

**BUKTI KORESPONDENSI ARTIKEL
DI JURNAL NASIONAL TERAKREDITASI**

Judul artikel : Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis)

Jurnal : Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda (Sinta 5)

Penulis : **Irma Erika Herawati***, Ita Inayah, Lisna Dewi, Hesty Nur Hanifah

No	Perihal	Tanggal
1	Bukti submit manuskrip dan manuskrip yang disubmit	31 Mei 2025
2	Bukti review manuskrip (Reviewer 1)	8 Juli 2025
3	Bukti review manuskrip (Reviewer 2)	12 Juli 2025
4	Bukti manuskrip yang direvisi	25 Juli 2025
5	Bukti manuskrip diterima (LoA)	30 Juli 2025
6	Artikel terbit	30 September 2025

**1. Bukti submit manuskrip dan draft manuskrip yang disubmit
(31 Mei 2025)**



imelda jifarmasi



Active



Google

- 69 Compose
- Mail
- Inbox
- Starred
- Snoozed
- Sent
- Drafts
- More

Labels

69

[JIFARMASI] Submission Acknowledgement External Inbox x



8 of 10



Nurbeti Sinulingga <jurnal.univimeldamedan@gmail.com>
to me

Sat, May 31, 11:06 AM

Irma Erika Herawati:

Thank you for submitting the manuscript, "KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (Anredera cordifolia Ten.Steenis) " to JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda). With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Submission URL: <https://jurnal.uimedan.ac.id/index.php/JURNALFARMASI/authorDashboard/submission/1916>

Username: irmayuris

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Nurbeti Sinulingga

[JIFI \(Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda\)](#)

Thank you for your response.

Thank you for your mail.

Thank you for your information.

Reply

Forward

1916 / Herawati et al. / KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSI

Library

Submissions

Workflow

Publication

Submission

Review

Copyediting

Production

Submission Files

Search

▶	 6400487-1	irmayuris, Manuskrip Binahong JIFI.docx	May 31, 2025	Article Text
▶	 6400488-1	irmayuris, Surat Pernyataan Irma.pdf	May 31, 2025	Other
▶	 6400701-1	janeelnovreny, KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG.docx	July 3, 2025	Article Text

Download All Files

KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis)

Irma Erika Herawati^{1*}, Ita Inayah², Lisna Dewi², Hesty Nuur Hanifah²

¹Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jl. Soekarno-Hatta No.354, Bandung, Jawa Barat, 40266

² Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al Ghifari, Jl. Cisaranten Kulon No.140, Bandung, Jawa Barat.

*Alamat korespondensi: irmaerika@stfi.ac.id

Abstract

Antioxidant plays an important role in the body's defense against various diseases, because antioxidant compounds were able to prevent bad effects caused by free radicals. Phenolic and flavonoids compound are known as natural antioxidant from plants. Binahong (*Anredera cordifolia*) is known contain phenolic and flavonoid. The aim of this research was to determine total phenolics, flavonoids content and also antioxidant activity from extract binahong using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that binahong ethanol extract had total phenolic 223.76 mg GAE/g and flavonoid content of 0.483 mg RE/g. Meanwhile, for antioxidant activity, IC₅₀ for ethanol extract, ethyl acetate fraction, and water fraction were 717.27; 586.28; dan 425.81 ppm respectively. Binahong extracts and fractions are included in the weak antioxidant category.

Keywords: phenolics, flavonoids, antioxidant, binahong

1. INTRODUCTION

Penggunaan tanaman untuk pengobatan sudah sejak lama dilakukan. Saat ini semakin banyak penelitian untuk mendapatkan sumber-sumber pengobatan dari tanaman obat, salah satu bidang penelitian yang sedang banyak diminati saat ini adalah berhubungan dengan radikal bebas dan aktivitas antioksidan. Tanaman obat banyak dieksplorasi penggunaannya sebagai aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan alamiah cenderung lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis (Hamzah et al., 2022).

Radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, membuat molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Reaksi yang terjadi terus-menerus di dalam tubuh jika tidak dikendalikan dapat menimbulkan berbagai macam penyakit seperti kanker, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa yang diperlukan untuk mencegah dan menetralkan kerusakan akibat radikal bebas adalah senyawa antioksidan, karena senyawa antioksidan dapat mencegah reaksi berantai yang diakibatkan oleh radikal bebas (Nugraheni et al., 2024).

Metode pengujian untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan dari bahan alam adalah metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode ini memiliki kelebihan yaitu

proses pengukurannya lebih cepat, sederhana, dan juga membutuhkan biaya yang murah (Nugraheni et al., 2024).

Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis) telah banyak diteliti aktivitas senyawa kimianya, dengan memfokuskan kepada kandungan metabolit sekunder seperti fenolik dan alkaloid. Dari penelitian yang sudah dilakukan menyimpulkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman binahong memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan semua pelarut (Hamzah et al., 2022). Dari penelitian yang sudah dilakukan, belum ada penelitian yang melakukan pengukuran kandungan metabolit sekunder flavonoid dan juga pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi daun binahong. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan fenolik, flavonoid total, juga pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari daun binahong.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800, Jepang), *rotary vaporator* (IKA RV 8, Jerman), timbangan analitik, maserator, labu tentu ukur, gelas ukur, dan alat-alat lain yang umum digunakan di laboratorium. Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 70%, FeCl₃, gelatin 1%, HCl, serbuk magnesium (Mg), asam galat, kuersetin, pereaksi Folin-Ciocalteu, AlCl₃, natrium karbonat, natrium asetat, dan DPPH (Sigma Aldrich). Semua bahan kimia yang digunakan merupakan pelarut analitis (Merck, Jerman).

Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Daun binahong dikumpulkan dari Balai Penelitian, Tanaman Rempah dan Obat, Kebun Percobaan Manoko, Cikahuripan, Kecamatan Lembang, Jawa Barat pada bulan Agustus 2019. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor.

Ekstraksi

Daun binahong sebanyak 500 g diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi selama 3x24 jam, dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak cair dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary vaporator* kemudian dihitung rendemen ekstrak (Fathurrahman et al., 2024).

Fraksinasi

Ekstrak etanol kental daun binahong difraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Ekstrak dilarutkan dengan akuades yang sudah dipanaskan pada suhu 60°C lalu dipartisi dengan menggunakan n-heksan dan etil asetat sebanyak 3 kali untuk masing-masing pelarut. Seluruh fraksi dikumpulkan dan diuapkan, kemudian dihitung rendemen fraksi (Herawati & Hanifah, 2018).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong dengan menggunakan metode Harborne, 1998, yang meliputi metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin, hal ini untuk memastikan bahwa proses ekstraksi tidak merusak kandungan kimia dari daun binahong. Sementara, penapisan fitokimia pada fraksi dilakukan untuk mengetahui pengelompokkan metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong menggunakan Metode DPPH

Dilarutkan 4 mg DPPH dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL (40 g/mL). Vitamin C dan sampel (ekstrak dan fraksi) dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm untuk vitamin C dan 25, 50, 75, 100, dan 200 ppm untuk ekstrak dan fraksi daun binahong. Sebanyak 2 mL dari vitamin C, ekstrak, dan fraksi, dimasukkan masing-masing dalam tabung, ditambahkan 3 mL 40 g/mL DPPH. Campuran divorteks dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian absorbansinya diukur pada 517 nm menggunakan spektrofotometer (Shizuma). Blanko yang digunakan adalah 96% etanol.

Persentase aktivitas antoksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ penghambatan DPPH} = [(Ab-Aa)/Ab] \times 100$$

Dengan Aa dan Ab masing-masing adalah nilai absorbansi sampel dan blanko. Persen kurva penghambatan versus konsentrasi diplot dan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk penghambatan 50% ditentukan dan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ (Herawati & Hanifah, 2018).

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu menurut Chun et al., 2003 dengan modifikasi. Sampel dibuat pada konsentrasi 2500 ppm

dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan dengan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (yang telah diencerkan dengan akuades pada perbandingan 1:10) dan 4 mL natrium karbonat 1M. Campuran diinkubasi selama 15 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar fenolik total dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat.

Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar flavonoid dilakukan berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012) yaitu: masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 5%, dikocok dan ditambahkan akuades sampai 10 mL. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil penetapan kadar flavonoid total dihitung sebagai rutin dengan rumus:

$$\text{KFT} = \frac{A \times \text{FP}}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times (b - \text{SP})}$$

Keterangan:

KFT = Kadar Flavonoid Total

A = Absorbansi sampel

FP = Faktor Pengenceran

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = Absorbansi spesifik untuk Rutin- AlCl_3 (259,4)

B = Berat sampel yang dipakai

SP = Susut Pengeringan

3. RESULTS AND ANALYSIS

Hasil Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Pengumpulan simplisia daun binahong yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Lembang Kabupaten Bandung Barat dalam bentuk simplisia kering. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor dengan nomor surat 059/HB/02/2019.

Hasil Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Mekanisme yang terjadi pada maserasi adalah adanya difusi dari pelarut ke dalam simplisia sehingga metabolit sekunder yang memiliki tingkat kepolaran yang sama akan tertarik. Pelarut etanol 70% yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pelarut universal yang dapat menarik hampir seluruh metabolit sekunder yang bersifat polar. Kelebihan dari metode maserasi adalah tidak merusak proses pengambilan metabolit sekunder pada simplisia, karena

tidak melibatkan pemanasan pada saat proses ekstraksi (Fathurrahman et al., 2024). Hasil rendemen dari ekstrak etanol daun binahong pada penelitian ini adalah sebesar 19,08%.

Hasil Fraksinasi

Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan pemisahan menggunakan metode fraksinasi. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, sehingga jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda (Putri et al., 2023). Metode fraksinasi yang dipilih pada penelitian ini adalah metode cair-cair. Hasil rendemen dari fraksinasi ekstrak binahong dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi Daun Binahong

Fraksi	Hasil (gram)	Rendemen (%)
Air	4,461	44,61
Etil asetat	4,171	41,71

Pelarut yang digunakan pada fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan air, tetapi seperti yang terlihat pada tabel 1 tidak adanya fraksi n-heksan yang didapatkan pada penelitian ini, yang kemungkinan mengindikasikan tidak ada atau sedikit senyawa metabolit sekunder bersifat non polar di dalam ekstrak etanol daun binahong. Hal ini sesuai dengan sifat dari pelarut etanol 70% sebagai pelarut universal yang banyak menarik senyawa bersifat polar, dan sedikit senyawa yang bersifat semi polar dan non polar.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk melihat kandungan metabolit sekunder yang ada dalam simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong secara kualitatif, yaitu dengan perubahan warna yang terbentuk setelah direaksikan dengan pereaksi tertentu. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap semua sampel uji untuk meyakinkan bahwa ekstraksi ataupun fraksinasi yang dilakukan tidak menghilangkan atau merubah kandungan metabolit sekunder yang ada pada simplisia. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Penapisan Fitokimia Daun Binahong

Golongan	Simplisia	Ekstrak	Fraksi	
			Etil asetat	Air
Alkaloid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	-	+

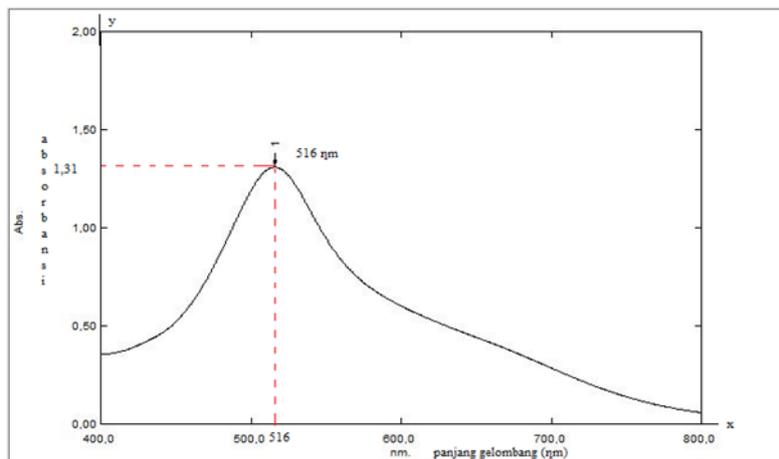
Saponin + + + +

Keterangan: (+) = mengandung metabolit sekunder
 (-) = tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan, daun binahong memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang merupakan metabolit penting pada tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam aktivitas antioksidan. Adanya gugus hidroksil aromatik pada kedua metabolit sekunder tersebut dapat memfasilitasi pelepasan radikal (Aryal et al., 2019). Pada hasil penapisan fraksi, masih terdapat metabolit sekunder yang sesuai dengan ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini tidak merusak metabolit sekunder.

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, hal ini dikarenakan flavonoid memiliki gugus hidroksi (OH) yang dapat menangkal radikal bebas di dalam tubuh (Sholikhah et al., 2023).



Gambar 1. Hasil Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	Persamaan Linier	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C (standar)	1	0,617 ± 0,002	52,93	y=5,4809x+46,891	0,567
	2	0,566 ± 0,002	56,77		
	3	0,478 ± 0,004	63,51		
	4	0,400 ± 0,002	69,49		
	5	0,341 ± 0,004	73,97		
Ekstrak etanol	25	0,640 ± 0,001	42,34	y=0,0111x+42,119	717,27
	50	0,636 ± 0,002	42,67		
	75	0,633 ± 0,001	42,94		
	100	0,629 ± 0,002	43,33		
	200	0,618 ± 0,002	44,29		

Fraksi Etil Asetat	25	0,521 ± 0,004	41,16	y=0,0156x+ 40,854	586,28
	50	0,517 ± 0,004	41,63		
	75	0,513 ± 0,003	42,07		
	100	0,509 ± 0,006	42,50		
	200	0,496 ± 0,005	43,91		
Fraksi Air	25	0,520 ± 0,007	40,58	y=0,0215x+ 40,845	425,81
	50	0,514 ± 0,008	47,33		
	75	0,509 ± 0,005	54,65		
	100	0,504 ± 0,003	60,35		
	200	0,485 ± 0,009	68,06		

Metode aktivitas antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH, karena metode ini merupakan metode yang sederhana dan cepat dalam mengukur aktivitas antioksidan dari bahan alam. Ekstrak tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan akan menyumbangkan satu elektron kepada DPPH untuk mereduksi radikal bebas dari DPPH. Kekuatan antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀, di mana dapat diartikan sebagai konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap 50% radikal bebas (Ladeska et al., 2022). Panjang gelombang maksimum dari DPPH pada penelitian ini adalah 516 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 1.

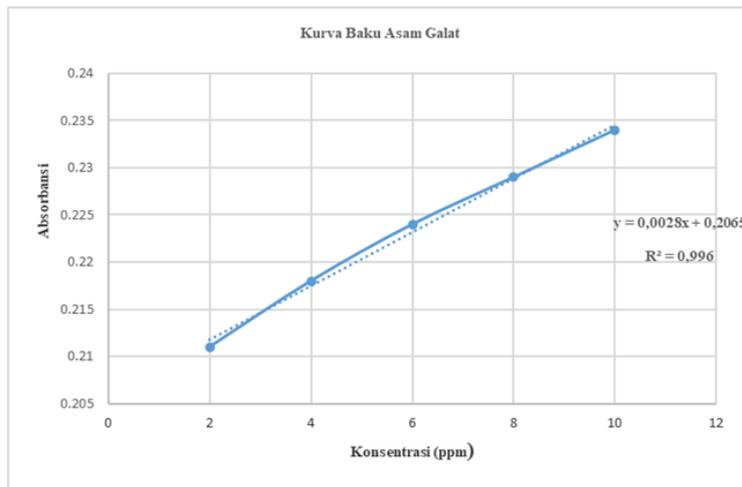
Vitamin C digunakan sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan karena, Vitamin C merupakan vitamin yang paling sering digunakan sebagai antioksidan. Vitamin C mampu menetralkan stres oksidatif melalui proses donasi/transfer elektron.

Kategori aktivitas antioksidan menurut Houghton & Raman (1998) ada empat, yaitu antioksidan kuat (IC₅₀: 50-100 ppm), sedang (IC₅₀:100-150 ppm), lemah (IC₅₀ :150-200 ppm), dan sangat lemah (IC₅₀ >200 ppm).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi daun binahong memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, karena memiliki IC₅₀>200 ppm seperti yang terlihat pada tabel 3. Hal ini sejalan dengan penelitian dari Hamzah dkk, 2022 yang menyebutkan bahwa ekstrak daun binahong memiliki aktivitas sangat lemah dengan IC₅₀ 822,22 ppm.

Hasil Pengujian Kadar Fenolik Ekstrak Daun Binahong

Kadar fenolik dari ekstrak diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan pembanding asam galat. Kurva kalibrasi asam galat tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Asam Galat (n=3)

Tabel 4. Hasil Penentuan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)	Rerata Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)
Ekstrak	1	2500	0,829	222,32	223,76±0,012
	2		0,834	224,11	
	3		0,835	224,46	

Dari kurva kalibrasi asam galat pada gambar 2, didapat persamaan regresi linear yang kemudian digunakan dalam menentukan kadar fenolik total ekstrak etanol daun binahong. Panjang gelombang maksimum pada pengukuran asam galat adalah 770 nm. Asam galat digunakan dalam penelitian ini sebagai pembanding karena merupakan salah satu senyawa fenolik dengan struktur sederhana, bersifat stabil, juga tersedia dalam keadaan murni (Senet et al., 2018). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa kadar fenolik total ekstrak daun binahong sebesar 223,76 mg GAE/g seperti yang tertera pada tabel 4.

Hasil Pengujian Kadar Flavonoid Ekstrak Binahong

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012). Prinsip dari metode ini adalah kuantifikasi pembentukan kompleks flavonoid-AlCl₃ dengan spektrofotometer UV-Vis, yang dihitung sebanding dengan flavonoid rutin. Pembentukan senyawa kompleks umumnya terjadi reaksi antara AlCl₃ dengan flavonoid, yang akan membentuk senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Adanya penambahan AlCl₃ akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin-A atau B dari senyawa-

senyawa flavonoid (Chang et al., 2020). Kadar flavonoid yang terdapat pada penelitian ini yaitu sebesar 0,483 mg RE/g seperti yang tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg RE/g)
Ekstrak	1	0,758	0,788	0,483±0,025
	2	0,805		
	3	0,800		

Kadar fenolik dan flavonoid dari daun binahong yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 223,76 mg GAE/g dan 0,483 mgRE/g secara berturut-turut, di mana termasuk kadar fenolik dan flavonoid yang tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fidrianny et al (2013), yang mendapatkan kadar flavonoid ekstrak etil asetat, n-heksan, dan etanol sebesar 1,37%; 0,24%, dan 0,7% secara berturut-turut.

Rendahnya kadar fenolik, flavonoid, dan lemahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun binahong dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah senyawa antioksidan yang ada dalam daun binahong yang tidak dipanen waktu pagi hari, hal ini dapat menyebabkan hilangnya senyawa antioksidan, karena senyawa tersebut mudah teroksidasi. Hal ini disebabkan karena antioksidan bekerja dengan mereduksi radikan bebas, sementara radikal bebas dapat berdifusi dan tersebar dengan mudah di udara (Santos-Sánchez et al., 2019). Faktor lainnya adalah proses pengeringan yang dilakukan sebaiknya tidak dilakukan pada pengeringan pada udara terbuka dengan tidak di bawah cahaya matahari langsung.

4. CONCLUSION

Daun binahong memiliki kandungan fenolik yang cukup tinggi, tetapi memiliki kadar flavonoid yang kecil, sehingga hal ini menyebabkan aktivitas antioksidan daun binahong termasuk ke dalam kategori lemah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Taufik Ginanjar dan Edo Rifki Nugraha atas bantuan teknisnya pada penelitian ini.

REFERENCES

Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>

- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chun, O. K., Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8067–8072.
- Fathurrahman, M. H., Herawati, I. E., Dewi, L., & Inayah, I. (2024). TOTAL PHENOLIC CONTENT, FLAVONOIDS, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF JALANTIR LEAVES (*Coryza sumatrensis*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 7(1), 47–56. <https://doi.org/10.29313/jiff.v7i1.3156>
- Fernandes, A. J. D., Ferreira, M. R. A., Randau, K. P., de Souza, T. P., & Soares, L. A. L. (2012). Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1100/2012/923462>
- Fidrianny, I., Wirasutisna, K. R., & Amanda, P. (2013). Senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari Babakan Ciparay, Bandung Selatan, Indonesia. *Acta Pharm Indonesia*, 38(1), 26–30.
- Hamzah, H., Wirasasmita, Y., & Syafriah, W. O. (2022). The Formulation and Antioxidant Activity Test of Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaves Extract Lotion. *MEDULA*, 9(2), 125. <https://doi.org/10.46496/medula.v9i2.24014>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods* (3rd ed.). Chapman and Hall.
- Herawati, I. E., & Hanifah, H. N. (2018). Antioxidant activity from ethanol extract and fractions of red flame ivy (*Hemigraphis colorata* Hall. F.) leaf using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Drug Invention Today*, 10(5), 3791–3793.
- Houghton, P., & Raman, A. (1998). *Laboratory Handbook of the Fractination of Natural Extracts*. Chapman & Hall.
- Ladeska, V., Saudah, S., & Inggrid, R. (2022). Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting *Tetracera indica* serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264,7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(2), 95. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.95-104.2022>
- Nugraheni, T., Putri, A., Sukmawati, A., Khasanah, L., Nisa, L., Wulandari, S., Riswana, S., & Setiawan, I. (2024). MACAM-MACAM METODE PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 13(1), 39–50.
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Santos-Sánchez, N. F., Cañongo, R. S.-C., Villanueva, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants*, 10, 1–29.
- Senet, M. R. M., Raharja, I. G. M. A. P., Darma, I. K. T., Prastakarini, K. T., Dewi, N. M. A., & Parwata, I. M. O. A. (2018). Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia*, 12(1), 13–18.
- Sholikhah, K. P., Riyanti, S., & Wahyono, W. (2023). POTENSI ANTIOKSIDAN ALAMI REMPAH BUNGA HONJE HUTAN (*Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) DAN

ISOLASI SENYAWA AKTIFNYA. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 6(2), 137–149.
<https://doi.org/10.29313/jiff.v6i2.11225>

2. Bukti review manuskrip (Reviewer 1) (8 Juli 2025)

Revisions

[Q Search](#)[Upload File](#)*No Files*

Review Discussions

[Add discussion](#)

Name	From	Last Reply	Replies	Closed
Reviewer 1	janeelnovreny 2025-07-08 03:53 AM	-	0	<input type="checkbox"/>
Reviewer 2	janeelnovreny 2025-07-12 04:39 AM	-	0	<input type="checkbox"/>
▶ Revisi Manuskrip	irmayuris 2025-07-25 08:33 AM	-	0	<input type="checkbox"/>
LOA	hartikasamgrycesiagian 2025-07-30 03:50 AM	-	0	<input type="checkbox"/>

KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis)

Article Info

Article history:

Received Sep 20, 2024
Revised Nov 9, 2024
Accepted Dec 07, 2024

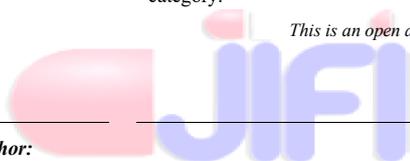
Keywords:

Phenolics
Flavonoids
Antioxidant
Binahong

ABSTRACT

Antioxidant plays an important role in the body's defense against various diseases, because antioxidant compounds were able to prevent bad effects caused by free radicals. Phenolic and flavonoids compound are known as natural antioxidant from plants. Binahong (*Anredera cordifolia*) is known contain phenolic and flavonoid. The aim of this research was to determine total phenolics, flavonoids content and also antioxidant activity from extract binahong using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that binahong ethanol extract had total phenolic 223.76 mg GAE/g and flavonoid content of 0.483 mg RE/g. Meanwhile, for antioxidant activity, IC₅₀ for ethanol extract, ethyl acetate fraction, and water fraction were 717.27; 586.28; dan 425.81 ppm respectively. Binahong extracts and fractions are included in the weak antioxidant category.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

1. INTRODUCTION

Penggunaan tanaman untuk pengobatan sudah sejak lama dilakukan. Saat ini semakin banyak penelitian untuk mendapatkan sumber-sumber pengobatan dari tanaman obat, salah satu bidang penelitian yang sedang banyak diminati saat ini adalah berhubungan dengan radikal bebas dan aktivitas antioksidan. Tanaman obat banyak dieksplorasi penggunaannya sebagai aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan alamiah cenderung lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis (Hamzah et al., 2022).

Radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, membuat molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Reaksi yang terjadi terus-menerus di dalam tubuh jika tidak dikendalikan dapat menimbulkan berbagai macam penyakit seperti kanker, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa yang diperlukan untuk mencegah dan menetralkan kerusakan akibat radikal bebas adalah senyawa antioksidan, karena senyawa antioksidan dapat mencegah reaksi berantai yang diakibatkan oleh radikal bebas (Nugraheni et al., 2024).

Metode pengujian untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan dari bahan alam adalah metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini memiliki kelebihan yaitu proses pengukurannya lebih cepat, sederhana, dan juga membutuhkan biaya yang murah (Nugraheni et al., 2024).

Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis) telah banyak diteliti aktivitas senyawa kimianya, dengan memfokuskan kepada kandungan metabolit sekunder seperti fenolik dan

Commented [S1]: Sebelum hasil, tambahkan metode penelitian

Commented [S2]: Belum ada pembahasan ttg Fenolik Total, Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan

Commented [S3]: Tambahkan ttg tanaman daun binahong seperti: manfaat daun binahong dll

alkaloid. Dari penelitian yang sudah dilakukan menyimpulkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman binahong memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan semua pelarut (Hamzah et al., 2022). Dari penelitian yang sudah dilakukan, belum ada penelitian yang melakukan pengukuran kandungan metabolit sekunder flavonoid dan juga pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi daun binahong. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan fenolik, flavonoid total, juga pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari daun binahong.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800, Jepang), *rotary vaporator* (IKA RV 8, Jerman), timbangan analitik, maserator, labu tentu ukur, gelas ukur, dan alat-alat lain yang umum digunakan di laboratorium. Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 70%, FeCl_3 , gelatin 1%, HCl, serbuk magnesium (Mg), asam galat, kuersetin, pereaksi Folin-Ciocalteu, AlCl_3 , natrium karbonat, natrium asetat, dan DPPH (Sigma Aldrich). Semua bahan kimia yang digunakan merupakan pelarut analitis (Merck, Jerman).

Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Daun binahong dikumpulkan dari Balai Penelitian, Tanaman Rempah dan Obat, Kebun Percobaan Manoko, Cikahuripan, Kecamatan Lembang, Jawa Barat pada bulan Agustus 2019. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor.

Ekstraksi

Daun binahong sebanyak 500 g diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi selama 3x24 jam, dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak cair dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary vaporator* kemudian dihitung rendemen ekstrak (Fathurrahman et al., 2024).

Fraksinasi

Ekstrak etanol kental daun binahong difraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Ekstrak dilarutkan dengan akuades yang sudah dipanaskan pada suhu 60°C lalu dipartisi dengan menggunakan n-heksan dan etil asetat sebanyak 3 kali untuk masing-masing pelarut. Seluruh fraksi dikumpulkan dan diuapkan, kemudian dihitung rendemen fraksi (Herawati & Hanifah, 2018).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong dengan menggunakan metode Harborne, 1998, yang meliputi metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin, hal ini untuk memastikan bahwa proses ekstraksi tidak merusak kandungan kimia dari daun binahong. Sementara, penapisan fitokimia pada fraksi dilakukan untuk mengetahui pengelompokan metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong menggunakan Metode DPPH

Dilarutkan 4 mg DPPH dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL (40 g/mL). Vitamin C dan sampel (ekstrak dan fraksi) dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm untuk vitamin C dan 25, 50, 75, 100, dan 200 ppm untuk ekstrak dan fraksi daun binahong. Sebanyak 2 mL dari vitamin C, ekstrak, dan fraksi, dimasukkan masing-masing dalam tabung, ditambahkan 3 mL 40 g/mL DPPH. Campuran divorteks dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian absorbansinya diukur pada 517 nm menggunakan spektrofotometer (Shizuma). Blanko yang digunakan adalah 96% etanol. Persentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

% penghambatan DPPH = $[(Ab-Aa)/Ab] \times 100$

Dengan Aa dan Ab masing-masing adalah nilai absorbansi sampel dan blanko. Persen kurva penghambatan versus konsentrasi diplot dan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk penghambatan 50% ditentukan dan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ (Herawati & Hanifah, 2018).

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu menurut Chun et al., 2003 dengan modifikasi. Sampel dibuat pada konsentrasi 2500 ppm dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan dengan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (yang telah diencerkan dengan akuades pada perbandingan 1:10) dan 4 mL natrium karbonat 1M. Campuran diinkubasi selama 15 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar fenolik total dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat.

Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar flavonoid dilakukan berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012) yaitu: masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 1 mL larutan AlCl₃ 5%, dikocok dan ditambahkan akuades sampai 10 mL. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil penetapan kadar flavonoid total dihitung sebagai rutin dengan rumus:

$$KFT = \frac{A \times FP}{A_{1cm}^{1\%} \times (b - SP)}$$

Keterangan:

KFT = Kadar Flavonoid Total

A = Absorbansi sampel

FP = Faktor Pengenceran

A_{1cm}^{1%} = Absorbansi spesifik untuk Rutin-AlCl₃ (259,4)

B = Berat sampel yang dipakai

SP = Susut Penguapan

3. RESULTS AND ANALYSIS

Hasil Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Pengumpulan simplisia daun binahong yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Lembang Kabupaten Bandung Barat dalam bentuk simplisia kering. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor dengan nomor surat 059/HB/02/2019.

Hasil Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Mekanisme yang terjadi pada maserasi adalah adanya difusi dari pelarut ke dalam simplisia sehingga metabolit sekunder yang memiliki tingkat kepolaran yang sama akan tertarik. Pelarut etanol 70% yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pelarut universal yang dapat menarik hampir seluruh metabolit sekunder yang bersifat polar. Kelebihan dari metode maserasi adalah tidak merusak proses pengambilan metabolit sekunder pada simplisia, karena tidak melibatkan pemanasan pada saat proses ekstraksi (Fathurrahman et al., 2024). Hasil rendemen dari ekstrak etanol daun binahong pada penelitian ini adalah sebesar 19,08%.

Hasil Fraksinasi

Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan pemisahan menggunakan metode fraksinasi. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, sehingga jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda (Putri et al., 2023). Metode fraksinasi yang dipilih pada penelitian ini adalah metode cair-cair. Hasil rendemen dari fraksinasi ekstrak binahong dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi Daun Binahong

Fraksi	Hasil (gram)	Rendemen (%)
Air	4,461	44,61
Etil asetat	4,171	41,71

Pelarut yang digunakan pada fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan air, tetapi seperti yang terlihat pada tabel 1 tidak adanya fraksi n-heksan yang didapatkan pada penelitian ini, yang kemungkinan mengindikasikan tidak ada atau sedikit senyawa metabolit sekunder bersifat non polar di dalam ekstrak etanol daun binahong. Hal ini sesuai dengan sifat dari pelarut etanol 70% sebagai pelarut universal yang banyak menarik senyawa bersifat polar, dan sedikit senyawa yang bersifat semi polar dan non polar.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk melihat kandungan metabolit sekunder yang ada dalam simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong secara kualitatif, yaitu dengan perubahan warna yang terbentuk setelah direaksikan dengan pereaksi tertentu. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap semua sampel uji untuk meyakinkan bahwa ekstraksi ataupun fraksinasi yang dilakukan tidak menghilangkan atau merubah kandungan metabolit sekunder yang ada pada simplisia. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Penapisan Fitokimia Daun Binahong

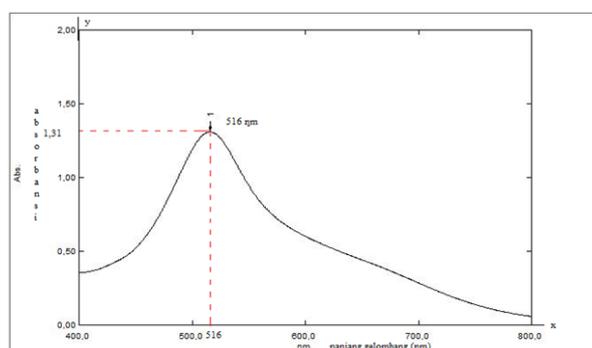
Golongan	Simplisia	Ekstrak	Fraksi	
			Etil asetat	Air
Alkaloid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	-	+
Saponin	+	+	+	+

Keterangan: (+) = mengandung metabolit sekunder
(-) = tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan, daun binahong memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang merupakan metabolit penting pada tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam aktivitas antioksidan. Adanya gugus hidroksil aromatik pada kedua metabolit sekunder tersebut dapat memfasilitasi pelepasan radikal (Aryal et al., 2019). Pada hasil penapisan fraksi, masih terdapat metabolit sekunder yang sesuai dengan ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini tidak merusak metabolit sekunder.

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, hal ini dikarenakan flavonoid memiliki gugus hidroksi (OH) yang dapat menangkalkan radikal bebas di dalam tubuh (Sholikhah et al., 2023).



Gambar 1. Hasil Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Linier	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C (standar)	1	0,617 ± 0,002	52,93	y=5,4809x+ 46,891	0,567
	2	0,566 ± 0,002	56,77		
	3	0,478 ± 0,004	63,51		
	4	0,400 ± 0,002	69,49		
	5	0,341 ± 0,004	73,97		
Ekstrak etanol	25	0,640 ± 0,001	42,34	y=0,0111x+ 42,119	717,27
	50	0,636 ± 0,002	42,67		
	75	0,633 ± 0,001	42,94		
	100	0,629 ± 0,002	43,33		
	200	0,618 ± 0,002	44,29		
Fraksi Etil Asetat	25	0,521 ± 0,004	41,16	y=0,0156x+ 40,854	586,28
	50	0,517 ± 0,004	41,63		
	75	0,513 ± 0,003	42,07		
	100	0,509 ± 0,006	42,50		
	200	0,496 ± 0,005	43,91		
Fraksi Air	25	0,520 ± 0,007	40,58	y=0,0215x+ 40,845	425,81
	50	0,514 ± 0,008	47,33		
	75	0,509 ± 0,005	54,65		
	100	0,504 ± 0,003	60,35		
	200	0,485 ± 0,009	68,06		

Metode aktivitas antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH, karena metode ini merupakan metode yang sederhana dan cepat dalam mengukur aktivitas antioksidan dari bahan alam. Ekstrak tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan akan menyumbangkan satu elektron kepada DPPH untuk mereduksi radikal bebas dari DPPH. Kekuatan antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀, di mana dapat diartikan sebagai konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap 50% radikal bebas (Ladeska et al., 2022). Panjang gelombang maksimum dari DPPH pada penelitian ini adalah 516 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 1.

Vitamin C digunakan sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan karena, Vitamin C merupakan vitamin yang paling sering digunakan sebagai antioksidan. Vitamin C mampu menetralkan stres oksidatif melalui proses donasi/transfer elektron.

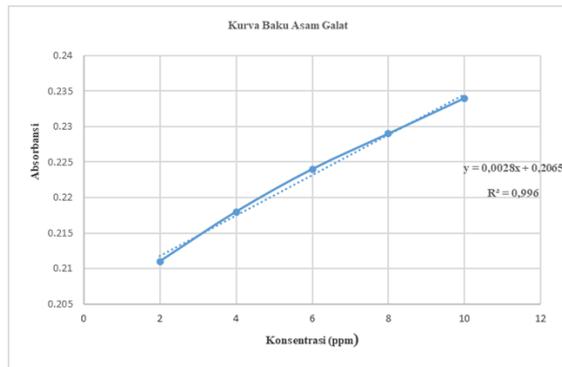
Kategori aktivitas antioksidan menurut Houghton & Raman (1998) ada empat, yaitu antioksidan kuat (IC₅₀: 50-100 ppm), sedang (IC₅₀:100-150 ppm), lemah (IC₅₀ :150-200 ppm), dan sangat lemah (IC₅₀ >200 ppm).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi daun binahong memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, karena memiliki IC₅₀>200 ppm seperti yang terlihat pada tabel

3. Hal ini sejalan dengan penelitian dari Hamzah dkk, 2022 yang menyebutkan bahwa ekstrak daun binahong memiliki aktivitas sangat lemah dengan IC_{50} 822,22 ppm.

Hasil Pengujian Kadar Fenolik Ekstrak Daun Binahong

Kadar fenolik dari ekstrak diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan pembandingan asam galat. Kurva kalibrasi asam galat tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Asam Galat (n=3)

Tabel 4. Hasil Penentuan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)	Rerata Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)
Ekstrak	1	2500	0,829	222,32	223,76±0,012
	2		0,834	224,11	
	3		0,835	224,46	

Dari kurva kalibrasi asam galat pada gambar 2, didapat persamaan regresi linear yang kemudian digunakan dalam menentukan kadar fenolik total ekstrak etanol daun binahong. Panjang gelombang maksimum pada pengukuran asam galat adalah 770 nm. Asam galat digunakan dalam penelitian ini sebagai pembandingan karena merupakan salah satu senyawa fenolik dengan struktur sederhana, bersifat stabil, juga tersedia dalam keadaan murni (Senet et al., 2018). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa kadar fenolik total ekstrak daun binahong sebesar 223,76 mg GAE/g seperti yang tertera pada tabel 4.

Hasil Pengujian Kadar Flavonoid Ekstrak Binahong

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012). Prinsip dari metode ini adalah kuantifikasi pembentukan kompleks flavonoid- $AlCl_3$ dengan spektrofotometer UV-Vis, yang dihitung sebanding dengan flavonoid rutin. Pembentukan senyawa kompleks umumnya terjadi reaksi antara $AlCl_3$ dengan flavonoid, yang akan membentuk senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Adanya penambahan $AlCl_3$ akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin-A atau B dari senyawa-senyawa flavonoid (Chang et al., 2020). Kadar flavonoid yang terdapat pada penelitian ini yaitu sebesar 0,483 mg RE/g seperti yang tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg RE/g)
Ekstrak	1	0,758	0,788	0,483±0,025
	2	0,805		
	3	0,800		

Kadar fenolik dan flavonoid dari daun binahong yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 223,76 mg GAE/g dan 0,483 mgRE/g secara berturut-turut, di mana termasuk kadar fenolik dan flavonoid yang tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fidrianny et al (2013), yang mendapatkan kadar flavonoid ekstrak etil asetat, n-heksan, dan etanol sebesar 1,37%; 0,24%, dan 0,7% secara berturut-turut.

Rendahnya kadar fenolik, flavonoid, dan lemahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun binahong dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah senyawa antioksidan yang ada dalam daun binahong yang tidak dipanen waktu pagi hari, hal ini dapat menyebabkan hilangnya senyawa antioksidan, karena senyawa tersebut mudah teroksidasi. Hal ini disebabkan karena antioksidan bekerja dengan mereduksi radikan bebas, sementara radikal bebas dapat berdifusi dan tersebar dengan mudah di udara (Santos-Sánchez et al., 2019). Faktor lainnya adalah proses pengeringan yang dilakukan sebaiknya tidak dilakukan pada pengeringan pada udara terbuka dengan tidak di bawah cahaya matahari langsung.

4. CONCLUSION

Daun binahong memiliki kandungan fenolik yang cukup tinggi, tetapi memiliki kadar flavonoid yang kecil, sehingga hal ini menyebabkan aktivitas antioksidan daun binahong termasuk ke dalam kategori lemah.

REFERENCES

- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chun, O. K., Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8067–8072.
- Fathurrahman, M. H., Herawati, I. E., Dewi, L., & Inayah, I. (2024). Total Phenolic Content, Flavonoids, And Antioxidant Activity Of Jalantir Leaves (Coryza sumatrensis). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 7(1), 47–56. <https://doi.org/10.29313/jiff.v7i1.3156>
- Fernandes, A. J. D., Ferreira, M. R. A., Randau, K. P., de Souza, T. P., & Soares, L. A. L. (2012). Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from Bauhinia monandra Kurz (Caesalpinaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1100/2012/923462>
- Fidrianny, I., Wirasutisna, K. R., & Amanda, P. (2013). Senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) dari Babakan Ciparay, Bandung Selatan, Indonesia. *Acta Pharm Indonesia*, 38(1), 26–30.
- Hamzah, H., Wirasasmita, Y., & Syafriah, W. O. (2022). The Formulation and Antioxidant Activity Test of Binahong (Anredera cordifolia) Leaves Extract Lotion. *MEDULA*, 9(2), 125. <https://doi.org/10.46496/medula.v9i2.24014>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods* (3rd ed.). Chapman and Hall.
- Herawati, I. E., & Hanifah, H. N. (2018). Antioxidant activity from ethanol extract and fractions of red flame ivy (Hemigraphis colorata Hall. F.) leaf using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Drug Invention Today*, 10(5), 3791–3793.
- Houghton, P., & Raman, A. (1998). *Laboratory Handbook of the Fractionation of Natural Extracts*. Chapman & Hall.
- Ladeska, V., Saudah, S., & Ingrid, R. (2022). Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting Tetracera indica serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264,7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(2), 95. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.95-104.2022>
- Nugraheni, T., Putri, A., Sukmawati, A., Khasanah, L., Nisa, L., Wulandari, S., Riswana, S., & Setiawan, I. (2024). Macam-Macam Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 13(1), 39–50.

- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Santos-Sánchez, N. F., Cañongo, R. S.-C., Villanueva, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants*, 10, 1–29.
- Senet, M. R. M., Raharja, I. G. M. A. P., Darma, I. K. T., Prastakarini, K. T., Dewi, N. M. A., & Parwata, I. M. O. A. (2018). Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia*, 12(1), 13–18.
- Sholikhah, K. P., Riyanti, S., & Wahyono, W. (2023). Potensi Antioksidan Alami Rempah Bunga Honje Hutan (*Etilingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) Dan Isolasi Senyawa Aktifnya. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 6(2), 137–149. <https://doi.org/10.29313/jiff.v6i2.11225>



3. Bukti review manuskrip (Reviewer 2) (12 Juli 2025)

KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis)

Article Info

Article history:

Received Sep 20, 2024

Revised Nov 9, 2024

Accepted Dec 07, 2024

Keywords:

Phenolics

Flavonoids

Antioxidant

Binahong

ABSTRACT

Antioxidant plays an important role in the body's defense against various diseases, because antioxidant compounds were able to prevent bad effects caused by free radicals. Phenolic and flavonoids compound are known as natural antioxidant from plants. Binahong (*Anredera cordifolia*) is known contain phenolic and flavonoid. The aim of this research was to determine total phenolics, flavonoids content and also antioxidant activity from extract binahong using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results showed that binahong ethanol extract had total phenolic 223.76 mg GAE/g and flavonoid content of 0.483 mg RE/g. Meanwhile, for antioxidant activity, IC₅₀ for ethanol extract, ethyl acetate fraction, and water fraction were 717.27; 586.28; dan 425.81 ppm respectively. Binahong extracts and fractions are included in the weak antioxidant category.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

1. INTRODUCTION

Penggunaan tanaman untuk pengobatan sudah sejak lama dilakukan. Saat ini semakin banyak penelitian untuk mendapatkan sumber-sumber pengobatan dari tanaman obat, salah satu bidang penelitian yang sedang banyak diminati saat ini adalah berhubungan dengan radikal bebas dan aktivitas antioksidan. Tanaman obat banyak dieksplorasi penggunaannya sebagai aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan alamiah cenderung lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis (Hamzah et al., 2022).

Radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, membuat molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Reaksi yang terjadi terus-menerus di dalam tubuh jika tidak dikendalikan dapat menimbulkan berbagai macam penyakit seperti kanker, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa yang diperlukan untuk mencegah dan menetralkan kerusakan akibat radikal bebas adalah senyawa antioksidan, karena senyawa antioksidan dapat mencegah reaksi berantai yang diakibatkan oleh radikal bebas (Nugraheni et al., 2024).

Metode pengujian untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan dari bahan alam adalah metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini memiliki kelebihan yaitu proses pengukurannya lebih cepat, sederhana, dan juga membutuhkan biaya yang murah (Nugraheni et al., 2024).

Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis) telah banyak diteliti aktivitas senyawa kimianya, dengan memfokuskan kepada kandungan metabolit sekunder seperti fenolik dan

Commented [S1]: Abstrak maksimal 200-250 kata. Mohon diperbaiki

Commented [S2]: Mohon dijelaskan lebih bnyak lagi ttg daun binahong

alkaloid. Dari penelitian yang sudah dilakukan menyimpulkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman binahong memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan semua pelarut (Hamzah et al., 2022). Dari penelitian yang sudah dilakukan, belum ada penelitian yang melakukan pengukuran kandungan metabolit sekunder flavonoid dan juga pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi daun binahong. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan fenolik, flavonoid total, juga pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari daun binahong.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800, Jepang), *rotary vaporator* (IKA RV 8, Jerman), timbangan analitik, maserator, labu tentu ukur, gelas ukur, dan alat-alat lain yang umum digunakan di laboratorium. Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 70%, FeCl_3 , gelatin 1%, HCl, serbuk magnesium (Mg), asam galat, kuersetin, pereaksi Folin-Ciocalteu, AlCl_3 , natrium karbonat, natrium asetat, dan DPPH (Sigma Aldrich). Semua bahan kimia yang digunakan merupakan pelarut analitis (Merck, Jerman).

Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Daun binahong dikumpulkan dari Balai Penelitian, Tanaman Rempah dan Obat, Kebun Percobaan Manoko, Cikahuripan, Kecamatan Lembang, Jawa Barat pada bulan Agustus 2019. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor.

Ekstraksi

Daun binahong sebanyak 500 g diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi selama 3x24 jam, dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak cair dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary vaporator* kemudian dihitung rendemen ekstrak (Fathurrahman et al., 2024).

Fraksinasi

Ekstrak etanol kental daun binahong difraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Ekstrak dilarutkan dengan akuades yang sudah dipanaskan pada suhu 60°C lalu dipartisi dengan menggunakan n-heksan dan etil asetat sebanyak 3 kali untuk masing-masing pelarut. Seluruh fraksi dikumpulkan dan diuapkan, kemudian dihitung rendemen fraksi (Herawati & Hanifah, 2018).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong dengan menggunakan metode Harborne, 1998, yang meliputi metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin, hal ini untuk memastikan bahwa proses ekstraksi tidak merusak kandungan kimia dari daun binahong. Sementara, penapisan fitokimia pada fraksi dilakukan untuk mengetahui pengelompokan metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong menggunakan Metode DPPH

Dilarutkan 4 mg DPPH dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL (40 g/mL). Vitamin C dan sampel (ekstrak dan fraksi) dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm untuk vitamin C dan 25, 50, 75, 100, dan 200 ppm untuk ekstrak dan fraksi daun binahong. Sebanyak 2 mL dari vitamin C, ekstrak, dan fraksi, dimasukkan masing-masing dalam tabung, ditambahkan 3 mL 40 g/mL DPPH. Campuran divorteks dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian absorbansinya diukur pada 517 nm menggunakan

Commented [S3]: Sudah terlalu lama waktunya.

Commented [S4]: Mengapa tidak dgn suhu 100°C ? mengapa anda memilih suhu tersebut?

Commented [S5]: Apakah tidak ada metode dgn referensi terbaru?

spektrofotometer (Shizuma). Blanko yang digunakan adalah 96% etanol. Persentase aktivitas antoksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ penghambatan DPPH} = [(Ab-Aa)/Ab] \times 100$$

Dengan Aa dan Ab masing-masing adalah nilai absorbansi sampel dan blanko. Persen kurva penghambatan versus konsentrasi diplot dan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk penghambatan 50% ditentukan dan dinyatakan sebagai nilai IC_{50} (Herawati & Hanifah, 2018).

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu menurut Chun et al., 2003 dengan modifikasi. Sampel dibuat pada konsentrasi 2500 ppm dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan dengan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (yang telah diencerkan dengan akuades pada perbandingan 1:10) dan 4 mL natrium karbonat 1M. Campuran diinkubasi selama 15 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar fenolik total dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat.

Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar flavonoid dilakukan berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012) yaitu: masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 1 mL larutan $AlCl_3$ 5%, dikocok dan ditambahkan akuades sampai 10 mL. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil penetapan kadar flavonoid total dihitung sebagai rutin dengan rumus:

$$KFT = \frac{A \times FP}{A_{1cm}^{1\%} \times (b - SP)}$$

Keterangan:

- KFT = Kadar Flavonoid Total
- A = Absorbansi sampel
- FP = Faktor Pengenceran
- $A_{1cm}^{1\%}$ = Absorbansi spesifik untuk Rutin- $AlCl_3$ (259,4)
- B = Berat sampel yang dipakai
- SP = Susut Pengerinan

3. RESULTS AND ANALYSIS

Hasil Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Pengumpulan simplisia daun binahong yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Lembang Kabupaten Bandung Barat dalam bentuk simplisia kering. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor dengan nomor surat 059/HB/02/2019.

Hasil Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Mekanisme yang terjadi pada maserasi adalah adanya difusi dari pelarut ke dalam simplisia sehingga metabolit sekunder yang memiliki tingkat kepolaran yang sama akan tertarik. Pelarut etanol 70% yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pelarut universal yang dapat menarik hampir seluruh metabolit sekunder yang bersifat polar. Kelebihan dari metode maserasi adalah tidak merusak proses pengambilan metabolit sekunder pada simplisia, karena tidak melibatkan pemanasan pada saat proses ekstraksi (Fathurrahman et al., 2024). Hasil rendemen dari ekstrak etanol daun binahong pada penelitian ini adalah sebesar 19,08%.

Hasil Fraksinasi

Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan pemisahan menggunakan metode fraksinasi. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, sehingga jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda (Putri et al., 2023). Metode fraksinasi yang

dipilih pada penelitian ini adalah metode cair-cair. Hasil rendemen dari fraksinasi ekstrak binahong dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi Daun Binahong

Fraksi	Hasil (gram)	Rendemen (%)
Air	4,461	44,61
Etil asetat	4,171	41,71

Pelarut yang digunakan pada fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan air, tetapi seperti yang terlihat pada tabel 1 tidak adanya fraksi n-heksan yang didapatkan pada penelitian ini, yang kemungkinan mengindikasikan tidak ada atau sedikit senyawa metabolit sekunder bersifat non polar di dalam ekstrak etanol daun binahong. Hal ini sesuai dengan sifat dari pelarut etanol 70% sebagai pelarut universal yang banyak menarik senyawa bersifat polar, dan sedikit senyawa yang bersifat semi polar dan non polar.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk melihat kandungan metabolit sekunder yang ada dalam simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong secara kualitatif, yaitu dengan perubahan warna yang terbentuk setelah direaksikan dengan pereaksi tertentu. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap semua sampel uji untuk meyakinkan bahwa ekstraksi ataupun fraksinasi yang dilakukan tidak menghilangkan atau merubah kandungan metabolit sekunder yang ada pada simplisia. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Penapisan Fitokimia Daun Binahong

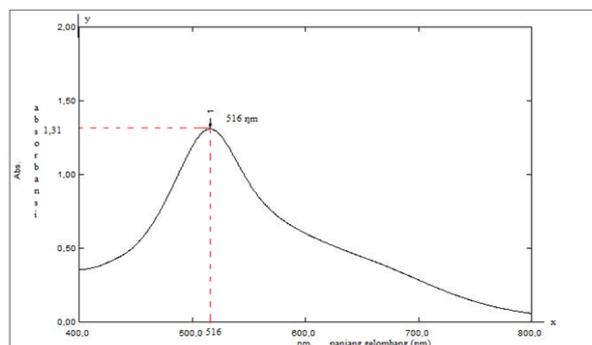
Golongan	Simplisia	Ekstrak	Fraksi	
			Etil asetat	Air
Alkaloid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	-	+
Saponin	+	+	+	+

Keterangan: (+) = mengandung metabolit sekunder
(-) = tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan, daun binahong memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang merupakan metabolit penting pada tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam aktivitas antioksidan. Adanya gugus hidroksil aromatik pada kedua metabolit sekunder tersebut dapat memfasilitasi pelepasan radikal (Aryal et al., 2019). Pada hasil penapisan fraksi, masih terdapat metabolit sekunder yang sesuai dengan ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini tidak merusak metabolit sekunder.

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, hal ini dikarenakan flavonoid memiliki gugus hidroksi (OH) yang dapat menangkal radikal bebas di dalam tubuh (Sholikhah et al., 2023).



Gambar 1. Hasil Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	Persamaan Linier	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C (standar)	1	0,617 ± 0,002	52,93	y=5,4809x+ 46,891	0,567
	2	0,566 ± 0,002	56,77		
	3	0,478 ± 0,004	63,51		
	4	0,400 ± 0,002	69,49		
	5	0,341 ± 0,004	73,97		
Ekstrak etanol	25	0,640 ± 0,001	42,34	y=0,0111x+ 42,119	717,27
	50	0,636 ± 0,002	42,67		
	75	0,633 ± 0,001	42,94		
	100	0,629 ± 0,002	43,33		
	200	0,618 ± 0,002	44,29		
Fraksi Etil Asetat	25	0,521 ± 0,004	41,16	y=0,0156x+ 40,854	586,28
	50	0,517 ± 0,004	41,63		
	75	0,513 ± 0,003	42,07		
	100	0,509 ± 0,006	42,50		
	200	0,496 ± 0,005	43,91		
Fraksi Air	25	0,520 ± 0,007	40,58	y=0,0215x+ 40,845	425,81
	50	0,514 ± 0,008	47,33		
	75	0,509 ± 0,005	54,65		
	100	0,504 ± 0,003	60,35		
	200	0,485 ± 0,009	68,06		

Metode aktivitas antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH, karena metode ini merupakan metode yang sederhana dan cepat dalam mengukur aktivitas antioksidan dari bahan alam. Ekstrak tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan akan menyumbangkan satu elektron kepada DPPH untuk mereduksi radikal bebas dari DPPH. Kekuatan antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀, di mana dapat diartikan sebagai konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap 50% radikal bebas (Ladeska et al., 2022). Panjang gelombang maksimum dari DPPH pada penelitian ini adalah 516 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 1.

Vitamin C digunakan sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan karena, Vitamin C merupakan vitamin yang paling sering digunakan sebagai antioksidan. Vitamin C mampu menetralkan stres oksidatif melalui proses donasi/transfer elektron.

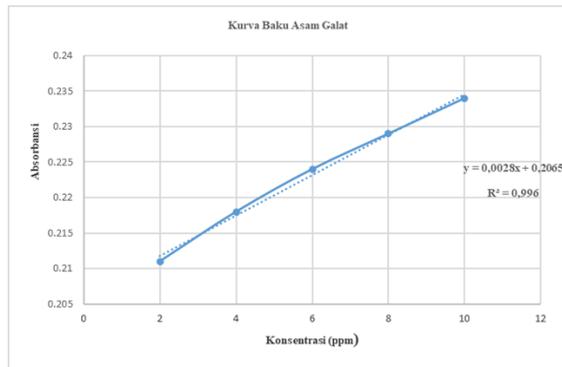
Kategori aktivitas antioksidan menurut Houghton & Raman (1998) ada empat, yaitu antioksidan kuat (IC₅₀: 50-100 ppm), sedang (IC₅₀:100-150 ppm), lemah (IC₅₀ :150-200 ppm), dan sangat lemah (IC₅₀ >200 ppm).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi daun binahong memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, karena memiliki IC₅₀>200 ppm seperti yang terlihat pada tabel

3. Hal ini sejalan dengan penelitian dari Hamzah dkk, 2022 yang menyebutkan bahwa ekstrak daun binahong memiliki aktivitas sangat lemah dengan IC_{50} 822,22 ppm.

Hasil Pengujian Kadar Fenolik Ekstrak Daun Binahong

Kadar fenolik dari ekstrak diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan pembandingan asam galat. Kurva kalibrasi asam galat tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Asam Galat (n=3)

Tabel 4. Hasil Penentuan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)	Rerata Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)
Ekstrak	1	2500	0,829	222,32	223,76±0,012
	2		0,834	224,11	
	3		0,835	224,46	

Dari kurva kalibrasi asam galat pada gambar 2, didapat persamaan regresi linear yang kemudian digunakan dalam menentukan kadar fenolik total ekstrak etanol daun binahong. Panjang gelombang maksimum pada pengukuran asam galat adalah 770 nm. Asam galat digunakan dalam penelitian ini sebagai pembandingan karena merupakan salah satu senyawa fenolik dengan struktur sederhana, bersifat stabil, juga tersedia dalam keadaan murni (Senet et al., 2018). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa kadar fenolik total ekstrak daun binahong sebesar 223,76 mg GAE/g seperti yang tertera pada tabel 4.

Hasil Pengujian Kadar Flavonoid Ekstrak Binahong

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012). Prinsip dari metode ini adalah kuantifikasi pembentukan kompleks flavonoid- $AlCl_3$ dengan spektrofotometer UV-Vis, yang dihitung sebanding dengan flavonoid rutin. Pembentukan senyawa kompleks umumnya terjadi reaksi antara $AlCl_3$ dengan flavonoid, yang akan membentuk senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Adanya penambahan $AlCl_3$ akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin-A atau B dari senyawa-senyawa flavonoid (Chang et al., 2020). Kadar flavonoid yang terdapat pada penelitian ini yaitu sebesar 0,483 mg RE/g seperti yang tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg RE/g)
Ekstrak	1	0,758	0,788	0,483±0,025
	2	0,805		
	3	0,800		

Commented [S6]: Perbaharui referensi

Kadar fenolik dan flavonoid dari daun binahong yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 223,76 mg GAE/g dan 0,483 mgRE/g secara berturut-turut, di mana termasuk kadar fenolik dan flavonoid yang tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fidrianny et al (2013), yang mendapatkan kadar flavonoid ekstrak etil asetat, n-heksan, dan etanol sebesar 1,37%; 0,24%, dan 0,7% secara berturut-turut.

Rendahnya kadar fenolik, flavonoid, dan lemahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun binahong dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah senyawa antioksidan yang ada dalam daun binahong yang tidak dipanen waktu pagi hari, hal ini dapat menyebabkan hilangnya senyawa antioksidan, karena senyawa tersebut mudah teroksidasi. Hal ini disebabkan karena antioksidan bekerja dengan mereduksi radikan bebas, sementara radikal bebas dapat berdifusi dan tersebar dengan mudah di udara (Santos-Sánchez et al., 2019). Faktor lainnya adalah proses pengeringan yang dilakukan sebaiknya tidak dilakukan pada pengeringan pada udara terbuka dengan tidak di bawah cahaya matahari langsung.

4. CONCLUSION

Daun binahong memiliki kandungan fenolik yang cukup tinggi, tetapi memiliki kadar flavonoid yang kecil, sehingga hal ini menyebabkan aktivitas antioksidan daun binahong termasuk ke dalam kategori lemah.

REFERENCES

- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chun, O. K., Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8067–8072.
- Fathurrahman, M. H., Herawati, I. E., Dewi, L., & Inayah, I. (2024). Total Phenolic Content, Flavonoids, And Antioxidant Activity Of Jalantir Leaves (*Coryza sumatrensis*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 7(1), 47–56. <https://doi.org/10.29313/jiff.v7i1.3156>
- Fernandes, A. J. D., Ferreira, M. R. A., Randau, K. P., de Souza, T. P., & Soares, L. A. L. (2012). Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1100/2012/923462>
- Fidrianny, I., Wirasutisna, K. R., & Amanda, P. (2013). Senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari Babakan Ciparay, Bandung Selatan, Indonesia. *Acta Pharm Indonesia*, 38(1), 26–30.
- Hamzah, H., Wirasmita, Y., & Syafriah, W. O. (2022). The Formulation and Antioxidant Activity Test of Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaves Extract Lotion. *MEDULA*, 9(2), 125. <https://doi.org/10.46496/medula.v9i2.24014>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods* (3rd ed.). Chapman and Hall.
- Herawati, I. E., & Hanifah, H. N. (2018). Antioxidant activity from ethanol extract and fractions of red flame ivy (*Hemigraphis colorata* Hall. F.) leaf using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Drug Invention Today*, 10(5), 3791–3793.
- Houghton, P., & Raman, A. (1998). *Laboratory Handbook of the Fractionation of Natural Extracts*. Chapman & Hall.
- Ladeska, V., Saudah, S., & Ingrid, R. (2022). Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting *Tetracera indica* serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264,7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(2), 95. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.95-104.2022>
- Nugraheni, T., Putri, A., Sukmawati, A., Khasanah, L., Nisa, L., Wulandari, S., Riswana, S., & Setiawan, I. (2024). Macam-Macam Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 13(1), 39–50.

Commented [S7]: Dengan didapatkannya kesimpulan anda tersebut, maka SARAN anda apa untuk daun binahong tersebut dan peneliti selanjutnya?

- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Santos-Sánchez, N. F., Cañongo, R. S.-C., Villanueva, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants*, 10, 1–29.
- Senet, M. R. M., Raharja, I. G. M. A. P., Darma, I. K. T., Prastakarini, K. T., Dewi, N. M. A., & Parwata, I. M. O. A. (2018). Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia*, 12(1), 13–18.
- Sholikhah, K. P., Riyanti, S., & Wahyono, W. (2023). Potensi Antioksidan Alami Rempah Bunga Honje Hutan (*Etilingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) Dan Isolasi Senyawa Aktifnya. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 6(2), 137–149. <https://doi.org/10.29313/jiff.v6i2.11225>



4. Bukti manuskrip yang direvisi (25 Juli 2025)

KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis)

Article Info

Article history:

Received Sep 20, 2024

Revised Nov 9, 2024

Accepted Dec 07, 2024

Keywords:

Phenolics
Flavonoids
Antioxidant
Binahong

ABSTRACT

Antioxidants play a crucial role in the body's defense system against oxidative stress that can lead to various degenerative diseases. Reactive oxygen species (ROS), or free radicals, are known to damage cells, proteins, and DNA, triggering aging and disease progression. Natural antioxidants, particularly phenolic and flavonoid compounds derived from plants, have gained attention for their ability to neutralize free radicals effectively. *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, commonly known as binahong, is one of the medicinal plants traditionally used in Indonesia and is believed to contain bioactive compounds, including phenolics and flavonoids, that contribute to antioxidant activity. This study aimed to determine the total phenolic and flavonoid content, as well as evaluate the antioxidant activity of binahong ethanol extract and its fractions using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method. While method for determining phenolic and flavonoid content was carried out using the colorimetric method. The results revealed that the ethanol extract of binahong contained total phenolics of 223.76 mg GAE/g extract and total flavonoids of 0.483 mg RE/g extract. Antioxidant activity, expressed as IC_{50} , was 717.27 ppm for the ethanol extract, 586.28 ppm for the ethyl acetate fraction, and 425.81 ppm for the aqueous fraction. Based on IC_{50} classification, all samples fall into the category of weak antioxidant activity ($IC_{50} > 200$ ppm). These findings indicate that while binahong contains measurable amounts of phenolics and flavonoids, further optimization or isolation of active compounds may be necessary to enhance its antioxidant potential.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

1. INTRODUCTION

Penggunaan tanaman untuk pengobatan sudah sejak lama dilakukan. Saat ini semakin banyak penelitian untuk mendapatkan sumber-sumber pengobatan dari tanaman obat, salah satu bidang penelitian yang sedang banyak diminati saat ini adalah berhubungan dengan radikal bebas dan aktivitas antioksidan. Tanaman obat banyak dieksplorasi penggunaannya sebagai aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan alamiah cenderung lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintetis (Hamzah et al., 2022).

Commented [S1]: Belum ada pembahasan ttg Fenolik Total, Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi dari radikal bebas. Penggunaan antioksidan pada saat ini lebih banyak dari antioksidan alami yang berasal dari bahan alam (Samosir et al., 2024). Tanaman obat memiliki banyak kandungan metabolit sekunder, diantaranya adalah senyawa fenolik dan flavonoid. Kedua senyawa tersebut merupakan antioksidan alami yang terkandung pada tumbuhan. Kedua senyawa tersebut mampu menangkal radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Fathurrahman et al., 2024).

Radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, membuat molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Reaksi yang terjadi terus-menerus di dalam tubuh jika tidak dikendalikan dapat menimbulkan berbagai macam penyakit seperti kanker, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa yang diperlukan untuk mencegah dan menetralkan kerusakan akibat radikal bebas adalah senyawa antioksidan, karena senyawa antioksidan dapat mencegah reaksi berantai yang diakibatkan oleh radikal bebas (Nugraheni et al., 2024).

Metode pengujian untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan dari bahan alam adalah metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode ini memiliki kelebihan yaitu proses pengukurannya lebih cepat, sederhana, dan juga membutuhkan biaya yang murah (Nugraheni et al., 2024).

Fenolik merupakan salah satu metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan, dikarenakan adanya gugus hidroksil (OH) aromatik yang dapat membantu pelepasan radikal bebas. Kadar fenolik total dari ekstrak diuji menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Fathurrahman et al., 2024).

Penelitian senyawa flavonoid sudah banyak dilakukan karena flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena adanya gugus OH yang dapat menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid adalah metode Chang. Prinsipnya adalah terjadi reaksi antara $AlCl_3$ dengan flavonoid, yang akan membentuk senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol (Fathurrahman et al., 2024).

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis) merupakan salah satu tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Daun binahong memiliki manfaat sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, dan analgesik (Rahayu et al., 2023). Manfaat binahong secara empiris dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit, bagian yang digunakan bisa berasal dari akar, batang daun, bunga, maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Senyawa yang terkandung dalam tanaman binahong antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid (Dadiono dan Andayani, 2022).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas dari ekstrak etanol daun binahong sebagai antiluka bakar dan pengamatan serta histopatologi mampu meningkatkan granulasi jaringan dan kepadatan kolagen. Daun binahong juga memiliki aktivitas antiinflamasi pada dosis 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB, memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Escherichia coli* dengan dosis 100 g/mL (Sumarina, et al., 2017).

Daun Binahong telah banyak diteliti aktivitas senyawa kimianya, dengan memfokuskan kepada kandungan metabolit sekunder seperti fenolik dan alkaloid. Dari penelitian yang sudah dilakukan menyimpulkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman binahong memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan semua pelarut (Hamzah et al., 2022). Dari penelitian yang sudah dilakukan, belum ada penelitian yang melakukan pengukuran kandungan metabolit sekunder flavonoid dan juga pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi daun binahong. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan fenolik, flavonoid total, juga pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari daun binahong.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800, Jepang), *rotary vaporator* (IKA RV 8, Jerman), timbangan analitik, maserator, labu tentu ukur, gelas ukur, dan alat-alat lain yang umum digunakan di laboratorium. Bahan kimia yang digunakan

Commented [S2]: Tambahkan ttg tanaman daun binahong seperti: manfaat daun binahong dll

meliputi etanol 70%, FeCl₃, gelatin 1%, HCl, serbuk magnesium (Mg), asam galat, kuersetin, pereaksi Folin-Ciocalteu, AlCl₃, natrium karbonat, natrium asetat, dan DPPH (Sigma Aldrich). Semua bahan kimia yang digunakan merupakan pelarut analitis (Merck, Jerman).

Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Daun binahong dikumpulkan dari Balai Penelitian, Tanaman Rempah dan Obat, Kebun Percobaan Manoko, Cikahuripan, Kecamatan Lembang, Jawa Barat pada bulan Agustus 2022. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor.

Ekstraksi

Daun binahong sebanyak 500 g diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi selama 3x24 jam, dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak cair dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary vaporator* kemudian dihitung rendemen ekstrak (Fathurrahman et al., 2024).

Fraksinasi

Ekstrak etanol kental daun binahong difraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Ekstrak dilarutkan dengan akuades yang sudah dipanaskan pada suhu 60°C. Suhu 60°C dipilih agar dapat mempertahankan kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Kemudian sampel dipartisi dengan menggunakan n-heksan dan etil asetat sebanyak 3 kali untuk masing-masing pelarut. Seluruh fraksi dikumpulkan dan diuapkan, kemudian dihitung rendemen fraksi (Herawati & Hanifah, 2018).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong dengan menggunakan metode Fauzi et al. 2023, yang meliputi metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin, hal ini untuk memastikan bahwa proses ekstraksi tidak merusak kandungan kimia dari daun binahong. Sementara, penapisan fitokimia pada fraksi dilakukan untuk mengetahui pengelompokkan metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong menggunakan Metode DPPH

Dilarutkan 4 mg DPPH dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL (40 g/mL). Vitamin C dan sampel (ekstrak dan fraksi) dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm untuk vitamin C dan 25, 50, 75, 100, dan 200 ppm untuk ekstrak dan fraksi daun binahong. Sebanyak 2 mL dari vitamin C, ekstrak, dan fraksi, dimasukkan masing-masing dalam tabung, ditambahkan 3 mL 40 g/mL DPPH. Campuran divorteks dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian absorbansinya diukur pada 517 nm menggunakan spektrofotometer (Shizuma). Blanko yang digunakan adalah 96% etanol. Persentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ penghambatan DPPH} = [(Ab - Aa) / Ab] \times 100$$

Dengan Aa dan Ab masing-masing adalah nilai absorbansi sampel dan blanko. Persen kurva penghambatan versus konsentrasi diplot dan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk penghambatan 50% ditentukan dan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ (Herawati & Hanifah, 2018).

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu menurut Chun et al., 2003 dengan modifikasi. Sampel dibuat pada konsentrasi 2500 ppm dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan dengan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (yang telah diencerkan dengan akuades pada perbandingan 1:10) dan 4 mL natrium karbonat 1M. Campuran diinkubasi selama 15 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar fenolik total dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat.

Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar flavonoid dilakukan berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012) yaitu: masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 5%, dikocok dan ditambahkan akuades sampai 10 mL. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil penetapan kadar flavonoid total dihitung sebagai rutin dengan rumus:

$$\text{KFT} = \frac{A \times \text{FP}}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times (b - \text{SP})}$$

Keterangan:

KFT = Kadar Flavonoid Total

A = Absorbansi sampel

FP = Faktor Pengenceran

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = Absorbansi spesifik untuk Rutin- AlCl_3 (259,4)

B = Berat sampel yang dipakai

SP = Susut Pengeringan

3. RESULTS AND ANALYSIS

Hasil Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Pengumpulan simplisia daun binahong yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Lembaga Kabupaten Bandung Barat dalam bentuk simplisia kering. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor dengan nomor surat 059/HB/02/2022.

Hasil Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Mekanisme yang terjadi pada maserasi adalah adanya difusi dari pelarut ke dalam simplisia sehingga metabolit sekunder yang memiliki tingkat kepolaran yang sama akan tertarik. Pelarut etanol 70% yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pelarut universal yang dapat menarik hampir seluruh metabolit sekunder yang bersifat polar. Kelebihan dari metode maserasi adalah tidak merusak proses pengambilan metabolit sekunder pada simplisia, karena tidak melibatkan pemanasan pada saat proses ekstraksi (Fathurrahman et al., 2024). Hasil rendemen dari ekstrak etanol daun binahong pada penelitian ini adalah sebesar 19,08%.

Hasil Fraksinasi

Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan pemisahan menggunakan metode fraksinasi. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, sehingga jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda (Putri et al., 2023). Metode fraksinasi yang dipilih pada penelitian ini adalah metode cair-cair. Hasil rendemen dari fraksinasi ekstrak binahong dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi Daun Binahong

Fraksi	Hasil (gram)	Rendemen (%)
Air	4,461	44,61
Etil asetat	4,171	41,71

Pelarut yang digunakan pada fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan air, tetapi seperti yang terlihat pada tabel 1 tidak adanya fraksi n-heksan yang didapatkan pada penelitian ini, yang kemungkinan mengindikasikan tidak ada atau sedikit senyawa metabolit sekunder bersifat non polar di dalam ekstrak etanol daun binahong. Hal ini sesuai dengan sifat dari pelarut etanol 70% sebagai pelarut universal yang banyak menarik senyawa bersifat polar, dan sedikit senyawa yang bersifat semi polar dan non polar.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk melihat kandungan metabolit sekunder yang ada dalam simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong secara kualitatif, yaitu dengan perubahan warna yang terbentuk setelah direaksikan dengan pereaksi tertentu. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap semua sampel uji untuk meyakinkan bahwa ekstraksi ataupun fraksinasi yang dilakukan tidak menghilangkan atau merubah kandungan metabolit sekunder yang ada pada simplisia. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Penapisan Fitokimia Daun Binahong

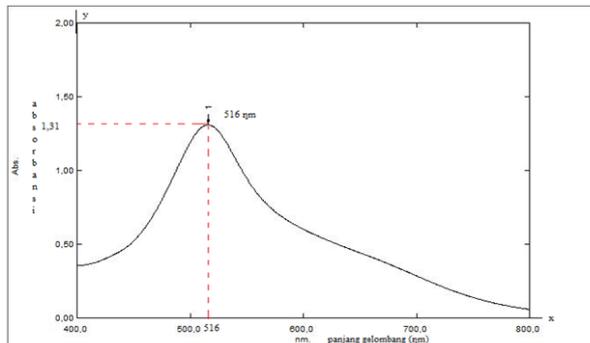
Golongan	Simplisia	Ekstrak	Fraksi	
			Etil asetat	Air
Alkaloid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	-	+
Saponin	+	+	+	+

Keterangan: (+) = mengandung metabolit sekunder
 (-) = tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan, daun binahong memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang merupakan metabolit penting pada tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam aktivitas antioksidan. Adanya gugus hidroksil aromatik pada kedua metabolit sekunder tersebut dapat memfasilitasi pelepasan radikal (Aryal et al., 2019). Pada hasil penapisan fraksi, masih terdapat metabolit sekunder yang sesuai dengan ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini tidak merusak metabolit sekunder.

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, hal ini dikarenakan flavonoid memiliki gugus hidroksi (OH) yang dapat menangkalkan radikal bebas di dalam tubuh (Sholikhah et al., 2023).



Gambar 1. Hasil Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Linier	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	1	0,617 ± 0,002	52,93	y=5,4809x+46,891	0,567
(standar)	2	0,566 ± 0,002	56,77		
	3	0,478 ± 0,004	63,51		
	4	0,400 ± 0,002	69,49		
	5	0,341 ± 0,004	73,97		

Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak ... ()

Ekstrak etanol	25	0,640 ± 0,001	42,34	$y=0,0111x+42,119$	717,27
	50	0,636 ± 0,002	42,67		
	75	0,633 ± 0,001	42,94		
	100	0,629 ± 0,002	43,33		
	200	0,618 ± 0,002	44,29		
Fraksi Etil Asetat	25	0,521 ± 0,004	41,16	$y=0,0156x+40,854$	586,28
	50	0,517 ± 0,004	41,63		
	75	0,513 ± 0,003	42,07		
	100	0,509 ± 0,006	42,50		
	200	0,496 ± 0,005	43,91		
Fraksi Air	25	0,520 ± 0,007	40,58	$y=0,0215x+40,845$	425,81
	50	0,514 ± 0,008	47,33		
	75	0,509 ± 0,005	54,65		
	100	0,504 ± 0,003	60,35		
	200	0,485 ± 0,009	68,06		

Metode aktivitas antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH, karena metode ini merupakan metode yang sederhana dan cepat dalam mengukur aktivitas antioksidan dari bahan alam. Ekstrak tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan akan menyumbangkan satu elektron kepada DPPH untuk mereduksi radikal bebas dari DPPH. Kekuatan antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} , di mana dapat diartikan sebagai konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap 50% radikal bebas (Ladeska et al., 2022). Panjang gelombang maksimum dari DPPH pada penelitian ini adalah 516 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 1.

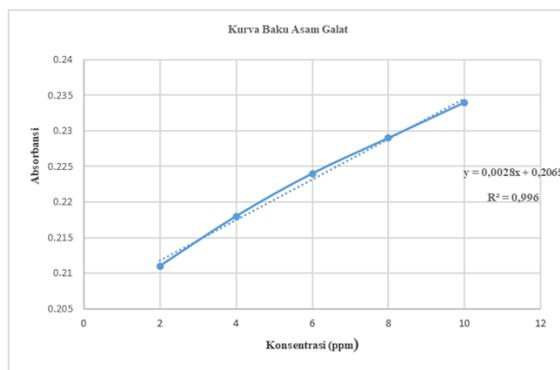
Vitamin C digunakan sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan karena, Vitamin C merupakan vitamin yang paling sering digunakan sebagai antioksidan. Vitamin C mampu menetralkan stres oksidatif melalui proses donasi/transfer elektron.

Kategori aktivitas antioksidan menurut Houghton & Raman (1998) ada empat, yaitu antioksidan kuat (IC_{50} : 50-100 ppm), sedang (IC_{50} :100-150 ppm), lemah (IC_{50} :150-200 ppm), dan sangat lemah (IC_{50} >200 ppm).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi daun binahong memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, karena memiliki IC_{50} >200 ppm seperti yang terlihat pada tabel 3. Hal ini sejalan dengan penelitian dari Hamzah dkk, 2022 yang menyebutkan bahwa ekstrak daun binahong memiliki aktivitas sangat lemah dengan IC_{50} 822,22 ppm.

Hasil Pengujian Kadar Fenolik Ekstrak Daun Binahong

Kadar fenolik dari ekstrak diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan pembanding asam galat. Kurva kalibrasi asam galat tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Asam Galat (n=3)

Tabel 4. Hasil Penentuan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)	Rerata Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)
Ekstrak	1	2500	0,829	222,32	223,76±0,012
	2		0,834	224,11	
	3		0,835	224,46	

Dari kurva kalibrasi asam galat pada gambar 2, didapat persamaan regresi linear yang kemudian digunakan dalam menentukan kadar fenolik total ekstrak etanol daun binahong. Panjang gelombang maksimum pada pengukuran asam galat adalah 770 nm. Asam galat digunakan dalam penelitian ini sebagai pembanding karena merupakan salah satu senyawa fenolik dengan struktur sederhana, bersifat stabil, juga tersedia dalam keadaan murni (Senet et al., 2018). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa kadar fenolik total ekstrak daun binahong sebesar 223,76 mg GAE/g seperti yang tertera pada tabel 4.

Hasil Pengujian Kadar Flavonoid Ekstrak Binahong

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid berdasarkan penelitian Fauzi et al (2023). Prinsip dari metode ini adalah kuantifikasi pembentukan kompleks flavonoid- $AlCl_3$ dengan spektrofotometer UV-Vis, yang dihitung sebanding dengan flavonoid rutin. Pembentukan senyawa kompleks umumnya terjadi reaksi antara $AlCl_3$ dengan flavonoid, yang akan membentuk senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Adanya penambahan $AlCl_3$ akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin-A atau B dari senyawa-senyawa flavonoid (Chang et al., 2020). Kadar flavonoid yang terdapat pada penelitian ini yaitu sebesar 0,483 mg RE/g seperti yang tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg RE/g)
Ekstrak	1	0,758	0,788	0,483±0,025
	2	0,805		
	3	0,800		

Kadar fenolik dan flavonoid dari daun binahong yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 223,76 mg GAE/g dan 0,483 mgRE/g secara berturut-turut, di mana termasuk kadar fenolik dan flavonoid yang tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fidrianny et al (2013), yang mendapatkan kadar flavonoid ekstrak etil asetat, n-heksan, dan etanol sebesar 1,37%; 0,24%, dan 0,7% secara berturut-turut.

Rendahnya kadar fenolik, flavonoid, dan lemahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun binahong dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah senyawa antioksidan yang ada dalam daun binahong yang tidak dipanen waktu pagi hari, hal ini dapat menyebabkan hilangnya senyawa antioksidan, karena senyawa tersebut mudah teroksidasi. Hal ini disebabkan karena antioksidan bekerja dengan mereduksi radikal bebas, sementara radikal bebas dapat berdifusi dan tersebar dengan mudah di udara (Santos-Sánchez et al., 2019). Faktor lainnya adalah proses pengeringan yang dilakukan sebaiknya tidak dilakukan pada pengeringan pada udara terbuka dengan tidak di bawah cahaya matahari langsung.

4. CONCLUSION

Daun binahong memiliki kandungan fenolik yang cukup tinggi, tetapi memiliki kadar flavonoid yang kecil, sehingga hal ini menyebabkan aktivitas antioksidan daun binahong termasuk ke dalam kategori lemah. Dikarenakan dari penelitian yang telah didapatkan, maka daun binahong disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap aktivitas lain seperti antiinflamasi, antibakteri, dan sebagainya.

REFERENCES

- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>

Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak ... ()

- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chun, O. K., Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8067–8072.
- Dadiono, M.S., dan Andayani, S. (2022). Potensi Tanaman Binahong Sebagai Obat Alternatif pada Bidang Akuakultur. *Jurnal Perikanan Pantura (JPP)*, 5(1), 157-162
- Fathurrahman, M. H., Herawati, I. E., Dewi, L., & Inayah, I. (2024). Total Phenolic Content, Flavonoids, And Antioxidant Activity Of Jalantir Leaves (*Coryza sumatrensis*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 7(1), 47–56. <https://doi.org/10.29313/jiff.v7i1.3156>
- Fauzi, N. I., Herawati, I. E., & Hadisoebroto, G. (2023). Kadar Fenolik Total, Kadar Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Varietas Pernalang. *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 9(2), 492–500. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i2.413>
- Fernandes, A. J. D., Ferreira, M. R. A., Randau, K. P., de Souza, T. P., & Soares, L. A. L. (2012). Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpiniaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1100/2012/923462>
- Fidrianny, I., Wirasutisna, K. R., & Amanda, P. (2013). Senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari Babakan Ciparay, Bandung Selatan, Indonesia. *Acta Pharm Indonesia*, 38(1), 26–30.
- Hamzah, H., Wirasmita, Y., & Syafriah, W. O. (2022). The Formulation and Antioxidant Activity Test of Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaves Extract Lotion. *MEDULA*, 9(2), 125. <https://doi.org/10.46496/medula.v9i2.24014>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods* (3rd ed.). Chapman and Hall.
- Herawati, I. E., & Hanifah, H. N. (2018). Antioxidant activity from ethanol extract and fractions of red flame ivy (*Hemigraphis colorata* Hall. F.) leaf using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Drug Invention Today*, 10(5), 3791–3793.
- Houghton, P., & Raman, A. (1998). *Laboratory Handbook of the Fractination of Natural Extracts*. Chapman & Hall.
- Ladeska, V., Saudah, S., & Ingrid, R. (2022). Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting *Tetracera indica* serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264,7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(2), 95. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.95-104.2022>
- Nugraheni, T., Putri, A., Sukmawati, A., Khasanah, L., Nisa, L., Wulandari, S., Riswana, S., & Setiawan, I. (2024). Macam-Macam Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 13(1), 39–50.
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Rahayu, Y.E., Ismunandar, H. Mutiara, H. (2023). Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steen.) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi: Tinjauan Pustaka. *Agromedicine*, 10(1), 31-34.
- Santos-Sánchez, N. F., Cañongo, R. S.-C., Villanueva, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants*, 10, 1–29.
- Samosir, S.R., Auliafendri, N., & Naibaho, M.I.D. (2024). Uji Efektivitas Antioksidan dari Kombinasi Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) dan Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda*, 7(2), 105-113
- Sumarina, P.O. Swastini, D.A, Ardinata, I.P.R., Suarka, I.P.S.D. (2017). Penentuan Profil Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(1). 23-25.

- Senet, M. R. M., Raharja, I. G. M. A. P., Darma, I. K. T., Prastakarini, K. T., Dewi, N. M. A., & Parwata, I. M. O. A. (2018). Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia*, *12*(1), 13–18.
- Sholikhah, K. P., Riyanti, S., & Wahyono, W. (2023). Potensi Antioksidan Alami Rempah Bunga Honje Hutan (*Etilingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) Dan Isolasi Senyawa Aktifnya. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, *6*(2), 137–149. <https://doi.org/10.29313/jiff.v6i2.11225>



5. Bukti Manuskrip Diterima (30 Juli 2025)



imelda jifarmasi



Active



Google

69

Compose

Mail

Inbox

69

Starred

Chat

Snoozed

Meet

Sent

Drafts

More

Labels

[JIFARMASI] Editor Decision External Inbox x



Hartika Samgryce Siagian <jurnal.univimeldamedan@gmail.com>
to me, Ita, Lisna

Thu, Aug 7, 2:46 PM

Irma Erika Herawati, Ita Inayah, Lisna Dewi :

We have reached a decision regarding your submission to JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda), "KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (Anredera cordifolia Ten.Steenis) ".

Our decision is to: Accept Submission

[JIFI \(Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda\)](#)

Reply Reply all Forward



Medan, 29 Juli 2025

No: 002/LOA/JIFI/9.1/2025

Lampiran: 2 Berkas

Hal: Letter of Acceptance (LoA)

Kepada Yth :

Irma Erika Herawati, Ita Inayah, Lisna Dewi, Hesty Nuur Hanifah
Universitas Al Ghifari

Terimakasih telah mengirimkan artikel ilmiah untuk diterbitkan pada Jurnal JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda) dengan Judul :

Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis)

Berdasarkan hasil review, artikel tersebut dinyatakan **DITERIMA** untuk diterbitkan di Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda pada Volume 9, Nomor 1, **e-ISSN 2597-7164**, September 2025.

Kami akan mengirimkan hardcopy edisi tersebut pada akhir bulan penerbitan apabila ada permintaan author dan biaya cetak dikenakan kepada author. Artikel tersebut akan lebih dahulu tersedia secara online di :

<https://jurnal.uimedan.ac.id/index.php/JURNALFARMASI>

Demikian informasi ini disampaikan, atas perhatiannya, diucapkan terimakasih.

Hormat Kami

Roby Gultom, M.Si

Editor in Chief

Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda

Universitas Imelda Medan

6. Artikel terbit (30 September 2025)

KADAR FENOLIK TOTAL, FLAVONOID TOTAL, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis)

Irma Erika Herawati¹, Ita Inayah², Lisna Dewi³

¹Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Indonesia

^{2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al Ghifari, Indonesia

Article Info

Article history:

Received May 31, 2025

Revised Jul 25, 2025

Accepted Aug 07, 2025

Keywords:

Phenolics

Flavonoids

Antioxidant

Binahong

ABSTRACT

Antioxidants play a crucial role in the body's defense system against oxidative stress that can lead to various degenerative diseases. Reactive oxygen species (ROS), or free radicals, are known to damage cells, proteins, and DNA, triggering aging and disease progression. Natural antioxidants, particularly phenolic and flavonoid compounds derived from plants, have gained attention for their ability to neutralize free radicals effectively. *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, commonly known as binahong, is one of the medicinal plants traditionally used in Indonesia and is believed to contain bioactive compounds, including phenolics and flavonoids, that contribute to antioxidant activity. This study aimed to determine the total phenolic and flavonoid content, as well as evaluate the antioxidant activity of binahong ethanol extract and its fractions using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method. While method for determining phenolic and flavonoid content was carried out using the colorimetric method. The results revealed that the ethanol extract of binahong contained total phenolics of 223.76 mg GAE/g extract and total flavonoids of 0.483 mg RE/g extract. Antioxidant activity, expressed as IC₅₀, was 717.27 ppm for the ethanol extract, 586.28 ppm for the ethyl acetate fraction, and 425.81 ppm for the aqueous fraction. Based on IC₅₀ classification, all samples fall into the category of weak antioxidant activity (IC₅₀ > 200 ppm). These findings indicate that while binahong contains measurable amounts of phenolics and flavonoids, further optimization or isolation of active compounds may be necessary to enhance its antioxidant potential.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

Irma Erika Herawati

Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker,

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,

Jl. Soekarno-Hatta No.354, Bandung, Jawa Barat, 40266.

Email: irmaerika@stfi.ac.id

1. INTRODUCTION

Penggunaan tanaman untuk pengobatan sudah sejak lama dilakukan. Saat ini semakin banyak penelitian untuk mendapatkan sumber-sumber pengobatan dari tanaman obat, salah satu bidang penelitian yang sedang banyak diminati saat ini adalah berhubungan dengan radikal bebas dan aktivitas antioksidan. Tanaman obat banyak dieksplorasi penggunaannya sebagai aktivitas antioksidan, karena senyawa antioksidan alamiah cenderung lebih aman dibandingkan dengan antioksidan sintesis (Hamzah et al., 2022).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi dari radikal bebas. Penggunaan antioksidan pada saat ini lebih banyak dari antioksidan alami yang berasal dari bahan alam (Samosir et al., 2024). Tanaman obat memiliki banyak kandungan metabolit sekunder, diantaranya adalah senyawa fenolik dan flavonoid. Kedua senyawa tersebut merupakan antioksidan alami yang terkandung pada tumbuhan. Kedua senyawa tersebut mampu menangkal radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Fathurrahman et al., 2024).

Radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, membuat molekul tidak stabil dan sangat reaktif. Reaksi yang terjadi terus-menerus di dalam tubuh jika tidak dikendalikan dapat menimbulkan berbagai macam penyakit seperti kanker, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya. Senyawa yang diperlukan untuk mencegah dan menetralkan kerusakan akibat radikal bebas adalah senyawa antioksidan, karena senyawa antioksidan dapat mencegah reaksi berantai yang diakibatkan oleh radikal bebas (Nugraheni et al., 2024).

Metode pengujian untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan dari bahan alam adalah metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode ini memiliki kelebihan yaitu proses pengukurannya lebih cepat, sederhana, dan juga membutuhkan biaya yang murah (Nugraheni et al., 2024).

Fenolik merupakan salah satu metabolit sekunder pada tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan, dikarenakan adanya gugus hidroksil (OH) aromatik yang dapat membantu pelepasan radikal bebas. Kadar fenolik total dari ekstrak diuji menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Fathurrahman et al., 2024).

Penelitian senyawa flavonoid sudah banyak dilakukan karena flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena adanya gugus OH yang dapat menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid adalah metode Chang. Prinsipnya adalah terjadi reaksi antara $AlCl_3$ dengan flavonoid, yang akan membentuk senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol (Fathurrahman et al., 2024).

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis) merupakan salah satu tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Daun binahong memiliki manfaat sebagai antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, dan analgesik (Rahayu et al., 2023). Manfaat binahong secara empiris dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit, bagian yang digunakan bisa berasal dari akar, batang daun, bunga, maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Senyawa yang terkandung dalam tanaman binahong antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid (Dadiono dan Andayani, 2022).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas dari ekstrak etanol daun binahong sebagai antiluka bakar dan pengamatan serta histopatologi mampu meningkatkan granulasi jaringan dan kepadatan kolagen. Daun binahong juga memiliki aktivitas antiinflamasi pada dosis 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB, memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Escherichia coli* dengan dosis 100 g/mL (Sumarina, et al., 2017).

Daun Binahong telah banyak diteliti aktivitas senyawa kimianya, dengan memfokuskan kepada kandungan metabolit sekunder seperti fenolik dan alkaloid. Dari penelitian yang sudah dilakukan menyimpulkan bahwa ekstrak metanol dari tanaman binahong memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan semua pelarut (Hamzah et al., 2022). Dari penelitian yang sudah dilakukan, belum ada penelitian yang melakukan pengukuran kandungan metabolit sekunder flavonoid dan juga pengukuran aktivitas antioksidan dari fraksi daun binahong. Sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan fenolik, flavonoid total, juga pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi dari daun binahong.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800, Jepang), *rotary vaporator* (IKA RV 8, Jerman), timbangan analitik, maserator, labu tentu ukur, gelas ukur, dan alat-alat lain yang umum digunakan di laboratorium. Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 70%, FeCl₃, gelatin 1%, HCl, serbuk magnesium (Mg), asam galat, kuersetin, pereaksi Folin-Ciocalteu, AlCl₃, natrium karbonat, natrium asetat, dan DPPH (Sigma Aldrich). Semua bahan kimia yang digunakan merupakan pelarut analitis (Merck, Jerman).

Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Daun binahong dikumpulkan dari Balai Penelitian, Tanaman Rempah dan Obat, Kebun Percobaan Manoko, Cikahuripan, Kecamatan Lembang, Jawa Barat pada bulan Agustus 2022. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor.

Ekstraksi

Daun binahong sebanyak 500 g diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi selama 3x24 jam, dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak cair dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary vaporator* kemudian dihitung rendemen ekstrak (Fathurrahman et al., 2024).

Fraksinasi

Ekstrak etanol kental daun binahong difraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Ekstrak dilarutkan dengan akuades yang sudah dipanaskan pada suhu 60°C. Suhu 60°C dipilih agar dapat mempertahankan kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Kemudian sampel dipartisi dengan menggunakan n-heksan dan etil asetat sebanyak 3 kali untuk masing-masing pelarut. Seluruh fraksi dikumpulkan dan diuapkan, kemudian dihitung rendemen fraksi (Herawati & Hanifah, 2018).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong dengan menggunakan metode Fauzi et al. 2023, yang meliputi metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, dan saponin, hal ini untuk memastikan bahwa proses ekstraksi tidak merusak kandungan kimia dari daun binahong. Sementara, penapisan fitokimia pada fraksi dilakukan untuk mengetahui pengelompokkan metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong Menggunakan Metode DPPH

Dilarutkan 4 mg DPPH dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL (40 g/mL). Vitamin C dan sampel (ekstrak dan fraksi) dilarutkan dengan menggunakan etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm untuk vitamin C dan 25, 50, 75, 100, dan 200 ppm untuk ekstrak dan fraksi daun binahong. Sebanyak 2 mL dari vitamin C, ekstrak, dan fraksi, dimasukkan masing-masing dalam tabung, ditambahkan 3 mL 40 g/mL DPPH. Campuran divorteks dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 20 menit, kemudian absorbansinya diukur pada 517 nm menggunakan spektrofotometer (Shizuma). Blanko yang digunakan adalah 96% etanol. Persentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ penghambatan DPPH} = [(Ab - Aa) / Ab] \times 100$$

Dengan Aa dan Ab masing-masing adalah nilai absorbansi sampel dan blanko. Persen kurva penghambatan versus konsentrasi diplot dan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk penghambatan 50% ditentukan dan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ (Herawati & Hanifah, 2018).

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu menurut Chun et al., 2003 dengan modifikasi. Sampel dibuat pada konsentrasi 2500 ppm dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan dengan 5 mL pereaksi Folin-Ciocalteu (yang telah diencerkan dengan akuades pada perbandingan 1:10) dan 4 mL natrium karbonat 1M. Campuran diinkubasi selama 15 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Kadar fenolik total dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi asam galat.

Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Penentuan kadar flavonoid dilakukan berdasarkan penelitian Fernandes et al (2012) yaitu: masing-masing ekstrak dipipet sebanyak 2 mL ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 5%, dikocok dan ditambahkan akuades sampai 10 mL. Absorbansi larutan ekstrak diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil penetapan kadar flavonoid total dihitung sebagai rutin dengan rumus:

$$\text{KFT} = \frac{A \times \text{FP}}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times (b - \text{SP})}$$

Keterangan:

KFT = Kadar Flavonoid Total

A = Absorbansi sampel

FP = Faktor Pengenceran

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = Absorbansi spesifik untuk Rutin- AlCl_3 (259,4)

B = Berat sampel yang dipakai

SP = Susut Pengerinan

3. RESULTS AND ANALYSIS

Hasil Pengumpulan Simplisia dan Determinasi Tanaman

Pengumpulan simplisia daun binahong yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Lembang Kabupaten Bandung Barat dalam bentuk simplisia kering. Tanaman diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran, Jatinangor dengan nomor surat 059/HB/02/2022.

Hasil Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Mekanisme yang terjadi pada maserasi adalah adanya difusi dari pelarut ke dalam simplisia sehingga metabolit sekunder yang memiliki tingkat kepolaran yang sama akan tertarik. Pelarut etanol 70% yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pelarut universal yang dapat menarik hampir seluruh metabolit sekunder yang bersifat polar. Kelebihan dari metode maserasi adalah tidak merusak proses pengambilan metabolit sekunder pada simplisia, karena tidak melibatkan pemanasan pada saat proses ekstraksi (Fathurrahman et al., 2024). Hasil rendemen dari ekstrak etanol daun binahong pada penelitian ini adalah sebesar 19,08%.

Hasil Fraksinasi

Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan pemisahan menggunakan metode fraksinasi. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, sehingga jumlah dan jenisnya menjadi fraksi yang berbeda (Putri et al., 2023). Metode fraksinasi yang dipilih pada penelitian ini adalah metode cair-cair. Hasil rendemen dari fraksinasi ekstrak binahong dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Fraksi Daun Binahong

Fraksi	Hasil (gram)	Rendemen (%)
Air	4,461	44,61
Etil asetat	4,171	41,71

Pelarut yang digunakan pada fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan air, tetapi seperti yang terlihat pada tabel 1 tidak adanya fraksi n-heksan yang didapatkan pada penelitian ini, yang kemungkinan mengindikasikan tidak ada atau sedikit senyawa metabolit sekunder bersifat non polar di dalam ekstrak etanol daun binahong. Hal ini sesuai dengan sifat dari pelarut etanol 70% sebagai pelarut universal yang banyak menarik senyawa bersifat polar, dan sedikit senyawa yang bersifat semi polar dan non polar.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk melihat kandungan metabolit sekunder yang ada dalam simplisia, ekstrak, dan fraksi daun binahong secara kualitatif, yaitu dengan perubahan warna yang terbentuk setelah direaksikan dengan pereaksi tertentu. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap semua sampel uji untuk meyakinkan bahwa ekstraksi ataupun fraksinasi yang dilakukan tidak menghilangkan atau merubah kandungan metabolit sekunder yang ada pada simplisia. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Penapisan Fitokimia Daun Binahong

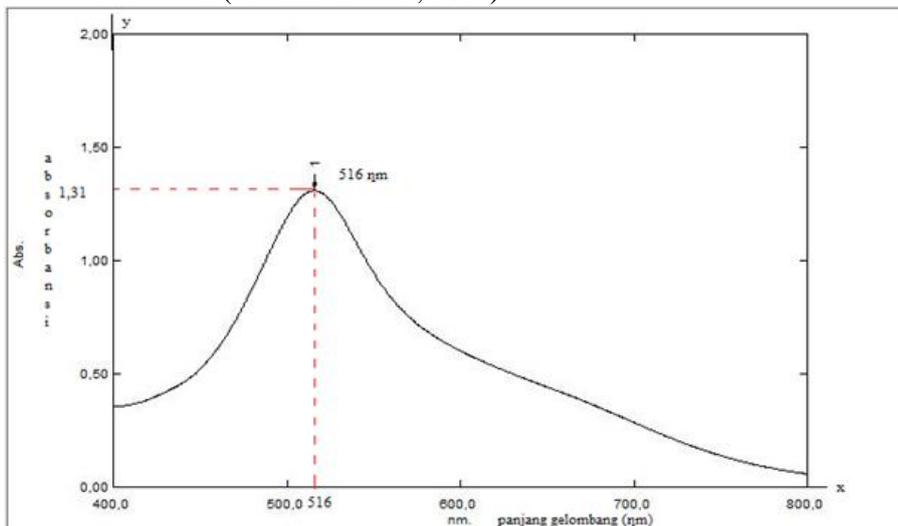
Golongan	Simplisia	Ekstrak	Fraksi	
			Etil asetat	Air
Alkaloid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	-	+
Saponin	+	+	+	+

Keterangan: (+) = mengandung metabolit sekunder
(-) = tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia yang dilakukan, daun binahong memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang merupakan metabolit penting pada tanaman yang dapat dimanfaatkan dalam aktivitas antioksidan. Adanya gugus hidroksil aromatik pada kedua metabolit sekunder tersebut dapat memfasilitasi pelepasan radikal (Aryal et al., 2019). Pada hasil penapisan fraksi, masih terdapat metabolit sekunder yang sesuai dengan ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini tidak merusak metabolit sekunder.

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, hal ini dikarenakan flavonoid memiliki gugus hidroksi (OH) yang dapat menangkal radikal bebas di dalam tubuh (Sholikhah et al., 2023).



Gambar 1. Hasil Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Binahong

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Linier	IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C (standar)	1	0,617 ± 0,002	52,93	$y=5,4809x+46,891$	0,567
	2	0,566 ± 0,002	56,77		
	3	0,478 ± 0,004	63,51		
	4	0,400 ± 0,002	69,49		
	5	0,341 ± 0,004	73,97		
Ekstrak etanol	25	0,640 ± 0,001	42,34	$y=0,0111x+42,119$	717,27
	50	0,636 ± 0,002	42,67		
	75	0,633 ± 0,001	42,94		
	100	0,629 ± 0,002	43,33		
	200	0,618 ± 0,002	44,29		
Fraksi Etil Asetat	25	0,521 ± 0,004	41,16	$y=0,0156x+40,854$	586,28
	50	0,517 ± 0,004	41,63		
	75	0,513 ± 0,003	42,07		
	100	0,509 ± 0,006	42,50		
	200	0,496 ± 0,005	43,91		
Fraksi Air	25	0,520 ± 0,007	40,58	$y=0,0215x+40,845$	425,81
	50	0,514 ± 0,008	47,33		
	75	0,509 ± 0,005	54,65		
	100	0,504 ± 0,003	60,35		
	200	0,485 ± 0,009	68,06		

Metode aktivitas antioksidan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode DPPH, karena metode ini merupakan metode yang sederhana dan cepat dalam mengukur aktivitas antioksidan dari bahan alam. Ekstrak tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan akan menyumbangkan satu elektron kepada DPPH untuk mereduksi radikal bebas dari DPPH. Kekuatan antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀, di mana dapat diartikan sebagai konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap 50% radikal bebas (Ladeska et al., 2022). Panjang gelombang maksimum dari DPPH pada penelitian ini adalah 516 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 1.

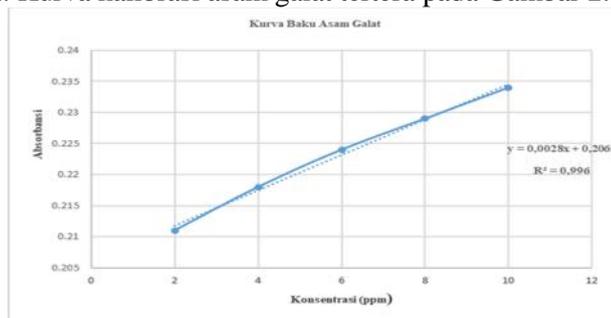
Vitamin C digunakan sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan karena, Vitamin C merupakan vitamin yang paling sering digunakan sebagai antioksidan. Vitamin C mampu menetralkan stres oksidatif melalui proses donasi/transfer elektron.

Kategori aktivitas antioksidan menurut Houghton & Raman (1998) ada empat, yaitu antioksidan kuat (IC₅₀: 50-100 ppm), sedang (IC₅₀: 100-150 ppm), lemah (IC₅₀: 150-200 ppm), dan sangat lemah (IC₅₀ >200 ppm).

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi daun binahong memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, karena memiliki IC₅₀ >200 ppm seperti yang terlihat pada tabel 3. Hal ini sejalan dengan penelitian dari Hamzah dkk, 2022 yang menyebutkan bahwa ekstrak daun binahong memiliki aktivitas sangat lemah dengan IC₅₀ 822,22 ppm.

Hasil Pengujian Kadar Fenolik Ekstrak Daun Binahong

Kadar fenolik dari ekstrak diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan pembanding asam galat. Kurva kalibrasi asam galat tertera pada Gambar 2.

**Gambar 2. Kurva Asam Galat (n=3)**

Tabel 4. Hasil Penentuan Kadar Fenolik Ekstrak Etanol Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)	Rerata Kadar Fenolik Total (mg GAE/g)
Ekstrak	1	2500	0,829	222,32	223,76±0,012
	2		0,834	224,11	
	3		0,835	224,46	

Dari kurva kalibrasi asam galat pada gambar 2, didapat persamaan regresi linear yang kemudian digunakan dalam menentukan kadar fenolik total ekstrak etanol daun binahong. Panjang gelombang maksimum pada pengukuran asam galat adalah 770 nm. Asam galat digunakan dalam penelitian ini sebagai pembanding karena merupakan salah satu senyawa fenolik dengan struktur sederhana, bersifat stabil, juga tersedia dalam keadaan murni (Senet et al., 2018). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa kadar fenolik total ekstrak daun binahong sebesar 223,76 mg GAE/g seperti yang tertera pada tabel 4.

Hasil Pengujian Kadar Flavonoid Ekstrak Binahong

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid berdasarkan penelitian Fauzi et al (2023). Prinsip dari metode ini adalah kuantifikasi pembentukan kompleks flavonoid- $AlCl_3$ dengan spektrofotometer UV-Vis, yang dihitung sebanding dengan flavonoid rutin. Pembentukan senyawa kompleks umumnya terjadi reaksi antara $AlCl_3$ dengan flavonoid, yang akan membentuk senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Adanya penambahan $AlCl_3$ akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin-A atau B dari senyawa-senyawa flavonoid (Chang et al., 2020). Kadar flavonoid yang terdapat pada penelitian ini yaitu sebesar 0,483 mg RE/g seperti yang tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Binahong

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Kadar Flavonoid (mg RE/g)
Ekstrak	1	0,758	0,788	0,483±0,025
	2	0,805		
	3	0,800		

Kadar fenolik dan flavonoid dari daun binahong yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 223,76 mg GAE/g dan 0,483 mgRE/g secara berturut-turut, di mana termasuk kadar fenolik dan flavonoid yang tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fidrianny et al (2013), yang mendapatkan kadar flavonoid ekstrak etil asetat, n-heksan, dan etanol sebesar 1,37%; 0,24%, dan 0,7% secara berturut-turut.

Rendahnya kadar fenolik, flavonoid, dan lemahnya aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi daun binahong dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah senyawa antioksidan yang ada dalam daun binahong yang tidak dipanen waktu pagi hari, hal ini dapat menyebabkan hilangnya senyawa antioksidan, karena senyawa tersebut mudah teroksidasi. Hal ini disebabkan karena antioksidan bekerja dengan mereduksi radikan bebas, sementara radikal bebas dapat berdifusi dan tersebar dengan mudah di udara (Santos-Sánchez et al., 2019). Faktor lainnya adalah proses pengeringan yang dilakukan sebaiknya tidak dilakukan pada pengeringan pada udara terbuka dengan tidak di bawah cahaya matahari langsung.

4. CONCLUSION

Daun binahong memiliki kandungan fenolik yang cukup tinggi, tetapi memiliki kadar flavonoid yang kecil, sehingga hal ini menyebabkan aktivitas antioksidan daun binahong termasuk ke dalam kategori lemah. Dikarenakan dari penelitian yang telah didapatkan, maka daun binahong disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap aktivitas lain seperti antiinflamasi, antibakteri, dan sebagainya.

REFERENCES

- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chun, O. K., Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8067–8072.
- Dadiono, M.S., dan Andayani, S. (2022). Potensi Tanaman Binahong Sebagai Obat Alternatif pada Bidang Akuakultur. *Jurnal Perikanan Pantura (JPP)*, 5(1), 157-162
- Fathurrahman, M. H., Herawati, I. E., Dewi, L., & Inayah, I. (2024). Total Phenolic Content, Flavonoids, And Antioxidant Activity Of Jalantir Leaves (*Coryza sumatrensis*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 7(1), 47–56. <https://doi.org/10.29313/jiff.v7i1.3156>
- Fauzi, N. I., Herawati, I. E., & Hadisoebroto, G. (2023). Kadar Fenolik Total, Kadar Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Varietas Pemalang. *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 9(2), 492–500. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i2.413>
- Fernandes, A. J. D., Ferreira, M. R. A., Randau, K. P., de Souza, T. P., & Soares, L. A. L. (2012). Total Flavonoids Content in the Raw Material and Aqueous Extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpiniaceae). *The Scientific World Journal*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1100/2012/923462>
- Fidrianny, I., Wirasutisna, K. R., & Amanda, P. (2013). Senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari Babakan Ciparay, Bandung Selatan, Indonesia. *Acta Pharm Indonesia*, 38(1), 26–30.
- Hamzah, H., Wirasmita, Y., & Syafriah, W. O. (2022). The Formulation and Antioxidant Activity Test of Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaves Extract Lotion. *MEDULA*, 9(2), 125. <https://doi.org/10.46496/medula.v9i2.24014>
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods* (3rd ed.). Chapman and Hall.
- Herawati, I. E., & Hanifah, H. N. (2018). Antioxidant activity from ethanol extract and fractions of red flame ivy (*Hemigraphis colorata* Hall. F.) leaf using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Drug Invention Today*, 10(5), 3791–3793.
- Houghton, P., & Raman, A. (1998). *Laboratory Handbook of the Fractination of Natural Extracts*. Chapman & Hall.
- Ladeska, V., Saudah, S., & Inggrid, R. (2022). Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting *Tetracera indica* serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264.7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(2), 95. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.95-104.2022>
- Nugraheni, T., Putri, A., Sukmawati, A., Khasanah, L., Nisa, L., Wulandari, S., Riswana, S., & Setiawan, I. (2024). Macam-Macam Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 13(1), 39–50.
- Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- Rahayu, Y.E., Ismunandar, H. Mutiara, H. (2023). Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steen.) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi: Tinjauan Pustaka. *Agromedicine*, 10(1), 31-34.
- Santos-Sánchez, N. F., Cañongo, R. S.-C., Villanueva, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants*, 10, 1–29.
- Samosir, S.R., Auliafendri, N., & Naibaho, M.I.D. (2024). Uji Efektivitas Antioksidan dari Kombinasi Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) dan Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda*, 7(2), 105-113

- Sumarina, P.O. Swastini, D.A, Ardinata, I.P.R., Suarka, I.P.S.D. (2017). Penentuan Profil Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 6(1). 23-25.
- Senet, M. R. M., Raharja, I. G. M. A. P., Darma, I. K. T., Prastakarini, K. T., Dewi, N. M. A., & Parwata, I. M. O. A. (2018). Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia*, 12(1), 13–18.
- Sholikhah, K. P., Riyanti, S., & Wahyono, W. (2023). Potensi Antioksidan Alami Rempah Bunga Honje Hutan (*Etlingera hemisphaerica* (Blume) R. M. Sm.) Dan Isolasi Senyawa Aktifnya. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 6(2), 137–149. <https://doi.org/10.29313/jiff.v6i2.11225>

