

**Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Umbi Bit Merah
(*Beta vulagris* L.) dengan Metode DPPH**

Elisabeth Oriana Jawa L^a, Repining Tiyas Sawiji^b, Ni Ketut Esati^c Agnes Dwi Pusparini^c

^aProgram Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha

Jalan : Tukad Barito Timur No. 57 Denpasar 80225

email : echaoriana07@gmail.com

ABSTRAK

Umbi bit merah merupakan salah satu tanaman yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai salah satu makanan yang kaya akan vitamin dan mineral. Beberapa penyakit yang timbul akibat paparan radikal bebas semakin meningkat seperti serangan jantung, kanker, katarak, dan gangguan fungsi ginjal. Pencegahan terhadap efek radikal bebas dibutuhkan antioksidan yang mampu meredam reaktivitas radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai yang dapat merusak makromolekul dalam tubuh. Tujuan dari penelitian ini untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder umbi bit merah (*Beta vulagris* L.) dan menguji aktivitas antioksidannya. Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan secara kualitatif, sedangkan uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal menggunakan metode DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil) dengan trolox sebagai pembanding. Hasil identifikasi terhadap serbuk dan ekstrak etanol umbi bit merah positif mengandung senyawa flavonoid, tanin dan steroid/triterpenoid dan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol umbi bit merah dan trolox menunjukkan nilai IC_{50} 1,10 ppm dan 2,50 ppm hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi bit merah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Kata Kunci : *Umbi bit merah, Skrining fitokimia, Aktivitas antioksidan, IC_{50} .*

ABSTRACT

Red beet tubers (*Beta vulagris* L.) is one of the plants that have been cultivated by Indonesian as one of the foods which is rich in vitamins and minerals. Several diseases that arise from exposure to free radicals are increasing, such as heart attacks, cancer, cataracts, and impaired kidney function. Prevention of the effects of free radicals requires antioxidants that are able to reduce free radical reactivity and stop chain reactions that can damage macro molecules in the body. The purpose of this study was to identify the secondary metabolite content of red beet tubers (*Beta vulagris* L.) and test its antioxidant activity. The identification of the chemical compound content was carried out qualitatively, while the antioxidant activity test was carried out using the radical scavenging method using the DPPH method (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) with trolox as a comparison. The identification results of the powder and ethanol extract of Red beet tubers positively contain flavonoids, tannins and steroids / triterpenoids, and the results of the antioxidant activity test of the ethanol extract of Red beet tubers and trolox showed that IC₅₀ values of 1.10 ppm and 2.50 ppm, these results indicate that the ethanol extract Red beet tubers has a very strong antioxidant activity

Keyword : *Red beet tubers, Phytochemical screening, antioxidant activity, IC₅₀.*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan daerah tropis dan dikenal sebagai sumber bahan baku obat-obatan yang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Salah satu negara pengguna tumbuhan obat terbesar di Asia selain India dan Cina adalah Indonesia, namun belum terdokumentasi dengan baik [1]. Banyaknya aktivitas manusia sehingga melupakan pola hidup yang sehat, seperti mengkonsumsi rokok atau terpapar asap rokok, asap kendaraan, paparan sinar matahari yang berlebih, racun dan polusi udara menyebabkan timbulnya beberapa penyakit yang diakibatkan oleh meningkatnya radikal bebas.

Penyakit yang disebabkan radikal bebas bersifat kronis yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata atau bersifat

akumulatif. Penyakit yang sering dihubungkan dengan radikal bebas adalah serangan jantung, kanker, katarak, dan menurunnya fungsi ginjal. Pencegahan terhadap efek radikal bebas dibutuhkan antioksidan [2].

Antioksidan merupakan senyawa atau sistem yang dapat meredam reaktivitas radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai yang dapat merusak makromolekul dalam tubuh. Kebutuhan antioksidan dapat diperoleh dari senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, diantaranya vitamin C dan E, karotenoid (karoten dan xantofil), dan polifenol (flavonoid, asam fenolik, lignan dan stilbenes) senyawa-senyawa tersebut dapat dieksplorasi dari sumber alami yang dipercaya lebih aman untuk kesehatan dibandingkan antioksidan sintesis [3].

Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah umbi bit merah

(*Beta vulagris* L.) dimana umbi bit merah mengandung senyawa betalain [4]. Betalain selain dimanfaatkan sebagai pewarna alami, pigmen ini juga berfungsi sebagai antioksidan [5]. Penelitian terkait pemanfaatan umbi bit merah sudah pernah dilakukan antara lain adalah pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraxtion* (UEA) menggunakan umbi bit merah dengan pelarut air memberikan nilai IC_{50} sebesar 21,887 $\mu\text{g/mL}$ termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat [6].

METODE PENELITIAN

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah alumunium foil, *baker glass* 500 mL (Iwaki), *baker glass* 50 mL (Iwaki), batang pengaduk, timbangan analitik (Ohaus), kertas saring, *rotary evaporator* (Ika RV8), sudip, Spektrofotometri Uv-Vis (Thermo Scientific), gelas ukur (Herma), Erlenmeyer 250 (Pyrex), tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, spatula logam, kaca arloji, sendok tanduk, mikropipet, kromatografi lapis tipis, kuvet, botol vial, pipet volume 10 mL, 5 mL, 2 mL, 1 mL, labu ukur (Iwaki). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 250 g serbuk umbi bit merah, etanol 70 %, serbuk DPPH, H_2SO_4 pekat, FeCl_3 , HCl pekat, pereaksi *mayer*, pereaksi *dragendorf*, kloroform, aquadest, silica gel 60 F_{254} , asam asetat, n-butanol, trolox, serbuk magnesium, pereaksi *Lieberman-buchard*, alkohol kloralhidrat, ammonia, asam asetat anhidrat

1. Skrining Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Umbi Bit Merah

Identifikasi Alkaloid. Ditimbang sampel sebanyak 500 mg, tambahkan 1 mL asam klorida 2N dan 9 mL air, panaskan di atas penganas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Filtrat dibagi dalam 2 bagian masing-masing 3 mL filtrat dalam tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendorff* kemudian tabung kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi *mayer*, kemudian diamati hasilnya. Hasil positif jika saat penambahan pereaksi *Dragendorff* terbentuk endapan coklat dan saat penambahan pereaksi *Mayer* membentuk endapan putih atau kuning yang larut dalam methanol [7].

Identifikasi Flavonoid. Sebanyak 0,5 g sampel dilarutkan dalam 50 mL air, dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Sisa filtrat digunakan untuk percobaan berikutnya. Sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 1 mg serbuk Mg kemudian tambahkan 1 mL larutan alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama), tambahkan beberapa tetes amil alkohol, kocok kuat-kuat, biarkan memisah. Terdapat warna dalam amil alkohol (merah, kuning atau jingga) menunjukkan adanya senyawa flavonoid [7].

Identifikasi Saponin. Sebanyak 10 mL larutan uji dimasukkan dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik. Hasil dikatakan positif terbentuk busa stabil selama 10 menit, setinggi 1-10 cm [7].

Identifikasi triterpenoid dan steroid. Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL kloroform, 1 mL asam asetat anhidrat, dan 1 mL H_2SO_4 , steroid memberikan warna biru atau hijau dan membentuk cincin sedangkan triterpenoid memberi warna merah atau ungu [8].

Identifikasi Tanin. Larutan sampel ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 , diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif menunjukkan adanya senyawa tanin adalah perubahan warna hijau kehitaman [9].

2. Analisa Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi Senyawa Flavonoid. Fase gerak asam asetat glasial : butanol : air (1 : 4 : 5), dengan penampakan noda uap ammonia. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna kuning cokelat setelah diuapi ammonia pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna biru pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan flavonoid [10].

Identifikasi Senyawa Tanin. Fase gerak methanol : air (6 : 4), dengan penampakan noda Pereaksi FeCl_3 5 %. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam [11].

Identifikasi Senyawa Steroid. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform : metanol (9:1), dengan penampakan noda pereaksi *Liberman-Buchard* disertai dengan pemanasan pada suhu 105°C selama 5 menit. Reaksi

positif steroid ditunjukkan dengan adanya noda berwarna hijau biru [12].

3. Pengujian Antioksidan

Preparasi sampel yang digunakan : Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, 16 ppm. Pembuatan larutan uji dengan cara dilakukan pengenceran larutan 100 ppm sebanyak 1 ditambahkan pelarut sampai 10 mL didapatkan konsentrasi 2 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan pelarut sampai 10 mL didapatkan konsentrasi 4 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 3 mL kemudian ditambahkan pelarut sampai 10 mL didapatkan konsentrasi 6 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 4 mL kemudian ditambahkan pelarut sampai 10 mL didapatkan konsentrasi 8 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 10 mL didapatkan konsentrasi 10 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 6 mL kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 10 mL didapatkan konsentrasi 12 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 7 mL kemudian dilarutkan dengan pelarut sampai 10 mL didapatkan konsentrasi 14 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 8 mL kemudian ditambahkan pelarut sampai 10 mL didapatkan konsentrasi 16 ppm (dimasukkan ke dalam botol vial yang tidak dibungkus dengan aluminium foil).

Pembuatan Larutan Standar Baku DPPH 40 ppm. Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 10

mg kemudian ditambahkan pelarut sampai 100 mL dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL yang telah dibungkus dengan alumunium foil maka didapatkan konsentrasi DPPH 100 ppm. Pembuatan larutan DPPH 40 ppm, dipipet larutan 100 ppm sebanyak 20 mL kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 50 mL dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL yang telah dibungkus dengan alumunium foil.

Pembuatan Kontrol Positif Trolox.

Ditimbang trolox sebanyak 10 mg kemudian ditambahkan pelarut sebanyak 100 mL dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL yang telah dibungkus dengan alumunium foil didapatkan konsentrasi troloks 100 ppm. Larutan kontrol positif dibuat dengan konsentrasi yang sama dengan ekstrak yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm. Cara pengenceran larutan trolox sama dengan cara pengenceran larutan ekstrak.

Pengujian Larutan Ekstrak. Pengujian larutan dilakukan dengan cara mengambil 2 mL dari masing-masing botol sesuai konsentrasi kemudian dimasukan dalam botol yang telah dilapisi dengan aluminium foil. Setiap botol vial yang sudah berisi 2 mL larutan ekstrak ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH 40 ppm kemudian diinkubasi di dalam oven dengan suhu 37°C selama 30 menit dan siap dilakukan pengujian dengan Spektrofotometri UV-Vis untuk mendapat nilai absorbansi peredaman DPPH.

Pengujian Larutan Trolox. Pengujian larutan dilakukan dengan cara mengambil 2 mL dari

masing-masing botol sesuai konsentrasi kemudian dimasukan dalam botol yang telah dilapisi dengan aluminium foil. Setiap botol vial yang sudah berisi 2 mL larutan trolox ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH 40 ppm kemudian diinkubasi di dalam oven dengan suhu 37°C selama 30 menit dan siap dilakukan pengujian dengan Spektrofotometri UV-Vis untuk mendapat nilai absorbansi peredaman DPPH. Data hasil pengujian kemudian dianalisis.

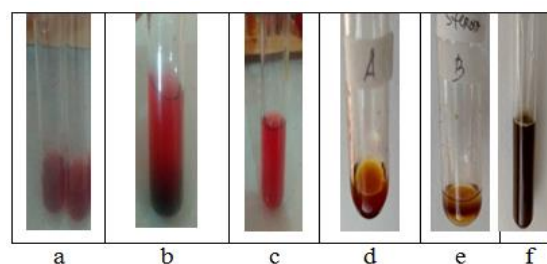
4. Metode Analisa Data

Dalam percobaan ini metode analisa data yang akan digunakan adalah perhitungan absorbansi dari radikal bebas dan penentuan persentase nilai IC50 dengan rumus :

$$\frac{\text{Absorbansi lar kontrol} - \text{Absorbansi lar pembanding}}{\text{Absorbansi lar kontrol}} \times 100 \%$$

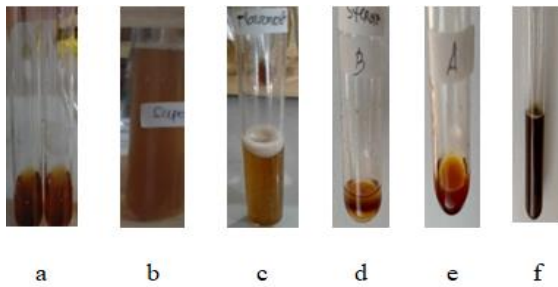
HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL. Hasil Pengamatan Skrining Serbuk dan Ekstrak Etanol Umbi Buah Bit



Gambar 1. Hasil skrining serbuk bit merah

(a) Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid (b) hasil skrining fitokimia senyawa saponin (c) hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid (d) hasil skrining fitokimia senyawa triterpenoid (e) hasil skrining fitokimia senyawa steroid (f) hasil skrining fitokimia senyawa tanin.

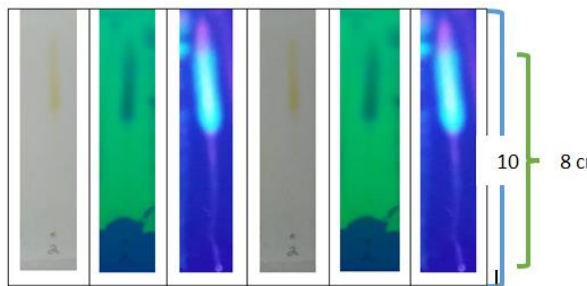


Gambar 2. Hasil skrining ekstrak etanol umbi bit
a) Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid (b) hasil skrining fitokimia senyawa saponin (c) hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid (d) hasil skrining fitokimia senyawa triterpenoid (e) hasil skrining fitokimia senyawa steroid (f) hasil skrining fitokimia senyawa tanin.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia serbuk dan ekstrak etanol umbi bit merah

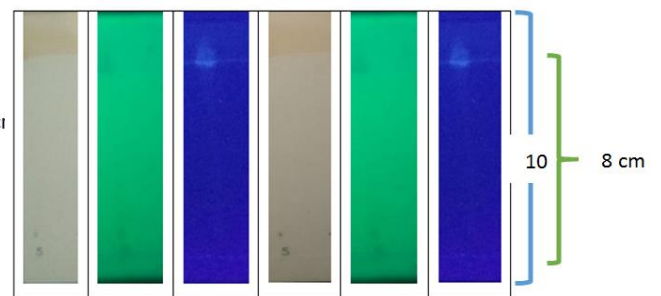
Senyawa	Pereaksi	Tanda positif	Hasil Pengamatan Serbuk	Hasil Pengamatan Ekstrak
Alkaloid	Dragendorff dan Mayer	Adanya Endapan	(-) Negatif	(-) Negatif
Flavonoid	Alkohol Klorahidrat	Warna dalam amil alkohol (Merah, Kuning dan Jingga)	(+) Positif	(+) Positif
Saponin	Aquadest	Terbentuk nya busa stabil setinggi 1 cm selama 10 menit	(-) Negatif	(-) Negatif
Tanin	FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kehitaman	(+) Positif	(+) Positif
Triterpenoid / steroid	Asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat (tabung 1) dan H ₂ SO ₄ pekat Melalui dinding (tabung 2)	Terbentuk warna merah (tabung 1) Terbentuk cincin berwarna merah (tabung 2)	(+) Positif (+) Positif	(+) Positif (+) Positif

Hasil Kromatografi Lapis Tipis

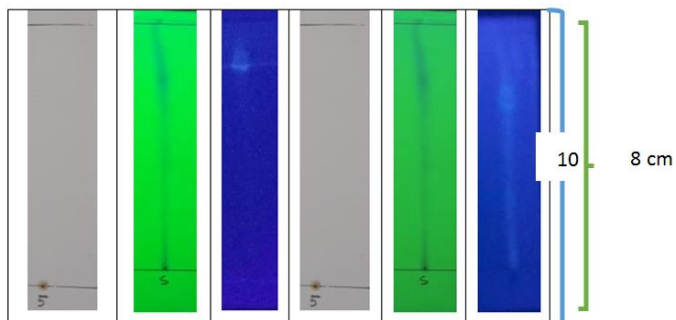


Gambar 3. Hasil KLT flavonoid ekstrak etanol

umbi bit merah



Gambar 4. Hasil KLT tanin ekstrak etanol umbi bit merah



Gambar 5. Hasil KLT steroid ekstrak etanol umbi bit merah

Tabel 2. Nilai Rf dari Hasil Analisis KLT Identifikasi Senyawa Flavonoid

Rf	Sebelum di semprot ammonia			Setelah di semprot ammonia			Ket
	Visual	UV 254 nm	UV 365 nm	Visual	UV 254 nm	UV 365 nm	
0.125	Kuning	Hitam	Hijau kekuningan	Kuning	Hitam	Hijau kekuningan	+
0,3	Kuning	Hitam	Ungu	Kuning	Hitam	Ungu	-
0.425	Kuning	Hitam	Ungu	Kuning	Hitam	Ungu	-

Tabel 3. Nilai Rf dari Hasil Analisis KLT Identifikasi Senyawa Tanin

Rf	Sebelum di semprot FeCl ₃ .			Setelah di semprot FeCl ₃ .			Ket
	Visual	UV 254 nm	UV 365 nm	Visual	UV 254 nm	UV 365 nm	
0.15	Tidak tampak	Hitam	Ungu	Tidak tampak	Tidak tampak	Tidak tampak	-

Tabel 3. Nilai Rf dari Hasil Analisis KLT Identifikasi Senyawa Tanin

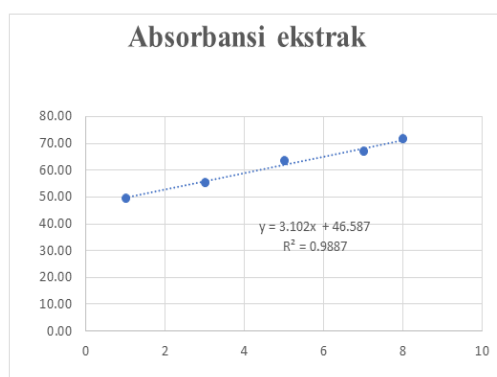
Rf	Sebelum di semprot Liebermen-Buchard			Setelah di semprot Liebermen-Buchard			Ket
	Visual	UV 254 nm	UV 365 nm	Visual	UV 254 nm	UV 365 nm	
0,6	Kuning	Hitam	Biru kehijauan	Kuning	Hitam	Biru kehijauan	(+)
0.85	Kuning	Hitam	Biru kehijauan	Kuning	Hitam	Biru kehijauan	(+)

Tabel 3. Nilai absorbansi ekstrak etanol umbi bit merah

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persentase Peredaman (%)
1	0,150	49,66
3	0,133	55,37
5	0,109	63,42
7	0,098	67,11
8	0,084	71,81
	Nilai IC ₅₀	1,10 ppm

Tabel 4. Nilai Absorbansi trolox

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persentase Peredaman (%)
0,5	0,256	14,09
1	0,251	15,77
2	0,178	40,27
3	0,123	58,72
4	0,056	81,21
	Nilai IC ₅₀	2,50 ppm

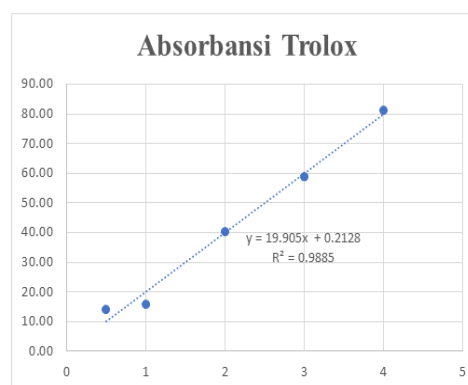


Gambar 5. Kurva regresi linear Ekstrak

PEMBAHASAN

Bit merupakan salah satu jenis tanaman yang telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di Indonesia. Umbi bit juga memiliki manfaat sebagai antioksidan karena mengandung senyawa betalain [13]. Betalain selain dimanfaatkan sebagai pewarna alami, pigmen ini juga berfungsi sebagai antioksidan [14].

Tahapan awal dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian serta menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel untuk analisis kandungan metabolit sekundernya. Determinasi dilakukan di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Eka Karya” Bali (LIPI) pada tanggal 21 November 2019 dengan acuan [15] dimana tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dalam umbi bit merah (*Beta vulgaris L.*) dan dipertegas dengan surat determinasi.



Gambar 6. Kurva regresi linear Trolox

Umbi bit yang telah dipanen disortasi untuk mendapatkan kualitas yang baik kemudian di cuci bersih dan dirajang kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari dengan menutup bagian atas umbi bit menggunakan plastik hitam agar senyawa aktif tidak rusak atau hilang. Proses pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung didalam suatu tanaman.

Hasil pengeringan diperoleh bobot simplisia sebesar 8,7 kg dengan persentase rendemen simplisia sebesar 87 %. Pembuatan ekstrak menggunakan serbuk halus yang sudah diblender dan diayak tujuannya untuk mendapatkan partikel yang lebih halus agar distribusi senyawa berjalan optimal saat proses maserasi. Serbuk umbi bit merah selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang sesuai pada suhu kamar [16]. Penggunaan metode maserasi karena merupakan teknik ekstraksi dingin yang diharapkan dapat menarik senyawa-senyawa

antioksidan (polifenol) lebih banyak. Senyawa golongan polifenol merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas, sehingga diharapkan dengan ekstraksi dingin senyawa tidak rusak ketika proses ekstraksi berlangsung. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk umbi bit merah dalam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 8 selama 5 hari disaring dan dievaporator sehingga diperoleh ekstrak kental dengan rendemen ekstrak sebesar 37.6%.

Skrining fitokimia serbuk dan ekstrak umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid, tanin, triterpenoid dan steroid. Pada identifikasi senyawa flavonoid hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau warna dalam amil alkohol Tujuan penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat ini untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid agar flavonoid bisa diidentifikasi, maka ikatan glikosida dengan flavonoid dalam tanaman harus diputus dengan cara mereduksi ikatan tersebut [17]. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam umbi bit merah adalah senyawa betasianin, betasianin merupakan pigmen berwarna merah atau violet yang merupakan kelompok flavonoid bersifat polar karena mengikat gula, pigmen bernitrogen dan merupakan pengganti antosianin [18]. Betasianin yang terdapat dalam buah bit merah diketahui memiliki efek antiradikal dan aktivitas antioksidan yang tinggi [19].

Identifikasi senyawa tanin akan memberikan hasil positif jika menunjukkan terjadinya perubahan warna hijau kehitaman. Penambahan FeCl_3 untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol, dimana adanya gugus fenol ditunjukkan dengan timbulnya warna hijau kehitaman dan biru kehitaman setelah ditambahkan FeCl_3 .

Pada Identifikasi senyawa triterpenoid dan steroid didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrida warna merah jingga atau ungu untuk terpenoid dan biru untuk steroid[20]. Hasil yang diperoleh pada pengujian ekstrak etanol umbi bit merah menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya cincin ungu yang menunjukkan adanya kandungan triterpenoid.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis untuk mempertegas hasil skrining flavonoid dalam ekstrak umbi bit merah menggunakan fase gerak butanol : asam asetat galsial : air dengan perbandingan (4 : 5 : 1) hasil kromatografi lapis tipis ekstrak umbi bit terdapat bercak noda berwarna kuning sebelum diuapkan dengan ammonia kemudian hasil pengamatan pada sinar UV 254 nm terjadi pepadaman sedangkan pada pengamatan sinar UV 365 nm terdapat spot noda berwarna hijau kekuningan setelah diuapkan ammonia. Pengamatan dibawah sinar UV 254 nm terjadi pepadaman dan menampilkan warna hitam sedangkan pada sinar UV 365 nm spot noda berwarna hijau

kekuningan yang di duga merupakan senyawa flavonoid.

Analisa kromatografi lapis tipis untuk mengidentifikasi senyawa tanin menggunakan fase gerak methanol : air (6 : 4) dengan penampakan noda dimana hasil yang terbentuk berwarna hitam[11]. Pada analisa kromatografi lapis tipis yang telah dilakukan pada ekstrak umbi bit merah tidak terdapat penampakan noda berwarna hitam sedangkan pada hasil uji skrining fitokimia umbi bit merah positif mengandung senyawa tanin hal ini mungkin disebabkan oleh pemisahan terjadi belum maksimal atau sempurna selain itu dapat juga diakibatkan penotolan yang kurang baik. Penotolan sampel atau adanya zat pengotor didalam sampel yang dapat mengganggu penetrasi analit ke dalam lempeng KLT ketika penotolan sampel [21].

Analisa kromatografi lapis tipis untuk mengidentifikasi senyawa steroid menggunakan fase gerak kloroform : metanol (9 : 1) dengan penampakan noda pereaksi *Liberman-Buchard* disertai dengan pemanasan pada suhu 105°C selama 5 menit. Reaksi positif steroid ditunjukkan dengan adanya noda berwarna hijau biru [12]. Setelah dielusi warna noda tidak kelihatan pada sinar tampak, kemudian dilanjutkan dengan pengamatan pada sinar UV 254 nm terjadi pepadaman sedangkan pada sinar UV 365 nm terdapat spot noda berwarna biru kehijauan, selanjutnya plat KLT disemprot dengan pereaksi *Lieberman-Burchard* dan

diamati kembali pada sinar UV 254 nm penampakan noda berwarna hitam sedangkan pada sinar UV 365 nm penampakan noda berwarna biru kehijauan maka hasil analisa kromatografi lapis tipis pada ekstrak umbi bit merah diduga memiliki senyawa yang mengandung senyawa steroid [22].

Dari hasil pengujian antioksidan pada ekstrak etanol umbi bit merah di dapatkan persamaan regresi linear $y = 3.102x + 46.587$ dengan nilai $r^2 = 0.9887$. Koefisien y pada persamaan regresi ini sebagai nilai IC_{50} sedangkan koefisien x pada persamaan regresi adalah sebagai konsentrasi dari ekstrak yang diuji aktivitas antioksidannya. Nilai x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk meredam 50% aktivitas DPPH. Nilai $r^2 = 0.9887$ yang mendekati nilai +1 (bernilai positif) menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak semakin besar aktivitas antioksidannya. Nilai IC_{50} pada ekstrak etanol buah bit merah berdasarkan hasil perhitungan adalah sebesar 1,10 ppm. Kontrol positif sebagai pembanding yang digunakan pada percobaan ini adalah trolox karena trolox merupakan antioksidan yang telah banyak digunakan. Pada pengujian aktivitas antioksidan trolox didapatkan persamaan regresi linear $y = 19.905x + 0.2128$ nilai $r^2 = 0.9885$ dengan nilai IC_{50} dari trolox adalah 2,50 ppm. Dari hasil pengujian antioksidan ekstrak etanol umbi bit merah dapat di nyatakan memiliki antioksidan yang

sangat kuat karena nilai IC₅₀ umbi bit merah lebih kecil dari trolox. Suatu zat yang memiliki nilai IC₅₀ berkisar antara 21-100 ppm masih berpotensi sebagai zat antioksidan yang kuat[23].

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol umbi bit merah mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tannin, triterpenoid dan steroid.
2. Ekstrak etanol umbi bit merah (*Beta vulagris* L.) memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,10 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Widjaja EA, Rahayuningsih Y, Rahajoe JS, Ubaidillah R, Maryanto I, Walujo EB, Semiadi G. 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia. Kementerian Lingkungan Hidup dan Bappenas*. LIPI Press.
- [2] Fakriah, K, Eka, Sampairiana, Rusyidi. 2019. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan, *Jurnal Hasil-Hasil Penerapan IPTEKS dan Pengabdian kepada Masyarakat*, 3 (1), 2.
- [3] Oroian M, Escriche I. 2015. *Antioxidants : Cahracterization, Natural sources, Extraction And Analysis*. Food Res Int 74 : 10-36
- [4] Ann, C.K., Suseno, T. I. P., Utomo, A.R. 2012. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Bit Merah dan Gelatin Terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Marshmallow Beet. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi* 11 (2) : 28-36
- [5] Putri, S. 2016. Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Betasianin dari Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta vulagris* L.). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- [6] Asra, R., Yetti, D. R., Nessa, R. D. 2020. Studi Fisikokimia Betasianin dan Aktivitas Antioksidan Dari Umbi Bit Merah (*Beta vulagris* L.). *Journal Of Pharmaceutical And Sciences* 3 (1) : 14-21
- [7] Suwarni, E., Cahyaningsih, E. dan Megawati, F. 2013, *Penuntun Praktikum Farmakognosi*, Aksampaiemi Farmasi Saraswati Denpasar, Denpasar.
- [8] Astuti, M. S. 2012. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) dan Fakulti Kejuteraan Kimia dan Sumber Asli (Bioproces)*. Indonesia-Malaysia, 1-13.
- [9] Kurniawan J. C., Suryanto Edi., dan Yudistira A. 2013. Analisa Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Getah Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa*

- acuminate* (L)). Jurnal Ilmiah Farmasi. UNSARAT.Vol 2 No. 3.
- [10] Marlina, S. D., Suryanti, V., Suyono. 2005, Skrining Fitiokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule jacq.Swartz*).dalam Ekstrak Etanol, FMIPA, Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta
- [11] Banu, R.H.Nagarajan, N. (2014) ‘TLC and HPTLC finger printing pf leaf extracts of wedelia chinensis (Osbeck) Merrill’, Journal of Pharmacognosy an Phytochemitry, 2 (6),pp.29–23.
- [12] Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., Kurnisampaii, B. 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya
- [13] Ann, C.K., Suseno, T. I. P., Utomo, A.R. 2012. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Bit Merah dan Gelatin Terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Marshmallow Beet.*Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi* 11 (2) : 28-36
- [14] Putri, S. 2016. Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Betasianin dari Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta vulgaris L.*).Skripsi.Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.Universitas Negeri Semarang.
- [15] Backer, T.C.A. and R. C. Bakhuizen Van Den Brink. 1968. Flora of Java I dan III.Wolters – Noordhoff N.V. – Groningen – The Netherlands
- [16] Mukhriani.Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan. Vol 7 No 2 Th 2014.2014
- [17] Pratiwi, A.I. Manfaat Berkumur Sari Buah Delima Merah (*Punica granatum*) Terhadap Penurunan Akumulasi Plak Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Maharaswati.2014
- [18] Andersen, Q.M., and Markham, K.R., 2006. Flavanoid: Chemistry, Biochemistry and Aplication, *CRC Press : USA*, 12(2): 2-11
- [19] Mastuti, R. 2010. Pigmen Betalain pada Famili Amaranthaceae, *Jurnal Biologi* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya
- [20] Sangi, S. M., Momuat I, L., Kumaunang, M., 2012. Uji Toksisitas dan Skrining fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*), Jurnal Ilmiah Sains, UNSRAT.Vol. 12 No. 2.
- [21] Wulandari, L, 2011, Kromatografi Lapis Tipis, Edisi Pertama, Taman Kampus, Presindo, Jakarta
- [22] Nafisah,M., Tukiran., Suyanto., Nurul, Hidayati. 2014, Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan , Kloroform, Dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*), Jurusan FMIPA, Prosiding Seminar Nasional Kimia Surabaya, 20 September 2014, Universitas Negeri Surabaya, 279286

- [23] Molyneux P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal Science Technology. 26 (2): 211-219