

ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL *INFUSED WATER CHIA* (*Salvia hispanica* L.) *SEED* DENGAN VARIASI LAMA PENYIMPANAN SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

Dewi Nur Istikhomah, Crescentiana Emy Dhurhanian*

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

Email^{1*}: dhurhanian@stikesnas.ac.id

ABSTRAK

Chia Seed memiliki kandungan antioksidan yang terdapat pada senyawa flavonoid. Antioksidan berperan penting dalam menangkal radikal bebas yang merusak sel dan jaringan tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total *infused water chia seed* (*Salvia hispanica* L.) dengan variasi lama penyimpanan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Analisis kualitatif dengan pereaksi HCl dan logam Mg, NaOH 10%, dan H₂SO₄ dengan hasil positif mengandung flavonoid. Analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan *operating time* stabil pada menit ke-28 dan panjang gelombang 440 nm. Hasil penetapan kadar flavonoid total diperoleh *infused water chia seed* pada variasi lama penyimpanan 12 jam sebesar 53,237 ± 0,246726 mgQE/ 100 ml, 10 jam sebesar 51,862 mgQE/ 100 ml, dan 8 jam sebesar 30,381 mgQE/ 100 ml. Dengan lamanya penyimpanan terjadi proses difusi yang menyebabkan kadar flavonoid meningkat. Uji One Way Anova diperoleh nilai signifikan kadar 0,000 < 0,05 dan Uji Post Hoc Test diperoleh nilai signifikan kadar 0,000 < 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara ketiga variabel.

Kata Kunci: *Infused water chia seed*, Flavonoid, Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Chia Seed contains antioxidants that found in flavonoid compounds. Antioxidants play an important role in warding off free radicals that damage cells and body tissues. This study aims to determine the total flavonoid content of *infused water chia seeds* (*Salvia hispanica* L.) with variations in storage time using the UV-Vis spectrophotometric method. Qualitative analysis with HCl and Mg metal, 10% NaOH and H₂SO₄ reagents with positive results containing flavonoids. Quantitative analysis uses UV-Vis spectrophotometry with a stable operating time of 28 minutes and a wavelength of 440 nm. The results of determining total flavonoid levels obtained from *infused water chia seeds* at a variation of 12 hours of storage time was 53.237 ± 0.246726 mgQE/ 100 ml, 10 hours of storage time was 51.862 mgQE/ 100 ml, and 8 hours was 30.381 mgQE/ 100 ml. ml. With prolonged storage, a diffusion process occurs which causes flavonoid levels to increase. The One Way Anova test obtained a significant value of 0.000 < 0.05 and the Post Hoc Test obtained a significant value of 0.000 < 0.05 so it can be concluded that there are real differences between the three variables.

Keywords: *Infused water chia seeds*, flavonoids, UV-Vis spectrophotometry

PENDAHULUAN

Flavonoid termasuk ke dalam senyawa fenolik yang banyak ditemukan di alam. Senyawa ini memiliki 15 atom karbon dengan rangkaian C6-C3-C6¹.

Kegunaan flavonoid pada manusia antara lain yaitu sebagai stimulant pada jantung, antitumor, diuretik, antijamur, menstabilkan kadar gula darah, antibakteri, antialergi dan antiinflamasi². *Chia seed* merupakan jenis biji-bijian yang berasal dari tanaman *Salvia hispanica* L³. Jenis biji-bijian ini banyak ditemukan di Mexico dan Guatemala⁴. Biji chia dapat dikembangkan menjadi produk pangan fungsional yang bermanfaat untuk kesehatan⁵.

Senyawa flavonoid yang terkandung berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan *chia seed* yang merupakan antioksidan primer dan sinergis⁶.

Biji chia mengandung aktivitas antioksidan yang tinggi karena dilihat dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya⁷ yaitu aktivitas antioksidan *infused water chia seed* menggunakan metode

DPPH, bahwa *infused water* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat dibuktikan dengan IC50 11.31 ppm, karena senyawa flavonoid berkontribusi secara linear terhadap aktivitas antioksidan⁸. Adanya aktivitas antioksidan dapat membantu mencegah terjadinya penyakit melalui aktivitas penangkalan radikal bebas⁹

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Instrumen penelitian ini berupa spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-1280), Kuvet (Helma Analytic tipe No. 100.600 QG), serta neraca analitik (Ohaus Pioneer EP 214 dengan ketelitian 0,0001 gram), beker glass (Iwaki), alat penyaring, pipet volume (pyrex), labu ukur (Iwaki), dan erlenmeyer (Iwaki).

Bahan ulang digunakan yaitu biji chia (*Salvia hispanica* L.) dengan merk (*mexico*), methanol p.a (Merck), standar kuersetin p.a (Sigma), kalium asetat p.a (Merck), aquadest (Brataco), aluminium

klorida (Nitrat Kimia), asam klorida pekat (Merck), serbuk logam magnesium (Merck), H₂SO₄ pekat (Merck), dan NaOH (Merck).

2. Prosedur Penelitian

a. Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan berupa sampel *chia seed* yang didapatkan dari 2 supermarket di Kota Surakarta dengan merk (*Mexico*).

b. Determinasi Sampel

Determinasi *chia seed* dilakukan di Unit Pelaksana Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu RSUP Dr. Sardjito.

c. Prosedur Pembuatan *Infused Water Chia Seed*

Chia Seed ditimbang sebanyak 50 gram dimasukkan kedalam botol ditambahkan air matang sampai 250 ml, dilakukan dengan replikasi 3 kali pembuatan *infused water* pada masing-masing variasi lama penyimpanan. *Infused water* ditutup rapat selanjutnya ditempatkan dalam lemari pendingin sesuai dengan menggunakan variasi waktu 8 jam, 10 jam, dan 12 jam⁵.

d. Analisis Kualitatif Flavonoid

Analisis kandungan flavonoid pada *infused water chia seed* dilakukan dengan cara menambahkan tetesan HCl pekat dan logam Mg pada air *infused water chia seed* lalu dilakukan pengamatan. Bila terjadi perubahan warna merah hingga jingga maka dapat disimpulkan bahwa adanya senyawa flavonoid¹⁰. Air *infused water chia seed* ditambahkan dengan 2 sampai 4 tetes NaOH 10%, lalu diamati warna yang berubah hingga menjadi kuning hingga agak coklat¹⁰. Identifikasi selanjutnya air *infused water chia seed* ditambahkan 2 sampai 4 tetes H₂SO₄ pekat dan dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna yang terjadi dari merah bata hingga berubah menjadi coklat kehitaman¹⁰.

e. Analisis Kuantitatif Flavonoid

1) Pembuatan reagen AlCl₃ 10%
Menimbang serbuk AlCl₃ sebesar 1 gram dan melarutkannya di dalam gelas beaker dengan aquadest. Selanjutnya, larutan dipindahkan ke labu ukur dan diencerkan dengan penambahan aquadest sampai dengan tanda batas^{11,12}.

2) Pembuatan CH_3COOK 1 M

Kalium asetat ditimbang sebanyak 0,98 gram dan di larutkan dengan aquadest di dalam gelas beaker. kemudian larutan tersebut dipindahkan ke labu ukur berkapasitas 10 mL dan ditambahkan aquadest hingga mencapai tanda batas^{11,12}.

3) Pembuatan larutan baku kuersetin 1000 ppm

Standar kuersetin ditimbang sebanyak 100 mg lalu dilarutkan menggunakan metanol p.a dengan labu ukur berkapasitas 100 mL^{11,12}.

4) Pembuatan larutan baku kuersetin 100 ppm

Larutan baku kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL menggunakan pipet setelah itu diencerkan menggunakan methanol p.a dengan labu ukur 10 mL^{11,12}.

5) Pembuatan larutan blangko

Pipet methanol p.a 3 mL, lalu ditambah AlCl_3 10% dan CH_3COOK 1 M masing-masing sebanyak 0,2 mL kemudian diberi penambahan aquadest sebanyak 10 mL hingga mencapai tanda batas labu ukur^{11,12}.

6) Penentuan operating time

Larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm diambil sebanyak 0,8 mL menggunakan pipet. Larutan yang telah diambil kemudian ditambahkan metanol p.a sebanyak 3 mL, 0,2 mL AlCl_3 10% dan 0,2 mL CH_3COOK 1 M. Larutan tersebut selanjutnya diencerkan menggunakan aquadest di dalam labu ukur berkapasitas 10 mL. Absorbansi larutan tersebut diukur pada panjang gelombang maksimal 440 nm, dengan interval pengukuran 0 hingga 60 menit^{12,13}.

7) Penentuan panjang gelombang maksimal

Larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm dipipet sebanyak 0,8 mL dan ditambah dengan 3 mL metanol p.a., 0,2 mL AlCl_3 10%, dan 0,2 mL CH_3COOK 1 M. selanjutnya diencerkan dengan aquadest dalam labu ukur berkapasitas 10 mL hingga mencapai tanda batas. Lalu larutan baku kuersetin diinkubasi selama waktu operating time dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-500 nm^{12,13}.

8) Penentuan kurva baku kuersetin

Mengambil larutan baku kuersetin

100 ppm menggunakan pipet sebanyak 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 1 mL, dan 1,2 mL kemudian setiap larutan ditambahkan dengan 3 mL methanol p.a.; 0,2 mL AlCl₃ 10%; 0,2 mL CH₃COOK 1 M. Selanjutnya diberi penambahan aquadest sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 2 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm. Larutan-larutan tersebut selanjutnya didiamkan dalam periode *operating time* dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal^{12,13}.

9) Penetapan kadar flavonoid total
Pipet larutan *infused water chia seed* 0,2 mL kemudian ditambahkan 3 mL methanol p.a.; 0,2 mL AlCl₃ 10%; 0,2 mL CH₃COOK 1 M. Selanjutnya diencerkan menggunakan aquadest di dalam labu ukur berkapasitas 10 mL hingga mencapai tanda batas. Setelah itu didiamkan selama waktu *operating time*. Lalu larutan tersebut kemudian dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimal^{12,13}.

Analisis Data

Konsentrasi total flavonoid pada suatu senyawa dapat ditentukan dengan persamaan regresi linear berikut : $y = bx + a$
Kadar flavonoid total di dalam larutan *infused water chia seed* dihitung dengan cara berikut :
Kadar (mg/100 ml) = x . fp (faktor pengenceran).

Ketelitian metode analisis dinyatakan dengan perbandingan simpangan kadar flavonoid total terhadap rata-rata kadar *infused water chia seed* yang dinyatakan dalam % koefisien variasi berikut:

$$\%KV = \frac{SD}{rata\ rata} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi sampel

Berdasarkan hasil determinasi menunjukkan *bahwa chia seed* yang digunakan benar *chia seed* (*Salvia hispanica* L.) yang berasal dari familia Lamiaceae.

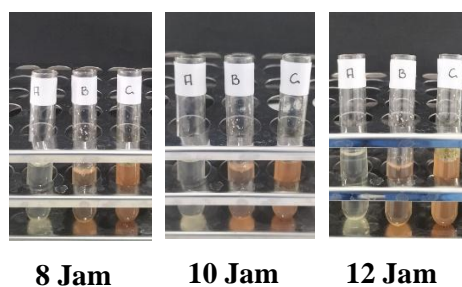
2. Penyiapan Sampel

Teknik pengambilan sampel menggunakan metode *purposive sampling*.

3. Pembuatan *Infused Water Chia Seed*

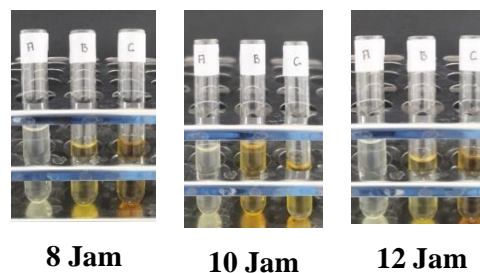
Infused water chia seed dalam penelitian ini disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 10°C , dengan menggunakan variasi lama waktu selama 8 jam, 10 jam, dan 12 jam. Lama perendaman dipilih berdasarkan temuan penelitian sebelumnya⁷ yaitu studi yang mengkaji aktivitas antioksidan *infused water chia seed* (*Salvia hispanica* L.) menggunakan DPPH.

4. Analisis Kualitatif Flavonoid



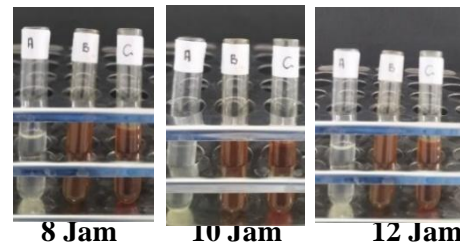
Gambar 1. (A) *infused water chia seed* sebelum direaksikan, (B) *infused water chia seed* + HCl + Mg (C) kuersetin + HCl + Mg

Pada penelitian sebelumnya¹⁰ menyebutkan bahwa perubahan warna menjadi merah hingga jingga mengindikasikan telah terbentuknya garam flavilium sehingga dapat dinyatakan positif mengandung flavonoid.



Gambar 2. (A) *infused water chia seed* sebelum direaksikan, (B) *infused water chia seed* + NaOH, (C) kuersetin + NaOH

Pada penelitian sebelumnya¹⁰ menyebutkan bahwa positif mengandung flavonoid bila warna menjadi kuning hingga agak coklat yang menandakan terbentuknya molekul asetofenon.



Gambar 3. (A) *infused water chia seed* sebelum direaksikan (B) *infused water chia seed* + H_2SO_4 (C) kuersetin + H_2SO_4

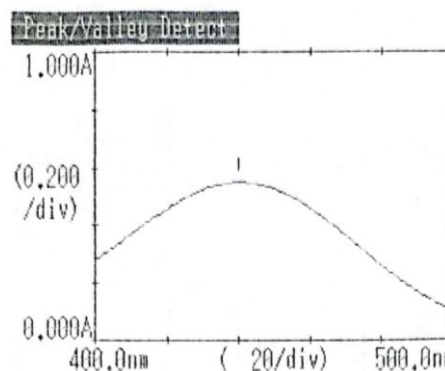
Pada penelitian sebelumnya¹⁰ menyebutkan perubahan warna menjadi merah bata atau coklat menunjukkan terbentuknya sistem konjugasi pada gugus khalkon sehingga dapat dinyatakan positif mengandung flavonoid.

5. Penentuan Operating Time

Pengukuran operating time dilakukan pada konsentrasi 8 ppm. Hasil data yang diperoleh senyawa kompleks antara kuersetin dan AlCl_3 stabil pada menit ke 27 sampai 28 lalu dipilih operating time pada menit ke 28 sehingga dapat diartikan bahwa kuersetin telah bereaksi dengan AlCl_3 dan CH_3COOK menghasilkan senyawa kompleks dengan absorbansi stabil sebesar 0,575. Hasil tersebut serupa dengan penelitian sebelumnya^{11,12}.

6. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

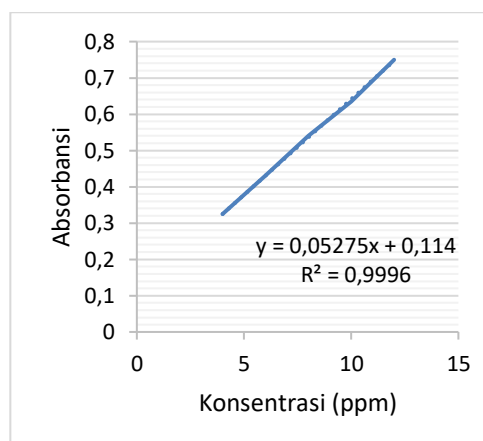
Pada pengukuran panjang gelombang maksimum diperoleh puncak pada 440 nm dengan absorbansi 0,550. Hasil tersebut serupa dengan penelitian sebelumnya^{12,13,14} dengan spektrum disajikan di gambar 4.



Gambar 4. Spektrum Kuersetin

7. Penentuan Kurva Baku

Penentuan kurva baku dilakukan pada rentang 4 – 12 ppm, setelah didamkan selama 28 menit dan dikur absorbansinya pada 440 nm. Pada penentuan baku diperoleh persamaan regresi linier $Y = 0,05275x + 0,114$. Linearitas kurva baku dinyatakan baik jika nilai $r > 0,99$ ¹⁵. Kurva baku disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Kurva Baku Kuersetin

8. Analisis Kuantitatif Flavonoid

Hasil penetapan kadar

disajikan pada tabel 1, 2, dan 3.

Tabel 1. Kadar Flavonoid Total dan Nilai Koefisien Variasi dari Infused Water Chia Seed yang Dibuat dengan Waktu Penyimpanan 8 Jam

Repli kasi	Data	Absorbansi	Kadar Flavonoid mg QE/ 100 ml	Rata-rata Kadar mg QE/ 100 ml	KV %
1	1	0,434	30,331	30,047	0,945%
	2	0,428	29,763		
	3	0,431	30,047		
2	1	0,433	30,236	30,173	0,361%
	2	0,431	30,047		
	3	0,433	30,236		
3	1	0,444	31,279	30,924	1,108%
	2	0,441	30,595		
	3	0,440	30,9		
Rata-rata				30,381	
SD				0,474	
KV				1,560	

Tabel 2. Kadar Flavonoid Total dan Nilai Koefisien Variasi dari *Infused Water Chia Seed* yang Dibuat dengan Waktu Penyimpanan 10 Jam

Repli kasi	Data	Absorbansi	Kadar Flavonoid mg QE/ 100 ml	Rata-rata Kadar mg QE/ 100 ml	KV %
1	1	0,663	52,037	51,911	0,278%
	2	0,662	51,943		
	3	0,660	51,753		
2	1	0,659	51,658	51,658	0%
	2	0,659	51,658		
	3	0,659	51,658		
3	1	0,660	51,753	51,848	0,183%
	2	0,662	51,943		
	3	0,661	51,848		
Rata-rata				51,826	
SD				0,105	
KV				0,254	

Tabel 3. Kadar Flavonoid Total dan Nilai Koefisien Variasi dari Infused Water Chia Seed yang Dibuat dengan Waktu Penyimpanan 12 Jam

Repli kasi	Data	Absorbansi	Kadar Flavonoid mg QE/ 100 ml	Rata-rata Kadar mg QE/ 100 ml	KV %
1	1	0,671	52,796	53,08	0,778%
	2	0,672	52,890		

	3	0,679	53,554		
2	1	0,683	53,933	53,522	0,715%
	2	0,678	53,459		
	3	0,675	53,175		
3	1	0,676	53,270	53,111	0,273%
	2	0,674	53,080		
	3	0,673	52,985		
Rata-rata				53,237	
SD				0,247	
KV				0,463	

Tabel 3 menunjukkan kadar flavonoid total *infused water chia seed* yang paling tinggi pada penyimpanan dengan lama waktu 12 jam dengan rata-rata kadar 53,237 mg QE/ 100 ml, sedangkan pada penyimpanan 8 jam dan 10 jam

Pada penelitian ini didapatkan nilai koefisien variasi (KV) sebesar 1,560 % pada hasil variasi penyimpanan dengan lama waktu 8 jam, 0,254 % pada hasil variasi penyimpanan dengan lama waktu 10 jam dan 0,463 % pada hasil variasi lama penyimpanan dengan lama waktu 12 jam. Dari hasil tersebut dikatakan memenuhi syarat karena kurang dari 2% dan memenuhi parameter presisi¹⁵ sehingga, data yang dihasilkan pada tiap perlakuan dapat dikategorikan seragam.

flavonoid belum tertarik secara sempurna sehingga kadar flavonoidnya lebih kecil. Semakin lama *infused water chia seed* disimpan, maka akan semakin banyak pula senyawa flavonoid yang dapat ditarik.

9. Analisis Data SPSS

Hasil uji homogenitas didapat nilai signifikan $0,072 > 0,05$ sehingga mengindikasikan variasi kadar flavonoid di setiap lama penyimpanan yang berbeda-beda memiliki data yang homogen. Berdasarkan hasil pengujian *one way anova* didapatkan nilai signifikan $0,000 < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada kadar flavonoid di setiap variasi lama penyimpanan. Hasil pengujian *post hoc test* diperoleh nilai signifikansi $0,000 < 0,05$, maka kadar flavonoid yang

terdapat di setiap variasi lama waktu penyimpanan memiliki perbedaan yang signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa variasi lama penyimpanan dapat mempengaruhi kadar flavonoid total yang diperoleh.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan kadar flavonoid total dalam *infused water chia seed* yang dibuat dengan variasi lama penyimpanan 8 jam sebesar $30,381 \pm 0,474$ mgQE/ 100 ml, 10 jam sebesar $51,826 \pm 0,105$ mgQE/ 100 ml dan 12 jam sebesar $53,237 \pm 0,247$ mgQE/ 100 ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memberikan dukungan dan sarana penunjang penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wang, H., Sun, Y., Yang, B. & Li, S. Association between the physical stability of flurbiprofen suspension and the interaction of HPMC/SDS. *Asian J. Pharm. Sci.* **13**, 63–71 (2018).
2. Salmia. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. (2016).
3. Trisnani, S. M. & Wibowo, J. W. Pengaruh Ekstrak Biji Chia (*Salvia Hispanica L.*) Terhadap Kadar Gula Darah Sewaktu dan Kadar MDA. **000**, 160–167 (2023).
4. Vuksan, V. *et al.* Salba-chia (*Salvia hispanica L.*) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **27**, 138–146 (2017).
5. Safari, A., Kusnandar, F. & Syamsir, E. Safari, Kusnandar, Syamsir. 2016. Biji Chia Karakteristik Gum dan Potensi Kesehatannya Chia Seeds Mucilage Characteristic and Its Health.pdf. *Pangan* **25**, 137–146 (2016).
6. Ullah, R. *et al.* Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica L.*): a review. *J. Food Sci. Technol.* **53**, 1750–1758 (2016).
7. Sari, F. & Aulianshah, V. Aktivitas Antioksidan Infused Water Chia Seed (*Salvia Hispanica L*) Menggunakan Metode DPPH (2,2-diphenyl -1 – picrylhydrazil). *J. Ilm. Farm. Simplisia*, **1**, 132–137 (2021).
8. Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *J. Med. Plant Res.* **5**, 6697–6703 (2011).
9. Latifah, L. & Nuh, M. Pengaruh metode Microwave-Assisted Extraction (MAE) dengan Pelarut Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Ekstrak Daun Mangga Gedong terhadap Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Ilmiah Ibnu*

- Sina*. **9**, 89–98 (2024).
10. Erwan Kurnianto, Rahman, I. R. & Hairunnisa. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun matoa yang berasal dari pontianak timur dengan variasi konsentrasi pelarut. *Suparyanto dan Rosad* **1**, 131–138 (2021).
 11. Lindawati, N. Y. & Ni'ma, A. Analysis of Total Flavanoid Levels of Fennel Leaves (*Foeniculum vulgare*) Ethanol Extract By Spectrophotometry Visibel. *J. Farm. Sains dan Prakt.* **8**, 1–12 (2022).
 12. Pravita, C. S. & Dhurhanian, C. E. Penetapan kadar flavonoid total perasan lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) secara spektrofotometri UV-Vis. *Heal. Sci. Pharm. J.* **7**, 175–183 (2023).
 13. Suharyanto & Ramadhani, D. A. Penetapan Kadar Flavonoid Total Jus Buah Delima (*Punica granatum* L.) Yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *J. Ilm. Manuntung* **6**, 192–198 (2020).
 14. Ariani, N., Prihandiwati, E., Rahim, A., Milasari, N. & Fatimah, N. Analisis Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). *J. Insan. Farm. Indones.* **6**, 263–269 (2023).
 15. Rohman, A. *Validasi dan Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia*. (2014).