

DETERMINATION OF VITAMIN C CONTENT OF ETHANOL EXTRACT OF GREEN
BEAN (*Phaseolus radiatus* L.) USING SPECTROPHOTOMETRY UV-VIS

PENENTUAN KADAR VITAMIN C EKSTRAK ETANOL KECAMBAH KACANG HIJAU
(*Phaseolus radiatus* L.) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Hayatul Rahimah^{1)*}, Rahmawaty Hasan²⁾

¹⁾Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy

²⁾Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy

*hayatulrohimah27@gmail.com

ABSTRACT

Iron deficiency anemia is the main cause of decreased aerobic endurance. Administration of vitamin C can have a significant effect on increasing hemoglobin and aerobic resistance. Phaseolus radiatus can meet the needs of vitamin C and have biological activity as antioxidants. The aim of the study was to determine the levels of vitamin C in the ethanol extract of mung bean sprouts with a standard solution of vitamin C as a positive control. The method consisted of extraction, determining the maximum wavelength, determining the standard curve, and measuring the levels of mung bean sprout ethanol extract and vitamin C standard solution. The results showed that the maximum wavelength in determining vitamin C content was 260 nm, and mung bean sprout ethanol extract had vitamin C content of 0.200 ppm at a dose of 20 ppm. This level is equivalent to the positive control, which is a standard 10 ppm vitamin C solution. The conclusion is that 20 µg/mL ethanol extract of mung bean sprouts contains vitamin C of 0.200 µg/mL.

Keywords: *Phaseolus radiatus* L., Vitamin C, Spectrophotometry UV-Vis

ABSTRAK

Anemia defisiensi besi merupakan penyebab utama penurunan daya tahan aerob. Pemberian vitamin C dapat memberi pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan hemoglobin dan daya tahan aerob. Kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) dapat memenuhi kebutuhan vitamin C dan memiliki aktivitas biologis sebagai sumber antioksidan. Tujuan penelitian ialah menentukan kadar vitamin C pada ekstrak etanol kecambah kacang hijau dengan larutan standar vitamin C sebagai kontrol positif. Metode terdiri dari ekstraksi, penentuan panjang gelombang maksimum, penetapan kurva standar, serta pengukuran kadar ekstrak etanol kecambah kacang hijau dan larutan standar vitamin C. Hasil penelitian menunjukkan Panjang gelombang maksimum dalam penentuan kadar vitamin C adalah 260 nm, serta ekstrak etanol kecambah kacang hijau memiliki kandungan vitamin C sebesar 0,200 ppm pada takaran 20 ppm. Kadar ini setara dengan kontrol positif, yaitu standar larutan vitamin C 10 ppm. Kesimpulan ialah 20 µg/mL ekstrak etanol kecambah kacang hijau mengandung vitamin C sebesar 0,200 µg/mL.

Kata kunci: *Phaseolus radiatus* L., Vitamin C, Spektrofotometri UV-Vis

PENDAHULUAN

Kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) merupakan salah satu tanaman kacang-kacangan penting di Asia Tenggara dan Asia Selatan. Di Indonesia, tanaman ini menempati urutan ketiga setelah kedelai dan kacang tanah, baik mengenai luas area penanaman dan produksinya maupun peranannya sebagai bahan makanan. Kacang hijau juga merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang memberikan banyak manfaat bagi kesehatan khususnya bagi ibu hamil. Hal ini dikarenakan kacang hijau memiliki banyak kandungan gizi yang baik untuk kesehatan ibu selama kehamilannya (Aidah, 2020).

Kacang hijau memiliki kandungan vitamin dan mineral seperti kalsium, fosfor, besi, natrium dan kalium. Kacang hijau mengandung protein lengkap yang membantu dalam pembentukan sel-sel tubuh. Selain itu kacang hijau dapat berperan dalam pembentukan sel darah merah dan mencegah anemia karena kandungan fitokimia dalam kacang hijau sangat lengkap sehingga dapat membantu proses hematopoiesis (Aidah 2020; Apriadi, 2018).

Anemia defisiensi besi merupakan penyebab utama penurunan daya tahan aerob. Pemberian suplemen besi dan Vitamin C yang diberikan bersamaan memberi pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan hemoglobin dan daya tahan aerob. Peningkatan hemoglobin mempunyai hubungan yang signifikan terhadap peningkatan daya tahan tubuh aerob. Anemia memerlukan perhatian serius dari semua pihak yang terkait dalam pelayanan kesehatan. Anemia memiliki konsekuensi kesehatan yang merugikan secara signifikan, serta dampak buruk pada pembangunan sosial dan ekonomi (Alamsyah, 2020).

Penggunaan kacang hijau efektif dalam mengatasi anemia pada pasien kanker dengan kemoterapi. Konsumsi dua cangkir rebusan kacang hijau dapat memenuhi 50% kebutuhan besi harian dan 80% memenuhi kebutuhan harian vitamin C dan vitamin lain seperti tiamin, riboflavin, dan niacin. Kacang hijau memiliki kandungan vitamin C yang cukup baik, yaitu sebesar 6,70 mg dalam 100 g takaran kacang hijau (Chavez *et al.*, 2018).

Beberapa metode yang telah dikembangkan untuk menentukan kadar vitamin C pada suatu sampel diantaranya adalah Spektrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dapat memberikan informasi terkait analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif (Wulaisfan *et al.*, 2016).

Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian guna mengidentifikasi atau menentukan kadar vitamin C dalam kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) sehingga dapat mengetahui takaran vitamin C sebagai upaya alternatif konsumsi pangan untuk mengatasi anemia.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu dan tempat penelitian ini berlangsung selama bulan Maret sampai April 2023 di Laboratorium Biologi Farmasi, Adapun jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental dengan tujuan menetapkan kadar vitamin C dalam ekstrak kecambah kacang hijau.

Ekstraksi

Kecambah biji kacang hijau sebanyak 1000 gram dicuci bersih dan dikeringkan menggunakan oven suhu 50°C. Selanjutnya dilakukan penyerbukan kecambah biji kacang hijau dan pembuatan ekstrak kacang hijau menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. 1000gram serbuk biji kacang hijau dilarutkan dalam 7500 mL etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam pada suhu kamar dengan dilakukan sesekali pengadukan. Selanjutnya dilakukan penguapan pelarut pada ekstrak cair menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C (Atchibiri, *et al.*, 2010).

Pembuatan Larutan Baku Vitamin C

Asam askorbat standar ditimbang 100 mg kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades. Dipipet larutan standar asam askorbat tadi sebanyak 2,5 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL. Diencerkan dengan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan (Wulaisfan *et al.*, 2016).

Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan serapan atau absorbansi larutan standar vitamin C (asam askorbat) pada rentang panjang gelombang 200-300 nm dengan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis (Wulaisfan *et al.*, 2016).

Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan larutan standar dibuat dengan mengambil blanko 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; dan 0,10 mL dari larutan standar asam askorbat 2,5 mL/25 mL. Konsentrasi larutan standar yang diperoleh berturut-turut adalah 2, 4, 6, 8, dan 10 mg/L (Wulaisfan *et al.*, 2016).

Penetapan Kadar Vitamin C

Ekstrak kacang hijau ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dilarutkan dengan aquades bebas CO₂ hingga 100 mL menggunakan labu ukur.

Larutan diencerkan dengan memipet sebanyak 10 mL, 20 mL, dan 30 mL, masing-masing dilarutkan dalam aquades bebas CO₂ hingga 100 mL dalam labu ukur. Masing-masing larutan ekstrak diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimal (Wulaisfan *et al.*, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

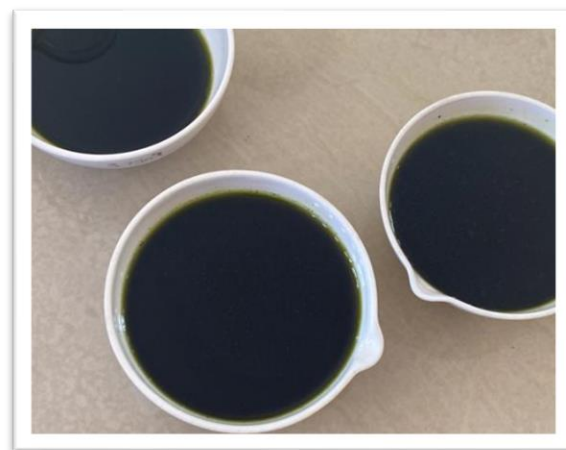
Kacang hijau memiliki kandungan vitamin C dengan berbagai aktivitas biologis, seperti sumber antioksidan yang baik dan dapat memenuhi kebutuhan vitamin selama kehamilan. Pemenuhan zat gizi ini dapat mencegah faktor risiko kejadian anemia selama kehamilan. (Purwono & Hartono, 2020).

Pembuatan ekstrak kacang hijau menggunakan metode maserasi. Tahap awal ialah penyerbukan kecambah kacang hijau yang dikeringkan di bawah panas matahari dengan ditutupi kain hitam agar cepat kering dan melindungi senyawa yang terkandung dalam kacang merah yang tidak tahan terhadap panas yang tinggi. Pengeringan dilakukan selama 3 hari. Sampel kemudian diserbukkan dan diayak. Tujuan penghalusan ini adalah untuk meningkatkan luas permukaan sehingga sampel kontak dengan pelarut semakin luas dan proses ekstraksi menjadi lebih maksimal. Hasil serbuk simplisia yang diperoleh adalah 528 gram. Rendemen serbuk simplisia terhadap berat awal kacang hijau sebesar 10,88%. Hasil serbuk simplisia ini diambil masing-masing 200 gram sebanyak tiga kali untuk pembuatan ekstrak etanol kacang hijau dengan metode maserasi.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi (ekstraksi dingin). Metode ini dipilih karena prosesnya yang sederhana dan tidak melibatkan pemanasan sehingga dapat mencegah kerusakan senyawa kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah etanol 96% karena bersifat polar sehingga dapat menyari atau mengekstraksi senyawa-senyawa organik polar seperti flavonoid. Hasil dari maserasi disaring setelah 3 hari dan residu yang didapat dimaserasi kembali dengan tujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang tertinggal pada ampas sekaligus menghilangkan zat pengotor pada saat perendaman ((Dwiwarso, 2017).

Filtrat yang diperoleh dari dua proses perendaman dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu maksimum 50°C dan kecepatan 200 rpm. Suhu yang digunakan kurang dari 50°C untuk

menghindari kerusakan zat aktif akibat penguapan pada suhu yang tinggi. Tujuan dari pemekatan adalah untuk memisahkan antara pelarut dan ekstrak yang diperoleh. Proses ekstraksi kacang hijau menghasilkan ekstrak kental dengan hasil rendemen sebesar 12,45%. Adapun karakteristik yang dihasilkan dari ekstrak etanol kecambah kacang hijau yaitu ekstrak kental, berbau khas dan berwarna hijau kehitaman.



Gambar 1. Ekstrak etanol kecambah kacang hijau

Vitamin C atau asam askorbat merupakan bahan farmasi yang banyak dikonsumsi sebagai antioksidan. Asam askorbat dalam sediaan farmasi dapat ditentukan dengan metode titrasi iodometri atau spektrofotometri ultraviolet pada panjang gelombang 265 nm. Penyerapan pada panjang gelombang 260 nm mampu menyerap absorbansi maksimal pada asam askorbat. Absorbansi sebanding dengan jumlah partikel, sehingga berdasarkan data tersebut partikel yang paling banyak terserap berada pada panjang gelombang 260 nm. Berdasarkan pengukuran panjang gelombang maksimum, nampak serapan terbesar pada panjang gelombang 260 nm untuk beberapa sampel. Kadar vitamin C pada cabai merah besar keriting diperoleh dengan cara mengonversi data absorbansi (Atchibiri *et al.*, 2010).

Tabel 1. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan standar

Panjang gelombang (nm)	Absorbansi (ppm)
200	0,061
220	0,039
240	0,029
260	0,081
280	0,027
300	0,003

Tabel di atas menunjukkan nilai absorbansi atau serapan maksimum larutan standar Vitamin C nampak pada panjang gelombang 260 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,081. Oleh karena itu, pengukuran kadar vitamin C pada ekstrak etanol kecambah kacang hijau dengan variasi konsentrasi berbeda dilakukan pada panjang gelombang 260 nm.

Tabel 2 menguraikan hasil pengukuran kadar vitamin C pada ekstrak etanol kecambah kacang hijau dengan konsentrasi 20 ppm menghasilkan absorbansi terbesar, yaitu 0,200 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat kandungan vitamin C sebanyak 0,200 ppm pada ekstrak etanol kecambah kacang hijau 20 ppm.

Tabel 2. Hasil pengukuran kadar vitamin C

Jenis bahan uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (ppm)
Ekstrak etanol	10	0,190
kecambah kacang hijau	20	0,200
Vitamin C	30	0,195
	2	0,500
	4	0,680
	6	0,553
	8	0,255
	10	0,200

Berdasarkan pengukuran absorbansi pada ekstrak etanol kecambah kacang hijau dengan pembandingan larutan standar vitamin C menunjukkan bahwa metode spektrofotometer UV-Vis mampu memberikan hasil pengukuran serapan atau absorbansi vitamin C pada Panjang gelombang 260 nm. Ekstrak etanol kecambah biji kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) memiliki kandungan vitamin C yang bervariasi mulai dari konsentrasi atau takaran 10, 20 dan 30 µg/mL. Oleh karena itu konsumsi pangan kacang hijau dapat menjadi alternatif pemenuhan vitamin C sebagai upaya pencegahan faktor risiko anemia selama kehamilan.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kecambah kacang hijau memiliki kandungan vitamin C sebesar 0,200 ppm

pada takaran 20 ppm. Kadar ini setara dengan kontrol positif, yaitu standar larutan vitamin C 10 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa 20 µg/mL ekstrak etanol kecambah kacang hijau mengandung vitamin C sebesar 0,200 µg/mL.

SARAN

Perlu dilakukan pengolahan pangan terhadap kacang hijau atau penerapan nutrasetikal kacang hijau bagi ibu hamil guna mencegah faktor risiko anemia selama kehamilan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidah, Sitinur. 2020. *Eksiklopedi Kacang hijau deskripsi, filosofi, manfaat, budidaya dan peluang bisnisnya*. Yogyakarta: Penerbit KBM Indonesia.
- Alamsyah, W. 2020. *Anemia pada Ibu Hamil*. Jakarta: EGC.
- Apriadji, W. H. 2018. *Makan Enak Untuk Hidup Sehat, Bahagia, Dan Awet Muda*. Jakarta: Gramedia Pustaka.
- Atchibiri, Ocho-Anin AL, Brou KD, Koua-kou TH, Kouadio YJ, Gnakri D (2010). Screening for Antidiabetic and Antioxidant Activity and Phytochemical Constituents of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seeds. *J Medicinal Plants Study*. 4(17): 1757 ± 61.
- Chávez, J.L.; Carrillo-Rodríguez, J.C.; Guzmán, A.M.V.; Aquino-Bolaños, E.N.; Hernández-Delgado, S.; Perez, N.M.; Lobato-Ortiz, R. Traditional family production and nutritional-nutraceutical value of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Southeast Mexico. In *Phaseolus vulgaris: Cultivars, Production and Uses*, 1st ed.; Nova Science Publishers, Inc.: New York, NY, USA, 2018; pp. 167–198.
- Dwiarso. 2017. *Metode Kromatografi*. Yogyakarta. Deepublish.
- Purwono & Hartono. 2020. *Kacang hijau tehnik budidaya di berbagai kondisi lahan dan musim*. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Wulaisfan R, Adi N, Nurhidayat. 2016 *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kacang Hijau Menggunakan Pereaksi DPPH*. *Warta Farmasi* 5(1): 66-71.