

PENETAPAN KADAR SENYAWA *S-allyl cysteine* (SAC) PADA EKSTRAK *BLACK GARLIC* SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Ayu Rukmining Handayani¹, Romsiah^{2*}, Yopi Rikmasari³

^{1,2,3} Prodi Sarjana Farmasi STIFI Bhakti Pertiwi Palembang

Jl. Ariodillah III No. 22A Ilir Timur I Palembang, Sumatera Selatan

*Corresponding author email: romsiahchan@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai penetapan kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada ekstrak *black garlic* secara kromatografi cair kinerja tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada ekstrak *black garlic* dengan fase diam yang digunakan yaitu ODS C18 dan fase geraknya aquabidest : asetonitril (50:50 v/v) pada laju alir 1,0 ml/menit dengan panjang gelombang 195 nm. Waktu retensi yang dihasilkan 2,197 menit. Penentuan linearitas dengan kurva baku menunjukkan hubungan yang linear yaitu $r = 0,998$. Persamaan regresi yang diperoleh $y = 4,818x + 46,5$. Nilai batas deteksi (LOD) sebesar 8,973 ppm dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 29,913ppm. Hasil penetapan kadar senyawa *S-allyl cysteine* pada ekstrak *black garlic* yaitu sebesar 45,985 %, menunjukkan bahwa terdapat senyawa *S-allyl cysteine* dalam sampel ekstrak *black garlic* sehingga dapat terukur menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi yang masuk dalam nilai antioksidan kategori sedang.

Kata Kunci : *S-allyl cysteine* (SAC), *black garlic*, KCKT.

PENDAHULUAN

Bawang putih (*Allium sativum* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang telah banyak dimanfaatkan baik dalam bidang pangan maupun kesehatan. Seiring berkembangnya teknologi, pengolahan bawang putih tidak hanya secara tradisional sebagai bumbu dapur atau dikonsumsi secara langsung namun juga dapat diolah dengan cara dipanaskan untuk menghasilkan *black garlic* (Fitria, 2018). *Black garlic* adalah produk hasil pemanasan pada bawang putih pada suhu tinggi sehingga menghasilkan bawang putih yang hitam. Bawang putih yang diolah menjadi *black garlic* akan berwarna hitam, terasa manis dan sedikit asam serta tidak berbau seperti bawang putih segar. Salah satu senyawa bioaktif yang terdapat dalam *black garlic* yaitu *S-allyl cysteine*. *S-allyl cysteine* (SAC) merupakan turunan dari senyawa utama bawang putih yaitu γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein yang terbentuk melalui suatu reaksi enzimatis. Pemanasan akan menyebabkan perubahan γ -glutamil-S-

alk(en)il-L-sistein menjadi *S-allyl cysteine* (Lee dkk, 2014), sehingga kandungan *S-allyl cysteine* pada *black garlic* lima sampai enam kali lebih tinggi dibandingkan dengan bawang putih segar (Zhang dkk, 2015).

Senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) merupakan salah satu senyawa dari *black garlic* yang berfungsi sebagai antioksidan, karena pada kadar 200 $\mu\text{mol/L}$ dapat mempengaruhi siklus sel yang pada akhirnya akan menginduksi apoptosis sel. Perlakuan *S-allyl cysteine* (SAC) dapat meningkatkan enzim yang berperan sebagai media apoptosis sel, sehingga melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas (Hermawan dan Setyawan, 2003). Pada penelitian Bae dkk (2012) telah dilakukan analisis *S-allyl cysteine* pada bawang putih segar dan *black garlic* menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi detektor UV dengan dua kelompok pelarut, pelarut A menggunakan pelarut campuran 20 mmol/L natrium dihidrogen fosfat dan 10 mmol/L asam heptana sulfonat sedangkan pelarut B

menggunakan campuran asetonitril dan pelarut A dengan perbandingan 1 : 1 (v/v) sehingga didapatkan kadar *S-allyl cysteine* pada bawang putih segar sebesar 1,98 % dan pada *black garlic* sebesar 7,96 %.

Pada penelitian Lee dkk (2014) menyatakan bahwa penetapan kadar *S-allyl cysteine* (SAC) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi detektor UV dengan dua kelompok pelarut, pelarut A menggunakan 50 mM natrium asetat yang dilarutkan dalam air dan pelarut B yaitu metanol. Sampel yang digunakan ada 4 yaitu sampel 1 dan 2 menggunakan sampel bawang putih yang dipanen pada tahun 2010 sedangkan sampel 3 dan 4 menggunakan sampel bawang putih yang dipanen pada tahun 2009, semua sampel dijus lalu dipanaskan selama 1 bulan selanjutnya dilakukan penetapan kadar. Hasil yang didapatkan kadar SAC pada sampel 1 dan 2 adalah 9,9-13,5 mg/g sedangkan pada sampel 3 dan 4 adalah 5-7,5 mg/g.

Kromatografi cair kinerja tinggi merupakan metode pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi tinggi yang dapat mengidentifikasi serta menetapkan secara kuantitatif bahan dalam jumlah yang sangat kecil (Depkes, 1995). Metode kromatografi cair kinerja tinggi memiliki keunggulan antara lain dapat menganalisa senyawa-senyawa yang stabilitasnya terhadap suhu terbatas, mampu memisahkan senyawa yang sangat serupa dengan resolusi yang baik, waktu pemisahan cepat, dapat digunakan untuk analisa kuantitatif dengan baik dan dengan presisi yang tinggi dan lebih peka (Adnan, 1997). Optimasi kondisi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dilakukan dengan parameter waktu retensi, faktor kapasitas, jumlah plat teoritis, resolusi dan selektivitas (Suprianto, 2018).

METODE

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu ukur (Pyrex), beaker gelas (Pyrex), neraca analitik, pipet volumetri, corong kaca, botol aquades, satu unit alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Thermo Scientific/ Ultimate 3000) yang terdiri dari pompa, detektor uv, printer, kolom C-18,

wadah fase gerak dan Spektrofotometri UV-Visible (UV-M51).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) (PT. Sigma Aldrich), aquabides, asetonitril pro HPLC, ekstrak *black garlic* dan kertas saring whatman.

Prosedur Penelitian

1. Penyiapan Sampel

Sampel pada penelitian ini berupa ekstrak *black garlic* yang diperoleh dari penelitian (Putri, 2019). Bawang putih dibungkus menggunakan alumunium foil kemudian dimasukan ke dalam *electric rice cooker* dan dipanaskan dengan mengatur pada suhu 70-80° C dibiarkan selama 7 hari sehingga didapatkan *black garlic*. *Black garlic* 250 gram yang diperoleh dihaluskan menggunakan blender lalu dimasukan ke dalam botol maserasi dan tambahkan pelarut etanol destilat kemudian dikocok setiap hari, setelah lima hari disaring dan ampas diperas kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Setelah didapat maserat lalu didestilasi vacum dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental sebesar 81,639 gram.

2. Uji Kualitatif *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel *Black Garlic*

Uji kualitatif yang digunakan dengan cara membuat larutan baku *S-allyl cysteine* (SAC) pada konsentrasi 50 ppm dimasukan kedalam kuvet dengan aquabidest sebagai blanko yang diukur dengan Spektrofotometri-Uv pada rentang panjang gelombang 190-250 nm, lalu ditentukan panjang gelombang maksimumnya. Larutan sampel ekstrak *black garlic* konsentrasi 50 ppm dimasukan kedalam kuvet dengan aquabidest sebagai blanko yang diukur dengan Spektrofotometri-Uv, dilihat panjang gelombang yang terbentuk harus memiliki panjang gelombang yang sama atau mendekati dengan hasil dari panjang gelombang maksimum baku *S-allyl cysteine* (SAC) untuk

melihat sampel tersebut masih mengandung senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) ataupun tidak.

Uji kualitatif juga dilakukan dengan menggunakan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan cara melihat waktu retensi (tR) yang dihasilkan antara baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) dan sampel ekstrak black garlic, jika menunjukkan waktu retensi yang sama atau mendekati untuk mengetahui terdapat kandungan senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel ekstrak black garlic.

3. Penyiapan Larutan Standar *S-allyl cysteine* (SAC)

Larutan induk *S-allyl cysteine* (SAC) disiapkan dengan menimbang baku *S-allyl cysteine* (SAC) sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan aquabidest dalam labu ukur 50 ml sehingga didapatkan larutan induk baku dengan konsentrasi 200 ppm. Larutan ini disimpan dalam labu volumetrik dan untuk mendapatkan kurva kalibrasi dibuat 5 seri konsentrasi lainnya dari larutan induk baku standar yang diencerkan menggunakan aquabidest (Yoo dkk, 2010).

4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Induk (SAC)

Larutan induk baku pipet sebanyak 5 ml kemudian dimasukan ke dalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dengan aquabidest sampai tanda batas sehingga didapat konsentrasi 50 ppm untuk menentukan panjang gelombang maksimum dari *S-allyl cysteine* (SAC). Larutan standar dengan konsentrasi tersebut dimasukan kedalam kuvet dengan aquabidest sebagai blanko yang diukur dengan spektrofotometri Uv-vis pada rentang panjang gelombang 190-250 nm, lalu ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

5. Pembuatan Kurva Kalibrasi baku *S-allyl cysteine* (SAC)

Dari larutan induk baku dipipet sebanyak 5 ml; 10 ml; 15 ml dan 20 ml masing-masing dimasukan ke dalam labu ukur 10 ml lalu di

encerkan dengan aquabides, dikocok dan dicukupkan sampai tanda batas untuk membuat variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm. Kemudian masing-masing konsentrasi diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 µl pada sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada panjang gelombang maksimum. Data Kromatogram yang diperoleh kemudian digunakan untuk mencari hubungan kelinieran antara konsentrasi (x) dengan luas area kromatogram (y) dan kemudian ditentukan persamaan regresinya.

6. Validasi Metode

a. Uji Linearitas

Pada penentuan linearitas, kurva kalibrasi diperoleh dari baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) dengan seri konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm. Persamaan garis yang diperoleh selanjutnya ditentukan derajat linearnya melalui penentuan koefisien korelasi (r) dan koefisien regresi ($y = ax + b$).

b. Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) diperoleh dari jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi. Batas kuantitasi atau *Limit of Quantitation* (LOQ) diperoleh dari kualitas terkecil analit dalam sampel. Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung berdasarkan Simpangan Baku (SB) dari kurva antara respon dan kemiringan (*slope*).

7. Penetapan Kadar *S-allyl cysteine* dalam Sampel Black Garlic

Penetapan kadar *S-allyl cysteine* (SAC) dalam sampel dilakukan dengan cara menimbang ekstrak black garlic sebanyak 50 mg kemudian dimasukan kedalam labu ukur 50 ml lalu dilarutkan dengan aquabides, kocok selama 1 menit kemudian tambahkan aquabides sampai tanda batas labu ukur 50 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dipipet

Handayani, dkk

sebanyak 5 ml dari konsentrasi sampel 1000 ppm, kemudian masukan dalam labu ukur 10 ml dicukupkan dengan aquabides sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 50 ppm. Larutan sampel disaring menggunakan kertas saring whatman dengan tujuan untuk menghilangkan pengotor dan diinjeksikan sebanyak 20 µl kedalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh, lalu dihitung kadarnya dan dilakukan tiga kali pengulangan

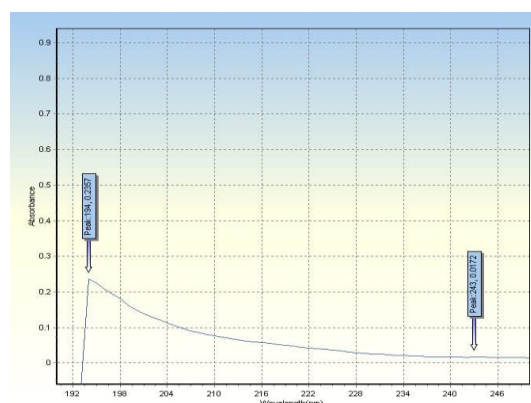
Analisa Data

Analisis data yang dilakukan yaitu uji linearitas yang didapatkan dari regresi linear yang menunjukkan hubungan linear dengan rentang variasi konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm. Lalu penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) yang dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi. Hasil yang didapat dibuat dalam bentuk tabel. Lalu dilakukan penetapan kadar senyawa *S-allyl cysteine* pada sampel dengan cara Panjang gelombang maksimum larutan baku *S-allyl cysteine* (SAC) yang dianalisis pada Spektrofotometri Uv-vis digunakan pada sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), untuk pembuatan variasi kurva kalibrasi yang menghasilkan persamaan regresi linier antara konsentrasi larutan standar dan luas puncak ($y = ax + b$), kemudian penetapan kadar *S-allyl cysteine* (SAC) dalam *black garlic* dihitung dengan mensubstitusikan nilai y dengan luas area dari sampel *black garlic*.

Hasil

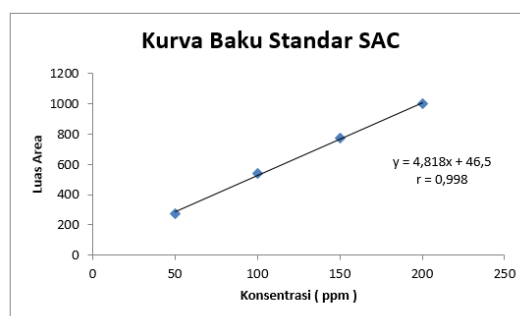
Hasil penelitian penetapan kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Penetapan panjang gelombang serapan maksimum dari *S-allyl cysteine* (SAC) standar dengan konsentrasi 50 ppm adalah 195 nm (Gambar 1).



Gambar 1 Panjang Gelombang Maksimum *S-allyl cysteine* (SAC)

2. Penentuan kurva regresi dari larutan baku *S-allyl cysteine* (SAC) dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm diukur pada panjang gelombang 195 nm didapatkan nilai luas area seperti pada **Tabel 1**.
3. Dari luas area larutan baku *S-allyl cysteine* (SAC) di dapat persamaan garis regresi $y = 4,818x + 46,5$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,998 (Gambar 2).



Gambar 2 Kurva baku standar SAC

4. Hasil uji kualitatif pada sampel *black garlic* dengan menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis diperoleh pada panjang gelombang 194 nm, yang mendekati panjang gelombang pada baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) yaitu 195 nm dan uji kualitatif pada alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) didapatkan waktu retensi pada baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) dengan konsentrasi 200 ppm adalah 2,198 menit dan waktu retensi ekstrak *black garlic* adalah 2,197 menit sehingga menunjukkan adanya

- kandungan senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel *black garlic*.
- Hasil dari kurva kalibrasi (linearitas) larutan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) diperoleh nilai *Limit of Detection* (LOD) sebesar 8,973 ppm dan nilai *Limit of Quantitation* (LOQ) sebesar 29,913 ppm.
 - Hasil penetapan kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) dalam sampel ekstrak *black garlic* yaitu sebesar 45,985 % (b/b) dengan waktu retensi 2,197 menit dan luas area 489,620 (Tabel 1).

Tabel 1 Luas area *S-allyl cysteine* baku standar dengan panjang gelombang 195 nm

No	Konsentrasi (ppm) x	Luas Area y	Linieritas	% Kadar
1	50	276,297	$y = 4,818x + 46,5$ $r = 0,998$	45,985% b/b
2	100	542,154		
3	150	775,067		
4	200	1001,989		

PEMBAHASAN

Pengujian yang pertama kali dilakukan adalah dengan menentukan panjang gelombang maksimum senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel ekstrak *black garlic* dari larutan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC). Hasil penelitian panjang gelombang pada rentang 190-250 nm didapatkan nilai 195 nm untuk standar baku *S-allyl cysteine* (SAC).

Analisa kualitatif menggunakan Spektrofotometri Uv-vis pada ekstrak *black garlic* untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa *S-allyl cysteine* (SAC). Pada penelitian ini analisa kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan panjang gelombang ekstrak *black garlic* dengan bawang putih fermentasi yang dihaluskan lalu ditambah pelarut etanol destilat lalu dipanaskan sampai pekat dan dibandingkan juga dengan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel ekstrak *black garlic* memiliki panjang gelombang 194 nm, panjang gelombang bawang putih fermentasi yang dipekatkan yaitu 194 nm dan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) pada panjang gelombang maksimum 195 nm. Perbedaan panjang gelombang yang bergeser 1 nm disebabkan karena kondisi saat pengujian, sehingga hal ini menunjukkan bahwa secara kuantitatif sampel yang digunakan dalam penelitian ini mengandung senyawa *S-allyl cysteine* (SAC).

Berdasarkan literatur yang digunakan *S-allyl cysteine* (SAC) memiliki panjang gelombang 208 nm (Bae dkk, 2012). Panjang gelombang yang diperoleh *S-allyl cysteine* (SAC) mengalami pergeseran yang signifikan sebanyak 13 nm, hal ini dapat disebabkan karena kondisi pengujian pada saat penelitian berbeda yang dapat mempengaruhi absorbansi pada suatu senyawa (Gandjar dan Rohman, 2007). Selain itu pelarut yang digunakan dalam literatur adalah pelarut campuran 20 mmol/L natrium dihidrogen fosfat dan 10 mmol/L asam heptana sulfonat dengan pelarut asetonitril dalam perbandingan 1:1 (v/v) (Bae dkk, 2012). Sedangkan pelarut yang digunakan dalam pengujian adalah campuran aquabidest dan asetonitril dengan perbandingan 50 : 50 (v/v) dan laju alir 1,0 ml/menit. Penggunaan pelarut yang lebih polar dapat menggeser panjang gelombang serapan maksimum pada suatu senyawa (Rohman, 2009).

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), penggunaan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) karena merupakan metode pemisahan dengan kecepatan dan efisien yang tinggi, memiliki resolusi yang baik, dapat digunakan untuk analisa kuantitatif dengan baik dan dengan presisi yang tinggi dan lebih peka (Adnan, 1997). Pada penelitian yang dilakukan digunakan fase gerak aquabidest : asetonitril (50:50 v/v) dan fase diamnya adalah

ODS atau Okta Desil Silica (C18) pada laju alir 1,0 ml/menit. Pemilihan fase gerak ini dikarenakan sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang digunakan dalam penelitian adalah fase terbalik, dimana fase diamnya bersifat non polar dan fase geraknya bersifat polar. Fase gerak yang digunakan juga harus berderajat HPLC atau HPLC *grade* dan harus disaring menggunakan kertas whatman agar tidak adanya pengotor yang dapat mengganggu analisis dan menghindari kerusakan kolom (Gandjar dan Rohman, 2007). Pemilihan fase gerak sangat penting karena akan mempengaruhi waktu retensi dari sampel yang akan dianalisis.

S-allyl cysteine (SAC) merupakan suatu senyawa minyak atsiri yang berdasarkan kelarutannya dapat larut dalam pelarut polar sehingga dapat larut dalam aquabidest. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquabidest dan asetonitril yang merupakan pelarut organik, memiliki resolusi yang baik dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pemilihan penggunaan asetonitril sebagai fase gerak karena memiliki viskositas yang rendah sama seperti aquabidest sehingga mengurangi tekanan pada kolom Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Kazakevich dan Lobrutto, 2007).

Sebelum dilakukan penelitian penetapan kadar metode ini harus dievaluasi dan diuji untuk memastikan bahwa metode tersebut mampu menghasilkan data yang valid dan sesuai dengan tujuan maka harus divalidasi. Selain itu untuk menjamin dan membuktikan bahwa metode yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi persyaratan yang telah ditentukan, sehingga hasil diperoleh dari penelitian merupakan hasil yang baik dan dapat dipercaya (Harmita, 2004).

Parameter yang digunakan dalam validasi metode penelitian ini adalah linearitas, batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) dan batas kuantitasi *Limit of Quantitation* (LOQ) untuk uji akurasi dan presisi tidak dilakukan, serta penetapan kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) dalam sampel *black garlic*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bae dkk (2012) alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang digunakan dinyatakan valid karena telah

dilakukan validasi metode analisis yang meliputi linearitas, akurasi, presisi, *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ). Hasil uji akurasi yang telah dilakukan memiliki rentang antar 97,5 % dan 102,6 % yang menyatakan bahwa hasil tersebut masuk kedalam rentang yang telah dilakukan, sedangkan hasil uji presisi dapat dikatakan memiliki ketelitian yang baik karena hasil yang diperoleh ≤ 2 %.

Pada penelitian ini digunakan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan jenis yang sama pada penelitian Bae dkk (2012) yaitu Thermo Scientific. Metode analisis yang digunakan dapat dikatakan valid apabila dilakukan dengan metode yang sama pada baku standar dan sampel yang digunakan, karena validasi metode analisis ditujukan untuk menjamin bahwa setiap pengukuran serupa yang dilakukan dimasa yang akan datang akan menghasilkan nilai terhitung yang cukup dekat atau sama dengan nilai sebenarnya dari jumlah analit yang terdapat dalam sampel (Gandjar dan Rohman, 2012).

Parameter awal dari validasi metode yang dilakukan adalah uji linearitas, uji lineritas merupakan kemampuan (dalam kisaran tertentu) untuk mendapatkan hasil uji yang berbanding lurus dengan konsentrasi analit dalam sampel (Bhardwaj dkk, 2015) dan uji linearitas juga dilakukan untuk mengetahui seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x) (Gandjar dan rohman, 2007). Linearitas ditentukan berdasarkan luas puncak yang dihasilkan oleh seri konsentrasi larutan baku *S-allyl cysteine* (SAC) 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm, kemudian didapatkan persamaan garis regresi untuk baku *S-allyl cysteine* (SAC) adalah $y = 4,818x + 46,5$ dengan nilai koefisien korelasi (r) 0.998 dengan demikian dapat dikatakan bahwa uji linearitas dalam penelitian ini sudah memenuhi persyaratan yang baik dengan nilai koefisien korelasi yaitu $> 0,9950$ (Harmita, 2004).

Parameter kedua yang diuji adalah batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) dan batas kuantitasi atau *Limit of Quantitation* (LOQ). Setelah didapatkan kurva kalibrasi yang telah memenuhi persyaratan, selanjutnya diolah

untuk menentukan batas deteksi dan batas kuantitasi. Batas deteksi digunakan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, sedangkan batas kuantitasi digunakan untuk mengetahui kuantitasi analit terkecil yang masih dapat menghasilkan pengukuran yang teliti dan saksama (Harmita, 2004). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan nilai batas deteksi dari baku *S-allyl cysteine* (SAC) yaitu sebesar 8,973 ppm serta didapat nilai batas kuantitasi sebesar 29,913 ppm, berarti sampel terdeteksi dan dapat memberikan kecermatan analisis.

Kondisi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang digunakan selama pengujian adalah perbandingan fase gerak yang tetap yaitu aquabidest dan asetonitril (50:50 v/v) dengan laju alir 1 ml/menit dan panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang maksimum 195 nm. Kondisi ini digunakan untuk menganalisa larutan standar *S-allyl cysteine* (SAC) dan juga sampel ekstrak *black garlic*.

Waktu retensi adalah selang waktu yang dibutuhkan oleh solut mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor. Hasil untuk pengujian baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) pada konsentrasi 200 ppm diperoleh kromatogram dengan waktu retensi 2,198 menit sedangkan hasil untuk pengujian untuk sampel diperoleh waktu retensinya yaitu 2,197 menit. Hal ini menunjukkan secara kualitatif bahwa terdapat kandungan senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada ekstrak *black garlic* yang diuji karena memiliki waktu retensi yang hampir sama.

Pada penelitian ini perhitungan kadar menggunakan data luas area, sebab luas area kromatogram proposional dengan konsentrasi analit. Luas area yang didapat pada sampel ekstrak *black garlic* yaitu sebesar 489,620 sedangkan luas area puncak dari baku *S-allyl cysteine* pada 200 ppm yaitu sebesar 1001,989. Luas area pada sampel dan baku mempunyai perbedaan yang besar, tetapi sampel ekstrak *black garlic* masih mempunyai luas area pada rentang konsentrasi 50 – 200 ppm yang menandakan bahwa adanya kandungan senyawa *S-allyl cysteine* (SAC).

Setelah dilakukan validasi metode, kemudian penetapan kadar sampel ekstrak *black garlic* dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang telah didapatkan dengan mensubstitusikan nilai Y adalah luas area sampel. Hasil perhitungan tersebut akan menghasilkan nilai X, dimana nilai X adalah konsentrasi sampel ekstrak *black garlic*. Perhitungan kadar *S-allyl cysteine* (SAC) dapat dilihat pada Lampiran 8. Kadar *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel ekstrak *black garlic* diperoleh kadar 45,985% (b/b). Kadar yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bae dkk (2012), dikarenakan dapat disebabkan oleh penggunaan pelarut yang berbeda dan perlakuan sampel yang berbeda. Pada penelitian Bae dkk (2012) sampel *black garlic* hanya dibuat jus sedangkan pada penelitian ini sampel dibuat dalam bentuk ekstrak kental yang dapat mempengaruhi kadar yang didapat. Berdasarkan kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) yang diperoleh sebesar 45,985 % menunjukkan nilai kadar antioksidan dalam kategori sedang (>20 %), sedangkan untuk nilai antioksidan kategori tinggi kadarnya mencapai >50 % - 90 %, dan kategori sangat tinggi >90 % (Saefudin dkk, 2013). Kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) yang didapat lebih kecil dibandingkan dengan dengan nilai kadar antioksidan pada bawang putih tunggal fermentasi sebesar 65,195 % (Sanah, 2016).

Kadar *S-allyl cysteine* yang diperoleh menunjukkan nilai antioksidan dalam kategori sedang dikarenakan senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) bukan senyawa utama dari bawang putih. Senyawa utama yang terkandung dalam bawang putih merupakan *allicin*, yang pada *black garlic* tidak terdeteksi karena *allicin* merupakan senyawa yang tidak tahan pemanasan. Pada penelitian ini senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) dalam ekstrak *black garlic* dapat terukur menggunakan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan didapatkan kadar nya sebesar 45,985 %, oleh karena itu metode analisa ini dapat digunakan secara rutin di laboratorium.

SIMPULAN

1. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) bisa digunakan untuk menganalisa kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada *black garlic*. Hal ini ditunjukkan dengan terukurnya senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) yang terkandung dalam sampel *black garlic*.
2. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) dalam sampel ekstrak *black garlic* yaitu sebesar 45,985 % b/b yang menunjukkan nilai antioksidan kategori sedang karena memiliki kadar ≥ 20 %.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adnan, M. (1997). *Teknik Kromatografi dalam Analisis Bahan Pangan*. Yogyakarta: Andi Offset.
2. Bae, E. E., Cho, S. Y., Won, Y. D., Lee, S. H., dan Park, H. J. (2012). A comparative study of the different analytical methods for analysis of *S-allyl cysteine* in black garlic by HPLC. *Food Science and Technology*, 46, 532-535.
3. Bhardwaj, S.K., Dwivedi, K., dan Aqarwal, D.D. (2015). A review : HPLC method development and validation. *International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 5(4), 76-81.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope indonesia* (Edisi IV). Jakarta : Departemen Kesehatan.
5. Fitria, I. (2018). Pengaruh varietas dan lama pemanasan bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap kandungan antioksidan black garlic sebagai sumber belajar biologi. *Skripsi*, Malang : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang.
6. Gandjar, I. G., dan Rohman, A. (2007). *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
7. Harmita. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117-135.
8. Hernawan, U. K., dan Setyawan, A. D. (2003). Senyawa organosulfur bawang putih (*Allium sativum* L.) dan aktivitas biologinya. *Biofarmasi*, 1(2), 65-76.
9. Kazakevich dan Lobrutto. (2007). *HPLC for Pharmaceutical Scientists*. New York : John Wileyand Sons.
10. Lee, S., Yoo, M., Kim, S., dan Shin, D. (2014). Identification and quantification of *S-allyl-L-cysteine* in heated garlic juice by HPLC with ultraviolet and mass spectrometry detection. *LWT-Food Science and Tecnology*, 57, 516-521.
11. Putri, P. E. (2019). Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih dan bawang putih tunggal bentuk segar dan fermentasi dengan metode DPPH. *Skripsi*, Palembang : Progam Sarjana Farmasi STIFI Bhakti Prtiwi.
12. Rohman, A. (2009). *Kromatografi untuk analisa obat*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
13. Saefudin, Marusin, S., dan Chairul. (2013). Aktivitas Antioksidan Pada Enam Jenis Tumbuhan Sterculiaceae. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 31(2), 103-109.
14. Yoo, M., Lee, S., Lee, S., Seog, H., dan Shin, D. (2010). Validation of high perfomance liquid chromatography methods for determination of bioactive sulfur compounds in garlic bulbs. *Food Science and Biotechnology*, 19, 1619-1626. doi: 10.1007/s10068-010-0229-1.
15. Zhang, X., Li, N., Lu, X., Liu, Pengli., dan Qiao, X. (2015). Effect of temperature on the quality of black garlic. *Journal Science Food Agricultural*, 96(7), 2366-2372. doi: 10.1002/jsfa.7351.