

IDENTIFIKASI ASAM FENOLAT DARI EKSTRAK ETANOL

DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis)

DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

(*Identification of Phenolic Acid from Ethanolic Extract of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) Leaves and Antioxidant Activity*)

Tyas Ayu Ekaviantiwi, Enny Fachriyah, Dewi Kusrini

Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Diponegoro

Abstrak

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) merupakan salah satu tumbuhan berbunga yang berasal dari famili *Basellaceae* dan telah diketahui mempunyai aktivitas biologis karena adanya senyawa bioaktif. Salah satu senyawa bioaktif tersebut adalah asam fenolat yang memiliki aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi dan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol daun binahong. Isolasi asam fenolat dilakukan melalui tahap tanpa hidrolisis (fraksi TH), hidrolisis asam (fraksi HA), dan hidrolisis basa (fraksi HB). Berdasarkan identifikasi menggunakan KLT secara ko-kromatografi, spektrofotometer *UV-Vis*, dan *FTIR* dideteksi bahwa ekstrak etanol daun binahong diduga mengandung asam *p*-kumarat. Hasil analisis kuantitatif menggunakan *TLC Scanner* dapat diketahui bahwa kadar asam *p*-kumarat pada fraksi TH, HA, dan HB, berturut-turut sebesar 8,11205%; 3,77526%; dan 23,57104%. Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol dan isolat B mempunyai nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 866,89831 mg/L dan 1263,3333 mg/L. Hal ini menunjukkan bahwa isolat B tidak berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa antioksidan.

Kata kunci : *Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis, asam fenolat, antioksidan, DPPH

Abstract

*Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis) is one of the flower planting that come from Basellaceae family and has been know it has biological activities because there is bioactive compound. Phenolic acids are bioactive compound and widely used as antioxidants. In this study, identification and antioxidant activity test in ethanolic extract of binahong leaves were done. Phenolic acids were isolated without hydrolysis (TH fraction), acid hydrolysis (fraction HA), and alkaline hydrolysis (HB fraction). Based on the identification using TLC with co-chromatography, UV-Vis and FTIR spectrophotometer, detected that ethanolic extract of binahong leaves maybe contain *p*-coumaric acid. The quantitative analysis using TLC scanner known that the levels of *p*-coumaric acid of TH fraction, HA fraction, HB fraction are 8.11205%; 3.77526%; and 23.57104% respectively. The antioxidant activity (IC_{50}) of ethanolic extract and isolate B are 866.89831 mg/L and 1263.3333 mg/L respectively. This indicates that B isolates haven't the potency to be developed as an antioxidant compound cracked.*

Keywords : *Anredera cordifolia* (Ten.) Stennis, phenolic acid, antioxidant, DPPH

I. PENDAHULUAN

Binahong merupakan tanaman yang termasuk dalam famili *Basellaceae*. Daun binahong telah dilaporkan mempunyai aktivitas seperti antidiabetes^[4], antijamur^[11], antibakteri^[7], dan antihematoma^[13]. Hal ini disebabkan adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun binahong, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, saponin^[12], dan minyak atsiri^[11]. Kandungan kimia yang berhasil diisolasi adalah senyawa pirogalol^[6], yaitu senyawa dengan 3 gugus hidroksil yang terikat pada benzena, dari ekstrak metanol daun binahong.

Ekstrak air dari batang *Basella alba* Linn. telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan harga IC₅₀ sebesar 514,41 µg/ml^[1]. Tanaman *Basella alba* Linn. merupakan tanaman dengan taksonomi yang sama dengan binahong, sehingga sebagai dasar panduan digunakan aktivitas tanaman *Basella alba* Linn. yang merupakan anggota suku *Basellaceae*.

Asam fenolat merupakan salah satu jenis metabolit sekunder yang banyak ditemukan dalam berbagai jenis tumbuhan. Turunan asam

hidroksibenzoat dan asam hidroksisinamat adalah jenis asam fenolat yang banyak terdapat pada tumbuhan^[9].

Mengingat jenis asam fenolat dalam ekstrak etanol daun binahong belum pernah dilaporkan dan asam fenolat banyak dimanfaatkan sebagai antioksidan, maka menarik untuk diselidiki jenis asam fenolat dalam ekstrak etanol daun binahong. Hal ini perlu dilakukan sebagai upaya untuk penemuan antioksidan yang berasal dari bahan alam dan bermanfaat bagi manusia.

II. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan dan Alat

2.1.1 Bahan

Daun binahong, n-heksana, etanol, akuades, asam sulfat p.a, natrium hidroksida p.a, natrium bikarbonat p.a, eter, asam klorida p.a, amoniak, amil alkohol, serbuk magnesium, anhidrida asam asetat, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Steasny, pereaksi besi (III) klorida 1%, kloroform p.a, natrium asetat p.a, natrium sulfat anhidrat, plat silika gel GF254, asam asetat p.a, benzena p.a, metanol p.a, diazo *p*-nitroanilin, natrium karbonat p.a, n-heksana p.a, toluen p.a, aseton p.a, asam format p.a, etanol p.a, etil asetat p.a, asam *p*-kumarat, asam galat, asam

kafeat, asam ferulat, dan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

2.1.2 Alat

Peralatan gelas, neraca analitik (Kern-870), *rotary vaccum evaporator* (Buchi-B480), lampu detektor UV (Spectroline ENF-24F), *chamber*, spektrofotometer *UV-Vis* (Shimadzu *UV-1601*), spektrofotometer *FTIR* (Shimadzu *Prestige-21*), dan *TLC Scanner* (Camag 3).

2.2 Cara Kerja

2.2.1 Penyiapan Sampel

Daun binahong dilakukan pencucian, pengeringan dengan cara diangin-anginkan, pengirisan tipis-tipis, dan penghalusan, sehingga diperoleh serbuk daun binahong.

2.2.2 Pembuatan Ekstrak Air

Serbuk daun binahong sebanyak 950 gram dimaserasi dengan pelarut n-heksana pada suhu kamar. Setiap 24 jam sekali dilakukan penggantian pelarut hingga pelarut lebih jernih dari sebelumnya. Ekstrak n-heksana yang diperoleh dipekatkan dengan cara evaporasi. Kemudian ampas daun binahong dikeringkan dan dimaserasi kembali dengan pelarut etanol pada suhu kamar. Setiap 24 jam sekali dilakukan penggantian pelarut hingga pelarut lebih

jernih dari sebelumnya. Ekstrak etanol yang diperoleh dipekatkan dengan cara evaporasi.

2.2.3 Penapisan Fitokimia

Serbuk daun binahong, ekstrak n-heksana, dan ekstrak etanol dilakukan uji penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimianya. Uji penapisan fitokimia meliputi: uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid^[3].

2.2.4 Identifikasi Asam Fenolat

Isolasi asam fenolat dilakukan terhadap ekstrak etanol melalui tiga tahap, yaitu tanpa hidrolisis, hidrolisis asam, dan hidrolisis basa^[14].

Tanpa Hidrolisis

Sebanyak 2 g ekstrak etanol ditambahkan ke dalam 20 ml akuades mendidih dan diaduk selama 20 menit, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh diasamkan dengan H_2SO_4 10% sampai pH 3 lalu diekstraksi dengan 20 ml eter sebanyak empat kali. Fraksi eter selanjutnya diuapkan hingga volume 20 ml dan diekstraksi kembali dengan 8 ml $NaHCO_3$ 20%. Lapisan air diasamkan dengan H_2SO_4 10% sampai pH 3, lalu diekstraksi dengan 20 ml eter sebanyak empat kali. Fraksi eter dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat, dan disaring. Filtrat selanjutnya diuapkan sampai kering. Residu dilarutkan dalam 1 ml metanol dan selanjutnya disebut fraksi TH.

Hidrolisis Asam

Sebanyak 2 g ekstrak etanol ditambahkan ke dalam 20 ml akuades mendidih dan diaduk selama 20 menit, kemudian disaring. Filtrat dihidrolisis dengan H_2SO_4 2N hingga pH 1 dalam penangas air

pada suhu 90°C selama 2 jam. Hasil hidrolisis lalu diekstraksi dengan 20 ml eter sebanyak empat kali. Fraksi eter selanjutnya diuapkan hingga volume 20 ml dan diekstraksi kembali dengan 8 ml NaHCO₃ 20%. Lapisan air diasamkan dengan H₂SO₄ 10% sampai pH 3, lalu diekstraksi dengan 20 ml eter sebanyak empat kali. Fraksi eter dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrat, dan disaring. Filtrat selanjutnya diuapkan sampai kering. Residu dilarutkan dalam 1 ml metanol dan selanjutnya disebut fraksi HA.

Hidrolisis Basa

Sebanyak 2 g ekstrak etanol ditambahkan ke dalam 20 ml akuades mendidih dan diaduk selama 20 menit, kemudian disaring. Filtrat selanjutnya dihidrolisis dengan NaOH 1N dalam tempat gelap pada suhu kamar selama 24 jam. Hasil hidrolisis diasamkan dengan H₂SO₄ 10% sampai pH 3, kemudian diekstraksi dengan 20 ml eter sebanyak empat kali. Fraksi eter selanjutnya diuapkan hingga volume 20 ml dan diekstraksi kembali dengan 8 ml NaHCO₃ 20%. Lapisan air diasamkan dengan H₂SO₄ 10% sampai pH 3, lalu diekstraksi dengan 20 ml eter sebanyak empat kali. Fraksi eter dikeringkan dengan Na₂SO₄ anhidrat, dan disaring. Filtrat diuapkan sampai kering. Residu

dilarutkan dalam 1 ml metanol dan selanjutnya disebut fraksi HB.

2.2.5 Pemisahan Asam Fenolat

Pemisahan asam fenolat dilakukan terhadap fraksi TH, HA, dan HB menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan plat silika gel GF₂₅₄ dan eluen campuran benzena, asam asetat, dan metanol dengan perbandingan tertentu. Noda yang nampak pada plat KLT diidentifikasi menggunakan penampak bercak diazo *p*-nitroanilin selanjutnya dibasakan menggunakan Na₂CO₃ 15%. Sebagai pembanding digunakan asam galat, asam kafeat, asam ferulat, dan asam *p*-kumarat. Noda asam fenolat yang mempunyai *Rf* sejajar dengan *Rf* noda asam fenolat pembanding, selanjutnya dipisahkan dengan KLT preparatif hingga diperoleh isolat asam fenolat. Uji kemurnian terhadap isolat asam fenolat dilakukan dengan KLT menggunakan 3 macam eluen dengan perbandingan tertentu dan KLT 2 dimensi.

2.2.6 Identifikasi Asam Fenolat

Identifikasi asam fenolat dilakukan menggunakan KLT, spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

2.2.7 Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif dilakukan terhadap fraksi yang mengandung asam fenolat menggunakan TLC Scanner. Kadar asam *p*-kumarat pada ekstrak etanol ditentukan menggunakan persamaan regresi kurva standar asam *p*-kumarat pembanding.

i. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji Aktivitas Antioksidan secara Kualitatif^[8]

Ekstrak etanol, isolat asam fenolat, dan asam

galat pembanding dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan KLT dengan plat silika gel GF₂₅₄ dan eluen dengan perbandingan tertentu. Setelah itu lempeng dikeringkan dan disemprot menggunakan larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol. Ekstrak yang bersifat antiradikal bebas akan menghasilkan peredaman warna dari ungu menjadi kuning pucat dalam jangka waktu tertentu.

Uji Aktivitas Antioksidan secara Kuantitatif

A. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Penentuan absorbansi maksimum DPPH dilakukan pada panjang gelombang 400-800 nm dengan mengukur nilai absorbansi larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol. Pengukuran nilai absorbansi dilakukan pada 4 ml larutan DPPH 0,1 mM + 0,2 ml larutan ekstrak etanol 200 mg/L. Perlakuan yang sama dilakukan terhadap isolat asam fenolat 250 mg/L dan asam galat 50 mg/L.

B. Operating Time

Operating time dilakukan dengan menambahkan 4 ml larutan DPPH 0,1 mM dengan 0,2 ml larutan ekstrak etanol 200 mg/L. Larutan uji selanjutnya dihomogenkan dan diukur pada menit ke-10, 20, 30, 40, dan 50 pada panjang

gelombang maksimum yang telah diperoleh (hasil A). Selisih absorbansi terbesar pada waktu tertentu merupakan *operating time*. Perlakuan yang sama dilakukan terhadap isolat asam fenolat 250 mg/L.

C. Pemeriksaan Aktivitas Antioksidan

Ekstrak etanol dibuat konsentrasi 200, 400, 600, 800, dan 1000 mg/L. Masing-masing konsentrasi pada ekstrak etanol sebanyak 0,2 ml dipipet dan dimasukkan ke dalam botol vial, kemudian ditambahkan 4 ml larutan DPPH 0,1 mM. Campuran

dihomogenkan dan dibiarkan selama beberapa menit (hasil B) di tempat gelap. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang tertentu (hasil A). Perlakuan yang sama dilakukan terhadap isolat asam fenolat (250, 500, 750, 1000, dan 1250 mg/L) dan asam galat (50, 100, 150, 200, dan 250 mg/L).

Kemampuan untuk meredam radikal DPPH (inhibisi) dapat dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{DPPH}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{DPPH}}} \times 100\%$$

Besarnya konsentrasi larutan uji untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas DPPH ditentukan dengan nilai IC₅₀ yang dihitung dari persentase penghambatan berbagai konsentrasi dengan menggunakan persamaan yang diperoleh dari kurva regresi linier.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol dibuat dengan mengekstraksi serbuk daun binahong melalui metode maserasi hingga menghasilkan ekstrak yang

berwarna hijau tua dengan rendemen 6,176%. Hasil penapisan fitokimia disajikan dalam tabel III.1.

Tabel III.1 Hasil penapisan fitokimia serbuk daun binahong, ekstrak n-heksana, dan ekstrak etanol

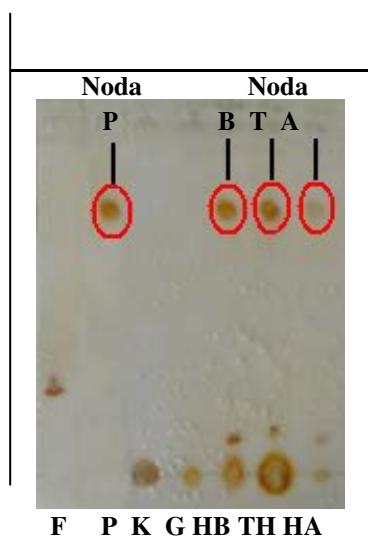
Gol.	Serbuk daun binahong	Ekstrak n-heksana	Ekstrak Etanol
Alkaloid	+	-	+
Flavonoid	+	-	+
Tanin			
Tanin Bebas	+	-	+
Tanin	+	-	+
Katekat			
Tanin Galat	+	-	+
Saponin	+	-	+
Steroid	+	+	-
Triterpen	+	+	-

Pada tabel di atas menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana tidak mengandung asam fenolat karena dalam uji tanin galat memberikan hasil negatif. Akan tetapi pada serbuk daun binahong dan ekstrak etanol mengandung asam fenolat karena dalam uji tanin galat memberikan hasil positif, sehingga asam fenolat dapat diisolasi dari ekstrak etanol daun binahong.

Isolasi asam fenolat dalam ekstrak etanol dilakukan dalam tiga tahap yaitu tanpa hidrolisis (TH)

untuk menarik asam fenolat bebas, hidrolisis asam (HA) untuk membebaskan asam fenolat dari bentuk glikosida, dan hidrolisis basa (HB) untuk membebaskan asam fenolat dari bentuk ester^[14].

Fraksi TH, HA, dan HB selanjutnya dilakukan identifikasi dengan KLT.



Gambar III.1 Hasil KLT fraksi HB, TH, dan HA, serta asam fenolat pembanding dengan eluen campuran benzena : asam asetat : metanol (50:50:1)

Keterangan :

- F : asam ferulat pembanding
- P : asam *p*-kumarat pembanding
- K : asam kafeat pembanding
- G : asam galat pembanding
- HB : fraksi hidrolisis basa
- TH : fraksi tanpa hidrolisis
- HA : fraksi hidrolisis asam

Pada gambar terlihat adanya 1

P yaitu 0,89 sehingga noda B, T, A yang dihasilkan kemungkinan adalah noda asam *p*-kumarat. Fraksi HB, TH, dan HA selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan KLT preparatif sehingga diperoleh isolat B, T, A. Isolat diuji kemurniannya menggunakan KLT 3 macam eluen dan KLT 2 dimensi. Hasil uji kemurnian menunjukkan bahwa isolat telah murni sehingga dilakukan identifikasi struktur.

Identifikasi isolat B, T, dan A dilakukan menggunakan metode KLT secara ko-kromatografi. Pada tahap identifikasi menggunakan KLT (gambar III.1), menunjukkan bahwa harga R_f noda B, T, dan A sejajar dengan R_f noda P. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan KLT, maka noda B, T, dan A pada masing-masing fraksi

noda yang dapat terpisah, yaitu noda B, T, dan A. Noda yang dihasilkan mempunyai R_f yang sejajar dengan noda

diperkirakan merupakan senyawa asam *p*-kumarat.

Identifikasi struktur dilakukan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dan *FTIR*. Hasil identifikasi dengan spektrofotometri *UV-Vis* dan *FTIR* berturut-turut disajikan pada tabel III.2 dan III.3.

Tabel III.2 Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) isolat B, T, dan A

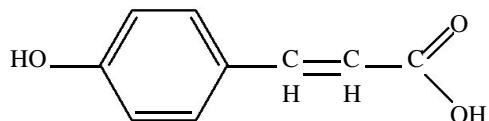
Sampel	Panjang gelombang maksimum (nm)	
Asam p-kumarat pembanding	290,5	
Fraksi	Isolat	
Hidrolisis Basa (HB)	B	288,5
Tanpa Hidrolisis (TH)	T	285,0
Hidrolisis Asam (HA)	A	284,5

Tabel III.3 Analisis spektrofotometri *FTIR* asam *p*-kumarat pembanding dan isolat B

Jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	
	Asam <i>p</i> -Kumarat pembanding	Isolat B
O-H ulur	3387,00	3394,72
=C-H alkena ulur	3101,20	3080,90
=C-H aromatik ulur	3032,10	3002,01
C=O asam karboksilat	1674,21	1674,21
C=C alkena	1627,92	1625,10
C=C aromatik	1604,77 ; 1512,19	1604,77; 1512,19
=C-H alkena tekuk	1450,47 ; 1381,03	1450,47; 1381,03
=C-H aromatik tekuk	1249,87 ; 1219,01	1249,87; 1229,55
C-O asam karboksilat	1172,72	1172,72
C-O alkohol	1111,00	1111,00
Benzena tersubstitusi	941,26 ; 833,25	941,26; 839,25

Berdasarkan data spektrofotometri *UV-Vis* dan *FTIR*, isolat B diduga

merupakan asam *p*-kumarat. Struktur asam *p*-kumarat ditunjukkan pada gambar III.2.



Gambar III.2 Struktur asam *p*-kumarat

Analisis kuantitatif asam fenolat dilakukan menggunakan *TLC Scanner*.

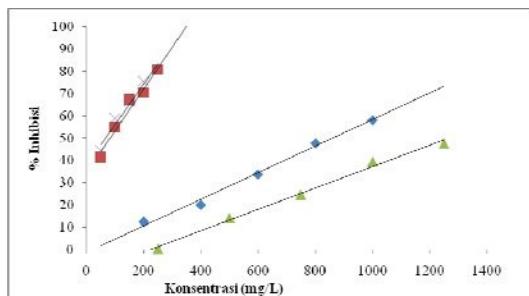
Analisis kuantitatif digunakan untuk mengetahui kadar asam *p*-kumarat pada ekstrak etanol daun binahong berdasarkan luas area noda pada plat KLT. Hasil yang diperoleh yaitu kadar asam *p*-kumarat pada fraksi TH, HA, dan HB, berturut-turut sebesar 8,11205%; 3,77526%; dan 23,57104%.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara kualitatif dan kuantitatif terhadap ekstrak etanol, isolat B, dan asam galat sebagai pembanding. secara kualitatif ekstrak etanol dan isolat B

mempunyai aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan adanya peredaman warna violet dari radikal DPPH. Ekstrak etanol dan isolat B mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih kecil daripada asam galat pembanding.

Uji aktivitas antioksidan dilanjutkan secara kuantitatif untuk menentukan aktivitas antioksidan menggunakan DPPH. Hasil yang diperoleh dari penentuan panjang gelombang maksimum dan *operating time*, tahap penentuan aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang 516,8 nm dengan waktu

pendiaman selama 10 menit. Asam galat pembanding juga dilakukan dengan waktu pendiaman 30 menit^[10]. Penentuan aktivitas antioksidan secara kuantitatif ditentukan melalui nilai IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin besar aktivitas antioksidannya^[10]. Grafik aktivitas antioksidan ditunjukkan pada gambar III.3.



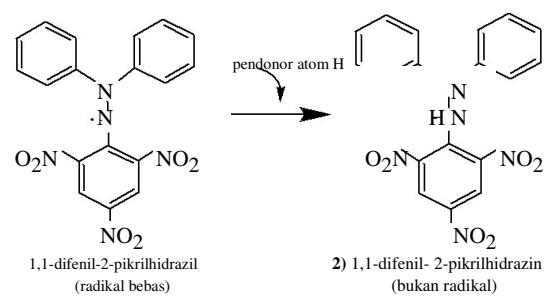
Gambar III.3 Grafik aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol, isolat B, dan asam galat pembanding

Keterangan :

- : Asam Galat Pembanding 10 menit
 $y = 0.187x + 34.67 ; r = 0.982$
- ✖ : Asam Galat Pembanding 30 menit
 $y = 0.179x + 38,17 ; r = 0,986$
- ◆ : Ekstrak Etanol
 $y = 0.059x - 1.147 ; r = 0.995$
- ▲ 0.995 : Isolat B
 $y = 0.048x - 10.64 ; r = 0.995$

Hasil perhitungan menunjukkan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol, isolat B, dan asam galat pembanding 10 menit, serta asam galat pembanding 30 menit masing-masing sebesar 866,8983 mg/L, 1263,333 mg/L, dan 81,9186 mg/L, serta 66,0894 mg/L. Kriteria aktivitas yang digunakan, yaitu IC₅₀ < 100 µg/ml: sangat aktif; 100 -1000 µg/ml: aktif; 1000-5000 µg/ml: aktivitas rendah; > 5000 µg/ml: tidak aktif^[5]. Secara

keseluruhan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan isolat B dari daun binahong masih di bawah aktivitas antioksidan asam galat pembanding. Hal ini dikarenakan ekstrak etanol dari daun binahong bukan merupakan senyawa murni, tetapi terdapat kandungan senyawa-senyawa lain yang tidak mempunyai aktivitas antioksidan. Meskipun demikian, ekstrak etanol dari daun binahong mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih besar bila dibandingkan dengan isolat B yang diduga merupakan asam *p*-kumarat. Senyawa ini telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan yang rendah^[2]. Hal ini disebabkan asam *p*-kumarat mempunyai radikal proton yang lebih sedikit daripada asam galat, sehingga kemampuan asam *p*-kumarat untuk mendonorkan radikal protonnya juga lebih kecil. Reaksi peredaman DPPH ditunjukkan pada gambar III.4.



Gambar 3.4 Reaksi peredaman radikal DPPH^[9]

IV. KESIMPULAN

Jenis asam fenolat yang terkandung dalam ekstrak etanol daun binahong diduga merupakan asam *p*-kumarat.

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol dan isolat B (asam *p*-kumarat) menunjukkan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 866,8983 mg/L dan 1263,3333 mg/L.

V. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chatchawal, C., Natsajee, N., Srisomporn, P., Supatra, P., dan Aroonsri, P., 2010, Physical and Biological properties of Mucilage from *Basella alba* L. stem and its gel formulation, *IJPS*, 6 (3), 104-112
- [2] Chibbar, R.N., Verma, B., dan Hucl, P., 2009, Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions, *J. Food Chem.*, 116, 947-954
- [3] Fransworth, N.R., 1966, Review Article: Biological and phytochemical screening of plants, *J. of Pharm. Sci.*, 55 (3), 245-264
- [4] Kemila, M., 2010, Uji aktivitas antidiabetes mellitus infus daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) pada tikus putih jantan, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Islam Indonesia
- [5] Kim
- [6] Kumala, K.R., 2010, Identifikasi polifenol pada ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis), *Tugas Akhir*, D3 Analis Universitas Muhammadiyah Semarang
- [7] Kurniati, H., 2011, Uji efektivitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai antibakteri *Salmonella typhi* penyebab tifus, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu
- [8] Masoko, P., and Eloff, J.N., 2007, Screening of twenty-four South African *Combretum* and six *Terminalia* species (*Combretaceae*) for antioxidant activities, *Afr. J. Trad. CAM*, 4 (2), 231-239
- [9] Mattila, P., dan Helstrom, J., 2006, Original Article : Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products, *J. of Food Composition and Analysis*, 20, 152-160
- [10] Molyneux, P., 2004, Original Article : The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26 (2), 211-219
- [11] Rochani, N., 2009, Uji aktivitas antijamur ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimianya, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- [12] Rachmawati, S., 2008, Studi makroskopi, mikroskopi, dan skrining fitokimia daun *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, *Skripsi*, Universitas Airlangga
- [13] Sumartiningsih, S., 2011, The effect of binahong to hematoma, *World Academy of Science, Engineering, and Technology*, 78
- [14] Wijono, S.H.S., 2004, Isolasi dan identifikasi asam fenolat pada daun katu (*Sauvagesia androgynus* (L.) Merr.), *Makara Kesehatan*, 8 (1), 32-36