



DETERMINATION OF S-ALLYL CYSTEINE (SAC) COMPOUNDS IN SOLO BLACK GARLIC EXTRACT BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

PENETAPAN KADAR SENYAWA S-ALLYL CYSTEINE (SAC) PADA EKSTRAK SOLO BLACK GARLIC SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Romsiah^{1*}, Jeshi Gecka Ayu¹, Ahmad Fatoni¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang Jl. Ariodillah III No. 22A Ilir Timur I Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia.
e-mail author: romsiahchan@gmail.com

ABSTRACT

The research has been regarding of method validation and determination S-allyl cysteine compound from solo black garlic extract by high performance liquid chromatography. The stationary phase used is ODS C-18 and the mobile phase is acetonitril : aquabidest (50:50 v/v) at a flow rate of 1,0 ml/min and detected at wavelength 195 nm for S-allyl cysteine. Before determination should be qualitative test determinant a maximum wavelength of sample. Standard solution S-allyl cysteine (SAC) with concentration 50, 100, 150, and 200 ppm wich is measured at a maximum wavelength of 195 nm, the value of regression line equation is $y = 4,818x + 46,5$ with the value of the correlation coefficient is $(r) = 0,998$. Obtained result sample wavelength 194 nm near to maximum wavelength of standard solution. The result of determination solo black garlic extract show for solo black garlic extract contain S-allyl cysteine 52,055 % with category high antioxidant activity 50-90 %. Based on the result it can be concluded that a HPLC is valid and the sample solo black garlic still show high S-allyl cysteine compound

Keywords : *S-allyl cysteine; solo black garlic; extract; HPLC*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai penetapan kadar senyawa S-allyl sistein pada ekstrak solo black garlic secara kromatografi cair kinerja tinggi. Fase diam yang digunakan yaitu ODS C-18 dan fase gerak asetronitril : aquabidest (50:50 v/v) pada laju alir 1,0 ml/menit dengan panjang gelombang 195 nm untuk S-allil sistein. Sebelum melakukan penetapan kadar harus dilakukan uji kualitatif penentuan panjang gelombang pada sampel. Larutan baku standar S-allyl sistein dengan konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 ppm yang diukur pada panjang gelombang maksimum 195 nm didapatkan nilai persamaan garis regresi $y = 4,818x + 46,5$ dengan nilai koefisien relasi $(r) = 0,998$. Diperoleh hasil panjang gelombang sampel 194 nm mendekati panjang gelombang maksimum pada baku standar. Hasil penetapan kadar dalam ekstrak solo black garlic menunjukkan hasil yaitu pada sampel ekstrak solo black garlic mengandung kadar S-allil sistein 52,055 % dengan kategori aktivitas antioksidan tinggi 50-90 %. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa metode KCKT pada sampel solo black garlic masih menunjukkan adanya senyawa S-allil sistein yang tinggi.

Kata kunci : *S-allyl sistein; solo black garlic; ekstrak; KCKT*

PENDAHULUAN

Berdasarkan jumlah siungnya, bawang putih dapat dibagi menjadi dua yaitu bawang putih yang memiliki banyak siung (*multi bulb garlic*) dan bawang putih yang hanya memiliki satu siung (*single bulb garlic*). Bawang putih tunggal merupakan bawang putih yang hanya terdiri dari satu siung (*single bulb garlic*) (Bharat, 2014). Penggunaan bawang putih tunggal lebih sering dimanfaatkan secara empirik oleh masyarakat untuk pengobatan dibandingkan bawang putih biasa karena pada bawang putih tunggal kadar senyawa aktif yang terkandung jauh lebih tinggi dibandingkan bawang putih biasa yang bersiung banyak (Yoo dkk, 2010).

Khasiat obat dari bawang putih disebabkan oleh senyawa organosulfur. Senyawa organosulfur yang terdapat dibawang putih tunggal segar juga terdapat dibawang putih tunggal hasil fermentasi atau *solo black garlic*. *Solo black garlic* telah banyak digunakan masyarakat sebagai pengobatan tradisional. *Solo black garlic* merupakan bawang putih segar yang telah dipanaskan selama beberapa waktu sehingga berubah bau, warna, dan juga rasanya (Aini dan Shovitri, 2018).

Salah satu senyawa organosulfur dari bawang putih yang bersifat stabil adalah *S-allyl cysteine* (SAC). *S-allyl cysteine* (SAC) merupakan senyawa organosulfur turunan dari senyawa organosulfur yang paling utama dalam umbi bawang putih yaitu senyawa γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein (Hernawan dan Setyawan, 2003). Dibandingkan dengan turunan senyawa organosulfur lainnya senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) bersifat stabil, karena *S-allyl cysteine* (SAC) ini masih dapat ditemukan pada *solo black garlic* dalam proses pengolahan bawang putih segar menjadi *black garlic* dengan suhu tinggi berkisar 60-85°C (Bae dkk, 2012).

Diantara senyawa bioaktif dalam *solo black garlic* kandungan *S-allyl cysteine* (SAC) 5-6 kali lebih tinggi dibanding pada bawang putih yang segar atau mentah (Bae dkk, 2012). *Solo black*

garlic yang mengandung *S-allyl cysteine* (SAC) dapat digunakan sebagai pengobatan karena senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada konsentrasi 2-4 mmol/L mampu menghambat kecepatan sintesis kolesterol antara 40-60% (Hernawan dan Setyawan, 2003). Dari penelitian sebelumnya telah dilakukan analisis *black garlic* dari *S-allyl cysteine* (SAC) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan pelarut campuran 20 mmol/L natrium dihidrogen fosfat dan 10 mmol/L asam heptana sulfonat dengan pelarut asetonitril dalam perbandingan 1:1 (v/v) sehingga didapatkan kadar sebesar 7,96% (Bae dkk, 2012).

Dan pada penelitian ini akan dilakukan penetapan kadar *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel ekstrak *solo black garlic* yang menggunakan pelarut asetonitril dan aquabidest menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Menurut Farmakope Indonesia edisi IV (1995) kromatografi cair kinerja tinggi merupakan metode pemisahan dengan resolusi tinggi yang dapat mengidentifikasi serta menetapkan secara kuantitatif bahan dalam jumlah yang sangat kecil.

Kromatografi cair kinerja tinggi memiliki keuntungan antara lain cepat, resolusinya baik, mudah melaksanakannya, detektor yang sensitif dan beragam, sehingga mampu menganalisa cuplikan secara kualitatif dan kuantitatif, kolom dapat digunakan kembali, mudah memperoleh kembali cuplikan, dan ideal digunakan untuk molekul besar dan ion (Rohman, 2009).

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk melakukan dan menguraikan penetapan kadar *S-allyl cysteine* (SAC) pada *solo black garlic* secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini berupa labu ukur 50 ml (*pyrex*), beaker gelas 250 ml (*pyrex*), neraca analitik, pipet volumetrik 10 ml (*pyrex*), corong kaca (*pyrex*), botol aquadest, satu unit alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dual Gradient Pump (*Thermo Scientific/Ultimate 3000*) dan Spektrofotometri UV - Vis (*UVM51*).

Bahan

Bahan-bahan yang akan digunakan pada penelitian ini berupa senyawa baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) (PT. Sigma-Aldrich), ekstrak *solo black garlic*, aquabidest, asetonitril pro HPLC (Merck), dan kertas saring whatman.

Prosedur Penelitian

1. Penyiapan Sampel

Bawang putih tunggal dibungkus menggunakan *alluminium foil* kemudian dimasukkan ke dalam *electric rice cooker* dan dipanaskan dengan mengatur pada suhu 70-80°C dibiarkan selama 7 hari sehingga didapatkan *solo black garlic*. *Solo black garlic* ditimbang sebanyak 250 gram dan dihaluskan menggunakan blender lalu dimasukkan kedalam botol maserasi dan tambahkan pelarut etanol destilat kemudian dikocok setiap hari, setelah 5 hari disaring dan ampas diperas kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Setelah didapat maserat lalu di destilasi vakum dan dipisahkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 101,642 gram. Sampel pada penelitian ini berupa ekstrak *solo black garlic* yang diperoleh dari penelitian (Putri, 2019).

2. Penyiapan Alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kolom yang digunakan adalah kolom C-18, detektor uv, dan pompa. Setelah alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dihidupkan, pompa dijalankan dengan menggunakan fase gerak asetonitril : aquabidest (50:50 v/v) dialirkan selama \pm 20 menit dengan laju alir 1 ml/menit pada panjang gelombang 195 nm sampai diperoleh garis alas yang menandakan sistem tersebut telah stabil (Bae dkk, 2012).

3. Penyiapan Larutan Standar

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 4 seri konsentrasi lainnya dari larutan induk baku standar yang diencerkan menggunakan aquabidest (Yoo dkk, 2010).

4. Uji Kualitatif SAC Pada Sampel *Solo Black Garlic*

Larutan sampel *solo black garlic* konsentrasi 50 ppm dimasukkan ke dalam kuvet dengan aquabidest sebagai blanko yang diukur dengan Spektrofotometri Uv-Vis, dilihat panjang gelombang yang terbentuk harus memiliki panjang gelombang yang sama maupun 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.

5. Penetapan Kadar SAC Pada Sampel Ekstrak *Solo Black Garlic*

Penetapan kadar *S-allyl cysteine* (SAC) dilakukan dengan cara menimbang ekst rak *solo black garlic* sebanyak 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, dilarutkan dengan aquabidest, lalu kocok selama 1 menit kemudian tambahkan aquabidest sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Dipipet 2 ml dari konsentrasi sampel 1000 ppm, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dicukupkan dengan aquabidest sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 200 ppm. Larutan sampel disaring menggunakan kertas saring whatman, dan diinjeksikan sebanyak 20 μ l kedalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh, kemudian dihitung kadarnya (Yoo dkk, 2010).

Analisa Data

1. Uji Kualitatif Sampel

Uji kualitatif sampel dilakukan dengan pengukuran panjang gelombang maksimum pada sampel. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum memiliki pengukuran panjang gelombang yang sama atau mendekati dengan panjang gelombang maksimum pada baku standart *S-allyl cysteine* (SAC) yang telah diukur. Sehingga dari pengukuran yang dilakukan dapat dinyatakan

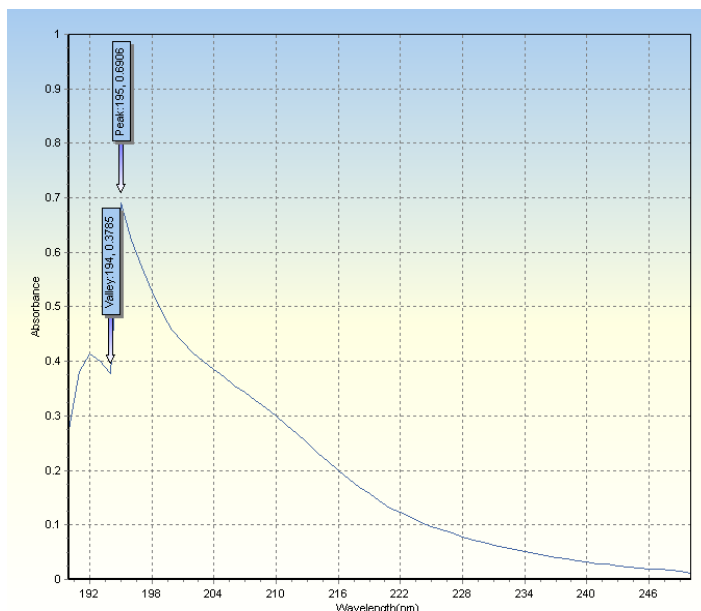
sampel ekstrak *solo black garlic* masih terdapat senyawa organosulfur *S-allyl cysteine* (SAC) dan dapat dilakukan penetapan kadar pada sampel ekstrak *solo black garlic*.

2. Penetapan Kadar SAC Pada Sampel

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 *solo black garlic* dihitung dengan mensubstitusikan nilai y dengan luas area dari sampel *solo black garlic*.

HASIL DAN DISKUSI

Penelitian ini dilakukan pertama kali dengan menentukan panjang gelombang maksimum dari larutan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC). Larutan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) dengan konsentrasi 200 ppm kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 50 ppm. Larutan baku 50 ppm kemudian diukur panjang gelombang maksimumnya menggunakan Spektrofotometri Uv-vis pada rentang panjang gelombang 190-250 nm. Setelah dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum larutan baku standar *Sallyl cysteine* (SAC) konsentrasi 50 ppm didapatkan panjang gelombang maksimumnya yaitu sebesar 195 nm (**Gambar 1**).



Gambar 1. Data hasil pengukuran panjang gelombang maksimum sampel ekstrak *solo black garlic*.

Sampel ekstrak *solo black garlic* dilakukan uji kualitatif terlebih dahulu untuk mengetahui didalam sampel ekstrak *solo black garlic* masih terdapat senyawa organosulfur *S-allyl cysteine* (SAC). Uji kualitatif dilakukan di Spektrofotometri UvVis dengan rentang panjang gelombang yang sama pada penentuan panjang gelombang baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) yaitu 190 – 250 nm. Digunakan aquabidest sebagai blanko, dan terukur panjang gelombang 194 nm pada sampel, yang menunjukkan adanya senyawa organosulfur *S-allyl*

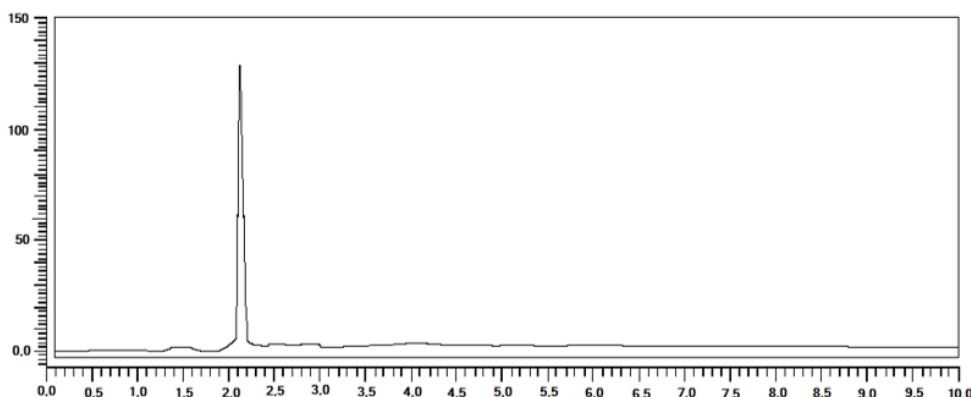
cysteine (SAC) karena memiliki panjang gelombang yang mendekati dengan panjang maksimum baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) 195 nm. Perbedaan panjang gelombang yang bergeser 1 nm disebabkan karena kondisi pengujian, sehingga dalam sampel ekstrak *solo black garlic* dapat dinyatakan memiliki senyawa organosulfur *S-allyl cysteine* (SAC).

Metode yang digunakan adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan digunakan fase gerak acetonitril : aquabidest (50:50 v/v) dengan laju alir

1,0 ml/menit dan fase diam yang digunakan adalah ODS atau Okta Desil Silica (C-18). Kondisi kromatografi cair kinerja tinggi ini digunakan untuk menganalisa larutan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) dan kadar sampel ekstrak *solo black garlic*.

Hasil baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) pada penyuntikan konsentrasi 200 ppm diperoleh kromatogram dengan waktu retensi 2,198. Hasil pengujian untuk sampel diperoleh waktu retensi yang hampir sama dengan baku standar *S-allyl*

cysteine (SAC). Waktu retensi adalah selang waktu yang dibutuhkan oleh solut mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor (Sari dan Utami, 2009). Pada pengukuran waktu retensi sampel *solo black garlic* yang diperoleh dengan konsentrasi 200 ppm yaitu 2,194 (**Gambar 2**). Hal ini berarti bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian mengandung *S-allyl cysteine* (SAC).



Peak #	Component Name	Time (min)	Area [$\mu\text{V}\cdot\text{sec}$]	Height (nV)
1	Solo black garlic	2,194	548,104	129,833

Gambar 2. Kromatogram senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) dalam sampel ekstrak *solo black garlic*

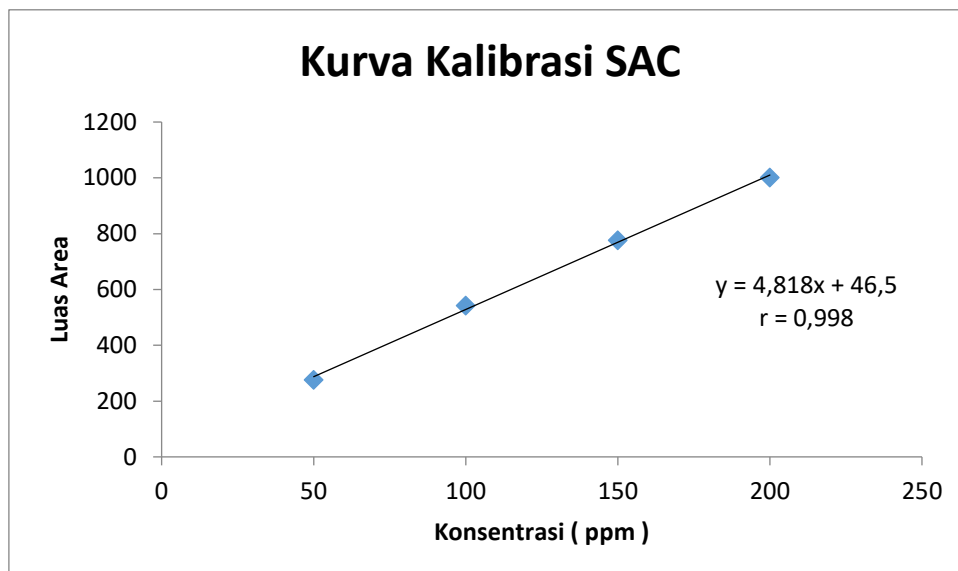
Selanjutnya dilakukan pembuatan seri konsentrasi dari larutan induk baku standart *S-allyl cysteine* (SAC) 50, 100, 150, dan 200 ppm yang diukur pada panjang gelombang maksimum 195 nm, diperoleh kurva kalibrasi dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,998 dan persamaan garis regresi $y = 4,818x + 46,5$ (**Tabel 1 dan Gambar 3**). Kurva kalibrasi

digunakan untuk menunjukkan hubungan linieritas antara konsentrasi dan luas area larutan baku standar *S-allyl cysteine* (SAC). Hasil dari kurva kalibrasi dapat digunakan untuk menentukan kelinearitasan baku pada uji linieritas yang merupakan salah satu parameter dari validasi metode analisis untuk menentukan kadar suatu senyawa.

Tabel 1. Luas area baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) dan penentuan nilai persamaan regresi linier

No	Konsentrasi (ppm) x	Luas area y	xy	x ²	y ²
1	50	276,297	13814,85	2500	76340,03221
2	100	542,154	54215,4	10000	293930,9597
3	150	775,067	116260,05	22500	600728,8545
4	200	1001,989	200397,8	40000	1003981,956

Nilai slope (a) = 4,818
 Nilai intersep (b) = 46,5
 $y = ax + b$
 $y = 4,818x + 46,5$
 Nilai korelasi (r) = 0,998



Gambar 3. Kurva Kalibrasi *S-allyl cysteine* (SAC)

Data hasil perhitungan kadar *S-allyl cystein* (SAC) dalam sampel ekstrak *solo black garlic* yang diperoleh yaitu sebesar 52,055 % (**Tabel 2**). Senyawa *S-allyl cystein* (SAC) memiliki manfaat sebagai antioksidan, menurut Saefudin dkk (2013) kategori aktivitas antioksidan sangat tinggi > 90%, tinggi 50-90 %, dan sedang > 20 %. Sehingga kadar antioksidan senyawa *S-allyl cystein* (SAC) dalam sampel ekstrak *solo black garlic* termasuk kategori tinggi yaitu 50-90 %.

Kadar *S-allyl cysteine* (SAC) yang diperoleh pada sampel termasuk dalam kategori tinggi, yang menandakan sampel ekstrak *solo black garlic* yang digunakan masih terdapat kandungan senyawa *S-allyl cystein* (SAC) walaupun sampel tersebut merupakan olahan bawang putih tunggal yang telah dilakukan pemanasan dengan suhu 70-80°C dan dalam kurun waktu 7 hari. Oleh karena itu metode analisis ini dapat digunakan secara rutin di laboratorium.

Tabel 2. Data Perhitungan Penetapan Kadar Sampel Ekstrak *Solo black garlic*

Waktu retensi (menit)	Luas area	% kadar
2,194	548,104	52,055%

Perhitungan penetapan kadar sampel ekstrak *solo black garlic* :

$$\begin{aligned}
 y &= ax + b \\
 y &= 4,818x + 46,5 \\
 548,104 &= 4,818x + 46,5 \\
 -4,818x &= -548,104 + 46,5 \\
 &= -501,604 \\
 x &= \frac{-501,604}{-4,818}
 \end{aligned}$$

$$x = 104,1104 \text{ mg/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor pengenceran} &= \frac{V_2}{V_1} \\ &= \frac{10 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \\ &= 5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ perhitungan kadar} &= \frac{\text{konsentrasi (mg/L)}}{\text{berat sampel (mg)}} \times \text{Volume awal (L)} \times \text{FP} \times 100\% \\ &= \frac{104,1104 \text{ mg/L}}{50 \text{ mg}} \times 0,05 \text{ L} \times 5 \times 100\% \\ &= 52,055 \% \end{aligned}$$

KESIMPULAN

1. Sampel ekstrak *solo black garlic* memiliki panjang gelombang 194 nm, panjang gelombang pada sampel mendekati dengan panjang gelombang maksimum pada baku standar *S-allyl cysteine* (SAC) yaitu 195 nm, sehingga menunjukkan adanya senyawa organosulfur *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel ekstrak *solo black garlic* yang merupakan olahan bawang putih tunggal yang telah dilakukan pemanasan.
2. Kadar senyawa *S-allyl cysteine* (SAC) pada sampel ekstrak *solo black garlic* yang dianalisis diperoleh sebesar 52,055 % yang termasuk dalam kategori tinggi dalam aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, S. Q. dan Shovitri, M. (2018). Studi awal pemanfaatan bawang putih yang dihitamkan sebagai antibakteri. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(1), 9-12.
- Bae, S. 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. *Journal Food Science and Technology*, 46, 532-535. doi: 10.1016/j.lwt.2011.11.013.
- Bharat, P., Dave, A. R., Chandola, H. M., Goyal, M. R., Shukla, V. J., dan Khant, D. B. (2014). Comparative analytical study of single bulb and multi bulb garlic (*Allium sativum* Linn.). *International JmJournal of Alternative Medicine*, 2(4), 87-91.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope indonesia* (Edisi IV). Jakarta : Departemen Kesehatan.
- Hernawan, U. K. dan Setyawan, A.D. (2003). Senyawa organosulfur bawang putih (*Allium sativum* L.) dan aktivitas biologinya. *Jurnal Biofarmasi*, 1(2), 65-76.
- Putri, P. E. (2019). Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih dan bawang putih tunggal bentuk segar dan fermentasi dengan metode DPPH. *Skripsi*, Palembang : Program Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi.
- Rohman, A. (2009). *Kromatografi untuk analisa obat*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Saefudin., Marusin, S., dan Chairul. (2013). Aktivitas antioksidan pada enam jenis tumbuhan *Sterculiaceae*. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 31(2), 103-109.
- Sari, F. D. P. dan Utami, P. I. (2009). Penetapan kadar kloramfenikol dalam tetes mata pada sediaan generic dan merk dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi. *Journal pharmacy*, 6(2), 53-59.
- Yoo, M., Lee, S., Lee, S., Seog, H., dan Shin, D. (2010). Validation of high performance liquid chromatography methods for determination of bioactive sulfur compounds in garlic bulbs. *Journal Food Science and Biotechnology*, 19, 1619-1626. doi: 10.1007/s10068-010-0229-1.