

Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Oyong (*Luffa Acutangula* (L.) Roxb.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis

Determination Of Total Flavonoid Levels Of Ridge Gourd Fruit With Uv-Vis Spectrumfotometry Method

Indriani Estikawati¹, Novena Yety Lindawati.²

¹ Program Studi DIII Farmasi, STIKES Nasional Surakarta, Indonesia

² Program Studi S1 Farmasi, STIKES Nasional Surakarta, Indonesia

Submitted: 17-05-2019

Revised: 29-07-2019

Accepted: 30-10-2019

*Indriani Estikawati

Email:
indrianiestikawati@gmail.com

ABSTRAK

Buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) adalah salah satu jenis tanaman yang banyak tumbuh didaerah tropis. Buah oyong banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia. Kandungan kimia pada buah oyong seperti flavonoid memiliki potensi sebagai antidiabetes. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar flavonoid total yang terdapat pada buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil preparasi serbuk buah oyong dimaserasi dengan campuran metanol : kloroform (4:1). Uji kualitatif kandungan flavonoid dilakukan dengan uji Wilstater, Bate Smith Metcalf, dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Analisis kuantitatif flavonoid menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 413,2 nm dengan reagen pembentuk kompleks $AlCl_3$. Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa buah oyong positif mengandung flavonoid. Kadar rata-rata flavonoid total pada buah oyong yaitu 10,03% b/b dengan koefisien variasi (KV) sebesar 0,69%.

Kata Kunci: Buah Oyong, Flavonoid, Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Ridge gourd fruit (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) is one kind of tuber plants that grows in many tropical and various kinds. Ridge gourd fruit are widely consumed by the people of Indonesia. Chemical content of ridge gourd fruit such as flavonoids has the potential as antidiabetic. The purpose of this study is to determine the total flavonoid levels found in ridge gourd fruit by uv-vis spectropotometric method. Ridge gourd fruit extracted with metanol:chloroform (4:1) mixture by maceration method. Analysis qualitative of flavonoid content were carried out with Wilstater, Smith Metacalfe, and Thin Layer

Kromatografi (TLC). Quantitative analysis of total flavonoids using UV-Vis spectrophotometric method at wavelength 413,2 nm with complex forming reactions $AlCl_3$. The results of qualitative tests show that ridge gourd fruit contain flavonoids positive. The average level of total flavonoids of ridge gourd fruit is 10,08 and the coefficient of variation (CV) with the result of 0,69%

Keywords: Ridge gourd fruit, Flavonoids, Spektrofotometri UV-Vis

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki banyak keanekaragaman hayati. Tumbuh-tumbuhan yang ada di dalamnya memiliki manfaat beragam yang dapat dimanfaatkan oleh manusia untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Salah satu manfaatnya adalah untuk penanganan diabetes mellitus. Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit yang terjadi karena hiperglikemia dan gangguan metabolisme pada tubuh yang dihubungkan dengan kekurangan secara absolut atau relatif dari kerja dan atau sekresi insulin (Hakim, Abdullah, & Hanis, 2009). Terapi yang banyak dilakukan oleh penderita DM adalah dengan mengkonsumsi obat. Obat yang dikonsumsi dapat berupa obat kimia, jamu, buah dan sayuran. Salah satu jenis buah yang mempunyai khasiat untuk menurunkan kadar glukosa darah dan belum banyak digunakan adalah oyong, gambas, atau *Luffa acutangula* (L.) Roxb.

Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) sering digunakan masyarakat untuk menurunkan kadar gula darahnya. Selain itu, di Belgal India Selatan juga menggunakan buah oyong (*Luffa acutangula* (L. Roxb.) untuk menurunkan gula darah (Hazra et al., 2011). Buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) biasanya digunakan untuk sayuran bening dan enak dikonsumsi. Buah oyong yang sudah tua mengandung serat yang tinggi dengan kandungan air yang tinggi, dan banyak manfaat yang dapat diambil dari tanaman ini (Farah Rizki, 2013).

Menurut (Herowati, Widodo, Sulistyani, & Hapsari, 2013), flavonoid yang terdapat dalam oyong memiliki efek hipoglikemik. Hal ini juga diperkuat dengan penelitian dari (Mishra et al., 2010) yang menemukan bahwa senyawa flavonoid menekan level glukosa darah dengan cara meningkatkan aktivitas dari enzim glukokinase hepar yang akan menstimulasi pankreas untuk menghasilkan insulin. Efek antihiperglikemik ini juga sudah dibuktikan melalui penelitian pre klinik dan klinik. Beberapa penelitian pre-klinik sudah dilakukan terhadap tikus putih yang menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih yang sudah diberikan infusa biji dan buah gambas ((Larasati, 2012); (Herowati et al., 2013);(Sari & Sujono, 2015)). Hasil dari uji pre klinis ini juga diperkuat dengan uji klinis yang dilakukan oleh (Fourina, 2014) yang melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian sayur gambas terhadap penurunan kadar glukosa darah pada prediabetik di Puskesmas Pauh Padang.

Penelitian dari (Mishra et al., 2010) yang menemukan bahwa senyawa flavonoid menekan level glukosa darah dengan cara meningkatkan aktivitas dari enzim glukokinase hepar yang akan menstimulasi pankreas untuk menghasilkan insulin. Penelitian (Sari & Sujono, 2015) mengatakan bahwa fraksi etil asetat buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan. Penelitian (Dianna Paraswati, 2011) melakukan uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak etanol buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dan jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dengan metode DPPH. Metode spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis suatu zat berwarna dalam kadar kecil, pengerjaannya tidak membutuhkan waktu yang lama, cukup sensitif, dan mudah dalam interpretasi hasil yang didapat.

Flavonoid merupakan salah satu senyawa antioksidan golongan fenolik alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan, sehingga dapat dipastikan terdapat flavonoid pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak oleh karena itu, penting untuk

mengidentifikasi dan mengukur senyawa tersebut sebagai antioksidan. Mengingat pentingnya fungsi senyawa flavonoid maka penelitian kadar flavonoid total yang terkandung dalam buah oyong perlu dilakukan. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang kandungan flavonoid total dalam buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) yang dapat dimanfaatkan masyarakat sebagai antidiabetes mellitus.

2. METODE

Alat: Seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis (UV mini -1240 Shimadzu, Jepang), Oven, Blender, timbangan analitik (Ohaus Corporation, PA214 dengan sensitivitas penimbangan 0,0001 gram dan minimal penimbangan 100,0 mg), tabung reaksi (Pyrex), batang pengaduk (Pyrex), mikro pipet, pipet ukur (Pyrex), labu takar (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, pipet kapiler, corong (Pyrex).

Bahan: Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah oyong, etanol 70%, baku kuersetin (Sigma Aldrich), AlCl_3 10% (Merck), asam asetat 5% (Merck), serbuk Mg (Merck), HCl pekat (Merck), etil asetat (Merck), kloroform (Merck), silika gel GF₂₅₄ (Merck) dan metanol.

Pengambilan Sampel dan Penyiapan Sampel

Sampel buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) diperoleh di Kabupaten Sragen, Jawa Tengah. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara mengambil buah yang masih muda berwarna hijau tua, umur tanaman \pm 45 hari dengan panjang antara 15-20 cm. Penyiapan sampel dilakukan dengan masing-masing sampel daging buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) yang telah dipotong-potong kecil dikeringkan dengan sinar matahari ditutup kain hitam.

Sampel kering diblender dan ditimbang seksama dengan replikasi 3x sebanyak 200 gram dimasukkan dalam wadah maserasi masing-masing, kemudian diekstraksi dengan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7,5. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 3 x 24 jam di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Maserat disaring, dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ampas diekstraksi kembali dengan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 2,5 selama 1 x 24 jam. Maserat disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penyaringnya menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Purwanti, 2008).

Analisis Kualitatif

Identifikasi kandungan flavonoid dilakukan dengan Pereaksi Wilstater, Pereaksi Bate Smith Metcalf dan Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pereaksi Wilstater, ekstrak buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) ditimbang 100,0 mg ditambahkan beberapa tetes HCl pekat + sedikit serbuk Mg. Adanya flavonoid jika terjadi perubahan warna merah – orange. Pereaksi Bate Smith – Metcalf, ekstrak buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) ditimbang 100, 0 mg, ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Reaksi positif jika memberikan warna putih. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Sebanyak 0,1 gram sampel dan kuersetin standar masing – masing dilarutkan dalam 0,5 mL etil asetat, kemudian ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol (1:4). Hasil diamati bercak kromatogram (noda) yang dihasilkan dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm fluoresensi warna kuning dan penampak bercak pereaksi semprot AlCl_3 dengan fluoresensi warna kuning intens menunjukkan adanya flavonoid.

Analisis Kuantitatif

Pembuatan larutan baku standar kuersetin 1000 ppm.

Pembuatan larutan baku dibuat dengan menimbang seksama 100,0 mg kuersetin baku pembanding, kemudian dilarutkan dengan etanol 70% dalam labu ukur 100,0 mL.

Pembuatan larutan baku kerja kuersetin 100 ppm.

Larutan baku induk dipipet sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan etanol 70% hingga volume 10 mL.

Pembuatan larutan blangko

Pipet 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% tambahkan etanol 70% sampai volume 10 mL.

Penentuan *Operating Time*

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum teoritis 415 nm dengan interval waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil. Diamati kurva hubungan antara absorbansi, waktu, dan tentukan *operating time* (Ipandi, Triyasmono, & Prayitno, 2016).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm (Ipandi et al., 2016).

Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 1000 ppm kuersetin dibuat seri kadar sebesar 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm dipipet 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL; 0,6 mL dan ditambahkan etanol 70% sampai volumenya 5 mL. Sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% diamkan selama *operating time*. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ipandi et al., 2016).

Penentuan Flavonoid Total secara Spektrofotometri UV-Vis.

Ditimbang 0,1000 gram ekstrak etanol buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dilarutkan dengan etanol 70% sampai volumenya 100 mL. Larutan tersebut dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama *operating time*. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ipandi et al., 2016).

Analisis Data

Kadar flavonoid dihitung menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan dari alat spektrofotometri UV-Vis. Data absorbansi yang diperoleh dari penetapan kadar flavonoid buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier sebagai y. Dengan demikian akan diperoleh nilai x sebagai konsentrasi flavonoid dalam larutan sampel kerja. Persamaan regresi linier dinyatakan dengan :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

x = konsentrasi (ppm)

y = absorbansi

b = koefisien regresi (menyatakan slope / kemiringan kurva)

a = tetapan regresi dan juga disebut dengan intersep

Parameter presisi dari penetapan kadar flavonoid total buah oyong dilakukan dengan perhitungan koefisien variasi (%KV) sebagai berikut :

$$\%KV = \frac{\text{Standar Deviasi}}{\text{Rata-rata hitung}} \times 100\%$$

Presisi penetapan kadar flavonoid total dikatakan baik jika hasilnya <2% (Riyanto, 2015).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan buah oyong yang masih muda berwarna hijau tua, umur tanaman \pm 45 hari dengan panjang antara 15-20 cm diperoleh dari beberapa petani tanaman oyong di Masaran, Sragen. Buah oyong dipilih karena buah oyong sering dikonsumsi di masyarakat dan buah oyong mengandung flavonoid, namun banyak masyarakat yang belum mengetahui manfaat mengkonsumsi buah tersebut. Sebelum dilakukan penetapan kadar flavonoid buah oyong, masing-masing buah oyong dicuci terlebih dahulu sampai bersih. Tujuan dari pencucian yaitu untuk meminimalkan jumlah pengotor yang menempel pada buah oyong. Setelah dicuci selanjutnya buah oyong dikupas.

Pengupasan bertujuan yaitu untuk membuang kulit dari buah oyong untuk diambil bagian dagingnya. Daging buah oyong kemudian dipotong kecil-kecil dengan tujuan untuk memudahkan pada proses pengeringan. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada buah oyong. Buah oyong dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam untuk mempercepat pengeringan, melindungi senyawa-senyawa yang terkandung dalam buah oyong yang tidak tahan panas tinggi secara langsung. Pengeringan dilakukan selama 2 hari dan buah oyong yang sudah kering dihaluskan dengan cara diblender. Proses ini bertujuan untuk memperkecil ukuran buah oyong dengan maksud untuk memperluas kontak permukaan buah oyong dengan pelarut sehingga dapat mengoptimalkan proses ekstraksi, karena semakin kecil luas permukaan maka semakin dekat jarak penetrasi antara buah oyong dengan pelarut sehingga proses ekstraksi lebih optimal.

Tujuan dilakukan ekstraksi yaitu untuk mengambil senyawa yang menjadi target penelitian yaitu flavonoid. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi (ekstraksi dingin) untuk mencegah rusaknya senyawa-senyawa kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan khususnya flavonoid. Prinsip dari ekstraksi ini yaitu cairan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan akan larut ke dalam pelarut karena terdapat perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan diluar sel, zat aktif akan berdifusi keluar sel.

Maserasi dilakukan dengan cara serbuk buah oyong direndam menggunakan etanol 70% yang bersifat polar, karena flavonoid merupakan senyawa polar. Pemilihan etanol sebagai pelarut selain karena bersifat polar, memiliki kelebihan antara lain etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan dapat memperbaiki stabilitas bahan aktif yang terlarut. Maserasi dilakukan pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya supaya senyawa yang tidak tahan panas tidak rusak dan tidak teroksidasi. Penyaringan dilakukan setelah dilakukan maserasi selama 3 hari, yang bertujuan untuk memisahkan antara filtrat dan residu dari sampel. Selama 1 hari residu dilakukan maserasi kembali dengan pelarut baru (etanol 70%) untuk memaksimalkan proses penyarian. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰ C dan kecepatan 200 rpm. Suhu yang digunakan kurang dari 50°C karena untuk menghindari kerusakan zat aktif akibat pengaruh suhu tinggi. Tujuan dilakukan pemekatan yaitu untuk memisahkan dan menguapkan antara pelarut dengan ekstrak.

Tabel 1. Hasil randemen Ekstrak Etanol Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb)

No	Replikasi	Randemen(%)	Organoleptis
1	Replikasi 1	47,06	Warna coklat, bau khas oyong, bentuk ekstrak kental
2	Replikasi 2	47,03	Warna coklat, bau khas oyong, bentuk ekstrak kental
3	Replikasi 3	47,05	Warna coklat, bau khas oyong, bentuk ekstrak kental

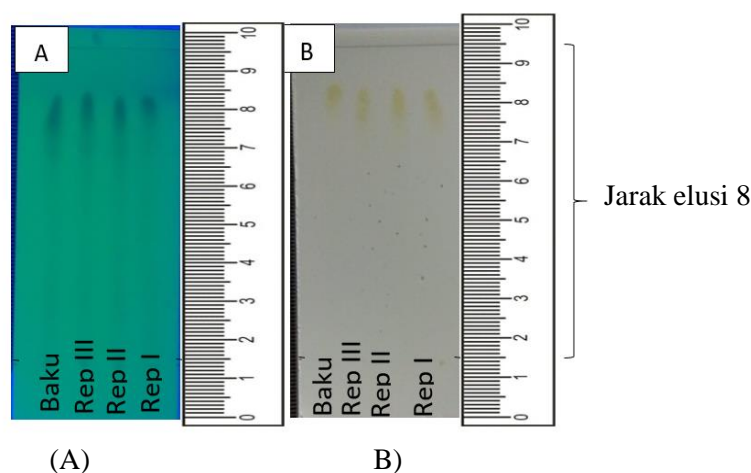
Ekstrak buah oyong dilakukan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan flavonoid pada ekstrak buah oyong. Uji kualitatif meliputi uji Bate Smith-Metcalf, uji Wilstater dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Uji Bate Smith-Metcalf dilakukan dengan penambahan HCl pekat dan dipanaskan. Penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis dan memutus ikatan glikosida. Pemanasan berfungsi untuk mempercepat reaksi hidrolisis yang terjadi, dimana hasil positif terhadap flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna putih. Metode Wilstater dilakukan dengan penambahan HCl dan serbuk Mg. Fungsi dari penambahan HCl untuk mendeteksi senyawa yang mengandung inti benzopiranon, sehingga setelah penambahan HCl akan menghasilkan garam benzopirilium yang disebut juga garam flavilium. Reduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna orange kemerahan pada flavonol. Hasil uji kualitatif dapat dilihat pada Tabel 2 :

Tabel 2. Hasil uji kualitatif dengan metode Bate Smith-Metcalf dan Metode Wilstater

Analisis Kualitatif Flavonoid	Standar baku kuersetin	Ekstrak etanol buah oyong	Hasil
Metode Bate Smith –Metcalf	Warna Putih	Warna Putih	Positif
Metode Wilstater	Orange	Orange	Positif

Uji kualitatif dengan metode KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam silica gel GF 254 dan fase gerak kloroform dan metanol (1:4) dibuat sebanyak 10 mL.



Gambar 1. Hasil uji KLT dengan UV 254 (A) dan penampak bercak AlCl₃ (B) Larutan standar kuersetin (baku) dan replikasi 1,2,3 (sampel) positif mengandung flavonoid.

Hasil dari uji kualitatif dengan metode KLT diperoleh nilai HRf yang sama dari sampel dan baku kuersetin yaitu 87. Pada plat silica gel dilihat pada UV 254 dan penampak bercak AlCl_3 (gambar 1) terdapat warna bercak yang sama dari sampel yang dibandingkan dengan pembanding kuersetin, sehingga sampel positif mengandung flavonoid. Hasil nilai HRf dan warna bercak dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis

Replikasi	Nilai HRf	Warna Bercak UV 254	Penampak bercak AlCl_3
1	87	Kuning Kecoklatan	Kuning
2	87	Kuning Kecoklatan	Kuning
3	87	Kuning Kecoklatan	Kuning
Baku kuersetin	87	Kuning Kecoklatan	Kuning

Perubahan warna bercak dari warna kuning tipis berubah menjadi warna kuning yang intens setelah disemprot penampak bercak AlCl_3 . Warna yang dihasilkan lebih intensif karena adanya pembentukan kompleks dengan AlCl_3 . Hasil dari uji kualitatif flavonoid dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Kualitatif.

Analisis Kualitatif Flavonoid	Hasil
Metode Bate Smith –Metcalf	Positif
Metode Wilstater	Positif
Uji Kromatografi Lapis Tipis	Positif

Ekstrak buah oyong yang positif mengandung flavonoid kemudian dilakukan penetapan kadar flavonoid total dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan baku kuersetin. Baku kuersetin dilakukan pembacaan absorbansi pada menit ke-30 karena memiliki absorbansi yang stabil.

Dalam analisis spektrofotometri UV-Vis dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum yang bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang saat mencapai serapan maksimum, karena pada saat panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan tinggi, sehingga dengan perubahan kadar yang kecil akan menghasilkan respon yang besar. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada panjang gelombang 413,2 nm.

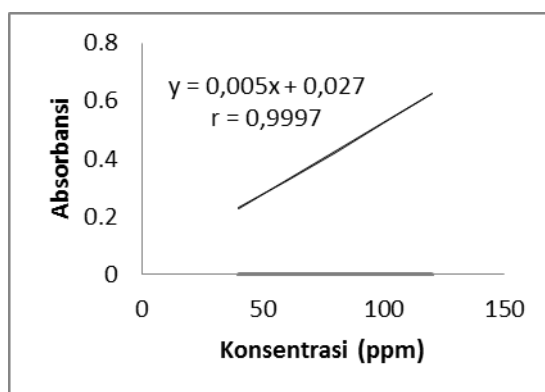
Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan cara mengukur absorbansi dari baku kuersetin pada berbagai konsentrasi yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm dari larutan baku induk 1000 ppm. Tujuan dari pengukuran konsentrasi awal larutan kuersetin yaitu untuk mengetahui nilai absorbansi yang diberikan dari masing-masing konsentrasi sehingga dapat dipilih konsentrasi kuersetin yang akan digunakan sebagai kurva baku dalam penelitian ini. Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh persamaan regresi linier yang akan digunakan sebagai penentuan kadar dari sampel.

Tabel 5. Seri kurva baku kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Abs	Regeresi Liner
40	0,229	$y = 0,005x + 0,027$
60	0,324	$r = 0,9997$
80	0,421	
100	0,525	
120	0,626	

Nilai absorbansi tersebut dapat digunakan sebagai data dalam analisa fotometri menggunakan spektrofotometer UV-Vis karena berada pada rentang antara 0,2-0,8 atau sering disebut sebagai daerah berlaku hukum Lambert-Beer (Gandjar & Abdul Rohman, 2012)

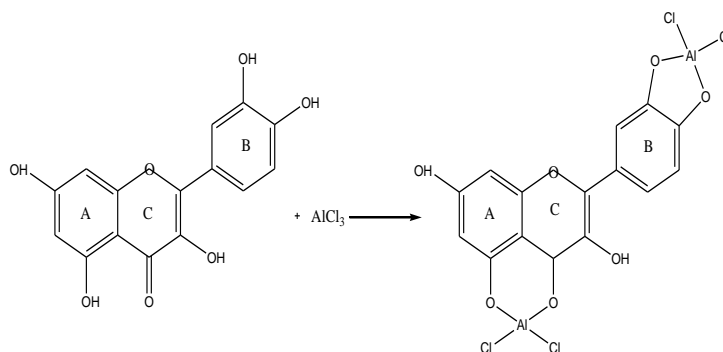
Grafik kurva hubungan antara konsentrasi larutan standar kuersetin dengan absorbansi menunjukkan bertambahnya konsentrasi larutan baku kuersetin maka semakin tinggi nilai absorbansi yang dihasilkan.



Gambar 2. Grafik kurva hubungan antara konsentrasi dan absorbansi larutan baku kuersetin.

Konsentrasi larutan baku kuersetin dan absorbansi yang dihasilkan maka didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y = 0,005x + 0,027$ dan nilai koefisien korelasi r yaitu 0,9997. Nilai r yang mendekati ± 1 membuktikan bahwa persamaan regresi linier tersebut linier (Riyanto, 2015). Nilai r yang didapat dikatakan kuat, sehingga hubungan linier antara absorbansi dan konsentrasi kuat. Hal ini ditunjukkan dari hasil absorbansi yang naik dengan adanya peningkatan konsentrasi larutan baku kuersetin.

Kandungan flavonoid total pada penelitian ini ditentukan berdasarkan metode kolorimetri yaitu larutan sampel dalam etanol direaksikan dengan $AlCl_3$ serta CH_3COOH . Pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dengan kuersetin sehingga terjadi pergeseran pita absorbansi menuju ke panjang gelombang yang lebih panjang (batokromik). Prinsip penetapan flavonoid dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ adalah pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Sehingga metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah flavonoid golongan flavon dan flavonol.



Gambar 3. Reaksi pembentukan kompleks flavonol dengan AlCl₃ (GR & CL, 2016)

Filtrat yang telah ditambahkan dengan pelarut dihitung sebagai menit ke-0 yang kemudian dibiarkan selama 30 menit untuk mencapai *operating time* untuk kemudian dilakukan pembacaan serapan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yaitu 413,2 nm.

Larutan blanko yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1 mL AlCl₃ 10%, 8 mL asam asetat 5% dan etanol 70% 1 mL. Digunakan pelarut tersebut karena pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak dan baku kuersetin digunakan etanol 70%, setelah dibiarkan selama 30 menit hingga mencapai *operating time* kemudian dibaca serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 413,2 nm. Hasil Penentuan kadar flavonoid pada buah oyong dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil penetapan kadar flavonoid total buah oyong

Ekstrak etanol buah oyong	Triplo	Kadar (%)	Rata-rata(%)	SD	KV (%)
Replikasi I	1	9,92	9,9733	0,0694	0,6920
	2	9,96			
	3	10,04			
Replikasi II	1	9,98	10,0067	0,0694	0,6920
	2	10,02			
	3	10,02			
Replikasi III	1	10,08	10,1067		
	2	10,10			
	3	10,14			
Rata – rata kadar flavonoid total buah oyong 10,03% b/b dengan KV 0,69%					

Hasil penetapan kadar flavonoid pada buah oyong didapatkan rata-rata yaitu 10,03% b/b dengan koefisien variasi (KV) sebesar 0,69%. Nilai KV dalam penelitian ini menunjukkan tingkat ketelitian dari preparasi kuersetin dalam buah oyong yang dilakukan secara berulang-ulang.

4. KESIMPULAN

Kadar flavonoid total yang terdapat pada buah oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) yaitu 10,03% b/b dengan koefisien variasi (KV) 0,69%.

5. CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there no competing conflicts of interest

6. DAFTAR PUSTAKA

- Dianna Paraswati. (2011). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) Dan Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) Dengan Metode DPPH. *J. Akademika Kim.*, 5(1), 91–96.
- Farah Rizki, S. G. (2013). *The Miracle of Vegetables*. Jakarta Selatan: Agromedia Pustaka.
- Fourina, S. (2014). *Pengaruh Pemberian Sayuran Gambas (*Luffa cylindrica*) Terhadap Penurunan Gula Darah Pada Prediabetes Di Wilayah Kerja Puskesmas Pauh*. 43, 0–1.
- Gandjar, I. G., & Abdul Rohman. (2012). *Analisis obat secara spektrofotometri dan kromatografi*. Yogyakarta: PUSTAKA PELAJAR.
- GR, M., & CL, D. A. (2016). *Removal of Pigments from Sugarcane Cells by Adsorbent Chromatographic Column*. 2(1), 1–5.
- Hakim, B. H., Abdullah, A. Z., & Hanis, M. (2009). Analisa Faktor Resiko Diabetes Melitus Tipe 2 di Puskesmas Tanrutedong, Sidenreng Rappan. *Journal - Ilmiah Nasional*, 35, 228. Retrieved from <https://lib.atmajaya.ac.id/default.aspx?tabID=61&src=a&id=186192>
- Hazra, M., Kundusen, S., Bhattacharya, S., Haldar, P. K., Gupta, M., & Mazumder, U. K. (2011). *Evaluation of hypoglycemic and antihyperglycemic effects of cylindrica fruit extract in rats *Luffa**. 146, 138–146.
- Herowati, R., Widodo, P., Sulistyani, P., & Hapsari. (2013). Efek Antidiabetes Kombinasi Infus Biji Oyong (*Luffa Acutangula* L. Roxb) Dengan Metformin Dan Glibenklamid. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 6(4): 211–217. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(4), 211–217.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Pharmascience*, 3(1), 93–100.
- Larasati, P. L. (2012). *Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) Dan Buah Oyong (*Luffa Acutanglukosa* (L) Roxb) Pada Mencit Putih Jantan Yang Dibebani Glukosa*.
- Mishra, S. B., Rao, C. V., Ojha, S. K., Vijayakumar, M., Verma, A., Alok, S., & Bundelkhand University, Jhansi (U.P.), I. K. (2010). An Analytical Review of Plants For Anti Diabetic Activity With Their Phytoconstituent & Mechanism of Action. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.*, 1(1).
- Purwanti, S. (2008). *Efek Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol 70% Buah Oyong (*Luffa Acutangula* (L.) Roxb.) Pada Tikus Putih Jantan Yang Diberi Diit Tinggi Kolesterol dan Lemak*. Universitas Indonesia, Depok.
- Riyanto. (2015). *Validasi & Verifikasi Metode Uji*. Retrieved from <https://play.google.com/books/reader?id=c0mlCgAAQBAJ&pg=GBS.PA17>
- Sari, H. T., & Sujono, T. A. (2015). *Pengaruh Pemberian Infusa Buah Gambas (*Luffa Acutanglukosa* L) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih yang di Induksi Aloksan*.