



Perbandingan Keefektifan Reagen Untuk Menentukan Kadar Flavonoid Total pada Kulit Biji Kacang Hijau (*Vigna radiate* L.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Dwi Ika Andriani, Nur Hidayah, Rahmadani, Tuti Alawiyah
Jurusan Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia
dwikaandriani25@gmail.com

Abstrak

Kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) merupakan limbah pertanian yang belum banyak dimanfaatkan, padahal diketahui mengandung senyawa flavonoid dengan potensi kuat sebagai antioksidan. Untuk mendukung pengembangan pemanfaatannya sebagai sumber bahan alam, penetapan kadar flavonoid total menjadi langkah penting. Reagen aluminium klorida ($AlCl_3$) secara luas digunakan dalam analisis flavonoid karena kemampuannya membentuk kompleks stabil dengan senyawa flavonoid. Namun, alternatif reagen seperti aluminium nitrat ($Al(NO_3)_3$) masih jarang diteliti sehingga perlu dilakukan evaluasi efektivitasnya. Penelitian ini bertujuan membandingkan efektivitas reagen $AlCl_3$ dan $Al(NO_3)_3$ dalam menentukan kadar flavonoid total pada ekstrak kulit biji kacang hijau menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Ekstraksi sampel dilakukan melalui metode maserasi menggunakan etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid total memanfaatkan standar kuersetin serta pembentukan kompleks warna dengan reagen $AlCl_3$ dan $Al(NO_3)_3$ yang dikombinasikan dengan natrium asetat. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum yang sesuai untuk masing-masing reagen. Metode analisis selanjutnya divalidasi melalui uji linearitas, akurasi, presisi, serta penentuan LOD dan LOQ. Hasil penelitian menunjukkan bahwa $AlCl_3$ menghasilkan absorbansi dan sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan $Al(NO_3)_3$, sehingga memberikan hasil pengukuran yang lebih akurat dan representatif. Uji validasi juga menunjukkan bahwa metode memiliki linearitas dan presisi yang baik untuk kedua reagen. Dengan demikian, $AlCl_3$ dinyatakan lebih efektif dalam penentuan kadar flavonoid total pada kulit biji kacang hijau. Temuan ini menguatkan potensi pemanfaatan limbah kulit biji kacang hijau sebagai sumber bahan baku alami bernilai guna.

Kata kunci: Kulit Biji Kacang Hijau, Flavonoid Total, Spektrofotometri UV-Vis, $AlCl_3$, $Al(NO_3)_3$

1. Latar Belakang

Tanaman kacang-kacangan merupakan salah satu kelompok komoditas pangan yang memiliki potensi besar dan telah banyak dimanfaatkan di berbagai belahan dunia. Beberapa contoh tanaman dari keluarga ini antara lain kacang hijau, kacang gude, kacang merah, kacang tolo, kacang kedelai, dan kacang tanah. Hampir seluruh jenis kacang-kacangan dapat diolah baik saat tanaman masih muda maupun pada fase tua. Pada umumnya, kacang-kacangan yang masih muda dimanfaatkan sebagai bahan sayur segar, dikeringkan, atau dibekukan untuk kebutuhan konsumsi. Sementara itu, kacang-kacangan yang telah tua biasa diolah menjadi beragam produk makanan seperti tepung, susu, isolat protein, makanan kaleng, hingga olahan gorengan sebagai kudapan. Selain fleksibel dalam pengolahan, kacang-kacangan juga kaya akan berbagai zat gizi, seperti lemak, mineral, vitamin, dan serat pangan (dietary fiber) [1]. Melihat besarnya potensi tersebut, penelitian terhadap tanaman kacang-kacangan, termasuk sebagai tanaman obat, semakin berkembang seiring meningkatnya kebutuhan masyarakat akan pangan fungsional dan bahan baku yang bernilai kesehatan.

Salah satu tanaman kacang-kacangan yang banyak diteliti adalah kacang hijau (*Vigna radiata* L.), yang berasal dari famili Papilionaceae dan termasuk sumber daya hayati Indonesia dengan potensi tinggi dalam bidang pangan maupun kesehatan. Tanaman ini merupakan salah satu komoditas palawija yang memiliki banyak varietas serta telah lama dibudidayakan di wilayah tropis. Di Indonesia, kacang hijau bahkan menempati urutan ketiga terpenting sebagai tanaman pangan jenis kacang-kacangan setelah kedelai dan kacang tanah, terutama karena kandungan protein nabatinya yang tinggi. Kacang hijau dapat diolah menjadi berbagai produk pangan, salah

satunya susu kacang hijau yang dapat menjadi alternatif minuman kesehatan, meskipun popularitasnya masih di bawah susu kedelai. Selain sebagai sumber pangan bernutrisi, secara tradisional kacang hijau dikenal bermanfaat untuk mengatasi hiperglikemia, hiperlipidemia, hipertensi, serta membantu mencegah kanker dan melanogenesis. Beberapa studi juga menunjukkan bahwa kacang hijau memiliki aktivitas hepatoprotektif, imunomodulator, antibakteri [2], dan antioksidan [3]. Aktivitas tersebut tidak terlepas dari kandungan metabolit sekunder dalam kacang hijau, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid [4].

Dalam proses konsumsi, biji kacang hijau biasanya menyisakan kulit biji yang selama ini kurang dimanfaatkan dan dianggap sebagai limbah tanpa nilai guna. Padahal, kulit kacang hijau masih mengandung gizi cukup baik, yakni 8,73% protein, 0,12% vitamin B1, dan 6,32% serat. Kulit kacang hijau dapat dijadikan bahan substitusi tepung, dimanfaatkan sebagai pakan ternak, atau diolah kembali sebagai campuran bahan pangan. Untuk mengoptimalkan pemanfaatannya, kulit biji kacang hijau perlu dikeringkan dan digiling menjadi tepung sebelum dicampurkan ke dalam bahan makanan seperti cookies. Di sisi lain, pemanfaatan tepung sagu sebagai bahan campuran juga digunakan dalam beberapa penelitian untuk meningkatkan nilai gizi dan memanfaatkan bahan pangan lokal. Dengan demikian, pemanfaatan kulit kacang hijau tidak hanya dapat mengurangi limbah pangan tetapi juga mengurangi ketergantungan terhadap tepung terigu.

Salah satu kandungan penting dari kulit kacang hijau adalah flavonoid, yaitu senyawa metabolit sekunder dari kelompok senyawa fenol dengan struktur benzena yang tersubstitusi oleh gugus OH. Flavonoid dikenal sebagai salah satu kelompok senyawa terbesar di alam, terdapat pada akar, batang, daun, kulit, bunga, dan buah tanaman tingkat tinggi. Sekitar 5–10% metabolit sekunder pada tumbuhan merupakan flavonoid. Senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis penting seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri [5]. Penelitian mengenai kandungan flavonoid dalam kacang hijau telah banyak dilakukan, misalnya oleh Supasatyankul et al. (2022) yang menemukan bahwa kulit biji kacang hijau mengandung total fenolik sebesar $55,27 \pm 1,14$ mg GAE/g dan total flavonoid sebesar $34,04 \pm 0,72$ mg CE/g [6]. Fakhrudin et al. (2020) juga membuktikan bahwa ekstrak biji kacang hijau memiliki aktivitas antioksidan jauh lebih tinggi daripada ekstrak daunnya, baik menggunakan pelarut air maupun etanol [3].

Salah satu metode yang banyak digunakan untuk menentukan kadar flavonoid adalah spektrofotometri UV-Vis. Metode ini dipilih karena sensitif, akurat, dan mudah digunakan dalam analisis senyawa kimia. Dengan spektrofotometri UV-Vis, konsentrasi flavonoid dalam kulit biji kacang hijau dapat ditentukan secara kuantitatif, sehingga menghasilkan data yang lebih jelas mengenai potensi pemanfaatannya [7]. Dalam penelitian ini, uji flavonoid menggunakan dua variasi reagen, yaitu $AlCl_3$ 10% + CH_3COONa dan $Al(NO_3)_3$ + CH_3COONa , untuk membandingkan efektivitasnya dalam menentukan kadar flavonoid total. Penelitian serupa mengenai variasi pelarut dan penggunaan $AlCl_3$ telah dilakukan sebelumnya pada ekstrak daun pandan wangi, seperti pada penelitian Maria Ulfah et al. (2021) yang menunjukkan perbedaan kadar fenolik dan flavonoid pada berbagai pelarut [8].

Sejalan dengan berbagai penelitian tersebut, studi ini bertujuan untuk melihat efektivitas perbandingan dua reagen dalam penetapan kadar flavonoid total pada kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian diharapkan dapat memperkaya informasi ilmiah mengenai pemanfaatan limbah kulit kacang hijau serta membuka peluang pemanfaatan lebih lanjut dalam bidang pangan maupun kesehatan.

2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan Universitas Sari Mulia Banjarmasin, pada periode November 2024 hingga Juli 2025, terhitung sejak penentuan judul hingga penyusunan hasil penelitian. Sasaran penelitian ini adalah penetapan kadar flavonoid pada kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) yang beredar di Kota Banjarmasin Timur. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif analitik dengan desain cross-sectional untuk melihat hubungan dan perbedaan hasil pengukuran yang dilakukan pada satu waktu pengamatan [9]. Sampel yang digunakan adalah kulit biji kacang hijau yang telah dipisahkan dari bijinya dan diolah menggunakan variasi reagen melalui metode spektrofotometri UV-Vis, sebagaimana telah diterapkan pada penelitian sebelumnya [10], [11].

Tahapan penelitian meliputi proses pengambilan sampel, preparasi, ekstraksi, pembuatan reagen, serta penentuan panjang gelombang maksimum dan kurva baku. Sampel kulit biji kacang hijau disortasi, dicuci, direndam 24 jam,

dikeringkan pada suhu 45°C, kemudian dihaluskan sebelum diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarut, dan dipusatkan menggunakan rotary evaporator [11]. Reagen Natrium Asetat, $AlCl_3$, dan $Al(NO_3)_3$ dibuat sesuai prosedur Chang et al. (2002), Agustina et al. (2020), dan Ema Hermawati et al. (2023) [10], [12], [13]. Pembuatan larutan standar kuersetin 1000 ppm hingga deret konsentrasi dilakukan untuk memperoleh kurva kalibrasi sebagai acuan pembacaan absorbansi, serta penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada rentang 380–780 nm sesuai metode spektrofotometri UV-Vis[14]

Penelitian ini menggunakan teknik purposive sampling dengan populasi kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) dari usaha rumahan makanan ringan di Jalan Kuin Utara, Kota Banjarmasin. Sampel ditentukan berdasarkan kriteria inklusi yaitu kulit biji yang berwarna hijau pekat dan matang sempurna, sedangkan warna kekuningan atau adanya jamur menjadi kriteria eksklusi [9]. Variabel penelitian terdiri dari variabel independen berupa variasi reagen $AlCl_3$ dan $Al(NO_3)_3$, dan variabel dependen berupa kadar flavonoid total. Penetapan kadar flavonoid dilakukan menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan kurva standar kuersetin dan dinyatakan dalam mgQE/g, sesuai metode Rehni (2019)[15]. Semua pengukuran dilakukan secara triplo untuk memastikan ketelitian hasil.

3. Hasil dan Diskusi

3.1 Pembuatan Serbuk Simplisia

Pada proses pembuatan serbuk, dimulai dari pengumpulan sampel kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) sampai dengan proses sortasi kering. Selanjutnya, sampel dikeringkan menggunakan oven dengan suhu tidak lebih dari 45°C selama 3 jam. Setelah itu, sampel digiling menggunakan grinder hingga diperoleh tekstur serbuk yang halus, beraroma khas kacang hijau, dan berwarna hijau. Kemudian serbuk ditimbang hingga diperoleh berat akhir sebanyak 100 gram.




Gambar 1. Serbuk Kulit Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)

3.2 Analisis Kualitatif Flavonoid

Analisis kualitatif dalam penelitian ini menggunakan pereaksi yang berbeda, yaitu $AlCl_3$ dan $Al(NO_3)_3$. Hasil identifikasi flavonoid dengan penambahan pereaksi $AlCl_3$ menunjukkan hasil positif, ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna kuning. Pada pereaksi $Al(NO_3)_3$ juga menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya larutan berwarna kuning kejinggaan. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 1 Hasil Analisis Kualitatif Kulit Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)

No	Pereaksi	Gambar	Hasil	Keterangan
1	$AlCl_3$		+	Positif mengandung flavonoid (terbentuk warna kuning)

2	$\text{Al}(\text{NO}_3)_3$		+	Positif imengandung iflavanoid (kuning ikejinggaan)
---	----------------------------	---	---	---

Sumber: Data Primer, 2025

Perbandingan Reagen AlCl_3 dan $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ pada Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid Total Kulit Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)

3.3 Uji Validitas

a. Linearitas AlCl_3

Tabel 2 Hasil Uji Linearitas

No	Konsentrasi	Absorbansi
1	4	0.106
2	6	0.125
3	8	0.143
4	10	0.160
5	12	0.185

Sumber: Data primer, 2025

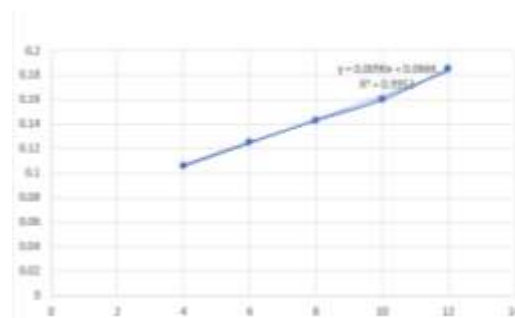
b. Linearitas $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$

Tabel 3 Hasil Uji Linearitas

No	Konsentrasi	Absorbansi
1.	4	0,029
2.	6	0,034
3.	8	0,045
4.	10	0,057
5.	12	0.062

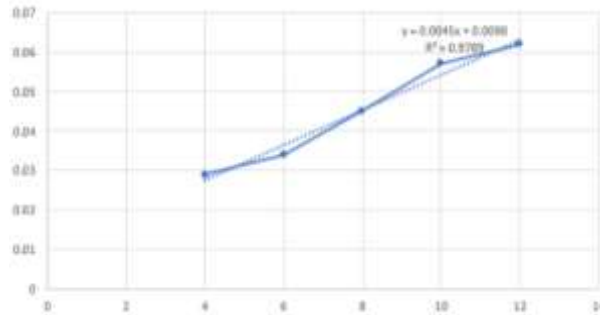
Sumber: iData iprimer, i2025

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan menggunakan lima konsentrasi deret standar, yaitu 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm, sehingga diperoleh kurva kalibrasi sebagai berikut:



Gambar 2 Grafik Uji Validasi Linearitas AlCl_3

DOI: <https://doi.org/10.31004/riggs.v4i4.3740>
 Lisensi: Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)



Gambar 3 Grafik Uji Validasi Linearitas Al(NO₃)₃

Linearitas bertujuan untuk melihat hubungan yang dapat diukur menggunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linier dengan persamaan $Y = a + bX$, di mana a menunjukkan kepekaan analisis, terutama instrumen yang digunakan. Nilai $r = 1$ pada percobaan ini sesuai dengan teori linearitas, yaitu hubungan linier yang ideal tercapai jika nilai $a = 0$ dan $r = +1$ atau -1 , tergantung arah garis. Nilai koefisien korelasi yang memenuhi persyaratannya adalah $\geq 0,99970$ (ICH, 1995), ≥ 97 (SNI), atau $\geq 0,9980$ (AOAC) (Rudi Kartika, 2021). Selain itu, menurut Depkes RI (2020), persamaan dikatakan linier jika nilai $r^2 \geq 0,98$.

a. Akurasi

Tabel 4 Hasil Uji Akurasi

Sampel	Recovery %
AlCl ₃	83,21%
Al(NO ₃) ₃	104,4%

Sumber: iData iprimer, i2025

Pada Tabel 4, hasil uji akurasi pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% menunjukkan bahwa persentase recovery dari kedua sampel memenuhi persyaratan, yaitu berada dalam rentang $>80\% - 120\%$ untuk validasi metode (Muslich, 2022).

b. Presisi

Tabel 5 Hasil Uji Presisi dari Konsentrasi 8 ppm

Validitas	Hasil
Reagen AlCl ₃	1,76 %
Reagen Al(NO ₃) ₃	4,11%

Berdasarkan Tabel 5 di atas, diperoleh persentase perolehan kembali (recovery) untuk reagen AlCl₃ sebesar 1,76% dan untuk reagen Al(NO₃)₃ sebesar 4,11%.

c. LOD dan LOQ AlCl₃

Tabel 6 Hasil Uji LOD dan LOQ

Validitas	Hasil
LOD	0.67748
LOQ	2.25828

Sumber: Data primer, i2025

Berdasarkan Tabel 6 di atas, hasil uji menunjukkan bahwa nilai LOD adalah sebesar 0,67748 dan nilai LOQ adalah sebesar 2,25828.

d. LOD dan LOQ $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$

Tabel 7 Hasil Uji LOD dan LOQ

Validitas	Hasil
LOD	1,41421356
LOQ	4,71404521

Sumber: Data primer, 2025

Berdasarkan Tabel 7 di atas, hasil uji menunjukkan bahwa nilai LOD adalah sebesar 1,41421356 dan nilai LOQ adalah sebesar 4,7140452.

Pembahasan

Pembuatan Ekstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar flavonoid pada berbagai pereaksi reagen yaitu AlCl_3 dan $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ pada ekstrak dari kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L). Dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis, keuntungan menggunakan metode ini adalah metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, di mana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital maupun grafik. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) diperoleh dari usaha rumahan makanan ringan (kacang hijau goreng) Jalan Kuin Utara, Kota Banjarmasin. Sampel kemudian disortir dengan cara memisahkan kulit biji kacang hijau yang tidak masuk dalam kriteria seperti kulit biji kacang yang berwarna kuning, berjamur dan mulai membusuk. Kemudian simplisia yang sudah dibersihkan dikeringkan dengan oven dengan suhu tidak lebih dari 50°C . Kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan grinder didapatkan tekstur serbuk yang halus memiliki aroma khas kacang hijau dan berwarna hijau sebanyak 100 g diekstraksi menggunakan metode maserasi. Tujuan proses ekstraksi adalah menarik senyawa metabolit sekunder dari sampel. Metode maserasi dipilih karena metode ini merupakan metode yang paling sederhana, mudah dan tanpa bantuan pemanasan sehingga dapat mengurangi kerusakan pada senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada simplisia akibat pemanasan [16]

Hasil ekstraksi kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada kecepatan putaran 50 rpm dan suhu 50°C . Tujuan penguapan menggunakan rotary evaporator adalah untuk memisahkan pelarut dari ekstrak sehingga didapatkan dan dipekatkan dengan waterbath menghasilkan ekstrak kental sebanyak 15 gram yang menghasilkan rendemen ekstrak kental sebesar 15% termasuk dalam kisaran yang memenuhi syarat sebagai ekstrak yang mengandung senyawa flavonoid (Farmakope Herbal Indonesia, 2017) berwarna hijau tua dan aroma kacang hijau menjadi lebih kuat dan beraroma sedikit gosong [11]

Analisis Kualitatif Flavonoid Kulit Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L)

Pada penelitian analisis kualitatif identifikasi metabolit sekunder pengujian senyawa flavonoid. Berdasarkan tabel 4.1 hasil uji metabolit sekunder senyawa flavonoid reagen AlCl_3 dan kuersetin sebagai pembanding menunjukkan positif mengandung flavonoid terbentuk warna kuning sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan. Penetapan kadar menggunakan AlCl_3 bereaksi dengan gugus keto pada C4 dan gugus OH pada C5 adalah membentuk kompleks sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang mudah diidentifikasi langsung keberadaan flavonoid tanpa menggunakan alat. Kemudian pada reagen $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ juga menunjukkan positif mengandung flavonoid ditunjukkan dari terbentuknya warna kuning kejinggaan.

Penentuan Panjang Gelombang

Pengukuran kadar flavonoid total kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L) metode spektrofotometri UV-Vis juga dilakukan secara kuantitatif. Hasil pengukuran dari alat ini yaitu konsentrasi dan absorbansi dari beberapa larutan standar dan sampel. Larutan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuersetin, selanjutnya dilakukan pengukuran panjang gelombang larutan baku kuersetin ditambah dengan AlCl_3 diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang yang didapat adalah 434 nm. Panjang gelombang yang diperoleh sesuai dengan literatur di mana rentang panjang gelombang flavonoid pada rentang 400–500 nm. Dan penentuan

panjang gelombang larutan baku kuersetin ditambah dengan Al(NO)₃ dengan rentang 380–780 nm didapatkan panjang gelombang 430 nm.

Penentuan Operating Time (OT)

Setelah menetapkan panjang gelombang, langkah berikutnya adalah menentukan operating time untuk mengidentifikasi dan membandingkan waktu stabil atau konstan dari dua suatu sampel dalam membentuk senyawa kompleks. Waktu pengoperasian dilakukan dengan larutan standar kuersetin 100 ppm ditambah dengan reagen AlCl₃ selama 60 menit dengan interval 2 menit. Hasil pengoperasian didapatkan waktu stabil berada pada rentang 24–30 menit lebih cepat dibandingkan dengan menggunakan pereaksi reagen Al(NO)₃ yang mendapatkan waktu stabil lebih lama yaitu rentang 36–45 menit. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa nilai operating time atau waktu pembentukan kompleks optimum reagen AlCl₃ lebih cepat dibandingkan dengan Al(NO)₃. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan reaktivitas dan kestabilan kompleks yang terbentuk antara kedua reagen terhadap senyawa flavonoid khususnya kuersetin.

Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Selanjutnya larutan standar kuersetin ditambah AlCl₃ dibuat dengan konsentrasi yang berbeda 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 434 nm. Hasil nilai absorbansi yang didapat dari masing-masing konsentrasi yaitu dimulai dari konsentrasi 4 ppm 0.106, 6 ppm 0.125, 8 ppm 0.143, 10 ppm 0.160, 12 ppm 0.185. Pada pengukuran kurva baku diperoleh dengan persamaan linier yaitu $y = 0.0096x + 0.0666$ dengan nilai α yaitu 0.0666, b yaitu 0.0096 dan nilai r yaitu 0.9952. Di mana nilai r mendekati 1 menunjukkan bahwa kurva baku kalibrasi linier terdapat hubungan antara konsentrasi dengan nilai absorbansinya.

Selanjutnya larutan standar kuersetin ditambah Al(NO)₃ dibuat dengan konsentrasi yang berbeda 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 430 nm. Hasil nilai absorbansi yang didapat dari masing-masing konsentrasi menunjukkan hasil kurva baku kuersetin dan Al dimulai dari konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm. Dengan persamaan linier yaitu $y = 0.0045x + 0.0098$ dengan nilai α yaitu 0.0098, b yaitu 0.0045 dan nilai r yaitu 0.9789. Di mana nilai r mendekati 1 menunjukkan bahwa kurva baku kalibrasi linier terdapat hubungan antara konsentrasi dengan nilai absorbansinya.

Penetapan Kadar Flavonoid Total Kulit Biji Kacang Hijau (Vigna radiata L)

Penetapan kadar flavonoid total kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata L*) dilakukan dengan dua reagen yang berbeda. AlCl₃ dilakukan replikasi dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 434 nm didapatkan hasil 0,185. Sedangkan nilai absorbansi pada reagen Al(NO)₃ panjang gelombang 430 nm didapatkan nilai absorbansi 0,018. Nilai absorbansi yang didapatkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier untuk menghitung kadar flavonoid total dalam kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata L*). Hasil perhitungan pada tabel menunjukkan bahwa kadar flavonoid total yang didapatkan pada ekstrak kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata L*) dengan reagen AlCl₃ sebesar 2,633% dan reagen Al(NO)₃ sebesar 1,377%. Berdasarkan hasil tersebut, dapat dilihat bahwa walaupun menggunakan konsentrasi yang sama kadar flavonoid tertinggi diperoleh dari ekstrak kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata L*) dengan reagen AlCl₃ bekerja lebih baik untuk flavonoid dibandingkan dengan reagen Al(NO)₃ yang kurang konsisten untuk sebagian flavonoid, sehingga terdapat perbedaan keefektifan antara dua kelompok reagen.

Validasi Metode

Pada uji validasi metode linearitas bertujuan untuk melihat hubungan dapat diukur menggunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $Y = a + bX$, di mana a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan didapatkan nilai $r = 1$ baku kuersetin dan AlCl₃ dimulai dari konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm. Dengan persamaan linier yaitu $y = 0.0096x + 0.0666$ dengan nilai α yaitu 0.0666, b yaitu 0.0096 dan nilai r yaitu 0.9952. Di mana nilai r mendekati 1 menunjukkan bahwa kurva baku kalibrasi linier terdapat hubungan antara konsentrasi dengan nilai absorbansinya. Nilai koefisien korelasi yang memenuhi persyaratan biasanya adalah $\geq 0,99970$ (ICH, 1995), ≥ 97 (SNI), atau $\geq 0,9980$ (AOAC) (Rudi Kartika, 2021). Selanjutnya dari hasil uji pada tabel 4.10 dari hasil uji akurasi 80%, 100% dan 120% diperoleh % Recovery memenuhi persyaratan yaitu karena $>80\% - 120\%$ untuk validasi metode (Muslich, 2022). Kemudian pada penentuan nilai LOD dan LOQ

AlCl₃ menunjukkan hasil uji LOD sebesar 0.67748 dan LOQ sebesar 2.25828. Pada penentuan nilai LOD dan LOQ Al(NO₃)₃ menunjukkan LOD 1,41421356 dan LOQ sebesar 4,7140452. Sehingga bisa dikatakan baik karena nilai LOQ konsentrasi sampel yang sudah diuji berada di atas dari nilai LOD dan dapat diterima dalam nilai presisi dan akurasinya. Pada hasil penentuan uji presisi reagen AlCl₃ sebesar 1,76% dan reagen Al(NO₃)₃ sebesar 4,11%. Menunjukkan bahwa penentuan uji presisi untuk AlCl₃ yang dilakukan sudah sesuai dengan syarat yaitu nilai RSD% tidak melebihi 2% (Muslich, 2022), sedangkan reagen Al(NO₃)₃ tidak memenuhi syarat karena lebih dari 2%. Berdasarkan hasil penelitian, reagen AlCl₃ menunjukkan waktu operasi yang lebih stabil dan cepat dibandingkan dengan Al(NO₃)₃. Selain itu, pada uji validasi metode menunjukkan bahwa penggunaan AlCl₃ menghasilkan nilai akurasi dan presisi dalam rentang yang dapat diterima dan nilai RSD yang lebih kecil sehingga membuktikan bahwa AlCl₃ lebih efektif digunakan dalam metode analisis kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, bisa disimpulkan bahwa ekstrak flavonoid total pada kulit biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) diperoleh menggunakan reagen AlCl₃ menunjukkan hasil positif pada uji kualitatif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning, dan pada uji kuantitatif menunjukkan bahwa kadar flavonoid pada sampel dengan reagen AlCl₃ adalah 2,633%, sedangkan kadar flavonoid pada sampel dengan reagen Al(NO₃)₃ adalah 1,377%. Selain itu, pada uji validasi metode menunjukkan bahwa penggunaan AlCl₃ menghasilkan nilai akurasi, presisi, serta LOD dan LOQ dalam rentang yang sesuai dengan teori sehingga membuktikan bahwa AlCl₃ lebih efektif digunakan dalam metode analisis kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Referensi

- [1] R. Sarno, *Tanaman kacang-kacangan sebagai sumber pangan dan gizi*. Yogyakarta: Pustaka Agro Media, 2019.
- [2] S. Camalxaman, A. Khan, and M. Rahim, "Pharmacological activities of mung bean (*Vigna radiata* L.) extracts: A review," *Asian J. Biol. Sci.*, vol. 6, no. 4, pp. 247–255, 2013.
- [3] M. I. Fakhruddin, H. Listarina, and A. Putra, "Aktivitas antioksidan ekstrak biji dan daun kacang hijau (*Vigna radiata* L.) dengan pelarut etanol dan air," *J. Nat. Prod. Pharm.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–7, 2020.
- [4] R. Amalia, D. S. Putri, and A. Rahmah, "Kajian kandungan metabolit sekunder kacang hijau (*Vigna radiata* L.) dan potensinya sebagai antioksidan," *J. Sains dan Kesehat.*, vol. 5, no. 3, pp. 124–133, 2023.
- [5] N. A. Zulkefli, N. Rahman, and N. Hashim, "Flavonoids: Structure, function, and biological activities," *J. Herb. Nat. Med.*, vol. 7, no. 2, pp. 77–91, 2023.
- [6] P. Supasatyankul, N. Nuchmanee, and K. Pramote, "Total phenolic and flavonoid contents of mung bean seed coat extract," *J. Food Biochem.*, vol. 46, no. 3, p. e14012, 2022.
- [7] N. Abriyani, R. Septiani, and P. Lestari, "Penetapan kadar flavonoid dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada bahan alam," *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 10, no. 2, pp. 45–52, 2023.
- [8] M. Maria Ulfah, N. Yuliani, and R. Setiawan, "Pengaruh variasi pelarut terhadap kadar fenolik dan flavonoid ekstrak daun pandan wangi," *Indones. J. Chem. Anal.*, vol. 3, no. 2, pp. 55–62, 2021.
- [9] R. Saputri and A. Hakim, "Penelitian deskriptif analitik dan pemilihan sampel pada penelitian farmasi," *J. Metodol. Penelit. Farm.*, vol. 2, no. 2, pp. 50–57, 2021.
- [10] R. Agustina, R. Ramadhan, and N. Nurhayati, "Penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis," *J. Ilmu Kefarmasian*, vol. 7, no. 1, pp. 12–20, 2020.
- [11] M. Aris Munandar, N. Sari, and E. Handayani, "Pengaruh variasi pelarut terhadap kadar flavonoid pada ekstrak tanaman obat menggunakan spektrofotometri UV-Vis," *Indones. J. Pharm. Res.*, vol. 11, no. 1, pp. 33–42, 2023.
- [12] C. Chang, M. Yang, H. Wen, and J. Chern, "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods," *J. Food Drug Anal.*, vol. 10, no. 3, pp. 178–182, 2002.
- [13] E. Ema Hermawati, I. Suryani, and A. Wulandari, "Penentuan panjang gelombang maksimum senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometri UV-Vis," *J. Anal. Farm.*, vol. 9, no. 2, pp. 89–96, 2023.
- [14] L. Sabrina, R. Utami, and N. Hasanah, "Optimasi penentuan panjang gelombang maksimum pada analisis flavonoid menggunakan UV-Vis," *J. Kim. dan Farm.*, vol. 12, no. 1, pp. 21–29, 2024.
- [15] A. K. Rehni, "Quantification of flavonoids using quercetin as standard in spectrophotometric analysis," *Int. J. Pharm. Sci. Rev.*, vol. 15, no. 4, pp. 66–72, 2019.
- [16] Wahyudi, P. Rahayu, R. Handayani, S. Alfauza, and W. Zahrani, "Studi Literatur: Rimpang Sebagai Tanaman Indonesia Dengan Efektivitas Antidiabetes," *J. Kesehat. Ilm. Indones. (Indonesian Heal. Sci. Journal)*, vol. 9, no. 2, 2024, doi: 10.51933/health.v9i2.1845.