

FITOKIMIA, KAPASITAS ANTIOKSIDAN, TOKSISITAS, KADAR ALKALOID DAN FENOLIK TOTAL EKSTRAK UMBI BIT (*Beta vulgaris* L.)

Kelنيا Mellenia¹, Helmi Rizal Helmi², Eny Yulianti², F. Ferdinal²

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara

Email: gianna.kelنيا@gmail.com

²Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara

Email: helmi@fk.untar.ac.id

Masuk: 12-05-2023, revisi: 19-05-2023, diterima untuk diterbitkan: 21-05-2023

ABSTRAK

Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Kelebihan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti penyakit kardiovaskuler hingga kanker. Antioksidan berperan dalam menghilangkan radikal bebas sehingga dapat mengurangi stres oksidatif. Untuk mengimbangi kekurangan antioksidan endogen, tubuh menggunakan antioksidan eksogen. Salah satu antioksidan eksogen adalah umbi bit (*Beta vulgaris* L.) yang dibudidayakan di negara-negara subtropis dan tropis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia, kapasitas total antioksidan, kadar fenolik total, kadar alkaloid total, dan toksisitas ekstrak umbi bit. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in-vitro* dan pemeriksaan *bioassay*. Ekstraksi dengan maserasi menggunakan metanol. Uji *in-vitro* yang terdiri dari uji fitokimia (Harborne), pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH (Blois), penentuan kadar fenolik total (Singleton dan Rossi), penentuan kadar alkaloid total (Trivedi et al) dan pemeriksaan *bioassay* yaitu uji toksisitas dengan metode BSLT (Meyer). Kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak umbi bit terdiri dari alkaloid, antosianin, betasianin, fenolik, flavonoid, glikosida, kardioglikosida, kuinon, kumarin, saponin, tanin dan terpenoid. Ekstrak umbi bit mempunyai kapasitas antioksidan dengan $IC_{50} = 839.314 \mu\text{g/mL}$, kadar fenolik total ($288.125 \mu\text{g/mL}$), kadar alkaloid total ($2.635 \mu\text{g/mL}$) dan toksisitas dengan $LC_{50} = 172.879 \mu\text{g/mL}$. Ekstrak umbi bit terbukti memiliki kapasitas antioksidan yang lemah dan berpotensi sebagai antimetastasis yang dibuktikan dari uji toksisitas.

Kata Kunci: Stres Oksidatif; Antioksidan; *Beta vulgaris* L.; DPPH; BSLT

ABSTRACT

Stress oxidative is an imbalance between prooxidant and antioxidant. An increase Reactive Oxygen Species (ROS) can cause various disease likes cardiovascular disease until cancer. Antioxidants play a role in removing free radicals thus it able to decreased oxidative stress level. For balancing the insufficient of endogenous antioxidant, the body is using exogenous antioxidant. one of the exogenous antioxidant is beetroot (Beta vulgaris L.) that were cultivated in subtropical and tropical countries. The purpose of this research is to know phytochemical content, total antioxidant capacity, total phenolic content, total alkaloids content, and toxicity test on beetroot extract. This research is in-vitro experimental and bioassay examination. Extraction with maceration technique by using methanol. The in-vitro test consist of a phytochemical test (Harborne), a antioxidant capacity test by using DPPH (Blois), a total phenolic content (Singleton dan Rossi), a total alkaloids content (Trivedi et al) and bioassay examination is toxicity test with a BSLT (Meyer). From the phytochemical test, beetroot extract containing alkaloids, anthocyanins, betacyanins, cardioglycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, saponins, tannin, and terpenoids. Beetroot extract has antioxidants capacity ($IC_{50} = 839.314 \mu\text{g/mL}$), total phenolic content ($288.125 \mu\text{g/mL}$), total alkaloids content ($2.635 \mu\text{g/mL}$) and toxicity ($LC_{50} = 172.879 \mu\text{g/mL}$). Beetroot extract was proven to have a weak antioxidant capacity and has antimetastotic potential as proven by toxicity tests.

Keywords: Stress Oxidative; Antioxidant; *Beta vulgaris* L.; DPPH; BSLT

1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Ketidakeimbangan antara pro-oksidan dengan antioksidan disebut stres oksidatif, dan tubuh menghilangkan spesies reaktif ini dengan menggunakan antioksidan endogen dan eksogen. Sistem antioksidan endogen dapat terganggu apabila suatu organisme terpapar *Reactive Oxygen Species* (ROS) konsentrasi tinggi. Kelebihan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti penyakit kardiovaskuler hingga kanker. (Aziz, 2019).

Menurut WHO (2017), penyebab kematian nomor satu disebabkan oleh penyakit jantung. Pada tahun 2016, sekitar 17,9 juta orang meninggal disebabkan oleh penyakit jantung, 85% disebabkan oleh gagal jantung dan stroke. Faktor resiko terjadinya penyakit jantung antara lain merokok, mengonsumsi alkohol, diet tidak sehat dan kurangnya konsumsi buah dan sayuran. Penyakit jantung yang dapat diakibatkan oleh kelebihan ROS ini dapat diseimbangkan dengan antioksidan eksogen yang salah satunya adalah bit.

Antioksidan eksogen dapat berupa senyawa fitokimia yang ditemukan pada tumbuhan. Sebagian fitokimia berfungsi untuk pencegahan penyakit, terdiri dari alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, fenolik, steroid, karotenoid, dan lainnya (Barbosa, 2013). Flavonoid masuk kedalam kelompok polifenol yang tersebar diantara tanaman. Flavonoid memiliki lebih dari satu cincin benzena dalam strukturnya sebagai antioksidan dan salah satu fungsi flavonoid adalah mengurangi penyakit jantung coroner (Ogunmefun, 2018). Senyawa kimia pada tanaman obat memiliki aktivitas pencegahan seperti antiinflamasi, antidiabetik, antipenuaan, antimikroba, antidepresan, antiparasit, antikanker, antioksidan, dan untuk penyembuhan luka (Bahramsoltani, 2014).

Beta vulgaris L. atau yang dikenal sebagai bit merupakan tumbuhan dari keluarga Amaranthaceae. Umbi bit dibudidayakan di negara-negara subtropik dan tropis seperti Afrika, Asia dan negara-negara Mediterania. Akar umbi bit memiliki aktivitas farmakologis serta mengandung mineral seperti kalium, cuprum, magnesium, *zinc*, kalsium, fosfat, natrium, vitamin, dan senyawa fitokimia seperti polifenol dan karotenoid (Albasher, 2019)(Nade, 2015).

Bit merupakan salah satu tanaman berperan sebagai antioksidan. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk mempelajari lebih dalam mengenai kemampuan antioksidan dan toksisitas ekstrak umbi bit. Pengukuran kapasitas antioksidan menggunakan DPPH *free radical scavenging assay* dan uji toksisitas dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test*. Selain itu, penelitian ini dilengkapi dengan uji fitokimia, pengukuran kadar fenolik total serta pengukuran alkaloid total.

Rumusan Masalah

Kurangnya penelitian mengenai kemampuan antioksidan ekstrak umbi bit (*Beta vulgaris* L.).

2. METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental *in-vitro* yang terdiri dari uji fitokimia dengan menggunakan metode Harborne, kapasitas antioksidan dengan DPPH menggunakan metode Blois, pengukuran fenolik total dengan menggunakan metode Singleton dan Rossi, pengukuran alkaloid total dengan menggunakan metode Trivedi et al. Pemeriksaan *bioassay* dengan BSLT menggunakan metode Meyer dengan larva *Artemia salina*.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah umbi bit (*Beta vulgaris L.*) yang dikeringkan dengan berat awal 3300 gram. Umbi bit yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi simplisia diperoleh 273 gram. Sampel yang telah halus kemudian dimaserasi menggunakan metanol 600 mL pada hari pertama, pada hari kedua diaduk, pada hari ketiga di tampung dan ditambah 325 mL metanol, pada hari keempat diaduk dan pada hari kelima di tampung sehingga didapatkan ekstrak sebanyak 650 mL. Setelah itu dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 69.2 gram.

Uji Fitokimia Berdasarkan Harborne (Harborne, 1998)

Alkaloid

Sebanyak 0.5 gram ekstrak umbi bit dicampur dengan 1 mL air kemudian dicampurkan dengan 1 mL hydrogen chloride (HCl) 1%. Campuran ekstrak umbi bit, air dan HCl kemudian disaring dan dipanaskan. Setelah dipanaskan, 2 mL campuran ekstrak umbi bit tersebut diteteskan dengan reagen Mayer. Diperoleh kekeruhan atau endapan berwarna hijau yang mengindikasikan ekstrak mengandung alkaloid.

Antosianin dan Betasianin

Sebanyak 2 mL ekstrak umbi bit dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, ditambah 1 mL Sodium hydroxide (NaOH) 2N dan dipanaskan selama 5 menit dengan suhu 100°C. kemudian didapatkan perubahan warna menjadi hijau kebiruan yang mengindikasikan ekstrak mengandung antosianin dan warna kuning yang mengindikasikan ekstrak mengandung betasianin.

Kardioglikosida

Sebanyak 1 mL ekstrak umbi bit dimasukkan ke tabung reaksi. Kemudian dicampurkan dengan 2 mL Glacial acetic acid (CH_3COOH) dan 3 tetes ferric chloride (FeCl_3) 5%. Kemudian 1 mL Sulphuric acid diteteskan dengan cara mengalirkan pada dinding tabung reaksi dan akan terbentuk cincin berwarna coklat yang mengindikasikan ekstrak mengandung kardioglikosida.

Kumarin

Sebanyak 2 mL ekstrak diuapkan hingga kering, kemudian dilarutkan dengan air panas dan didinginkan. Kemudian dibagi menjadi 2 tabung. Satu tabung sebagai kontrol dan satunya ditambah dengan 0.5 mL *Ammonia* (NH_3) 10%. Pancaran kuat dibawah sinar UV menandakan ekstrak mengandung kumarin.

Flavonoid

Sebanyak 3 mL ekstrak umbi bit dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian dicampur dengan 4 mL larutan NaOH 1N. Didapatkan warna kuning gelap mengindikasikan ekstrak mengandung flavonoid.

Glikosida

Sebanyak 2 mL ekstrak umbi bit dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 3 mL *Chloroform* (CHCl_3) dan 1 mL larutan ammonium (NH_3) 10%. Kemudian didapatkan warna merah muda mengindikasikan ekstrak mengandung glikosida.

Fenolik

Sebanyak 1 mL ekstrak umbi bit dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan 2 mL air suling atau aquadest. Kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL *Sodium carbonate* (Na_2CO_3) dan 0,5 mL

reagen folin ciocalteau. Kemudian didapatkan warna biru atau hijau mengindikasikan ekstrak mengandung fenolik.

Kuinon

Sebanyak 1 mL ekstrak umbi bit dicampur dengan 1 mL *Sulphuric acid* (H_2SO_4) dialirkan melewati tabung reaksi. Didapatkan warna merah yang mengindikasikan ekstrak mengandung kuinon.

Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak umbi bit dilarutkan dengan 2 mL air mendidih didalam tabung reaksi kemudian dibiarkan dingin dan kemudian dikocok hingga merata. Didapatkan busa yang mengindikasi ekstrak mengandung saponin.

Steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak umbi bit ditambahkan dengan 1 mL *chloroform* ($CHCl_3$) pada plat tetes dan keringkan. Setelah kering, ditambahkan asam asetat anhidrat lalu diaduk. Kemudian, ditambahkan 1 – 2 tetes *Sulphuric acid* (H_2SO_4). Didapatkan warna biru kehijauan menandakan ekstrak mengandung steroid.

Terpenoid

Sebanyak 1 mL ekstrak umbi bit dicampur dengan 1 mL *chloroform* ($CHCl_3$) pada plat tetes dan keringkan. Setelah kering, tambahkan dengan 1 – 2 tetes *Sulphuric acid* (H_2SO_4). Didapatkan warna merah muda sampai merah keunguan menandakan ekstrak mengandung terpenoid.

Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak umbi bit dan 20 mL air suling dipanaskan dalam tabung reaksi. Kemudian saring menggunakan kertas saring. 1 mL ekstrak umbi bit ditambah dengan *ferric chloride* ($FeCl_3$) 5%. Kemudian tambahkan dengan campuran yang telah disaring. Didapatkan warna hijau kecoklatan yang mengindikasikan ekstrak mengandung tanin.

Uji Kapasitas Antioksidan dengan DPPH dan Menggunakan Metode Blois (Blois, 1958)

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 1,97 mg bubuk 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dilarutkan dengan metanol 100 mL pada labu ukur hingga diperoleh konsentrasi larutan DPPH 50 μ M. Kemudian, tabung reaksi ditutup aluminium foil. Sebanyak 0,5 mL metanol diambil menggunakan pipet dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Tabung reaksi diinkubasi selama 30 menit pada ruang yang gelap. Kemudian serapan larutan (λ) diukur menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis dengan panjang gelombang 400 – 800nm. Kemudian, panjang gelombang (λ) yang merupakan serapan maksimum DPPH dilihat dengan puncak tertinggi (λ maksimal) dan absorbansi kontrol (absorbansi kontrol) dicatat untuk digunakan pada senyawa ekstrak umbi bit.

Ekstrak Umbi Bit

Sebanyak 0,1 gram ekstrak umbi bit dilarutkan pada metanol hingga menjadi 50 mL dalam labu ukur, sehingga konsentrasi didapatkan 2000 μ g/mL. Kemudian, diencerkan hingga didapatkan konsentrasi 500 μ g/mL, 750 μ g/mL, 1000 μ g/mL, 1250 μ g/mL, 1500 μ g/mL. Kemudian sebanyak 0,5 mL larutan diteteskan pada masing – masing tabung reaksi dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. kemudian, dihomogenkan campuran tersebut dan dibiarkan 30 menit di tempat gelap. Kemudian dibaca serapan menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis dengan panjang gelombang optimal.

Pengolahan Data

Untuk menentukan kapasitas total antioksidan sampel, menggunakan besar serapan radikal DPPH yang dihambat oleh persentase inhibisi yang dapat ditentukan dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs. kontrol} - \text{abs. sampel}}{\text{abs. kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorbansi kontrol = nilai serapan radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang optimal

Absorbansi sampel = nilai serapan sampel dalam radikal DPPH 50 μM pada panjang gelombang optimal

Nilai konsentrasi sampel didapatkan menggunakan persamaan regresi linier $Y = aX + b$. kemudian angka 50 dimasukkan pada variable Y sehingga didapatkan IC 50 pada variable X.

Pengukuran Kadar Fenolik (Singleton dan Rossi) (Singleton & Rossi, 1965)

Pembuatan Larutan Standar Tanin

Sebanyak 0,25 gram tanin ditambah dengan 5 mL metanol dan disiapkan ke dalam gelas beker. Untuk membuat konsentrasi akhir menjadi 5 mg/mL, larutan ditambahkan aquadest hingga 50 mL. Larutan tersebut kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL sebanyak 0,6 mL, 0,8 mL, 1 mL, 1,2 mL dan 1,4 mL. Kemudian diencerkan dengan aquadest hingga 10 mL sehingga terbentuk konsentrasi 300 $\mu\text{g/mL}$, 400 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 600 $\mu\text{g/mL}$, dan 700 $\mu\text{g/mL}$. Diambil 0,2 mL dari masing – masing labu ukur dan kemudian ditambahkan dengan aquadest 15,8 mL dan 1 mL reagen *Folin ciocalteau*, kemudian dihomogenkan. Campuran ditunggu hingga 8 menit kemudian ditambah dengan 3 mL Na_2CO_3 20%. Larutan uji didiamkan pada tempat gelap selama 2 jam dan dibaca serapannya menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis dengan panjang gelombang (λ) 765 nm dan dibuat kurva standarnya.

Pengukuran Kadar Fenolik Ekstrak Umbi Bit

Sebanyak 0,3 gram umbi bit dicampur dengan larutan metanol – air (1:1) hingga 10 mL. Sebanyak 0,2 mL campuran diambil dengan pipet dan dimasukkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan 15,8 mL aquadest dan 1 mL reagen *Folin ciocalteau* kemudian dihomogenkan. Larutan didiamkan selama 8 menit. setelah itu ditambahkan 3 mL Na_2CO_3 20% dan dihomogenkan. Campuran kemudian didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan campuran dibaca menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis dengan panjang gelombang (λ) 765 nm. Kadar fenolik dihitung dengan kurva standar yang telah dibuat.

Pengukuran Kadar Alkaloid (Trivedi et al) (Trivedi et al., 2006)

Pembuatan Larutan Stok *Berberine Chloride*

Bubuk *berberine chloride* disiapkan sebanyak 1 mg, kemudian dilarutkan menggunakan 10 mL metanol pada labu ukur.

Pembuatan Larutan Standar *Berberine Chloride*

Tabung reaksi diteteskan *berberine chloride* sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1 mL kedalam tabung kemudian ditambahkan 10 mL metanol sehingga didapatkan konsentrasi 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 6 $\mu\text{g/mL}$, 8 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$. Setelah itu, 5 mL dapar fosfat dengan pH 4,7 ditambahkan dengan *Bromocresol green* (BCG) 5 mL pada masing – masing larutan uji. Kemudian dipindahkan kedalam corong pemisah dan masing – masing ditambah 5 mL *chloroform*. Kemudian corong pemisah ditutup dan dihomogenkan. Setelah itu, didiamkan larutan uji hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawahnya ditampung ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan

kloroform hingga menjadi 10 mL. Salah satu larutan digunakan untuk menentukan panjang gelombang maksimal. Absorbansi masing – masing larutan uji diukur menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis dengan panjang gelombang maksimal yang telah didapatkan sebelumnya, kemudian dibuat kurva standar dan persamaan garis linier.

Pengukuran Kadar Alkaloid Ekstrak Umbi Bit

Sebanyak 50 mg ekstrak umbi bit dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 3 mL HCl, 5 mL dapar fosfat dengan pH 4,7 dan 5 mL *Bromocresol green* (BCG) serta 5 mL *Chloroform*. Kemudian larutan uji dipindahkan ke corong pemisah dan dihomogenkan. Larutan uji didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bagian bawah ditampung pada labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan kloroform hingga mencapai garis 10 mL pada labu ukur. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali dan diambil rata – rata dari data tersebut. Kadar alkaloid dihitung dengan menggunakan persamaan garis linier yang telah didapat sebelumnya.

Uji Toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* dengan Menggunakan Metode Meyer (Meyer et al., 1982)

Penetasan Larva *Artemia salina*

Penetasan larva *Artemia salina* dilakukan dengan mengisi air laut yang telah disaring dengan kertas saring kedalam dua *erlenmeyer* sehingga masing – masing tabung berisi 500 mL air laut. Telur udang ditimbang sebanyak 5 mg dan dimasukkan ke dalam masing – masing *erlenmeyer*. Tabung diberi aerator dan lampu selama 2 x 24 jam. Telur akan menetas menjadi larva udang setelah 48 jam.

Persiapan Sampel

Sebanyak 0,2 gram ekstrak umbi bit ditambah dengan 10 mL air laut yang telah disaring dengan kertas saring dan dihomogenkan pada gelas kimia hingga didapatkan konsentrasi sebesar 2000 µg/mL. Larutan uji umbi bit dimasukkan ke tabung reaksi dengan konsentrasi 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL. Pada masing – masing tabung reaksi dan air laut murni ditambahkan hingga mencapai volume 1000 µL untuk setiap tabung.

Uji Toksisitas Ekstrak Umbi Bit

Larva udang diambil sebanyak 10 ekor larva dan dimasukkan kedalam masing – masing larutan uji dan jika sudah 10 larva sebelum mencapai 2000 µL, ditambahkan air laut yang telah disaring sehingga didapatkan konsentrasi 50 µg/mL, 100 µg/mL, 500 µg/mL, 1000 µg/mL. Dilakukan pengulangan sebanyak dua kali. Kemudian diberi lampu dan didiamkan selama 24 jam pada larutan uji tersebut. Setelah itu, dihitung jumlah larva yang hidup dan mati pada setiap larutan uji. Kemudian dilakukan perhitungan % mortalitas dengan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{akumulasi larva yang mati}}{\text{akumulasi larva yang hidup dan mati}} \times 100\%$$

Dibuat kurva dengan sumbu Y yang merupakan log konsentrasi dari masing – masing konsentrasi dan sumbu X yang merupakan % mortalitas. Setelah itu, dihitung menggunakan persamaan garis linier $Y = aX + b$, dimasukkan variable Y dengan angka 50 sehingga didapatkan LC_{50} .

Pengumpulan data pada uji fitokimia dan uji toksisitas dengan BSLT dicatat dan dikumpulkan dalam bentuk laporan. Sedangkan, pada uji kapasitas antioksidan dengan DPPH, pengukuran alkaloid total dan pengukuran fenolik total diambil absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan program aplikasi

GraphPad prism v.7.0. La Jolla, California, USA. Parameter data yang diperiksa ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan rendemen terhadap berat basah adalah 2.07% dan terhadap berat kering adalah 25.35%. Pengujian kandungan fitokimia pada umbi bit, didapatkan kandungan fitokimia pada umbi bit berupa alkaloid, antosianin, betasianin, fenolik, flavonoid, glikosida, kardioglikosida, kuinon, kumarin, saponin, tanin dan terpenoid (Tabel 1).

Tabel 1. Kandungan Fitokimia

Fitokimia	Reagen	Ekstrak Umbi Bit
Alkaloid	Mayer dan Wagner	+++
Antosianin dan Betasianin	NaOH	+
Fenolik	<i>Folin Ciocalteu</i>	++++
Flavonoid	NaOH 1N	++
Glikosida	<i>Borntrager test</i>	+
Kardioglikosida	Keller Killiani	++
Kuinon	H ₂ SO ₄	++
Kumarin	NH ₃	+
Saponin	<i>Foam test</i>	+
Steroid	<i>Liebermann Burchard</i>	-
Tanin	FeCl ₃	++++
Terpenoid	<i>Liebermann Burchard</i>	+

Rendemen merupakan persentase berat bahan yang dihasilkan terhadap berat bahan baku. Umbi Bit menghasilkan rendemen sebesar 25.35% terhadap bahan kering dan 2.07% terhadap bahan basah. Pada penelitian ini, kandungan fitokimia yang diuji terdiri dari alkaloid, antosianin, betasianin, fenolik, flavonoid, glikosida, kardioglikosida, kuinon, kumarin, saponin, steroid, tanin dan terpenoid. Menurut Ogunmefun (2018), senyawa fitokimia dapat berperan sebagai antioksidan dan mencegah terbentuknya karsinogen. Buah dan sayuran yang mengandung senyawa fitokimia tertentu juga dapat menurunkan resiko terkena beberapa penyakit. Pada penelitian ini didapatkan ekstrak umbi bit mengandung senyawa fitokimia seperti alkaloid, antosianin, betasianin, fenolik, flavonoid, glikosida, kardioglikosida, kuinon, kumarin, saponin, tanin dan terpenoid (Tabel 1).

Seperti hasil penelitian Rehman (2021), ekstrak umbi bit mengandung flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid dan glikosida. Dari hasil penelitian Lembong (2019), mengatakan ekstrak umbi bit mengandung fenolik, tanin, flavonoid dan saponin. Pada penelitian Budiman (2021)(MN et al., 2016) mengatakan ekstrak umbi bit mengandung steroid. Pada penelitian Novatama (2016)(Kalt et al., 2020), mengatakan ekstrak umbi bit mengandung betasianin. Peneliti juga meneliti antosianin, terpenoid, kuinon, kumarin dan kardioglikosida karena masih jarang yang melakukan penelitian antosianin, terpenoid, kuinon, kumarin dan kardioglikosida pada umbi bit.

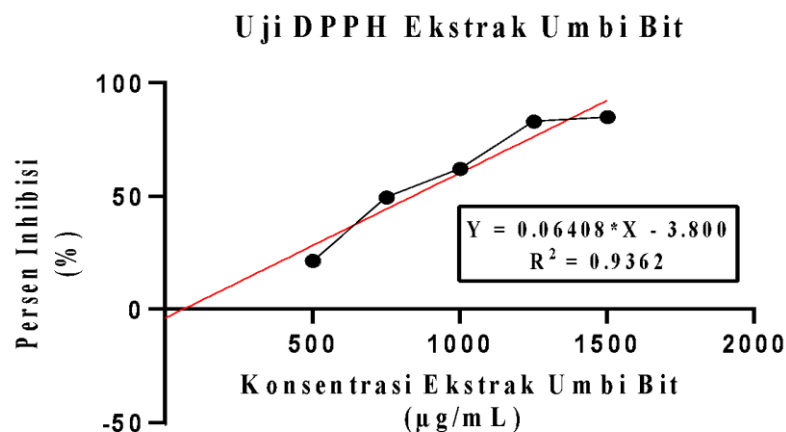
Menurut Kalt (2020), senyawa Antosianin dapat mengurangi terjadinya resiko kardiovaskuler, tekanan darah tinggi dan diabetes mellitus. Pada penelitian ini, didapatkan ekstrak umbi bit mengandung antosianin yang tentu berpotensi mengurangi terjadinya resiko kardiovaskuler, tekanan darah tinggi dan diabetes mellitus. Menurut Baldasso (2020), terpenoid dapat mengeluarkan bau khas tanaman yang dapat mengusir serangga serta dapat berfungsi sebagai aromaterapi. Pada penelitian ini, ekstrak umbi bit mengandung terpenoid yang dimana memiliki potensi untuk menjadi aromaterapi. Menurut Ogunmefun (2018), senyawa kuinon dapat digunakan

sebagai obat pencahar. Pada penelitian ini, ekstrak umbi bit mengandung kuinon yang memiliki potensi sebagai obat pencahar. Stringlis (2019) mengatakan bahwa kumarin salah satunya dapat berperan sebagai antiinflamasi, antivirus termasuk anti-HIV, antikanker, antidepresan, antioksidan, antikoagulan hingga kardiovaskuler. Pada penelitian ini, didapatkan ekstrak umbi bit mengandung kumarin yang memiliki potensi salah satunya untuk mengobati penyakit kardiovaskuler. Menurut Ogunmefun (2018), Kardioglikosida bagus untuk obat kardiovaskuler. Pada penelitian ini, ekstrak umbi bit mengandung kardioglikosida yang memiliki potensi sebagai obat kardiovaskuler.

Pada setiap konsentrasi ekstrak umbi bit, dengan menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis diukur absorbansi dan dihitung % inhibisinya. Sumbu X merupakan konsentrasi ekstrak umbi bit dan sumbu Y merupakan % inhibisi. Setelah itu untuk mencari IC_{50} , dibuat kurva persamaan linear uji DPPH (Gambar 1).

Tabel 2. Data Konsentrasi, %inhibisi, dan IC_{50} Ekstrak Umbi Bit

Konsentrasi Ekstrak Umbi Bit ($\mu\text{g/mL}$)	% inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
500	21.60	839.314
750	49.60	
1000	62.20	
1250	83.00	
1500	85.00	



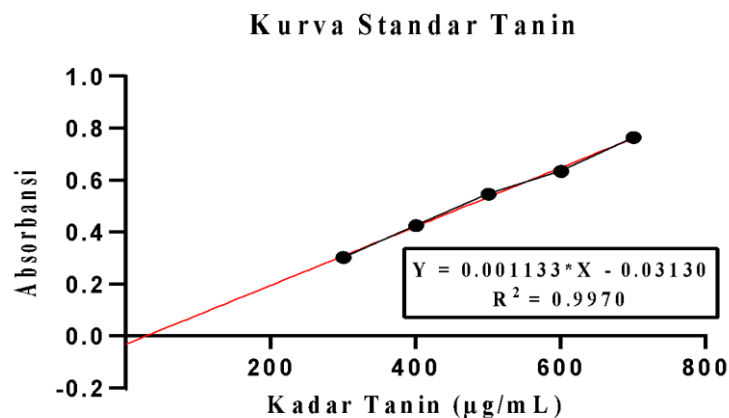
Gambar 1. Kurva Uji DPPH Ekstrak Umbi Bit

Didapatkan $Y = 0.064X - 3.8$ dan nilai $R^2 = 0.9362$. Dari perhitungan didapatkan IC_{50} ekstrak umbi bit adalah 839.31 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 2).

Kapasitas antioksidan ekstrak umbi bit pada penelitian ini diukur dengan menghitung IC_{50} . Tingkat kapasitas antioksidan dan IC_{50} berbanding terbalik, bila IC_{50} semakin kecil, maka tingkat kapasitas antioksidan sampel semakin tinggi. Nilai IC_{50} pada ekstrak umbi bit adalah 839.314 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Marjoni (2017), $IC_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$ menandakan aktivitas antioksidan ekstrak umbi bit lemah. Menurut penelitian Novatama (2016), ekstrak umbi bit memiliki IC_{50} 79.73 $\mu\text{g/mL}$ dan asam askorbat memiliki IC_{50} 2.54 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Wulansari (2020), penurunan kapasitas antioksidan dapat terjadi dikarenakan penyimpanan selama empat minggu dan pada suhu beku ($-10 \pm 2^\circ\text{C}$). Berdasarkan penelitian Rehman (2021), umbi bit sangat diperkaya oleh antioksidan yang dapat digunakan sebagai agen terapeutik untuk pengobatan berbagai gangguan neurologis.

Schlueter (2021) mengatakan kelebihan asam askorbat dapat menyebabkan gangguan pencernaan seperti diare. Sedangkan menurut Ceclu (2020), ekstrak umbi bit dapat menyembuhkan penyakit seperti diare, anemia, hipertensi, dan tukak lambung.

Kadar fenolik ekstrak umbi bit diukur menggunakan tanin sebagai larutan standar. Pengukuran absorbansi larutan standar tanin dengan berbagai konsentrasi dilakukan menggunakan spektrofotometer genesis 30 vis pada panjang gelombang 765 nm. Pada kurva standar tanin, sumbu X merupakan kadar standar tanin dan sumbu Y merupakan absorbansi. Didapatkan kurva standar dengan persamaan garis linear $Y = 0.001133X - 0.03130$ dan $R^2 = 0.997$ (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva Standar Tanin

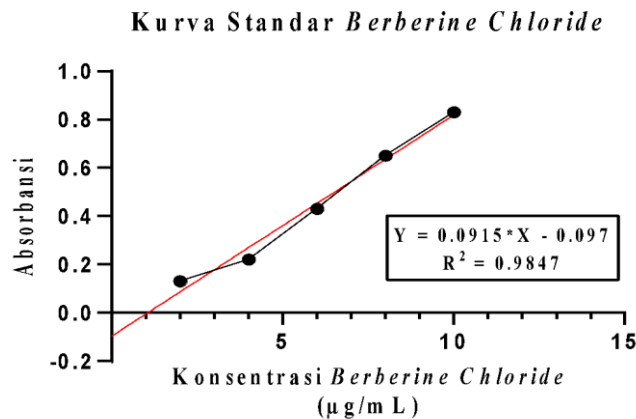
Kadar fenolik ekstrak umbi bit dihitung menggunakan persamaan garis $Y = 0.001133X - 0.03130$ dengan sumbu X adalah kadar fenolik dan sumbu Y adalah absorbansi. Pada penelitian ini didapatkan kadar fenolik ekstrak umbi bit adalah 288.12 µg/mL (Tabel 4).

Tabel 4. Nilai Absorbansi dan Kadar Fenolik Ekstrak Umbi Bit

Uji	Absorbansi	Kadar Fenolik (µg/mL)	Rerata Kadar (µg/mL)
I	0.308	299.47	288.12
II	0.324	276.78	

Untuk mengukur kadar fenolik pada ekstrak umbi bit, penelitian ini menggunakan standar tanin. Pada penelitian ini didapatkan kadar fenolik ekstrak umbi bit adalah 288.125 µg/mL. Menurut penelitian Nahla (2018), ekstrak umbi bit kaya akan fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Menurut Kaurinovic (2019), senyawa fenolik dapat meningkatkan aktivitas antioksidan yang mempengaruhi konsentrasi radikal oksigen yang berbahaya. Wulansari (Rehman et al., 2021) mengatakan, lamanya penyimpanan dan suhu penyimpanan dapat menyebabkan penurunan kadar fenolik. Lama penyimpanan yang dapat menurunkan kadar fenolik adalah empat minggu serta suhu penyimpanan yang dapat menurunkan kadar fenolik adalah $(27 \pm 2^\circ\text{C})$.

Berberine chloride digunakan sebagai larutan standar pada pengukuran kadar alkaloid total. Dengan spektrofotometer genesis 30 vis dilakukan pengukuran absorbansi standar dan konsentrasi *berberine chloride* pada panjang gelombang 415 nm. Pada kurva standar, sumbu X merupakan konsentrasi dan sumbu Y merupakan absorbansi. Didapatkan persamaan $Y = 0.0915X - 0.097$ dan $R^2 = 0.9847$.



Gambar 3. Kurva Standar *Berberine Chloride*

Menghitung kadar alkaloid ekstrak umbi bit dengan menggunakan persamaan $Y = 0.0915X - 0.097$ dengan X adalah kadar alkaloid dan Y adalah absorbansi. Pada penelitian ini didapatkan kadar alkaloid ekstrak umbi bit adalah 2.63 µg/mL (Tabel 6).

Tabel 6. Nilai Absorbansi dan Kadar Alkaloid Ekstrak Umbi Bit

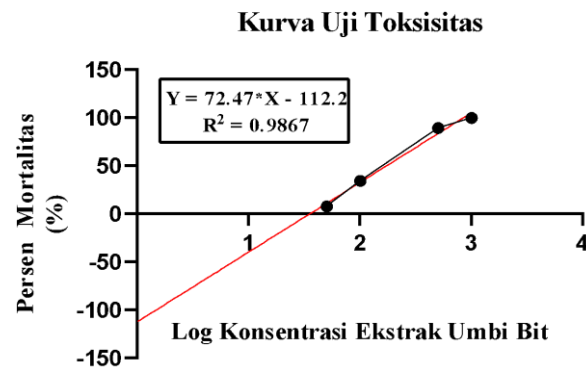
Pengulangan	Absorbansi	Kadar Alkaloid(µg/mL)	Rerata Kadar (µg/mL)
I	0.141	2.60	2.63
II	0.148	2.67	

Untuk mengukur kadar alkaloid total ekstrak umbi bit, penelitian ini menggunakan standar *Berberine Chloride*. Pada penelitian ini didapatkan kadar rata – rata alkaloid ekstrak umbi bit 2.63 µg/mL. Berdasarkan penelitian Rehman (2021)(J. K, 2019), ekstrak umbi bit mengandung alkaloid, tetapi tidak dilakukan pengukuran kadar alkaloid total ekstrak umbi bit. Menurut Kurek (2019), alkaloid memiliki efek fisiologis seperti antiinflamasi, analgesik, anestesi lokal, psikotropika, dan antibakteri.

Uji toksisitas dilakkan menggunakan konsentrasi berbeda ekstrak umbi bit yang diujikan pada larva *Artemia salina*. Kemudian pada masing – masing konsentrasi ekstrak umbi bit didapat persentase kematian larva *Artemia salina* (Tabel 7). Kemudian dibuat kurva dengan sumbu X merupakan log konsentrasi dan sumbu Y merupakan % kematian (Gambar 4).

Tabel 7. Kematian Larva *Artemia salina* Setiap Konsentrasi

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	% Mortalitas (%)	LC ₅₀ (µg/mL)
50	1.70	8.108	172.87
100	2.00	34.615	
500	2.70	89.655	
1000	3.00	100.000	



Gambar 4. Kurva Uji Toksisitas

Didapatkan persamaan $Y = 72.47X - 112.2$ dan $R^2 = 0.9867$. Dari perhitungan didapatkan LC_{50} nya adalah $172.87 \mu\text{g/mL}$ (Tabel 7).

Untuk mengukur toksisitas ekstrak umbi bit, penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pada uji toksisitas ini didapatkan LC_{50} ekstrak umbi bit $172.87 \mu\text{g/mL}$, yang menandakan bahwa ekstrak umbi bit bersifat toksik. Bersifat toksik artinya umbi bit memiliki potensi sebagai antimitosis. Pada hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak umbi bit, semakin tinggi jumlah kematian larva *Artemia salina*. Menurut penelitian Zin (2020), disebutkan bahwa $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ memiliki sifat toksik dan $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ bersifat tidak toksik. Menurut penelitian Budiman (2021), didapatkan LC_{50} senilai $239.82 \mu\text{g/mL}$ yang menandakan bahwa ekstrak umbi bit memiliki toksisitas tinggi.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian yang berjudul 'Uji Fitokimia, Kapasitas Antioksidan, Toksisitas, Kadar Alkaloid Total dan Kadar Fenolik Total Ekstrak Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.)' berdasarkan hasil dan pembahasan, dapat disimpulkan kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak umbi bit terdiri dari alkaloid, antosianin, betasianin, fenolik, flavonoid, glikosida, kardioglikosida, kuinon, kumarin, saponin, tanin, dan terpenoid. Kapasitas antioksidan ekstrak umbi bit dalam IC_{50} didapatkan $839.314 \mu\text{g/mL}$ yang menandakan kapasitas antioksidan ekstrak umbi bit lemah, Hasil uji toksisitas ekstrak umbi bit dalam LC_{50} didapatkan $172.879 \mu\text{g/mL}$ yang menandakan ekstrak umbi bit bersifat toksik sehingga berpotensi sebagai antimitosis. Kadar fenolik total ekstrak umbi bit didapatkan $288.125 \mu\text{g/mL}$. Kadar alkaloid total ekstrak umbi bit didapatkan $2.635 \mu\text{g/mL}$.

Saran yang dapat diberikan adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut kadar metabolisme sekunder lain yang terdapat pada ekstrak umbi bit dan perlu dilakukan penelitian *in vivo* ekstrak umbi bit pada hewan coba untuk diketahui kapasitas antioksidan.

Ucapan Terima Kasih (*Acknowledgement*)

Terima kasih kepada Dr. dr. Meilani Kumala, MS, Sp. GK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara dan selaku Ketua Unit Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat FK Untar, Dr. Helmi MSc selaku pembimbing, Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS. Selaku Kepala Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler, ibu Eny Yulianti yang telah membantu dalam penelitian, dr. David Limanan, M. Biomed selaku dosen Biokimia dan Biologi Molekuler, keluarga dan teman-teman yang telah memberikan dukungan sehingga proses penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

REFERENSI

- Albasher, G., Almeer, R., Alarifi, S., Alkhtani, S., Farhood, M., Al-Otibi, F. O., Alkubaisi, N., & Rizwana, H. (2019). Nephroprotective Role of *Beta vulgaris* L. Root Extract against Chlorpyrifos-Induced Renal Injury in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1.
- Aziz, M., Diab, A., & Mohammed, A. (2019). Antioxidant Categories and Mode of Action. *Antioxidants*, 1–3.
- Bahramsoltani, R., Farzaei, M., & Rahimi, R. (2014). Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: An integrative review. *Archives of Dermatological Research*, 306, 601–617.
- Barbosa, A. P. de O., Silveira, Gde O., de Menezes, I. A., Neto, J. M. R., Bitencurt, J. L. & Estavam, C. S. (2013). Antidiabetic effect of the *Chrysobalanus icaco* L. aqueous extract in rats. *Journal of Medicinal Food*, 16(6), 538–543.
- Blois, M. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 29, 1199.
- Budiman FA, Hidayat F. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Health Science*, 2(3), 310–315.
- WHO. (2020). *Cardiovascular diseases (CVDs)*. (Updated 2017 May 17; Cited 2020 August 8), from : [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- Gonçalves, E. C. D., Baldasso, G. M., Bicca, M. A., Paes, R. S., Capasso, R., & Dutra, R. C. (2020). Terpenoids, cannabimimetic ligands, beyond the cannabis plant. *Molecules*, 25(7), 1–47.
- Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide To Modern Techniques Of Plant Analysis*, Third Edition. Chapman & Hall, 58.
- Kalt, W., Cassidy, A., Howard, L. R., Krikorian, R., Stull, A. J., Tremblay, F., & Zamora-Ros, R. (2020). Recent Research on the Health Benefits of Blueberries and Their Anthocyanins. *Advances in Nutrition*, 11(2), 224–236.
- Kaurinovic, B., & Vastag, D. (2019). Flavonoids and Phenolic Acids as Potential Natural Antioxidants. *IntechOpen*.
- Kurek, J. (2019). Introductory Chapter: Alkaloids - Their Importance in Nature and for Human Life. *IntechOpen*.
- Liliana, C., & Oana-Viorela, N. (2020). Red Beetroot: Composition and Health Effects - A Review. *Journal of Nutritional Medicine and Diet Care*, 5(2).
- Lembong, E., Utama, G.L., & Saputra, R.A. (2019). Phytochemical Test, Vitamin C Content and Antioxidant Activities Beet Root (*Beta vulgaris* Linn.) Extracts as Food Coloring Agent from Some Areas in Java Island. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 306(1):3-6.
- Marjoni, M. R., & Zulfisa, A. (2017). Antioxidant Activity of Methanol Extract/Fractions of Senggani Leaves (*Melastoma candidum* D. Don). *Pharmaceutica Analytica Acta*, 08(08), 1–6.
- Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nichols D, McLaughlin J. (1982). Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 45(5): 31-40.
- Nade, V., Kawale, L., Zambre, S., & Kapure, A. (2015). Neuroprotective potential of *Beta vulgaris* L. in Parkinson's disease. *Indian Journal of Pharmacology*, 47(4), 403–408.
- Nahla, T. K., Wisam, S. U., & Tariq, N. M. (2018). Antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Pakistan Journal of Nutrition*, 17(10), 500–505.
- 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), 219.
- Ogunmefun, O. T. (2018). Phytochemicals—God's Endowment of Curative Power in Plants. *IntechOpen*, 18.

- Rehman, S., Shah, S., Mehmood Butt, A., Masood Shah, S., Jabeen, Z., & Nadeem, A. (2021). Biochemical Profiling and Elucidation of Biological Activities of Beta vulgaris L. Leaves and Roots Extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 592–602.
- Singleton, V., Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144 - 158.
- Stringlis, I. A., De Jonge, R., & Pieterse, C. M. J. (2019). The Age of Coumarins in Plant-Microbe Interactions. *Plant and Cell Physiology*, 60(7), 1405–1419.
- Trivedi, P., Brijesh, P., Rathnam, S., Pundarikakshudu, K. (2006). A validated liquid chromatographic method for estimation of solasodine in various Solanum species and market formulations. *Journal of AOAC International*, 89(6), 1519.
- Wulansari, I. D., Admadi, B., & Mulyani, S. (2020). Pengaruh Suhu Penyimpanan terhadap Kerusakan Antioksidan Ekstrak Daun Asam (Tamarindusindica L). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 8(4), 544.
- Zin, N. N. I. N. M., Mohamad, M. N., Roslan, K., Sazeli, A. W., Moin, N. I. A., Alias, A., Zakaria, Y., & Abu-Bakar, N. (2020). In vitro antimalarial and toxicological activities of quercus infectoria (Olivier) gall extracts. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 27(4), 36–50.

Halaman ini sengaja dikosongkan