Ekstraksi Zat Warna Alami dan Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etanolik Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.)

Teguh Adiyas Putra[1], Karin Angeline Safitri[1]*, dan Ade Irawan[1]

[1]Program Studi S1 Farmasi STIKes Muhammadiyah Cirebon
Jl. Kalitanjung Timur No.14-18 A, Harjamukti, Kota Cirebon, 45143, Indonesia

* Corresponding author: karinangeline15@gmail.com

ABSTRAK

Umbi bit (*Beta vulgaris* L.) merupakan tumbuhan bahan pangan yang tinggi akan aktivitas antioksidan untuk memilihara kesehatan dan dengan kandungan pigmen betasianin yang berkhasiat sebagai pewarna merah alami. Pemanfaatan umbi bit di Indonesia untuk pengobatan tradisional dapat dilakukan dengan rebusan maupun jus. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan zat warna alami dan mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam umbi bit. Sampel umbi bit diperoleh dari hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 96% 1:4 (pH 4,5) selama 3 hari ditempat gelap, kemudian filtrat umbi bit diuapkan pada suhu 40^{O}c menggunakan *Rotary Evaporator* hingga dihasilkan ekstrak kental umbi bit. Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif menggunakan pereaksi warna dan uji pengendapan. Berdasarkan hasil skrining fitokimia metabolit sekunder ekstrak etanolik umbi bit dihasilkan positif mengandung flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid.

Kata Kunci: Fitokimia, Umbi bit, KLT

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber kekayaan alam yang sangat melimpah dan dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan manusia, salah satunya dalam bidang kesehatan. Pemanfaatan tumbuhan yang digunakan dalam pengobatan tradisional dilakukan secara empiris oleh masyarakat Indonesia. Pada dasarnya masyarakat terdahulu sudah banyak menggunakan alternatif berbagai macam tanaman obat untuk mengatasi penyakit dengan gejala yang ringan, salah satu tanaman berkhasiat dalam pengobatan yaitu umbi bit (*Beta vulgaris* L.) [1].

Umbi bit termasuk tumbuhan semusim dengan ciri khas akar tunggang, bentuk bulat menyerupai gasing, bewarna merah pekat dan rasa yang manis. Umbi bit merupakan bahan pangan yang tergolong kedalam famili *Chenopodiaceae*, umbi bit kaya akan manfaat baik dalam bidang kesehatan maupun bidang kencantikan, salah satu potensi umbi bit yaitu antioksidan yang bekerja sebagai penangkal radikal bebas. Umbi bit (*Beta vulgaris* L.) digunakan dalam terapi pengobatan seperti antikanker, antiradang. Serta pigmen betasianin yang terkandung dalam umbi bit berpotensi sebagai zat warna alami dalam produk makanan, minuman dan sediaan kosmetika [2].

Taksonomi tumbuhan, *Beta vulgaris* L. diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: *Plantae*
Divisi	: *Magnoliophyta*
Kelas	: *Magnoliopsida*
Ordo	: *Caryophyllales*
Famili	: *Chenopodiaceae*
Genus	: *Beta*
Spesies	: *Beta vulgaris* L. [3].



Gambar 1. Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.) (Dokumentasi Pribadi, 2022).

Kandungan utama umbi bit adalah pigmen betalain, serta beberapa senyawa fitokimia yaitu seperti tanin, saponin, alkaloid, flavonoid dan polifenol lainnya. Tingginya aktivitas antioksidan yang terdapat pada umbi bit dikarenakan

ISSN 2716-0963
e-ISSN 2716-1218

mengandung senyawa polifenol dan pigmen betalain, dimana betalain ini terdiri dari pigmen merah betasianin dan pigmen kuning betaxanthin. Pada umbi bit terdapat beberapa zat mineral seperti magnesium, kalsium, Fe, folat, vitamin C dan zinc [3].

Skrining fitokimia kualitatif merupakan tahap pertama untuk mengidentifikasi metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman dengan cara penambahan pereaksi warna. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder umbi bit yang berkhasiat bagi kesehatan, serta mengetahui metode ekstraksi yang digunakan untuk mempertahankan senyawa betasianin yang berpotensi sebagai pewarna merah alami yang dapat digunakan baik dalam bidang kecantikan maupun sebagai pewarna alami bahan pangan, dimana saat ini banyak masyarakat Indonesia yang belum mengetahui kandungan serta manfaat umbi bit (*Beta vulgaris* L.) [4].

BAHAN DAN METODE

Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Alat gelas (*beaker glass*, gelas ukur, cawan, *iwaki pyrex*), blender *(Ossel),* batang pengaduk, *chamber*, corong *buchner* (*Pyrex*), erlenmeyer *(iwaki*), *hot plate*, pisau, pipet tetes, *Rotary Evaporator* (*Buchi*), spatel, timbangan analitik *(Ohaus),* vial/botol gelap, *waterbath.* Bahan utama yang digunakan yaitu ekstrak etanolik umbi bit *(Beta vulgaris* L*),* etanol 96%, aquadest (*Quadrant*), FeCl3, HCl, pereaksi *mayer.*

Metode

Preparasi Sampel Umbi bit (*Beta vulgaris* L.)

Umbi bit (*Beta vulgaris* L.) diperoleh dari pasar Tradisional Jagasatru Kota Cirebon Jawa Barat, dengan kriteria umbi bit segar dan terasa padat. Setelah proses pemilihan, sampel umbi bit sebanyak 10 Kg dibersihkan dan dicuci menggunakan air mengalir untuk membersihkan pengotor yang masih menempel pada umbi bit, lalu dilakukan perajangan untuk mempercepat proses pengerigan dan penyerbukan. Selanjutnya sampel umbi bit dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari selama 7 hari dengan penutup kain hitam, setelah kering kemudian simplisia umbi bit disortasi kering dengan tujuan untuk memisahkan kotoran yang mungkin masih menempel pada simplisia kering umbi bit. Simplisia umbi bit kemudian dihaluskan dan diayak sehingga didapat serbuk umbi bit sebanyak 500 gram [5].

Ekstraksi Umbi bit (*Beta vulgaris* L.)

Ekstrak etanolik umbi bit diperoleh dari hasil ekstraksi maserasi menggunakan etanol 96% dengan penambahan asam askobat 1% hingga didapat pH 4,5. Serbuk yang digunakan yaitu sebanyak 500 gram dan pelarut sebanyak 2 L (1:4). Kemudian di maserasi selama 3x24 jam dalam tempat gelap terlindung cahaya. Selanjutnya filtrat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan corong *bunchner*, setelah itu filtrat dievaporasi menggunakan *Rotary evaporator* pada suhu 40°C. Kemudian ekstrak yang dihasilkan diuapkan kembali pada suhu 40°C diatas *waterbath* hingga didapat ekstrak etanolik umbi bit yang kental [6].

Identifikasi Flavonoid

Ekstrak sebanyak 2 ml dimasukan kedalam tabung reaksi dan tambahkan 5 tetes HCl pekat kemudian dipanaskan diatas *hot plate* selama 5 menit. Terbentuknya warna merah menandakan positif flavonoid [7].

Identifikasi Tanin

Larutan sampel sebanyak 2 ml dimasukan kedalam tabung reaksi tambahkan 5 tetes pereaksi FeCl3, diamati perubahan warna yang terjadi. Terjadinya perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman menunjukkan positif mengandung senyawa tanin [8].

Identifikasi Saponin

Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu tambahkan 10 ml aquadest kemudian dikocok secara vertikal selama 10 detik. Terbentuknya busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama 10 menit dikatakan terdapatnya senyawa saponin [9].

Identifikasi Alkaloid

Ekstrak umbi bit sebanyak 500 mg ditimbang dan dimasukan kedalam *beaker glass*, lalu sebanyak 1 ml HCl dan aquadest sebanyak 9 ml ditambahkan, kemudian dipanaskan selama 2 menit diatas penangas air, setelah itu

ISSN 2716-0963
e-ISSN 2716-1218

didinginkan dan filtrat yang dihasilkan disaring. Kemudian 2 ml sampel dimasukan kedalam tabung reaksi tambahkan 5 tetes pereaksi *mayer*. Terbentuknya endapan putih kekuningan menunjukkan sampel positif mengandung alkaloid [10].

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis alkaloid menggunakan silica gel GF-254, silica gel dioven terlebih dahulu sebelum digunakan selama 3 menit pada suhu 45^{o}C agar kadar air yang terdapat pada plat KLT dapat dihilangkan. Plat KLT diberi garis batas 0,5 cm pada atas dan batas bawah plat [11]. Dalam pengujian ini menggunakan fase gerak metanol : asam asetat glasial (9:6) sebanyak 15 ml. Lakukan preparasi sampel yaitu melarutkan ekstrak dengan sebagian etanol, Sampel ditotolkan pada plat KLT dan diletakkan ke dalam chamber berisi eluen yang telah dijenuhkan. Setelah proses elusi selesai plat KLT diangkat dan dikeringkan diliat pada panjang gelombang 254 nm dan sinar visible 366 nm, lalu deteksi bercak noda dilakukan dengan menyemprotkan pereaksi *dragendorff*, selanjutnya menghitung nilai Rf pada noda [12].

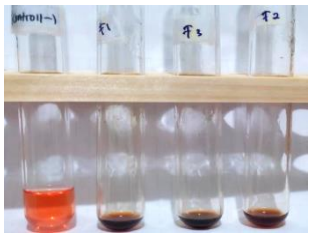
HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia adalah tahap awal pengujian kandungan fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanolik umbi bit secara kualitatif menggunakan pereaksi warna untuk mengidentifikasi beberapa senyawa fitokimia pada tumbuhan seperti flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Skrining fitokimia pada penelitian ini dilakukan dengan tiga kali replikasi untuk meminimalkan terjadinya kesalahan dalam pembacaan sampel. Hasil uji fitokimia ekstrak etanolik umbi bit (*Beta vulgaris* L.) pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

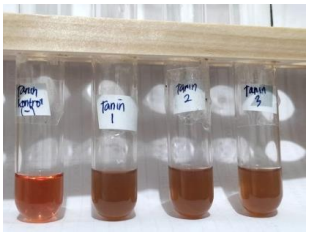
Uji Fitokimia	Pereaksi	Keterangan
Flavonoid	HCl+pemanasan	(+)
Tanin	FeCl3	(+)
Saponin	*Aquadest*	(+)
Alkaloid	*Mayer*	(+)

Flavonoid adalah senyawa yang banyak terdapat dalam tumbuhan dan bersifat polar, pengujian flavonoid pada penelitian ini menggunakan metode *bate smith* dengan menambahkan HCl pekat dan dipanaskan diatas penangas air. HCl pekat ditambahkan untuk memecahkan dan memutuskan flavonoid dalam bentuk glikosida menjadi aglikonnya, dengan menghidrolisis O-glikosil. Asam yang bersifat elektrofilik akan mengubah O-glikosil menjadi $H^{+,}$ sedangkan pemanasan bertujuan agar reaksi hidrolisis dapat dipercepat [13]. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanolik umbi bit dengan terbentuknya warna merah bata pada sampel dikatakan positif mengandung senyawa flavonoid (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Uji Flavonoid

Tanin merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemui pada tumbuhan serta memiliki khasiat salah satunya sebagai astringen. Pengujian tanin dilakukan dengan penambahan FeCl3 sebanyak 5 tetes. Menurut [14] pengujian senyawa tanin dengan penambahan FeCl3 menunjukkan terjadi hidrolisis karena adanya gugus fenol yang akan bereaksi dan membentuk ikatan dengan FeCl3, kemudian terjadi perubahan kompleks warna menjadi kehitaman. Didapatkan hasil bahwa ekstrak etanolik umbi bit positif mengandung tanin karena terbentuknya perubahan warna menjadi kehitaman pada sampel ekstrak etanolik umbi bit (Gambar 3).

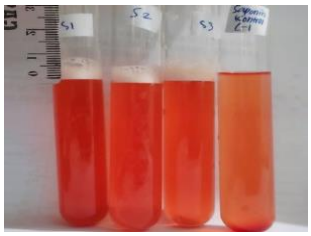


Gambar 3. Hasil Uji Tanin

Saponin merupakan bentuk dari glikosida dan sapogenin. Pengujian saponin dilakukan dengan melihat terdapat atau tidaknya busa pada sampel yang ditambahkan aquadest sebanyak 10 ml, busa yang terbentuk karena pada saponin

ISSN 2716-0963
e-ISSN 2716-1218

mempunyai gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik, busa yang dihasilkan adalah glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan membentuk buih [15]. Dihasilkan positif terbentuknya busa setinggi 1 cm (Gambar 4).



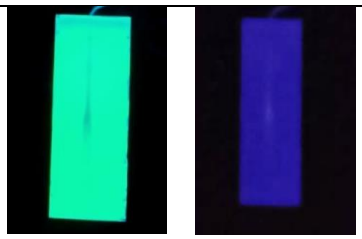
Gambar 4. Hasil Uji Saponin

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder bersifat basa, membentuk cincin heterosiklik dan memiliki atom nitrogen. Pengujian alkaloid dilakukan dengan menambahkan 2 ml HCl 9 ml aqudest dan dipanaskan selama 2 menit. Tujuan penambahan asam karena alkaloid bersifat basa dan untuk melarutkannya menggunakan pelarut yang dikondisikan asam. Diperoleh hasil pada pereaksi *mayer* terbentuk endapan kuning dan putih kekuningan, terjadi reaksi antara alkaloid dan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) sehingga terbentuk ikatan kovalen koordinat dan kompleks endapan kalium-alkaloid, dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Uji Mayer

Pengujian kromatografi lapis tipis (KLT) esktrak etanolik umbi bit menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan metanol:asam asetat (9:6) sebagai fase gerak. Pemilihan fase gerak tersebut berdasarkan kepolaran ekstrak etanol umbi bit, sebagian besar senyawa yang terkandung dalam umbi bit yaitu senyawa betalain. Betalain terbagi menjadi 2 yaitu pigmen betasianin dan betaxanthin, kedua pigmen ini memiliki aktivitas antioksidan dan betasianin sebagai pewarna alami yang memiliki ciri khas warna merah mencolok pada umbi bit. Identifikasi kromatografi lapis tipis difokuskan pada senyawa betasianin, dimana betasianin ini termasuk kedalam golongan alkaloid.



UV 254 UV 366

Gambar 6. Hasil Pemisahan KLT

Berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak etanol umbi bit dengan penyemprotan pereaksi *dragendorff* menunjukan positif senyawa alkaloid dengan terbentuknya bercak noda merah bata dan diperoleh nilai Rf 0,6 pada bercak noda. Dibuktikan dalam penelitian [12] telah melakukan pengujian kromatografi lapis tipis senyawa betasianin pada kulit buah naga menggunakan fase gerak metanol dan asam asetat (6:4) dalam penelitiannya didapatkan nilai Rf yang sama dengan betasianin standar yaitu 0,6.

Berdasarkan hasil ekstraksi ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan pelarut etanol 96% dengan penambahan asam askorbat dan penggunaan suhu penguapan 40^{o}C dapat mempertahankan dan mencegah rusaknya senyawa betasianin yang terkandung dalam umbi bit. Sehingga dapat dikatakan pigmen merah betasianin tidak rusak atau hilang pada saat proses penyiapan sampel, dimana pigmen betasianin ini dapat digunakan sebagai pewarna alami baik dalam produk makanan maupun sebagai pengganti pewarna sintetik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang didapat ekstrak etanolik umbi bit (*Beta vulgaris* L.) dapat digunakan sebagai pewarna alami dan dari hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder disimpulkan bahwa ekstrak etanolik umbi bit mengandung senyawa tanin, flavonoid, alkaloid dan saponin. Pada uji Kromatografi Lapis Tipis positif mengandung alkaloid betasianin dengan nilai Rf 0,6.

REFERENSI

[1] Febrianasari. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Krinyu (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococus aureus*. [Skripsi]. Yogyakarta: Progam Studi Pendidikan

Biologi Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Perguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma.

[2] Cauhan, S., Kartik, C., & Shilpa, S. (2020). Beetroot-A Review Paper. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(2), 424-427.

[3] Amila., Siti, M., Henny, S., Jon, K. M., & Vierto, I. G. (2021). Mengenal Sicantik Bit Dan Manfaatnya. Malang: Ahli media.

[4] Putri, D.M & Syafrina, S.L. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (Erioglossum rubiginosum (Roxb.) Blum). Jurnal AMINA, 2(3), 120-125.

[5] Putra, T.A., Karin, A.S., Zahra, A.N.B., & Tiara, A.S. (2022). Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etanolik Kulit Umbi bit (*Beta vulgaris* L.). *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 7(2), 39-44.

[6] Lembong, E., & Gemilang, L.U. (2021). Potensi Pewarna Dari Bit Merah (*Beta vulgaris* L) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Agercolere*, 3(1), 7-13.

[7] Ikalinus, R., Widyastuti, S.K., & Setiasih, N.L.K. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*moringa oleifera*). *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71-79.

[8] Badaring, D. R., Sari, P. M. S., Satrina, N., Wirda, W., & Sintiya, A. R. L. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal Of Fundamental Sciences (IJFS),* 6(10), 16-26.

[9] Jawa, E.O., Repining, T. S., & Ni Ketut, E. A. D. P. (2020). Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris* L) dengan metode DPPH. *Jurnal CHMK Pharmaceutical Scientific,* 3(3), 176-188.

[10] Izzah, N., Yuniharce, K., & Arini, P. (2019). Uji Identifikasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk*) Dari Kab.Ende Nusa Tenggara Timur Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 5(1), 52-56.

[11] Kusnadi., & Egie, T. D. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L*.) dengan metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal,* 2(1), 56-67.

[12] Asra, R., Rina, D.Y., Rusdi., Selly, A., & Nessa, N. (2019). Studi Fisikokimia Betasianin Dalam Kulit Buah Naga Dan Aplikasinya Sebagai Pewarna Merah Alami Sediaan Farmasi. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy)*, 5(2), 140-146.

[13] Susiloningrum, D., & Dania, I. (2020). Penapisan Fitokimia Dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga Valeton & Zijp*.) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut. *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan Masyarakat* 9(2), 126-136.

[14] Kafelau, M., Aloisius, M.K., Anselmus, B.B., Maria, B.T., Maria, U.L., Faderina, K., & Erly, G.B. (2022). Phytochemical Screening And TLC Profiling Of Combination Extracts Of Avocado (*Persea americana Mil*l.) And Papaya (*Carica papaya*) Leaves From Timor Islands. *Indonesian Journal Of Chemical Research,* 10(1) 32-37.

[15] Arnida., Erfani, A.B., & Dini, R.S. (2021). Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Rimpang Purun Danau (*Lepironia articulata (Retz*.) *Domin*). *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah,* 6(2). Universitas Lampung Mangkurat.