

PHYSICOCHEMICAL STUDY OF BETASIANIN AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF RED BEET TUBERS (*Beta vulgaris L.*)

STUDI FISIKOKIMIA BETASIANIN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI UMBI BIT MERAH (*Beta vulgaris L.*)

Ridho Asra¹⁾, Rina Desni Yetti¹⁾, Desi Ratnasari¹⁾ Nessa²⁾

¹⁾Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM), Padang

²⁾Sekolah Tinggi Farmasi Indosensia (STIFI) Perintis Padang

*e-mail author : ridhoasra@gmail.com

ABSTRACT

Red beet tubers (*Beta vulgaris L.*) contain 5-O-beta-glycoside betacyanin compounds which have many benefits. One of which is an antioxidant. Activity study, have been done antioxidant acting test from red beet tubers (*Beta vulgaris L.*) was extracted using the *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) method using a water solvent and dried by freeze-drying method for 48 hours. Betacyanin was identified by thin-layer chromatography with Rf value 0.7166 and a wavelength of 535 nm analyzed by UV-Vis spectrophotometry. The FTIR spectrum shows that isolates contain functional groups that were similar to betacyanin standard (Sigma Aldrich). Betasianin obtained in red beetroot extract with levels of 98.6474%. The red beetroot is stable at 40 °C and pH 5. Test its antioxidant activity using the DPPH method (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) with a wavelength of 515.50 nm. The results of this study indicate the antioxidant activity from of red beet tubers (*Beta vulgaris L.*) with IC₅₀ values of 21.8878 µg/mL, compared to IC₅₀ values of vitamin C 7.1099 µg/mL. It can be concluded that the red beet tubers have a potent antioxidant activity (high antioxidant <50 µg / mL).

Keywords : Antioxidant; Betacyanin; DPPH; Red beet tubers

ABSTRAK

Umbi bit merah (*Beta vulgaris L.*) mengandung senyawa betasianin 5-O-beta-glikosida yang memiliki banyak manfaat salah satunya sebagai antioksidan. Pada penelitian ini telah dilakukan uji antioksidan dari umbi bit merah (*Beta vulgaris L.*) diekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut air dan dikeringkan dengan metode freeze drying selama 48 jam. Pengujian betasianin dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dimana diperoleh nilai Rf = 0,7166 dan panjang gelombang 535 nm yang dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Spektrum FT-IR menunjukkan bahwa isolat mengandung gugus-gugus fungsi yang identik dengan betasianin standar (Sigma Aldrich). Betasianin diperoleh dalam ekstrak umbi bit merah dengan kadar sebesar 98,6474 %. Umbi bit merah stabil pada suhu 40 °C dan pada pH 5. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dengan panjang gelombang 515,50 nm. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) dengan nilai IC₅₀ 21,8878 µg/mL dibandingkan dengan nilai IC₅₀ vitamin C 7,1099 µg/mL. dapat disimpulkan bahwa umbi bit merah memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (antioksidan tinggi <50 µg/mL).

Kata kunci: Antioksidan; Betasianin; DPPH; Umbi bit merah

PENDAHULUAN

Tumbuhan umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) atau sering juga dikenal dengan sebutan akar bit. Akar umbi bit merupakan tanaman berbentuk akar yang mirip umbi-umbian dan berasal dari family *Amaranthaceae*. Umbi bit merah berbentuk bulat menyerupai gasing, dan ada pula yang berbentuk lonjong, pada bagian umbi bit terdapat akar, bunganya tersusun dalam rangkaian bunga yang bertangkai banyak, dan sulit berbunga (Sunarjono & Hendro, 2004).

Umbi bit merah merupakan sumber potensial dari pigmen yang larut air yaitu betanin dalam bentuk betasianidin 5-O-beta-glukosa yang berpotensi sebagai antioksidan. Di dalam umbi bit merah terdapat pigmen betasianin yang memberikan warna merah keunguan sehingga dapat dibuat pewarna alami untuk pengolahan pangan (Santiago & Yahia, 2008).

Menurut Fatmasari (2014) umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) merupakan tanaman semusim yang berbentuk rumput. Umbi bit banyak digemari karena rasanya enak, sedikit manis, dan lunak. Mengandung betasianin yang merupakan pigmen berwarna merah violet. Umbi bit merah memiliki batang pendek yang hampir tidak terlihat. Jenis akar dari umbi bit adalah akar tunggang yang nantinya akan tumbuh menjadi umbi.

Adapun kandungan dari umbi bit merah yaitu betasianin yang dapat digunakan untuk pewarna sejak dahulu oleh masyarakat. Betasianin adalah zat warna yang berfungsi memberikan warna merah dan berpotensi menjadi pewarna alami untuk bahan pangan yang lebih aman bagi kesehatan dibandingkan dengan pewarna sintetik (Novatama et al., 2016). Betasianin yang terdapat dalam umbi bit merah diketahui memiliki efek anti radikal dan aktivitas yang tinggi.

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas dapat dihasilkan dari metabolisme tubuh dan faktor eksternal, seperti asap rokok, penyinaran ultraviolet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan. Pencegahan dalam pembentukan radikal bebas dalam tubuh, dapat dilakukan dengan mengonsumsi makanan yang mengandung antioksidan, (Cahyadi, 2008).

Antioksidan merupakan zat penghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, kerusakan pada membran dinding sel pembuluh darah, basa DNA dan jaringan lipid yang kemudian menimbulkan penyakit degeneratif (Devasagayam et al., 2004). Senyawa antioksidan utama yang terkandung di dalam umbi bit merah adalah senyawa betasianin. Senyawa betasianin ini merupakan pigmen yang bersifat larut dalam air dan memiliki dua kelompok *red* betasianin dan *yellow* betaxanthin (Nemzer et al., 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat fisikokimia betasianin yang terdapat dalam umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) dan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan yang terkandung dalam umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat spektrofotometer UV-Vis *double beam* (Shimadzu UV-1800), *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (PerkinElmer), *sonikator* (Elmasonic), sentrifugasi (Biofuge Primo R), *Freeze Dryer* (Christ), *Furnace* (Carbolite), Lampu UV (Camag), Timbangan Analitik (Ohaus), blender, plat KLT silika G₆₀ F₂₅₄ (Merck), desikator, pH meter (Metrohm), oven

(Mommert), *chamber*, batang pengaduk, krus porselen (Iwaki), *water bath*, labu ukur, corong, cawan penguap (Iwaki), aluminium foil, pipet volume dan alat-alat gelas laboratorium lainnya.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.), betasianin analisis murni (Sigma-Aldrich), vitamin C (C₆H₈O₆) (Merck), DPPH (1,1 *diphenyl-2-picrylhydrazil*) p.a (C₁₈H₁₂N₅O₆) (Sigma Aldrich), etanol 95% (C₂H₅OH) (PT Bratachem), asam asetat (CH₃COOH) (PT Bratachem), asam klorida (HCl) (Merck), metanol (CH₃OH) p.a (Merck), natrium hidroksida (NaOH) (PT Brataco), air suling (H₂O) (PT Brataco), kloroform (CHCl₃) (Merck).

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) segar sebanyak 4,5 kg yang diperoleh dari salah satu pasar modern yang ada di kota Padang.

Determinasi Sampel

Identifikasi dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas Padang.

Penyiapan Sampel

Sampel umbi bit merah dicuci, lalu dibersihkan untuk memisahkan daging umbi dengan kulitnya, bagian daging umbi bit dirajang kemudian diblender hingga menjadi sampel halus.

Metode Ekstraksi dengan Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)

Sebanyak 400 gram daging umbi bit merah di larutkan dengan 200 mL aquadest 2:1 (b/v) selama beberapa menit. Campuran kemudian ditempatkan dalam *ultrasonic bath* kemudian disonikasi pada 50 KHz selama 30 menit pada suhu kamar (25 °C). Pisahkan ampas dengan corong melalui kain flanel sehingga didapatkan larutan berwarna. Residu diekstraksi kembali dengan aquadest sebanyak 3 kali pengulangan. Campuran zat warna kemudian disentrifugasi pada 6000 rpm selama 15 menit pada suhu kamar sehingga diperoleh supernatant. Supernatant selanjutnya dikeringkan dengan alat *freeze drying*. Rendemen ekstrak kering umbi bit merah dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{ Rendemen} : \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \%$$

Karakterisasi Ekstrak

Uji karakterisasi non spesifik yang dilakukan meliputi susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu yang tidak larut asam. Sedangkan karakterisasi spesifik yang dilakukan meliputi identitas, uji organoleptis, kadar senyawa yang larut dalam air, kadar senyawa yang larut dalam etanol (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak dipisahkan menggunakan plat silika G₆₀ F₂₅₄ 10 x 10 cm (KLT preparatif) dengan eluen metanol : asam asetat (9:6). Ekstrak umbi bit merah dan betasianin standar dilarutkan dengan etanol, kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 2 cm dari garis bawah dan 2 cm dari garis atas. Selanjutnya dielus dengan fase gerak. Nilai *R_f* dari noda dihitung dan diperiksa di bawah sinar UV pada 254 nm dan 366 nm dan dibandingkan dengan betasianin standar (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Ekstrak

Isolat-isolat KLT Preparatif diperoleh dengan cara mengerok fasa diam ditempat noda sampel pada plat, lalu dilarutkan dengan metanol sebanyak 5 mL dan disentrifus untuk mengendapkan fase diamnya (silika gel), lalu supernatannya diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis, sedangkan untuk betasianin standar dibuat konsentrasi 5000 µg/mL. Pengukuran panjang gelombang maksimum betasianin sampel dan standar diukur pada 400-700 nm menggunakan spektrometer UV-Vis. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Analisis Gugus Fungsi menggunakan FTIR

Analisis gugus fungsi betasianin sampel dan standar diukur menggunakan Spektrometer FTIR. Spektrum isolat dan standar diukur pada bilangan gelombang 600-4000 cm⁻¹. Analisis ini akan memperlihatkan spektrum yang menggambarkan gugus fungsional dari senyawa betasianin.

Penetapan Kadar Betasianin Ekstrak Kering Umbi Bit Merah

Buat larutan induk ekstrak umbi bit merah 5000 µg/mL, timbang ekstrak 500 mg masukan kedalam labu ukur 100 mL, kemudian tambahkan aquadest ad tanda batas, kocok homogen. Larutan induk 5000 µg/mL diencerkan dengan cara pipet 5 mL masukkan kelabu 10 mL, cukupkan sampai tanda batas lalu homogenkan sehingga diperoleh konsentrasi 2500 µg/mL. Absorban diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum betasianin standar (528,50 nm), lakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Setelah absorbansi dari sampel didapat, maka konsentrasi dari sampel dapat ditentukan menggunakan rumus persamaan regresi : $y = a+bx$.

Uji Stabilitas Betasianin Terhadap Suhu Dan pH

Uji stabilitas dari betasianin sampel dilakukan terhadap suhu (25 °C, 40 °C, 60 °C, 80 °C dan 100 °C) dan pH (2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10) dengan penambahan HCl 1 % dan NaOH 1 % dalam waktu 30 menit, kemudian absorban diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum betasianin umbi bit merah.

Penentuan aktivitas antioksidan

1. Pembuatan Larutan DPPH 30 (µg/mL)

Ditimbang 10 mg DPPH (BM 394,33 g/mol), lalu dilarutkan dengan metanol p.a hingga 100 mL, kemudian ditempatkan dalam labu ukur yang dilapisi dengan *aluminium foil*. Cukupkan pelarutnya hingga tanda batas kemudian kocok hingga homogen dan diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 100 µg/mL. Kemudian diencerkan dengan cara dipipet 15 mL larutan DPPH konsentrasi 100 µg/mL masukkan dalam labu ukur 50 mL cukupkan pelarutnya hingga tanda batas kemudian kocok hingga homogen dan diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 30 µg/mL (Molyneux, 2004).

2. Pembuatan Larutan Blanko dan Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Dipipet 3,8 mL larutan DPPH (30 µg/mL) ke dalam vial. Lalu ditambahkan metanol p.a sebanyak 0,2 mL dan dihomogenkan dan vial ditutup dengan *aluminium foil*. Kemudian

diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Tentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 400-800 nm dan tentukan panjang gelombang maksimumnya (Molyneux, 2004).

3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Ditimbang ekstrak sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur ad 50 mL, maka didapatkan konsentrasi 500 µg/mL. Pipet 10 mL dari larutan 500 µg/mL dimasukkan ke dalam labu 50 mL dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas didapatkan konsentrasi 100 µg/mL. Larutan dengan konsentrasi 100 µg/mL, diencerkan dengan cara dipipet 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 & 4,0 mL kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, cukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, diperoleh konsentrasi 20, 25, 30, 35 & 40 µg/mL.

Selanjutnya untuk penentuan aktivitas antioksidan masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,2 mL larutan sampel dengan pipet mikro dan masukan ke dalam vial, lalu tambahkan 3,8 ml larutan DPPH 30 µg/mL. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH (Andayani, et al., 2012).

4. Pembuatan larutan pembanding Vitamin C

Timbang vitamin C murni sebanyak 25 mg. Dilarutkan dengan metanol p.a, dimasukkan kedalam labu ukur lalu ditambahkan metanol p.a hingga 25 mL (1000 µg/mL). Encerkan menjadi 100 µg/mL dengan memipet 1 mL dalam labu 10 mL Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 1 µg/mL, 3 µg/mL, 5 µg/mL, 7 µg/mL, 9 µg/mL. Dengan cara dipipet larutan induk (100 µg/mL) sebanyak 0,1 mL 0,3 mL 0,5 mL 0,7 mL dan 0,9 mL lalu dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas labu ukur 10 mL.

Kemudian pipet 0,2 mL masing-masing konsentrasi masukkan dalam vial dan tambahkan 3,8 mL larutan DPPH (30 µg/mL) lalu vial ditutup dengan *aluminium foil*. Diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi dari berbagai konsentrasi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang

gelombang maksimum DPPH 515,50 nm. (Andayani *et al.*, 2012).

5. Penentuan Nilai IC_{50}

Hasil perhitungan dari aktivitas antioksidan dimasukkan kedalam persamaan garis $y = a + bx$ dengan konsentrasi (mg/L) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % aktivitas antioksidan sebagai ordinatnya (sumbu y). Nilai IC_{50} dari perhitungan pada saat % aktivitas antioksidan sebesar 50 % akan diperoleh dari persamaan garis (Andayani, *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

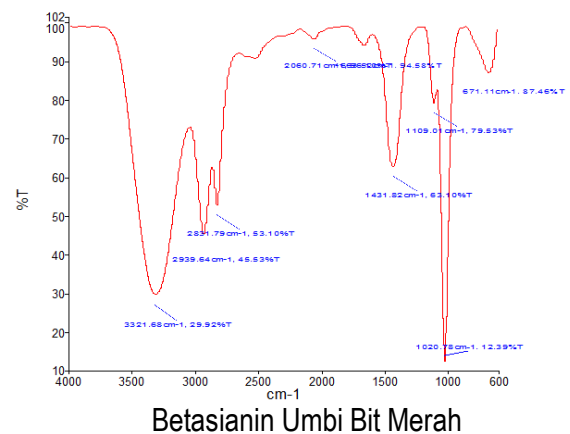
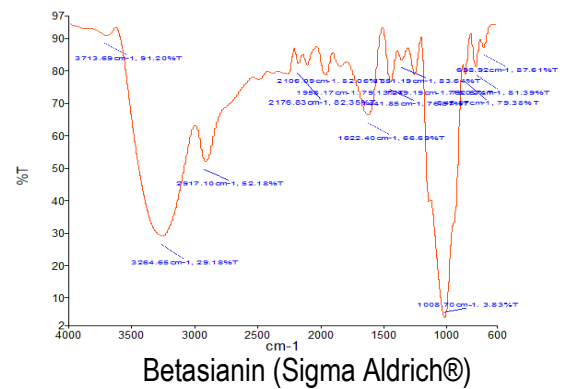
Sampel umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) diekstraksi menggunakan alat sonikator pada 50 kHz selama 30 menit pada suhu kamar (25 °C). Metode ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonic bertujuan untuk mempercepat proses ekstraksi karena menghasilkan rendemen yang tinggi dan waktu yang relatif singkat. Metode ini menggunakan ultrasonik yang dapat menyebabkan efek kavitasi untuk menghancurkan dinding sel sehingga betasianin dilepaskan dengan mudah sehingga memaksimalkan hasil ekstraksi (Kuldikole *et al.*, 2002).

Selanjutnya sampel disaring dengan kain flanel sehingga diperoleh filtrate, dan residu diekstraksi kembali hingga 3 kali pengulangan dan dianggap betasianin dalam umbi bit merah sudah terekstraksi. Filtrate yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Proses sentrifus bertujuan untuk mempercepat proses pemisahan. Selanjutnya zat warna merah dikeringkan dengan alat *Freeze dryer* (pengeringan beku), tujuannya untuk mempertahankan kualitas sampel karena zat warna betasianin tidak tahan terhadap pemanasan.

Analisis betasianin menggunakan KLT dilakukan secara eksperimental dengan mempertimbangkan efek dari beberapa faktor seperti konsentrasi larutan, rasio pelarut dalam eluen dan jenis pelat KLT. Fase gerak yang digunakan adalah metanol : asam asetat (9:6) yang memberikan resolusi dan kromatogram yang baik dengan nilai R_f 0,7166 yang sama dengan betasianin standar (Sigma Aldrich®).

Betasianin dimurnikan dan isolatnya dianalisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV-1800® dan spektrometer FTIR PerkinElmer®.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel dan standar memiliki λ_{max} pada 535 nm. Betasianin menyerap cahaya dengan kuat pada panjang gelombang 532-538 nm (Harbone, 1987).



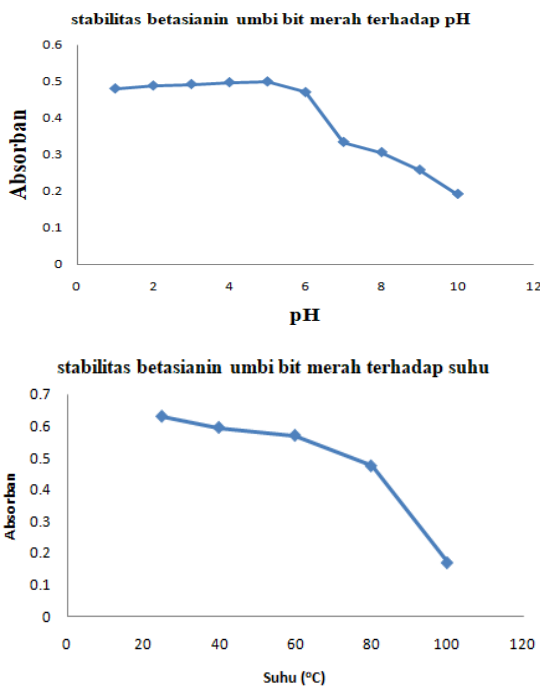
Gambar 1. Spektrum FTIR betasianin dalam metanol pada bilangan gelombang 600-4000 cm^{-1}

Spektrum betasianin diukur pada bilangan gelombang 600-4000 cm^{-1} . Seperti yang ditunjukkan pada Gambar. 1, spektrum FTIR betasianin sampel menunjukkan kesamaan dengan betasianin standar, meskipun ada sedikit perbedaan namun masih dalam rentang bilangan gelombang. Bilangan gelombang 3713,69 cm^{-1} dan 3321,68 cm^{-1} dari betasianin standart dan sampel menunjukkan spektrum ikatan O-H dan N-H. Ikatan O-H dan N-H berada pada bilangan gelombang antara 3800-3200 cm^{-1} (Field *et al.*, 2008). Bilangan gelombang 2917,10 cm^{-1} dan 2831,79 cm^{-1} dari betasianin standar dan sampel adalah spektrum ikatan C-H dan CH₂. Pada bilangan gelombang 698,92 cm^{-1} dan 671,11 cm^{-1}

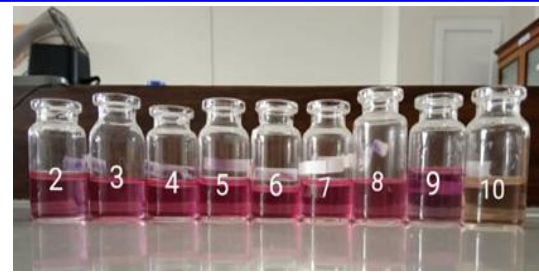
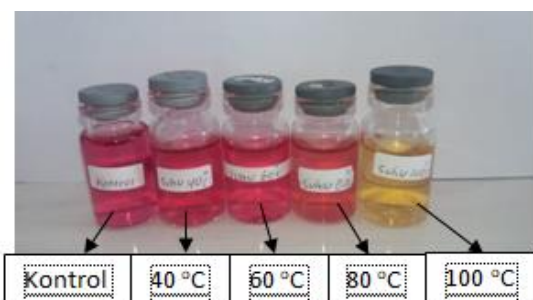
dari betasianin standard dan sampel adalah spektrum ikatan C=CH.

Stabilitas pigmen betasianin dipengaruhi oleh suhu dan pH. Hal ini dapat dilihat pada perubahan warna larutan dari merah menjadi kuning dan pengurangan absorbansi betasianin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa betasianin stabil pada suhu di bawah 40 °C dan pH 5 seperti yang ditunjukkan pada Gambar. 2.

Pada suhu tinggi dan pH kritis, Terjadi reaksi hidrolisis pada ikatan N = C yang menyebabkan betasianin berubah menjadi asam betalamat (kuning) dan siklo-Dopa 5-O-glikosida. Sedangkan pada pH yang lebih rendah, deglikolisasi terjadi pada betasianin menjadi betanidin. Ikatan antara betasianin dan glikosida adalah ikatan asetal yang mudah putus oleh asam kuat seperti asam klorida (Herbach, 2006).

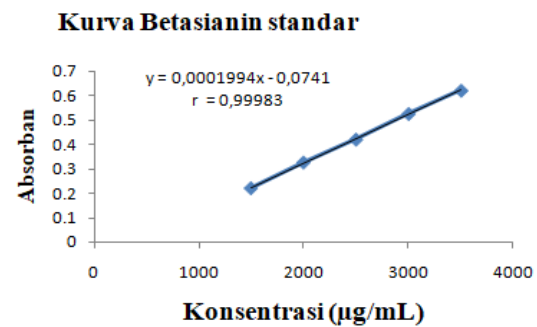


Gambar 2. Grafik Stabilitas Betasianin Umbi Bit merah Terhadap Suhu dan pH



Gambar 3. Stabilitas betasianin umbi bit merah terhadap pH dan suhu

Hasil pengukuran penetapan kadar total betasianin dalam sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis, untuk pembuatan kurva kalibrasi masing-masing didapatkan nilai absorban 0,223; 0,328; 0,422; 0,527; dan 0,622. Koefisien korelasi yang didapatkan dari kurva kalibrasi ini menunjukkan hasil yang linier, karena memenuhi kriteria penerimaan yaitu nilai koefisien korelasi $0,995 \leq r \leq 1$. Pada penetapan kadar betasianin dalam ekstrak umbi bit merah, diperoleh rata-rata kadar $98,6474 \% \pm 0,584080$.



No	Absorban	Kadar yang diperoleh (µg/mL)	Bobot (mg)	% kadar
1	0,416	491.574,724 µg/mL	491,574724 mg	98,3149 %
2	0,414	489.568,706 µg/mL	489,568706 mg	97,9137 %
3	0,414	489.568,706 µg/mL	489,568706 mg	97,9137 %
Rata – rata			490,23738 mg	98,6474 %
SD			0,584080	

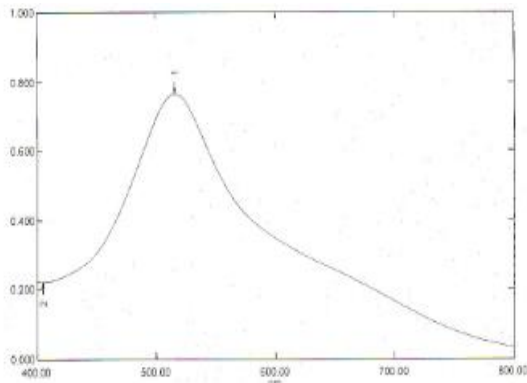
Gambar 4. Kurva Kalibrasi Betasianin Standar, dan kadar total betasianin dalam umbi bit merah

Pada gambar 4. Dilakukan penetapan kadar betasianin dalam ekstrak umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) dengan membuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 2500 µg/mL sebanyak 3 kali pengulangan dan diukur absorbannya pada panjang gelombang 528,50 nm. Hasil pengukuran absorban sampel yaitu 0,416; 0,414; dan 0,414 sehingga diperoleh persentase rata-rata kadar betasianin dalam ekstrak umbi bit

merah (*Beta vulgaris* L.) 98,6474 % ± 0,584080, Kadar betasianin dalam ekstrak umbi bit merah ini cukup bagus mengingat stabilitas betasianin yang dapat terganggu pada lingkungan ekstrim dimana kandungan betasianin dapat hilang.

Penentuan daya aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH secara spektrofotometri UV-Vis. Metode pengujian ini berdasarkan kemampuan substansi antioksidan tersebut dalam menetralkan radikal bebas. Radikal bebas yang digunakan adalah 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH).

Radikal bebas DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dengan bentuk serbuk violet kehitaman, cepat teroksidasi oleh temperatur dan udara, dan larut dalam pelarut polar yaitu metanol atau etanol. Metanol dipilih sebagai pelarut karena metanol dapat melarutkan Kristal DPPH dan memiliki sifat yang dapat melarutkan komponen nonpolar didalamnya (Molyneux, 2004). Diawali dengan penentuan serapan maksimum DPPH 30 µg/mL dalam metanol p.a pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Hasil pengukuran diperoleh Panjang gelombang maksimum DPPH pada 515,50 nm seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.

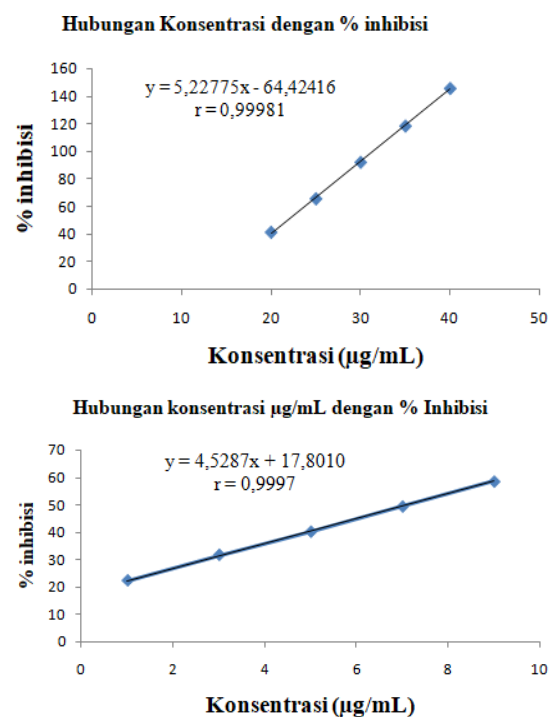


Gambar 5. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan umbi bit merah menggunakan pembanding yaitu vitamin C, karena vitamin C dikenal sebagai antioksidan sangat kuat, Hasil pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C diperoleh hubungan antara konsentrasi dan % Inhibisi Vitamin C terhadap DPPH seperti pada Gambar 4. Didapatkan hasil absorban larutan pada 515,50 nm yaitu 0,664; 0,569; 0,468; 0,371; 0,268 dengan persentase

aktivitas penangkal radikal bebas 41,0994 %; 65,4450 %; 91,8848 %; 118,1937 %; 145,4188 % dengan nilai IC₅₀ 21,8878 µg/mL.

Dilihat dari hasil absorbansi dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi sampel maka akan semakin kecil nilai absorbansi yang didapatkan. Hal ini dikarenakan semakin tinggi senyawa antioksidan yang mampu meredam atau menangkal radikal pada DPPH dan nilai persentase inhibisinya akan semakin besar (Bahriul, et al., 2014). Nilai IC₅₀ atau aktivitas penangkal radikal bebas sebesar 50 % diperoleh vitamin C standar pada konsentrasi 7,1099 µg/mL.



Gambar 6. Kurva Hubungan antara Konsentrasi dengan % Inhibisi aktivitas antioksidan dan Vitamin C Standar

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang studi fisikokimia betasianin dan aktivitas antioksidan dari umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) dapat disimpulkan bahwa:

1. Betasianin dalam ekstrak umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) mempunyai nilai Rf 0,7166 dengan panjang gelombang maksimum 535 nm dengan absorban 0,676. Hasil identifikasi spektrum inframerah menunjukkan gugus O-H, N-H, C-H, C-H₂, C-N dan C=CH.

Persentase kadar total betasianin dalam ekstrak kering umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) adalah 98,6474 % ± 0,584080.

- Ekstrak umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat ($IC_{50} < 50$) karena nilai IC_{50} 21,8878 µg/mL, sedangkan pembanding vitamin C memiliki aktivitas antioksidan tinggi ($IC_{50} < 10$ µg/mL). didapatkan nilai IC_{50} pada konsentrasi 7,1099 µg/mL sesuai klasifikasi (antioksidan tinggi < 50 µg/mL).

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani R., Maimunah., & Lisawati Y. (2012). penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi*, 13(1), 31-37.
- Cahyadi, W. 2008. *Analisis dan aspek bahan tambahan pangan edisi ke2*. Jakarta: PT. Bumi Aksara,
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope herbal indonesia* (Edisi I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fatmasari, D., Musthofa, S., & Santoso, B. (2014). Efektifitaa buah bit (*Beta vulgaris* L.) sebagai disclosing solution (bahan identifikasi plak). *Journal ODONTO Dental Politeknik Kesehatan Kemenkes*, 1(2), 6-9.
- Harborne, J.B. (1987). *Phytochemical methods*. (2nd Edition). Bandung: ITB.
- Herbach, K.M., Stinzing, F.C., Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation structural and chromatic aspect. *Journal of Food Science*, 71, 41-50.
- Kuldikole, J. (2002). *Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzym activity and quality indicators of fruit and vegetables juices*. Berlin: Dissetation der Techischen University Berlin.
- Nemzer, B., Pietrzowski, Z., Sporna, A., Stalica, P., Thresher, W., & Michalowski, T. (2011). Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red bit root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chemistry*, 127(1), 42–53.
- Novatama , S. M., Kusumo, E., & Supartono. (2016). Identifikasi Betasianin dan Uji Antioksidan Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta vulgaris* L.). *Indonesian Journal Of Chemical Science*, 5(3), 217-220.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26(2), 211-219
- Santiago, E.C. & Yahia, E. M. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruit of 10 mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 56(14), 5758-5764.
- Sunarjono, H. & Hendro. (2004). *Bertanam 30 Jenis Sayur*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.