

# ANALISIS FLAVONOID TOTAL EKSTRAK BUAH BIT (*Beta vulgaris* L.) BERDASARKAN METODE DAN LAMA EKSTRAKSI SECARA SPEKTROFOTOMETRI

*Analysis of Total Flavonoid from Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Extract Based on The Method and Duration of Extraction by Spectrophotometry*

Rissa Laila Vifta<sup>1\*</sup>, Yeni Marini<sup>2</sup>, Anita Dwi Puspitasari<sup>3</sup>, Lailatul Badriyah<sup>4</sup>, Sulastri<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung, Semarang

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo, Ungaran

<sup>3</sup>Program Studi Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang

<sup>4</sup>Program Studi D3 Farmasi, Akademi Farmasi Kusuma Husada, Purwokerto

<sup>5</sup>Program Studi Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa, Tulungagung

\*Corresponding author: [rissalailavifta@unissula.ac.id](mailto:rissalailavifta@unissula.ac.id)

## ABSTRAK

Buah bit (*Beta vulgaris* L.) mengandung flavonoid dengan berbagai aktivitas farmakologis. Penelitian ini menganalisis kadar flavonoid total pada ekstrak buah bit berdasarkan metode dan lama ekstraksi. Simplicia diekstraksi dengan metode maserasi (3 dan 5 hari) serta digesti (3 dan 6 jam). Uji kualitatif flavonoid dilakukan dengan uji warna dan KLT, sementara kadar flavonoid total ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, kemudian dianalisis secara statistik dengan ANOVA dan uji posthoc LSD. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak metode maserasi selama 3 dan 5 hari sebesar 24,66% dan 24,88%, sedangkan metode digesti selama 3 dan 6 jam sebesar 10,06% dan 16,59%. Nilai Rf kuersetin sebesar 0,80, dengan nilai Rf ekstrak berturut-turut 0,41; 0,65; 0,68; dan 0,80. Kadar flavonoid total pada metode maserasi 3 dan 5 hari sebesar 61,40 mgQE/g dan 67,62 mgQE/g, sedangkan metode digesti 3 dan 6 jam sebesar 64,45 mgQE/g dan 73,32 mgQE/g. Uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ ), dengan kadar flavonoid tertinggi diperoleh dari metode digesti selama 6 jam. Dengan demikian, metode dan lama ekstraksi berpengaruh terhadap kadar flavonoid total dalam ekstrak buah bit.

**Kata Kunci** : Bit, Digesti, Ekstraksi, Flavonoid, Maserasi

## ABSTRACT

Beetroot (*Beta vulgaris* L.) contains flavonoids with various pharmacological activities. This study analyzed the total flavonoid content in beetroot extract based on different extraction methods and durations. Simplicia was extracted using maceration (3 and 5 days) and digestion (3 and 6 hours). Flavonoid identification was conducted through color and TLC tests, while total flavonoid levels were determined using UV-Vis spectrophotometry and analyzed statistically with ANOVA and

LSD posthoc tests. The maceration method yielded 24.66% (3 days) and 24.88% (5 days), while digestion produced 10.06% (3 hours) and 16.59% (6 hours). The Rf value of quercetin was 0.80, with extract Rf values of 0.41, 0.65, 0.68, and 0.80. Total flavonoid levels were 61.40 mgQE/g (3-day maceration), 67.62 mgQE/g (5-day maceration), 64.45 mgQE/g (3-hour digestion), and 73.32 mgQE/g (6-hour digestion). Statistical analysis showed significant differences ( $p < 0.05$ ), with the highest flavonoid content found in the 6-hour digestion method. These findings indicate that both extraction method and duration significantly influence flavonoid levels in beetroot extract, with digestion for 6 hours being the most effective.

**Keywords:** *Beetroot, Digestion, Extraction, Flavonoids, Maceration*

## PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang sangat penting karena dapat meningkatkan kesehatan dengan spektrum yang luas. Flavonoid merupakan komponen yang sangat diperlukan dalam berbagai nutrasetikal farmasi, obat dan aplikasi kosmetik. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas farmakologi seperti anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, antidiabetes, dan antikanker (Dias *et al.*, 2021). Flavonoid pada umumnya tersebar pada semua bagian tanaman, salah satu tanaman yang diketahui mengandung senyawa flavonoid adalah buah bit (Riasari *et al.*, 2022).

Buah bit (*Beta vulgaris* L) merupakan tanaman yang berbentuk rumput, batang sangat pendek, akar tunggangnya yang tumbuh menjadi umbi. Buah bit memiliki bentuk dan warna yang khas (Asra *et al.*, 2020). Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam buah bit adalah pigmen warna betalain (betasianin/betanin dan betasantin), flavonoid, polifenol, saponin, alkaloid, tannin dan asam organik (Utami & Farida, 2022). Senyawa betalain lebih banyak dikaji sebagai

zat warna alami dibandingkan dengan substituen flavonoid lain yang terkandung dalam buah bit.

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa metode ekstraksi dapat berpengaruh terhadap aktivitas farmakologi dan berpengaruh terhadap kadar senyawa flavonoid (Kurniawan, 2022; Prasetyo & Vifta, 2022). Ekstraksi sendiri merupakan langkah penting dalam rangkaian proses fitokimia untuk menemukan konstituen bioaktif dari bahan tanaman. Selanjutnya, pemilihan proses ekstraksi yang sesuai dan optimalisasi berbagai parameter sangat penting untuk meningkatkan kuantitas maupun dalam rangka mendapatkan kadar metabolit sekunder yang optimal (Suhendar *et al.*, 2020).

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang melibatkan perendaman simplisia dalam pelarut yang sesuai pada kondisi kamar selama kurang lebih tiga hari dengan sesekali dilakukan pengadukan. Kondisi yang dioptimalkan pada proses maserasi dapat meningkatkan efisiensi pada penarikan senyawa fenolik, flavonoid, maupun metabolit sekunder yang lainnya (Bitwell *et al.*, 2023). Digesti adalah metode

ekstraksi yang mirip dengan maserasi, akan tetapi menggunakan sedikit pemanasan selama proses berlangsung. Pengaturan suhu digesti tetap perlu diperhatikan agar tidak mengubah kandungan fitokimia tanaman yang diekstrak (Bitwell *et al.*, 2023).

Kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, dan tanin pada umumnya bersifat termolabil, sehingga ekstraksi yang melibatkan panas perlu memperhatikan titik kritis senyawa aktifnya. Menurut penelitian Mehita *et al.* (2021), zat betasianin pada buah bit stabil pada suhu di bawah 50°C. Pada proses digesti sendiri sebagian besar suhu dijaga pada kisaran 35-40°C dan maksimum pada suhu 50°C untuk bahan tanaman yang lebih keras seperti kulit kayu dan bahan yang mengandung fitokimia yang mudah larut (Bitwell *et al.*, 2023). Sehingga, pada penelitian akan dilakukan kajian lebih lanjut terkait pengaruh lama dan metode ekstraksi maserasi dan digesti terhadap kandungan flavonoid total buah bit. Penelitian berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut untuk mengeksplorasi senyawa aktif buah bit yang berpotensi sebagai agen teurapetik.

## Metode

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan flavonoid total dalam ekstrak buah bit, baik secara kualitatif maupun kuantitatif berdasarkan pengaruh lama dan metode ekstraksi. Metode maserasi dan digesti digunakan untuk menarik senyawa metabolit sekunder buah bit. Selanjutnya, dilakukan analisis secara kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis.

## Alat dan Bahan

Penelitian ini dilakukan dengan berbagai macam alat yaitu alat ekstraksi seperti pisau, nampan, *blender* (Vaganza), ayakan 60 *mesh*, kain flanel, toples, batang pengaduk, *rotary evaporator*, *waterbath*, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10 vis Series), plat silika GF<sub>254</sub> dari Merck (No. 105554), Lampu UV<sub>254</sub> nm dan UV<sub>366</sub> nm, bejana plat, pipa kapiler, *oven* (Memmert UN-30), kuvet, timbangan analitik (Ohaus), cawan porselen, tabung reaksi (Iwaki), dan seperangkat alat gelas.

Bahan simplisia berasal dari Buah Bit diperoleh dari daerah Bandungan, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah yang sebelumnya telah dideterminasi di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Universitas Diponegoro. Bahan kimia yang digunakan antara lain, etanol 96% dari CV. Nitra Kimia, etanol *pro analysis* (p.a.), kuersetin (No. 551600-100MG), asam asetat, AlCl<sub>3</sub> 10%, n-butanol dari Merck, HCl 2 N, bubuk magnesium, dan akuades dari CV. Indrasari.

## Prosedur Penelitian

### Ekstraksi Buah Bit dengan Metode Maserasi

Serbuk simplisia buah bit masing-masing sebanyak 100 gram dimasukkan ke dalam toples kaca 1 dan 2. Setelah itu, dimasukkan pelarut etanol 96% sebanyak 500 ml dengan perbandingan 1:5 kedalam toples kaca maserasi 1 dan 2. Kemudian simpan toples kaca 1 dan toples kaca 2 dalam keadaan tertutup selama 3 hari dan 5 hari. Setiap 24 jam sekali dilakukan pengadukan sebanyak 3 sampai 4 kali. Selanjutnya, hasil ekstrak cair dikentalkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dilanjutkan

dengan waterbath pada suhu 50°C. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji kadar air, kadar abu, dan sisa pelarut (Muiz *et al.*, 2021).

### **Ekstraksi Buah Bit dengan Metode Digesti**

Serbuk simplisia buah bit masing-masing sebanyak 100 gram dilarutkan kedalam etanol 96% sebanyak 500 ml atau perbandingan (1:5). Selanjutnya direndam dan diputar selama 3 jam dan 6 jam menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C (Dewi & Rahmawati, 2021). Setelah itu disaring hingga diperoleh ekstrak cair, selanjutnya hasil ekstrak cair dikentalkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dilanjutkan dengan *waterbath* pada suhu 50°C. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji kadar air, kadar abu, dan sisa pelarut (Muiz *et al.*, 2021).

### **Uji Kualitatif dengan Pereaksi Warna**

Ekstrak buah bit hasil maserasi dan digesti masing-masing ditimbang sebanyak 200 mg, lalu ditambah dengan 5 ml etanol dan dipanaskan selama 5 menit didalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah 1 ml HCl 2N pekat. Kemudian ditambah 0,2 g bubuk magnesium. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua dalam waktu 3 menit (Bangun, 2021).

### **Uji Kualitatif dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Ekstrak etanol buah bit dengan metode maserasi dan digesti masing-masing

ditimbang sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam etanol p.a, kemudian ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT, masukan lempeng tersebut dalam wadah bejana yang berisi fase gerak n-butanol:asam asetat: aquadest (4:1:5) yang telah dijenuhkan, selanjutnya biarkan fase gerak merambat sampai tanda batas. Kemudian keluarkan lempeng ditunggu sampai kering dulu, lalu diuapi dengan amonia. Hasil elusi diamati dengan lampu UV<sub>254</sub> nm dan UV<sub>366</sub> nm, sebagai zat pembanding digunakan kuersetin (Ramadhani *et al.*, 2020).

### **Uji Kuantitatif Flavonoid Total Buah Bit Penentuan Kurva Baku Kuersetin**

Larutan kuersetin sebagai baku standar dibuat kadar sebesar 50, 60, 70, 80 dan 90 ppm. Sebanyak 1 ml larutan kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Selanjutnya, didiamkan selama 2 menit pembacaan absorbansi kadar dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 414,5 nm.

### **Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak**

Larutan ekstrak 1000 ppm diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan dengan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 ml asam asetat 5% didiamkan selama 2 menit. Selanjutnya, dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Pengujian dilakukan masing-masing sebanyak tiga kali replikasi,

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Buah Bit

Cara Ekstraksi	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Maserasi (3 hari)	100	24,66	24,66
Maserasi (5 hari)	100	24,88	24,88
Digesti (3 jam)	100	10,06	10,06
Digesti (6 jam)	100	16,59	16,59

### Analisis Data Secara Statistik

Data kadar flavonoid total ekstrak etanol buah bit dari metode maserasi dan digesti dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas dengan *Saphiro-Wilk*, kemudian dilanjutkan uji homogenitas dengan *Levene test*. Analisis dilanjutkan dengan *One Way Anova (analysis of variance)* dan uji *post hoc* untuk menilai perbedaan signifikan antar kelompok uji.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen Ekstrak Buah Bit

Ekstrak etanol buah bit dibuat menggunakan metode maserasi 3 hari dan 5 hari dan metode digesti 3 jam dan 6 jam. Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Rendemen ekstrak merupakan parameter untuk menilai mutu dari suatu ekstrak (Habiba *et al.*, 2022). Rendemen ekstrak buah bit disajikan pada Tabel 1.

Pembuatan ekstrak buah bit dilakukan dengan dua metode yaitu maserasi (cara dingin) dan digesti (cara panas). Pemilihan pelarut etanol 96% didasarkan pada tingkat keamanan dan kemudahan saat diupkan serta sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar serta dapat menarik

senyawa flavonoid dan fenolik secara optimum (Ramadhani *et al.*, 2020). Rendemen pada Tabel 1 diperoleh hasil metode maserasi dengan perendaman selama 3 hari dan 5 hari adalah 24,66% dan 24,88%, serta hasil rendemen yang diperoleh dari metode digesti dengan perendaman selama 3 jam dan 6 jam adalah 10,06% dan 16,59%. Hasil rendemen dikatakan baik karena nilai rendemen menghasilkan nilai lebih dari 10% (Vifta *et al.*, 2022).

Pada penelitian ini, rendemen tertinggi dalam proses maserasi diperoleh pada ekstraksi selama 5 hari. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi, maka semakin banyak senyawa yang terlarut dalam pelarut, sehingga meningkatkan rendemen ekstrak. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Pamudi *et al.* (2021) yang melakukan ekstraksi maserasi dengan rincian waktu maserasi 1 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari dan 5 hari, daun ketapang merah di mana semakin bertambah hari semakin besar rendemen yang dihasilkan dan pada hasil digesti 3 jam dan 6 jam sangat berpengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak buah bit yang dihasilkan dan pada proses ekstraksi digesti rendemen yang dihasilkan paling tinggi yaitu digesti selama 6 jam.

Tabel 2. Uji Kadar Air, Kadar Abu, dan Bebas Etanol Simplisia dan Ekstrak Buah Bit

Parameter	Sampel	Hasil (%)
Kadar air	Simplisia	1,89
	Eks. Maserasi (3 hari)	1,85
	Eks. Maserari (5 hari)	1,84
	Eks. Digesti (3 jam)	1,9
	Eks. Digesti (6 jam)	1,88
Kadar abu	Simplisia	0,04
	Eks. Maserasi (3 hari)	0,13
	Eks. Maserari (5 hari)	0,14
	Eks. Digesti (3 jam)	0,12
	Eks. Digesti (6 jam)	0,14
Sisa pelarut	Eks. Maserasi (3 hari)	No residu
	Eks. Maserari (5 hari)	No residu
	Eks. Digesti (3 jam)	No residu
	Eks. Digesti (6 jam)	No residu

Penelitian oleh Dewi & Rahmawati (2021) menghasilkan rendemen herba seledri sebesar 18,73% dengan metode digesti selama 5 jam, sedangkan penelitian Supomo *et al.* (2019) yang melakukan proses ekstraksi umbi bawang rambur dengan metode digesti selama 2 jam didapatkan hasil rendemen sebesar 40,01%. Hal ini karena waktu ekstraksi yang pendek akan memberikan hasil yang rendah sebab tidak semua komponen terekstrak dan semakin lama waktu ekstraksi maka kesempatan untuk bersentuhan antara sampel dengan pelarut semakin besar sehingga rendemen juga akan bertambah sampai pada titik jenuh larutan, akan tetapi setelah mencapai waktu optimal jumlah ekstrak yang terambil mengalami penurunan (Pamudi *et al.*, 2021).

### Hasil Uji Kadar Air, Kadar Abu, dan Sisa Pelarut

Analisis kadar air dan abu dilakukan secara gravimetri, sedangkan pengujian sisa pelarut dilakukan secara kualitatif dengan

prinsip oksidasi menggunakan asam sulfat dan kalium dikromat. Hasil uji kadar air, kadar abu, dan sisa pelarut ekstrak buah bit disajikan pada Tabel 2. Hasil pengujian kadar air ekstrak buah bit pada penelitian ini telah memenuhi syarat standar mutu yakni kurang dari 10% (Anggraini & Kusuma, 2020), sedangkan kadar abunya juga telah memenuhi syarat mutu kurang dari 8% (Andini & Putri, 2021).

Pada pengujian kadar air ini menggunakan metode gravimetri dengan prinsip-prinsip penentuan kadar air dengan metode gravimetri. Metode gravimetri adalah metode yang dilakukan dengan menguapkan air yang ada dalam bahan dengan pemanasan, kemudian menimbang bahan sampai berat konstan. Berat konstan berarti semua air sudah diuapkan. Hasil penetapan kadar air yang diperoleh pada simplisia buah bit memenuhi persyaratan yaitu sebesar 5,5% karena persyaratan yang ditetapkan yaitu kurang dari 10% (Pujiastuti & El'Zeba, 2021).

Tabel 3. Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Bit

Sampel	Hasil	Keterangan
M - 3	Merah Tua	+
M - 5	Merah Tua	+
D - 3	Merah Tua	+
D - 6	Merah Tua	+

Keterangan :

M3 : Maserasi 3 hari

M5 : Maserasi 5 hari

D3 : Digesti 3 jam

D6 : Digesti 6 jam

Menurut penelitian Anggraini dan Kusuma (2020), menyatakan jika suatu bahan memiliki kadar air lebih dari 10% dapat mempengaruhi kualitas bahan, mempercepat pertumbuhan jamur dan dapat terjadinya hidrolisis terhadap kandungan kimianya.

Pengujian kadar abu ekstrak bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak, dipanaskan dalam temperatur yang menyebabkan senyawa organik beserta turunannya tereduksi dan menguap, sehingga meninggalkan unsur mineral dan anorganik saja (Purwoko *et al.*, 2020). Hasil pengujian kadar abu buah bit pada simplisia pada Tabel 2 didapatkan hasil sebesar 2% dan kadar abu ekstrak buah bit didapatkan hasil dari metode maserasi selama 3 hari, maserasi 5 hari sebesar 6,5%, 7%, dan hasil dari metode digesti selama 3 jam dan digesti 6 jam, sebesar 6% dan 7% menunjukkan bahwa kadar abu dalam simplisia dan ekstrak tersebut telah memenuhi syarat standar mutu kadar abu ekstrak.

Uji sisa pelarut dilakukan dengan menambahkan asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pekat. Penambahan ini bertujuan untuk membuat kondisi asam dengan kalium dikromat yang

awalnya berwarna jingga, kemudian setelah bereaksi larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi hijau kebiruan karena ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Ramadhani *et al.*, 2020) Berdasarkan hasil pengujian sisa pelarut etanol pada ekstrak buah bit didapatkan hasil ekstrak berwarna coklat hal tersebut menandakan bahwa ekstrak tidak mengandung etanol karena warna pada ekstrak tetap berwarna coklat setelah diberi larutan pereaksi.

### Analisis Kualitatif Flavonoid Buah Bit

Analisis kualitatif yang dilakukan pada ekstrak buah bit (*Beta vulgaris* L.) bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak, khususnya senyawa flavonoid.. Hasil dari pemeriksaan uji kualitatif menggunakan metode uji warna telah dianalisis dan disusun secara sistematis dalam bentuk tabel, yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak buah bit teridentifikasi melalui uji kualitatif, yang ditandai dengan perubahan warna ekstrak menjadi merah. Hasil pengujian ini sesuai dengan data yang disajikan dalam Tabel 3. Penambahan logam magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl) dalam proses identifikasi senyawa flavonoid bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium. Selama reaksi berlangsung, serbuk magnesium akan bereaksi dengan asam klorida, menghasilkan gelembung-gelembung gas yang merupakan gas H<sub>2</sub> (Velavan, 2016).

Tabel 4. Hasil Penegasan KLT Ekstrak Buah Bit

Senyawa	Penegasan	Hasil Uji Sampel			
		M	M	D	D
Flavonoid	Uap Amoniak	+	+	+	+

Keterangan :

M3 : Maserasi 3 hari

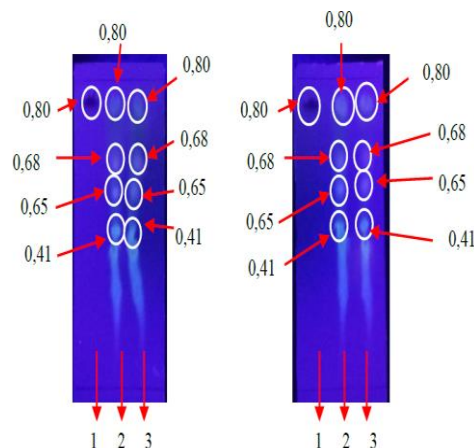
M5 : Maserasi 5 hari

D3 : Digesti 3 jam

D6 : Digesti 6 jam

Ekstrak buah bit selanjutnya dianalisis secara kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Tujuan dari pengujian KLT yaitu untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (Kurniawan, 2022). Hasil KLT pada Tabel 4 menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak buah bit dengan fluoresensi berwarna kuning cerah di bawah UV<sub>366</sub> nm.

Hasil visual KLT pada Gambar 1 dan nilai Rf pada Tabel 5 menunjukkan jenis substituen flavonoid yang terkandung dalam buah bit. Hasil elusi ekstrak buah bit menghasilkan 4 bercak baik pada ekstrak dengan metode maserasi maupun digesti. Nilai Rf yang dihasilkan masing-masing sebesar 0,41, 0,65, 0,68 dan 0,80. Bercak dan nilai Rf yang sama mengindikasikan bahwa metode dan lama ekstraksi tidak mempengaruhi hasil kualitatif flavonoid pada ekstrak buah bit. Penelitian (Asra *et al.*, 2020) menyebutkan bahwa jenis flavonoid yang sekaligus memberikan warna pada buah bit adalah betasianin dengan Rf 0,72 menggunakan fase gerak metanol:asam asetat (6:4).



Gambar (a) Gambar (b)

Gambar 1. Hasil Visual KLT Ekstrak Buah Bit

Keterangan :

Gambar (a)

Spot 1 : Standar kuersetin

Spot 2 : Ekstrak Buah Bit Maserasi 3 Hari

Spot 3 : Ekstrak Buah Bit Maserasi 5 Hari

Gambar (b)

Spot 1 : Standar kuersetin

Spot 2 : Ekstrak Buah Bit Digesti 3 Jam

Spot 3 : Ekstrak Buah Bit Digesti 5 Jam

Hasil Rf yang berbeda dari penelitian sebelumnya dimungkinkan karena terdapat pengaruh fase gerak yang digunakan sekaligus mengindikasikan adanya senyawa selain kuersetin pada buah bit. Beberapa faktor yang mempengaruhi pergerakan noda dalam analisis KLT, yang juga berkontribusi terhadap perbedaan nilai Rf yang diperoleh adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan. Selain itu, jumlah sampel yang ditotolkan pada lempeng KLT dalam jumlah berlebihan memberikan penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor dan efek tak seimbang hingga dapat mengakibatkan kesalahan-kesalahan pada nilai Rf (Lestari & Santoso, 2021).



Tabel 5. Nilai Rf Ekstrak Buah Bit dengan Pembanding Kuersetin

Sampel	Hasil (UV 366 nm)	Rf
Kuersetin	Coklat	0,80
Maserasi (3 dan 5 hari)	Ungu	0,41
		0,65
		0,68
		0,80
Digesti (3 dan 6 jam)	Ungu	0,41
		0,65
		0,68
		0,80

### Flavonoid Total Ekstrak Buah Bit

Panjang gelombang kuersetin yang didapatkan yaitu 414,5 nm dengan *operating time* pada menit ke-9 sampai 14. Kurva baku kuersetin diperoleh persamaan  $y = 0,0059 + 0,0057x$  dengan nilai  $r = 0,9987$ . Hasil analisis flavonoid total ekstrak buah bit tercantum pada Tabel 6.

Rerata flavonoid total pada sampel ekstrak hasil maserasi selama 3 dan 5 hari berturut-turut sebesar 61,40 mgQE/g, 67,62 mgQE/g dan hasil kadar dari ekstrak digesti selama 3 dan 6 jam berturut-turut diperoleh kadar flavonoid total sebesar 64,45 mgQE/g. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan menggunakan metode kolorimetri. Metode kolorimetri menggunakan penambahan pereaksi  $AlCl_3$  untuk membentuk kompleks berwarna yang dapat diukur secara spektrofotometri. Pereaksi  $AlCl_3$  akan bereaksi secara spesifik dengan gugus keton pada C-4 dan gugus -OH pada C-3 atau C-5 pada senyawa flavon atau flavonol. Reaksi ini akan membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning.

Tabel 6. Flavonoid Total Ekstrak Buah Bit

Sampel	TFC (mgQE/g) ± SD
Maserasi (3 hari)	61,40 ± 0,259
Maserasi (5 hari)	67,62 ± 0,170
Digesti (3 jam)	64,45 ± 0,259
Digesti (6 jam)	73,32 ± 0,422

Keterangan :

TFC : total flavonoid content

Pengukuran kadar flavonoid total dalam penelitian ini menggunakan metode Dowd. Metode ini melibatkan aluminium klorida yang akan membentuk kompleks labil dengan gugus o-dihidroksi pada cincin A dan B flavonoid yang dapat terbaca pada daerah serapan 415 nm (Marín *et al.*, 2019).

Berdasarkan hasil flavonoid total pada Tabel 6 yang diperoleh bahwa flavonoid total pada sampel ekstrak maserasi lebih kecil dibandingkan dengan sampel ekstrak hasil digesti. Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa flavonoid yang ada dalam buah bit tahan terhadap perlakuan suhu. Hal ini juga dibuktikan pada penelitian Asra *et al.*, (2020) dan Mehita *et al.* (2021) yang mengatakan bahwa pigmen betasianin stabil pada temperatur 40°C. Hasil penelitian Zin *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa terdapat pigmen betasianin dalam buah bit merah yang termasuk flavonoid golongan khalkon dengan aktivitas antioksidan sebesar 79,73 ppm. Buah bit merah mengandung betasianin dan memiliki antioksidan yang kuat (Sutor & Wybraniec, 2020). Berdasarkan hasil penelitian Maimunah *et al.* (2021) menyebutkan bahwa buah bit mengandung beberapa senyawa seperti alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, steroid, glikosida gula dan polifenol.

Tabel 7. Uji Posthoc LSD Favonoid Total Ekstrak Buah Bit

Metode	M3	M5	D3	D6	Ket.
M3	0,000				BS
M5		0,000			BS
D3			0,000		BS
D6				0,000	BS

Keterangan :

M3 : Maserasi 3 hari

M5 : Maserasi 5 hari

D3 : Digesti 3 jam

D6 : Digesti 6 jam

BS : Berbeda Signifikan

Hasil uji *Post hoc test* pada Tabel 7 menunjukkan hasil signifikansi dengan nilai 0,000 (p-value <0,05) yang artinya terdapat perbedaan signifikan antara kadar flavonoid total pada metode maserasi selama 3 hari, 5 hari dan metode digesti selama 3 jam dan 6 jam. Perbedaan hasil secara statistika menunjukkan adanya pengaruh metode dan lama ekstraksi terhadap flavonoid total ekstrak buah bit. Ekstraksi senyawa bioaktif merupakan langkah penting dalam penelitian bahan alam. Fokus utama dalam ekstraksi antara lain terkait dengan konsep ekonomis, ramah lingkungan, waktu ekstraksi dan hasil senyawa bioaktif yang lebih baik tanpa mempengaruhi aktivitas biologisnya (Bitwell *et al.*, 2023).

## SIMPULAN

Ekstrak buah bit mengandung flavonoid. Kadar Flavonoid total ekstrak buah bit dengan metode maserasi selama 3 hari dan 5 hari sebesar 61,40 mgQE/g, 67,62 mgQE/g dan dengan metode digesti 3 jam dan 6 jam sebesar 64,45 mgQE/g, 73,32 mgQE/g. Kadar flavonoid dengan kedua metode tersebut memiliki perbedaan yang

signifikan (p-value <0,05). Kadar flavonoid total ekstrak buah bit dipengaruhi oleh metode dan lama ekstraksi dengan kadar tertinggi dihasilkan oleh ekstraksi dengan metode digesti selama 6 jam.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada mitra penelitian yakni Universitas Ngudi Waluyo, Universitas Wahid Hasyim, Akademi Farmasi Kusuma Husada, STIKes Karya Putra Bangsa yang telah berkontribusi dan memberikan dukungan pelaksanaan penelitian kolaborasi ini, sehingga penelitian dapat diselesaikan dengan baik dan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andini, A., & Putri, C. F. (2021) 'Standardization of Mango (*Mangifera indica* L.) Peel Simplisia of Gadung Variety', *PHARMADEMICA: Jurnal Kefarmasian Dan Gizi*, 1(1): 1–8. <https://doi.org/10.54445/pharmademic.a.v1i1.2>
- Anggraini, D. I. & Kusuma, E.W. (2020) 'Uji Cemaran pada Ekstrak Etanol Tempe Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.) Sebagai Obat Antidiabetes Terstandar', *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 5(1): 1–11. <http://dx.doi.org/10.3194/ce.v5i1.3314>
- Asra, R., Azizah, Z., Yetti, R. D., Ratnasari, D., Chandra, B., Misfadhila, S., & Nessa. (2020) 'Studi Fisikokimia Ekstrak Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris* L) Sebagai Pewarna Pada Sediaan Tablet', *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1): 65–74. <https://doi.org/10.52689/HIGEA.V12I1.265>

- Bangun, P.P.A, Rahman, A.P., & Syaifiyatul, H., (2021) 'Analisis kadar total flavonoid pada daun dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan metode spektrofotometer Uv-Vis', *Jurnal Ilmiah Farmasi Attamru*, 2(1): 1–5. <https://doi.org/10.31102/attamru.v2i1.1263>
- Bitwell, C., Indra, S. Sen, Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023) 'A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants', *Scientific African*, 19, e01585. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>
- Dewi, I. K. & Rahmawati, C. (2021) 'Parameter mutu ekstrak herba seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode ekstraksi maserasi dan digesti. *Jurnal Jamu Kusuma*', 1(1): 22-26. <https://doi.org/10.37341/jurnaljamukusuma.v1i1.6>
- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). 'Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity', *Molecules*, 26(17): 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Dias, M. C., Pinto, D. C., & Silva, A. M. (2021) 'Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity', *Molecules*, 26(17): 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Kurniawan, A. (2022) 'Qualitative and Quantitative Flavonoid Content Test in Potato Extrac',. *BENZENA Pharmaceutical Scientific Journal*, 1(1): 29–38. <https://doi.org/10.31941/benzena.v1i01.2024>
- Lestari, S. I., & Santoso, B. (2021) 'Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas (PRB) Ekstrak Etanol Lempuyang Emprit (*Zingiber americans*) Hasil Maserasi Sekali Dan Maserasi Berulang', *Biomedika*, 13(1): 76-82. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i1.11439>
- Maimunah, S., Amila, A., Kenedy Marpaung, J., Irennius Girsang, V., & Syapitri, H. (2021) ;Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Dari Tepung Buah Bit (*Beta vulgaris* L.)', *Forte Journal*, 1(2): 139–145. <https://doi.org/10.51771/fj.v1i2.141>
- Marín, F. R., Hernández-Ruiz, J., & Arnao, M. B. (2019) 'A colorimetric method for the determination of different functional flavonoids using 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) and peroxidase', *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(10): 1033–1039. <https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1650378>
- Mehita, C. S., Ishak, I., Bahri, S., Masrullita, M., & Nurlaila, R. (2021) 'Pengambilan Zat Betasianin Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna makanan alami dengan metode ekstraksi;', *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*, 1(2): 107. <https://doi.org/10.29103/cejs.v1i2.4910>

- Muiz, H. A., Wulandari, S., & Primadianty, A. (2021) 'Ethanol Extract Against *Staphylococcus aureus* By Disc Diffusion Method', *Jurnal Analisis Farmasi*, 6(2): 84–89. <https://doi.org/10.31004/jkt.v5i4.33989>
- Pamudi, B. F., Munira, M., Saha, R. A., & Nasir, M. (2021) 'Pengaruh lama maserasi daun ketapang merah (*Terminalia catappa* L.) terhadap daya hambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*', *Jurnal SAGO Gizi Dan Kesehatan*, 2(2): 158. <https://doi.org/10.30867/gikes.v2i2.664>
- Prasetyo, D.A. & Vifta, R.L. (2022) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*)', *Journal of Holistics and Health Sciences*, 4(1): 192–201. <https://doi.org/10.35473/jhhs.v4i1.143>
- Pujiastuti, E., & El'Zeba, D. (2021) 'Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Dan 96% Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Dengan Spektrofotometri', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(1): 28–43. <https://doi.org/10.31596/cjp.v5i1.131>
- Purwoko, M.L.Y., Syamsudin, & Simanjuntak, P. (2020) 'Standardisasi Parameter Spesifik dan Nonspesifik Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*)', *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 13(2): 124–129. <https://doi.org/10.37277/sfj.v13i2.766>
- Ramadhani, M. A., Hati, A. K., Lukitasari, N. F., & Jusman, A. H. (2020) 'Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %', *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 3(1): 8–18. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v3i1.481>
- Riasari, H., Fitriansyah, S. N., & Hoeriah, I. S. (2022) 'Perbandingan Metode Fermentasi, Ekstraksi, Dan Kepolaran Pelarut Terhadap Kadar Total Flavonoid Dan Steroid Pada Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg)', *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 11(1): 1. <https://doi.org/10.58327/jstfi.v11i1.165>
- Suhendar, U., Utami, N. F., Sutanto, D., & Nurdayanty, S. M. (2020) 'Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*)', *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1): 76–83. <https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2069>
- Supomo, S., Warnida, H., & Said, B. M. (2019). 'Perbandingan Metode Ekstraksi Ekstrak Umbi Bawang Rambut (*Allium chinense* G.Don.) Menggunakan Pelarut Etanol 70% Terhadap Rendemen Dan Skrining Fitokimia', *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(1): 30–40. <https://doi.org/10.33759/jrki.v1i1.15>
- Sutor, K., & Wybraniec, S. (2020) 'Identification and Determination of Betacyanins in Fruit Extracts of Melocactus Species', *Journal of*

*Agricultural and Food Chemistry*,  
68(41): 11459–11467.

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04746>

Utami, N. A., & Farida, E. (2022) 'Kandungan Zat Besi, Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan Kombinasi Jus Buah Bit dan Jambu Biji Merah sebagai Minuman Potensial Penderita Anemia', *Indonesian Journal of Public Health and Nutrition*, 2(3): 372–260.  
<https://doi.org/10.15294/ijphn.v2i3.53428>

Vifta, R. L., Saputra, Y., & Hakim, A. L. (2022) 'Analisis Flavonoid Total Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) Asal Bandungan dan Formulasinya dalam Sedian Gel', *Journal of Experimental and Clinical Pharmacy (JECP)*, 2(1): 21.  
<https://doi.org/10.52365/jecp.v2i1.342>

Zin, M. M., Nagy, K., Bánvölgyi, S., Abrankó, L., & Nath, A. (2022) 'Effect of microwave pretreatment on the extraction of antioxidant-rich red color betacyanin, phenolic, and flavonoid from the crown of *Cylindra*-type beetroot (*Beta vulgaris* L.)', *Journal of Food Process Engineering*, 45(12): 14175.  
<https://doi.org/10.1111/jfpe.14175>