



IDENTIFIKASI BETASIANIN DAN UJI ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH BIT MERAH
(*Beta vulgaris L.*)

Stephanie Mutiara Novatama^{*}, Ersanghono Kusumo dan Supartono

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Oktober 2016
Disetujui November 2016
Dipublikasikan November
2016

Kata Kunci:
buah bit merah
betasianin
antioksidan

Abstrak

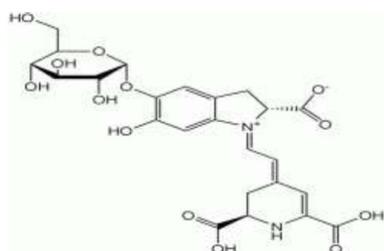
Bit merah merupakan salah satu bahan pangan yang bermanfaat. Salah satu manfaatnya yaitu sebagai antioksidan. Pigmen yang berperan sebagai antioksidan di dalam buah bit merah adalah *betasianin*. Dalam penelitian diuji kadar *betasianin* dan aktivitasnya sebagai antioksidan sehingga dapat bermanfaat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar *betasianin* di dalam buah bit merah dan mengetahui aktivitasnya sebagai antioksidan. Tahap pertama adalah preparasi sampel kemudian ekstraksi *betasianin* yang menggunakan pelarut etanol 70%. Tahap kedua yaitu menguji sampel ekstrak etanol buah bit merah dengan menggunakan HPLC dan uji aktivitasnya sebagai antioksidan. Tahap ketiga yaitu menganalisis hasil HPLC dengan membandingkan dari penelitian sebelumnya dan menghitung aktivitasnya sebagai antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan kadar *betasianin* dalam buah bit merah sebesar 37,64 mg/100 g dengan aktivitasnya sebagai antioksidan sebesar 79,73 bpj. Dapat disimpulkan bahwa buah bit merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Abstract

Red Beet is one of food that are beneficial. One of its benefits as an antioxidant. This study aims tested the existence of betacyanin in the sample, test the flavanoid and tested its activity as antioxidant, so useful. In this study aims to know existence of betacyanin pigment in the red beet that are useful as antioxidant. Phase I is a sample preparation and extraction of betacyanin with distillation ethanol 70% solvent. Phase II is to test the samples of ethanol extract of red beet with HPLC and tested its activity as antioxidant. Phase III is analysed the results of HPLC and calculation of the antioxidant activity of betacyanin. The results of the study showed that there is a betacyanin pigment in red beet with antioxidant activity is 79,73 bpj. It can be concluded that in the beet there are betacyanin and its has a strong antioxidant activity.

Pendahuluan

Bit merah merupakan salah satu bahan pangan yang sangat bermanfaat. Salah satu manfaatnya adalah memberikan warna alami pada pembuatan produk pangan. Pigmen yang terdapat di dalam buah bit merah adalah *betasianin* yang merupakan turunan dari *betalain*. *Betasianin* merupakan pigmen berwarna merah atau violet yang merupakan kelompok flavanoid bersifat polar karena mengikat gula, pigmen bernitrogen dan merupakan pengganti antosianin (Andersen dan Markham; 2006). *Betasianin* yang terdapat dalam buah bit merah diketahui memiliki efek antiradikal dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Mastuti, *et al.*; 2010). Adapun struktur dari senyawa *betasianin* sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur *betasianin*

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). Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Cahyadi; 2008). Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi *betasianin* menggunakan instrumen HPLC dan diuji aktivitas antioksidannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Metode Penelitian

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana *pro analyst* yang telah didestilasi dan etanol 70% yang telah didestilasi. Hasil maserasi yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* kemudian ekstrak diidentifikasi *betasianin*nya dengan HPLC. Metode analisis HPLC mengacu pada penelitian sebelumnya oleh Anni, *et al.* (2014) yaitu identifikasi *betasianin* pada kulit buah naga merah. Kondisi HPLC yaitu: kolom *RP-18 Hibar C18* (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m), yang dioperasikan pada suhu 25°C dengan kecepatan alir sebesar 1 mL/min, fase gerak

yang digunakan yaitu *Gradient acetonitril: 2,5% formic acid*. Ekstrak diinjeksikan sebanyak 20 μ L dan dideteksi pada panjang gelombang 530 nm. Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH yaitu pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal bebas DPPH oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm sehingga dapat diketahui nilai aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) (Molyneux; 2004). Presentase inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Pi = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100\%$$

Keterangan:

Pi : Persen inhibisi

Ab : Absorbansi blanko

As : Absorbansi sampel (Zou, *et al.*; 2004).

Klasifikasi antioksidan disajikan pada Tabel 1.

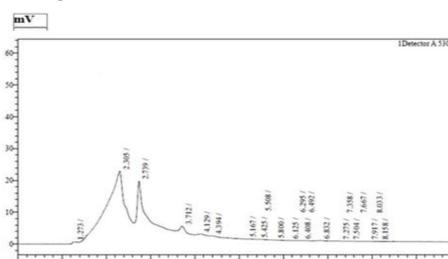
Tabel 1. Klasifikasi antioksidan (Molyneux, 2004)

No	IC_{50} (bpj)	Antioksidan
1	< 50	Sangat kuat
2	50 – 100	Kuat
3	101 – 150	Sedang
4	151 – 200	Lemah

Hasil dan Pembahasan

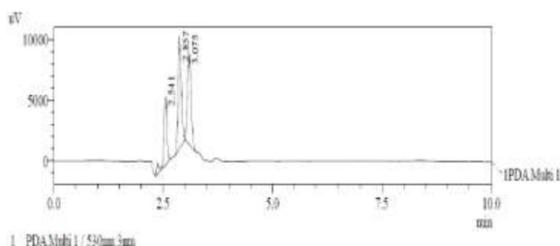
Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi, karena prosesnya yang mudah dan aman untuk bahan alam yang tidak tahan terhadap panas. Kemudian hasil yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dan hasil yang didapatkan digunakan untuk analisis HPLC dan UV-Vis.

Gambar 2. merupakan profil analisis HPLC dari sampel uji ekstrak buah bit merah (*Beta vulgaris L.*).



Gambar 2. Profil HPLC Ekstrak Etanol Buah Bit Merah

Gambar 3. menunjukkan profil HPLC standar *betasianin* dari penelitian sebelumnya oleh Anni, *et al.* (2014).



Gambar 3. Profil HPLC standar *betasianin* (Anni, *et al.*; 2014).

Pada profil HPLC penelitian ini, puncak pertama muncul pada waktu 2,305 menit, puncak kedua muncul pada waktu retensi 2,739 menit, dan puncak keempat muncul pada waktu retensi 3,172 menit. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Anni, *et al.* (2014) profil HPLC dari larutan standar *betasianin* puncak pertama muncul pada waktu retensi 2,541 menit, puncak kedua muncul pada waktu retensi 2,857 menit dan puncak ketiga muncul pada waktu retensi 3,075 menit.

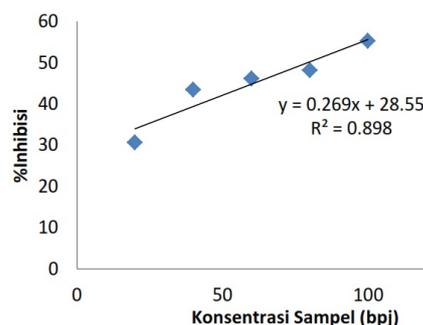
Hasil analisis ekstrak etanol buah bit merah yang didapat dibandingkan dengan penelitian Anni, *et al.* (2014). Hasil analisis HPLC menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah bit merah mengandung *betasianin*, hal ini ditunjukkan dengan adanya puncak yang muncul pada waktu retensi 2,739 menit dengan persen area terbesar yaitu 16,45% dan menurut penelitian sebelumnya oleh Anni, *et al.* (2014) pigmen standar *betasianin* muncul pada waktu retensi 2,857 menit dengan persen area 41,82%. Hasil identifikasi *betasianin* pada sampel ekstrak buah bit merah apabila dibandingkan dengan penelitian Anni, *et al.* (2014) tidak berbeda jauh atau hampir mirip. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel ekstrak etanol buah bit merah mengandung senyawa *betasianin* yang muncul pada waktu retensi 2,739 menit dengan persen area sebesar 16,45%. Aktivitas antioksidan dari sampel ekstrak etanol buah bit merah ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah bit merah

Konsentrasi (bpj)	Absorbansi	%Inhibisi	Persamaan ($y=bx+a$)	IC ₅₀ (bpj)
Blanko	0,691	0		
20	0,479	30,68		
40	0,391	43,41	$y = 0,269x + 28,55$	79,73
60	0,372	46,16	$r = 0,898$	
80	0,358	48,19		
100	0,309	55,28		

Nilai IC₅₀ ekstrak etanol buah bit merah didapat dari hasil regresi pada Tabel 2., dimana persamaan regresi ekstrak etanol yang didapat adalah $y = 0,269x + 28,55$ dan $r^2 = 0,898$. Koefisien y pada persamaan regresi ini sebagai IC₅₀. 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 $r^2 = 0,898$ yang mendekati nilai +1 (bernilai positif) menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak semakin besar aktivitas antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari kurva hubungan konsentrasi ekstrak etanol buah bit merah terhadap persen inhibisi pada Gambar 4. Kurva regresi linier ekstrak etanol buah bit merah ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva regresi linier ekstrak etanol buah bit merah

Nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol buah bit merah berdasarkan hasil perhitungan adalah sebesar 79,73 bpj. Menurut Molyneux (2004), bahwa suatu zat yang memiliki nilai IC₅₀ berkisar antara 21-100 bpj masih berpotensi sebagai zat antioksidan yang kuat. Aktivitas antioksidan dari vitamin c sebagai kontrol positif ditunjukkan pada Tabel 3.

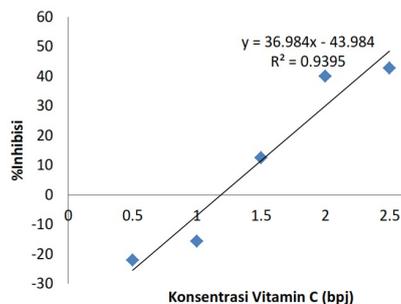
Tabel 3. Aktivitas antioksidan kontrol positif (Vitamin C)

Konsentrasi (bpj)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan ($y=ax+b$)	IC ₅₀ (bpj)
Blanko	0,691	0		
0,5	0,843	-21,99		
1	0,799	-15,62	$y = 36,98x - 43,98$	2,54
1,5	0,605	12,44	$r = 0,939$	
2	0,415	39,94		
3,5	0,396	42,69		

Menurut Molyneux (2004), menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ <50, sedangkan dikatakan memiliki sifat kuat apabila nilai IC₅₀ 21-100 bpj. Dari hasil perhitungan didapatkan nilai IC₅₀ vitamin C adalah sebesar 2,54 bpj, sehingga vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.

Hasil uji aktivitas antioksidan dari buah bit merah menunjukkan bahwa buah bit merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 79,73 bpj. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol buah bit merah semakin kecil absorbansi, maka semakin besar

peredaman terhadap DPPH. Selanjutnya untuk hasil uji vitamin C sebagai kontrol positif antioksidan menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu sebesar 2,54 bpj. Meskipun vitamin C dalam konsentrasi yang sangat kecil, kemampuan peredaman terhadap DPPH sangat besar sekali.



Gambar 5. kurva regresi linier aktivitas antioksidan vitamin c

Simpulan

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dalam ekstrak etanol buah bit merah (*Beta vulgaris L*) terdapat senyawa betasianin yang berpotensi sebagai antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 79,73.

Daftar Pustaka

- Andersen, Q.M., and Markham, K.R., 2006. Flavanoid: Chemistry, Biochemistry and Application, *CRC Press : USA*, 12(2): 2-11
- Cahyadi, W. 2008. *Analisis dan Aspek Bahan Tambahan Pangan Edisi Ke-2*. Jakarta: PT. Bumi Aksara
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S. & Lele, R.D., 2004, Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects, Review Article, *J. Assoc. Physicians India*, 52(2): 794-804
- Farida, A., Rahmi, H., Daimon, S. Identifikasi Pigmen Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Pholyrhizus*). *Jurnal Fakultas Teknik Pertanian, Universitas Andalas*, 49(2): 147-154
- Mastuti., Yizhong, C., Harold, C. 2010. Identifikasi Pigmen Betasianin Pada Beberapa Jenis Inflorescence Celosia, *Jurnal Biologi UGM*, 66(06): 664-672
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science of Technology*, 26(2): 211-219
- Zou, Y., Lu, Y., and Wei, D. 2004. Antioxidant Activity of Flavanoid Rich Extract of *Hypericum perforatum L.* in vitro. *Journal Agric Food Chem*, 52(2): 5032- 5039