, 5. Trakea, 6. Stomata tipe anisotitik, 7. Parenkim mengandung minyak.

Pembuatan simplisia bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) dilakukan sesuai dengan metode Wang *et al* (2010) melalui proses fermentasi selama 21 hari pada suhu 65-75°C dan kelembaban 70-75% tanpa penambahan

perlakuan dan zat tambahan lainnya. Fermentasi selama 21 hari menyebabkan bawang memiliki kandungan polifenol dan flavonoid lebih besar dibanding ketika difermentasi selama 7 hari, 14 hari, atau 28 hari. Hasil rendemen simplisia

masing-masing daerah, yaitu: 86,67% (Temanggung Putih), 85,42% (Temanggung Merah), 88,75% (Bromo), dan 76,67% (Banyuwangi). Hasil organoleptis dari simplisia bawang putih tunggal terfermentasi adalah bentuk bulat lonjong, warna hitam, dan memiliki bau khas dengan nama simplisia adalah Alii Sativi Bulbus.

Proses ekstraksi bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Remaserasi dilakukan sebanyak 3x tiap 1 jam. Hasil rendemen untuk ekstrak adalah: 35,60% (Temanggung Putih), 36,4% (Temanggung Merah), 27,25% (Bromo), dan 34,80% (Banyuwangi). Jumlah rendemen ekstrak lebih sedikit dibanding simplisia hal ini bisa disebabkan karena waktu perendaman yang belum maksimal dan pemilihan pelarut yang kurang sesuai sehingga rendemen yang didapatkan jumlahnya sedikit. Pada penelitian Wang *et al* (2010), proses ekstraksi bawang putih terfermentasi menggunakan pelarut air tetapi untuk mencegah kerusakan ekstrak akibat tumbuhnya kapang dan jamur maka dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) yang dihasilkan merupakan ekstrak kental, berwarna hitam kecoklatan, dan memiliki bau khas. Nama ekstrak dari bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) adalah *Allium Sativum Extractum Spissum*.

Penetapan kadar sari larut air dan etanol bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan yang terlarut dalam pelarut tertentu. Hasil penetapan kadar sari larut etanol simplisia adalah >26% dan kadar sari larut air simplisia >25% dapat dilihat pada Tabel 2. Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia dipengaruhi oleh umur tanaman, waktu panen, dan iklim tempat tumbuh. Hasil ini menunjukkan senyawa aktif dalam simplisia bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) mudah tersari ke dalam pelarut polar maupun nonpolar. Kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol simplisia bawang putih tunggal terfermentasi dari Banyuwangi memiliki nilai paling rendah dibanding yang lain karena rendemen simplisia yang didapatkan juga paling rendah yaitu 76,67%.

Pada ekstrak, kadar sari larut etanol (>84%) dan kadar sari larut air (>81%) nilainya lebih tinggi dibanding simplisia. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar senyawa dalam ekstrak lebih banyak dibanding simplisia meskipun rendemen ekstrak kecil. Komponen senyawa-senyawa metabolit sekunder banyak tersari pada pelarut organik seperti etanol dibandingkan pelarut anorganik (Marissa *et al*, 2015).

Identifikasi golongan senyawa dilakukan dengan cara skrining fitokimia. Senyawa yang terkandung pada simplisia adalah polifenol,

flavonoid, dan saponin sedangkan ekstrak mengandung polifenol dan flavonoid. Uji polifenol positif setelah penambahan FeCl_3 dengan terbentuknya warna hitam. Ion Fe^{3+} berperan dalam mengalami hibridisasi. Pada uji flavonoid, penambahan HCl dan logam Mg untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam senyawa flavonoid sehingga terbentuk warna merah tua jingga pada senyawa tersebut.

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Kimura *et al* (2017) bahwa bawang yang telah mengalami proses fermentasi (*black garlic*) memiliki kandungan polifenol dan flavonoid. Penetapan kadar polifenol dan flavonoid dilakukan secara spektrofotometri. Pada uji polifenol menggunakan reagen *Follin Ciocalteu* dan Na_2CO_3 . Gugus hidroksil pada senyawa fenolik akan bereaksi dengan reagen *Folin Ciocalteu* membentuk kompleks berwarna biru (Alvian dan Susanti, 2012). Dari hasil penelitian didapatkan persen kadar polifenol pada simplisia adalah Temanggung Putih (TP) 6,624% b/b, Temanggung Merah (TM) 6,217% b/b, Bromo (BR) 4,714% b/b, dan Banyuwangi (BW) 6,7% b/b (Tabel 2). Sedangkan, pada ekstrak adalah TP 14,271% b/b, TM 13,213% b/b, BR 14,841% b/b, dan BW 12,393% b/b. Standar yang digunakan adalah asam galat dengan nilai $r=0,989$ dan persamaan $y=0,0014x+0,0387$. Kadar polifenol yang tertinggi pada simplisia adalah daerah Banyuwangi (6,7% b/b) dan paling rendah daerah Bromo (4,714% b/b). Hasil ini berbanding terbalik dengan kadar polifenol pada ekstrak, Banyuwangi (12,393 % b/b) dan Bromo (14,841% b/b). Kandungan total senyawa polifenol simplisia dan ekstrak masing-masing adalah >4,5% b/b dan >12 % b/b. Secara garis besar menunjukkan kandungan paling banyak terdapat pada ekstrak dibanding pada simplisia.

Pada penetapan kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri AlCl_3 dengan pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Metode ini dapat juga digunakan untuk menentukan jumlah golongan flavon dan flavonol. Standar yang digunakan adalah kuersetin dengan nilai $r=0,995$ dan persamaan garis $y=0,0025x-0,0148$. Kadar flavonoid pada simplisia adalah TP (1,313% b/b), TM (1,324 % b/b), BR (0,792% b/b), dan BW (1,227% b/b). Kadar flavonoid pada ekstrak adalah TP 3,505 (% b/b), TM 3,295 (% b/b), BR 4,175 (% b/b), dan BW 2,724 (% b/b) (Tabel 3). Dengan persamaan $y=0,0025x-0,0148$ dan $r=0,995$. Kadar flavonoid tertinggi pada simplisia adalah Temanggung Putih (1,313% b/b) dan terendah Bromo (0,792% b/b). Pada ekstrak yang tertinggi adalah dari Bromo (4,175% b/b) dan terendah Banyuwangi (2,724% b/b). Kandungan total senyawa flavonoid simplisia dan ekstrak, masing-masing sebesar >0,6 % b/b dan >2% b/b.

Tabel 2. Hasil Standarisasi Parameter Spesifik Simplisia

Parameter Pengujian	Lokasi Tumbuh				Kesimpulan
	Temanggung		Bromo	Banyuwangi	
	Putih	Merah			
Identitas Simplisia					
Nama Latin:	Allium sativum Linn.				
Bagian Tanaman:	Umbo				
Organoleptis	Bulat lonjong				
Bentuk:	Coklat Kehitaman				
Warna:	Khas				
Bau:					
Kadar Sari Larut Air (%)	32,286±1,225	43,147±1,404	57,381±1,567	25,714±0,278	>25
Kadar Sari Larut Etanol (%)	34,138±1,075	34,435±1,014	29,885±0,420	26,932±0,624	>26
Kandungan Kimia	Polifenol, Flavonoid, dan Saponin				
Total Senyawa Polifenol (% b/b)	6,624	6,217	4,714	6,7	>4,5
Total Senyawa Flavonoid (% b/b)	1,313	1,324	0,792	1,227	>0,6

Tabel 3. Hasil Standarisasi Parameter Spesifik Ekstrak

Parameter Pengujian	Lokasi Tumbuh				Kesimpulan
	Temanggung		Bromo	Banyuwangi	
	Putih	Merah			
Identitas Simplisia					
Nama Latin:	Allium Sativum Linn.				
Bagian:	Umbi				
Organoleptis	Ekstrak kental				
Bentuk:	Hitam Kecoklatan				
Warna:	Khas				
Bau:	Khas				
Kadar Sari Larut Air (%)	96,889±0,696	96,348±0,456	82,672±0,904	95,174±1,123	>81
Kadar Sari Larut Etanol (%)	96,471±1,847	98,364±0,548	99,133±0,165	84,669±0,639	>84
Kandungan Kimia	Polifenol dan Flavonoid				
Total Senyawa Polifenol (% b/b)	14,271	13,213	14,841	12,393	>12
Total Senyawa Flavonoid (% b/b)	3,505	3,295	4,175	2,724	>2

Standarisasi non spesifik yang dilakukan dalam penelitian adalah kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, pH, susut pengeringan (simplisia), kadar air (ekstrak), dan bobot jenis (ekstrak). Kadar abu total memberikan gambaran kandungan mineral baik eksternal maupun internal. Penentuan kadar abu diukur dengan memasukkan ekstrak ke dalam tanur dengan temperatur 450°C sampai terbentuk abu. Simplisia dan ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan hanya tersisa senyawa anorganik saja. Kadar abu total simplisia adalah <1,69 dan ekstrak <4%. Berdasarkan Kepmenkes RI Nomor 261/MENKES/SK/IV/2009 bahwa kadar abu ekstrak tidak boleh lebih dari 10,2 %. Jadi nilai kadar abu total yang didapatkan sesuai dengan standar.

Kadar abu tidak larut asam menunjukkan kandungan mineral eksternal, masing-masing

untuk simplisia <0,39% dan ekstrak <0,25%. Kadar abu larut air menunjukkan adanya kandungan mineral internal yang berupa kandungan alami yang terdapat pada simplisia dan ekstrak itu sendiri. Untuk kadar abu larut air simplisia dan ekstrak masing-masing adalah <1,5% dan <3,5%. Ini menunjukkan bahwa kandungan mineral internal yang diinginkan lebih besar dibanding kandungan mineral eksternal yang tidak diinginkan yang biasanya berupa senyawa-senyawa pengotor dan logam.

Hasil pengukuran pH simplisia bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) untuk simplisia adalah 5 – 6,5 dan ekstrak 5,5 – 6,5. Pada simplisia diukur nilai susut pengeringan pada suhu 105°C sampai berat konstan yang dinyatakan dengan nilai persen. Pada suhu 105°C air akan menguap dan senyawa-senyawa yang mempunyai titik didih rendah dari air akan ikut menguap juga (Depkes POM RI,

2000). Adapun hasil penetapan susut pengeringan simplisia adalah TP ($10,2 \pm 0,721$ %), TM ($5,67 \pm 0,306$ %), BR ($12,33 \pm 1,137$ %), dan BW ($11,07 \pm 0,306$ %). Jadi susut pengeringan simplisia adalah $<13,50$ % (Tabel 4).

Penentuan kadar air pada ekstrak <14 % dengan masing-masing nilainya TP ($12,170 \pm 0,607$ %), TM ($12,784 \pm 0,584$ %), BR ($12,683 \pm 0,351$ %) dan BW ($13,522 \pm 0,127$ %) (Tabel 5). Kadar air yang rendah akan mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur). Nilai kadar air digunakan untuk memberi batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam ekstrak. Makin tinggi kadar air makin mudah untuk ditumbuhi mikroorganisme dan kapang (jamur). Hal ini dapat menurunkan

aktivitas biologi ekstrak dalam masa penyimpanan. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2009), umumnya kandungan kadar air yang dipersyaratkan adalah kurang dari 10% (Kemenkes RI, 2009). Sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar air ekstrak bawang putih tunggal terfermentasi masih tinggi dan belum memenuhi standar. Pengukuran bobot jenis ekstrak untuk memberikan nilai besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus untuk melihat kemampuan ekstrak cair sampai ekstrak pekat dapat dituang. Hasil bobot jenis ekstrak bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) adalah 1,004-1,011.

Tabel 4. Hasil Standarisasi Parameter Non Spesifik Simplisia

Parameter Pengujian	Lokasi Tumbuh				Kesimpulan
	Temanggung		Bromo	Banyuwangi	
	Putih	Merah			
Kadar Abu Total (%)	1,315±0,036	1,620±0,052	1,641±0,044	1,481±0,012	<1,69
Kadar Abu Tidak Larut Asam (%)	0,260±0,031	0,225±0,031	0,275±0,05	0,338±0,055	<0,39
Kadar Abu Larut Air (%)	1,013±0,014	1,395±0,031	1,332±0,009	1,187±0,038	<1,5
pH	5,717±0,006	5,910±0,154	6,067±0,015	5,673±0,023	5 – 6,5
Susut Pengeringan (%)	10,2±0,721	5,67±0,306	12,33±1,137	11,07±0,306	<13,50

Tabel 5. Hasil Standarisasi Parameter Non Spesifik Ekstrak

Parameter Pengujian	Lokasi Tumbuh				Kesimpulan
	Temanggung		Bromo	Banyuwangi	
	Putih	Merah			
Kadar Abu Total (%)	3,640±0,059	2,535±0,008	3,779±0,049	2,740±0,004	<4
Kadar Abu Tidak Larut Asam (%)	0,210±0,032	0,180±0,027	0,194±0,002	0,190±0,005	<0,25
Kadar Abu Larut Air (%)	3,381±0,086	2,262±0,079	3,010±0,573	2,540±0,006	<3,5
pH	5,977±0,015	6,13±0,026	5,717±0,006	5,983±0,015	5,5 – 6,5
Kadar Air (%)	12,170±0,607	12,784±0,584	12,683±0,351	13,522±0,127	<14
Bobot Jenis (g/cm³)	1,005±0,001	1,007±0,001	1,010±0,001	1,007±0,002	1,004-1,011

KESIMPULAN

Hasil standarisasi spesifik dan nonspesifik simplisia bawang putih tunggal terfermentasi (*Allium sativum* Linn.) adalah bentuk bulat lonjong, warna coklat kehitaman, dan bau khas; kadar sari larut air >25 %, kadar sari larut etanol >26 %, total senyawa polifenol $>4,5$ % b/b, total senyawa flavonoid $>0,6$ % b/b; kandungan kimia yang terdapat pada simplisia adalah polifenol, flavonoid, dan saponin. Kadar abu total $<1,69$ %, kadar abu tidak larut asam $<0,39$ %, kadar abu larut air $<1,5$ %, pH 5 -6,5, dan susut pengeringan $<13,50$ %.

Hasil standarisasi spesifik dan non spesifik ekstrak etanol bawang putih tunggal (*Allium sativum* Linn.) terfermentasi adalah bentuk

ekstrak kental, warna hitam kecoklatan, dan bau khas; kadar sari larut air >81 %, kadar sari larut etanol >84 %, total senyawa polifenol >12 % b/b, total senyawa flavonoid >2 % b/b; kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak adalah polifenol dan flavonoid; kadar abu total <4 %, kadar abu tidak larut asam $<0,25$ %, kadar abu larut air $<3,5$ %, kadar air <14 %, pH 5,5 – 6,5, dan bobot jenis 1,004-1,011.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada PPOT Reserach Project Pusat Penelitian Obat Tradisional Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

Alvian, Riza dan Susanti Hari, 2012, Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan Variasi tempat Tumbuh

secara Spektrofotometri, *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1): 73 – 80.

Choi, Ii Sook, Cha, Han Sam, Lee, Young Soon, 2014, Psychochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *Molecules*. Korea: Kyung Hee University.

Dirjen POM RI [Direktorat Jendral POM RI], 2000, *Parameter Standarisasi Ekstrak*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Dinas Kominfo, 2008, Profil Kabupaten, <https://probolinggakab.go.id>, diakses Oktober 2019

Harborne, J.B. 1987. *“Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan”*, Cetakan II, Diterjemahkan oleh K, Padinawinata dan I, Soediro, Penerbit ITB Bandung.

Jin-ichi Sasaki *et al*, 2007. Processed Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance Anti-Tumor Potency Againsts Mouse Tumors. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1(2): 278 – 281.

Kemenkes RI [Kementerian Kesehatan Republik Indonesia]. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia* Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Kepmenkes RI Nomor 261/MENKES/SK/IV/2009, 2009, Peraturan tentang Persyaratan Mutu Obat Tardisional, <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&q=Kepmenkes+RI+Nomor+261%2FMENKES%2FSK%2FIV%2F2009+>, diakses Oktober 2019.

Kima Jim-Sa, Ok-Ju Kanga, Oh-Cheon Gweonb, 2013, Comparison of Phenolic Acids and Flavonoids in Black Garlic. *Journal of Functional Foods* 5: 80-86.

Kimura, Shunsuke *et al*. 2017. Black Garlic: A Critical Review of Its Production, Bioactivity, and Application. *Journal of Food and Drug Analysis* 25:62-70.

Lee Young-Min, Oh-Cheon Gweon, Yeong-Ju Seo, Jieun Im, Min-Jung kang, Myo-Jeong Kim, dan Jung-In Kim, 2009, Antioxidant Effect of Garlic and Aged Black garlic in Animal Model of Type 2. *Nutrition Research and Practice* 3(2): 156-161.

Marissa, A. dkk, 2015, Karakterisasi Ekstrak Etanol Herba Katumpangan Air (*Peperomia pellucida* L. Kunth). *Biopropal Industri* 6(2):53-61.

Pemerintah Kabupaten Temanggung, 2017, Sekilas Temanggung, <https://laman.temanggungkab.go.id/info/detail/2/17/sekilas-temanggung.html>, diakses Oktober 2019.

Pemerintah Kabupaten Banyuwangi, 2019, Kabupaten Banyuwangi, <https://www.banyuwangikab.go.id/profil/gambaranumum.html>, diakses Oktober 2019.

Wang Danan, Feng Yonghui, Jun Liu, Yan Jianzhong, Wang Meiru, Sasaki Jin-Ichi, dan Lu Changlong, 2010, Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance the Immune System, *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1); 37-40.