UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BINAHONG (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) DENGAN 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL (DPPH) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Antioxidant Activity of Binahong (Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis) Leafs Extracts with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Using UV-Vis Spectrophotometer

*Ni Kadek Fina Parwati, Mery Napitupulu dan Anang Wahid M. Diah

Pendidikan Kimia/FKIP - Universitas Tadulako, Palu - Indonesia 94118

Received 15 October 2014, Revised 17 November 2014, Accepted 18 November 2014

Abstract

Testing of antioxidant activity of binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) leafs extracts has been done with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) using UV-Vis Spectrophotometer. The aim of this research was to determine the antioxidant activity of binahong leafs extracts. Concentration of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) after addition of Binahong leafs extracts was determined using UV-Vis spectrophotometer. Various concentrations of binahong leafs extracts were 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm and 80 ppm. Vitamin C was the positive control used at similar variation concentrations, whereas DPPH solution dissolved in absolute ethanol was as the negative control. The results showed that the IC_{50} values obtained for Binahong leafs extracts and vitamin C were 40.27 ppm and 49.20 ppm. Based on the IC_{50} data, it can be seen that binahong leafs extracts are stronger antioxidant than vitamin C.

Keywords: Antioxidant, binahong, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), UV-Vis spectrophotometer

Pendahuluan

Makanan instant (siap saji) yang banyak dikonsumsi masyarakat saat ini dapat mengandung xenobiotik seperti bahan pengawet, zat warna, penyedap rasa, serta zat kimia lain yang sangat berbahaya apabila dikonsumsi secara terus menerus. Xenobiotik dapat menjadi radikal bebas di dalam tubuh manusia (Apriandi, 2011). Radikal bebas dapat merusak sistem imunitas tubuh dan juga dapat memicu timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit kanker dan stroke. Oleh karena itu pembentukan radikal bebas harus dihalangi atau dihambat dengan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Selain itu, antioksidan juga berguna untuk mengatur agar tidak terjadi proses oksidasi berkelanjutan

*Correspondence: N. K. F. Parwati Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako email: nikadekfinaparwati@yahoo.com Published by Universitas Tadulako 2014 di dalam tubuh (Selawa, dkk., 2013).

Antioksidan sintetik seperti butylated hidroxy aniline (BHA) dan butylated hidroxy toluen (BHT) telah diketahui memiliki efek samping yang besar antara lain menyebabkan kerusakan hati (Kikuzaki, dkk., 2002). Di sisi lain alam menyediakan sumber antioksidan yang efektif dan relatif aman seperti flavonoid, vitamin C, beta karoten dan lain-lain. Hal tersebut mendorong semakin banyak dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan. Kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tanaman dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tanaman baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga maupun serbuk sari (Sarastani, dkk., 2002). Antioksidan juga dapat diperoleh dari asupan makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E dan betakaroten serta senyawa fenolik (Prakash, dkk., 2001).

Pereaksi yang biasa digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan yaitu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH memberikan informasi reaktivitas terhadap senyawa yang akan diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Sunarni, dkk., 2007). Senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal bebas akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkal radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004).

Salah satu tumbuhan yang menarik untuk diteliti adalah binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) (Selawa, dkk., 2013). Tumbuhan ini sering digunakan oleh masyarakat Vietnam sebagai obat tradisional, di antaranya untuk menyembuhkan luka bakar, rematik, asam urat, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, radang usus dan kanker. Di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai gendola yang sering digunakan sebagai gapura yang melingkar di atas jalan taman. Namun, manfaat dari tanaman ini belum banyak dikenal dalam masyarakat Indonesia (Manoi, 2009).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Astuti, dkk., 2011) menunjukkan bahwa tumbuhan binahong mengandung senyawa flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang berpotensi sebagai antioksidan. Selanjutnya Titis, dkk., (2013) mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak daun binahong. Isolat (ekstrak etanol) alkaloid adalah senyawa betanidin $(C_{18}H_{16}N_2O_8)$. Penelitian tentang pengaruh ekstrak etanol daun binahong pada model tikus gagal ginjal juga telah dilakukan. Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak etanol daun binahong dosis 50, 100 dan 200 mg/kg bb dapat memperbaiki fungsi ginjal tikus betina dengan menurunkan kadar kreatinin darah (P < 0,05) (Sukandar, dkk., 2010). Selanjutnya Umar, dkk., (2012) juga meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (anredera cordifolia (Tenore) Steenis) terhadap kesembuhan luka infeksi staphylococcus aureus pada mencit. Hasil yang diperoleh yaitu ekstrak daun binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis) dapat mempercepat kesembuhan luka infeksi staphylococcus aureus pada mencit. Selain itu Sanarto, dkk., (2010) juga menyatakan bahwa daun binahong berpotensi sebagai antioksidan alami karena mengandung asam askorbat (vitamin C) dan total fenol yang cukup tinggi. Hal inilah yang menjadi inspirasi bagi peneliti

untuk melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan dalam daun binahong.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako. Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu corong, neraca analitik, blender, seperangkat alat rotary vacuum evaporator, spektrofotometer UV-Vis PG instruments Ltd, labu takar, penangas air, dan peralatan gelas yang umum digunakandi laboratorium. Bahan-bahan yang digunakan yaitu daun binahong, etanol absolut, reagen mayer, logam Mg, HCl 2N, FeCl3 1%, Aquadest, DPPH, vitamin C (Merck).

Preparasi sampel dilakukan dengan menyiapkan dan membersihkan sampel daun binahong dari kotoran yang menempel, memotong kecil-kecil, selanjutnya mengeringkan sampel daun binahong cara diangin-anginkan. kering, kemudian sampel dihaluskan dengan menggunakan blender. Setelah itu, sampel daun binahong yang halus tersebut siap untuk diekstraksi. Pembuatan ekstrak daun binahong dimulai dengan menimbang 30 gram serbuk kering daun binahong. Sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan 300 mL etanol absolut. Kemudian menutup erlenmeyer tersebut dengan menggunakan aluminium foil dan direndam selama 2 x 24 jam (48 jam) sambil dikocok menggunakan shaker orbital. Ekstrak disaring menggunakan saring dan filtrat yang didapatkan akan digunakan dalam pengujian metabolit sekunder.

1) Uji Alkaloid

0,1 gram ekstrak daun binahong ditambahkan dengan 5 mL etanol absolut, kemudian ditambahkan dengan reagen mayer setetes demi setetes. Terbentuknya endapan yang berwarna putih sebagai indikator reaksi positif adanya alkaloid.

2) Uji Flavonoid

0,1 gram ekstrak daun binahong ditambahkan dengan 5 mL etanol absolut kemudian ditambahkan lagi dengan 0,1 gram logam Mg. Jika terbentuk warna kuning jingga menunjukkan reaksi positif adanya flavonoid.

3) Uji Saponin

ambahkan dengan 5 mL aquades panas lalu didinginkan. Setelah itu campuran dikocok sampai muncul buih dan didiamkan selama 2 menit. Selanjutnya campuran ditambahkan dengan 2 tetes HCl 2 N dan dikocok lagi sampai terbentuk buih yang

mantap selama 10 menit. Terbentuknya buih tersebut sebagai indikator reaksi positif adanya saponin.

4) Uji Tanin

0,1 gram ekstrak daun binahong ditambahkan dengan 5 mL etanol absolut kemudian ditetesi dengan FeCl₃ 1%. Terbentuk warna biru tua menunjukkan reaksi positif adanya tanin.

Uji Aktivitas Antioksidan

1) Pembuatan Larutan

Larutan induk dan larutan pembanding dipipet masing-masing 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, dan 2 mL, kemudian masing- masing dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, setelah itu ditambahkan 5 mL larutan DPPH dan volumenya dicukupkan dengan etanol absolute sampai garis tanda.

2) Pengukuran Serapan Blanko

Pengukuran dilakukan dengan cara memipet 5 mL DPPH dan dicukupkan volumenya sampai 25 mL dengan etanol absolut dalam labu ukur. Larutan ini kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Semua pengerjaan dilakukan pada ruang yang terhindar dari cahaya matahari.

3) Pengukuran Persentase Penghambatan

Pengukuran persentase penghambatan serapan diukur setelah 30 menit pada panjang gelombang 517 nm. Besarnya persentase penghambatan dihitung dengan rumus (Rastuti & Purwati, 2012).

% Penghambatan = $\frac{\text{(abs blanko - abs sampel)}}{\text{abs blanko}} \times 100$

4) Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan IC50 dari senyawa antioksidan. Nilai IC50 diperoleh dari beberapa tahapan yaitu menghitung nilai log konsentrasi dan nilai probit dari sampel. Nilai probit ditentukan menggunakan rumus (Zuhra, dkk., 2008):

Probit = (Harga probit tertinggi – Harga probit terendah) (Persentase penghambat (%) – probit terendah) + Harga Probit terendah

Selanjutnya menghubungkan nilai probit dan nilai log konsentrasi yang diperoleh dalam satu grafik utuh, dimana nilai log konsentrasi dijadikan sebagai sumbu X dan nilai probit digunakan sebagai sumbu Y (Isnindar, dkk., 2011).

Hasil dan Pembahasan

Proses Ekstraksi Daun Binahong dengan menggunakan Larutan Etanol Absolut

Ekstraksi daun binahong dengan menggunakan larutan etanol absolut. Teknik ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi karena metode ini mudah dilakukan dan tidak memerlukan alat khusus. Pelarut yang dipilh yakni pelarut etanol karena mudah diperoleh dan pelarut ini dapat mengesktrak hampir semua senyawa bahan alam yang terdapat pada tumbuhan (Kuntorini & Astuti, 2010). Selain itu, penggunaan etanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi ditinjau dari sifat polar yang dimiliki etanol. Sesuai tinjauan literatur bahwa urutan penggunaan pelarut dalam proses ekstraksi dari suatu bahan alam yaitu pelarut yang bersifat non polar, semi polar dan polar. Hal ini dikarenakan senyawa aktif yang terkandung dalam bahan alam secara umum bersifat polar. Oleh karena prinsip dari senyawa kimia yaitu like dissolve like, yang artinya suka sama suka atau lebih tepatnya kemiripan sifat akan memudahkan suatu senyawa kimia bereaksi atau bergabung (Harborne, 1987).

Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan (fitokimia) pada serbuk simplisia ekstrak daun binahong menunjukkan hasil positif terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan tannin dan negative terhadap saponin . Adapun tujuan uji pendahuluan yaitu untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak daun binahong yang diharapkan dapat berperan sebagai antioksidan.

Cara yang dilakukan untuk mendeteksi golongan senyawa alkaloid yaitu dengan menggunakan pereaksi Mayer yang ditandai dengan adanya endapan putih. Sedangkan adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning-jingga dan adanya tannin ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna biru tua (Aryanti, dkk., 2007).

Uji adanya senyawa alkaloid pada penelitian ini menggunakan pereaksi Mayer dan uji positif menghasilkan endapan berwarna putih.. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkuri(II) klorida ditambah kalium iodida akan membentuk endapan merah merkuri(II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II).

Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K+ dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Mekanisme terbentuknya endapan putih tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1.**

Gambar 1. Mekanisme Reaksi Alkaloid (Marliana, dkk., 2005).

Uji adanya senyawa flavonoid pada penelitian ini menggunakan logam magnesium dan larutan HCl pekat. Menurut Robinson (1995), tujuan penggunaan logam Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Mekanisme terbentuknya warna tersebut disajikan pada Gambar 2.

$$2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Favorani \end{array}}_{Gr} 2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr} + MgCl_2 \underbrace{\begin{array}{c} 2 \\ \sum_{G} \\ Gr \end{array}}_{Gr}$$

Gambar 2. Mekanisme reaksi uji flavonoid (Lathifah, 2008).

Sedangkan uji adanya tanin pada penelitian ini menggunakan larutan FeCl3 1%. Terbentuknya warna biru tua atau biru kehitaman pada ekstrak daun binahong setelah ditambahkan dengan FeCl3 1% karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³+. Uji fitokimia dengan menggunakan FeCl3 bertujuan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna biru tua atau biru kehitaman setelah ditambahkan

dengan FeCl₃, sehingga apabila uji fitokimia dengan FeCl₃ memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah merupakan senyawa tanin karena tanin polifenol. Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl₃ karena adanya ion Fe³⁺ sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya. Ion Fe³⁺ pada reaksi di atas mengikat tiga tanin yang memiliki 2 atom donor yaitu atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi, sehingga ada enam pasangan elektron bebas yang bisa dikoordinasikan ke atom pusat. Atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi memiliki energi paling rendah dalam pembentukan senyawa kompleks, sehingga memungkinkan menjadi sebuah ligan, seperti yang terlihat pada Gambar 3.

Gambar 3. Reaksi antara tanin dan FeCl3 (Sa'adah, 2010).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Binahong

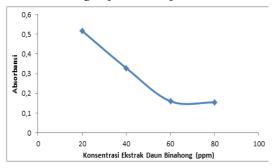
Pengukuran aktivitas antoksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH dalam etanol yang semula berwarna ungu berubah menjadi warna kuning. Perubahan ini terjadi saat radikal DPPH ditangkap oleh antioksidan yang melepas atom hidrogen untuk menangkap DPPH-H stabil. Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.

Nilai absorbansi ekstrak daun binahong semakin berkurang dengan meningkatnya

$$O_2N$$
 O_2 O_2N O_2 O_2N O_2 O_2N O_2 O_2N O_2 O_2

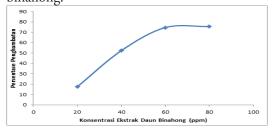
Gambar 4. Reaksi Antara Antioksidan dan Molekul DPPH (Prakash, dkk., 2001).

konsentrasi. Hal ini dapat terjadi karena adanya reduksi radikal DPPH oleh antioksidan, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung akan semakin banyak sehingga semakin besar pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan absorbansinya semakin berkurang (Molyneux, 2004). Hasil penelitian nilai absorbansi ekstrak daun binahong dapat dilihat pada **Gambar 5.**



Gambar 5. Nilai Absorbansi DPPH

Berdasarkan nilai absorbansi sampel dihitung pula aktivitas antioksidan dari ekstrak daun binahong yang ditinjau dari hasil perhitungan persentase penghambatan radikal bebas. **Gambar 6** menunjukkan persentase penghambatan radikal bebas dari ekstrak daun binahong.



Gambar 6. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Binahong

Kurva pada Gambar 6 menunjukkan

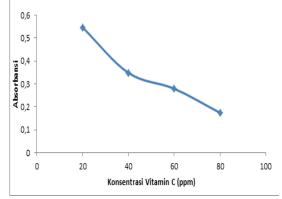
bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun binahong semakin besar pula persentase penghambat radikal DPPH. Konsentrasi tertinggi dari ekstrak daun binahong yang diujikan yakni 80 ppm memiliki persentase penghambatan radikal bebas sebesar 75,439%, konsentrasi 60 ppm sebesar 74,482%, konsentrasi 40 ppm sebesar 52,312% dan konsentrasi 20 ppm memiliki persentase penghambatan radikal bebas sebesar 17,544%. Hasil persentase penghambatan radikal bebas didukung dengan hasil yang diperoleh dimana warna larutan DPPH yang semula berwarna ungu berubah menjadi warna kuning setelah ditambahkan ekstrak daun binahong.

Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Asam askorbat (vitamin C) mempunyai berat molekul 178 gram/mol dengan rumus molekul C₆H₈O₆ dalam bentuk kristal tidak berwarna, titik cair 190°C -192°C. Vitamin C bersifat mudah larut dalam air, sedikit larut dalam aseton dan alkohol yang mempunyai berat molekul rendah serta sukar larut dalam kloroform, eter dan benzene (Harborne, 1987).

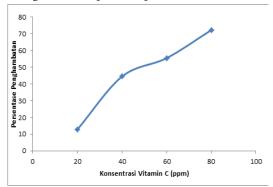
pertama Perlakuan yang dilakukan dalam pengujian ini yaitu membuat larutan induk vitamin C 1000 ppm. Selanjutnya, mengencerkan larutan tersebut menjadi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm. Konsentrasi dari larutan vitamin C ini mengikuti konsentrasi dari ekstrak daun binahong. Hal ini dilakukan agar peneliti dapat membandingkan aktivitas antioksidan dari daun binahong dan vitamin C pada konsentrasi yang sama. Vitamin C dijadikan pembanding pada penelitian ini karena vitamin C merupakan zat antioksidan alami yang sangat kuat (Atun, 2006).

Semakin besar konsentrasi vitamin C, maka semakin kecil nilai absorbansi yang diperoleh. Uji aktivitas antioksidan terhadap vitamin C dapat ditunjukkan pada **Gambar** 7.



Gambar 7. Nilai Absorbansi DPPH

Berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh pada uji antioksidan tersebut maka dapat diperoleh pula persentase penghambatan radikal bebas DPPH seperti terlihat pada Gambar 8. Kurva pada Gambar 8. menunjukkan hubungan konsentrasi vitamin C dengan persentase penghambatan radikal bebas DPPH. Semakin besar konsentrasi vitamin C, maka semakin besar pula persentase penghambatan radikal bebas DPPH. Hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi vitamin C maka semakin banyak partikel-partikel yang dapat mengoksidasi partikel-partikel dari radikal

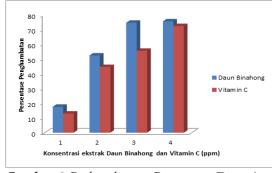


Gambar 8. Aktivitas Antioksidan Vitamin C.

bebas DPPH yang ada.

Perbandingan Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Daun Binahong dengan Kontrol Vitamin C

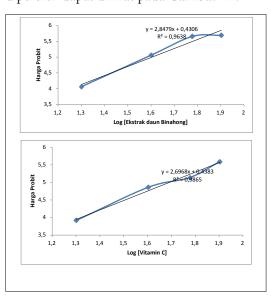
Data yang diperoleh pada persentase penghambatan radikal bebas DPPH memiliki nilai yang berbeda antara ekstrak daun binahong dan vitamin C. Dimana persentase penghambatan radikal DPPH untuk ekstrak daun binahong lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C. Perbandingan persentase penangkap radikal bebas dari ekstrak daun binahong dan vitamin C dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9 Perbandingan Persentase Daya Antioksidan Ekstrak Daun Binahong dan Vitamin C

Berdasarkan **Gambar 9** terlihat bahwa persentase penghambatan radikal bebas antara ekstrak daun binahong dan vitamin C tidak terlalu berbeda jauh, hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun binahong dapat dikatakan sebagai zat antioksidan karena persentase penghambatan radikal DPPH ekstrak daun binahong lebih besar dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Oleh karena itu, ekstrak daun binahong sangat baik digunakan sebagai bahan antioksidan alami.

Hasil Pengukuran IC₅₀ Ekstrak Daun Binahong Nilai IC50 diperoleh dari beberapa tahapan yaitu menghitung nilai log konsentrasi dan nilai probit untuk masing-masing persentase aktivitas penghambat radikal bebas DPPH. Selanjutnya menghubungkan kedua data dari perhitungan yang diperoleh dalam satu grafik utuh. Nilai log konsentrasi dijadikan sebagai sumbu x dan nilai probit digunakan sebagai sumbu y. Adapun persamaan regresi dari ekstrak daun binahong dan vitamin C yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hubungan Log konsentrasi dan Probit untuk (A) Ekstrak Daun Binahong (B) Vitamin C

Berdasarkan kurva pada Gambar 11 diperoleh persamaan regresi linear Y = 2,847X + 0,430 untuk esktrak daun binahong (sampel) dan Y = 2,696X + 0,438 untuk vitamin C (Pembanding /Kontrol positif). Berdasarkan Gambar 11 dapat diperoleh nilai r untuk ekstrak daun binahong dan Vitamin C sebagai kontrol positif yaitu masing-masing 0,963 dan 0,986. Nilai r yang diperoleh tersebut dapat diartikan bahwa data probit dari ekstrak daun

binahong dan vitamin C hampir mendekati 1 yang artinya data hasil penelitian yang diperoleh

sangat baik (Day, 1999).

Nilai IC50 yang diperoleh dari hasil perhitungan akhir yaitu untuk ekstrak daun binahong mempunyai IC₅₀ sebesar 40,27 ppm sedangkan IC_{50} yang dihasilkan vitamin C sebesar 49,20 ppm. Hal ini menjelaskan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas ekstrak daun binahong termasuk dalam golongan sangat kuat dikarenakan nilai IC50 yang diperoleh dari perhitungan kurang dari 50 ppm yaitu 40,27 ppm. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa tingkat kekuatan antioksidan menggunakan DPPH dapat digolongkan menurut IC50 . Antioksidan dikategorikan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, antioksidan dikategorikan kuat jika IC50 bernilai 50-100 ppm, antioksidan dikategorikan sedang jika IC $_{50}$ bernilai 100-150 ppm, dan antioksidan dikategorikan lemah jika IC $_{50}$ bernilai lebih dari 150 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin kuat daya antioksidannya (Molyneux, 2004).

Kesimpulan

Ekstrak daun binahong memiliki daya antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 40,27 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis berikan kepada laboran Laboratorium Agroteknologi FAPERTA Universitas Tadulako yang banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Referensi

- Apriandi, A. (2011). Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif keong ipong-ipong (fasciolaria salmo). Bogor: IPB. Diunduh kembali dari http://dosen.narotama.ac.id/wp-content/uploads/2012/03/Aktivitas-antioksidan-dan-komponen-bioaktif-keong-ipong-ipong-Fasciolaria-.pdf
- Aryanti, Harsojo, Syafria, Y. & Ermayanti, T. M. (2007). Isolasi dan uji antibakteri batang sambung nyawa (gynura procumbens lour) umur panen 1, 4 dan 7 bulan. *Bahan Alam Indonesia*, 6(2), 43-45.
- Astuti, S. M., Sakinah, M., Andayani, R. & Risch, A. (2011). Determination of saponin compound from anredera cordifolia (ten)

- steenis (binahong) to potential treatment for several deseases. *Journal of Agricultural Science*, 3(4), 224-231.
- Atun, S. (2006). Hubungan struktur dan aktivitas antioksidan beberapa senyawa resveratrol dan turunannya. , Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta. Diunduh kembali dari http://staff.uny.ac.id/sites/default/files/Hubungan%20struktur%20dan%20aktivitas%20antioksidan%20senyawa%20resveratrol.pdf.
- Day, R. A. (1999). Analisis kimia kuantitatif. Edisi keenam. Jakarta: Erlangga.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Isnindar, Wahyuono, S. & Setyowati, E. P. (2011). Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (diospyros kaki thunb.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Diunduh kembali dari http://mot.farmasi.ugm.ac.id/files/938.%20Isnindar.pdf.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. & Taniguchi, H. (2002). Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of Agricultur and Food Chemistry*, 50(7), 2161-2168.
- Kuntorini, E. M. & Astuti, M. D. (2010). Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol bulbus bawang dayak (eleutherine americana merr.). *Sains dan Terapan Kimia.* 4(1), 15-22.
- Lathifah, Q. A. Y. (2008). Uji efektifitas ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh (averrhoa bilimbi l.) dengan variasi pelarut. Universitas Islam Negeri Malang. Diunduh kembali dari http://lib.uin-malang.ac.id/files/thesis/fullchapter/03530015.pdf
- Manoi, F. (2009). Binahong (anredera cordifolia (ten) steenis) sebagai obat. *Jurnal Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri.*, 15(1), 3-5.
- Marliana, S. D., Suryanti, V. & Suyono. (2005). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (sechium edule jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26-31.

- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology, 26*(2), 211-219.
- Prakash, A., Rigelhof, F. & MIller, E. (2001). Antioxidant activity. *Medallion Laboratories: Analithycal Progres, 19*(2), 1-4.
- Rastuti, U. & Purwati. (2012). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kalba (albizian falcataria) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan identifikasi senyawa metabolit sekundernya. *Molekul,* 7(1), 33-42.
- Robinson, T. (1995). Kandungan organik tumbuhan tinggi. Edisi ke–6. Kosasih Padmawinata: The organic constituents of higher plants; 6th ed (1991). Bandung: ITB.
- Sa'adah, L. (2010). Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (averrhoa bilimbi l.). Universitas Islam Negeri, Malang. Retrieved from Diunduh kembali dari http://lib.uin-malang.ac.id/files/thesis/fullchapter/05530003.pdf
- Sanarto, Prijadi & Tanjaya. (2010). Uji efektivitas ekstrak daun binahong (anredera cordifolia) sebagai antibakteri terhadap escherichia coli secara in vitro. *Jurnal Penelitian*, 1-11.
- Sarastani, D., Soekarto, S. T., Muchtadi, T. R., Fardiaz, D. & Apriyantono, A. (2002). Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi ekstrak biji atung (parinarium glaberrimum hassk). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*,

- 13(2), 149-156.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R. J. & Citraningtyas, G. (2013). Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [anredera cordifolia(ten.)steenis.]. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(1), 18-22.
- Sukandar, E. Y., Qowiyah, A. & Minah, N. (2010). Pengaruh ekstrak etanol daun binahong anredera cordifolia (Ten) steenis (binahong) pada model tikus gagal ginjal. *Jurnal Medica Planta*, 1(2), 1-8.
- Sunarni, T., Pramono, S. & Asmah, R. (2007). Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (stelechocarpus burahol (bl.) hook f. & th.). *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 111-116.
- Titis, M., Fachriyah, E. & Kusrini, D. (2013). Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas alkaloid daun binahong (Anredera cordifolia (ten) steenis). *Journal of Chemical Information*, *1*(1), 196-201.
- Umar, A., Krihariyani, D. & Mutiarawati, D. T. (2012). Pengaruh pemberian ekstrak daun binahong (anredera cordifolia (tenore) steenis) terhadap kesembuhan luka infeksi staphylococcus aureus pada mencit. *Jurnal Analisis Kesehatan Sains*, 1(2), 1-8.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B. & Sihotang, H. (2008). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (sauropus androgunus(l) merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.