

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL PADA BUAH BIT (*Beta vulgaris L.*) MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZIL)

Dian Sry Rejeki Nadeak¹, Astriani Natalia Br Ginting^{2,3*}, Daimah Wirdatus Sanaun Harahap^{2,3}

¹Bachelor of Clinical Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

²Departement of clinical Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

³PUI Phyto Degenerative & Lifestyle Medicine, Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

*Penulis Korespondensi: astrianinataliabrginting@unprimdn.ac.id

Abstrak

Stres oksidatif akibat akumulasi radikal bebas berperan dalam perkembangan berbagai penyakit degeneratif, sehingga diperlukan sumber antioksidan alami yang dapat dievaluasi secara ilmiah. Buah bit (*Beta vulgaris L.*) diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti betalain, flavonoid, dan polifenol yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah bit (*Beta vulgaris L.*) secara *in vitro* menggunakan metode DPPH. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan larutan DPPH dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Ekstrak diuji pada rentang konsentrasi 10–100 µg/mL dengan tiga kali replikasi, sedangkan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persen inhibisi radikal DPPH dan nilai IC₅₀ yang dihitung menggunakan analisis regresi linear. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah bit memiliki nilai IC₅₀ sebesar 3,35 µg/mL, sedangkan kuersetin memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2,76 µg/mL. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 20,29%. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah bit memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH pada sistem uji *in vitro* yang digunakan.

Kata kunci: stres oksidatif; antioksidan alami; betalain; buah bit (*Beta vulgaris L.*); DPPH; IC₅₀

Abstract

Oxidative stress due to the accumulation of free radicals plays a role in the development of various degenerative diseases, so that natural antioxidant sources that can be scientifically evaluated are needed. Beetroot (*Beta vulgaris L.*) is known to contain bioactive compounds such as betalains, flavonoids, and polyphenols that have the potential as antioxidants. This study aims to evaluate the antioxidant activity of beetroot (*Beta vulgaris L.*) ethanol extract *in vitro* using the DPPH method. Extraction was carried out by maceration method using 96% ethanol. The antioxidant activity test was carried out using DPPH solution with absorbance measurement at a wavelength of 517 nm. The extract was tested at a concentration range of 10–100 µg/mL with three replications, while quercetin was used as a positive control. Antioxidant activity was expressed as the percentage of DPPH radical inhibition and the IC₅₀ value calculated using linear regression analysis. The results showed that the beetroot ethanol extract had an IC₅₀ value of 3.35 µg/mL, while quercetin had an IC₅₀ value of 2.76 µg/mL. The yield of the extract obtained was 20.29%. These results indicate that the beetroot ethanol extract has DPPH radical scavenging activity in the *in vitro* test system used.

Keywords: oxidative stress; Antioxidants activity ; Beetroot (*Beta vulgaris L.*), betalains; DPPH , IC₅₀

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, termasuk berbagai jenis tumbuhan yang

berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif. Potensi ini mendorong meningkatnya minat penelitian terhadap bahan alam, khususnya dalam eksplorasi aktivitas biologisnya, seperti aktivitas

antioksidan. Antioksidan memiliki peran penting dalam menangkal radikal bebas yang dapat memicu stres oksidatif, sehingga penelitian terkait sumber antioksidan alami menjadi relevan untuk dikembangkan (Natalia et al. 2025).

Radikal bebas merupakan senyawa yang bersifat sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada lapisan terluarnya, sehingga menjadi tidak stabil. Keberadaan radikal bebas dalam jumlah yang berlebihan di dalam tubuh dapat melebihi kemampuan sistem antioksidan alami untuk menetralsirkannya. Kondisi tersebut dapat memicu kerusakan sel dan jaringan tubuh yang pada akhirnya berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, rematik, penyakit jantung koroner, katarak, dan Parkinson. (Lanes et al., 2023)

Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas dan kemampuan sistem antioksidan tubuh dalam menetralsirkannya. Spesies oksigen reaktif (Reactive Oxygen Species/ROS) dan radikal bebas terbentuk secara alami di dalam tubuh manusia sebagai hasil dari proses metabolisme seluler. Selain berasal dari proses metabolisme normal, pembentukan radikal bebas juga dipicu oleh paparan faktor eksternal, seperti asap rokok, emisi gas buang kendaraan bermotor, serta polusi udara, yang berkontribusi terhadap kerusakan sel dan perkembangan berbagai penyakit degeneratif. Oleh karena itu, diperlukan asupan antioksidan dari luar tubuh untuk membantu menjaga keseimbangan oksidatif. (Sihotang et al., 2025)

Antioksidan adalah senyawa yang memperlambat atau mencegah kerusakan oksidatif dengan menstabilkan radikal bebas. Antioksidan sangat rentan terhadap oksidasi atau merupakan

agen pereduksi yang kuat. Oleh karena itu, dibandingkan dengan molekul lain, ia bereaksi dengan radikal bebas terlebih dahulu. Sumber antioksidan alami sebagian besar berasal dari tumbuhan, dan senyawa fenolik umumnya tersebar pada seluruh bagian tumbuhan. Senyawa fenolik merupakan turunan fenol yang mempunyai sifat antioksidan. Senyawa fenolik bertindak sebagai antioksidan dengan mencegah pembentukan radikal bebas baru. Dengan kata lain akan mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang tidak berbahaya dan bertindak sebagai pemulung radikal untuk mencegah reaksi berantai (Yuli Kurniasari et al., 2023).

Buah bit (*Beta vulgaris L.*) merupakan tanaman umbi berwarna merah keunguan dengan rasa manis dan aroma khas, namun pemanfaatannya di masyarakat masih relatif terbatas. Buah bit (*Beta vulgaris L.*) merupakan salah satu tanaman yang dilaporkan mengandung senyawa antioksidan, antara lain senyawa fenolik dan pigmen betalain. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut menjadikan buah bit menarik untuk diteliti lebih lanjut aktivitas antioksidannya secara in vitro. (Sylvia Winata et al., 2025)

Buah bit juga mengandung berbagai zat gizi dan senyawa bioaktif, seperti asam folat, vitamin B kompleks, vitamin C, zat besi, nitrat, flavonoid. Kandungan senyawa tersebut berperan dalam aktivitas biologis buah bit, termasuk sebagai antioksidan yang mampu melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas, serta meningkatkan performa fisik, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional. (Sepriyani et al., 2020).

Beberapa penelitian sebelumnya, seperti Babarykin et al. (2019) juga menyarankan

penggunaan metode DPPH untuk menguji potensi antioksidan pada tanaman berpigmen tinggi seperti buah bit. Metode DPPH banyak digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan karena bersifat sederhana, cepat, dan sensitif terhadap senyawa pendonor hidrogen. Meskipun demikian, penelitian terdahulu mengenai aktivitas antioksidan buah bit masih menunjukkan keterbatasan, terutama terkait variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan serta kurangnya konsistensi dalam jumlah replikasi pengujian. Kondisi tersebut menyebabkan hasil yang diperoleh sulit dibandingkan secara kuantitatif antar penelitian. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang menggunakan rentang konsentrasi terkontrol dengan pendekatan analisis kuantitatif yang jelas untuk memperoleh gambaran hubungan konsentrasi-respon secara lebih sistematis. Kebaruan dalam penelitian ini terletak pada evaluasi aktivitas antioksidan buah bit menggunakan metode DPPH dengan konsentrasi bertingkat yang terstandarisasi dan analisis regresi linear untuk menggambarkan hubungan konsentrasi terhadap persen inhibisi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan buah bit secara *in vitro* dan memberikan data kuantitatif yang lebih terukur sebagai dasar awal penilaian potensi antioksidan bahan alami.

METODE PENELITIAN

Determinasi

Identifikasi tanaman dilakukan di *Herbarium Medanense (MEDA)* Universitas Sumatera Utara di Medan.

Alat dan bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini meliputi buah bit (*Beta vulgaris L*) sebagai sampel

penelitian yang diperoleh dari pasar induk medan sumatera utara, aquadest, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, DPPH (Merck) (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), etanol 96% besi (III) klorida (HCL), preaksi dragendorff, pereaksi mayer,serbuk magnesium (MG), pereaksi asam galat, pereaksi piperin, pereaksi kloroform methanol p.a serta kuersetin yang digunakan sebagai kontrol positif untuk uji antioksidan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi aluminium foil, batang pengaduk, blender, kertas saring, kuvet, neraca analitik, rotary evaporator, seperangkat alat gelas laboratorium, mikropipet, tabung reaksi, water bath, serta spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1900).

Preparasi sampel

Buat bit yang sudah di kumpulkan sebanyak ± 25 kg kemudian dibersihkan, dicuci Dengan air mengalir, dan dikeringkan menggunakan tisu bersih. Agar terbebas dari kotoran dan debu (sortasi basah), Kemudian tiriskan untuk membebaskan buah bit dari sisa air cucian Selanjutnya buah bit di kupas dan dipotong kecil-kecil selanjutnya dikeringkan menggunakan lemari pengering dengan suhu $50-60^{\circ}\text{C}$ sampai rapuh lama pengeringan 2-5 hari. Setelah kering simplisia dibersihkan kembali dari kotoran yang mungkin tidak hilang pada saat pencucian (sortasi kering), kemudian dihaluskan dengan *blender* dan di ayak dengan ayakan mesh nomor 60.

Ekstraksi

Serbuk simplisia buah bit diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 8 L dengan perbandingan pelarut 1:10. serbuk simplisia sebanyak ± 800 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Selanjutnya ditambahkan

etanol 96% sebanyak 8 L hingga seluruh sampel terendam, Campuran tersebut disimpan dalam wadah tertutup dan terlindung dari paparan cahaya matahari langsung, kemudian dimaserasi selama 3×24 jam pada suhu ruang. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan beberapa kali untuk meningkatkan kontak antara sampel dan pelarut. Proses maserasi dilakukan sebanyak tiga kali menggunakan pelarut yang sama. Filtrat hasil maserasi dipisahkan dari residu menggunakan filtrasi gravitasi dengan kertas saring. Seluruh filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga sebagian besar pelarut menguap. Ekstrak selanjutnya diuapkan kembali di atas water bath hingga diperoleh ekstrak kental. Dari proses ekstraksi tersebut diperoleh berat ekstrak akhir sebesar 162,3 g, dengan rendemen ekstrak sebesar 20,29%.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa bioaktif dalam ekstrak. Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan dragendrof sebanyak 1ml ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 ml Hcl 2% pada tabung dikocok hingga homogen. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes dragendrof kedalam tabung terbentuknya endapan coklat pada tabung maka sampel tersebut mengandung alkaloid dan menunjukkan hasil positif.

Uji flavonoid dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak sebanyak 1ml kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan air panas yang secukupnya. Filtrat yang ada diambil sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan HCl pekat, perubahan warna

menjadi merah, kuning, atau jingga menandakan adanya flavonoid.

Uji saponin, dilakukan dengan metode Forth 1ml ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml air panas, sampel akan berbentuk buih dan stabil dan setelah penambahan HCl busa tidak hilang menandakan hasil positif dan menandakan sampel mengandung saponin.

Uji tanin dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes FeCl_3 kedalam 1 ml ekstrak, jika menghasilkan warna biru tua hingga hitam kehijauan sampel tersebut positif mengandung tanin

Sementara itu, uji triterpenoid dilakukan dengan penambahan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat, dan terbentuknya warna merah, orange, kuning maka sampel positif mengandung triterpenoid.

Analisis kromatografi lapis tipis

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol buah bit, meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenolik, serta steroid/triterpenoid. Pemisahan dilakukan pada plat silica gel GF254 berukuran 10×1 cm dengan ketebalan lapisan 0,25 mm sebagai fase diam. Sampel diaplikasikan menggunakan capillary tube, kemudian dikembangkan dengan fase gerak yang sesuai untuk masing-masing golongan senyawa, yaitu alkaloid (etil asetat: metanol: air, 6:4:2), flavonoid (n-butanol: asam asetat: air, 4:1:5), tanin (n-butanol: asam asetat: air, 4:1:5), saponin (kloroform: metanol: air, 13:7:2), dan steroid/triterpenoid (toluen: etil asetat: kloroform, 5:1:4), masing-masing dengan baku

pembandingnya. Setelah pengembangan, plat diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm, serta disemprot dengan pereaksi spesifik bila diperlukan untuk memvisualisasikan senyawa. Nilai Rf dihitung menggunakan rumus $R_f = \text{jarak spot senyawa} \div \text{jarak pelarut}$.

Uji antioksidan

1. Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 5 mg DPPH dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 50 mL dan dicukupkan volume hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 100 mcg/mL. Larutan DPPH ini akan dilakukan optimasi panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm, dan diperoleh pada 517 nm.

2. Pembuatan dan pengujian sampel ekstrak

Sebanyak 10 mg ekstrak kental dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 10 mL menggunakan labu ukur, sehingga diperoleh larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi 10, 15, 20, 50, dan 100 µg/mL. Setiap larutan uji sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH dengan konsentrasi 100 µg/mL. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH, kemudian dihitung persentase inhibisi masing-masing konsentrasi sampel. Seluruh pengujian dilakukan secara triplo (tiga kali pengulangan).

3. Pembuatan dan pengujian Larutan kuersetin

Sebanyak 10 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam metanol p.a hingga volume 100 mL menggunakan labu ukur, sehingga diperoleh larutan induk kuersetin dengan konsentrasi 100 µg/mL. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi 10,15,20,50,100 µg/mL sebagai kontrol positif. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mencampurkan 2 mL larutan kuersetin pada masing-masing konsentrasi dengan 2 mL larutan DPPH 100 µg/mL dalam tabung reaksi. Campuran dihomogenkan selama 20 detik, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah inkubasi, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH, dan persentase inhibisi dihitung. Seluruh pengujian dilakukan secara triplo. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai persen inhibisi yang dihitung berdasarkan perbandingan absorbansi larutan kontrol (DPPH tanpa sampel) dan larutan uji.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{Blanko}}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50%) ditentukan berdasarkan hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi yang diperoleh. Data persen inhibisi yang mengandung ekstrak etanol buah bit (*Beta vulgaris L.*), kemudian dianalisis menggunakan persamaan regresi linier $y = bx + c$. Pada persamaan tersebut, nilai x menyatakan konsentrasi sampel, sedangkan nilai y menunjukkan persentase inhibisi. Nilai IC₅₀ ditentukan sebagai konsentrasi sampel yang mampu menghasilkan inhibisi sebesar 50%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1.hasil rendemen

Berat simplisia kering	Berat ekstrak	Rendemen
500 g	101,46 g	20,29 %

buah bit (*Beta vulgaris L.*) menghasilkan rendemen sebesar 20,29%, yang menunjukkan jumlah ekstrak kental yang diperoleh dari proses ekstraksi. Namun, nilai rendemen tidak secara langsung merefleksikan efisiensi penarikan maupun kelengkapan senyawa bioaktif dalam bahan baku. Rendemen dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti jenis pelarut, metode ekstraksi, ukuran partikel, dan durasi ekstraksi. Etanol 96% digunakan karena kemampuannya melarutkan senyawa polar hingga semipolar, termasuk betalain, flavonoid, dan senyawa fenolik. Oleh karena itu, rendemen pada penelitian ini digunakan sebagai parameter kuantitatif hasil ekstraksi, sedangkan evaluasi kualitas ekstrak dilakukan melalui pengujian aktivitas antioksidan.

Tabel 2.hasil skrining fitokimia

Fitokimia	Ekstrak
Alkaloid	+
Flavanoid	+
Terpenoid	+
Saponin	+
Triterpenoid	+

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak buah bit positif mengandung berbagai metabolit sekunder, antara lain flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Keberadaan metabolit sekunder tersebut mendukung potensi aktivitas biologis ekstrak, khususnya sebagai antioksidan. Umbi bit diketahui kaya akan senyawa fitokimia yang

Rendemen ekstrak adalah perbandingan antara jumlah ekstrak yang berhasil diperoleh dengan jumlah simplisia yang digunakan pada awalnya (Vifta et al., 2025). Nilai rendemen ekstrak digunakan untuk mengetahui seberapa efisien proses ekstraksi. Dalam penelitian ini, ekstraksi berperan dalam menangkal radikal bebas dan menghambat proses oksidasi, sehingga berkontribusi terhadap efek protektif terhadap stres oksidatif (Sawiji dan Elisabeth Oriana Jawa La, 2022). Hasil ini sejalan dengan penelitian Natalia et al. (2025) yang menyatakan bahwa berbagai tanaman mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, dan polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas menjadi bentuk yang kurang reaktif, di mana kekuatan aktivitas antioksidannya dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksil pada struktur cincin aromatik. Tanin, yang termasuk dalam kelompok polifenol, juga memiliki kemampuan menangkap radikal bebas serta mengikat ion logam, sehingga dapat menghambat reaksi oksidasi lanjutan. Tanin terbagi menjadi dua kelompok utama, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi, yang keduanya berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan secara sinergis (Kasmiati et al., 2023). Dengan demikian, keberadaan berbagai metabolit sekunder dalam ekstrak buah bit diduga berperan dalam aktivitas antioksidan yang diamati pada pengujian selanjutnya.

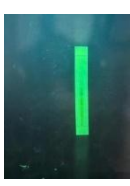
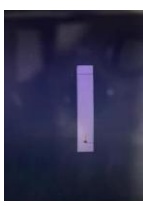
Tabel 3 hasil analisis kromatografi lapis tipis

Nama senyawa	Fase gerak	pereaksi	Tanda positif	Nilai Rf
Alkaloid	Etil asetat : Metanol : Air (6:4:2)	piperin	Bercak berwarna kekuningan (+)	0,7
Flavanoind	n-Butanol: asam asetat:air (4:1:5)	quersetin	bercak fluoresen berwarna hijau terang(+)	0,8
Tanin	n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	Asam galat	bercak memberikan fluoresensi hijau ke kuning(+)	0,7
Saponin	Kloroform: Metanol: Air (13:7:2)	Asam galat	Bercak warna kekuningan(+)	0,6
steroid	Toluen : Etil asetat : Kloroform (5:1:4)	kloroform	muncul noda dengan fluoresensi berwarna ungu kehitaman(+)	0,9

Analisis kromatografi lapis tipis (KLT) terhadap ekstrak etanol buah bit menunjukkan adanya beberapa golongan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tanin, saponin, senyawa fenolik, dan glikosida. Keberadaan golongan senyawa tersebut konsisten dengan hasil uji skrining fitokimia dan diperkuat melalui analisis KLT berdasarkan kemunculan bercak dengan nilai Rf yang khas untuk masing-masing golongan senyawa. Senyawa alkaloid dan tanin terdeteksi pada nilai Rf sekitar 0,7, flavonoid pada 0,8, terpenoid pada 0,2, steroid pada 0,9, saponin dan glikosida pada 0,6, serta senyawa fenolik pada 0,5. Identifikasi dilakukan melalui perbandingan nilai Rf dan karakteristik bercak sampel terhadap baku pembanding yang sesuai. Kromatografi Lapis Tipis merupakan teknik pemisahan senyawa yang memanfaatkan perbedaan afinitas komponen terhadap fase diam

dan fase gerak, dengan prinsip kerja meliputi proses adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika komponen sampel menempel pada permukaan fase diam, sedangkan desorpsi dan elusi berlangsung saat fase gerak membawa komponen tersebut bergerak sepanjang plat dengan kecepatan yang berbeda-beda (miranti, 2023). Perbedaan interaksi inilah yang menghasilkan pemisahan senyawa dan nilai Rf yang spesifik untuk setiap komponen.

Tabel 4 Gambar bercak hasil analisis klt

Parameter	Sebelum disinari	UV 25	UV366
Alkaloid			
Flavanoind			
Steroid			
Terpenoid			
Saponin			
Tanin			

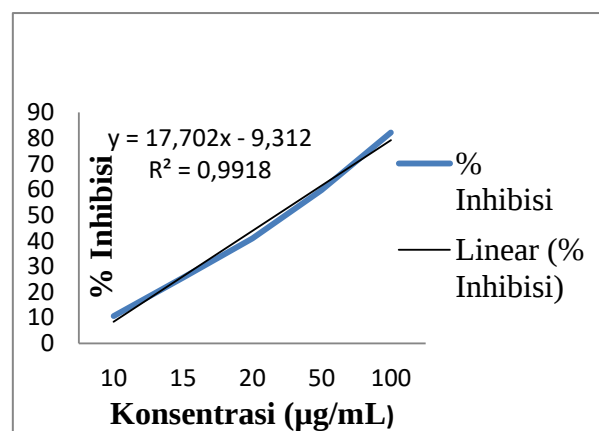
Tabel 5. Hasil perhitungan IC₅₀ dari ekstrak buah bit

no	Konsent rasi ekstrak buah bit (<i>Beta vulgaris</i> L) (µg/mL)	Absorba nsi blanko DPPH	Absorba nsi Rata Rata ± Sd(n=3)	% inhib isi	Linear	IC ₅₀ (µg/mL)
1	10	0,800	0,618 3 ± 5	10, 67 %		3,35 µg/mL
2	15		0,575 7 ± 1	25, 61 %	Y=17,7 02x-	
3	20		0,505 0 ± 6	40, 86 %	9,312 R=0,99 18	
4	50		0,317 3 ± 5	59, 69 %		
5	100		0,118 0 ± 0	82, 14 %		

Menurut Rumagit *et al.*, nilai IC₅₀ yang digunakan sebagai parameter untuk mengelompokkan tingkat aktivitas antioksidan suatu senyawa. Aktivitas antioksidan umumnya diklasifikasikan berdasarkan nilai IC₅₀, yaitu sangat kuat apabila IC₅₀ < 50 µg/mL, kuat pada rentang 50–100 µg/mL, sedang pada rentang 101–150 µg/mL, dan lemah pada rentang 151–200 µg/mL.

Aktivitas antioksidan ekstrak buah bit (*Beta vulgaris* L.) diuji menggunakan metode DPPH. Hasil menunjukkan bahwa persentase penghambatan radikal DPPH meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak, dari 10,67% pada 10 µg/mL hingga 82,14% pada 100 µg/mL, yang menunjukkan aktivitas antioksidan bersifat bergantung pada konsentrasi. Analisis regresi linear menghasilkan persamaan $y = 17,702x - 9,312$ dengan nilai koefisien korelasi (R

= 0,9918), yang menunjukkan hubungan linear sangat kuat antara konsentrasi ekstrak dan aktivitas penghambatan. Berdasarkan persamaan tersebut, diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 3,35 µg/mL, yang menunjukkan bahwa ekstrak buah bit memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi berdasarkan uji DPPH Sesuai kriteria umum, bahan alam dengan nilai IC₅₀ < 50 µg/mL dikategorikan sebagai antioksidan kuat. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh peneliti Farhatun Nisa melaporkan bahwa nanoemulsi ekstrak buah bit yang di uji dengan metode DPPH memiliki nilai aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ 136,47 µg/mL ini menunjukkan aktivitas antioksidan kategori sedang dan kuat perbedaan nilai IC₅₀ tersebut dapat dipengaruhi oleh perbedaan ekstraksi, formulasi sediaan serta perbedaan konsentrasi ekstrak yang dilakukan dalam penelitian. (Zuniarto *et al.*, 2015) Sesuai kriteria umum, bahan alam dengan nilai IC₅₀ < 50 µg/mL dikategorikan sebagai antioksidan kuat. Aktivitas ini diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif dalam buah bit, seperti betasianin dan senyawa fenolik, yang berperan sebagai penangkap radikal bebas.



Gambar 1. Persamaan linear regresi ekstrak buah bit

Berdasarkan grafik hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi radikal

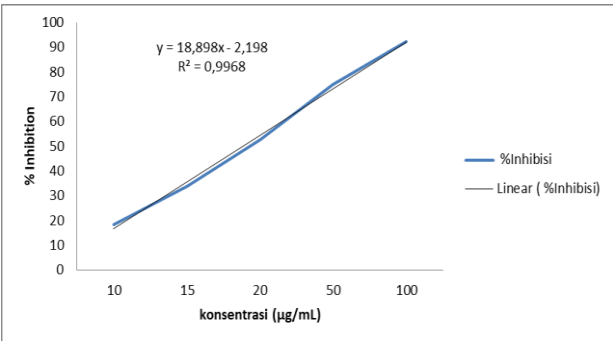
DPPH, peningkatan konsentrasi diikuti oleh peningkatan persen inhibisi secara bertahap. Yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan bersifat bergantung pada Konsentrasi. Hubungan linier antara konsentrasi ekstrak dan persen inhibisi menunjukkan pola linear yang kuat dengan persamaan regresi $y = 17,702x - 9,312$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9918. Nilai R^2 yang tinggi menunjukkan bahwa perubahan konsentrasi berpengaruh besar terhadap variasi persen inhibisi, dengan pola peningkatan aktivitas antioksidan yang relatif konsisten. Peningkatan inhibisi yang bersifat gradual berkaitan dengan mekanisme reduksi radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui donasi atom hidrogen atau elektron. Hubungan linier yang diperoleh menunjukkan bahwa pada rentang konsentrasi yang diuji belum terjadi kejenuhan reaksi.

Tabel 6. Hasil perhitungan IC₅₀ dari kuersetin

no	Konsentrasi kuersetin (µg/mL)	Absorbansi blanko DPPH	Absorbansi Rata Rata ± Sd (n=3)	% inhibisi	Linear
1	10	0,703	0,571 ± 0,001	18,4 %	Y=18,898X -2,198 R=0,9968
2	15		0,477 ± 0,002	33,9 %	
3	20		0,386 ± 0,002	52,82 %	
4	50		0,154 ± 0,001	75,04 %	
5	100		0,054 ± 0,003	92,32 %	

Hasil uji aktivitas antioksidan larutan standar kuersetin dengan metode DPPH

menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi diikuti oleh peningkatan persen inhibisi radikal bebas secara konsisten. Persen inhibisi meningkat dari 18,4% pada konsentrasi 10 µg/mL menjadi 33,9% pada 15 µg/mL, serta mencapai 52,82% dan 78,0% masing-masing pada konsentrasi 20 dan 50 µg/mL. Pada konsentrasi tertinggi (100 µg/mL), persen inhibisi mencapai 92,32%, yang menunjukkan kemampuan kuersetin dalam menetralkan sebagian besar radikal DPPH. Hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi menunjukkan pola linier dengan persamaan regresi $y = 18,898x - 2,198$ dan nilai koefisien korelasi $R = 0,9968$, yang menandakan hubungan yang sangat kuat dan konsistensi data. Berdasarkan persamaan regresi tersebut, diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 2,76 µg/mL, yang mengindikasikan bahwa kuersetin tergolong sebagai antioksidan sangat kuat. Nilai IC₅₀ yang rendah ini sejalan dengan karakteristik kuersetin sebagai senyawa flavonoid golongan fenolik yang memiliki kemampuan tinggi dalam mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk mereduksi radikal bebas. Oleh karena itu, kuersetin layak digunakan sebagai standar pembanding dalam pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (Aisyah, et al. 2025).



Gambar 2. persamaan regresi linear quersetin sebagai kontrol positif

Grafik menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi kuersetin diikuti oleh peningkatan persentase inhibisi radikal DPPH secara konsisten, dengan pola hubungan yang hampir linier. Nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9968 mengindikasikan hubungan yang sangat kuat antara konsentrasi kuersetin dan aktivitas antioksidan, sehingga persamaan regresi dapat menggambarkan hubungan konsentrasi–respon secara tepat. Tingginya aktivitas antioksidan kuersetin serta respon yang bergantung pada dosis menunjukkan bahwa kuersetin layak digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Keberadaan kuersetin sebagai pembanding juga memberikan dasar yang kuat dalam mengevaluasi aktivitas antioksidan sampel uji secara kuantitatif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil Ekstrak buah bit (*Beta vulgaris L.*) menunjukkan aktivitas antioksidan pada pengujian in vitro menggunakan metode DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 3,35 $\mu\text{g/mL}$, yang termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$) berdasarkan klasifikasi aktivitas antioksidan. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak buah bit mampu meredam radikal DPPH secara efektif pada sistem uji yang digunakan. dan Kontrol positif kuersetin menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 2,76 $\mu\text{g/mL}$, sehingga mengonfirmasi bahwa metode DPPH yang diterapkan dalam penelitian ini berjalan dengan baik dan menghasilkan data yang konsisten. Namun demikian, hasil penelitian ini terbatas pada pengujian in vitro dan hanya menggambarkan kemampuan penangkapan radikal DPPH.

Saran

Penelitian ini hanya mengevaluasi aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, sehingga hasil yang diperoleh terbatas pada kemampuan penangkapan radikal DPPH dan belum mencerminkan mekanisme antioksidan lainnya. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dengan berbagai metode uji antioksidan diperlukan untuk memperoleh gambaran aktivitas antioksidan yang lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, P. N., Rahma, A., & Sutrisno Adi Prayitno. (2025). *Analisis Kadar Kuersetin Dan Mutu Sensori Pada Formulasi Minuman Seduhan Berbahan Dasar Daun Kelor Dan Buah Belimbing Wuluh*. 2(2), 144–155.
- Ginting, A. N. B., Kaban, V. E., Banga, R. I., & Daimah W. S. Harahap. (2025). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Gel Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. Schum*) terhadap *Propionibacterium acnes*. *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi*, 4(1), 75–88. <https://doi.org/10.55123/insologi.v4i1.4844>
- Lanes, C. A., Yudistira, A., & Meilani Jayanti. (2023). *Antioxidant Activity Test Of Lamellodysidea Herbacea Sponges Ethanol Extract Obatained From Minahasa Regency South Beach*. 12, 367–372.
- miranti. (2023). *miranti*. 2023. “Pend_Klt.” 1(2):8–13. 1(2), 8–13.
- Sepriyani, H., Devitria, R., Surya, A., & Sari, S. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak

- Metanol Daun Pepaya (*Carica papaya L*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 9(1), 2018–2021.
- Sihotang, N., Bangar, R. I., Kaban, vera E., Sembiring, N. B., Sanaun, D. W., & Harahap. (2025). Antioxidant Activity Test of The Ethyl Acetate Fraction of Tetanus Leaf (*Leea aequata L.*) Using The DPPH Method. *PCJN: Pharmaceutical and Clinical Journal of Nusantara*, 3(01), 21–25.
<https://nusantarascientificjournal.com/index.php/pcjn/article/view/88>
- Sylvia Winata, Rena Meutia, Astriani Natalia, & Asyrun Alkhairi Lubis. (2025). Avocado Seed Ethanol Extract's Ability to Reduce Hyperuricemia in Mice. *Jurnal Indah Sains dan Klinis*, 6(1), 01–08.
<https://doi.org/10.52622/jisk.v6i1.01>
- Vifta, R. L., Marini, Y., Puspitasari, A. D., Badriyah, L., & Sulastri, S. (2025). Analisis Flavonoid Total Ekstrak Buah Bit (*Beta vulgaris L.*) Berdasarkan Metode dan Lama Ekstraksi Secara Spektrofotometri. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 5(1), 86–98.
<https://doi.org/10.14710/genres.v5i1.25639>
- Yuli Kurniasari, Kharismatul Khasanah, Vera Yunita, Labibah Alawiyah, & Puji Wijayanti. (2023). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Serbuk Bekatul Menggunakan Metode Dpph, Abts, Dan Frap. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2), 82–90.
<https://doi.org/10.61902/cerata.v13i2.612>
- Zuniarto, A. A., Pandanwangi, S., Nuari, R. A., & Listya, D. G. (2015). Antioxidant Activity Of Nanoemulsion Of Beet Fruit Extract Using The Dpph Method. 19(1).