

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70%  
KULIT BUAH BIT (*Beta vulgaris* L.) DENGAN METODE DPPH**

**SKRIPSI**



Oleh:  
**Ida Ayu Pradnya Virliana Dewi**  
**NIM.18040044**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SEOBANDI  
JEMBER  
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70%  
KULIT BUAH BIT (*Beta vulgaris* L.) DENGAN  
METODE DPPH**

**SKRIPSI**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:  
**Ida Ayu Pradnya Virliana Dewi**  
**NIM.18040044**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SEOBANDI  
JEMBER  
2022**

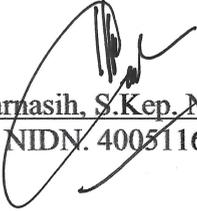
## LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi

Universitas dr. Soebandi

Jember, 31 Agustus 2022

Pembimbing Utama

  
I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep. Ns., M.Kep. Sp. Mat  
NIDN. 4005116802

Pembimbing Anggota

  
apt. Wima Anggitasari, M.Sc.  
NIDN. 0723099001

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit (Beta vulgaris L.) Dengan Metode DPPH* telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Kamis  
Tanggal : 15 September 2022  
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi  
Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua,



**Sutrisno, S.Kep. Ns., M.Kes**  
NIDN. 4006066601

Penguji II



**I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep. Ns., M.Kep. Sp. Mat**  
NIDN. 4005116802

Penguji III



**apt. Wima Anggitasari, M.Sc**  
NIDN. 07230990001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas dr. Soebandi,



**Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep.**  
NIDN. 0706109104

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ida Ayu Pradnya Virliana Dewi

NIM : 18040044

Program Studi : Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

Menyatakan bahwa Skripsi saya yang berjudul “Uji Aktiivtas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit (*Beta vulgaris* L.) Dengan Metode DPPH” adalah karya saya sendiri dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan suatu perguruan tinggi manapun. Selain itu, sumber informasi yang dikutip penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari ditemukan adanya kecurangan dalam penyusunan Skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jember, 31 Agustus 2022



Ida Ayu Pradnya Virliana Dewi  
NIM. 18040044

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% KULIT  
BUAH BIT (*Beta vulgaris* L.) DENGAN METODE DPPH**

Oleh:

Ida Ayu Pradnya Virliana Dewi

NIM. 18040044

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep. Ns., M.Kep. Sp. Mat

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Wima Anggitasari, M.Sc

## **PERSEMBAHAN**

Dengan rasa bersyukur yang mendalam telah diselesaikannya skripsi ini.

Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas berkat serta Asung Kertha Wara Nugrahanya penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi ini.
2. Ayah, ibu, kakak dan seluruh keluarga tercinta yang telah banyak memberikan perhatian serta dukungan baik dukungan secara moril maupun materiil yang tak terhingga kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Bapak dan ibu dosen Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan ilmu serta bimbingan kepada saya untuk bekal menjadi orang sukses kedepannya.
4. Bapak dan ibu laboran Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah membantu dalam seluruh kegiatan di laboratorium.
5. Alishanevita, Altelerita, Handy, Feby, Maulida, dan Melinda yang telah menjadi sahabat terbaik yang selalu memberikan semangat, serta membantu dalam menyelesaikan skrip ini.

6. Hasisah, Priyanka Dista, Dharma Ayu, Citta May, Indra, Gifar, Hamdan, Dio, Naufal, Dwi Retno, dan Tiara yang telah berjuang bersama, memberikan semangat dan membantu dalam penelitian serta penulisan skripsi ini.
7. Teman-teman angkatan 2018 Universitas dr. Soebandi yang terlibat secara langsung atau tidak langsung.
8. Kim Namjoon, Kim Soekjin, Min Yoongi, Jung Hoseok, Park Jimin, Kim Taehyung, Jeon Jungkook yang selalu menjadi motivasi melalui karya-karyanya dan menjadi *moodbooster* di saat penulis lelah, serta menjadi inspirasi saat penulis menyelesaikan skripsi ini.
9. *Last but not least, I wanna thank me, I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work, I wanna thank me for having no days off, I wanna thank me for ever quitting, for just being me at all times.*

## **MOTTO**

*“It’s alright even if you don’t have a dream, it’s possible not to have one just be  
happy”*

**Min Yoongi**

*“Life isn’t about being perfect, its about accomplishing your dreams”*

**Jeon Jungkook**

*“If you don’t take risks, you can’t create a future”*

**Mongkey D. Luffi - One Piece**

*“The past wast honestly the best, but my best is what comes next”*

**Yet to come - BTS**

*“Seberat apapun itu, bertahan. Tuhan sedang uji”*

**Haekal Hanasta**

## ABSTRAK

Ida Ayu Pradnya Virliana, Dewi\* I Gusti Ayu, Karnasih\*\* Wima, Anggitasari\*\*\*.2022. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit (*Beta vulgaris* L.) Dengan Metode DPPH.** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Penyakit degeneratif di Indonesia mengalami peningkatan salah satunya disebabkan oleh radikal bebas. Radikal bebas dapat dinetralisir dengan antioksidan. Buah bit (*Beta vulgaris* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan dan berkhasiat sebagai antioksidan, terutama pada bagian kulit buah bit, namun pemanfaatan kulit bit masih jarang. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.). Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Populasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit buah bit, dan sampel yang digunakan yaitu ekstrak etanol 70% kulit buah bit. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm. Hasil penelitian pada kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah bit berupa flavonoid, tanin, dan saponin. Pada hasil uji aktivitas antioksidan kuersetin menunjukkan rata-rata nilai  $IC_{50}$  8  $\mu\text{g/mL}$  dan pada hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah bit menunjukkan rata-rata nilai  $IC_{50}$  136  $\mu\text{g/mL}$ . Pada hasil perbandingan aktivitas antioksidan antara ekstrak kulit buah bit dan kuersetin menunjukkan nilai sig (2-tailed) lebih besar dari 0,05. Dari nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan menunjukkan bahwa kuersetin memiliki aktivitas antioksidan kuat dan ekstrak kulit buah bit memiliki aktivitas antioksidan sedang. Perbandingan aktivitas antioksidan kuersetin dan ekstrak kulit buah bit memiliki nilai  $IC_{50}$  yang berbeda signifikan dimana. Hal ini dapat disebabkan kemampuan dari masing-masing senyawa dalam mendonorkan elektron kepada radikal DPPH. Semakin besar elektron yang didonorkan kepada radikal DPPH maka nilai absorbansi akan semakin kecil dan nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan akan semakin rendah.

**Kata Kunci:** Kulit buah bit, antioksidan, DPPH,  $IC_{50}$ .

\*Peneliti

\*\*Pembimbing 1

\*\*\*Pembimbing 2

## ABSTRACT

Ida Ayu Pradnya Virliana, Dewi\* I Gusti Ayu, Karnasih\*\* Wima, Anggitasari\*\*\*.2022. **Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract 70% Beetroot Peel (*Beta vulgaris* L.) With DPPH Method.** Thesis. Pharmacy Undergraduate Study Program, University of dr. Soebandi.

Degenerative diseases in Indonesia have increased, one of which is caused by free radicals. Free radicals can be neutralized with antioxidants. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) is one of the plants that are widely used and efficacious as an antioxidant, especially on the skin of beetroot, but the use of beetroot peel is still rare. The purpose of this study was to analyze the antioxidant activity of ethanol extract of 70% beetroot peel (*Beta vulgaris* L.). Measurement of antioxidant activity is carried out by the DPPH method. The population used in this study was beet peel, and the sample used was ethanol extract of 70% beetroot peel. Determination of antioxidant activity was carried out by the DPPH method and analyzed using UV-Vis spectrophotometry with a wavelength of 515 nm. The results of the study on the content of chemical compounds extracting beetroot peel in the form of flavonoids, tannins, and saponins. The test results of the antioxidant activity of quercetin showed an average IC<sub>50</sub> value of 8 µg / mL and the test results of antioxidant activity on the extract of beetroot skin showed an average IC<sub>50</sub> value of 136 µg / mL. The results of the comparison of antioxidant activity between beetroot peel extract and quercetin showed a sig (2-tailed) value greater than 0.05. The IC<sub>50</sub> value obtained shows that quercetin has strong antioxidant activity and beetroot peel extract has moderate antioxidant activity. A comparison of antioxidant activity of quercetin and beetroot peel extract has a significantly different IC<sub>50</sub> value where. This can be due to the ability of each compound to donate electrons to DPPH radicals. The larger the electrons donated to the DPPH radical, the smaller the absorbance value will be and the IC<sub>50</sub> value produced will be lower.

**Keyword:** *Beetroot peel, antioxidant, DPPH, IC<sub>50</sub>.*

\*Author

\*\*Advisor 1

\*\*\*Advisor 2

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan Asung Kertha Wara Nugraha-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit (*Beta vulgaris L.*) Dengan Metode DPPH.

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. H. Said Mardjianto, S.Kep., Ns., MM selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
4. I Gusti Ayu Karnasih, S.Kep. Ns., M.Kep. Sp.Mat selaku pembimbing utama
5. apt. Wima Anggitasari, M.Sc. selaku pembimbing anggota
6. Sutrisno, S.Kep. Ns., M.Kes selaku ketua penguji

Penulis tentu menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan yang disebabkan karena keterbatasan kemampuan penulis. Dengan demikian segala saran dan kritik penulis terima dengan lapang dada demi kesempurnaan skripsi ini.

Jember, 31 Agustus 2022

## DAFTAR ISI

<b>SAMPUL</b> .....	
<b>JUDUL</b> .....	
<b>HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI</b> .....	iii
<b>HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	v
<b>MOTTO</b> .....	vii
<b>ABSTRAK</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat .....	4
1.4.1 Bagi Peneliti .....	4
1.4.2 Bagi Peneliti Lain .....	5
1.4.3 Bagi Masyarakat .....	5
1.5 Keaslian Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6

2.1 Radikal Bebas.....	6
2.1.1 Penyakit Degeneratif .....	7
2.2 Buah Bit .....	7
2.2.1 Daerah Asal dan Penyebaran BuahBit .....	7
2.2.2 Klasifikasi Buah Bit .....	8
2.2.3 Morfologi Buah Bit .....	9
2.2.4 Kandungan Buah Bit .....	10
2.2.5 Manfaat Buah Bit .....	11
2.2.6 Kandungan Kulit Buah Bit.....	12
2.3 Antioksidan .....	12
2.3.1 Definisi Antioksidan .....	12
2.3.2 Sumber Antioksidan.....	13
2.3.3 Penggolongan Antioksidan .....	15
2.3.4 Mekanisme Kerja Antioksidan.....	16
2.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....	17
2.4 Ekstraksi.....	20
2.4.1 Metode Ekstraksi.....	21
2.5 Instrumen Spektrofotometer UV-VIS .....	26
2.5.1 Definisi .....	26
2.5.2 Prinsip Kerja.....	28
2.5.3 Tipe-tipe .....	30
2.5.4 Persyaratan Pengukuran .....	31
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL .....</b>	<b>32</b>
3.1 Kerangka Konseptual .....	32
3.2 Hipotesis.....	33
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>34</b>
4.1 Desain Penelitian.....	34
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian .....	34
4.2.1 Populasi .....	34
4.2.2 Sampel.....	34
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....	35

4.4 Variabel Penelitian .....	35
4.4.1 Variabel Bebas .....	35
4.4.2 Variabel Terikat.....	35
4.4.3 Variabel Terkendali.....	36
4.5 Definisi Operasional.....	36
4.6 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data.....	37
4.6.1 Alat dan Bahan .....	37
4.6.2 Teknik Pengumpulan Data .....	38
4.6 Teknik Analisis Data.....	44
4.7 SOP (Standar Operasional Prosedur).....	44
4.8 Kerangka Operasional.....	47
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>48</b>
5.1 Kandungan Senyawa Kimia Esktrak Etanol 70% Kulit Buah Bit .....	48
5.2 Aktivitas Antioksidan Kuersetin .....	48
5.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit.....	50
5.4 Perbedaan Aktivitas Antioksidan Kuersetin Dengan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit. ....	51
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>53</b>
6.1 Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit .....	53
6.2 Aktivitas Antioksidan Kuersetin .....	54
6.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit.....	55
6.4 Perbedaan Aktivitas Antioksidan Kuersetin Dengan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit. ....	56
<b>BAB 7 PENUTUP.....</b>	<b>58</b>
7.1 Kesimpulan .....	58
7.2 Saran.....	58
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>59</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>65</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2.1 Kandungan gizi dalam 100 gram buah bit .....	10
Tabel 2.2 Sifat antioksidan berdasarkan nilai IC50 .....	19
Tabel 4.1 Definisi Operasional .....	36
Tabel 5.1 Hasil skrining fitokimia .....	48
Tabel 5.2 Hasil absorbansi kuersetin .....	49
Tabel 5.3 Hasil persentase inhibisi kuersetin.....	49
Tabel 5.4 Hasil nilai IC <sub>50</sub> kuersetin .....	49
Tabel 5.5 Hasil absorbansi ekstrak kulit buah bit .....	50
Tabel 5.6 Hasil persentase inhibisi ekstrak kulit buah bit.....	50
Tabel 5.7 Hasil nilai IC <sub>50</sub> ekstrak kulit buah bit.....	50
Tabel 5.8 Hasil uji statistik .....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Bit ( <i>Beta vulgaris</i> L.).....	9
Gambar 2.2 Mekanisme penghambat radikal DPPH .....	18
Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan antioksidan .....	19
Gambar 2.4 Maserasi .....	22
Gambar 2.5 Spektrofotometer Uv-Vis .....	27
Gambar 2.6 Skema kerja spektrofotometer UV-Vis .....	29
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual .....	32
Gambar 4.1 Kerangka Operasional .....	47

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman .....	65
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian .....	66
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen .....	69
Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia .....	70
Lampiran 5. Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm.....	70
Lampiran 6. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Kulit Buah Bit .....	70
Lampiran 7. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin .....	72
Lampiran 8. Optimasi Panjang Gelombang .....	74
Lampiran 9. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi.....	75
Lampiran 10. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin.....	79
Lampiran 11. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Bit.....	80
Lampiran 12. Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> .....	81
Lampiran 13. Hasil Analisis Data .....	84

## DAFTAR SINGKATAN

ABTS	: <i>2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid</i>
BHA	: <i>Butylated Hydroxy Anisole</i>
BHT	: <i>Butylated HydroxyToluene</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
CH <sub>3</sub>	: <i>Metil</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
DPPH-H	: <i>Diphenylhydrazine</i>
EC <sub>50</sub>	: <i>Efficient Concentration</i>
Etanol p.a	: <i>Ethanol pro analysis</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
GPx	: <i>Glutation Peroksidase</i>
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: <i>Asam Sulfat</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein (kolesterol baik)</i>
IC <sub>50</sub>	: <i>Inhibition Concentration 50%</i>
KLT	: <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
NaCl <sub>3</sub>	: <i>Natrium Klorat</i>
OH	: <i>Hidroksida</i>
PJK	: <i>Penyakit Jantung Koroner</i>
Ppm	: <i>Part Per Million</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>

SOD : *Superoksidase Dismutase*  
TBHQ : *Tert-Butylhydroquinone*  
UV-Vis : *Ultraviolet Visibel*  
WHO : *World Health Organization*

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Degeneratif adalah istilah medis yang menggambarkan suatu penyakit yang diakibatkan dari penurunan peran sel saraf sedikit demi sedikit tidak diketahui penyebabnya, dahulunya yang berfungsi dengan normal menjadi lebih buruk sehingga tidak dapat berfungsi lagi (Suiraoaka, I. 2016).

Menurut WHO (*World Health Organization*) di tahun 2008 sebanyak 36 juta dan tahun 2020 diperkirakan sebanyak 73% kematian di dunia yang disebabkan oleh penyakit degeneratif. Terjadinya peningkatan pasien penyakit degeneratif dari 9,4% pada tahun 2007 menjadi 13,3% pada tahun 2013. Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) penyakit degeneratif mengalami kenaikan pada tahun 2018 (Kementerian Kesehatan, 2018).

Salah satu penyebab meningkatnya penyakit degeneratif yaitu radikal bebas. Radikal bebas (*free radical*) merupakan molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya sehingga menjadi sangat reaktif dan menangkap elektron dari makromolekul yang ada di sekitarnya seperti protein, karbohidrat, lipid, serta DNA (*deoxyribonucleic acid*), dan memicu terjadinya penyakit degeneratif akibat kerusakan pada sel-sel (Septiani, 2021). Tubuh manusia mampu untuk menetralkan radikal bebas apabila dalam jumlah yang tidak berlebihan (Werdhasari, 2014). Paparan lingkungan dan kebiasaan buruk seperti merokok, polusi udara, sinar UV, dan makanan cepat saji yang mengakibatkan jumlah radikal

bebas yang berlebihan tidak sanggup dinetralisir oleh sistem pertahanan tubuh (Rizkayanti dkk, 2017). Radikal bebas yang berlebihan akan menimbulkan terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif pada jaringan organ hingga sel yang menimbulkan penyakit dan penuaan terjadi dengan cepat (Yuslianti, 2018). Sehingga untuk menetralsir radikal bebas tubuh membutuhkan antioksidan (Rizkayanti dkk, 2017).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menetralsir radikal bebas di dalam tubuh dan bekerja dengan cara menghambat aktivitas radikal bebas yang menjadi penyebab utama penyakit degeneratif. Senyawa antioksidan memiliki struktur molekul yang mampu mendonorkan elektron pada senyawa radikal bebas, sehingga dapat memutuskan reaksi berantai radikal bebas (Fitri, 2021). Antioksidan terdapat dua jenis, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis sangat efektif dan secara luas zat yang digunakan yaitu BHA (*butylated hydroxyanisole*) dan BHT (*butylated hydroxytoluene*). Akan tetapi, kedua zat tersebut dapat menyebabkan efek karsinogenik yang berbahaya (Ngibad dan Lestari, 2020). Antioksidan alami sendiri yaitu antioksidan yang ditemukan pada bahan-bahan alam seperti asam folat antosianin, flavonoid, vitamin E, A, C, dan fenolat yang mempunyai manfaat yang baik dan efek samping lebih rendah dibandingkan dengan antioksidan sintetis (Parwata, 2016).

Tanaman yang mempunyai banyak khasiat terutama sebagai antioksidan yang kuat yaitu buah bit (*Beta vulgaris* L.), terutama pada bagian kulit buah bit. Hasil skrining ekstrak buah bit yang dilakukan oleh Jawa dkk (2020) menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid, tannin, tripenoid, dan steroid. Senyawa

flavonoid yang salah satunya merupakan pigmen berwarna merah banyak terdapat pada buah bit, terutama pada bagian kulit bit. Namun pemanfaatan kulit bit masih jarang dan kulit bit terbuang begitu saja Faridah dkk (2014) . Berdasarkan penelitian Asra dkk (2020), menyatakan hasil aktivitas antioksidan ekstrak buah bit diperoleh nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*) sebesar 21,8878  $\mu\text{g/mL}$ . Penelitian yang dilakukan Zin dkk (2020) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) menyatakan aktivitas antioksidan kulit buah bit sebesar 697,83  $\text{mg/L}^{-1}$ .

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) menggunakan jenis pelarut yang biasanya digunakan yaitu metanol atau etanol. Radikal DPPH yang berwarna ungu tua akan menyerap kuat pada kisaran panjang gelombang 517 nm (Zhang dkk,2019). Saat elektron sudah berpasangan warna akan berubah menjadi kekuningan. Kelebihan dari metode DPPH yaitu sederhana, cepat, ekonomis, dapat mengukur antioksidan dalam sistem biologis yang kompleks, sensitifitasnya yang tinggi, serta dapat bereaksi secara efektif pada antioksidan yang rendah. Akan tetapi kekurangan dari metode DPPH yaitu hanya dapat larut dalam pelarut organik, sensitif terhadap cahaya, cenderung bereaksi dengan radikal lain yang ada pada sampel, (Sadeer dkk, 2020) Berdasarkan uraian tersebut, peneliti ingin melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*) dengan metode DPPH.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*) memiliki aktivitas antioksidan yang diuji menggunakan metode DPPH?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*) yang diuji menggunakan metode DPPH.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi senyawa kimia ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*).
2. Mengidentifikasi aktivitas antioksidan kuersetin menggunakan metode DPPH.
3. Mengidentifikasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*) menggunakan metode DPPH
4. Menganalisis perbedaan aktivitas antioksidan kuersetin dengan ekstrak etanol 70% kulit buah bit.

## 1.4 Manfaat

### 1.4.1 Bagi peneliti

Mengetahui aktivitas antioksidan yang terkandung pada ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*) yang diuji dengan metode DPPH.

#### 1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini dapat dijadikan sumber informasi dan referensi dalam penelitian selanjutnya mengenai aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah bit sebagai antioksidan dengan bagian tanaman, pelarut serta metode yang sama maupun berbeda.

#### 1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak kulit dari buah bit dapat sebagai antioksidan alami.

### 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Judul Penelitian, Nama Peneliti dan Tahun	Persamaan	Perbedaan	Originalitas Penelitian
Studi fisikokimia betasianin dan aktivitas antioksidan dari umbi bit merah ( <i>Beta vulgaris</i> L.) (Asra dkk, 2020)	Persamaan yang dilakukan penelitian ini yaitu uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis.	Perbedaan yang dilakukan penelitian ini yaitu menggunakan umbi buah bit yang dilarutkan dengan aquadest. Melakukan uji kromatografi lapis tipis (KLT), analisis gugus fungsi menggunakan FTIR dan uji aktivitas antioksidan menggunakan larutan pembanding vitamin C.	Pada penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 70% kulit buah bit. Melakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan larutan pembanding quersetin.
Betalains, total polyphenol, and antioxidant contents in red beetroot peel ( <i>Cylindra type</i> ) (Zin dkk, 2020)	Persamaan yang dilakukan penelitian ini yaitu uji aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Menggunakan ekstrak kulit buah bit.	Perbedaan yang dilakukan penelitian ini yaitu menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%. Melakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP.	Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah senyawa dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga membuatnya sangat reaktif dan mencari pasangan dengan menempel pada elektron molekul terdekat (Novioella, 2019). Radikal bebas berasal dari dua sumber yaitu, dari dalam tubuh (endogen) yang berasal dari enzim-enzim SOD (*superoksidase dismutase*), lipoksigenase, siklooksigenase, dan enzim-enzim pentransfer elektron dan dari luar tubuh (eksogen), seperti penipisan ozon, bahan kimia, sumber radiasi, pencemaran udara, pestisida, toksin, sinar UV, dan asap rokok yang dapat meningkatkan radikal bebas (Butarbutar, 2019).

Kesehatan di dalam tubuh dapat dipengaruhi dari keseimbangan antara antioksidan dengan radikal bebas. Ketika aktivitas radikal bebas lebih tinggi dari pada kapasitas antioksidan di dalam tubuh, kondisi ini disebut stres oksidatif. Keadaan ini memiliki efek negatif yang dapat memperburuk sel normal. Asupan antioksidan memiliki efek baik dan dapat mereduksi resiko penyakit degeneratif (Sitinjak, 2017). Paparan reaktivitas dari radikal bebas bervariasi seperti penyakit autoimun, kerusakan jaringan atau sel, dan penyakit degeneratif seperti penyakit aterosklerosis, jantung koroner (PJK), diabetes mellitus dan kanker (Novioella, 2019).

Secara umum proses reaksi pembentukan radikal bebas terdiri dari tiga. Pertama proses inisiasi yaitu proses awal terbentuknya radikal bebas. Kedua proses

propagasi dimana radikal bereaksi dengan senyawa lain serta membentuk radikal baru.

Ketiga proses terminasi merupakan proses terakhir, dimana radikal bebas mengikat suatu radikal bebas lainnya sehingga menjadi stabil atau tidak reaktif (Sitinjak, 2017).

### **2.1.1 Penyakit Degeneratif**

Penyakit degeneratif merupakan gangguan terjadinya penurunan fungsi sel saraf sebelum pada waktunya. Hal ini mengakibatkan sel saraf yang berfungsi normal menjadi lebih buruk sehingga tidak dapat berfungsi kembali (Suiraoaka, I. 2016). Penyakit degeneratif diantaranya yaitu diabetes mellitus, kanker, stroklerosis, jantung kardiovaskular, koroner, obesitas, aterosklerosis dan dislipidemia. Seiring dengan bertambahnya usia sel-sel di dalam tubuh akan mengidap degenerasi, respon imun yang menurun dan proses metabolisme yang terganggu. Hal tersebut dapat memicu perkembangan penyakit degeneratif, maka tubuh membutuhkan antioksidan yang mampu mengurangi dan menjaga tubuh dari dampak buruk radikal bebas (Sitinjak, 2017).

## **2.2 Buah Bit**

### **2.2.1 Daerah Asal dan Penyebaran Buah Bit**

Spesies bit berasal dari wilayah Afrika Utara dan Mediterania menyebar ke arah timur hingga wilayah barat India, Kepulauan Kenari serta pantai barat Eropa yang melingkupi Kepulauan Inggris dan Denmark. Teori saat ini mengungkapkan bahwa bit berasal dari persimpangan antara *B. patula* dengan *B. vulgaris var. maritime* (bit laut). Spesies liar yang sekerabat adalah *B. macrocarpa* dan *B.*

*atriplicifolia*. Mulanya, bit merah tampaknya merupakan kultivar yang digunakan sebagai sayuran berdaun dan mungkin setelah tahun 1500 ketertarikan menggunakan umbinya terjadi. Bit gula mungkin berasal dari populasi pakan ternak yang mungkin telah dibudidayakan sekitar tahun 1800 (Rubatzky, 1998).

### 2.2.2 Klasifikasi Buah Bit

Dalam taksonomi tumbuhan, *Beta vulgaris L* diklasifikasikan sebagai berikut (Splittstoesser, 1984):

- Kingdom : Plantae (tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
- Sub Kelas : Hamamelidae
- Ordo : Caryophyllales
- Famili : Chenopodiaceae
- Genus : Beta
- Spesies : *Beta vulgaris L.*

### 2.2.3 Morfologi Buah Bit



Gambar 2.1 Buah Bit (*Beta vulgaris* L.)

Buah bit adalah nama yang diberikan untuk bagian-bagian akar yang dapat dimakan. Tanaman ini termasuk dalam famili *Chenophodiaceae* dan memiliki nama ilmiah *Beta vulgaris* L. (Qodriyah, 2018). Bit adalah tanaman seperti rumput dengan batang ramping, hampir tidak terdeteksi. Bit memiliki akar tunggang yang berkembang menjadi umbi sebagai jenis akarnya. Leher di dekat pangkal umbi memiliki daun bit berwarna kemerahan. Ujung umbi adalah tempat akar bit ditemukan. Bunga bit tersusun berjajar pada tangkai yang panjang (racemus) (Pujiharto, 2017). Bit terdiri dari beberapa jenis, bentuk serta berbagai ukuran. Ukuran bit kisaran berdiameter dari 2 cm hingga 15 cm lebih. Bentuk umbi bit ada bermacam-macam yaitu, ada yang berbentuk bulat silinder, kerucut atau rata (Qodriyah, 2018).

Di Indonesia, buah bit sulit untuk tumbuh. Karena rasanya yang lezat dan teksturnya yang lunak dan agak manis, buah bit sering dikonsumsi. Tanaman ini secara historis digunakan sebagai elemen salad dan memiliki bentuk dan warna yang khas. Untuk membuat bit lebih mudah dimakan, saat ini bit dapat diubah menjadi es krim. Bit memiliki nilai gizi tinggi yang bermanfaat bagi kesehatan.

Buah bit merupakan buah yang dapat menghasilkan warna ungu yang sangat indah dan sering dimanfaatkan sebagai pewarna alami pada makanan atau minuman (Lestari, 2020).

#### 2.2.4 Kandungan Buah Bit

Buah bit (*Beta vulgaris* L.) memiliki kandungan kalium sebesar 14,8%, asam folat 34%, magnesium 9,8%, serat 13,6%, triptofan 1,4%, fosfor 6,5%, zat besi 7,4%, vitamin C 10,2%, tembaga 6,5%, caumarin, , B-karotin, betasianin, dan potasium (Qodriyah, 2018).

Zat-zat yang dibutuhkan bagi kesehatan yang terkandung dalam buah bit, diantaranya vitamin C, zat besi, magnesium, kalium, asam folat, fosfor dan serat. Buah bit mengandung beberapa nutrisi yaitu, protein, karbohidrat, serat, dan berbagai mineral serta kadar air yang tinggi (Ismy, 2019).

Tabel 2.1 Kandungan gizi dalam 100 gram buah bit

	Nutrisi	Jumlah
1	Air (g)	87,58
2	Energi (kkal)	43,00
3	Karbohidrat (g)	9,56
4	Total gula (g)	6,76
5	Serat, total serat (g)	2,80
6	Protein (g)	1,61
7	Total lemak (g)	0,17
	<b>Mineral</b>	
8	Potassium, K (mg)	325,00
9	Sosium, Na (mg)	78,00
10	Phosphorus, P (mg)	40,00
11	Magnesium Mg (mg)	23,00
12	Calcium, Ca (mg)	16,00
13	Iron, Fe (mg)	0,80
14	Zinc, Zn (mg)	0,35
	<b>Vitamins</b>	
15	Folat, DFE ( $\mu$ g)	109,00
16	Vitamin A, IU	33,00
17	Vitaamin C (mg)	4,9
18	Vitamin A, RAE ( $\mu$ g)	2,00
19	Vitamin B-6 (mg)	0,067
20	Vitamin E (mg)	0,04
21	Thiamin (mg)	0,031

Sumber: USDA, 2016

### 2.2.5 Manfaat Buah Bit

Dari kandungan gizi yang terdapat pada buah bit, terdapat juga beberapa manfaat buah bit bagi kesehatan maupun pengobatan, yaitu: (Ismy, 2019)

#### 1. Memperkuat susunan tulang

Bit memiliki konsentrasi kalium yang tinggi yaitu 58,6 mg kalium/cup. Kandungan kalium bit membantu membangun matriks tulang. Karena kekurangan kalium menyebabkan hubungan antar sel menjadi longgar, dan tulang yang terbentuk tidak dapat berkembang dengan baik.

#### 2. Menurunkan tekanan darah

Menurut hasil penelitian Asosiasi Jantung Amerika, dengan mengonsumsi buah bit sebanyak 500 ml dapat mengurangi tekanan darah tinggi.

#### 3. Anti kanker

Betasianin yang terdapat pada bit memiliki sifat antikanker. Hasil dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa betasianin memiliki sifat antikanker. Untuk menghambat kanker, betasianin menggunakan sejumlah mineral dan fitokimia yang memiliki sifat antikanker. Buah bit mengandung beberapa macam fitokimia seperti betain, betalain, famesol, saponin dan asam salisilat. Menurut pengujian ilmiah yang sudah ada, mekanisme antikanker yang diaktifkan oleh fitokimia pada buah bit diketahui sangat rumit.

#### 4. Membunuh parasit yang menginfeksi tubuh

Jus bit sebagai pengobatan untuk membunuh penyakit akibat parasit digunakan oleh orang-orang di Eropa Timur, terutama di Hungaria menggunakan. Betanin yang terdapat dalam bit, lebih efisien daripada betasianin untuk tujuan ini.

## 5. Mengatasi jantung koroner

Buah bit memiliki manfaat dalam penyembuhan bagi penderita jantung koroner. Kandungan betain yang terdapat pada buah bit merupakan detoks yang baik untuk melawan efek negatif dari homosistein. Biasanya, homosistein diekskresi oleh vitamin B9 dan B12. Namun, betain akan menggantikan fungsi kedua vitamin B jika kedua vitamin B tersebut tidak terpenuhi di dalam tubuh.

## 6. Menurunkan kadar lemak dan kadar kolesterol

Selain itu, bit dapat membantu kadar kolesterol dan lemak tubuh. Konsumsi bit secara rutin telah terbukti mengurangi kadar kolesterol sebesar 30%, menurut temuan studi laboratorium yang dilakukan pada hewan uji. Penurunan kolesterol total diikuti dengan peningkatan kolesterol baik (HDL).

### **2.2.6 Kandungan Kulit Buah Bit**

Pada saat penggunaan buah bit seringkali hanya memanfaatkan daging umbinya saja. Padahal menurut penelitian Shuaibu dkk (2021), menunjukkan bahwa kulit buah bit yang dianggap sebagai limbah dapat dikonsumsi, karena memiliki komposisi proksimat dalam jumlah yang cukup besar dan memiliki kadar zat besi, kalium, fosfor, magnesium, natrium dan tembaga. Dan menyimpulkan bahwa kulit buah bit juga harus dikonsumsi karena memiliki komposisi yang cocok untuk sistem tubuh.

## **2.3 Antioksidan**

### **2.3.1 Definisi Antioksidan**

Reduktan, atau bahan kimia yang menyumbangkan elektron, adalah antioksidan. Zat antioksidan memiliki berat molekul rendah, namun dapat

menghambat proses oksidasi dengan membatasi generasi radikal dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan adalah bahan kimia yang dapat melawan efek buruk dari radikal bebas yang disebabkan oleh proses metabolisme dan kimia dalam tubuh yang bersifat oksidatif. (Novioella, 2019). Menurut Sayuti dan Yenrina (2015) antioksidan dapat menghentikan perkembangan sejumlah penyakit kronis, termasuk penyakit jantung koroner dan kanker. Senyawa ini mempunyai struktur kimia yang memungkinkan untuk mendonorkan elektron ke molekul radikal bebas tanpa mengganggu kegunaannya untuk melakukan aktivitas dan mengendalikan penyebaran radikal bebas (Parwata, 2016).

Antioksidan dapat menangkal efek negatif dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan selama proses metabolisme dan reaksi kimia di dalam tubuh akibat metabolisme oksidatif. Antioksidan diklasifikasi menjadi dua jenis yaitu antioksidan alami yang diperoleh dari ekstraksi bahan alami seperti fosfatida, tokoferol, sesamol, lesitin, gosipol, asam tanat, karoten, senyawa fenolik (asam galat dan asam ferulat), serta kuarssetin (flavonoid) dan antioksidan sintetik yang diperoleh dari sintesis reaksi kimia (Katrin, 2015).

### **2.3.2 Sumber Antioksidan**

Menurut Parwata, (2016) antioksidan yang dapat digunakan manusia diklasifikasikan menjadi tiga jenis, terutama:

- a. Antioksidan endogen atau enzim antioksidan adalah antioksidan yang dihasilkan dalam tubuh manusia dan termasuk, Glutation Peroksidase (GPx), Superoksida Dismutase (SOD) dan Katalase (CAT).

- b. Antioksidan sintetis seperti BHT (Butil Hidroksi Toluen), BHA (Butyl Hidroksi Anisol), TBHQ (Tert-Butil Hidroksi Quinon) dan propil galat banyak digunakan dalam produk pangan. Menurut Amarowicz dkk (2000), penggunaan zat sintetis ini dapat meningkatkan risiko kanker (Parwata, 2016). Butylated hydroxytoluene (BHT) dan butylated hydroxyanisole (BHA) dapat mengakibatkan dampak buruk bagi kesehatan, antara lain fungsi hati yang terganggu, paru, mukosa usus serta keracunan. Batas maksimal antioksidan sintetis yang diperbolehkan adalah sebesar 0,01% sampai dengan 0,1% dari kandungan lemak atau minyak (Rahma, 2019).
- c. Antioksidan alami seperti senyawa fenolik (flavonoid), kumarin, turunan asam sinamat, tokoferol, asam organik multifungsi, vitamin E, vitamin C dan vitamin A diperoleh dari komponen tanaman seperti akar, kayu, daun, kulit kayu, buah-buahan, bunga, serbuk sari dan biji-bijian. Antioksidan alami biasanya memiliki struktur molekul gugus hidroksil. Antioksidan alami adalah senyawa fenolik berupa flavonoid. Fenol dan flavonoid yang ditemukan pada tanaman dianggap memiliki efek antioksidan yang kuat. Menurut penelitian epidemiologis, mengonsumsi lebih banyak antioksidan alami yang ada dalam buah-buahan, sayuran, bunga, dan komponen tanaman lainnya dapat membantu mencegah penyakit seperti kanker, penyakit ginjal, penyakit jantung, radang hati dan ginjal yang disebabkan oleh stres oksidatif. Menurut Zheng dkk (2009), lebih dari 40 tanaman obat herbal di Cina memiliki jumlah aktivitas antioksidan yang tinggi dan mengandung banyak komponen fenolik, termasuk flavonoid. Menurut studi Gan dkk (2010), 40 spesies ramuan obat Cina dapat digunakan untuk mencegah

dan menyembuhkan penyakit kardiovaskular dan serebrovaskular karena tingginya tingkat senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan (Parwata, 2016).

### **2.3.3 Penggolongan Antioksidan**

Dalam meredam efek negatif radikal bebas, tubuh telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari tiga golongan yaitu: (Parwata, 2016)

#### **a. Antioksidan Primer**

Antioksidan primer adalah antioksidan yang bekerja untuk menghentikan produksi radikal bebas selanjutnya (propagasi), albumin, feritin, dan transferin merupakan antioksidan primer. Pengubahan molekul dari radikal bebas yang sudah ada mengurangi efek berbahaya sebelum radikal bebas bereaksi. Dengan menyediakan atom hidrogen dengan cepat untuk radikal lipid, antioksidan primer bekerja untuk mengganggu siklus reaksi radikal, dan produk akhir yang dihasilkan lebih stabil.

Antioksidan utama dalam tubuh adalah enzim superoksida. Enzim ini sangat penting dalam mencegah kerusakan yang dilakukan pada sel-sel tubuh oleh serangan dari radikal bebas. Beberapa kelompok mineral yang ditemukan dalam makanan dan minuman seperti tembaga, mangan, seng, dan selenium, berdampak pada cara kerja enzim ini (Yuslianti, 2018).

#### **b. Antioksidan Sekunder**

Antioksidan yang dikenal sebagai antioksidan sekunder bekerja untuk menangkap radikal bebas dan mencegah sintesisnya. Antioksidan ini termasuk katalase, Glutathion Peroxidase (GPx), dan Superoksida Dismutase (SOD). Buah-

buah-buahan menyediakan antioksidan sekunder dalam bentuk beta-karoten, vitamin A, vitamin E dan vitamin C. Antioksidan dapat bertindak melalui sejumlah cara, termasuk molekul yang menempel pada ion logam dan merupakan proksidan, senyawa yang menyerap oksigen, senyawa yang memecah hidropersida menjadi zat non-radikal, dan radiasi UV.

#### c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier, juga dikenal sebagai enzim perbaikan, adalah antioksidan yang membantu memperbaiki jaringan biologis yang telah dirugikan oleh radikal bebas. Antioksidan ini termasuk metionin sulfoksida reduktase, *transferase dan lipase, protease, DNA repair enzymes*.

#### 2.3.4 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan bekerja dengan mencegah oksidasi lipid makanan. Tiga langkah tahap oksidasi lemak adalah inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap awal terbentuk radikal asam lemak, yaitu senyawa yang terbentuk dari asam lemak yang tidak stabil dan sangat reaktif melalui pelepasan atom hidrogen. Tahap selanjutnya yaitu propagasi, radikal asam lemak bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil. Radikal peroksil menyerang asam lemak untuk menghasilkan hidropersida baru dan radikal asam lemak (Yuslianti, 2018).

Hidropersida yang dihasilkan tidak stabil dan sering terurai menjadi senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton, yang bertanggung jawab atas rasa makanan yang mengandung lemak. Antioksidan yang baik akan berinteraksi dengan radikal asam lemak setelah molekul dihasilkan. Banyaknya antioksidan yang tersedia memiliki berbagai macam mode aksi dan efisiensi. Secara

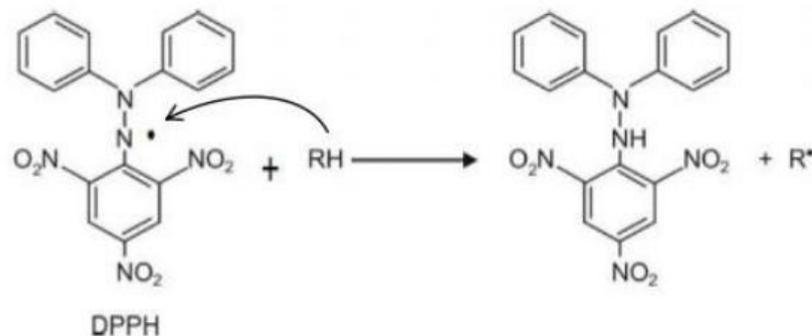
umum, memanfaatkan lebih dari satu jenis antioksidan bersama-sama menawarkan perlindungan oksidasi (sinergi) yang lebih besar daripada melakukannya sendiri. Misalnya, asam askorbat sering dikombinasikan dengan antioksidan fenolik (Yuslianti, 2018).

### **2.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan**

Ada sejumlah teknik untuk mengukur aktivitas radikal bebas secara *in vitro* diantaranya metode FRAP, metode DPPH, aktivitas penghambat radikal hidrosil, aktivitas peredaman radikal superoksidasi, metode kekuatan pereduksi, kapasitas serap radikal oksigen, lipid peroksidasi microsomal atau uji asam tiobarbiturat dan metode ABTS (Novioella, 2019).

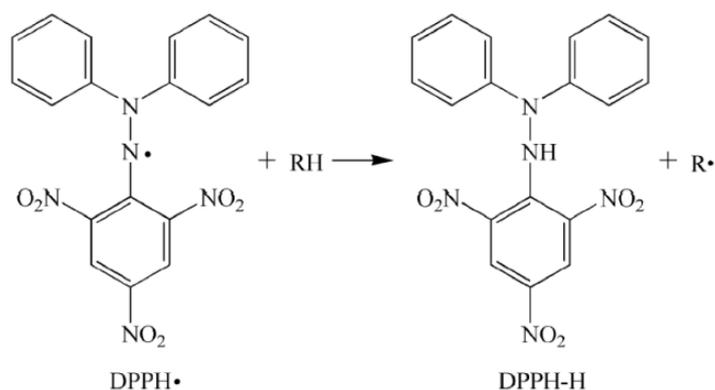
Metode yang paling sering digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). DPPH adalah radikal bebas yang sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak komponen alami dan stabil pada suhu kamar. Metode ini dipilih karena memungkinkan evaluasi yang cepat, akurat, sederhana dan sensitif terhadap aktivitas antioksidan bahan alami. Metode DPPH dapat mengevaluasi bahan dengan cepat dan memiliki tingkat sensitivitas yang baik untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel. (Butarbutar, 2019)

Ketika terkena panjang gelombang dengan nilai absorbansi DPPH 517 nm, DPPH radikal bebas stabil ungu diserap. Milauskas (2004) menegaskan bahwa radikal DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) akan berubah warna menjadi kuning, dan membentuk DPPH-H (*diphenylhydrazine*) ketika berinteraksi dengan zat antioksidan yang dapat menghasilkan radikal hidrogen (Prastyo, 2017)



Gambar 2.2 Mekanisme penghambat radikal DPPH (Anonim, 2015)

Prinsip uji DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan radikal bebas DPPH dengan senyawa antioksidan yang terkandung dalam suatu ekstrak tumbuhan. Ketika larutan DPPH bereaksi dengan suatu larutan pendonor elektron yang dalam hal ini adalah antioksidan, elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas larutan DPPH menjadi berpasangan. Reaksi DPPH dengan larutan yang mengandung senyawa antioksidan baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH kemudian akan membentuk DPPH tereduksi. Reaksi ini menyebabkan warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning pucat, seiring dengan banyaknya DPPH yang tereduksi. Hasil dekolerasi larutan DPPH oleh senyawa antioksidan tersebut setara dengan jumlah elektron yang tertangkap atau jumlah hidrogen yang diserap (Khoirunnisa, 2019).



Gambar 2.3 Reaksi DPPH dengan antioksidan (Butarbutar, 2019)

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah nilai  $EC_{50}$  (*efficient concentration*) atau  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan sifat radikalnya atau konsentrasi zat antioksidan yang memberikan persen penghambatan 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi (Butarbutar, 2019). Hasil senyawa uji DPPH biasanya dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  dari vitamin C, vitamin E, atau kuersetin yang merupakan senyawa antioksidan alami. Semakin rendah nilai  $EC_{50}$  atau  $IC_{50}$  suatu senyawa uji maka semakin efektif senyawa tersebut sebagai penangkal radikal bebas (Novioella, 2019).

Tabel 2.2 Sifat antioksidan berdasarkan nilai  $IC_{50}$

Nilai $IC_{50}$	Sifat Antioksidan
< 50 $\mu\text{g/mL}$	Sangat kuat
50 $\mu\text{g/mL}$ -100 $\mu\text{g/mL}$	Kuat
100 $\mu\text{g/mL}$ -150 $\mu\text{g/mL}$	Sedang
150 $\mu\text{g/mL}$ -200 $\mu\text{g/mL}$	Lemah

## 2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan komponen kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan menggunakan filter tertentu. Ekstrak adalah sediaan terkonsentrasi di mana komponen aktif diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai, pelarut diuapkan, dan massa atau bubuk yang dihasilkan diproses untuk memenuhi persyaratan yang ditentukan (Depkes RI 1995).

Secara umum, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut tergantung pada kelarutan komponen dalam kombinasi, seringkali air dan pelarut organik lainnya digunakan sebagai pelarut. Bahan yang diekstraksi seringkali merupakan zat kering yang telah dihancurkan, biasanya dalam bentuk bubuk atau simplisia (Romadhoni, 2017).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terkandung pada bahan alam. Pelarut biasanya digunakan untuk mengekstrak bahan kimia aktif yang ada pada tanaman, seperti senyawa antibakteri dan antioksidan. Volume dan jenis senyawa yang memasuki cairan pelarut terutama dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi, yang mencakup dua tahap, yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Komponen isi sel yang telah pecah selama proses penghancuran sebelumnya tersapu oleh pelarut selama fase pembilasan. Pada fase ekstraksi, dinding sel awalnya mengembang dan kerangka selulosa dinding sel menjadi lebih longgar, menyebabkan pori-pori dinding sel membesar dan memudahkan pelarut memasuki sel. Karena perbedaan konsentrasi zat terlarut di dalam dan di luar sel, bahan isi sel kemudian dilarutkan ke dalam

pelarut sesuai dengan tingkat kelarutannya dan disebarkan oleh gaya berikutnya (Voigt, 1995).

Dalam proses ekstraksi ada beberapa faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi, diantaranya tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut dan tipe pelarut (Putri, 2016).

Secara umum ekstraksi dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu ekstraksi padat cair dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair adalah suatu metode pemisahan senyawa dari campuran yang berupa padatan, dan ekstraksi cair-cair adalah senyawa yang dipisahkan terdapat dalam campuran yang berupa cairan, sedangkan ekstraksi

#### **2.4.1 Metode Ekstraksi**

Metode ekstraksi berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan dapat dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas (Rahayu, 2017)

##### **a. Ekstraksi cara dingin**

Pada metode ini tidak dilakukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung dengan tujuan agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak. Ekstraksi cara dingin memiliki keuntungan yaitu mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa yang tidak tahan panas. Meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan yang terbatas pada suhu ruang, namun banyak senyawa yang cocok menggunakan metode ekstraksi dengan cara dingin. Beberapa jenis metode ekstraksi cara dingin, yaitu:

## 1. Maserasi atau dispersi

Maserasi merupakan salah satu jenis metode ekstraksi dengan cara dingin, yaitu dengan tidak adanya proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, tujuannya adalah untuk menghindari adanya kerusakan senyawa yang diinginkan apabila dilakukan proses pemanasan. Maserasi dilakukan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Departemen Kesehatan RI, 2000).



Gambar 2.4 Maserasi

Ekstraksi dengan metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana dilakukan. Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* yang berarti melunakkan atau mengairi. Pada akhir ekstraksi atau pada akhir periode perendaman, kandungan bahan yang diekstraksi di dalam sel masuk ke dalam pelarut yang digunakan. Pengadukan berkala adalah untuk memastikan keseimbangan konsentrasi ekstrak dalam cairan. Selama keadaan ekstraksi yang stabil, bahan aktif akan bergerak naik atau turun.

Secara teoritis, semakin besar rasio yang digunakan maka semakin banyak hasil yang diperoleh. Membutuhkan waktu yang lama dan kurangnya penyarian merupakan kelemahan dari metode maserasi. Remaserasi atau pengulangan perendaman dengan cara menambahkan pelarut pada penyaringan maserat sebelumnya dapat disebut dengan maserasi kinetik (Florensita, 2019)

Pelarut yang sering digunakan adalah etanol. Etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk ekstraksi karena memiliki daya pelarut yang luas dan tingkat toksisitas yang rendah. Etanol dapat menarik senyawa yang bersifat polar dan nonpolar karena memiliki gugus polar (-OH) dan nonpolar (-CH<sub>3</sub>) dalam struktur kimianya (Rahmawati dan Kurniawan, 2019).

## 2. Perkolasi

Istilah perkolasi berasal dari bahasa latin *per* yang artinya melalui dan *colare* yang artinya merembes. Oleh karena itu, perkolasi adalah penyarian dengan melewati cairan penyari melalui serbuk simplisia yang dibasahi. Alat yang digunakan untuk ekstraksi disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah terkumpulkan disebut perkolat (Novianti, 2019).

Keuntungan dari metode perkolasi antara lain adanya aliran cairan penyari menyebabkan perubahan larutan dan ruang diantara partikel serbuk simplisia membentuk saluran kapiler tempat mengalir cairan penyari. Kedua meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi yang memungkinkan proses penyarian lebih sempurna. Serbuk simplisia yang akan diperkolasi

tidak ditempatkan langsung ke dalam bejana perkolator, tetapi terlebih dahulu dibasahi dan dimaserasi terlebih dahulu dengan cairan penyari. Hal ini untuk memberikan kesempatan sebesar-besarnya kepada cairan penyari untuk masuk ke seluruh pori-pori dalam simplisia untuk mempermudah penyarian selanjutnya. Untuk menentukan akhir dari proses perkolasi, dapat dilakukan uji zat aktif secara kualitatif pada perkolat terakhir. Untuk obat yang zat aktifnya belum teridentifikasi, dilakukan penentuan secara organoleptis seperti rasa, bau, warna dan bentuknya (Florensita, 2019).

b. Ekstraksi cara panas

Pada metode ini melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung. Adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Beberapa jenis metode ekstraksi cara panas, yaitu:

1. Ekstraksi refluks

Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Secara umum dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses residu pertama sehingga dapat dianggap sebagai ekstraksi sempurna. Ekstraksi refluks dilakukan dengan menggunakan alat destilasi, merendam simplisia dengan pelarut atau solvent dan memanaskannya hingga suhu tertentu. Beberapa pelarut yang diuapkan akan terbentuk kembali dan kemudian masuk kembali ke dalam campuran simplisia dan sebagian ada yang menguap (Barori, 2017). Kelebihan

metode ekstraksi refluks yaitu padatan dengan tekstur kasar dan tahan terhadap panas langsung dapat diekstraksi menggunakan metode ini. Kelemahan dari metode ini yaitu membutuhkan pelarut dalam jumlah yang besar (Rahmawati dan Kurniawan, 2019).

## 2. Ekstraksi dengan alat Soxhlet

Ekstraksi dengan alat soxhlet adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, biasanya dilakukan khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Dalam metode ini, padatan disimpan dalam alat soxhlet dan dipanaskan, sementara yang dipanaskan hanya pelarutnya. Pelarut didinginkan dalam kondensor, kemudian mengekstraksi padatan. Kelebihan dari metode soxhlet yaitu proses ekstraksi berlangsung secara terus menerus, membutuhkan waktu ekstraksi yang lebih singkat dan pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Kelemahan dari metode ini yaitu dapat merusak zat terlarut atau komponen lain yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Romadhoni, 2017).

## 3. Digesti

Digesti merupakan maserasi dengan pengadukan kontinu dengan temperatur yang lebih tinggi dari temperatur suhu kamar, secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Novianti, 2019).

## 4. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur 96- 98°C

selama waktu tertentu sekitar 15-20 menit. Keuntungan dari metode infusa adalah unit peralatannya mudah digunakan dan biaya operasional relatif murah. Kelemahan dari metode ini adalah zat yang teradopsi sebagian dapat mengendap kembali apabila larutan telah mendingin (Florensita, 2019).

## 5. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu 90°C selama 30 menit. Campur simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci (wadah) dengan air secukupnya, panaskan diatas penangas air selama 30 menit pada 90 °C sambil sekali-sekali diaduk (Novianti, 2019).

## **2.5 Instrumen Spektrofotometer UV-VIS**

### **2.5.1 Definisi**

Spektrofotometer terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer adalah alat yang menghasilkan sinar dari spektrum dan panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer adalah alat yang mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diserap. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan dari spektrofotometer dengan fotometer adalah bahwa panjang gelombang dari cahaya putih dapat dideteksi lebih mudah dan metode ini dicapai dengan menggunakan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Pada fotometer filter terdapat berbagai warna yang spesifikasinya melewatkan trayek pada panjang gelombang tertentu (Dany, 2020).

Ultraviolet jauh memiliki rentang panjang gelombang sekitar 10 hingga 200 nm dan ultraviolet dekat memiliki rentang panjang gelombang sekitar 200 hingga 400 nm. Manusia tidak dapat melihat sinar UV, tetapi beberapa hewan, termasuk burung, reptil dan serangga seperti lebah dapat melihat sinar pada panjang gelombang UV. Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak dapat digunakan sebagai menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling responsif terhadap cahaya tersebut adalah elektron terikat dan elektron tidak terikat (elektron bebas). Sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan energi, ketika sinar mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Eksitasi elektron ini dicatat dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Semakin mudah elektron tereksitasi semakin besar panjang gelombang yang diabsorpsi (diserap), semakin banyak elektron yang tereksitasi semakin tinggi absorbannya (Deviyanti, 2019).



Gambar 2.5 Spektrofotometer Uv-Vis (Deviyanti, 2019)

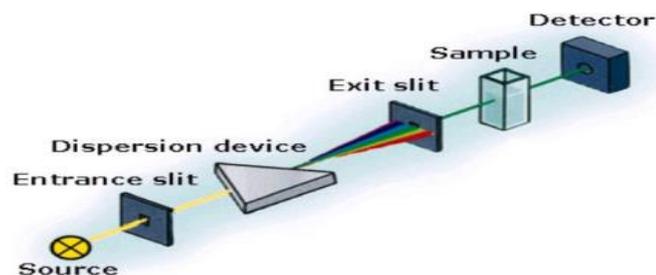
Dalam spektrofotometri UV-Vis terdapat beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian dari molekul yang sangat kuat menyerap cahaya pada daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbon monoksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas yang terikat secara kovalen tunggal, terikat pada kromofor yang meningkatkan penyerapan sinar UV-Vis pada kromofor, baik dalam intensitas maupun dalam gelombang, misalnya gugus hidroksil, amina, halida, alkoksi (Suharti, 2017).

### **2.5.2 Prinsip Kerja**

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diserap oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diserap menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik mencakup rentang panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi hingga pada panjang gelombang mikro (Putranto, 2019).

Spektrum absorpsi pada daerah ultraviolet dan sinar tampak umumnya mencakup satu atau lebih pita absorpsi yang luas, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah sinar tampak. Oleh karena itu mereka mengandung elektron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang waktu absorpsi terjadi tergantung pada tingkat ikatan elektron dalam molekul. Elektron dalam ikatan kovalen tunggal terikat erat dan

radiasi energi tinggi atau panjang gelombang pendek, harus tereksitasi (Dany, 2020).



Gambar 2.6 Skema kerja spektrofotometer UV-Vis (Dany, 2020)

Dari gambar diatas terdapat fungsi dari masing-masing bagian spektrofotometer UV-Vis: (Dany, 2020).

- a. Sumber sinar polikromatis sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.
- b. Monokromator sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya dengan adanya pendispersi satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar
- c. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, Vis dan UV-Vis menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet umumnya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik karena terbuat dari 6 kaca dan

plastik yang dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (Vis). Kuvet umumnya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.

- d. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Macam-macam detector yaitu Detektor foto (*Photo detector*), *Photocell*, misalnya CdS, *Phototube*, Hantaran foto, Dioda foto, Detektor panas.

### 2.5.3 Tipe-tipe

Menurut Suharti (2017) umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam*. *Single-beam instrument*, dapat digunakan untuk mengukur absorbansi secara kuantitatif pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* memiliki beberapa keuntungan yaitu sederhana, biaya rendah dan biaya yang rendah merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk mengukur sinar ultraviolet dan sinar tampak. Panjang gelombang terendah adalah 190- 210 nm dan tertinggi adalah 800-1000 nm (Suharti, 2017).

*Doublebeam* dirancang untuk panjang gelombang 190-750 nm. *Doublebeam instrument* memiliki dua sinar yang dibentuk oleh cermin berbentuk V yang disebut beambraker atau pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara bersamaan melewati sampel. Sumber sinar polikromatis untuk sinar UV adalah lampu deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis menggunakan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat

dari kuarsa atau gelas memiliki lebar yang berbeda. Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor dioda foto, berfungsi menangkap cahaya yang ditransmisikan oleh sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Suharti, 2017)

#### **2.5.4 Persyaratan Pengukuran**

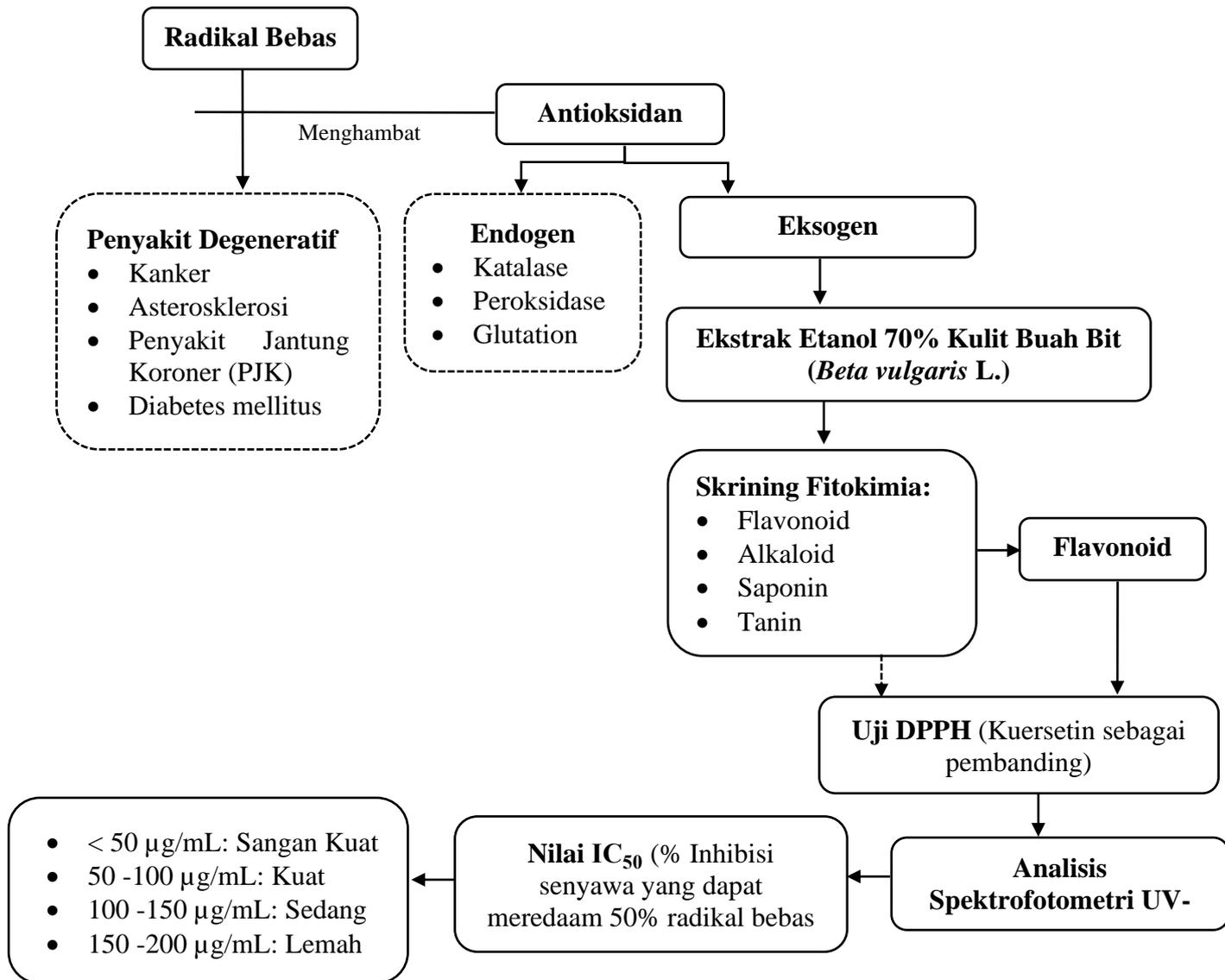
Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam bentuk larutan, gas, atau uap. Secara umum, sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai dalam spektrofotometri antara lain: (Suharti, 2017)

- a. Sampel saruh larut dengan sempurna
- b. Pelarut yang digunakan tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi dalam struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
- c. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis
- d. Kemurniannya harus tinggi.

Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, metanol dan nheksana karena pelarut ini transparan pada daerah UV. Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan pula konsentrasi sampel (Suharti, 2017).

## BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

### 3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

**Keterangan:**

□ : Yang diteliti

□ (dashed) : Yang tidak diteliti

### 3.2 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap masalah yang menjadi objek dalam penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual di atas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah:

H<sub>0</sub> : Tidak terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*) menggunakan metode DPPH.

H<sub>1</sub> : Terdapat aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah bit bit (*Beta vulgaris L.*) menggunakan metode DPPH.

## **BAB 4 METODE PENELITIAN**

### **4.1 Desain Penelitian**

Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) merupakan eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

### **4.2 Populasi dan Sampel Penelitian**

#### **4.2.1 Populasi**

Populasi merupakan keseluruhan dari kumpulan elemen yang memiliki sejumlah karakteristik umum, yang terdiri dari bidang-bidang untuk diteliti (Amirullah, 2015).

Populasi dalam penelitian ini menggunakan kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang diperoleh dari buah bit yang berada di daerah Pasar Tanjung, Kabupaten Jember dimana yang berasal dari Salatiga, Jawa Tengah.

#### **4.2.2 Sampel**

Sampel merupakan suatu sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015).

Sampel pada penelitian ini ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang telah dibuat berbagai macam konsentrasi, yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm.

### **4.3 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di laboratorium terpadu Universitas dr. Soebandi, bagian Biologi Farmasi dan Kimia Farmasi. Waktu penelitian ini dimulai pada bulan Juli 2022.

### **4.4 Variabel Penelitian**

#### **4.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang mampu mempengaruhi dan juga menjadi penyebab perubahan pada variabel terikat (dependen). Variabel bebas disebut juga sebagai variabel independen. (Surahman dkk, 2016).

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm.

#### **4.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat atau dengan sebutan lain variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat adanya variabel bebas. Variabel ini merupakan variabel dependen yang besarnya tergantung dari besar kecilnya variabel independen (Surahman dkk, 2016).

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*).

#### 4.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol merupakan variabel yang dapat dikendalikan sehingga variabel independen dan variabel dependen tidak dipengaruhi oleh faktor eksternal yang diteliti. (Surahman dkk, 2016).

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara pengujian antioksidan, cara pengambilan sampel kulit buah bit dan metode ekstrak serbuk simplisia.

#### 4.5 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Sampel ekstrak etanol kulit buah bit ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi kemudian dilakukan pengenceran menggunakan etanol p.a	Ekstrak etanol kulit buah bit ( <i>Beta vulgaris</i> L.) yang diencerkan menggunakan etanol p.a sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm)	Timbangan dan volume	Rasio	Diperoleh angka dari masing-masing konsentrasi yang telah diukur kemudian dipipet dari larutan induk.
Aktivitas antioksidan kuersetin	Kemampuan kuersetin dalam meredam radikal bebas dan menghambat proses oksidasi sebesar 50%	Serapan larutan uji diukur pada panjang gelombang maksimum kemudian dilakukan persamaan regresi linier pada peredaman radikal bebas yang menghasilkan nilai $IC_{50}$	Spektro UV-Vis	Rasio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nilai <math>IC_{50} &lt; 50 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat sangat kuat</li> <li>• Nilai <math>IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat kuat.</li> <li>• Nilai <math>IC_{50} 100-150 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat sedang</li> <li>• Nilai <math>IC_{50} &gt; 150 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat lemah</li> </ul>

Aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah bit ( <i>Beta vulgaris</i> L.)	Kemampuan ekstrak kulit buah bit dalam meredam radikal bebas dan menghambat proses oksidasi sebesar 50%	Serapan larutan uji dukur pada panjang gelombang maksimum kemudian dilakukan persamaan regresi linier pada peredaman radikal bebas yang menghasilkan nilai $IC_{50}$	Spektro UV-Vis	Rasio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nilai <math>IC_{50} &lt; 50 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat sangat kuat</li> <li>• Nilai <math>IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat kuat.</li> <li>• Nilai <math>IC_{50} 100-150 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat sedang</li> <li>• Nilai <math>IC_{50} &gt; 150 \mu\text{g/mL}</math> menunjukkan aktivitas penghambat lemah</li> </ul>
---	---	--	----------------	-------	---

## 4.6 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

### 4.6.1 Alat dan Bahan

#### a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi timbangan analitik, batang pengaduk, kertas saring, beaker glass, toples maserasi, aluminium foil, corong buchner, labu ukur, mikropipet, instrument spektrofotometer UV-Vis, kuvet disposable, stopwatch, rotary evaporator, ultrasonik serta beberapa vial.

#### b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang diambil dari buah bit yang berada di daerah Pasar Tanjung, Kabupaten Jember, etanol 70%, etanol p.a, aquadest, senyawa DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan senyawa kuersetin.

#### **4.6.2 Teknik Pengumpulan Data**

##### **a. Determinasi Buah Bit (*Beta vulgaris* L.)**

Langkah awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah determinasi tanaman. Determinasi bertujuan untuk memastikan bahwa kebenaran identitas tanaman yang digunakan dalam penelitian dan untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel. Determinasi buah bit dilakukan di UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember, yang membuktikan bahwa benar tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu tanaman buah bit (*Beta vulgaris* L.). Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1.

##### **b. Pembuatan Simplisia dan Serbuk Kulit Buah Bit (*Beta vulgaris* L.)**

Pembuatan simplisia kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) dilakukan berdasarkan metode yang tertera pada Depkes RI (2008). Buah bit yang dipilih untuk penelitian ini yaitu buah bit yang masih segar dan dilakukan disortasi basah untuk memisahkan pengotor yang melekat pada sampel. Kemudian buah bit dikupas menggunakan pisau pengupas buah untuk meminimalisir daging buah yang terambil dan dirajang menjadi bentuk yang lebih kecil yang bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan selama 5 hari atau hingga simplisia kering dilakukan dibawah sinar matahari dengan menutup bagian atas menggunakan kain hitam agar senyawa aktif yang tidak rusak atau hilang. Proses pengeringan dilakukan bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terkandung didalam tanaman (Jawa dkk, 2020). Hasil pengeringan diperoleh bobot simplisia sebesar 105 gram dari 846 gram kulit buah bit dengan persentase rendemen simplisia 12,41%. Simplisia kering kemudian dihaluskan menggunakan blander

dan diayak untuk memperluas permukaan sampel sehingga interksi antara pelarut dengan sampel semakin besar dan senyawa aktif yang terekstrak semakin banyak (Novioella, 2019).

### **c. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit (*Beta vulgaris* L.)**

Pembuatan ekstrak etanol 70% kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) dilakukan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan merendam 105 gram serbuk kulit buah bit dalam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 selama 3 hari, dilakukan remaserasi dengan cara maserasi kembali ampas kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) yang sudah dimaserasi pertama ditambahkan pelarut etanol 70%, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring (Pujiastuti dkk, 2022). Hasil maserasi kemudian dievaporator pada suhu 40° C karena suhu yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada kadar senyawa yang terkandung pada sampel (Nathania dkk, 2020). Hasil ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 36,5 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 34,7%.

### **d. Skrining Fitokimia**

#### **1. Uji Flavonoid**

Sebanyak 500 mg dilarutkan dalam 50 mL air, dipanaskan selama 5 menit dan disaring, kemudian ditambahkan 1 mg serbuk Mg, tambahkan 1 mL larutan alkohol klorhidrat, dan tambahkan beberapa tetes amil alkohol, kocok kuat-kuat, biarkan memisah. Sampel mengandung senyawa flavonoid akan mengalami perubahan warna orange atau jingga (Jawa dkk, 2020)

## 2. Uji Alkaloid

Sebanyak 500 mg ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2N dan 9 mL, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan disaring. Kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer. Jika terdapat endapan atau kuning maka sampel positif terdapat senyawa alkaloid (Jawa dkk, 2020)

## 3. Uji Saponin

Sebanyak 10 mL larutan uji dimasukkan dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik. Hasil dikatakan positif terbentuk busa stabil selama 10 menit. (Jawa dkk, 2020)

## 4. Uji Tanin

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan dengan pereaksi  $FeCl_3$  1% dicampur hingga homogen. Jika larutan berubah warna menjadi kehitaman maka sampel positif mengandung senyawa tanin (Jawa dkk, 2020).

### e. Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

#### 1. Pembuatan larutan DPPH

Di buat larutan DPPH 40 ppm dengan cara ditimbang 2 mg serbuk DPPH dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL yang dilapisi dengan *aluminium foil* lalu dilarutkan dengan sebagian etanol kemudian dikocok hingga homogen. Setelah serbuk DPPH larut dengan sempurna cukupkan pelarut hingga batas kemudian kocok hingga homogen (Sari dkk, 2021)

## **2. Optimasi panjang gelombang maksimum DPPH**

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis bertujuan untuk mengetahui seberapa besar panjang gelombang yang dapat diabsorpsi oleh senyawa DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan dengan cara dipipet 2 ml larutan DPPH ke dalam vial ditambahkan etanol p.a sebanyak 2 ml, lalu larutan dihomogenkan dan vial ditutup dengan *aluminium foil*. Kemudian tentukan absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm (Asra dkk, 2020; Sari dkk, 2021)

## **3. Pembuatan larutan uji ekstrak**

Larutan uji ekstrak dibuat larutan induk 1000 ppm dengan cara menimbang ekstrak kulit buah bit (*Beta vulgaris L.*) sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sambil diaduk hingga homogen dan dicukupkan hingga 10 ml. Agar ekstrak dapat larut dengan maksimal pelarutan ekstrak dapat dibantu dengan getaran ultrasonik. Selanjutnya dibuat larutan seri dengan cara dilakukan pengenceran pada larutan induk dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dengan cara memipet larutan pada volume tertentu dan ditambahkan dengan etanol p.a hingga memperoleh konsentrasi larutan uji akhir untuk masing-masing ekstrak (Nathania dkk, 2020).

## **4. Pembuatan larutan pembanding kuersetin**

Larutan pembanding kuersetin dibuat dengan konsentrasi 100 ppm dengan cara ditimbang 1 mg kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 5 ml lalu dikocok hingga homogen,

dicukupkan dengan etanol hingga tanda batas. Kemudian dibuat larutan seri dengan cara pengenceran larutan uji pembanding kuersetin dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm dengan cara dipipet sebanyak 0,25 ml, 0,5 ml, 0,75 ml, 1 ml, dan 0,25 ml dari larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dilarutkan dengan etanol p.a hingga tanda batas (Sari dkk, 2021)

#### **5. Optimasi waktu inkubasi kuersetin**

Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk menentukan waktu yang dibutuhkan sampel bereaksi secara maksimal. Optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan cara memipet sebanyak 1 ml dari masing-masing larutan kuersetin dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan DPPH. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 dengan selang waktu 10 menit pada panjang gelombang 515 nm. Waktu inkubasi yang terjadi pada setiap sampel bisa berbeda karena karakteristik dalam sampel berbeda terutama pada aktivitas antioksidan (Butarbutar, 2019).

#### **6. Pengukuran aktivitas antioksidan larutan kuersetin dan larutan uji ekstrak etanol kulit buah bit**

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 1 ml dipipet dari masing-masing larutan uji ekstrak dengan konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan larutan kuersetin dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan DPPH. Larutan uji dicampur hingga homogen dan diinkubasi pada suhu ruang sesuai

selama 50 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang maksimum DPPH 515 nm dengan pengulangan 3 kali pembacaan pada setiap konsentrasi (Gayatri, 2021)

## 7. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibition Concentration*) adalah suatu konsentrasi senyawa uji yang mampu menghambat radikal bebas sebesar 50%. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan dengan perhitungan nilai IC<sub>50</sub> berdasarkan persentase peredaman (% peredaman).

Perhitungan besarnya persentase peredaman radikal bebas suatu sampel terhadap DPPH dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ peredaman} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel})}{(\text{Abs blanko})} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs blanko = absorbansi serapan radikal DPPH (blanko) pada panjang gelombang maksimum

Abs sampel = absorbansi serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum

Daya peredaman radikal bebas DPPH (% peredaman) ekstrak etanol 70% kulit buah bit serta kuersetin, dianalisis dan dihitung nilai IC<sub>50</sub> menggunakan analisis regresi linier dengan persamaan  $y = bx + a$ , dimana  $y = 50$  dan  $x$  menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> (Rahmatia, 2018). Jika nilai IC<sub>50</sub> suatu senyawa uji semakin rendah maka semakin efektif senyawa tersebut sebagai penangkal radikal bebas (Novioella, 2019).

#### 4.6 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data dilakukan secara statistik menggunakan SPSS Statistic 23 untuk menentukan ada atau tidaknya perbedaan antara nilai IC<sub>50</sub> kuersetin dengan ekstrak kulit buah bit. Data nilai IC<sub>50</sub> kuersetin dan ekstrak kulit buah bit dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Pada uji normalitas data dapat dikatakan terdistribusi normal apabila Sig >  $\alpha$  0,05, sedangkan data dikatakan tidak terdistribusi normal apabila Sig <  $\alpha$  0,05. Hasil analisis data nilai IC<sub>50</sub> selanjutnya dilakukan uji varian data menggunakan uji F untuk mengetahui homogenitas data nilai IC<sub>50</sub>. Data dikatakan homogen apabila Sig >  $\alpha$  0,05, sedangkan data dikatakan tidak homogen apabila Sig <  $\alpha$  0,05. Selanjutnya dianalisis dengan uji analisis *Independent T-test* untuk melihat perbedaan nilai IC<sub>50</sub> antara kuersetin dengan ekstrak kulit buah bit. Jika Sig. (2-tailed) <  $\alpha$  0,05 artinya data berbeda signifikan, sedangkan jika Sig. >  $\alpha$  0,05 artinya data tidak berbeda signifikan (Sadeli, 2016).

#### 4.7 SOP (Standar Operasional Prosedur)

##### a. Bahan dan Alat yang digunakan:

##### 1. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu simplisia yang akan dilakukan uji aktivitas antioksidan, kertas saring, etanol PA, DPPH dan kuersetin.

##### 2. Alat

Alat yang digunakan yaitu spektrofotometer, rotary evaporator, ultrasonik, timbangan analitik, toples maserasi, gelas corong, alat-alat gelas,

aluminium foil, gelas ekstrak, spatula, vial, kuvet disposable, blender, penyaring, cawan, desikator, dan stopwatch.

## **b. Prosedur Penelitian**

### 1. Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia berdasarkan metode yang tertera pada Depkes RI (2008). Pembuatan simplisia dilakukan dengan proses, yaitu:

- Sortasi basah
- Pengupasan (diambil kulitnya)
- Perajangan
- Pengeringan
- Sortasi kering
- Penghalusan

### 2. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. Sejumlah bagian serbuk simplisia ditimbang kemudian, dimasukkan kedalam maserator, kemudian direndam dengan pelarut etanol 70% selama 3 hari, dilanjutkan dengan remaserasi hingga diperoleh maserat. Kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga menjadi ekstrak kental.

### 3. Skrining Fitokimia

- Flavonoid
- Alkaloid
- Saponin
- Tanin

#### 4. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

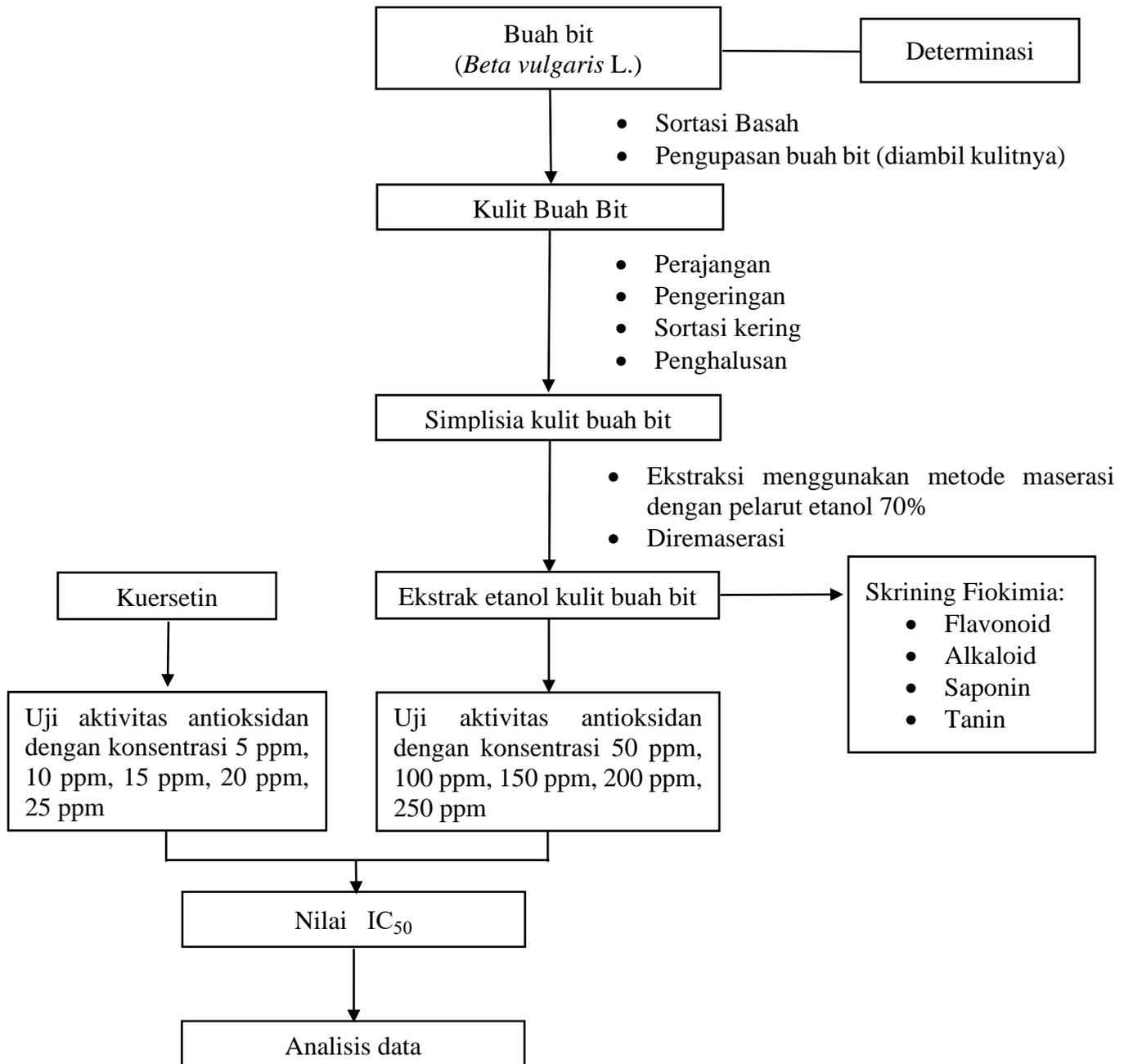
- Pembuatan larutan DPPH
- Optimasi panjang gelombang maksimum DPPH
- Pembuatan larutan uji Ekstrak
- Pembuatan larutan pembanding
- Optimasi waktu inkubasi
- Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dan ekstrak kulit buah bit
- Perhitungan nilai  $IC_{50}$

#### 5. Pengolahan Data

Analisi data dilakukan secara statistik dengan menggunakan SPSS yang dilakukan uji:

- Uji normalitas
- Uji homogenitas
- Uji analisis *Independent T-test*

#### 4.8 Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Kerangka Operasional

## BAB 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1 Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit

Skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak kulit buah bit. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak kulit buah bit dapat di cermati pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.1 Hasil skrining fitokimia

Senyawa metabolit	Pereaksi	Tanda positif	Hasil pengamatan ekstrak
Flavonoid	Alkohol Klorahidrat	Perubahan warna orange atau jingga	+
Alkaloid	Pereaksi Mayer	Terdapat endapan	-
Saponin	Aquades	Terbentuk biuh	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Perubahan warna menjadi kehitaman	+

Ket: (+) Positif mengandung senyawa metabolit  
(-) Negatif mengandung senyawa metabolit

Pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa hasil skirining kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah bit positif mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin, namun tidak mengandung senyawa alkaloid.

### 5.2 Aktivitas Antioksidan Kuersetin

Sebelum dilakukannya pengujian aktivitaas antioksidan, terlebih dahulu dilakukan optimasi panjang gelombang maksimum pada DPPH dan dilakukan optimasi waktu inkubasi pada kuersetin. Optimasi panjang gelombang DPPH pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa panjang gelombang maksimum pada DPPH yaitu 515 nm dan optimasi waktu inkubasi kuersetin dari menit ke-0 hingga menit ke-60 pada penelitian ini menunjukkan hasil pada menit ke-50 diperoleh nilai

IC<sub>50</sub> sebesar 3µg/mL yang tergolong antioksidan sangat kuat dan memiliki nilai korelasi koefisien yang baik yaitu 0,95. Dengan demikian waktu inkubasi yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan kuersetin dan ekstrak kulit buah bit yaitu menit ke-50.

Hasil uji aktivitas antioksidan larutan pembanding kuersetin dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm dapat dicermati pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.2 Hasil absorbansi kuersetin

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (replikasi)			$\bar{x} \pm SD$
		1	2	3	
DPPH			0,618		
	5	0,318	0,323	0,315	0,319 ± 0,003
Kuersetin	10	0,302	0,308	0,299	0,303 ± 0,004
	15	0,289	0,291	0,286	0,289 ± 0,002
	20	0,274	0,278	0,269	0,274 ± 0,004
	25	0,261	0,265	0,252	0,259 ± 0,005

Tabel 5.3 Hasil persentase inhibisi kuersetin

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	Persen Inhibisi (%)			$\bar{x} \pm SD$
		1	2	3	
Kuersetin	5	48,54	47,73	49,03	48,44 ± 0,534
	10	51,13	50,16	51,62	50,97 ± 0,605
	15	53,24	52,91	53,72	53,29 ± 0,332
	20	55,66	55,02	56,47	55,72 ± 0,596
	25	57,77	57,12	59,22	58,04 ± 0,880

Tabel 5.4 Hasil nilai IC<sub>50</sub> kuersetin

Senyawa	IC <sub>50</sub> (replikasi)			$\bar{x} \pm SD$	Kategori
	1	2	3		
Kuersetin	8	10	7	8 ± 1,002	Sangat kuat

Pada tabel 5.2 menunjukkan nilai absorbansi dari kuersetin yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, pada tabel 5.3 menunjukkan persen inhibisi yang diperoleh dari hasil perhitungan menggunakan rumus, dan pada tabel 5.4 menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> kuersetin yang diperoleh dari hasil analisis dan perhitungan menggunakan analisis regresi linier. Nilai IC<sub>50</sub> kuersetin yang

diperoleh pada replikasi 1 sebesar 8  $\mu\text{g/mL}$ , pada replikasi 2 sebesar 10  $\mu\text{g/mL}$ , pada replikasi 3 sebesar 7  $\mu\text{g/mL}$ . Sehingga dari 3 replikasi tersebut diperoleh nilai rata-rata  $\text{IC}_{50}$  pada kuersetin sebesar 8  $\mu\text{g/mL}$  yang tergolong antioksidan sangat kuat.

### 5.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit

Uji aktivitas antioksidan dengan radikal DPPH dilakukan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit buah bit sebagai senyawa antioksidan. Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit buah bit dilakukan tiga kali replikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah bit dapat dicermati pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.5 Hasil absorbansi ekstrak kulit buah bit

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (replikasi)			$\bar{x} \pm \text{SD}$
		1	2	3	
DPPH			0,598		
	50	0,323	0,326	0,319	$0,323 \pm 0,003$
	100	0,310	0,312	0,307	$0,310 \pm 0,002$
Kuersetin	150	0,297	0,299	0,294	$0,297 \pm 0,002$
	200	0,283	0,279	0,281	$0,281 \pm 0,002$
	250	0,271	0,268	0,266	$0,268 \pm 0,002$

Tabel 5.6 Hasil persentase inhibisi ekstrak kulit buah bit

Senyawa	Konsentrasi (ppm)	Persen Inhibisi (%)			$\bar{x} \pm \text{SD}$
		1	2	3	
Kuersetin	50	48,54	47,73	49,03	$46,04 \pm 0,480$
	100	51,13	50,16	51,62	$48,22 \pm 0,344$
	150	53,24	52,91	53,72	$50,39 \pm 0,344$
	200	55,66	55,02	56,47	$53,01 \pm 0,273$
	250	57,77	57,12	59,22	$55,56 \pm 0,470$

Tabel 5.7 Hasil nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak kulit buah bit

Senyawa	$\text{IC}_{50}$ (replikasi)			$\bar{x} \pm \text{SD}$	Kategori
	1	2	3		
Kuersetin	142	138	129	$136 \pm 5,404$	Sedang

Pada tabel 5.5 menunjukkan nilai absorbansi dari ekstrak kulit buah bit yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, pada tabel 5.6 menunjukkan persen inhibisi yang diperoleh dari hasil perhitungan menggunakan rumus, dan pada tabel 5.7 menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak kulit buah bit yang diperoleh dari hasil analisis dan perhitungan menggunakan analisis regresi linier. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak kulit buah bit yang diperoleh pada replikasi 1 sebesar 142 µg/mL, pada replikasi 2 sebesar 138 µg/mL, pada replikasi 3 sebesar 129 µg/mL. Sehingga dari 3 replikasi tersebut diperoleh nilai rata-rata IC<sub>50</sub> pada ekstrak kulit buah bit sebesar 136 µg/mL yang tergolong antioksidan sedang.

#### 5.4 Perbedaan Aktivitas Antioksidan Kuersetin Dengan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit.

Nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan kuersetin dan ekstrak kulit buah bit menunjukkan adanya perbedaan, untuk memastikan perbedaan tersebut dilakukan uji statistik menggunakan SPSS Statistik 23 untuk menentukan perbedaan nilai IC<sub>50</sub> antara kuersetin dengan ekstrak kulit buah bit. Hasil uji statistik dapat dicermati pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.8 Hasil uji statistik

	IC <sub>50</sub>	Uji Normalitas	Uji Homogenitas	Independent T-Tes
Kuersetin	8	Sig = 0,637 > 0,05	Sig = 0,094 > 0,05	Sig. (2-tailed) = 0.000 < 0,05
	10			
	7			
Ekstrak	142	Sig = 0,583 > 0,05		
	138			
	129			

Ket: Sig. >  $\alpha$  0,05 data terdistribusi normal, Sig. <  $\alpha$  0,05 data tidak terdistribusi normal;  
Sig. >  $\alpha$  0,05 data dikatakan homogen, Sig. <  $\alpha$  0,05 data dikatakan tidak homogen;  
Sig. (2-tailed) >  $\alpha$  0,05 data tidak berbeda signifikan, Sig. (2-tailed) <  $\alpha$  0,05 data berbeda signifikan.

Pada tabel 5.8 hasil data menyatakan pada uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Hipotesis null-nya ( $H_0$ ) data terdistribusi normal, sedangkan hipotesis alternatifnya ( $H_1$ ) data tidak terdistribusi normal. Jika  $\text{Sig} > \alpha 0,05$  maka  $H_1$  ditolak dan  $H_0$  diterima, dan jika  $\text{Sig} < \alpha 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa  $\text{Sig } 0,637 > \alpha 0,05$  pada kuersetin dan  $\text{Sig } 0,583 > \alpha 0,05$  maka  $H_1$  ditolak dan  $H_0$  diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji varian data menggunakan uji F untuk mengetahui homogenitas data. Hipotesis null-nya ( $H_0$ ) data dikatakan homogen, sedangkan hipotesis alternatifnya ( $H_1$ ) data tidak dikatakan homogen. Jika  $\text{Sig} > \alpha 0,05$  maka  $H_1$  ditolak dan  $H_0$  diterima, dan jika  $\text{Sig} < \alpha 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Dari hasil uji varian data (*Leven's test for equality of variances*) didapatkan nilai  $\text{Sig } 0,094 > \alpha 0,05$  maka  $H_1$  ditolak dan  $H_0$  diterima, sehingga disimpulkan bahwa data dapat dikatakan homogen. Pada uji *independent T-test* hipotesis null-nya ( $H_0$ ) data tidak berbeda signifikan, sedangkan hipotesis alternatifnya ( $H_1$ ) data berbeda signifikan. Jika  $\text{Sig. (2-tailed)} > \alpha 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak, dan jika  $\text{Sig. (2-tailed)} < \alpha 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Dari hasil *Independent Samples Test* pada bagian *Equal Variances assumed* didapatkan nilai  $\text{Sig. (2-tailed)} 0,000 < \alpha 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, yang dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan (nyata) antara nilai  $IC_{50}$  kuersetin dan ekstrak kulit buah bit.

## **BAB 6 PEMBAHASAN**

### **6.1 Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit**

Hasil skrining kandungan senyawa kimia pada ekstrak kulit buah bit (*Beta vulgaris* L.) menunjukkan hasil positif pada senyawa flavonoid, saponin dan tanin. Hasil tersebut senada dengan penelitian yang dilakukan oleh John, dkk (2017) yang menunjukkan bahwa hasil metabolit senyawa sekunder dari kestrak kulit buah bit terdapat senyawa flavonoid, fenol, saponin, pitosterol, dan diterpenes, namun tidak terdapat senyawa alkaloid dan glikosida. Pada penelitian Jawa dkk, (2020) menyatakan pada ekstrak umbi bit merah terdapat senyawa flavonoid, tanin, triterpenoid dan steroid. Kandungan fitokimia ekstrak kulit buah bit dapat bervariasi dikarekan oleh faktor genetik, agronomi, dan ekstrak yang berbeda kondisi seperti jenis pelarut, suhu, pH, dan intensitas cahaya (Mistrianu dkk, 2022). Menurut Sari dkk, (2021) senyawa antioksidan alami yaitu, turunan asam sinamat, golongan flavonoid, asam-asam organik polifungsional, tokoferol, kumarin, alkaloid, saponin dan tanin. Flavonoid yang terdapat pada tanaman merupakan zat warna merah, biru, dan ungu, dan sebagian zat warna kuning (Satria dkk, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh (Silalahi dkk, 2022) menyatakan ekstrak kulit bit memiliki pewarna alami yaitu warna merah keunguan dan merah pekat.

Ekstrak kulit buah bit mengandung senyawa flavonoid yang dapat disebabkan zat warna dari ekstrak kulit buah bit yaitu merah keunguan dan zat warna tersebut merupakan salah satu zat warna pada flavonoid. Senyawa flavonoid juga didapatkan

dari buah bit yang juga mengandung senyawa flavonoid, hal ini terjadi karena keterbatasan penelitian ini pada saat proses pengambilan sampel kulit buah bit dan sangat memungkinkan senyawa yang teridentifikasi pada penelitian ini yaitu senyawa yang terdapat pada buah bit.

## **6.2 Aktivitas Antioksidan Kuersetin**

Nilai  $IC_{50}$  larutan kuersetin pada tiga replikasi diperoleh rata-rata nilai  $IC_{50}$  sebesar 8  $\mu\text{g/mL}$  menunjukkan bahwa kuersetin tergolong antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai  $IC_{50}$  kurang dari 50  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian yang dilakukan Souhoka dkk, (2019) menunjukkan hasil yang serupa yaitu nilai  $IC_{50}$  kuersetin sebesar 8,485  $\mu\text{g/mL}$  yang tergolong antioksidan sangat kuat. Kuersetin standar merupakan antioksidan alami turunan kelompok senyawa flavonoid yang hampir terdapat pada setiap jenis tanaman dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat untuk menghambat radikal bebas DPPH (Gayatri, 2021). Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki komponen fenolik yang sangat reaktif. Mekanisme reaksi peredaman radikal dapat berlangsung dengan didonorkannya atom hidrogen yang terdapat pada gugus hidroksil, sehingga senyawa yang memiliki gugus hidroksil memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan (Cahyono dkk, 2021). Nilai  $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$  tergolong antioksidan sangat kuat, 50-100  $\mu\text{g/mL}$  tergolong antioksidan kuat, 100-150  $\mu\text{g/mL}$  tergolong antioksidan sedang, 150-200 ppm  $\mu\text{g/mL}$  tergolong antioksidan lemah, dan  $> 200 \mu\text{g/mL}$  tergolong antioksidan yang sangat lemah (Sari dkk, 2021).

Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dikarenakan kuersetin merupakan senyawa tunggal flavonoid golongan flavonol dan sudah

terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Kuersetin juga memiliki komponen fenolik yang sangat reaktif sehingga dapat menstabilkan senyawa radikal melalui rekasi hidrogenasi dan kemampuan kuersetin untuk mendonorkan atom hidrogen kepada gugus hidroksil sangat besar, sehingga kuersetin dapat meredam radikal bebas dengan sangat besar.

### **6.3 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit.**

Ekstrak kulit buah bit memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sedang dengan rata-rata nilai  $IC_{50}$  sebesar 136  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dan berada pada rentang 100-150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Hasil ini senada dengan penelitian yang dilakukan oleh John dkk, (2017) yang menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 118,90  $\mu\text{g}/\text{mL}$  yang tergolong antioksidan sedang. Namun berbeda pada penelitian yang dilakukan Maqbool dkk, (2019) yang melaporkan bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak kulit buah bit sebesar 91,17  $\mu\text{g}/\text{mL}$  yang menunjukkan antioksidan yang kuat. Mekanisme antioksidan pada suatu ekstrak yaitu terjadinya reaksi antara senyawa antioksidan dalam suatu ekstrak yang mempunyai gugus fenolik dan radikal bebas DPPH melalui mekanisme pemberian atom hidrogen ke radikal bebas DPPH (Ngibad dan Lestari, 2020).

Pada penelitian ini dibuktikan bahwa ekstrak kulit buah bit memiliki aktivitas antioksidan, hal ini diakibatkan pada ekstrak kulit buah bit terdapat kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai antioksidan diantaranya yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Berbedanya nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan pada penelitian ini dibandingkan dengan penelitian lain diakibatkan dari kemampuan ekstrak mendonor elektron kepada radikal DPPH, dan senyawa fenolik berpengaruh

terhadap aktivitas antioksidan dari sampel. Semakin besar kadar fenolik pada ekstrak maka memungkinkan pula besarnya potensi sampel sebagai antioksidan alami. Adapun, faktor lain yang menjadikan nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak kulit buah bit berbeda, yaitu dari teknik pengujian aktivitas antioksidan, konsentrasi yang digunakan, serta waktu inkubasi yang berbeda.

#### **6.4 Perbedaan Aktivitas Antioksidan Kuersetin Dengan Ekstrak Etanol 70% Kulit Buah Bit.**

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa  $Sig\ 0,637 > \alpha\ 0,05$  pada kuersetin dan  $Sig\ 0,583 > \alpha\ 0,05$  pada ekstrak kulit buah bit maka  $H_1$  ditolak dan  $H_0$  diterima, sehingga data terdistribusi normal. Selanjutnya hasil uji varian data (*Leven's test for equality of variances*) didapatkan nilai  $Sig\ 0,094 > \alpha\ 0,05$  maka  $H_1$  ditolak dan  $H_0$  diterima, sehingga data dapat dikatakan homogen. Dan dari hasil *Independent Samples Test* pada bagian *Equal Variances assumed* didapatkan nilai  $Sig.$  (2-tailed)  $0,000 < \alpha\ 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, yang dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan (nyata) antara nilai  $IC_{50}$  kuersetin dan ekstrak kulit buah bit. Pada penelitian yang serupa yang dilakukan oleh Pratiwi dkk, (2021) menyatakan hasil ekstrak herba suruhan dan kuersetin memiliki perbedaan yang signifikan dengan hasil  $0,000 < 0,05$ . Penelitian Salamah dkk, (2015) juga menunjukkan bahwa hasil uji diperoleh nilai signifikansi 0,002 kurang dari 0,050 artinya terdapat perbedaan yang bermakna antara nilai  $IC_{50}$  kuersetin dan ekstrak metanol daun kelengkeng.

Perbandingan antara nilai  $IC_{50}$  kuersetin dan ekstrak kulit buah bit, menunjukkan kuersetin memiliki nilai  $IC_{50}$  lebih kecil daripada ekstrak kulit buah

bit sehingga aktivitas antioksidan pada kuersetin lebih besar dibandingkan nilai  $IC_{50}$  yang dimiliki ekstrak kulit buah bit. Penyebab perbedaan nilai  $IC_{50}$  dapat diakibatkan oleh kemampuan dari masing-masing senyawa dalam mendonorkan elektron kepada radikal DPPH. Semakin besar elektron yang didonorkan kepada radikal DPPH maka nilai absorbansi akan semakin kecil dan nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan akan semakin rendah. Hal tersebut juga dikarenakan kuersetin merupakan senyawa tunggal flavonoid golongan flavonol dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, sedangkan pada senyawa ekstrak kulit buah bit tidak hanya terdapat senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan tetapi terdapat senyawa lainnya. Faktor lain juga dapat menyebabkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan antara kuersetin dengan ekstrak kulit buah bit, yaitu dari senyawa fenolik yang mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah bit.

## **BAB 7 PENUTUP**

### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kulit buah bit mengandung senyawa metabolit berupa Flavonoid, saponin, dan tanin.
2. kuersetin memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan rata-rata nilai  $IC_{50}$  8  $\mu\text{g/mL}$ .
3. Ekstrak kulit buah bit (*Betal vulgaris* L.) memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan rata-rata nilai  $IC_{50}$  136  $\mu\text{g/mL}$ .
4. Perbandingan nilai  $IC_{50}$  kuersetin dengan ekstrak kulit buah bit menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan dengan nilai Sig. (2-tailed)  $0,000 < \alpha 0,05$ .

### **7.2 Saran**

Saran yang perlu dilakukan untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Perlu dilakukan analisis kuantitatif kadar golongan senyawa dari hasil skrining fitokimia
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan pada produk kesehatan kulit buah bit
3. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dari bagian tanaman, pelarut dan metode yang berbeda untuk memperkuat hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah bit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amirullah. 2015. Populasi dan Sampel. Malang. *Bayumedia Publishing Malang*.
- Asra, R. Yetti, R., Ratnasari, D., and Nessa. 2020. Studi Fisikokimia Betasianin Dan Aktivitas Antioksidan Dari Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L.*). *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 3(1): 14–21.
- Barori, A. S. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum Linn*) Terhadap Jamur Candida Albicans Secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surabaya.
- Butarbutar, M. R. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bawang Batak (*Allium chinense L.*) Dengan Metode DPPH Dan ABTS. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Cahyono, B., Prihatini, C., Suzery, M., and Bima, D. 2021. Penentuan Aktivitas Antioksidan Senyawa Kuersetin dan Ekstrak Lengkuas Menggunakan HPLC dan UV-Vis. *Alchemy*. 8(2): 24–32.
- Dany, A. K. 2020. Penyerapan Amonia, Nitrit, Nitrat Dan Fosfat Pada Limbah Tambak Udang Menggunakan Alga *Chaetomorpha Crassa* Dengan Metode Fitoremediasi. *Skripsi*. Institut Sanis Dan Teknologi Akprind.
- Deviyanti, D. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Dpph Dan Frap Pada Ekstrak Daun Benalu Batu (*Begonia sp.*). *Skripsi*. Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Depkes RI. Hal 143-147
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak*. Direktorat Pengawasan Obat Dan Makanan. Cetakan Pertama. Jakarta.
- Faridah, A., Andromeda and Holinesti, R. 2014. Ekstraksi, Karakterisasi, Purifikasi, dan Identifikasi Betalain Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*).
- Fitri, E. 2021. Pemanfaatan Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) SEBAGAI Produk Minuman Antioksidan Penghambat Aktivitas Radikal Bebas Dalam Tubuh Manusia. *Skripsi*. Universitas Negeri Padang.

- Florensita, S. H. 2019. Pengaruh Jenis Suspending Agent Pga , Pgs Dan Tragakan Terhadap Presentase Waktu Redispersibilitas Pada Sediaan Suspensi Ekstrak Daun Salam ( *Eugenia polyantha* ). *Jurnal Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang*.
- Gan, R., Xu, X., Song, F., Kuang, L., and Li, H . 2010. Antioxidant Activity And Total Phenolic Content Of Medicinal Plants Associated With Prevention And Treatment Of Cardiovascular And Cerebrovascular Diseases. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(22): 2438–2444.
- Gayatri, W. N. 2021. Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dan Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia macr*). *Skripsi*. Universitas Islam indonesi.
- Hidayati, M. D., Ersam, T., Shimizu, K., and Fatmawati, S. 2017. Antioxidant Activity Of Syzygium Polyanthum Extracts. *Indonesian Journal Of Chemistry* 17 (1): 49-53.
- Ismay, F. 2019. Karakterisasi Permen Jeli Berbahan Buah Bit (*Beta vulgaris L*) Dengan Penambahan Pektin. *Skripsi*. Politeknik Negeri Sriwijaya
- Jawa, E., Sawijib, R. and Pusparini, N.K.E.A.D. 2020. Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Umbi Bit Merah (*Beta vulagris L.*) Dengan Metode DPPH. *Chmk Pharmaceutical Scientific Journal*. 3(3): 176–188.
- John, S., Monica, S. J., Priyadarshini, S., Sivaraj, C., and Arumugam, P. 2017. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Beta vulgaris L*. Peel Extracts. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*. 5(6): 1974–1979.
- Katrin, A. B. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi Dan Golongan Senyawa Kimia Daun Premna Oblongata Miq. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2(1): 21–31.
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. Riset Kesehatan Dasar 2013. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kementerian Kesehatan RI. 2018. Riset Kesehatan Dasar 2018. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Khoirunnisa, M. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (*Snedds*) Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella Sativa L .*) Dengan Metode Dpph. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

- Lestari, P. P. 2020. Study Pembuatan Permen Jelly Umbi Bit (*Beta Vulgaris L*) Dengan Penambahan Kayu Manis (*Cinnamomum burmani*). *Skripsi*. Universitas Islam Majapahit.
- Ngibad, K. and Lestari, L. P. 2020. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Daun Zodia (*Evodia suaveolens*). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 16(1): 94
- Maqbool, H., Safeena, M. P., Kumar, K. Sarthish., Zynuedheen, A., Ninann, G., and Kumar, B. Manoj. 2019. Beetroot Peel Extract as a Natural Preservative for Shelf life Extension of Deccan mahseer (Tor khudree) Steaks during Chill Storage. *Fishery Technology*. 56(3): 190–198.
- Mistianu, S. L., Constantin, O., Horincar, G., Andronoiu, D. G., Stanciuc, N., Muresan, C., and Rapeanu, G. 2022. Beetroot By-Product as a Functional Ingredient for Obtaining Value-Added Mayonnaise. *MDPI*. 10(2).
- Nathania, E. K., Maarisit, W., Potalangi, N. O., and Tapehe, Y., 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kecubung Hutan (*Brugmansia Suaveolens Bercht. & J. Presl*) Dengan Menggunakan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). *Biofarmasetikal Tropis*. 3(2): 40–47.
- Ngibad, K. and Lestari, L. P. 2020. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Daun Zodia (*Evodia suaveolens*). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 16(1): 94
- Novianti, R. 2019. Pemanfaatan Nikotin Dari Puntung Rokok kretek Sebagai Antiseptik Dengan Metode Maserasi. *Skripsi*. Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Novioella, A. M. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). *Skripsi*. Univeristas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Pangestu, A. D. 2019. Perbandingan Kadar Saponin Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus L.*) Hasil Pengeringan Matahari Dan Pengeringan Oven Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Skripsi*. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.
- Parwata, M. O. A. 2016. Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*. Bukit Jimbaran, Bali.
- Prastyo, P. 2017. Aktivitas Antioksidan IC50 Dan Kadar Kurkumin Pada Bagian-Bagian Rimpang Kunir Putih (*Curcuma mangga Val.*). *Skripsi*. Universitas Mercu Buana, Yogyakarta.
- Pratiwi, P. Y., Atikah, N., Nurhaeni, F., and Salamah, U. N. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Suruhan (*Peperomia pellucida ( L . ) H . B . K )* dengan Metode DPPH. *University Research Colloquium*. 447–454.

- Pujiastuti, E. and Ma, S. 2022. Pengaruh Pengeringan Terhadap Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). *Jurnal ilmu Kefarmasian*. 3(2): 318–324.
- Pujiharto, R. D. A. 2017. Kualitas Permen Jelly Dengan Variasi Konsentrasi Slurry Umbi Bit (*Beta vulgaris L.*). *Skripsi*. Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Putranto, B. R. I. 2017. Penurunan Kadar Fe<sup>2+</sup> Dalam Air Menggunakan Serbuk Gergaji Kayu Mahoni (*Swietenia macrophylla King*) Dengan Variasi Konsentrasi Dan Lama Perendaman. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Putri, S. M. N. P. 2016. Identifikasi Dan Uji Antioksidan Senyawa Betasianin Dari Ekstrak Buah Bit Merah ( *Beta Vulgaris L* ). *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Univeristas Negeri Semarang.
- Qodriyah, L. 2018. Pengaruh Pemberian Perasan Umbi Bit (*Beta vulgaris L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Mencit (*Mus musculus. L*) Dan Pemanfaatannya Sebagai Media Edukasi Kesehatan Masyarakat. *Skripsi*. Universitas Muahammadiyah Surabaya.
- Rahayu, S. 2017. Isolasi Pektin Dari Kulit Pepaya (*Carica papaya L.*) Dengan Metode Refluks Menggunakan Pelarut Hcl Encer. *Skripsi*. Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Rahma, K. D. 2019. Pengaruh Ekstrak Buah Kurma (*Phoenix dactylifera L.*) Sebagai Antioksidan Terhadap Gambaran Histopatologi Glomerulus Mencit Yang Dipapar Rhodamin B. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rahmatia, A. R. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides(L.) Presl.*) dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*), *Karya Tulis Ilmiah*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang Program Studi Farmasi. Kupang.
- Rahmawati, N. and Kurniawan, T. D. 2019. Mutu Fisik Dan Penerimaan Volunter Sediaan Krim Ekstrak Daun Bunga Pukul Empat (*Mirabilis jalapa L.*) Sebagai Penyembuh Bisul. *Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang*.

- Rizkayanti, R., Diah, A. W. M. and Jura, M. R. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM)', *Jurnal Akademika Kimia*, 6(2): 125.
- Romadhoni, F. P. 2017. Isolasi Pektin Dari Kulit Pisang Kepok (*Musa Balbisiana* Abb) Dengan Metode Refluks Menggunakan Pelarut Hcl Encer. *Skripsi*. Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Rubatzky, V. E. 1998. Sayuran Dunia 2. *Institut Teknik Bandung*. Bandung.
- Sadeer, N. B., Montesano, S., Albrizio, S., Zengin, G., and Mahomoodally, M. 2020. The Versatility Of Antioxidant Assays In Food Science And Safety— Chemistry, Applications, Strengths, And Limitations. *Publisher Of open Access Journals*. 9(8): 1–39.
- Sadeli, R. A. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) Ekstrak Bromelain Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). *Skripsi*. Univeristas Sanata Dharmas.
- Salamah, N. and Widayarsi, E. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. 25–34.
- Sari, M., Ulfa, R. N., Marpaung, M. P., and Purnama.2021. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Papasan (*Coccinia grandis* L.) Berdasarkan Perbedaan Pelarut Polar. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 7(1): 30–41.
- Satria, R., Hakim, A. R. and Darsono, P. V. 2022. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Engineering, Technology, and Applied Science*. 4(1): 33–46.
- Sayuti, K. and Yenrina, R. 2015. Antioksidan Alami Dan Sintetik. *Andalas university press*. Padang.
- Septiani, S. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dan Ekstrak Buah Bit (*Beta vulgaris* L.). *KATALIS: Jurnal Penelitian Kimia dan Pendidikan Kimia*. 3(2): 5–41.
- Shuaibu, B., Aremu, M. and Kalifa, U. 2021. Chemical Composition and Antioxidant Activities of Beetroot Peel. *African Journal of Engineering and Environment Research*, 2(1): 61–73.
- Silalahi, L. S., Muhammad., Sulhatun., Jalaluddin. and Nurlaila, R. 2022. Ekstraksi Kulit Buah Bit (*Beta vulgaris* L.) Sebagai Zat Pewarna Alami. *Chemical Engineering Journal Storage*, 2(6): 102–115.

- Sitinjak, R. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D . C) dengan Metode Pemerangkapan DPPH (1 , 1-diphenyl-2-picrylhydra). *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara.
- Souhoka, F. A., Hattu, N. and Huliselan, M. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana* L). *Indo. J. Chem. Res.*, 7(1): 25–31.
- Suharti, T. 2017. Dasar-Dsar Spektrofotometri Uv-vis Dan Spektrofotometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. *AURA CV. Anugrah Utama Raharja*. Bandar Lampung.
- Suiraoaka, I. P. 2012. Penyakit Degeneratif. *Yogyakarta: Nuha Medika*. 45-51.
- United States Departement of Agriculture. 2016. Nutritional Value of Beet Raw.
- Voigt, R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Penerjemah: Soendani Noerono Soewandhi. Yogyakarta. Ugm Press. 561, 567-569, 577
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan', *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2): 59–68.
- WHO. The World Health Report. 2002. Reducing Risks, Promoting Healthy Life. *Geneva: WHO*.
- Zhang, L., Zhang, T., Chang, M., Lu, M., Liu, R., Jin, Q., and Wang, X. 2019. Effects Of Interaction Between A-Tocopherol, Oryzanol, And Phytosterol On The Antiradical Activity Against DPPH Radical. *Lwt*, 112, 108206.
- Zin, M. M. Borda, F., Márki., Bánvölgyi, S. 2020. Betalains, Total Polyphenols, And Antioxidant Contents In Red Beetroot Peel (*Cylindra type*). *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 16: 27–36.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0
---

 KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET DAN TEKNOLOGI  
POLITEKNIK NEGERI JEMBER  
UPT. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU  
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531  
E-mail : [Polije@polije.ac.id](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**  
No: 107/PL.17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 1199/FIKES.UDS/U/V/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Ida Ayu Pradnya V D  
NIM : 18040044  
Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:  
*Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Hamamelidae; Ordo: Caryophyllales; Famili: Chenopodiaceae; Genus: Beta; Spesies: Beta vulgaris, L.*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

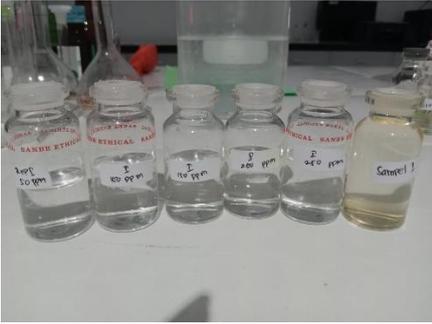
Jember, 25 Juni 2022  
  
Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
NIP. 197106212001121001

## Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

Gambar	Keterangan
<b>Proses pengolahan sampel</b>	
	<p>Pengumpulan sampel buah bit</p>
	<p>Pencucian buah bit</p>
	<p>Pengupasan kulit buah bit (diambil kulitnya)</p>
	<p>Pengeringan kulit buah bit</p>

	Proses maserasi
	Proses evaporasi
	Ekstrak kental kulit buah bit
<b>Uji aktivitas antioksidan</b>	
	Instrumen spektrofotometer UV-Vis
	Penimbangan DPPH

	Larutan DPPH
	Penimbangan kuersetin
	Larutan induk kuersetin dan pengenceran 5 seri konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm)
	Larutan kuersetin setelah diuji dengan DPPH
	Penimbangan ekstrak kulit buah bit

	<p>Larutan induk ekstrak kulit buah bit dan pengenceran 5 seri konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm)</p>
	<p>Larutan ekstrak kulit buah bit setelah diuji dengan DPPH</p>

### Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

<b>Bobot wadah</b>	14 gram
<b>Bobot wadah + ekstrak</b>	50,5 gram
<b>Bobot ekstrak</b>	36,5 gram

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen ekstrak kulit buah bit} &= \frac{\text{bobot ekstrak yang didapat}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\% \\
 &= \frac{\text{bobot ekstrak yang didapat}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\% \\
 &= 34,7\% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

#### Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia



#### Lampiran 5. Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

$$\text{Ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{V \text{ (mL)}} \times 1000$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{\text{massa}}{50 \text{ mL}} \times 1000$$

$$\text{massa} = \frac{40 \text{ ppm}}{1000} \times 50 \text{ mL}$$

$$= 2 \text{ mg} = 0,002 \text{ g}$$

#### Lampiran 6. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Kulit Buah Bit

##### a. Pembuatan larutan induk 1000 ppm replikasi 1, 2, 3.

- Perhitungan

$$\text{Ppm} = \frac{\text{massa (mg)}}{V \text{ (mL)}} \times 1000$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{\text{massa}}{10 \text{ mL}} \times 1000$$

$$\text{massa} = \frac{1000 \text{ ppm}}{1000} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 10 \text{ mg} = 0,01 \text{ g}$$

- Penimbangan

	Replikasi 1 (g)	Replikasi 2 (g)	Replikasi 3 (g)
Berat cawan	26,4650	26,4665	26,4678
Berat cawan + sampel	26,4750	26,4765	26,4778
Berat sampel	0,01	0,01	0,01

**b. Pengenceran seri konsentrasi ekstrak kulit buah bit replikasi 1, 2, 3.**

- Konsentrasi 50 ppm

$$\begin{aligned}
 \bullet \quad M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 \bullet \quad 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 50 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 \bullet \quad V_1 &= \frac{50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 100 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 100 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 150 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 150 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{150 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1,5 \text{ mL} = 1.500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 200 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 200 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{200 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 2 \text{ mL} = 2.000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 250 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 250 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{250 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 2,5 \text{ mL} = 2.500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

### Lampiran 7. Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

#### a. Pembuatan larutan induk 100 ppm replikasi 1, 2, 3.

- Perhitungan

$$\begin{aligned}
 \text{Ppm} &= \frac{\text{massa (mg)}}{V \text{ (mL)}} \times 1000 \\
 100 \text{ ppm} &= \frac{\text{massa}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \\
 \text{massa} &= \frac{100 \text{ ppm}}{1000} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1 \text{ mg} = 0,001 \text{ g}
 \end{aligned}$$

- Penimbangan

	Replikasi 1 (g)	Replikasi 2 (g)	Replikasi 3 (g)
Berat perkamen	0,2808	0,2806	0,2809
Berat perkamen + sampel	0,2818	0,2816	0,2819
Berat sampel	0,001	0,001	0,001

**b. Pengenceran seri konsentrasi kuersetin replikasi 1, 2, 3.**

- Konsentrasi 5 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 5 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{5 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 10 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 10 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 15 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 15 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{15 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 1,5 \text{ mL} = 1.500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

- Konsentrasi 20 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 20 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{20 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 2 \text{ mL} = 2.000 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

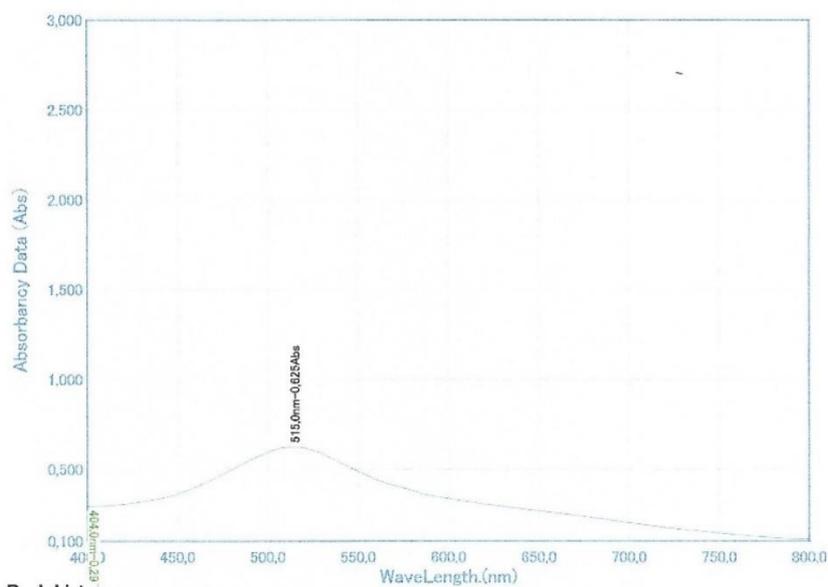
- Konsentrasi 25 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 100 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 25 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= \frac{25 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 2,5 \text{ mL} = 2.500 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

## Lampiran 8. Optimasi Panjang Gelombang

### Wavelength Scan Test Report

File Name:Wavelength Scan 2.wls	Test Time:01/08/2022 11:43:55
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:
Scan Range:400,0nm – 800,0nm	Scan Mode:Absorbance(Abs)



No.	Wavelength(nm)	Abs	Trans(%T)
1	515,0	0,625	23,7
2	404,0	0,295	50,7

Max Record 400,0 nm – 800,0 nm			
No.	Wavelength(nm)	Abs	Trans(%T)
1	515,0	0,625	23,7

MinRecord 400,0 nm – 800,0 nm			
No.	Wavelength(nm)	Abs	Trans(%T)
1	800,0	0,109	77,8

Average Record 400,0 nm – 800,0 nm			
No.	Wavelength(nm)	Abs	Trans(%T)
1	400,0-800,0	0,326	50,0

Record List			
No.	Wavelength(nm)	Abs	Trans(%T)
1	800,0	0,109	77,8
2	799,0	0,109	77,7

## Lampiran 9. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi

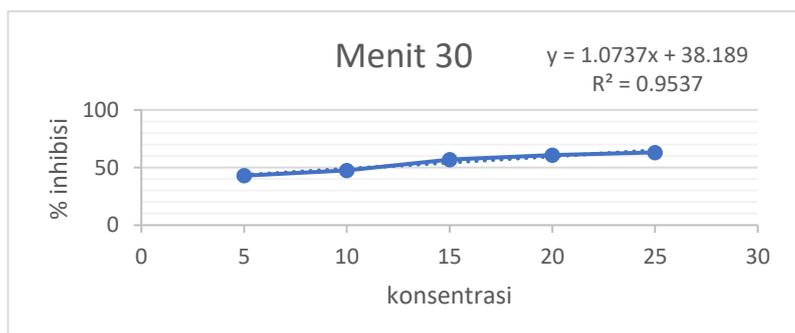
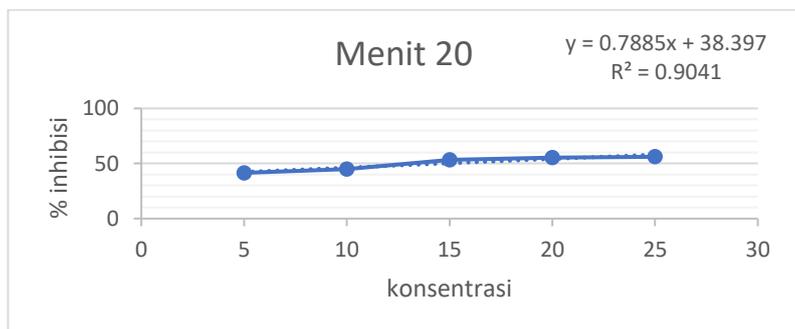
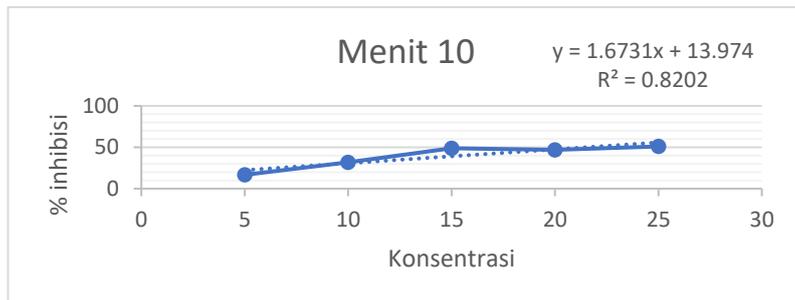
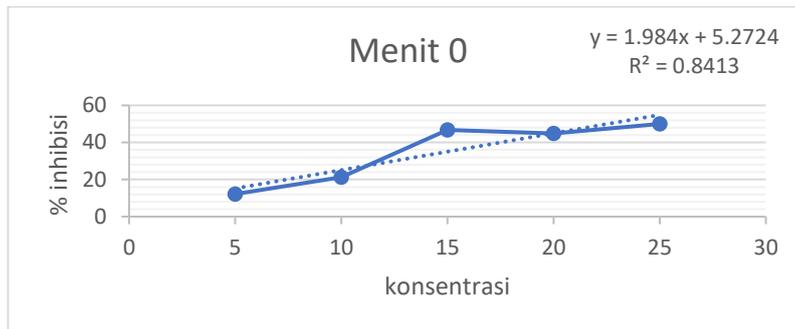
### Photometry Test Report

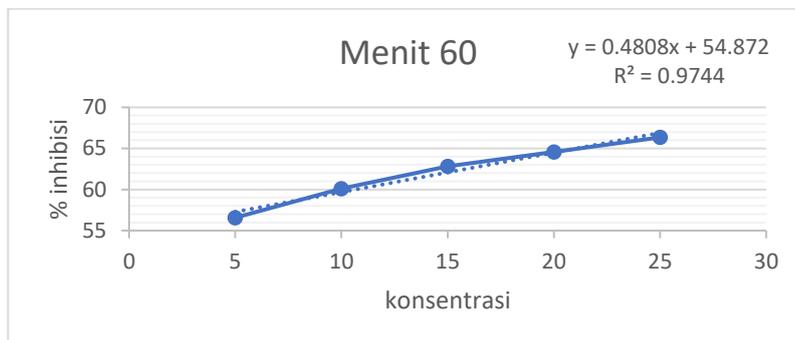
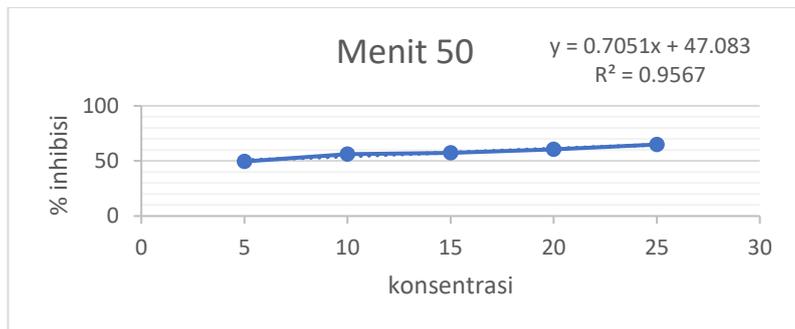
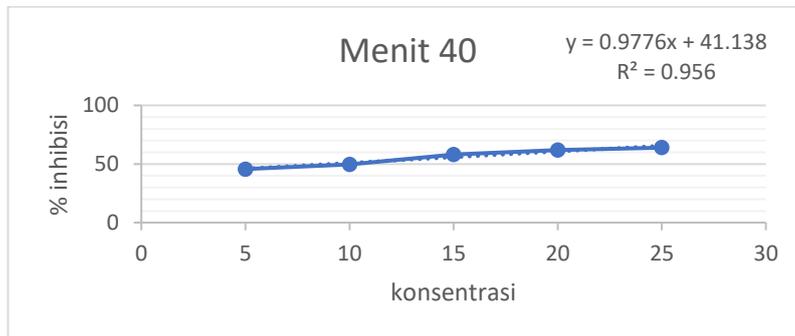
File Name:optimisasi inkubasi.bas	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

#### Test Record List.

No.	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,624	23,7	05/08/2022 8:48:39	blanko
2	515,0	0,548	28,3	05/08/2022 8:50:07	5 menit 0
3	515,0	0,491	32,3	05/08/2022 8:50:43	10
4	515,0	0,332	46,5	05/08/2022 8:52:39	15
5	515,0	0,344	45,3	05/08/2022 8:53:25	20
6	515,0	0,312	48,7	05/08/2022 8:54:10	25
7	515,0	0,520	30,2	05/08/2022 9:00:00	5 menit 10
8	515,0	0,425	37,6	05/08/2022 9:01:21	10
9	515,0	0,319	47,9	05/08/2022 9:01:50	15
10	515,0	0,331	46,7	05/08/2022 9:02:25	20
11	515,0	0,306	49,5	05/08/2022 9:03:04	25
12	515,0	0,365	43,1	05/08/2022 9:10:28	5 menit 20
13	515,0	0,343	45,4	05/08/2022 9:10:53	10
14	515,0	0,292	51,1	05/08/2022 9:11:34	15
15	515,0	0,279	52,7	05/08/2022 9:12:44	20
16	515,0	0,274	53,2	05/08/2022 9:15:12	25
17	515,0	0,356	44,0	05/08/2022 9:21:19	5 menit 30
18	515,0	0,327	47,1	05/08/2022 9:22:18	10
19	515,0	0,269	53,8	05/08/2022 9:23:08	15
20	515,0	0,244	57,0	05/08/2022 9:25:46	20
21	515,0	0,230	58,9	05/08/2022 9:27:13	25
22	515,0	0,339	45,8	05/08/2022 9:30:23	5 menit 40
23	515,0	0,315	48,4	05/08/2022 9:31:12	10
24	515,0	0,262	54,7	05/08/2022 9:32:24	15
25	515,0	0,238	57,8	05/08/2022 9:32:55	20
26	515,0	0,225	59,6	05/08/2022 9:39:36	25
27	515,0	0,315	48,4	05/08/2022 9:41:02	5 menit 50
28	515,0	0,274	53,2	05/08/2022 9:42:09	10
29	515,0	0,267	54,0	05/08/2022 9:43:11	15
30	515,0	0,246	56,8	05/08/2022 9:44:39	20
31	515,0	0,219	60,4	05/08/2022 9:45:32	25
32	515,0	0,271	53,6	05/08/2022 9:49:46	5 menit60
33	515,0	0,249	56,4	05/08/2022 9:51:17	10
34	515,0	0,232	58,6	05/08/2022 9:52:47	15
35	515,0	0,221	60,1	05/08/2022 9:54:58	20
36	515,0	0,210	61,7	05/08/2022 9:55:17	25

Waktu (menit)	Konsentrasi (mg/mL)	Absorbansi larutan	%Inhibisi	Persamaan regresi linier	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
0	5	0.548	12.1795	y = 1,984x + 5,2724 R <sup>2</sup> = 0,8413	23
	10	0.491	21.3141		
	15	0.332	46.7948		
	20	0.344	44.8718		
	25	0.312	50		
10	5	0.52	16.6667	y = 1,6731x + 13,974 R <sup>2</sup> = 0,8202	22
	10	0.425	31.8910		
	15	0.319	48.8782		
	20	0.331	46.9551		
	25	0.520	50.9615		
20	5	0.365	41.5064	y = 0,7885x + 38,397 R <sup>2</sup> = 0,9041	15
	10	0.343	45.0320		
	15	0.292	53.2051		
	20	0.279	55.2885		
	25	0.274	56.0897		
30	5	0.356	42.9487	y = 1,0737x + 38,189 R <sup>2</sup> = 0,9537	11
	10	0.327	47.5961		
	15	0.269	56.8910		
	20	0.244	60.8974		
	25	0.230	63.1410		
40	5	0.339	45.6731	y = 0,9776x + 41,138 R <sup>2</sup> = 0,956	9
	10	0.315	49.5192		
	15	0.262	58.0128		
	20	0.238	61.8589		
	25	0.225	63.9423		
50	5	0.315	49.5192	y = 0,7051x + 47,083 R <sup>2</sup> = 0,9567	3
	10	0.274	56.0897		
	15	0.267	57.2115		
	20	0.246	60.5769		
	25	0.219	64.9038		
60	5	0.271	56.5705	y = 0,4808x + 54,872 R <sup>2</sup> = 0,8413	-10
	10	0.249	60.0961		
	15	0.232	62.8205		
	20	0.221	64.5833		
	25	0.210	66.3461		





## Lampiran 10. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin

### Photometry Test Report

File Name: Uji Kuersetin 50.bas	Test Time:
Software Version: UV V1.92.0	
Operator: Lab Kimia Farmasi	Company:

#### Test Record List

No	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	515,0	0,618	24,1	16/08/2022 14:49:14	blanko
2	515,0	0,318	48,2	16/08/2022 14:51:30	5 rep 1
3	515,0	0,302	49,9	16/08/2022 14:51:57	10
4	515,0	0,289	51,4	16/08/2022 14:52:24	15
5	515,0	0,274	53,2	16/08/2022 14:53:00	20
6	515,0	0,261	54,8	16/08/2022 14:53:28	25
7	515,0	0,323	47,5	16/08/2022 14:54:04	5 rep 2
8	515,0	0,308	49,5	16/08/2022 14:54:48	10
9	515,0	0,291	51,1	16/08/2022 14:55:17	15
10	515,0	0,278	52,4	16/08/2022 14:55:46	20
11	515,0	0,265	54,3	16/08/2022 14:56:12	25
12	515,0	0,315	48,4	16/08/2022 14:56:59	5 rep 3
13	515,0	0,299	50,1	16/08/2022 14:57:31	10
14	515,0	0,286	51,7	16/08/2022 14:58:05	15
15	515,0	0,269	52,9	16/08/2022 14:58:44	20
16	515,0	0,252	56,0	16/08/2022 14:59:37	25

## Lampiran 11. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Bit

### Photometry Test Report

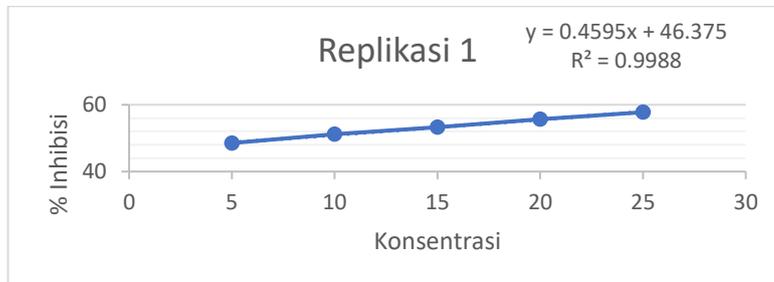
File Name: Uji Sampel 50.bas	Test Time:
Software Version: UV V1.92.0	
Operator: Lab Kimia Farmasi	Company:

#### Test Record List

No	WL.(nm)	Abs	Trans(%T)	16/08/2022 15:51:10	Sample Name
1	515,0	0,598	25,3	16/08/2022 15:52:04	blanko
2	515,0	0,323	46,9	16/08/2022 15:52:55	50 rep 1
3	515,0	0,310	48,3	16/08/2022 15:53:18	100
4	515,0	0,297	49,8	16/08/2022 15:53:56	150
5	515,0	0,283	51,2	16/08/2022 15:54:23	200
6	515,0	0,271	53,0	16/08/2022 15:55:06	250
7	515,0	0,326	47,2	16/08/2022 15:55:51	50 rep 2
8	515,0	0,312	48,5	16/08/2022 15:56:23	100
9	515,0	0,299	50,3	16/08/2022 15:57:11	150
10	515,0	0,279	51,8	16/08/2022 15:57:59	200
11	515,0	0,268	53,5	16/08/2022 15:58:27	250
12	515,0	0,319	47,9	16/08/2022 16:00:05	50 rep 3
13	515,0	0,307	49,4	16/08/2022 16:01:17	100
14	515,0	0,294	50,8	16/08/2022 16:01:55	150
15	515,0	0,281	52,2	16/08/2022 16:02:49	200
16	515,0	0,266	54,2	16/08/2022 16:03:31	250

## Lampiran 12. Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

### a. Kuersetin



$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 46,375}{0,4595}$$

$$x = 8$$



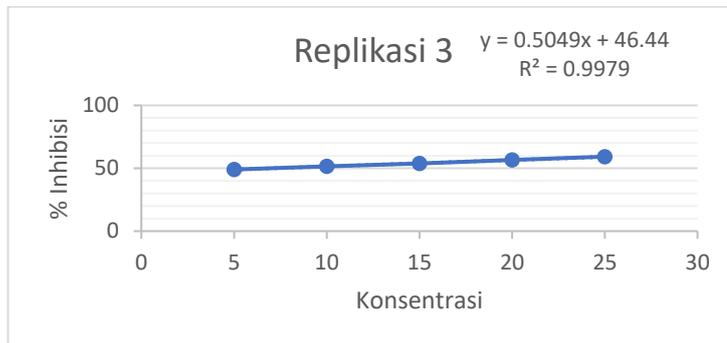
$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 45,502}{0,4725}$$

$$x = 7$$



$$y = 50$$

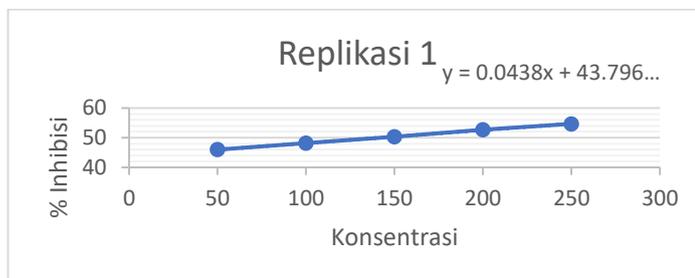
$$y = bx + a$$

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 46,44}{0,5049}$$

$$x = 8$$

#### b. Ekstrak kulit buah bit



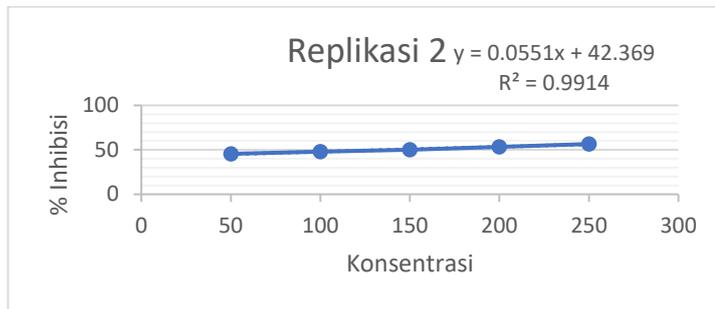
$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 43,796}{0,0438}$$

$$x = 142$$



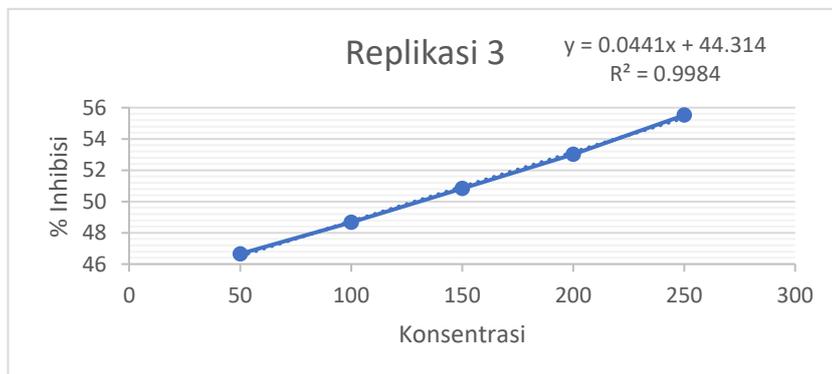
$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 42,369}{0,0551}$$

$$x = 138$$



$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{y - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 44,314}{0,0441}$$

$$x = 129$$

### Lampiran 13. Hasil Analisis Data

#### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai IC50	Kuersetin	.253	3	.	.964	3	.637
	Ekstrak KBB	.265	3	.	.953	3	.583

a. Lilliefors Significance Correction

#### Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Nilai IC50	Kuersetin	3	8.33	1.528	.882
	Ekstrak KBB	3	136.33	6.658	3.844

#### Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Nilai IC50 Equal variances assumed	4.777	.094	32.454	4	.000	-128.000	3.944	138.950	117.050
Nilai IC50 Equal variances not assumed			32.454	2.210	.001	-128.000	3.944	143.515	112.485