

## PROFIL BIOAUTOGRAFI DAN UJI PENANGKAP RADIKAL 2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL OLEH EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera scandens* (L.) Moq.) DAN FRAKSI-FRAKSINYA

P. O. Samirana\*, D. A. Swastini, A. A. G. R. Y. Putra, I. P. W. Kusuma,  
N. P. A. Y. Pratiwi, V. A. Setiawan

*Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali*

*\*Email: oka\_samirana@unud.com*

---

### ABSTRAK

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Antioksidan memiliki kemampuan menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi berlebihan. Daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) merupakan salah satu bagian tanaman yang mengandung senyawa flavonoid dan tanin yang secara ilmiah memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil bioautografi dan menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun *Anredera scandens* (L.) Moq. dengan metode penangkap radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil. Rendemen yang diperoleh dari proses ekstraksi dalam penelitian ini adalah 19,22%, fraksinasi menghasilkan Rendemen fraksi n-heksan sebesar 11,22% (11,224 gram), fraksi kloroform sebesar 14,68% (14,684 gram), fraksi etil asetat diperoleh rendemen 3,09% (3,094 gram), dan fraksi n-butanol diperoleh rendemen sebesar 23,90% (23,904 gram). Hasil uji profil bioautografi yang menggunakan metode KLT-Densitometri didapat bahwa ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH. Pada penetapan kadar flavonoid total, didapat fraksi etil asetat mengandung kadar flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi-fraksi lainnya. Pada fraksi etil asetat, didapat kadar flavonoid total yang tinggi dan nilai IC<sub>50</sub> yang rendah, sedangkan pada fraksi n-heksan dihasilkan kadar flavonoid yang rendah dan nilai IC<sub>50</sub> yang tinggi.

**Kata kunci:** antioksidan, daun binahong, radikal bebas, flavonoid, IC<sub>50</sub>.

### ABSTRACT

Free radicals are atoms or molecules that have one or more unpaired electrons and are highly reactive. Antioxidants can inhibit the excessive oxidation reaction. The leaves of binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) are one part of plants which contain flavonoid compounds and tannins that have scientific activity as antioxidants. This study aims to determine the bioautographic profile and to test the antioxidant activity of the ethanol extract of the leaves of *Anredera scandens* (L.) Moq. using 2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil radical capture method. The extraction process produced 19.22% yield, 14.68% (14.684 grams) chloroform fraction, 11.22% (11.224 grams) n-hexane fraction, 3.09% (3.094 grams) ethyl acetate fraction, and 23.90% (23.904 grams) n-butanol fraction. The results of bioautographic profile test using KLT densitometry method proved that ethanol extract, chloroform fraction and ethyl acetate fraction have DPPH radical capture activities. The determination of total flavonoid content found that ethyl acetate fraction contained higher total flavonoids than other fractions. In the ethyl acetate fraction, high total flavonoid level and low IC<sub>50</sub> values were obtained, while the n-hexane fraction had low flavonoid level and high IC<sub>50</sub> values.

**Keywords:** antioxidants, binahong leaves, free radicals, flavonoids, IC<sub>50</sub>.

### PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mempunyai satu ataupun lebih elektron yang tidak berpasangan dan memiliki sifat sangat reaktif (Fessenden and Fessenden, 1986). Antioksidan memiliki kemampuan

menginaktivasi berkembangnya reaksi substansi dengan cara mencegah terbentuknya radikal atau dengan mengikat radikal bebas dan mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas (Vaya dan Aviram, 2001; Kumalaningsih, 2006).

Salah satu jenis tanaman yang digunakan dalam pengobatan yaitu daun Binahong

(*Anredera scandens* (L.) Moq.). Secara empiris binahong digunakan untuk menyembuhkan berbagai gangguan kesehatan dan jenis penyakit seperti mempercepat pemulihan pasca operasi maupun melahirkan, berbagai luka dalam, melancarkan peredaran darah dan tekanan darah, mencegah terjadinya stroke, maag dan asam urat, menurunkan panas tinggi, dan diabetes (Manoi, 2009). Penelitian yang dilakukan Samirana dkk, (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol *Anredera scandens* (L.) Moq. Terbukti menyembuhkan luka eksisi yang secara tidak langsung disebabkan oleh adanya antioksidan dari senyawa flavonoid. Senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan pada umumnya adalah senyawa dengan golongan fenol dan polifenol. Salah satu contohnya adalah flavonoid (Van Acker *et al.*, 1996). Flavonoid berfungsi sebagai antiradikal bebas melalui penekanan radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS), baik dengan cara menghambat enzim atau pengkelatan ion logam yang berhubungan dengan produksi radikal bebas melalui peredaman radikal bebas (Subarnas, 2001).

Penelitian yang dilakukan oleh Djamil dkk., (2012) melaporkan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun *A. cordifolia* (Ten.) Steenis merupakan golongan antioksidan kuat dilihat dari nilai  $IC_{50}$  sebesar 53, 11  $\mu\text{g/mL}$ . Namun dalam aplikasinya pada sediaan farmasi, pelarut metanol tidak dipergunakan terkait dengan toksisitasnya. Asam formiat yang terbentuk dari metanol menghambat aktivitas dari oksidase sitokrom yang mengakibatkan degeneratif saraf mata yang mengakibatkan kebutaan dan juga menyebabkan asidosis metabolik hingga kematian. Sehingga digunakan etanol sebagai pelarut sediaan karena lebih aman dibandingkan dengan metanol (Skrzydewska *et al.*, 1999).

Untuk mengetahui potensi suatu senyawa sebagai antioksidan digunakan metode penangkap radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Metode DPPH dipilih berdasarkan pada keuntungan yang dimiliki yaitu murah, cepat, sederhana serta reagen yang dipergunakan mudah dipreparasi (Antolovich *et al.*, 2001). Metode penentuan aktivitas antioksidan terbagi menjadi dua yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Dimana secara kualitatif digunakan profil KLT bioautografi yang merupakan uji kualitatif senyawa

metabolit sekunder dengan penyemprotan menggunakan pereaksi pewarna yaitu DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Metode kuantitatif yang digunakan adalah metode spektrofotometri dengan pereaksi DPPH.

Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun binahong beserta fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi n-butanol dengan metode penangkapan radikal DPPH secara kualitatif dan kuantitatif.

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Bahan tanaman yang digunakan adalah daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) adalah etanol 70% yang berderajat teknis. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia adalah ekstrak etanol daun *A. scandens*, plat silika gel GF<sub>254</sub> (Merck), bahan serbuk DPPH (Sigma), bahan pelarut kloroform P (Merck), metanol P (Merck), n-heksan P (Merck), etil asetat P (Merck), dan n-butanol P (Merck) yang seluruhnya berderajat pro analisis. Selain itu, digunakan juga bahan yang berderajat teknis yaitu *aquadest*. Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah ekstrak etanol daun *A. scandens* serbuk DPPH dan vitamin C (Sigma), bahan pelarut metanol (Merck) yang berderajat pro analisis.

### Peralatan

Peralatan yang digunakan yaitu toples kaca, *blender*, mortir, stamper, sudip, cawan porselen, kertas saring, sendok tanduk, alat gelas, pinset, timbangan analitik (AND<sup>®</sup>), *Rotary evaporator* (Eyela<sup>®</sup>), pipet kapiler, bejana pengembang (CAMAG), lampu UV CAMAG.

### Cara Kerja

#### Penyiapan bahan

Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) dikumpulkan dan dicuci kemudian disortasi. Daun kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dihindarkan dari paparan sinar matahari secara langsung. Sampel yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan *blender*. Serbuk yang dihasilkan dibungkus dan disimpan pada tempat kering.

### **Ekstraksi Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.)**

Serbuk daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) kering ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 5 liter selama  $\pm$  24 jam dengan dilakukan pengadukan. Maserat kemudian disaring. Residu dimaserasi kembali dengan cara yang sama dengan 2,5 liter etanol 70% pengulangan sebanyak 2 kali. Filtrat yang dihasilkan ditampung menjadi satu diendapkan semalam dan diuapkan dengan menggunakan alat *vaccum rotary evaporator* dan dioven pada suhu 40°C, sampai diperoleh ekstrak kental

### **Fraksinasi ekstrak etanol daun *Anredera scandens* (L.) Moq.**

Ekstrak etanol daun *A. scandens* yang sudah didapat dilarutkan dengan etanol:air (4:1) dan diaduk hingga semua ekstrak larut. Selanjutnya campuran dimasukkan ke dalam corong pisah dan dilakukan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, kloroform, etil asetat, dan *n*-butanol. Fraksi yang didapat kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* 68°C, hingga diperoleh fraksi kering.

### **Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) dan Fraksi-Fraksinya**

Pemeriksaan steroid dan triterpenoid dilakukan dengan reaksi Liebermann-Burchard. Sebanyak 2 mL larutan uji diuapkan dalam cawan penguap. Residu dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan bila muncul cincin biru kehijauan menunjukkan adanya sterol.

Pemeriksaan saponin diawali dengan 10 mL larutan uji dalam tabung reaksi dikocok vertical selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 detik. Terbentuknya busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin. Dengan penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (Depkes RI, 1989).

Pemeriksaan tanin dilakukan dengan 1 mL larutan ekstrak uji direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan

menunjukkan adanya tanin. Pemeriksaan flavonoid dengan reaksi kimia dengan prosedur. Sebanyak 1 mL larutan ekstrak uji diuapkan hingga kering, sisanya dibasahkan dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan serbuk halus asam oksalat P, dipanaskan hati-hati di atas tangas air dan dihindari pemanasan berlebih. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 mL eter P. Diamati dengan sinar UV 366 nm; larutan berfluoresensi kuning intensif, menunjukkan adanya flavonoid.

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan membuat Larutan uji dengan cara melarutkan 10 mg ekstrak dan fraksi-fraksi daun *A. scandens* (L.) Moq. dalam 5 mL metanol. Larutan ekstrak uji selanjutnya ditotolkan sebanyak 6  $\mu$ L menggunakan pipet kapiler pada lempengan KLT silica gel GF<sub>254</sub> yang telah dicuci dan diaktifkan. Lempengan elusi di dalam bejana pengembang yang telah dijenuhkan dengan sistem pelarut *n*-butanol:asam asetat:aquadest (4:1:5) hingga tanda batas. Setelah elusi, lempengan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 5 menit. Bercak yang diperoleh dideteksi di bawah sinar UV 366 nm baik sebelum maupun sesudah diuapi ammonia. Dilihat dan diidentifikasi fluoresensi yang terlihat (Markham, 1988).

### **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) dan Fraksi-Fraksinya dengan Spektrofotometri**

Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C, dibuat dalam konsentrasi 1 mg/mL dalam metanol, kemudian diencerkan dengan metanol hingga diperoleh konsentrasi 1; 2; 4; 8; dan 16  $\mu$ g/mL, Larutan DPPH disiapkan sebagai radikal bebas dalam penelitian ini. Ditimbang 15,8 mg serbuk DPPH dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL, ditentukan panjang gelombang maksimal DPPH dengan memipet larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL dan ditambahkan 4 mL metanol, kemudian campuran divorteks dan dibiarkan selama 30 menit.

Campuran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 450-550 nm. Diamati nilai panjang gelombang maksimal dengan melihat nilai absorbansi tertinggi pada satu titik panjang gelombang (Samirana Dkk, 2017). Pengukuran aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH diawali

dengan sejumlah sampel uji ditambahkan dengan 1 mL DPPH 0,4 mM dan 3,95 metanol. Campuran tersebut divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Campuran lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm dengan menggunakan blanko metanol. Pengukuran absorbansi juga dilakukan terhadap kontrol yang terdiri dari 1 mL DPPH dan 4 mL metanol (Samirana et al, 2017)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.)

Proses maserasi dilakukan dengan merendam 1 kg serbuk daun *A. scandens* (L.) Moq. dalam 5 Liter pelarut etanol 70%. Rendemen yang diperoleh dari proses ekstraksi dalam penelitian ini adalah 19,22% dengan berat ekstrak yang diperoleh 192,21 gram dari 1000 gram serbuk simplisia daun *A. scandens* (L.) Moq. yang diekstraksi.

### Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.)

Rendemen ekstrak diambil sebanyak 100 gram kemudian dilarutkan dengan campuran etanol:air (4:1) hingga terlarut. Larutan tersebut kemudian difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah berukuran 250 mL. Proses partisi metode ekstraksi cair-cair berlangsung secara berulang-ulang sebanyak 3 kali.

Pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi terdiri pelarut n-heksan (1:1) dengan volume n-heksan dipergunakan masing-masing sebanyak 100 mL dan air 30 mL. Proses partisi kedua digunakan pelarut kloroform (1:1) digunakan masing-masing 30 mL. Proses partisi ketiga digunakan pelarut etil asetat (1:1) digunakan masing-masing 30 mL. Proses partisi keempat digunakan pelarut n-butanol (1:1) digunakan masing-masing 30 mL. Dilakukan partisi pula digunakan cara yang sama dengan pelarut etil asetat (1:1) hingga diperoleh fraksi etil asetat. Hasil fraksinasi selanjutnya diuapkan pelarutnya didalam oven pada suhu 40°C.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.)

Sampel	Berat (g)	Rendemen (%)
N-Heksan	11,224	11,22
Kloroform	14,684	14,68
Etil Asetat	3,094	3,09
N-Butanol	23,904	23,90

Hasil fraksinasi tersebut menghasilkan beberapa rendemen fraksi terdiri dari fraksi n-heksan sebesar 11,22% (11,224 gram), fraksi kloroform sebesar 14,68% (14,684 gram), fraksi etil asetat diperoleh rendemen 3,09% (3,094 gram), dan fraksi n-butanol diperoleh rendemen sebesar 23,90% (23,904 gram). Fraksi n-butanol merupakan fraksi dengan rendemen terbanyak dikarenakan pelarut n-butanol memiliki tingkat kepolaran semipolar menuju polar sehingga banyak golongan senyawa yang terfraksi ke pelarut ini (Samirana dkk., 2017).

### Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Dan Fraksi-Fraksinya

Uji fitokimia yang dilakukan yaitu pada kandungan flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin. Uji fitokimia ini dilakukan berdasarkan hasil uji fitokimia pada penelitian Sebelumnya yang menyatakan Bahwa golongan kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terdiri dari flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin (Samirana, 2010; Karismawan, 2013; Samirana dkk, 2017). Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) dan fraksi-fraksinya ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) dan Fraksi-Fraksinya

Uji Fitokimia	Ekstrak Etanol	Fraksi N-Heksan	Fraksi Kloroform	Fraksi Etil Asetat	Fraksi N-Butanol
Flavonoid	+	-	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+	+

Ekstrak etanol daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.), fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol terdapat senyawa golongan flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin. Namun pada fraksi n-heksan tidak ditemukan adanya senyawa golongan flavonoid. Adanya golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak dan setiap fraksi dikarenakan tingkat kepolaran dan kelarutannya, senyawa yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar (like dissolves like). Pelarut yang digunakan yaitu etanol yang bersifat polar dengan indeks polaritas 5,2 sehingga dapat menarik keempat golongan kandungan kimia tersebut (Snyder, 1997).

### Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Dan Fraksi-Fraksinya

Kadar flavonoid total ekstrak etanol daun *A. scandens* (L.) Moq. diperoleh sebesar 9,25%b/b  $\pm$  0,09 yang dihitung sebagai rutin, dan data perhitungan kadar flavonoid total ekstrak dapat dilihat pada tabel 3. Hasil penetapan kadar flavonoid total menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung kadar flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi-fraksi lainnya.

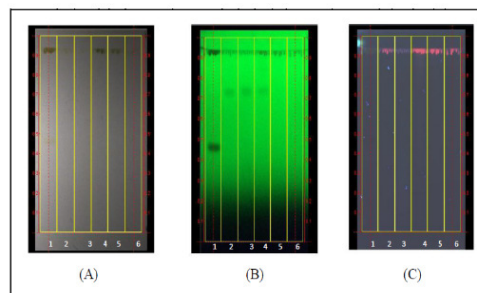
Tabel 3. Kandungan Flavonoid Total Sampel

Sampel	Kandungan Flavonoid Total (%b/b ER)			%ER rata-
	1	2	3	
Ekstrak Etanol	9,2	9,35	9,2	9,25 $\pm$ 0,09
Fraksi N-Heksana	2,3	2,02	2,58	2,3 $\pm$ 0,28
Fraksi Kloroform	4,41	4,27	4,7	4,46 $\pm$ 0,22
Fraksi N-Butanol	5,26	5,54	4,84	5,21 $\pm$ 0,35
Fraksi Etil Asetat	10,06	10,5	10,62	10,39 $\pm$ 0,29

Keterangan : % ER = Ekuivalen Rutin

### Hasil Uji Profil Bioautografi KLT Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) dan Fraksi-Fraksinya

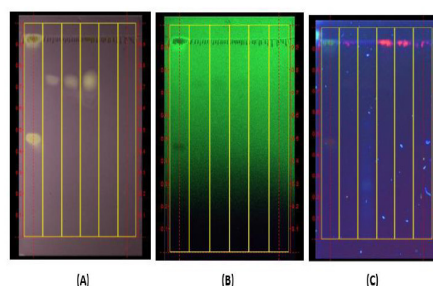
Hasil profil bioautografi sebelum disemprot dengan DPPH 0,2% menunjukkan pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi kloroform terdapat bercak yang hampir sama pada Rf 0,73. Bercak-bercak pada Rf 0,73 sebelum diberikan pereaksi penampak bercak menunjukkan warna kuning pudar di bawah sinar tampak, berwarna lembayung gelap di bawah sinar UV 254 nm, serta berfluoresensi warna lembayung gelap di bawah sinar UV 366 nm. Selanjutnya KLT diidentifikasi dengan disemprot menggunakan larutan DPPH 0,2%.



Gambar 1. Hasil Profil KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Pada Sinar Tampak (A), Sinar UV 254 nm (B) dan Sinar UV 366 nm (C) Sebelum Disemprot dengan Larutan DPPH 0,2%.

Keterangan: 1. Standar Rutin; 2. Ekstrak Etanol; 3. Fraksi Etil Asetat; 4. Fraksi Kloroform; 5. Fraksi N-Butanol; 6. Fraksi N-Heksan.

Hasil kromatogram setelah disemprot dengan larutan DPPH 0,2% menunjukkan pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi kloroform (Rf 0,73) memiliki warna bercak yang sama yaitu warna kuning dibawah sinar tampak dengan latar berwarna ungu, warna lembayung gelap di bawah sinar UV 254 nm, dan di bawah sinar UV 366 nm berfluoresensi lembayung gelap.



Gambar 2. Hasil Profil KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) Pada Sinar Tampak (A), Sinar UV 254 nm (B) dan Sinar UV 366 nm (C) Setelah Disemprot dengan Larutan DPPH 0,2%.

Keterangan: 1. Standar Rutin; 2. Ekstrak Etanol; 3. Fraksi Etil Asetat; 4. Fraksi Kloroform; 5. Fraksi N-Butanol; 6. Fraksi N-Heksan.

Hasil uji profil bioautografi didapat bahwa ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH yang ditandai dengan bercak berwarna kuning pada latar belakang berwarna ungu di Rf 0,73 dengan

menggunakan fase diam silika gel 60 GF254 dan fase gerak campuran pelarut etil asetat: asam formiat : asam asetat : air (100:11:1 1:26) v/v. Menurut penelitian Andhini (2018), pada metode KLT dengan menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak menggunakan campuran pelarut etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26) v/v diperoleh hasil pada nilai Rf 0,71 adalah senyawa flavonoid. Pada penelitian ini digunakan fase diam dan fase gerak yang sama yaitu campuran pelarut etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26) v/v menghasilkan bercak dengan nilai Rf 0,73 yang mempunyai aktivitas antioksidan yang diduga merupakan golongan senyawa flavonoid.

#### Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) dan Fraksi-Fraksinya dengan Spektrofotometer

Hasil dari uji penangkap radikal DPPH didapat dari hubungan antara kadar ekstrak etanol beserta fraksi-fraksinya dengan aktivitas penangkap radikal DPPH yang digambarkan pada persamaan regresi linier dengan parameter IC50. Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas Yang dinyatakan dengan nilai IC50 (*Inhibitor Concentration*) (Molyneux, 2004).

Nilai IC50 didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji Yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC50 maka aktivitas peredaman radikal bebas Semakin tinggi. Metode ini juga didasarkan atas pengukuran kemampuan antioksidan untuk menekan atau menghambat radikal DPPH. Kemampuan ini dapat dievaluasi dengan resonansi *spin* elektron atau dengan mengukur penurunan absorbansinya yang diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 515 nm setelah direaksikan dengan senyawa uji (Prior *et al.*, 2005) Prinsip kerja Dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang

memiliki kemampuan mendonorkan hydrogen, sehingga radikal bebas dapat Diredam (Ridho, 2013).

Tabel 4. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% dengan Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Garis Regresi Linier
5	20,12	
10	25,63	$y = 0,3089x + 22,107$
20	30,78	$r = 0,9938$
40	35,81	$IC_{50} = 90,3 \mu\text{g/mL}$
80	46,47	
160	71,14	

Pada tabel 4, didapat persamaan regresi linier  $y = 0,3089x + 22,107$  dan memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH dengan nilai IC50 sebesar 90,3 µg/mL. Hasil IC50 ekstrak etanol tersebut dikategorikan sebagai antioksidan kuat dengan nilai IC50 yang terdapat pada rentang 50-100 µg/mL (Putri dan Nurul, 2015).

Tabel 5. Hubungan antara Konsentrasi Fraksi N-Heksan dengan Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Garis Regresi Linier
5	10,66	
10	13,17	$y = 0,1634x + 11,201$
20	14,85	$r = 0,9963$
40	17,96	$IC_{50} = 237,45 \mu\text{g/mL}$
80	25,27	
160	36,77	

Pada tabel 5, didapat persamaan regresi linier  $y = 0,1634x + 11,201$  dan memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH dengan nilai IC50 sebesar 237,45 µg/mL. Hasil IC50 fraksi n-heksan tersebut dikategorikan sebagai antioksidan sedang dengan nilai IC50 yang terdapat pada rentang 100-250 µg/mL (Putri dan Nurul, 2015).

Tabel 6. Hubungan antara Konsentrasi Fraksi Kloroform dengan Aktivitas Penangkap Radikal Bebas DPPH

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Garis Regresi Linier
5	10,9	
10	16,77	$y = 0,2616x + 16,724$
20	26,11	$r = 0,9513$
40	32,1	$IC_{50} = 127,2 \mu\text{g/mL}$
80	41,68	
160	55,21	

Pada tabel 6, didapat persamaan regresi linier  $y = 0,2616x + 16,724$  dan memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH dengan nilai IC50 sebesar 127,2 µg/mL. Hasil IC50 fraksi kloroform tersebut dikategorikan sebagai antioksidan sedang dengan nilai IC50 yang terdapat pada rentang 100-250 µg/mL (Putri dan Nurul, 2015).

Tabel 7. Hubungan antara Konsentrasi Fraksi N-Butanol dengan Aktivitas Penangkap Radikal Bebas DPPH

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Garis Regresi Linier
5	13,29	
10	19,16	$y = 0,2287x + 17,017$
20	23,95	$r = 0,9779$
40	28,5	$IC_{50} = 144,22 \mu\text{g/mL}$
80	37,37	
160	51,86	

Pada tabel 7, didapat persamaan regresi linier  $y = 0,2287x + 17,017$  dan memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH dengan nilai IC50 sebesar 144,22 µg/mL. Hasil IC50 fraksi n-butanol tersebut dikategorikan sebagai antioksidan sedang dengan nilai IC50 yang terdapat pada rentang 100-250 µg/mL (Putri dan Nurul, 2015).

Tabel 8. Hubungan antara Konsentrasi Fraksi Etil Asetat dengan Aktivitas Penangkap Radikal Bebas DPPH

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Garis Regresi Linier
5	22,4	
10	30,3	$y = 0,9917x + 27,038$
20	36,17	$r = 0,9809$
40	42,99	$IC_{50} = 69,23 \mu\text{g/mL}$
80	57,49	
160	77,37	

Pada tabel 8, didapat persamaan regresi linier  $y = 0,9917x + 27,038$  dan memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH dengan nilai IC50 sebesar 69,23 µg/mL. Hasil IC50 fraksi Etil Asetat tersebut dikategorikan sebagai antioksidan kuat dengan nilai IC50 yang terdapat pada rentang 50-100 µg/mL (Putri dan Nurul, 2015).

Pada penelitian ini digunakan vitamin C sebagai senyawa pembanding yang sebelumnya telah diketahui sebagai antioksidan alami. Hubungan antara kadar vitamin C dengan aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH digambarkan dalam persamaan regresi linier  $y = 5,008x + 11,297$  dengan nilai IC50 sebesar 7,73 µg/mL.

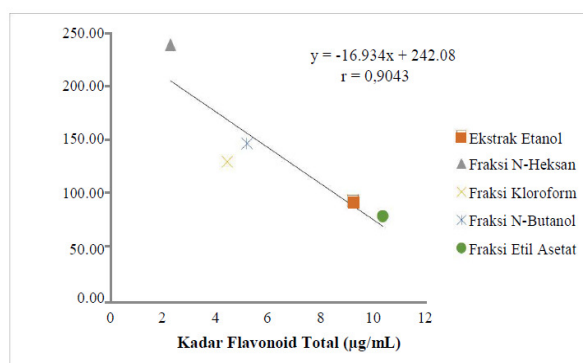
Tabel 9. Hubungan antara Konsentrasi Vitamin C dengan Aktivitas Penangkap Radikal Bebas DPPH

Konsentrasi Sampel (µg/mL)	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Garis Regresi Linier
1	16,53	
2	19,28	$y = 5,008x + 11,297$
4	30,30	$r = 0,9959$
8	56,05	$IC_{50} = 7,73 \mu\text{g/mL}$
16	89,58	

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa aktivitas penangkap radikal DPPH ekstrak etanol daun Binahong dan fraksi-fraksinya lebih rendah dibandingkan dengan senyawa pembanding vitamin C. Namun, jika dilihat nilai IC50 dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.), didapat kekuatan aktivitas antioksidannya digolongkan ke antioksidan kuat.

Pada pengujian skrining fitokimia, didapat bahwa ekstrak etanol, dan fraksi-fraksinya memiliki hasil positif pada setiap golongan senyawa yang diuji, kecuali pada fraksi n-heksan yang memiliki hasil negatif pada golongan senyawa flavonoid.

Penetapan kadar flavonoid total, didapat fraksi etil asetat mengandung kadar flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi-fraksi lainnya. Hasil uji profil bioautografi didapat bahwa ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas penangkap radikal DPPH yang ditandai dengan bercak berwarna kuning pada latar belakang berwarna ungu di Rf 0,73 dengan menggunakan fase diam lempeng KLT silika gel 60 GF254 dan fase gerak campuran pelarut etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26) v/v. Hasil profil bioautografi yang didapat memiliki kemiripan pada penelitian yang dilakukan oleh Andhini (2018) bahwa metode KLT yang menggunakan fase diam lempeng KLT silika gel 60 GF254 dan fase gerak campuran pelarut etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:26) v/v menghasilkan bercak yang diduga mengandung flavonoid berada di Rf 0,71. Sehingga, dapat dikatakan bahwa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antioksidan adalah senyawa flavonoid. Hubungan antara senyawa flavonoid dengan aktivitas antioksidan ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Hubungan Antara Kandungan Flavonoid Total dan Nilai IC<sub>50</sub>

Hubungan antara kandungan flavonoid total dengan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya digambarkan dengan persamaan regresi  $y = -16,934x + 242,08$  dan memiliki koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,9043, yang memiliki makna bahwa kandungan flavonoid total dengan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya memiliki hubungan yang sangat kuat. Semakin besar kandungan flavonoid total dari ekstrak etanol daun *A. scandens* beserta fraksi-fraksinya, maka nilai IC<sub>50</sub> nya akan semakin kecil. Pada fraksi etil asetat, didapat kadar flavonoid total yang tinggi dan nilai IC<sub>50</sub> yang rendah, sedangkan pada fraksi n-heksan dihasilkan kadar flavonoid yang rendah dan nilai IC<sub>50</sub> yang tinggi.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Profil bioautografi ekstrak etanol daun *A. scandens* yang berperan sebagai penangkap radikal 2,2-difenil-1-pikrihidrazil adalah pada Rf 0,73 di ekstrak etanol, fraksi kloroform, dan fraksi etil asetat daun *Anredera scandens* setelah disemprot dengan DPPH 0,2% menunjukkan aktivitas antioksidan yang ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu.

### Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme antioksidan dari ekstrak daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.).

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung dalam terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Antolovich, M., Paul D. P., Emilio P., Suzanne M. and Kevin R. 2001. Methods for Testing Antioxidant Activity. *The Analyst*. Vol. 127: 183-198
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta
- Djamil, R., Wahyudi. P.S., Wahono, S. dan Hanafi. 2012. Antioxidant Activity of Flavonoid From *Anredera Cordifolia* (Ten) *steenii* Leaves, *Journal of Pharmacy*.
- Fessenden, R. J. dan Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga. Jakarta: Erlangga
- Karismawan, P. N. 2013. *Profil Kandungan Kimia dan Uji Aktivitas Antiluka Bakar Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera Scandens (L.) Moq.) Pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley* (Skripsi),. Universitas Udayana. Denpasar
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, Sumber manfaat, Cara penyediaan, dan Pengolahan*. Trubus Agrisana. Surabaya
- Manoi, F. 2009. Binahong sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Vol. 15(1): 3-4.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol*. Vol. 26(2): 211-219.
- Prabantini, D. 2010. *A to Z Makanan Pendamping Asi*. Edisi I. Yogyakarta: ANDI.



- Prior, R. L, Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agric. And Food Chemistry*. Vol. 53(10): 4290-4302.
- Putri, A. A. S. dan Nurul H. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*). *UNESA Journal of Chemistry*. Vol. 4(1): 1-6.
- Ridho, E.A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidasi Ekstrak Metanol Buah Bakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH. *Skripsi*. Universitas Tanjungpura. Pontianak
- Samirana, P. O., D. A. Swastini, I. D. G. P. Y. Subartha, dan Ariadi, K. A. 2016. Uji Aktivitas Penyembuhan Luka Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Farmasi Udayana*. 5(2): 19-23.
- Samirana, P. O., D. A. Swastini., I. P. R. Ardinanta., I. P. S. D. Suarka. 2017. Penentuan Profil Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L.) Moq.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 6(1): 24-26.
- Samirana, P. O., Swastini., D. A., Satriani, N. W. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L.) Moq.) Terhadap Makroskopik Dan Biokimia Ginjal Mencit Jantan Galur Balb/C. *Jurnal Farmasi Udayana*. 6(2): 29-30.
- Samirana, P. O., Taradipta, I. D. M. R., Leliqia, N. P. E. 2016. Penentuan Profil Bioautografi Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana* Auct. Non Lamk.) Dengan Metode Penangkapan Radikal Dpph. *Jurnal Farmasi Udayana*. 6(2): 19-20.
- Samirana, P.O., Susidarti, R.A., and Rohman, A. 2017. Isolation and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicalscavenging activity of active compound from Jujube tree (*Zizyphus mauritiana* Auct. non Lamk.). *International Journal Of Food Properties*. Vol. 20(S2): 1524-1525.
- Skrzydowska, E., Roszkowska A., and Moniuszko-Jakoiuk J. 1999. A Comparison of Methanol and Ethanol Effects on the Activity and Distribution of Lysosomal Proteases. *Polish Journal of Environmental Studies*. Vol. 8(4): 251-257.
- Snyder C. R., Kirkland, J. J. and Glajach J. L. 1997. Practical HPLC Method Development. 2th ed. *Lnc*. 722-723
- Subarnas A. 2001. *Komponen Aktif Antioksidan Dalam Bahan Alam*, Seminar Nasional dan Lokakarya. Pemahaman Konsep Radikal Bebas dan Peranan Antioksidan dalam Meningkatkan Kesehatan Menuju Indonesia Sehat 2010. Pusat Penelitian Kesehatan. Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran. Bandung.
- Van Acker, S.A., van Den Berg, D.J., Tromp, M.N., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., van der Vijgh, W.J. and Bast A. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavanoids. *Free Radic. Biol. Med.* 20(3): 331-342.
- Vaya, J., dan Aviram, M. 2001. Nutritional Antioxidants: Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. *Curr. Med. Chem.-Imm, Endoc. and Metab. Agents*, 1(1).