

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
70 %, EKSTRAK DAN ISOLAT SENYAWA FLAVONOID
DALAM UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

SKRIPSI

oleh :
PUTRI RIZKIA
NIM. 10630033



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
70 %, EKSTRAK DAN ISOLAT SENYAWA FLAVONOID DALAM UMBI
BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

SKRIPSI

oleh :
PUTRI RIZKIA
NIM. 10630033



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70 %,
EKSTRAK DAN ISOLAT SENYAWA FLAVONOID DALAM UMBI
BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam Memperoleh Gelar
Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh:

**PUTRI RIZKIA
NIM. 10630033**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70 %,
EKSTRAK DAN ISOLAT SENYAWA FLAVONOID DALAM UMBI
BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

SKRIPSI

**Oleh:
PUTRI RIZKIA
NIM. 10630033**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 10 September 2014

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Akyunul Jannah, S.Si, MP
NIP. 19750410 200501 2 009

Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19761003 200312 1 004

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI EFEKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70 %,
EKSTRAK DAN ISOLAT SENYAWA FLAVONOID DALAM UMBI
BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

SKRIPSI

Oleh:
PUTRI RIZKIA
NIM. 10630033

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 10 September 2014

Susunan Dewan Penguji		Tanda Tangan
1. Penguji Utama	: Elok Kamilah Hayati, M. Si NIP. 19790620 200604 2 002	()
2. Ketua Penguji	: Ahmad Hanapi, M. Sc NIPT. 20140201 1 422	()
3. Sekretaris Penguji	: Akyunul Jannah, S.Si, MP NIP. 19750410 200501 2 009	()
4. Anggota Penguji	: Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19761003 200312 1 004	()

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Kupersembahkan karya ini dengan rasa syukur kepada :

Kedua orang tuaku atas semuanya, doa, keringat, dan air mata yang selalu mengiringi setiap langkah perjalananku hingga terselesainya karya ini.

Adikku, yang selalu memberikan semangat dan senyumnya hingga karya ini selesai.

Emak dan bapak yang selalu memberikan dukungan dan semangatnya.

Kedua keponakanku yang selalu mengiringi keceriaan di sela-sela terselesainya karya ini.

Bapak Tri Kustono Adi M. Sc sebagai dosen wali atas nasihatnya di setiap semester hingga terselesainya studi ini.

Ibu Akyunul Jannah, S.Si, M.P dan Ibu Hafidatul Hasanah, M.Si atas bimbingannya di sela-sela kesibukan beliau hingga karya ini terselesaikan.

Teman-teman dekatku di kimia Tete, Mb. Cilphi dan Uu kalian semua adalah yang pertama. Semoga persahabatan kita tetap istiqomah.

Semua tim DM (Mb. Cilphi, Uu, Fery, Day, Mak Vely, Ndris, dan Uji) tanpa kalian karya ini tidak akan selesai.

Duo mbah (Bucel & Pina), semua teman-teman kimia angkatan 2010, kakak tingkat kimia. Terima kasih atas motivasi dan dukungannya.

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾ فَإِذَا فَرَغْتَ فَانصَبْ ﴿٧﴾

وَإِلَىٰ رَبِّكَ فَارْغَبْ ﴿٨﴾

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan),
kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain
dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya
kamu berharap.

Man jadda wa jada
Do'a-iktia-tawakal
Selalu bersyukur

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Rizkia
NIM : 10630033
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 %, Ekstrak
dan Isolat Senyawa Flavonoid Dalam Umbi Binahong
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang telah saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 11 September 2014
Yang membuat pernyataan,

Putri Rizkia
NIM. 10630033

KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **”Uji Efektivitas Antioksidan) Ekstrak Etanol 70 %, Ekstrak dan Isolat Senyawa Flavonoid Dalam Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis”** ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Seiring terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis demi terselesainya skripsi ini.
2. Ibu Hafidatul Hasanah, M. Si, selaku konsultan yang telah memberikan arahan dan nasehat demi terselesainya skripsi ini.
3. Bapak Ahmad Abtokhi M.Pd, selaku Pembimbing Agama
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Penguji Utama.
5. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc, selaku Ketua Penguji

Yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat serta bantuan materiil maupun moril kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis menghaturkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Semua keluarga besar yaitu Ayahku dan Ibuku yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan dalam segala bentuk yang tak mungkin terbalaskan. Adikku yang selalu memberikan semangat dan senyum candaanya.

2. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maliki Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia, UIN Maliki Malang.
5. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.
6. Seluruh staf laboratorium (mas Abi, mas Taufik, mbak Rika, mbak Mei, mbak Susi) dan staf administrasi (mbak Ana dan mbak Is) Jurusan Kimia atas seluruh bantuannya.
7. Teman-teman kimia angkatan 2010 (khususnya desy, silvy dan uswatun) yang telah berbagi kebersamaannya dalam senang maupun susah, sehingga tetap terjaga persaudaran kita.
8. Semua rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 05 September 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGAJUAN	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	6
1.4 Batasan Masalah	7
1.5 Manfaat Penelitian	7
 BAB II KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman Dalam Perspektif Islam	8
2.2 Tanaman Binahong Dalam Perspektif Sains	9
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	9
2.2.2 Komponen Kimia Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	10
2.2.3 Khasiat dan Kegunaan Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	11
2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif	12
2.3.1 Ekstraksi Maserasi	12
2.3.2 Ekstraksi Senyawa Flavonoid	14
2.4 Senyawa Flavonoid	16
2.5 Antioksidan	18
2.5.1 Klasifikasi Antioksidan	19
2.5.2 Radikal Bebas	20
2.5.3 Mekanisme Antioksidatif	21
2.5.4 Uji Efektivitas Antioksidan	23
2.6 Identifikasi Senyawa Aktif	26
2.6.1 Flavonoid	27
2.6.2 Tanin	28
2.6.3 Alkaloid	29
2.6.4 Triterpenoid dan Steroid	30

2.6.5 Saponin	31
2.7 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	31

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	34
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	34
3.2.1 Alat	34
3.2.2 Bahan	34
3.3 Rancangan Penelitian	35
3.4 Tahapan Penelitian	35
3.5 Pelaksanaan Penelitian	36
3.5.1 Preparasi Sampel	36
3.5.2 Analisis Kadar Air	37
3.5.3 Ekstraksi Umbi Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis.) Menggunakan Etanol 70 %	38
3.5.4 Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong dengan Metode DPPH	39
3.5.5 Uji Fitokimia dengan Reagen	40
3.5.6 Ekstraksi Senyawa Flavonoid Umbi Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis.)	42
3.5.7 Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Senyawa Flavonoid Umbi Binahong dengan Metode DPPH	43
3.5.8 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif	44
3.5.9 Uji Efektivitas Antioksidan Isolat Flavonoid Umbi Binahong dengan Metode DPPH	44
3.5.10 Analisis Data	45

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel	47
4.2 Analisis Kadar Air	48
4.3 Ekstraksi Umbi Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) dalam Etanol 70 %	48
4.4 Ekstraksi Senyawa Flavonoid Umbi Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	50
4.5 Uji Fitokimia Reagen	52
4.5.1 Alkaloid	53
4.5.2 Flavonoid	54
4.5.3 Saponin	54
4.5.4 Triterpenoid	55
4.5.5 Tanin	56
4.6 Uji Efektivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	56
4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	56
4.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan	57
4.6.3 Pengujian Efektivitas Antioksidan pada Sampel	59
4.7 Uji Antioksidan Isolat Hasil KLT Preparatif	65
4.8 Pemanfaatan Umbi Binahong dalam Perspektif Agama Islam	70

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	75
5.2 Saran.. ..	75

DAFTAR PUSTAKA	76
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	85
-----------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelaru	14
Tabel 2.2	Sifat golongan flavonoid	17
Tabel 2.3	Ketentuan kekuatan antioksidan	26
Tabel 4.1	Hasil maserasi ekstrak etanol 70 % umbi binahong	50
Tabel 4.2	Hasil ekstraksi dan rendemen masing-masing fraksi hasil partisi...	51
Tabel 4.3	Hasil uji fitokimia reagen umbi binahong	53
Tabel 4.4	Waktu kestabilan masing-masing ekstrak	58
Tabel 4.5	Hasil persentase aktivitas antioksidan	60
Tabel 4.6	Nilai EC ₅₀ masing-masing ekstrak	61
Tabel 4.7	Hasil KLT Preparatif pada panjang gelombang 366 nm	66
Tabel 4.8	Hasil efektivitas antioksidan isolat KLT Preparatif pada konsentrasi 178,60 mg/L	67
Tabel 4.9	Hasil uji efektivitas antioksidan vitamin C dan BHT pada konsentrasi 178,60 mg/L	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Umbi Binahong (<i>Anredera cordofolia</i> T.) (Sukandar dkk., 2011)	10
Gambar 2.2	Dugaan reaksi hidrolisis ikatan <i>O</i> -glikosida (Mardiyah, 2012)...	15
Gambar 2.3	Asam Askorbat (Vitamin C).....	19
Gambar 2.4	<i>Butylated hydroxytoluene</i> (BHT) (Cahyadi, 2006).....	20
Gambar 2.5	Reaksi asam askorbat dengan DPPH (Prakash, dkk., 2001)	24
Gambar 2.6	Struktur dasar senyawa flavonoid (Lenny, 2006).....	27
Gambar 2.7	Contoh struktur senyawa tanin (Robinson, 1995)	28
Gambar 2.8	Contoh struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995).....	29
Gambar 2.9	Contoh struktur senyawa triterpenoid (Robinson, 1995)	30
Gambar 2.10	Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)	31
Gambar 4.1	Spektra larutan DPPH 0,2 mM	57
Gambar 4.2	Reduksi DPPH (Prakash dkk., 2001).....	59
Gambar 4.3	Grafik efektivitas antioksidan sampel.....	60
Gambar 4.4	Glikosida flavonoid.....	64
Gambar 4.5	Reaksi peredaman radikal bebas (Marliana dkk., 2012).....	69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian	85
Lampiran 2 Perhitungan Kadar Air	93
Lampiran 3 Perhitungan Rendemen	96
Lampiran 4 Pengujian Antioksidan	97
Lampiran 5 Pembuatan Reagen dan Larutan	109
Lampiran 6 Dokumentasi	114



ABSTRAK

Rizkia, P. 2014. **Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 %, Ekstrak dan Isolat Senyawa Flavonoid Dalam Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**. Pembimbing I: Akyunul Jannah, S.Si, MP; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Konsultan: Hafidatul Hasanah M.Si

Kata Kunci: Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), efektivitas antioksidan, ekstrak etanol 70 %, ekstrak senyawa flavonoid, isolat senyawa flavonoid.

Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) diketahui memiliki potensi sebagai antioksidan. Salah satunya bagian umbi tanaman binahong. Sebagaimana firman Allah SWT dalam QS. Asy Syu'Aras; 7, QS. Thaha; 53 dan QS. Luqman; 10 bahwasannya Allah menciptakan tumbuhan baik yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Salah satu pemanfaatan umbi binahong adalah sebagai obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antioksidan dalam ekstrak etanol 70 %, ekstrak dan isolat senyawa flavonoid umbi binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.

Ekstraksi senyawa aktif umbi tanaman binahong dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70 %. Hasil ekstraksi dihidrolisis dengan HCl 2N dan dipartisi untuk mendapatkan ekstrak senyawa flavonoid. Ekstrak etanol 70 % dan ekstrak senyawa flavonoid umbi binahong diuji efektivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) dengan variasi konsentrasi. Identifikasi golongan senyawa aktif dilakukan dengan penambahan reagen dan diamati secara kualitatif. Ekstrak flavonoid dipisahkan dengan metode KLT menggunakan eluen n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) selanjutnya isolat diuji antioksidan kembali.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak flavonoid memiliki efektivitas antioksidan lebih baik daripada ekstrak etanol 70 %. Nilai EC_{50} ekstrak flavonoid sebesar 178,60 mg/L dan ekstrak etanol 70 % umbi binahong sebesar 298,10 mg/L. Hasil pemisahan KLT Preparatif didapatkan empat isolat, efektivitas antioksidan fraksi aktif senyawa flavonoid tertinggi terdapat pada isolat ketiga sebesar 7,16 %.

ABSTRACT

Rizkia, P. 2014. **Test of Antioxidant Effectiveness of 70 % Ethanol Extract, Extract Flavonoid and Isolated Flavonoid Fraction of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Tuber.** Thesis. Chemistry Department Faculty of Science and Technology *Islamic University* of Maulana Malik Ibrahim *Malang* State. 1st Preceptor: Akyunul Jannah, S.Si, M.P; 2nd Preceptor: Abtokhi Ahmad, M.Pd; Consultant : Hafidatul Hasanah, M.Si.

Keywords: Binahong tubers (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), effectiveness of antioxidants, ethanol 70 % extract, flavonoids extract, flavonoid isolates.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) tuber is known to have potential as an antioxidant. Allah says in Quran surah Asy Syu'ara verse 7, Taha verse 53 and Luqman verse 10 that Allah has created good plants which can be used by man. One of the utilizations is being a medicine. The aims of this research are determining the effectiveness of antioxidant in 70 % ethanol extract and extract flavonoid of Binahong tuber, and determining antioxidant effectiveness of isolated flavonoid fraction of binahong tuber.

Extraction of active compounds from binahong tuber was conducted by maceration method using 70 % ethanol. Result of extraction was hydrolyzed with HCl 2 N and partitioned to obtain the flavonoid compound. The flavonoid compound and 70 % ethanol extract of binahong tubers were tested their antioxidant effectiveness using various concentration of DPPH (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil). Identification classes of the active compounds were carried out using reagent test and qualitative observation. Flavonoid was separated using thin layer chromatography (TLC) technique. The eluents was n-butanol-acetic acid-water (4:1:5). Then the isolated flavonoid fraction was tested its antioxidant effectiveness.

The results showed that flavonoid has antioxidant effectiveness better than 70 % ethanol extract. EC₅₀ values of flavonoid is 178,68 mg/L and 70 % ethanol extract is 298,10 mg/L. Separation with TLC resulted 4 isolate fractions and the highest antioxidant effectiveness was given by the third isolate that is 7,16 %.

الملخص

رزقيا، ف. 2014. اختبار فاعلية من مضادات الأكسدة استخراج الإيثانول 70% ، ويعزل استخراج مركبات الفلافونويد لمبات بيننج. أطروحة. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا في جامعة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول : اكيون الجنة الماجستير والمشرف الثاني : أحمد ابطخي الماجستير ، و مستشار : حفيدة الحسنة الماجستير

كلمات البحث: لمبات بيننج ، وفاعلية من مضادات الأكسدة، استخراج الإيثانول 70% ، ويعزل استخراج مركبات الفلافونويد.

ومن المعروف النباتات بيننج لديها إمكانات ومضاد للأكسدة. واحد منهم هو المحاصيل الدرنية بيننج. كما قال الله في القرآن في سورة : الشعراء 7، طه. 53 و لقمان 10. جيدا أن الله خلق النباتات التي يمكن استخدامها من قبل البشر. استخدام واحد لمبة بيننج المخدرات. وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد مدى فعالية المواد المضادة للأكسدة وفئات من المركبات الواردة في استخراج الإيثانول 70%، مستخلص الفلافونويد وعزل المصابيح بيننج

استخراج المركبات النشطة من الدرنات النباتية بيننج به طريقة النقع باستخدام الإيثانول 70%. نتائج استخراج تحلل مع حمض الهيدروكلوريك 2N ومقسم إلى الحصول على مستخلص الفلافونويد. 70% استخراج الإيثانول واستخراج الفلافونويد من الدرنات بيننج اختبار فعالية من مضادات الأكسدة باستخدام (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) مع مختلف التركيز. ويتم تحديد فئات من المركبات النشطة بإضافة كاشف ولاحظ نوعيا. تم فصل مقتطفات من الفلافونويد طريقة باستخدام شاطئ ن بيوتانول-الخليك، حامض الماء (4: 1: 5) اختبار المزيد من العزلات مضادات الأكسدة الظهر .

أظهرت النتائج أن مركبات الفلافونويد المضادة للأكسدة مستخلص لها فعالية أفضل من 70% استخراج الإيثانول. تقدر EC_{50} استخراج كانت الفلافونويد 178.60 ملغم / لتر و 70% من الإيثانول المستخلص من الدرنات بيننج من 298.10 ملغ / ل. النتائج فصل إعدادي حصلت أربع عزلات، فعالية جزء نشط وجدت الفلافونويد المضادة للأكسدة في العزلات الثالث أعلى من 7.16% المركبات الموجودة في 70% استخراج الإيثانول.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa antioksidan memiliki peranan penting dalam kesehatan karena mampu meredam radikal bebas. Manusia memiliki antioksidan endogen dalam tubuhnya yang mampu meredam radikal bebas. Ketika, jumlah molekul radikal bebas di dalam tubuh lebih banyak daripada antioksidan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Reaktifitas radikal bebas dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel (Suryohudoyo, 1993). Akibatnya terjadi penyakit autoimun dan degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung dan diabetes mellitus (Rohmatussolihat, 2009).

Antioksidan eksogen dari luar tubuh membantu meredam dampak negatif radikal bebas. Antioksidan sintetis seperti BHT (*Butylated Hydroxytoluen*), BHA (*Butylated Hydroxyanisole*) dan TBHQ (*Terbutylhydroxyquinone*) mempunyai aktifitas biologis meredam radikal bebas. Namun, beberapa studi menyatakan bahwa BHA bersifat karsinogenik pada lambung tikus dan hamster, diawali dari munculnya perbanyakan sel yang tak terkendali sehingga menyebabkan kanker (Masui dkk., 1986). BHA dan BHT dapat mengubah stabilitas genomik dari sel (Tran, 2013).

Antioksidan alami seperti asam askorbat, tokoferol, karetonoid, senyawa fenol dan flavonoid menjadi alternatif pemenuhan antioksidan yang aman (Nunes

dkk., 2012). Beberapa antioksidan alami terdapat di dalam tanaman seperti binahong *Anredera cordofolia* (Ten.) Stennis. Masyarakat sering menggunakan daun binahong dan tidak memanfaatkan umbinya. Padahal, nutrisi utama yang disediakan umbi adalah karbohidrat dan protein dengan kadar rendah (1-2 %) (Rome, 1990). Karbohidrat dan protein merupakan metabolit primer sedangkan, prekursor biosintesis metabolit sekunder didapatkan dari metabolit primer (Dewick, 1999 dalam Sudibyo, 2002). Sifat bioaktif dalam metabolit sekunder berperan sebagai antibiotik, antifungal, antiviral, antitumor dan lainnya yang bermanfaat untuk pengobatan manusia (Sudibyo, 2002).

Sebelumnya, Allah SWT telah memberikan petunjuk tentang penggunaan tanaman yang bermanfaat, tersirat dalam firman Allah SWT Surat asy Syu'araa' ayat 7 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?(QS. Asy Syu'araa':7)”

Firman Allah dalam surat asy Syu'araa' ayat 7 tersebut terdapat kata إِلَى yang mengandung makna *batas akhir* yang berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir. Dengan demikian, ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangannya hingga batas kemampuannya, dengan aneka tanah dan aneka keajaiban yang terhampar pada tumbuh-tumbuhan. Kata زَوْجٌ berarti *pasangan*. Pasangan yang dimaksud ayat ini adalah tumbuh-tumbuhan, karena

tumbuh-tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi. Dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan memiliki pasangan (benang sari dan putik) guna pertumbuhan dan perkembangannya. Kata كَرِيم juga digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi objek yang disifatnya. Menurut Shihab (2002), tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup.

Kandungan golongan senyawa aktif umbi tanaman binahong terdiri dari fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid dan alkaloid (Astuti, 2013). Saleh dkk., (2013) melakukan pengujian fitokimia reagen dalam ekstrak etanol umbi binahong didapatkan golongan senyawa flavonoid, steroid dan fenolik. Berdasarkan penelitian tersebut, menunjukkan bahwa flavonoid terdapat dalam umbi binahong. Senyawa flavonoid memiliki aktifitas biologis dan efek positif dalam diabetes mellitus melalui penghambatan enzim *alpha-glukosidase* usus dan menghindari penyerapan glukosa dengan meningkatkan toleransi glukosa (Brahmachari, 2001).

Ekstraksi senyawa flavonoid umbi binahong menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70 % (Makalalag, 2013). Adanya gula yang terikat pada metabolit sekunder menyebabkan metabolit sekunder lebih mudah larut dalam campuran pelarut polar dan air (Markham, 1988). Etanol *p.a* dan etanol 70 % adalah pelarut yang aman dengan toksisitas rendah bila dibandingkan dengan metanol. Selain itu, rendemen ekstrak dan konsentrasi yang tinggi dari bioaktif senyawa flavonoid pada tanaman bisa diisolasi dengan pelarut yang aman tersebut (Bimakra dkk., 2010). Ekstrak etanol 70 % yang didapatkan selanjutnya

dihidrolisis menggunakan HCl 2 N (Tensiska dkk., 2007) untuk mendestruksi ikatan glikosida (Bimakra dkk., 2010).

Proses ekstraksi senyawa flavonoid umbi binahong dilanjutkan dengan partisi menggunakan pelarut kloroform dan air dengan perbandingan 1:1 (Arishandy, 2010 dan Inayah, 2011). Selawa dkk. (2013) dan Rahmawati dkk. (2013) melakukan isolasi flavonoid daun binahong dalam pelarut etanol mendapatkan senyawa flavonol dan 3,5,3',4'-Tetrahidroksiflavonol. Selain itu, Djamil dkk. (2012) melakukan isolasi senyawa flavonoid daun binahong dalam ekstrak etil asetat menemukan senyawa *8-glucopyranosyl-4',5,7-trihydroxyflavone*. Aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavonon dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1998). Pemisahan senyawa flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan cara sederhana untuk pemisahan senyawa flavonoid berdasarkan perbedaan distribusi fasa diam dan fasa gerak sehingga akan didapatkan isolat senyawa flavonoid (Gandjar dan Rohman, 2007) .

Senyawa flavonoid memberikan efek sebagai antioksidan terhadap radikal bebas sehingga mampu mencegah komplikasi maupun progresifitas diabetes mellitus (Injo, 2006). Yuswantina, (2009) menguji efektivitas penangkap radikal dari ekstrak petroleum eter, etil asetat dan etanol umbi binahong hasil maserasi sehingga diperoleh nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar $156,54 \pm 7,03$; $78,38 \pm 4,21$; $48,15 \pm 1,22$ $\mu\text{g/ml}$ menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Penelitian awal yang telah dilakukan menunjukkan bahwa umbi

binahong mempunyai aktifitas antioksidan. Beberapa penelitian sebelumnya belum ada yang menguji efektivitas antioksidan pada ekstrak flavonoid umbi binahong. Padahal, flavonoid telah terbukti memperlihatkan efektivitas penangkal berbagai macam senyawa oksigen reaktif seperti anion superoksida dan radikal hidroksil. Flavonoid juga bertindak sebagai peredam singlet oksigen (Harbone dan Williams, 1992).

Pengujian efektivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil, parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ialah EC_{50} (konsentrasi sampel yang dapat menyebabkan berkurangnya 50 % aktivitas DPPH) (Molyneux, 2003). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Yuliani (2010) membandingkan efektivitas antioksidan fraksi etanol jintan hitam menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), FTC (*Ferri Tiosianat*) dan TBA (*Thiobarbituric Acid*) didapatkan nilai efektivitas antioksidan menggunakan metode DPPH sebesar 22,483 % dengan nilai EC_{50} 2743,59 sedangkan pada metode FTC dan TBA memberikan efektivitas antioksidan yang tidak valid.

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui keefektivan antioksidan ekstrak etanol 70 %, ekstrak dan isolat senyawa flavonoid dalam umbi binahong. Maka, penulis melakukan penelitian yang berjudul “Uji

Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 %, Ekstrak dan Isolat Senyawa Flavonoid Dalam Umbi Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis”.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimanakah efektivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70 %, ekstrak dan isolat senyawa flavonoid umbi binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui efektivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70 %, ekstrak dan isolat senyawa flavonoid umbi binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Umbi binahong *Anredera cordifolia* (Tenn.) Steenis yang digunakan berasal dari Semarang.
2. Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) digunakan untuk pengujian antioksidan pada sampel.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini adalah:

1. Hasil penelitian uji efektivitas antioksidan yang dilakukan dapat dijadikan sebagai salah satu upaya untuk mengembangkan umbi binahong *Anredera cordifolia* (Tenn.) Steenis menjadi salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai antioksidan.
2. Sebagai salah satu referensi dan perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Alqur'an banyak menyebutkan tentang tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia. Sebagaimana firman Allah SWT dalam QS. Thaha 53 yaitu :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

“Bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS. Thaha : 53).”

Menurut Shihab (2002: 318) dalam tafsir Al-Mishbah bahwa aneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya itu merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan lagi membuktikan betapa agung penciptanya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber pangan bagi manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Manfaat tumbuhan ini salah satunya digunakan sebagai tanaman obat.

Pengobatan dari Nabi Muhammad SAW memang berbeda dengan ilmu medis para dokter pada umumnya. Rasulullah SAW pernah menyebutkan bahwa tumbuhan herbal baik untuk digunakan sebagai obat. Tumbuhan herbal

merupakan tumbuhan obat yang sangat berguna untuk membuang lemak dan racun-racun dalam tubuh manusia. Produk tumbuhan herbal banyak digunakan oleh kedokteran untuk mengurangi lemak berlebih penyebab obesitas dan menyembuhkan berbagai penyakit. Beberapa tumbuhan herbal yang sering digunakan oleh Rasulullah SAW untuk menyembuhkan beberapa penyakit antara lain jintan hitam, kurma, delima, bawang putih dan berbagai jenis makanan lainnya (Barazing, 2007).

2.2 Tanaman Binahong dalam Perspektif Sains

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Binahong merupakan tanaman menjalar dan bersifat perennial (berumur lama), panjang dapat mencapai 5 m. Batang lunak, berbentuk silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tidak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, ketiak permukaan licin, bisa dimakan. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Akar berbentuk rimpang, berdaging lunak (Manoi, 2009).



Gambar 2.1 Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) (Manoi, 2009)

Klasifikasi tanaman binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis sebagai berikut (Kartesz, 2000) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i> Juss.
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis

2.2.2 Komponen Kimia Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Astuti (2013) telah melakukan skrining fitokimia tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam batang, daun, umbi dan bunga didapatkan kandungan kimia berupa senyawa saponin, terpenoid, steroid, fenol, flavonoid, dan alkaloid. Saleh dkk., (2012) menyatakan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol umbi binahong yaitu flavonoid, steroid

dan fenolik yang mempunyai peran penting terhadap efek penurunan kadar gula dalam darah (hipoglikemik).

Binahong memiliki senyawa aktif yang terkandung di dalamnya seperti flavonoid. Flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus. Alkaloid adalah bahan organik yang mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem heterosiklik. Alkaloid memiliki aktivitas hipoglikemik. Senyawa terpenoid adalah senyawa hidrokarbon isometrik membantu tubuh dalam proses sintesa organik dan pemulihan sel-sel tubuh. Sedangkan saponin dapat menurunkan kolesterol, mempunyai sifat sebagai antioksidan, antivirus dan anti karsinogenik dan manipulator fermentasi rumen (Manoi, 2009).

2.2.3 Khasiat dan Kegunaan Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Kegunaan tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah: kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, reumatik, pemulihan paska operasi, pemulihan paska melahirkan, menyembuhkan segala luka-luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan

kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009).

2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi merupakan proses pemisahan substansi dari campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pada umumnya yang perlu dilakukan dalam mengekstraksi adalah membunuh jaringan tubuhan untuk mencegah terjadinya oksidasi atau hidrolisis oleh enzim. Di samping itu, metode ekstraksi berguna untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk ekstraksi tersebut (Kristanti, 2008).

2.3.1 Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang akan diekstraksi. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dalam perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan bahan alam dalam pelarut tersebut (Guenther, 2011).

Setelah dilakukan maserasi, untuk menghilangkan pelarut dilakukan penguapan. Penguapan pada *rotary evaporator vakum* dilakukan pada tekanan rendah atau dengan kenaikan temperatur dan kecepatan terbesar pada titik didih larutan. Cairan organik yang memiliki titik didih rendah, tekanan permukaan akan rendah. Labu evaporator dipanaskan pada temperatur tertentu di atas *waterbath* dan diputar selama evaporasi, sehingga terjadi pencampuran yang sempurna, mencegah bumping dan juga akan memiliki permukaan yang relatif lebih kuat. Pelarut menguap dari campuran kemudian terkondensasi oleh erlenmeyer dan jatuh pada labu penampung (Vogel, 1978).

Sulistiyani dan Kumalasari (2011) melakukan metode maserasi menggunakan etanol 70 % sebanyak 2,5 L dan serbuk batang binahong sebanyak 500 gram selama 24 jam. Penyarian dilakukan sebanyak 3 kali selanjutnya hasil maserasi diuapkan pada penangas air. Makalalag dkk. (2013) melakukan maserasi dengan menggunakan etanol 70 % dengan cara maserasi selama 5 hari (setiap hari digojok) selanjutnya diuapkan menggunakan *vacum evaporator* pada suhu 70°C sampai volumenya menjadi $\frac{1}{4}$ dari volume awal dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60°C sampai menjadi ekstrak kental. Konstanta dielektrikum beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.1 (Sax dan Lewis, 1998).

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Heksana	1,9	TL	68,7
Petroleum eter	2,28	TL	60
Benzene	2,38	TL	80,1
Toluene	4,81	TL	111
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Metil asetat	6,68	S	57
Metil klorida	9,08	S	39,75
Butanol	15,80	S	117,2
Propanol	20,1	L	97,22
Aseton	20,70	L	56,2
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi

Sumber: Sax dan Lewis (1998), HAM (2006), Fesenden dan Fesenden (1997), dan Mulyono (2006)

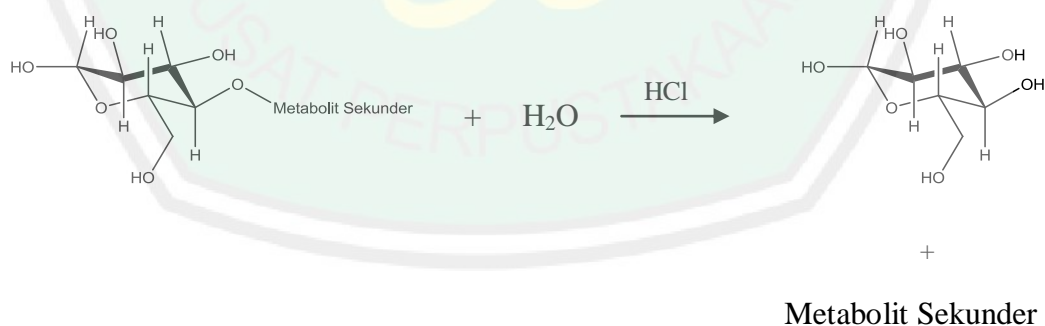
2.3.2 Ekstraksi Senyawa Flavonoid

Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksil sehingga merupakan senyawa polar (Markham, 1988). Bimakra dkk. (2010) melakukan isolasi flavonoid dengan pelarut metanol, etanol *p.a* dan etanol 70 %. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pelarut dengan kepolaran yang lebih rendah dapat mengekstrak flavonoid dalam konsentrasi tinggi. Etanol *p.a* dan etanol 70 % merupakan pelarut yang aman dengan toksisitas rendah daripada metanol. Selain itu, konsentrasi flavonoid yang tinggi juga dapat diisolasi dengan pelarut tersebut.

Flavonoid di alam sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti, 2008). Apabila suatu senyawa terdapat banyak ikatan glikosidanya maka senyawa tersebut cenderung bersifat lebih polar. Sehingga pada proses ekstraksi, senyawa metabolit sekunder akan lebih terekstrak pada pelarut-pelarut polar, senyawa

yang bekerja kurang spesifik karena terikat dengan gugus gula dan pada proses pemisahan senyawa dengan KLT akan cenderung tertahan pada fase diamnya (Saifudin dkk., 2006).

Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida. Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar maupun non polar (senyawa metabolit sekunder) (Gunawan, 2004). Hasil penelitian Kaur and Murphy (2012) menyebutkan bahwa melalui proses hidrolisis asam (HCl 2 N) dapat meningkatkan kandungan isoflavon (daidzein dan genistein) dari tanaman *Vigna unguiculata* L. yang ditunjukkan dengan meningkatnya peak atau puncak daidzein dan genistein ketika dianalisis dengan HPLC. Reaksi pemutusan ikatan glikosida dengan HCl dan penetralan membentuk garam adalah:



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Mardiyah, 2012)

Proses ekstraksi senyawa flavonoid umbi binahong dipartisi menggunakan pelarut kloroform dan air dengan perbandingan 1:1 (Arishandy, 2010 dan Inayah,

2011). Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Adanya sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar. Gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut polar dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavonon, flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1998).

2.4 Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C_3 , sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995). Berikut ini beberapa sifat dan golongan flavonoid diantaranya (Harbone, 1987):

Tabel 2.2 Sifat golongan flavonoid (Harbone, 1987)

Golongan Flavonoid	Penyebaran	Ciri Khas
Antosianin	Pigmen bunga merah marak, merah, merah senduduk dan biru. Terdapat dalam daun dan jaringan lain	Larut dalam air, λ maks 515-545 nm, bergerak dengan BAA pada kertas*.
Proantosianidin	Terutama tanwarna, dalam galih dan daun tumbuhan berkayu.	Menghasilkan antosianidin (warna dapat diekstraksi dengan amil alkohol) bila jaringan dipanaskan dalam HCl 2 M selama setengah jam.
Flavonol	Terutama ko-pigmen tanwarna dalam bunga sianik dan asianik; tersebar luas dalam daun.	Setelah hidrolisis, berupa bercak kuning murup pada kromatogram forestall bila disinari dengan sinar UV; maksimal spektrum pada 350-386 nm.
Flavon	Seperti flavonol.	Setelah hidrolisis, berupa bercak coklat redup pada kromatogram forestalmaksima spektrum pada 330-350 nm.
Glikoflavon	Seperti flavonol.	Mengandung gula yang terikat melalui ikatan C-C; bergerak dengan pengembang air, tidak seperti flavon biasa.
Biflavonil	Tanwarna; hampir seluruhnya terbatas pada gimnospermae.	Pada kromatogram BAA berupa bercak redup dengan R_f tinggi**.
Khalkon atau auron	Pigmen bunga kuning, kadang-kadang terdapat juga dalam jaringan lain.	Dengan amonia berwarna merah (perubahan warna dapat diamati in situ), maksimal spektrum 370-410 nm.
Flavanon	Tanwarna; dalam daun dan buah (terutama dalam Citrus)	Berwarna merah kuat dengan Mg/HCl; kadang-kadang sangat pahit.
Isoflavon	Tanwarna; seringkali dalam akar; hanya terdapat dalam satu suku, Leguminosae.	Bergerak pada kertas dengan pengembang air; tak ada uji warna yang khas.

*Bertalian menggantikan antosianin sebagai pigmen lembayung dalam satu bangsa tumbuhan yaitu Centrospermae; mereka dapat dibedakan karena gerakannya sangat lambat dalam BAA dan jangka spektrum 530-554 nm.

**Beberapa flavon yang banyak termetilasi menunjukkan perilaku yang serupa.

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti, 2008). Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70 % dan tetap dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambahkan basa atau ammonia (Harbone, 1987).

2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

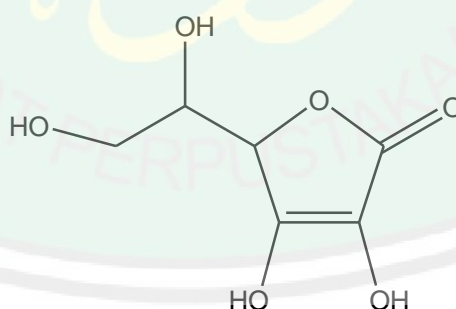
Penggunaan senyawa antioksidan juga anti radikal saat ini semakin meluas seiring dengan semakin besarnya pemahaman masyarakat tentang peranannya dalam menghambat penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, *arteriosclerosis*, kanker, serta gejala penuaan. Masalah-masalah ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan untuk bekerja sebagai inhibitor (penghambat) reaksi oksidasi oleh radikal bebas reaktif yang menjadi salah satu pencetus penyakit-penyakit di atas (Tahir dkk., 2003).

2.5.1 Klasifikasi Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

1. Antioksidan Alami

Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi, dkk., 1996). Salah satu antioksidan alami adalah vitamin C (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan penting yang larut dalam air. Vitamin C secara efektif menangkap radikal-radikal O_2^\bullet , OH^\bullet , ROO^\bullet dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E. Vitamin C dapat melindungi membran biologis dan LDL (*Low Density Lipid*) dari kerusakan prooksidatif dengan cara mengikat radikal peroksil dalam fase berair dari plasma atau sitosol (Silalahi, 2006).

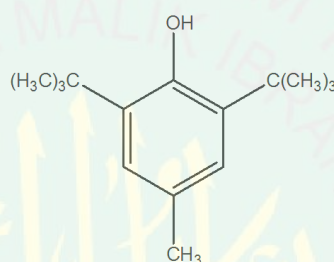


L- Asam Askorbat

Gambar 2.3 Asam askorbat (Vitamin C)

2. Antioksidan Sintetik

Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu BHT, PG, TBHQ dan tokoferol. Adapun struktur molekul dari BHT dapat dilihat pada Gambar 2.5 (Cahyadi, 2006).



Gambar 2.4 *Butylated hydroxytoluene* (BHT) (Cahyadi, 2006)

Antioksidan sintetik BHA, BHT, PG dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan antioksidan yang berasal dari alam kini sedang giat-giatnya dilakukan sebagai alternatif pengganti antioksidan sintetik (Shahidi, dkk., 1995).

2.5.2 Radikal Bebas

Dewasa ini, dunia kedokteran dan kesehatan banyak membahas tentang radikal bebas (*free radical*) dan antioksidan. Hal ini terjadi karena sebagian besar penyakit diawali oleh adanya reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh. Tampaknya oksigen merupakan sesuatu yang paradoksial dalam kehidupan. Molekul ini sangat dibutuhkan oleh organisme aerob karena memberikan energi

pada proses metabolisme dan respirasi, namun pada kondisi tertentu keberadaannya dapat berimplikasi pada berbagai penyakit dan kondisi degeneratif, seperti *aging*, artritis, kanker, dan lain-lain (Marx dalam Winarsi, 2007).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih atom tak berpasangan. Meskipun suatu radikal tidak bermuatan positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Suatu radikal bebas dijumpai sebagai zat antara yang tak dapat diisolasi usia pendek karena sangat reaktif dan berenergi tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1997). Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan bila tidak dapat dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya.

2.5.3 Mekanisme Antioksidatif

Menurut Gordon (1990), antioksidan mempunyai dua fungsi berdasarkan mekanisme kerjanya adalah sebagai berikut:

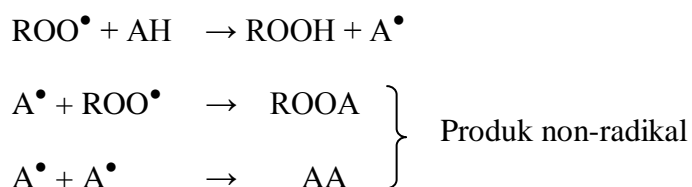
Pertama, fungsi utama antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang memiliki fungsi tersebut disebut juga sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid (R^\bullet , ROO^\bullet) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara hasil reaksi radikal antioksidan (A^\bullet) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding dengan radikal lipid.

Kedua, fungsi kedua antioksidan merupakan antioksidan sekunder, yaitu berfungsi untuk memperlambat laju auto oksidasi dengan berbagai mekanisme pemutusan rantai oksidasi di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi, dimana hal itu melalui pengubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil.

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi auto oksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^\bullet) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru seperti reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida (Gordon, 1990):



Auto oksidasi dapat dihambat dengan menambahkan antioksidan (AH) dalam konsentrasi rendah yang dapat berasal dari penginterferensian rantai propagasi atau inisiasi. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non-radikal. Reaksi penghambatan antioksidan antar radikal antioksidan (Hamilton, dkk., 1994) :



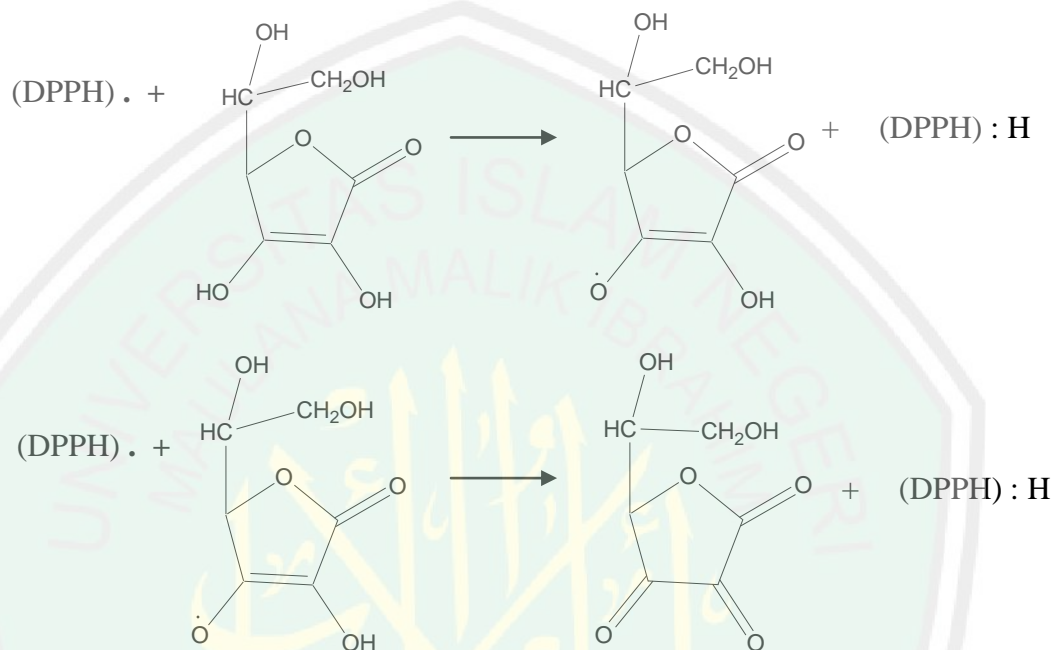
2.5.4 Uji Efektivitas Antioksidan

Efektivitas antioksidan dari suatu makanan dapat berbeda bila diuji dengan metode yang berbeda. Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hidrogen. Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur efektivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Beberapa metode lain terbatas mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisa. Metode DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak atau pun dalam air (Prakash, dkk., 2001).

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, efektivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, dkk., 2001).

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi *1,1-difenil-2-pikrilhidrazin* dan radikal antioksidan (Prakash, dkk.,

2001). Reaksi antara asam askorbat dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.5 Reaksi asam askorbat dengan DPPH (Prakash, dkk., 2001)

Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Warna akan berubah menjadi kuning saat elektron berpasangan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, efektivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, dkk., 2001).

Efektivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) efektivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan Persamaan 2.1 (Molyneux, 2003).

$$\% \text{ Efektivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \% \dots \dots \dots (2.1)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol
 A_1 = Absorbansi sampel

Nilai 0 % berarti sampel tidak mempunyai efektivitas antioksidan, sedangkan nilai 100 % berarti pengujian efektivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi efektivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase efektivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50 % (Parwata, dkk., 2009). Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol dapat berkurang dari hari ke hari dikarenakan kehilangan efektivitasnya saat dalam stok larutan DPPH, tetapi nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran saat itu. Kontrol juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2003).

Dalam metode DPPH terdapat parameter EC_{50} . Parameter EC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50 % yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil EC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman, dkk., 2005).

Mardawati (2008) menyebutkan pengujian efektivitas antioksidan ekstrak kulit manggis menggunakan DPPH pada fraksi metanol memberikan nilai EC_{50} sebesar 8,00 mg/L. Secara spesifik, ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Ketentuan kekuatan antioksidan

Nilai EC_{50}	Kekuatan
< 50 ppm	Sangat kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 – 150 ppm	Sedang
150 – 200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat lemah

Sumber: Jun dkk., 2003 dalam Winata, 2011

Yuswantina, (2009) menguji efektivitas penangkap radikal dari ekstrak petroleum eter, etil asetat dan etanol umbi binahong hasil maserasi sehingga diperoleh nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar $156,54 \pm 7,03$; $78,38 \pm 4,21$; $48,15 \pm 1,22$ $\mu\text{g/ml}$ menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

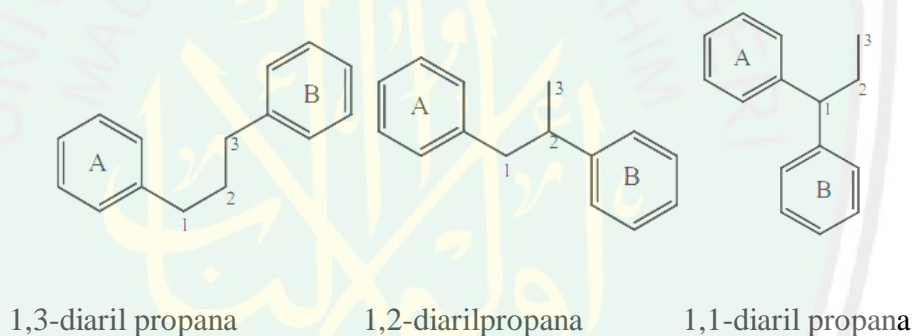
2.6 Identifikasi Senyawa Aktif

Tanaman menghasilkan beragam senyawa organik yang tampaknya tidak memiliki fungsi langsung dalam pertumbuhan dan pembangunan. Zat-zat ini dikenal sebagai metabolit sekunder, produk sekunder, atau produk alami. Metabolit sekunder tidak diakui secara umum memiliki peran langsung dalam proses fotosintesis, respirasi, transport solute, translokasi, sintesis protein, asimilasi gizi, diferensiasi, atau pembentukan karbohidrat, protein, dan lipid. Metabolit sekunder memiliki distribusi terbatas di tanaman. Artinya, metabolit

sekunder tertentu sering ditemukan hanya pada satu jenis tumbuhan atau kelompok spesies, sedangkan metabolit primer ditemukan pada seluruh tanaman.

2.6.1 Flavonoid

Flavonoid termasuk senyawa fenol (bersifat agak asam, larut dalam basa) yang larut dalam pelarut polar (mudah larut dalam air), mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga akan menunjukkan pita serapan yang kuat pada sinar UV dan sinar tampak (Harbone, 1987). Berikut ini struktur dasar senyawa flavonoid (Lenny, 2006).



Gambar 2.6 Struktur dasar senyawa flavonoid (Lenny, 2006)

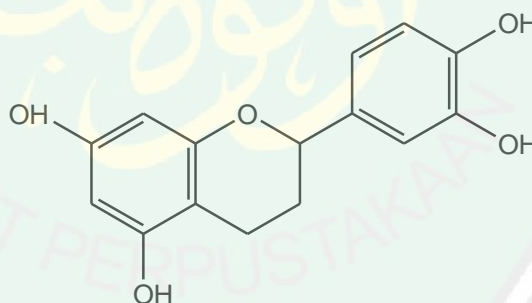
Uji fitokimia flavonoid dapat dilakukan dengan metode Wilstater yakni dengan melarutkan sejumlah ekstrak dengan metanol panas, ditambahkan HCl pekat dan serbuk magnesium. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah sampai jingga menandakan senyawa flavon, warna merah tua diberikan oleh flavonol dan flavonon, warna hijau sampai biru diberikan oleh aglikon atau glikosida (Dermawan, 2012).

Selawa dkk. (2013) meneliti kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong ditemukan senyawa flavonol.

Rahmawati dkk., mengisolasi senyawa flavonoid yang memiliki efektivitas antioksidan menemukan senyawa 3,5,3',4'-Tetrahidroksiflavanol. Pemisahan flavonoid dengan KLT dapat menggunakan penyempnot amoniak atau uap amoniak yang memberikan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung dan kuning kecoklatan (Halimah, 2010).

2.6.2 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tannin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995).

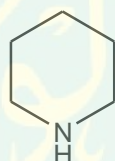


Gambar 2.7 Contoh struktur senyawa tanin (Robinson, 1995)

Adanya tannin akan mengendapkan protein pada gelatin. Tanin bereaksi dengan gelatin membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air (Harbone, 1996). Reaksi ini lebih sensitif dengan penambahan NaCl untuk mempertinggi penggaraman dari tannin-gelatin (Dermawan, 2012).

2.6.3 Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, umumnya heterosiklik dan dihasilkan oleh banyak organisme, mulai dari bakteri, fungi (jamur), tumbuhan dan hewan. Asam amino, peptida, protein, nukleotida, asam nukleat, gula amino dan antibiotik biasanya tidak digolongkan sebagai alkaloid. Beberapa sifat fisika dan kimia alkaloid adalah umumnya alkaloid tidak berwarna, diisolasi dalam bentuk kristal tidak larut, bersifat optis aktif (ditandai dengan adanya atom karbon asimetri atau kiral di dalam senyawa organik), bersifat basa yang dapat menyebabkan senyawa tersebut mudah mengalami dekomposisi (oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen) (Robinson, 1995).



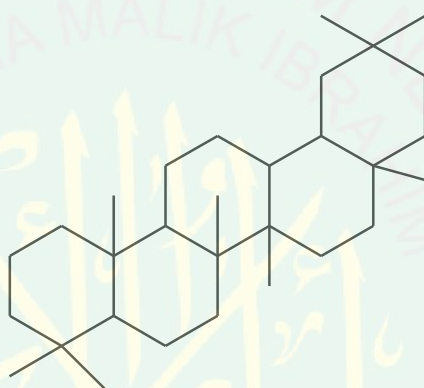
Gambar 2.8 Contoh struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Hasil positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Astuti (2013) melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol umbi binahong mendapatkan kandungan alkaloid dengan adanya kekeruhan dan endapan. Titis dkk., (2013) mengisolasi dan mengidentifikasi uji aktivitas senyawa alkaloid daun binahong didapatkan senyawa alkaloid betanidin.

2.6.4 Triterpenoid dan Steroid

Triterpenoid (C_{30}) adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik

yaitu skualena. Triterpenoid berstruktur siklik, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat (Harbone, 1987). Umumnya triterpenoid berasa sangat pahit, tidak berwarna, berbentuk kristal, bertitik leleh tinggi, mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida (Robinson, 1995).



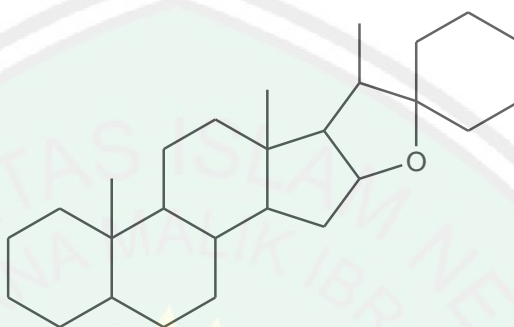
Gambar 2.9 Contoh struktur senyawa triterpenoid (Robinson, 1995)

Astuti (2013) melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol umbi binahong mendapatkan kandungan terpenoid dengan adanya warna coklat kemerahan diantara permukaan. Murdianto dkk, menduga senyawa triterpenoid dalam daun binahong merupakan senyawa 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester.

2.6.5 Saponin

Saponin (*sapo*=sabun) merupakan glikosida triterpenoid dan sterol (aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh melalui hidrolisis asam atau menggunakan enzim), artinya termasuk dalam golongan terpenoid (Robinson, 1995). Saponin mempunyai rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan

air, pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolysis atau menghancurkan butir darah merah serta sebagai racun yang kuat untuk amfibi dan ikan (Harbone, 1987).



Gambar 2.10 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

Dermawan (2012) menggunakan metode Forth untuk menguji adanya saponin dengan penambahan aquades, adanya busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik menunjukkan terdapatnya saponin dalam sampel. Astuti (2013) melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol umbi binahong mendapatkan kandungan saponin dengan adanya busa permanen.

2.7 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan yang pertama kali digunakan untuk memisahkan zat-zat warna tanaman yang didasarkan atas istilah yang digunakan yaitu *kroma* yang berarti zat warna. Metode pemisahan kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen dalam dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak yang berbeda tingkat kepolarannya. Apabila molekul-molekul komponen berinteraksi secara lemah dengan fasa diam maka

komponen tersebut akan bergerak lebih cepat meninggalkan fasa diam. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi komponen-komponen campuran dengan fasa diam dan fasa gerak (Hendayana, 2006).

Gritter (1991) menyatakan bahwa kromatografi lapis tipis (KLT) pada hakikatnya melibatkan dua peubah yaitu sifat fasa diam atau sifat lapisan dan sifat fasa gerak atau campuran pelarut pengembang. Fasa diam dapat berupa serbuk halus yang berfungsi sebagai permukaan penjerap atau berfungsi sebagai penyangga atau lapisan zat cair. Pada penelitian ini digunakan fasa diam dari silika gel yang mampu menjerap senyawa yang akan dipisahkan. Fasa gerak dapat berupa hampir segala macam pelarut atau campuran pelarut sebagaimana dalam penelitian ini digunakan campuran pelarut yang efektif untuk memisahkan masing-masing komponen senyawanya yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda.

Lapisan tipis seperti pada plat silica gel F₂₅₄ yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator fluoresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar, seperti dengan lampu UV (Gritter, 1991).

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga R_f. Harga R_f didefinisikan sebagai berikut:

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{Jarak senyawa yang digerakkan dari titik asal}}{\text{Jarak pelarut yang digerakkan dari titik asal}} \dots\dots\dots (2.2)$$

Harga-harga R_f untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standart. Harga R_f dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT diantaranya adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya, serta jumlah cuplikan yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Sastrohamidjojo, 1991).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada April sampai Juni 2014 di Laboratorium Kimia Organik, Bioteknologi dan Instrumentasi UV-Vis Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, blender, oven, cawan porselen, desikator, gelas arloji, neraca analitik, *shaker*, pipet tetes, lemari asam, bola hisap, pisau, kertas saring, corong *buchner vacuum*, inkubator, *rotary evaporator vacuum*, corong pisah, *hot plate*, *stirer*, botol larutan, bejana pengembang, plat silika gel F₂₅₄, spektronik 20+ dan spektrofotometer UV-Vis *Varian Carry*.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) berasal dari Semarang. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquades, *DPPH* (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*), *BHT* (*Butylated hydroxytoluene*) *p.a*, standar vitamin C, gas N₂, HCl 2 N, etanol 70 %, etanol *p.a*, reagen Dragendroff, reagen Mayer, reagen *Lieberman Burchard*, metanol 50%, logam Mg, HCl 2%, HCl pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, larutan FeCl₃ 1%, H₂SO₄, HCl 1 N, uap ammonia dan KLT Gel 60 F₂₅₄.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Sampel yang diambil adalah umbi dari tanaman binahong yang dikeringkan dan dihaluskan dalam bentuk serbuk menggunakan blender. Serbuk yang diperoleh dianalisis kadar airnya kemudian dimaserasi menggunakan etanol 70 %. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat selanjutnya dialiri gas N₂ untuk memastikan bahwa tidak ada pelarut yang tersisa. Ekstrak etanol 70 % yang didapatkan dihidrolisis menggunakan HCl 2 N selanjutnya dipartisi dengan kloroform dan air.

Fraaksi yang positif mengandung senyawa flavonoid dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* dan diidentifikasi menggunakan KLT preparatif menggunakan eluen terbaik pada penelitian sebelumnya. Ekstrak etanol 70 %, ekstrak senyawa flavonoid dan isolat hasil KLT preparatif umbi binahong diuji efektivitas antioksidannya pada konsentrasi 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400 dan 800 ppm, begitu pula untuk pembanding BHT dan asam askorbat (vitamin C) kemudian dihitung persen efektivitas antioksidannya dan ditentukan nilai EC₅₀ (*effective concentration*) menggunakan persamaan regresi.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel,
2. Analisis kadar air,

3. Ekstraksi umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) menggunakan etanol 70%,
4. Uji efektivitas antioksidan ekstrak atanol 70 % umbi binahong dengan metode DPPH,
5. Uji fitokimia reagen,
6. Ekstraksi senyawa flavonoid,
7. Uji efektivitas antioksidan ekstrak senyawa flavonoid umbi binahong dengan metode DPPH,
8. Pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT preparatif,
9. Uji efektivitas antioksidan isolat umbi binahong dengan metode DPPH,
10. Analisis Data.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Tenn.) Steenis) sebanyak 2 Kg dicuci dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40 °C (Astuti, 2013). Umbi binahong yang kering dilakukan pemb Blenderan bertujuan untuk memperkecil partikel dan untuk memperoleh serbuk halus dengan ukuran ≥ 60 mesh maka dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh (Makalalag dkk., 2013).

3.5.2 Analisis Kadar Air

Serbuk yang diperoleh diukur kadar airnya dengan metode *thermografi* yaitu dengan pemanasan. Analisis ini dilakukan pada umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) sebanyak 3 kali pengulangan. Cawan yang digunakan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100-105° C sekitar 15 menit untuk

menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Serbuk ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100-105 °C selama sekitar 1 jam. Sampel kering didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven \pm 20 menit pada suhu yang sama, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam tanaman dihitung menggunakan rumus berikut (Sriwahyuni, 2010):

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots 3.1$$

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \dots\dots\dots 3.2$$

$$\% \text{ Kadar air terkoreksi} = \text{Kadar air} - \text{Faktor koreksi}$$

Serbuk umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang digunakan dalam ekstraksi harus memiliki kadar air \leq 10 %. Apabila kadar air yang didapatkan \geq 10 % maka dilakukan pemanasan serbuk umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sampai didapatkan kadar air \leq 10 %.

3.5.3 Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.) Menggunakan Etanol 70 %

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan memodifikasi metode ekstraksi maserasi dalam penelitian Makalalag dkk., (2013). Serbuk Umbi Binahong ≥ 60 mesh ditimbang 600 gram dan dibagi menjadi 6 bagian masing-masing 100 gram kemudian masing-masing diekstraksi dengan menggunakan etanol 70 % (Bimakra dkk., 2010) sebanyak 300 mL dan dilakukan pengocokan selama 3 jam. Selanjutnya dimaserasi selama 3 hari, setiap hari digojok menggunakan *shaker* selama 3 jam. Setelah 3 hari, ekstrak disaring menggunakan kertas saring sehingga didapat filtrat 1 dan residu.

Residu atau ampas diekstraksi kembali menggunakan etanol 70 % sebanyak 200 mL selama dua hari selanjutnya disaring dan didapatkan filtrat 2. Filtrat 1 dan 2 dikumpulkan dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 60 °C sampai diperoleh ekstrak pekat. Selanjutnya ekstrak pekat dialiri gas N₂ untuk memastikan bahwa tidak ada pelarut yang tersisa. Ekstrak pekat yang diperoleh dihitung rendemennya (Mardiyah, 2012):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \% \dots \dots \dots (3.3)$$

Selanjutnya dilakukan uji antioksidan menggunakan DPPH, uji fitokimia reagen dan diekstraksi senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak pekat umbi binahong.

3.5.4 Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong dengan Metode DPPH

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol *p.a* sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan (Rastuti dan Purwati, 2012).

2. Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Dibuat larutan ekstrak 800 ppm sebanyak 25 mL, kemudian diambil sebanyak 4,5 mL. Ditambahkan 0,2 mM larutan DPPH sebanyak 1,5 mL, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C. Larutan yang diperoleh dipipet ke dalam kuvet, kemudian dicari waktu kestabilan pada rentangan waktu 5-120 menit dengan interval 5 menit. Sampel diukur menggunakan spektrometri UV pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya (Suroso, 2011).

3. Pengujian Efektivitas Antioksidan pada Sampel

- a. Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan etanol *p.a* sebanyak 4,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan tissue, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan λ_{maks} yang didapatkan.
- b. Sampel dilarutkan dalam etanol 70 % dengan konsentrasi 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400 dan 800 ppm (Djamil dkk., 2012). Disiapkan tabung reaksi untuk

masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi dengan suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh untuk mengukur absorbansinya pada λ_{maks} . Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) efektivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dari Persamaan 3.3 (Triyem, 2010) :

Persamaan efektivitas antioksidan :

$$\% \text{ Efektivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \% \dots \dots \dots (3.4)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Setelah didapatkan persen (%) efektivitas antioksidan, selanjutnya masing-masing ekstrak dihitung nilai EC_{50} dengan memperoleh persamaan regresi menggunakan program “*GraphPad prism5 software, Regression for analyzing dose-response data*”.

- c. Pembandingan BHT dan asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan BHT dan asam askorbat (vitamin C).

3.5.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol 70 % umbi binahong. Uji fitokimia kandungan senyawa

aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 70 % umbi binahong dilarutkan dalam masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Indrayani dkk, 2006).

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung 1 larutan ditambah 0,5 mL larutan asam encer sebagai pembanding, tabung 2 ditambah 2-3 tetes reagensia Dragendorff, dan tabung 3 ditambah 2-3 tetes reagensia Mayer. Jika tabung 2 terbentuk endapan jingga dan pada tabung 3 terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid (Indrayani dkk, 2006).

2. Uji Flavonoid

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah, kuning dan jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Indrayani dkk, 2006).

3. Uji Tanin

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dilarutkan dalam 1-2 mL air dan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1 %, timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin katekol (Indrayani dkk, 2006).

4. Uji Saponin

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 mL air sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, apabila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin (Indrayani dkk, 2006).

5. Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL kloroform lalu ditambah 0,5 mL anhidrida asetat dan 1,5 mL asam sulfat pekat (1:3) (pereaksi *Lieberman Burchard*) melalui dinding tabung tersebut. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, oranye, kuning, ungu, cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut. Sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hijau kebiruan atau biru (Lestari, 2012 dalam Nasliyana, 2013).

3.5.6 Ekstraksi Senyawa Flavonoid Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.)

Ekstrak pekat etanol 70 % sebanyak 10 gr dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian dihidrolisis dengan menambahkan 20 ml asam klorida (HCl) 2N ke dalam ekstrak pekat. Hidrolisis dilakukan selama 1 jam menggunakan *magnetic stirrer hot plate* pada suhu ruang (Tensiska dkk., 2007). Selanjutnya diekstraksi cair-cair dengan pelarut air : kloroform (1 :1) sebanyak (3x35 mL) (Arishandy, 2010; Inayah, 2011 dan Markham, 1988) dengan menggunakan corong pisah sehingga terbentuk dua lapisan. Fraksi air dan fraksi organik yang

diperoleh masing-masing dipisahkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dihitung nilai rendemennya. Kedua ekstrak pekat diduga sebagai ekstrak flavonoid, maka untuk memastikan dilakukan uji fitokimia reagen untuk senyawa flavonoid. Hasil uji fitokimia reagen senyawa flavonoid yang positif dari kedua fraksi air maupun organik dilakukan pengujian antioksidan menggunakan DPPH, uji fitokimia reagen pada prosedur 3.5.5 dan diidentifikasi menggunakan KLT.

3.5.7 Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Senyawa Flavonoid Umbi Binahong dengan Metode DPPH

Sampel dilarutkan dalam etanol 70 % dengan konsentrasi 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400 dan 800 ppm. Tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung reaksi diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya selanjutnya dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer. Pembanding BHT dan asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan BHT dan asam askorbat (vitamin C). Kemudian dilakukan pengukuran efektivitas antioksidan pada absorbansi kontrol dan pembanding BHT dan vitamin C (Suroso, 2011).

3.5.8 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif

Pemisahan dengan KLT preparatif menggunakan plat silica Gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 10x20 cm. Ekstrak pekat flavonoid dilarutkan dalam etanol 70 %, kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi dan jarak satu sama lainnya 1 cm. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan pelarut n-butanol-asam asetat-air (4:1:5) (Andriyani dan Pradana, 2014). Perlakuan yang sama dilakukan pada plat KLT ukuran 1x10 cm untuk mengidentifikasi adanya flavonoid menggunakan uap ammonia.

Setelah gerakan larutan pengembang sampai garis batas, elusi dihentikan. Noda-noda diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda yang terbentuk, diukur harga R_f nya. Noda pada plat ukuran 10x20 cm yang mempunyai nilai R_f sama dengan KLT ukuran 1x10 cm merupakan noda senyawa flavonoid (Suroso 2011). Noda yang diperoleh dikerok dan dilarutkan dalam metanol kemudian disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya. Filtrat hasil *sentrifuge* diuapkan pelarutnya dengan dimasukkan dalam desikator vakum kemudian dihitung rendemennya dan diuji efektivitas antioksidan dengan konsentrasi terbaik pada perlakuan 3.5.7.

3.5.9 Uji Efektivitas Antioksidan Isolat Flavonoid Umbi Binahong dengan Metode DPPH

Isolat hasil KLTP dibuat larutan dengan konsentrasi terbaik pada perlakuan 3.5.7 menggunakan etanol 70 %. Selanjutnya larutan isolat hasil KLTP diambil dan ditambahkan DPPH 0,2 mM dengan perbandingan 3:1 (larutan isolat : larutan DPPH). Setelah itu diinkubasi pada suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang didapatkan pada tahap sebelumnya untuk senyawa yang mengandung

antioksidan akan menunjukkan perubahan dari warna ungu menjadi kuning, kemudian dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV. Pembanding BHT dan asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan BHT dan asam askorbat (vitamin C). Kemudian dilakukan pengukuran efektivitas antioksidan pada absorbansi kontrol, isolat, pembanding BHT dan vitamin C.

3.5.10 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan menghitung persen (%) efektivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi dari ekstrak etanol 70 %, ekstrak dan isolat senyawa flavonoid dan pembanding asam askorbat dan BHT pada konsentrasi 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400 dan 800 ppm. Setelah didapatkan data persen (%) efektivitas antioksidan pada masing-masing konsentrasi sampel dan pembanding, kemudian dilakukan perhitungan nilai EC_{50} dengan menggunakan persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara log konsentrasi ekstrak (x) dengan persen (%) efektivitas antioksidan (y). Dibandingkan nilai EC_{50} pada masing-masing sampel. Sampel yang mempunyai nilai EC_{50} terendah menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang tinggi. Selanjutnya, membandingkan nilai EC_{50} pada masing-masing sampel dengan pembanding untuk mengetahui efektivitas antioksidan alami dengan antioksidan sintetik. Identifikasi golongan senyawa aktif ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Tenn.) Steenis) dilakukan secara kualitatif melalui uji reagen, ekstrak senyawa flavonoid umbi

binahong (*Anredera cordifolia* (Tenn.) Steenis) dilakukan secara kualitatif melalui uji reagen dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) preparatif. Isolat hasil KLT preparatif diuji efektivitas antioksidannya dengan metode DPPH.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Umbi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* Ten. Steenis) berasal dari daerah Semarang. Preparasi sampel diawali dengan pencucian sampel untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari sampel menggunakan air bersih. Umbi binahong yang telah dicuci dipotong kecil-kecil untuk memperluas permukaannya sehingga memudahkan penguapan air pada proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dan mencegah reaksi enzimatik yang dapat menguraikan kandungan zat aktif dalam sampel. Suhu pengeringan sangat berpengaruh terhadap kualitas terutama pada perubahan kadar fitokimia atau senyawa aktif (Hernani dan Nurdjanah, 2009). Pengeringan umbi binahong dilakukan pada suhu 40 °C dan didapatkan umbi binahong kering dan berwarna coklat muda. Pengeringan menggunakan suhu tinggi menyebabkan dekomposisi senyawa aktif dalam sampel. Suhu yang tinggi menyebabkan senyawa flavonoid mudah teroksidasi (Rompas dkk, 2014).

Proses penghalusan dan pengayakan sampel bertujuan untuk memperoleh serbuk yang homogen ukuran 60 mesh. Penghalusan dan pengayakan bertujuan untuk memperluas permukaan bahan agar pada tahap ekstraksi interaksi antara pelarut dan bahan yang diekstraksi menjadi lebih efektif sehingga mempermudah kelarutan komponen bioaktif dan meningkatkan rendemen ekstraksi. Serbuk

kering umbi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* Ten. Steenis) berwarna coklat muda disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan pada suhu 105 °C hingga sampel umbi binahong memiliki berat konstan. Selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan merupakan kadar air yang telah teruapkan. Kadar air yang tinggi dalam sampel dapat menjadi media tumbuhnya mikroorganisme yang dapat mendekomposisi senyawa aktif dalam sampel. Menurut Winarno (2008), suatu bahan berada dalam keadaan yang stabil dan pertumbuhan mikroorganisme dapat dikurangi jika kadar air bahan kurang dari 10 %. Hasil analisis kadar air umbi tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebesar 5,38 %, perhitungan analisis kadar air dapat dilihat pada Lampiran 2.

Nilai kadar air yang diperoleh kurang dari 10 %, hal ini menunjukkan bahwa sampel umbi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat disimpan dalam jangka waktu panjang dan cukup baik untuk dilakukan ekstraksi. Menurut Kumala (2007) semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen yang semakin besar.

4.3 Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam Etanol 70 %

Ekstraksi umbi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel

menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Perendaman menyebabkan perbedaan tekanan di dalam dan luar sel sehingga terjadi pemecahan dinding dan membran sel yang mengakibatkan terlarutnya metabolit sekunder dalam pelarut.

Pelarut etanol 70 % digunakan untuk mengekstraksi metabolit sekunder dalam umbi binahong. Etanol 70 % merupakan pelarut polar, adanya gula yang terikat pada metabolit sekunder terutama flavonoid menyebabkan lebih mudah larut dalam pelarut polar. Senyawa aktif yang terekstrak dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarut (*like dissolves like*) (Khopkar, 2008). Setiawan (2008) mengisolasi senyawa flavonoid daun jati belanda menggunakan pelarut etanol 70 % dan didapatkan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan pelarut lainnya.

Maserasi umbi binahong dilakukan selama tiga hari, rendemen yang dihasilkan dari suatu proses ekstraksi akan meningkat seiring dengan peningkatan waktu ekstraksi (Annisas, 2013). Selama proses maserasi dilakukan pengadukan menggunakan shaker selama tiga jam tiap hari. Proses pengadukan bertujuan agar kejenuhan pelarut terjadi lebih cepat dan ekstrak yang diperoleh lebih homogen (Vogel, 1978). Maserasi umbi tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dilakukan dua kali pengulangan sampai didapatkan filtrat berwarna bening.

Filtrat hasil maserasi pertama menggunakan etanol 70 % berwarna coklat tua dan filtrak kedua berwarna coklat muda. Filtrat dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator vacuum*, penurunan tekanan dan dipercepatnya

putaran labu alas bulat menyebabkan pelarut akan menguap 5-10 °C pada suhu di bawah titik didih pelarut (Vogel, 1978). Ekstrak pekat yang diperoleh dialiri dengan gas N₂ untuk menghilangkan sisa pelarut. Perhitungan rendemen dapat dilihat dalam Lampiran 3. Berikut ini spesifikasi ekstrak etanol 70 % umbi Binahong :

Tabel 4.1 Hasil maserasi ekstrak etanol 70 % umbi binahong

Pelarut	Serbuk+pelarut yang digunakan	Warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%)
Etanol 70 %	600 gr + 3 L	Coklat tua pekat	Coklat kehitaman pekat	51,711	8,62

Rendemen merupakan presentase perbandingan antara berat bagian sampel yang dapat dimanfaatkan dengan berat total sampel. Nilai rendemen digunakan untuk mengetahui keefektifan suatu bahan (Priyanto, 2012). Rendemen ekstrak etanol 70 % umbi binahong sebesar 8, 62 %.

4.4 Ekstraksi Senyawa Flavonoid Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Proses ekstraksi senyawa flavonoid dimulai dengan proses hidrolisis asam. Hidrolisis asam berguna untuk menguraikan suatu senyawa dengan cara memutuskan ikatan glikosida menggunakan katalis asam. HCl 2N digunakan sebagai katalis asam untuk mempercepat pemutusan flavonoid dalam bentuk glikosida (flavonoid yang masih terikat dengan gugus gula) agar dapat terurai menjadi flavonoid dalam bentuk aglikon (flavonoid tunggal).

Sepuluh gram ekstrak etanol 70 % umbi binahong dihidrolisis menggunakan 20 mL HCl 2N selama satu jam. Hidrolisat yang telah diperoleh dipartisi cair-cair menggunakan pelarut kloroform dan air (1:1). Prinsip dari ekstraksi cair-cair ini adalah adanya distribusi komponen target pada dua pelarut yang tidak saling larut. Sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (Khopkar, 2008). Hasil partisi cair-cair menghasilkan dua fraksi yaitu fraksi organik (kloroform) dan fraksi air. Fraksi organik berada di bawah lapisan air karena berat jenis kloroform lebih besar daripada air yaitu 1,492 g/mL. Partisi cair-cair dilakukan tiga kali agar didapatkan pemisahan yang sempurna.

Senyawa yang polar akan larut pada air dan senyawa yang kurang polar akan larut pada kloroform. Senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran sama dapat terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai dengan kepolarannya (Voight, 1994). Hasil partisi didapatkan fraksi organik yang berwarna coklat kekuningan dan fraksi air berwarna coklat bening. Kedua fraksi yang telah diperoleh dari partisi cair-cair dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator vaccum*. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 3. Nilai rendemen masing-masing pelarut disajikan pada Tabel 4.2 :

Tabel 4.2 Hasil ekstraksi dan rendemen masing-masing fraksi hasil partisi

Pelarut	Warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Rendemen (%) (b/b)
Kloroform	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	42,58
Air	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	18,39

Kedua fraksi memiliki persentase rendemen yang cukup tinggi. Persentase rendemen fraksi kloroform lebih banyak daripada fraksi air. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat banyak senyawa kurang polar daripada senyawa polar dalam tanaman umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Tenn.) Stenis). Aglikon flavonoid hasil hidrolisis yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon serta flavonol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform sebaliknya aglikon flavonoid yang mempunyai sejumlah gugus hidroksil seperti polifenol lebih mudah larut dalam air (Markham, 1988). Arishandy (2010) melakukan isolasi flavonoid daun sirih merah, pada hasil partisi fraksi kloroform ditemukan flavonoid jenis flavonol, flavanon, isoflavon dan auron. Inayah (2011) melakukan isolasi flavonoid tanaman anting – anting, hasil partisi fraksi kloroform ditemukan senyawa golongan flavonol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi kloroform mengandung senyawa flavonoid. Aglikon flavonoid hasil hidrolisis memiliki sifat kurang polar terbukti bahwa senyawa flavonoid larut pada fraksi kloroform yang bersifat kurang polar. Senyawa flavonoid dimungkinkan dari jenis isoflavon, flavanon, flavon serta flavonol (Markham, 1988).

4.5 Uji Fitokimia Reagen

Uji fitokimia reagen merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Prinsip dasarnya adanya reaksi pengujian warna dengan suatu reaksi warna (Kristanti, 2008). Uji fitokimia reagen dilakukan pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Tenn.) Steenis)

dan ekstrak pekat hasil partisi yaitu fraksi air dan fraksi kloroform. Berikut ini hasil pengujian fitokimia reagen, dapat dilihat pada Tabel 4.3 :

Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia reagen umbi binahong

Golongan senyawa aktif	Ekstrak			Keterangan Hasil Positif
	Etanol 70 %	Fraksi air	Fraksi kloroform	
Alkaloid				
- Mayer	+	+++	++	Endapan jingga
- Dragendorff	+	+++	++	Endapan kuning
Flavonoid	++	-	+++	Kuning dan bergelembung
Saponin	++	+	+	Busa stabil
Triterpenoid	+++	-	++	Cincin violet/Cincin coklat
Steroid	-	-	-	-
Tanin	++	-	+	Hijau kehitaman (Tanin katekol)

Keterangan: +++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
 ++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)
 + = Mengandung senyawa (berwarna)
 - = Tidak terkandung senyawa

4.5.1 Alkaloid

Pengujian senyawa alkaloid diawali dengan penambahan HCl untuk mengekstraksi senyawa alkaloid yang bersifat basa (Haborne, 1996). Selanjutnya ditambahkan reagen Meyer dan reagen Dragendorf pada masing – masing sampel. Hasil pengujian alkaloid menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol 70 %, fraksi air dan fraksi kloroform pada umbi binahong mengandung alkaloid. Senyawa alkaloid paling banyak teramati pada ekstrak fraksi air diikuti fraksi kloroform dan ekstrak etanol 70 %. Lenny (2006) menyatakan bahwa alkaloid umumnya larut pada pelarut organik sedangkan beberapa kelompok pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam pelarut polar (Lenny, 2006).

4.5.2 Flavonoid

Flavonoid mempunyai sejumlah gugus hidroksil, penambahan metanol berfungsi untuk melarutkan flavonoid (Dermawan, 2012). HCl ditambahkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Serbuk Mg menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna kuning (Suroso, 2007).

Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % dan fraksi kloroform mengandung flavonoid yang ditandai dengan adanya warna kuning sedangkan fraksi air tidak mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid pada ekstrak etanol 70 % merupakan poliglikosida yang larut dalam pelarut polar (Lenny, 2006). Setelah dihidrolisis untuk mendestruksi ikatan glikosida, flavonoid terdapat pada fraksi kloroform. Senyawa flavonoid seperti isoflavon, flavanon, flavon serta flavonol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

4.5.3 Saponin

Saponin merupakan zat yang memiliki senyawa aktif permukaan dan bersifat sabun. Timbulnya busa yang mantap ketika dikocok dengan air merupakan bukti adanya senyawa saponin dalam sampel (Harbone, 1978 dan Kristanti dkk., 2008). Hasil pengujian fitokimia senyawa saponin menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 %, fraksi air dan fraksi kloroform positif dengan terbentuknya busa yang stabil. Rahmawati dkk. (2014) melakukan partisi ekstrak etanol daun binahong menggunakan pelarut etil asetat (kurang polar) selanjutnya dilakukan uji fitokimia didapatkan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin

dan steroid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa saponin lebih terekstrak pada pelarut kurang polar (kloroform) sehingga saponin dalam umbi binahong bersifat kurang polar.

4.5.4 Triterpenoid

Uji fitokimia triterpenoid diawali dengan penambahan kloroform yang berfungsi untuk melarutkan senyawa triterpenoid karena senyawa triterpenoid larut baik dalam kloroform dan tidak mengandung molekul air. Asam asetat anhidrid dapat membentuk turunan asetil setelah di dalam kloroform (Halimah, 2010). Hasil pengujian fitokimia senyawa triterpenoid menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % dan fraksi kloroform umbi binahong positif dengan terbentuknya cincin violet dan coklat sedangkan fraksi air tidak mengandung triterpenoid.

Triterpenoid banyak dijumpai dalam bentuk glikosidanya (Kristanti dkk., 2008). Senyawa triterpenoid umbi tanaman binahong yang terikat pada etanol 70 % dimungkinkan masih terikat dengan glukosa sehingga membentuk ikatan glikosida. Setelah dilakukan hidrolisis senyawa triterpenoid terikat pada fraksi kloroform yang bersifat kurang polar. Restasari dkk., (2014) melakukan ekstraksi daun ketapang menggunakan kloroform, dari hasil uji fitokimia didapatkan senyawa triterpenoid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa triterpenoid lebih terekstrak pada kloroform sehingga triterpenoid dalam umbi binahong bersifat kurang polar.

4.5.5 Tanin

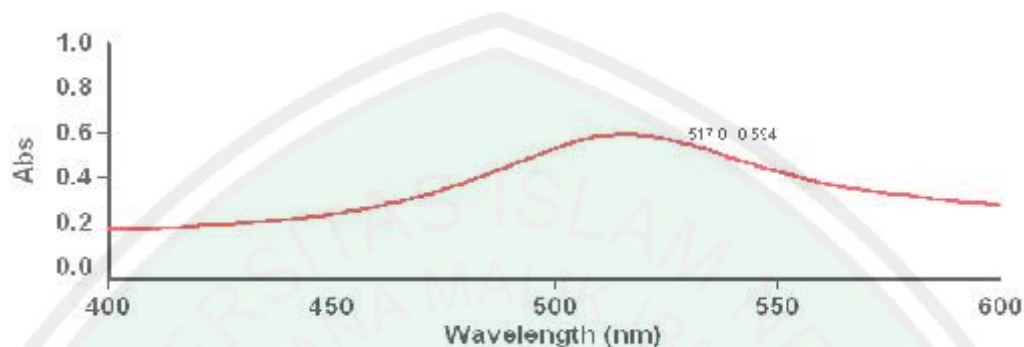
Hasil pengujian fitokimia senyawa tanin terkandung pada ekstrak etanol 70 % dan fraksi kloroform umbi tanaman binahong. Pengujian positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah ditambah larutan FeCl_3 . Winata (2011) melakukan maserasi daun wungu menggunakan pelarut air dan etanol 70 % selanjutnya dilakukan pengujian fitokimia didapatkan senyawa tanin terkandung dalam ekstrak etanol 70 %. Sulandi dkk. (2013) melakukan maserasi buah lakum menggunakan kloroform didapatkan senyawa tanin setelah dilakukan uji fitokimia. Ekstraksi batang dari *Cayrata trifolia* (Linn.) Domin menggunakan kloroform, metanol dan air didapatkan senyawa tanin (Singh dkk., 2012). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanin lebih terekstrak pada kloroform sehingga tanin dalam umbi binahong bersifat kurang polar.

4.6 Uji Efektivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pengukuran panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki serapan tertinggi. Pengukuran sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan (Gandjar dan Rohman, 2007). Beberapa panjang gelombang maksimum DPPH berada pada panjang gelombang 515-520 nm (Molyneux, 2003). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH 0,2 mM yaitu 517 nm dengan absorbansi 0,594. Blois (1958), Lu dan Foo (2000) dan Zhu dkk. (2002) melakukan pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH

didapatkan pada panjang gelombang 517 nm. Adapun spektra larutan DPPH 0,2 mM berikut ini :



Gambar 4.1 Spektra larutan DPPH 0,2 mM

4.6.2 Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan

Penentuan waktu kestabilan berfungsi mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh sampel untuk mereduksi radikal DPPH dengan sempurna. Waktu kestabilan ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Setiap sampel memiliki laju reaksi yang berbeda, oleh karenanya perlu dilakukan penentuan waktu kestabilan yang diindikasikan reaktan telah mencapai reaksi yang sempurna (Lu dkk., 2000 dalam Molyneux, 2003). Penentuan waktu kestabilan dilakukan pada empat sampel yaitu vitamin C, BHT, ekstrak etanol 70 % dan ekstrak senyawa flavonoid umbi binahong selama menit ke 5-120.

Setiap sampel diukur waktu kestabilannya pada konsentrasi tertinggi yaitu 800 mg/L. Saat awal reaksi absorbansi senyawa meningkat sampai waktu tertentu hingga diperoleh absorbansi yang stabil (Gandjar dan Rohman, 2007). Absorbansi

keempat sampel sebelum mencapai waktu kestabilan mengalami kenaikan absorbansi selanjutnya setelah mencapai waktu kestabilan tidak terjadi penurunan atau kenaikan absorbansi, hal ini menunjukkan bahwa reaksi telah mencapai kesetimbangan. Berikut ini merupakan waktu kestabilan dari beberapa sampel, diantaranya:

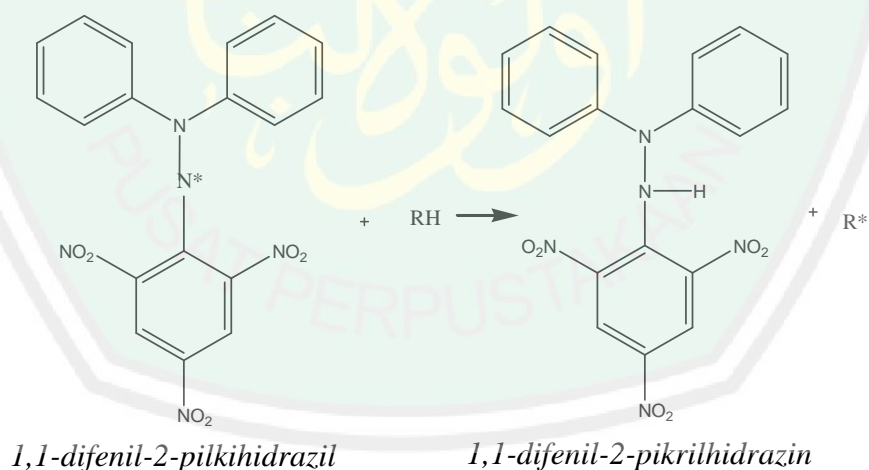
Tabel 4.4 Waktu kestabilan masing-masing ekstrak

Sampel	Waktu kestabilan (Menit)
Vitamin C	20 – 120
BHT	5 – 120
Ekstrak Etanol 70 %	25 – 75
Ekstrak Senyawa Flavonoid	25 – 120

Pengukuran waktu kestabilan maksimum diinkubasi dalam suhu 37 °C, Suroso (2007) membandingkan pengukuran waktu kestabilan DPPH dari sampel yang diinkubasi dengan suhu ruang dan pada suhu 37 °C didapatkan hasil bahwa pada suhu 37 °C reaksi DPPH dengan sampel lebih stabil yang ditandai dengan nilai absorbansi yang tidak jauh berbeda pada menit ke 30-55. Oleh karenanya, sebelum dilakukan pengukuran nilai efektivitas antioksidan, sampel diinkubasi pada suhu 37 °C untuk mempercepat reaksi antara radikal DPPH dan sampel agar mencapai kesetimbangan. Pengukuran waktu inkubasi kacang hasil hidrolisis dilakukan saat telah mencapai kesetimbangan sehingga pengukuran DPPH diamati setelah menit ke 25 (Yu dkk., 2012). Sampel diuji efektivitas antioksidannya pada waktu kestabilan yang telah didapatkan.

4.6.3 Pengujian Efektivitas Antioksidan pada Sampel

Pengujian efektivitas antioksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm selama waktu kestabilan. Sampel yang diuji efektivitas antioksidannya yaitu ekstrak etanol 70 %, ekstrak dan isolat senyawa flavonoid. Vitamin C dan BHT digunakan sebagai pembanding efektivitas antioksidan sampel. Efektivitas antioksidan diuji dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH (*1,1-difenil-2-pilkihidrazil*). DPPH berperan sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan antioksidan membentuk DPPH-H (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*). Antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal DPPH untuk melengkapi kekurangan elektron dan membentuk radikal antioksidan yang lebih stabil. Berikut ini reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas :



Gambar 4.2 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Prakash dkk., 2001)

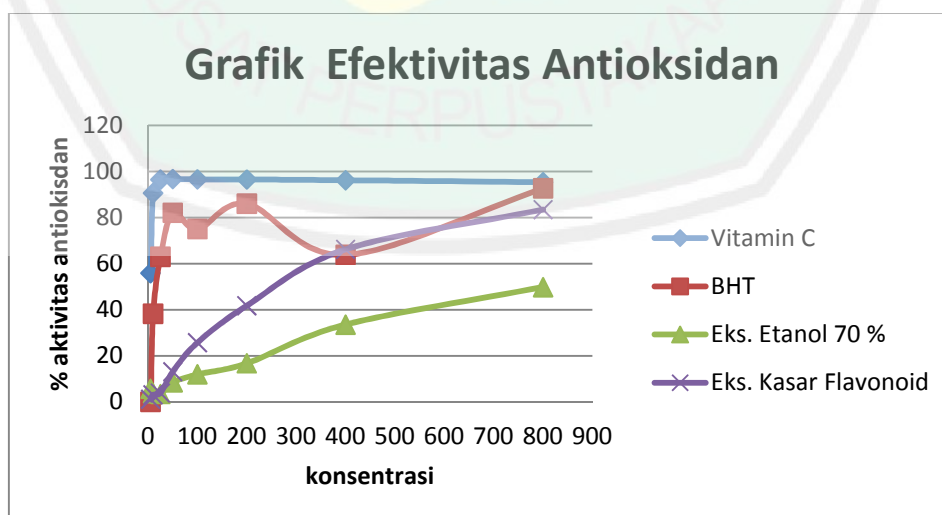
Larutan kontrol digunakan pada pengukuran efektivitas antioksidan berfungsi untuk mengetahui absorbansi radikal DPPH sebelum direduksi oleh sampel. Selisih antara absorbansi DPPH yang telah direduksi sampel dan

absorbansi kontrol merupakan sisa radikal DPPH yang terbaca pada spektrofotometer UV-Vis. Semakin besar selisihnya semakin besar efektivitas antioksidan sampel. Perhitungan efektivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 4. Persentase efektivitas antioksidan dalam berbagai konsentrasi disajikan dalam Tabel 4.5 :

Tabel 4.5 Hasil persentase efektivitas antioksidan

No	Konsentrasi Sampel (ppm)	% Efektivitas antioksidan			
		Vitamin C	BHT	Ekstrak Etanol 70 %	Ekstrak Flavonoid
1.	5	55,83	31,66	5.69	1,12
2.	10	90,55	38,25	3.72	3,04
3.	25	96,39	62,94	3.40	3,84
4.	50	96,67	82,03	8.48	13,06
5.	100	96,50	75,03	11.94	25,67
6.	200	96,47	86,00	16.74	41,70
7.	400	96,13	63,81	33.51	66,13
8.	800	95,29	92,65	49.77	83,38

Berikut ini grafik efektivitas antioksidan sampel, disajikan pada Gambar 4.3:



Gambar 4.3 Grafik efektivitas antioksidan sampel

Semakin besar persentase efektivitas antioksidan sampel maka semakin berpotensi sebagai antioksidan. Grafik diatas dapat dijelaskan persentase efektivitas antioksidan tertinggi terdapat pada vitamin C diikuti BHT, ekstrak senyawa flavonoid dan ekstrak etanol 70 % umbi binahong. Ekstrak senyawa flavonoid dan ekstrak etanol 70 % mengalami kenaikan efektivitas antioksidan seiring dengan naiknya konsentrasi. Ekstrak senyawa flavonoid memiliki nilai efektivitas antioksidan yang lebih besar daripada ekstrak etanol 70 % sehingga dapat disimpulkan ekstrak senyawa flavonoid lebih efektif dalam meredam radikal bebas DPPH.

Parameter lain yang digunakan untuk mengetahui kekuatan antioksidan ialah EC_{50} (Efficient Concentration 50 Value). EC_{50} merupakan konsentrasi sampel yang dapat menyebabkan berkurangnya 50 % aktivitas DPPH (Molyneux, 2003). Berikut ini merupakan nilai EC_{50} dari masing – masing sampel :

Tabel 4.6 Nilai EC_{50} masing-masing ekstrak

Ekstrak	Nilai EC_{50} (mg/L)
Etanol 70 %	298,10
Flavonoid	178,60
Vitamin C	4,58
BHT	14,10

Semakin kecil nilai EC_{50} menandakan semakin besar efektivitas antioksidan sehingga konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam radikal DPPH sebesar 50 % semakin kecil (Widyaningsih, 2010). Vitamin C merupakan antioksidan alami sedangkan BHT merupakan antioksidan sintetis. Putri (2011) melakukan pengujian efektivitas antioksidan BHT didapatkan nilai efektivitas

antioksidan sangat kuat (<50 mg/L) dengan nilai EC_{50} sebesar 15,92 mg/L. Nilai EC_{50} vitamin C sebesar 4,39 mg/L memiliki efektivitas antioksidan yang sangat aktif (Winata, 2011). Hasil pengukuran nilai EC_{50} vitamin C dan BHT berturut-turut sebesar 4,58 dan 14,10 mg/L. Kekuatan efektivitas antioksidan vitamin C lebih besar daripada BHT karena vitamin C mampu mendonorkan dua atom hidrogen kepada radikal DPPH dan membentuk radikal L-askorbil yang stabil sedangkan BHT mendonorkan satu atom hidrogen dan membentuk radikal fenoksi. Kedua radikal vitamin C dan BHT merupakan radikal yang stabil karena keduanya memiliki bentuk siklik dengan ikatan rangkap sehingga dapat mendelokalisasikan elektronnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan warna dari ungu menjadi kuning muda pada sampel vitamin C dan BHT. Radikal DPPH memiliki warna ungu dan berubah menjadi kuning setelah radikal DPPH berpasangan (Yuliani, 2011). Vitamin C mengalami perubahan warna pada konsentrasi 10 mg/L sedangkan BHT mengalami perubahan warna pada konsentrasi 25 mg/L. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas (Prakash, 2001). Perubahan warna yang terjadi pada vitamin C dan BHT menunjukkan tingginya kemampuan kedua antioksidan tersebut dalam menangkap radikal bebas DPPH.

Nilai EC_{50} pada ekstrak flavonoid dan ekstrak etanol 70 % lebih besar berturut-turut 178,60 mg/L dan 298,10 mg/L dibandingkan dengan EC_{50} Vitamin C dan BHT. Suatu sampel memiliki kemampuan meredam radikal bebas jika menyamai nilai EC_{50} vitamin C dan BHT. Ekstrak senyawa flavonoid

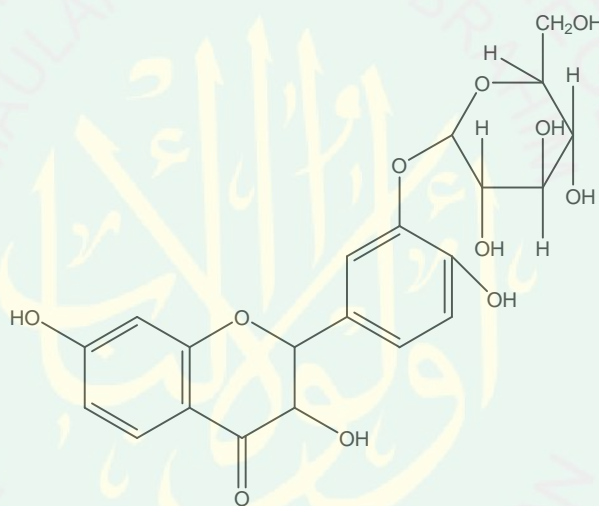
digolongkan memiliki tingkat antioksidan lemah dan ekstrak etanol 70 % umbi binahong digolongkan sebagai antioksidan sangat lemah. Namun, kedua ekstrak tersebut dapat digunakan sebagai antioksidan walaupun memiliki tingkat antioksidan yang lemah dan sangat lemah. Secara kualitatif efektivitas antioksidan sampel dapat dilihat dari perubahan warnanya dari ungu menjadi kuning. Hasil pengukuran masing-masing ekstrak ketika ditambahkan larutan DPPH tidak mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning, melainkan hanya terjadi pemudaran warna dari ungu menjadi ungu kemerahan pada konsentrasi 800 mg/L.

Efektivitas antioksidan dalam sampel berkorelasi dengan kandungan bioaktifnya. Berdasarkan pengujian fitokimia di dalam ekstrak senyawa flavonoid terkandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin begitu juga pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong. Perbedaananya terdapat pada kemampuan zat bioaktif yang terdapat pada masing-masing ekstrak dalam menangkai radikal bebas DPPH. Adanya gugus gula dalam senyawa bioaktif ekstrak etanol 70 % mengurangi kemampuan dalam menangkai radikal bebas DPPH. Hal ini dapat dilihat dari tingginya nilai EC_{50} ekstrak etanol 70 % umbi binahong yaitu sebesar 298,10 mg/L.

Diantara kelima senyawa bioaktif dalam umbi binahong, flavonoid dikenal mempunyai efektivitas antioksidan yang tinggi. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Marliana, 2012). Adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak senyawa flavonoid diperkuat dari pengujian kualitatif secara fitokimia reagen. Hasil pengujian fitokimia ekstrak senyawa flavonoid menunjukkan perubahan

warna kuning yang tajam disertai timbulnya gelembung. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mendonorkan elektron ke senyawa radikal bebas DPPH.

Flavonoid yang terglukosilasi menyebabkan flavonoid menjadi kurang reaktif dalam meredam radikal bebas. Senyawa flavonoid dan senyawa gula dihubungkan dengan ikatan glikosidik sehingga terbentuk glikosida flavonoid. Berikut ini bentuk glikosida flavonoid :



Gambar 4.4 Glikosida flavonoid

Penambahan HCl sebagai katalis asam dapat memutus ikatan glikosidik pada glikosida flavonoid sehingga akan terbentuk aglikon flavonoid dengan penambahan gugus hidroksil dan glikon dalam bentuk hemiasetal siklik. Penambahan gugus hidroksil dalam aglikon flavonoid mampu meningkatkan keefektifan antioksidan dalam flavonoid. Aglikon flavonoid tanpa glikon dapat mendonorkan lebih banyak elektronnya kepada radikal bebas.

Albulescu dan Puscau (2008) membandingkan efektivitas antioksidan dari ekstrak glikosida kedelai dan aglikon isoflavon kedelai didapatkan nilai efektivitas antioksidan aglikon isoflavon kedelai lebih besar yaitu 82 % dibandingkan dengan ekstrak glikosida kedelai sebesar 75 %. Selain itu, banyaknya gugus gula yang mengikat flavonoid menyebabkan berkurangnya efektivitas antioksidan flavonoid. Quercetin (flavonoid tanpa gula) teroksidasi paling cepat, diikuti oleh quercitrin (flavonoid yang terikat pada monosakarida) selanjutnya rutin (flavonoid yang terikat pada disakarida) (Hopia dan Heinonen, 1999).

Keefektifan senyawa flavonoid dalam meredam radikal bebas DPPH dibuktikan dengan pengujian efektivitas antioksidan isolat senyawa flavonoid dalam umbi binahong.

4.7 Uji Antioksidan Isolat Hasil KLT Preparatif

Kromatografi lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase yakni fase gerak (eluen) dan fase diam (adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya (Sastrohamidjojo, 1991). KLT Preparatif digunakan untuk memisahkan analit dalam jumlah yang banyak kemudian senyawa tersebut dianalisa lebih lanjut (Gandjar dan Rohman, 2007). Plat KLT yang digunakan berukuran 20x10 cm. Penotolan dilakukan di sepanjang plat dengan panjang 20 cm. Sampel yang digunakan ialah ekstrak senyawa flavonoid.

Elusi dilakukan menggunakan eluen n-butanol-asam asetat-air atau BAA (4:1:5) (Andrieyani dan Pradana, 2014), hasil elusi didapatkan empat isolat.

Berikut ini hasil KLT Preparatif pada panjang gelombang 366 nm:

Tabel 4.7 Hasil KLT Preparatif pada panjang gelombang 366 nm

Isolat	Rf	Warna noda dengan sinar UV		Jenis senyawa flavonoid yang mungkin
		Tanpa NH ₃	Dengan NH ₃	
1	0,29	Kuning	Kuning	Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang berasal dari dihidroflavonol)
2	0,45	Hijau	Hijau	- Auron yang tak mengandung 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas. - Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan disertai atau tanpa 5-OH bebas
3	0,56	Hijau-Kuning	Hijau	- Auron yang tak mengandung 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas. - Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan disertai atau tanpa 5-OH bebas
4	0,95	Kuning	Kuning	Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang berasal dari dihidroflavonol)

Sumber : Markham, 1998

Keempat noda yang terbentuk pada hasil KLT Preparatif diduga merupakan senyawa flavonoid. Koirewoa dkk. (2014) melakukan identifikasi flavonoid daun beluntas menggunakan KLT dengan eluen BAA (4:1:5) menghasilkan tiga noda. Noda yang disinari dengan lampu UV 366 nm positif flavonoid dari golongan flavonol jika berwarna hijau dan terjadi perubahan warna

sedikit dari warna hijau setelah diuapi NH_3 . Selain itu, noda standar quersetin yang disinari lampu UV 366 nm berwarna kuning dan tidak mengalami perubahan warna setelah diuapi dengan NH_3 . Rompas dkk., (2014) mengidentifikasi flavonoid golongan khalkon dalam daun lamun didapatkan warna noda hijau sebelum dan sesudah diuapi NH_3 .

Keempat isolat yang diduga senyawa flavonoid tersebut diuji efektivitas antioksidannya untuk mengetahui isolat yang memiliki efektivitas antioksidan yang paling tinggi. Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian efektivitas antioksidan merupakan konsentrasi terbaik dalam pengujian antioksidan ekstrak senyawa flavonoid yaitu sebesar 178,60 mg/L. Konsentrasi tersebut merupakan nilai EC_{50} dari ekstrak senyawa flavonoid, pada konsentrasi 178,60 mg/L dapat dijadikan batasan peredaman radikal bebas sebesar 50 %. Perhitungan efektivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 4. Berikut ini efektivitas antioksidan isolat hasil KLTP:

Tabel 4.8 Hasil efektivitas antioksidan isolat KLT Preparatif pada konsentrasi 178,60 mg/L

Isolat	% Efektivitas Antioksidan	Warna Larutan Setelah Uji Efektivitas Antioksidan
1	3,470	Ungu
2	6,627	Ungu
3	7,160	Ungu
4	6,061	Ungu

Hasil pengujian isolat ketiga menunjukkan efektivitas antioksidan yang paling besar dengan nilai 7,160 %. Namun, efektivitas antioksidan dari keempat isolat tersebut menunjukkan efektivitas antioksidan hasil KLTP dibawah 50 %.

Yuliani (2011) menyatakan bahwa adanya perubahan warna menunjukkan bahwa senyawa antioksidan menyumbangkan atom hidrogennya terhadap radikal bebas DPPH. Perubahan warna larutan setelah uji efektivitas antioksidan pada isolat tidak terjadi. Berdasarkan penelitian tersebut, isolat senyawa flavonoid pada konsentrasi 178,60 mg/L belum mampu meredam 50 % radikal bebas DPPH.

Vitamin C dan BHT digunakan sebagai pembanding untuk mengetahui keefektifan isolat flavonoid dalam meredam radikal bebas DPPH. Vitamin C dan BHT diuji efektivitas antioksidannya pada konsentrasi yang sama dengan isolat yaitu 178,60 mg/L. Nilai pengujian efektivitas antioksidan vitamin C dan BHT tersaji dalam Tabel 4.9:

Tabel 4.9 Hasil Uji efektivitas antioksidan Vitamin C dan BHT pada konsentrasi 178,60 mg/L

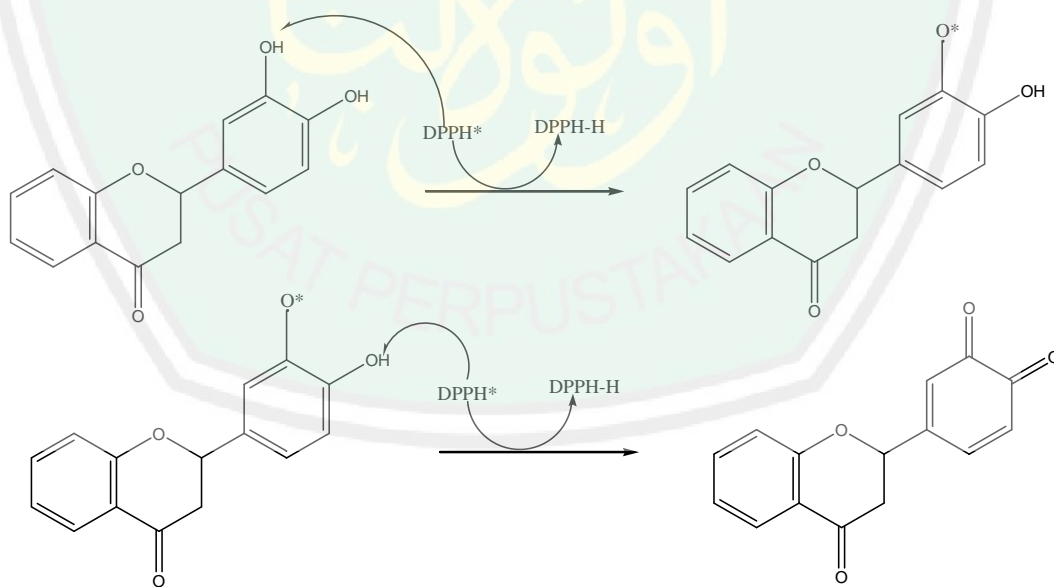
Sampel	% Efektivitas Antioksidan	Warna Larutan Setelah Uji Efektivitas Antioksidan
Vitamin C	96,418	Kuning muda
BHT	88,187	Kuning muda

Suatu sampel memiliki kemampuan meredam radikal bebas jika menyamai nilai persentase efektivitas antioksidan vitamin C dan BHT. Persentase efektivitas antioksidan isolat berada dibawah efektivitas antioksidan vitamin C dan BHT. Keempat isolat tersebut diduga senyawa flavonoid berdasarkan hasil KLT Preparatif. Efektivitas peredaman radikal bebas senyawa flavonoid dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen dalam molekulnya. Oleh karena itu, efektivitas antioksidan kuat akan dihasilkan oleh senyawa flavonoid yang memiliki jumlah gugus hidroksil lebih banyak pada inti flavonoidnya. Senyawa flavonoid pada

isolat diduga memiliki gugus hidroksil dalam jumlah sedikit sehingga peredaman radikal bebas DPPH tidak berjalan maksimal. Semakin banyak gugus hidroksil bebas yang dapat menyumbangkan hidrogen maka semakin banyak juga reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH (Rahayu dkk., 2014).

Rahayu dkk., melakukan pengujian efektivitas antioksidan quersetin dan isolat flavonoid didapatkan nilai IC_{50} berturut turut 347,726 dan 6,277 mg/L. Quersetin memiliki lima gugus hidroksil yang mampu meredam radikal bebas DPPH (Rahayu dkk., 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rahayu dkk. menguatkan dugaan bahwa keefektifan senyawa flavonoid dalam meredam radikal bebas sangat dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksilnya.

Berikut ini dugaan reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh flavonoid :



Gambar 4.5 Reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh flavonoid (Marliana dkk., 2012)

Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas DPPH. Radikal DPPH sebagai aseptor elektron menjadi senyawa baru DPPH-H yang stabil. Radikal flavonoid yang terbentuk merupakan radikal yang stabil karena memiliki bentuk siklik dengan ikatan rangkap sehingga dapat mendelokalisasikan elektronnya. Oleh karena itu radikal flavonoid tidak sereaktif radikal bebas DPPH.

Nilai persentase efektivitas antioksidan tiap isolat senyawa flavonoid memiliki nilai lebih rendah daripada ekstrak etanol 70 % dan ekstrak flavonoid pada konsentrasi 100-200 mg/L beturut-turut sebesar 11,94-16,74 dan 25,67-41,70 (lihat Tabel 4.5). Isolat flavonoid merupakan hasil pemisahan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak flavonoid. Keempat isolat senyawa flavonoid diduga memiliki efek sinergis yaitu beberapa senyawa memiliki efektivitas yang lebih besar daripada masing-masing senyawa secara individual. Efektivitas antioksidan isolat senyawa flavonoid berkurang ketika masing-masing senyawa flavonoid terpisah namun keefektifannya bertambah ketika senyawa flavonoid berkerja secara sinergis pada ekstrak senyawa flavonoid. Keefektifan masing-masing isolat senyawa flavonoid berkurang karena semakin sedikit atom hidrogen yang dapat didonorkan kepada radikal DPPH.

4.8 Pemanfaatan Umbi Binahong dalam Perspektif Agama Islam

Allah telah mengkaruniakan bumi dan seluruh isinya untuk kehidupan manusia. Bumi Allah terhampar berbagai macam makhluk hidup diantaranya berbagai macam tanaman yang berbeda satu sama lainnya. Berbagai macam

tanaman tersebut dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai lahan penghidupannya. Ayat Alquran sebagai pedoman hidup manusia menerangkan tentang tanaman yang memiliki banyak manfaat dan tidak ada yang sia-sia. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al An'aam ayat 141 yang berbunyi:

وَهُوَ جَنَّاتٍ شَتٍ غَيْرِ مُعْرُوشَتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أُكْلُهُ
وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۚ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَءَاتُوا
حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ ۚ وَلَا تُسْرِفُوا ۚ إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

“Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebon yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila Dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan” (QS. al An'aam:141).

Ayat tersebut menerangkan bahwa Allah dengan segala karunia-Nya telah menciptakan berbagai macam tanaman baik merambat maupun tanaman yang dapat berdiri tegak di permukaan tanah. Dari berbagai jenis tanaman tersebut akan tumbuh bermacam-macam buah yang berbeda bentuk maupun rasanya. Maka, Allah memerintahkan manusia untuk memakan berbagai macam buah-buahan tersebut tanpa berlebih-lebihan dan menyedekahkannya, karena sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang melampaui batas (Jaelani, 2000).

Tanaman binahong merupakan tanaman yang merambat dan dapat berbuah. Buah tanaman binahong memiliki rasa sepat, namun dibalik rasa yang dimilikinya Allah mengkaruniakan manfaat. Allah memerintahkan manusia untuk

memanfaatkan tanaman yang terhampar dimuka bumiNya dengan memanfaatkannya sebagai bahan makanan atau manfaat yang lainnya seperti pengobatan.

Penjelasan di atas didukung dalam firman Allah surat al Hijr ayat 19 sebagai berikut :

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ ﴿١٩﴾

“Dan Kami telah menghamparkan bumi dan telah kami pancangkan padanya gunung-gunung serta Kami tumbuhkan di sana segala sesuatu menurut ukuran” (QS. al Hijr: 19)

Kata *mauzun* bermakna maklum (diketahui, tertentu), yakni ukuran yang telah dimaklumi. Sebagian ulama mengatakan *mauzun* berarti ditentukan kadarnya sedangkan Ibnu Zaid menambahkan segala sesuatu menurut kadar dan ukuran yang sesuai (Muhammad dan Syaikh, 2004). Allah telah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya. Ukuran dalam ayat tersebut dimaksudkan bentuknya dan hal-hal yang bersesuaian dengannya. Allah menciptakan tumbuhan beserta bagian tumbuhan lainnya seperti daun, batang dan umbi sesuai dengan ukuran dan bentuknya. Salah satu tanaman tersebut adalah umbi binahong, ukuran umbi binahong tidak lebih besar daripada umbi-umbi lainnya seperti singkong. Namun, bentuk umbi binahong yang kecil memiliki kesesuaian manfaat salah satunya sebagai pengobatan.

Penjelasan ayat di atas juga dipertegas dengan Firman Allah dalam Alquran surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ ۖ تَمِيدُ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
كُلَّ دَابَّةٍ ۚ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (QS. Luqman:10)

Kata *karim* yang terdapat dalam surat Luqman ayat 10 tersebut digunakan untuk menyifati segala sesuatu yang baik, sesuai obyeknya. Rizqi yang *kariim* adalah yang banyak, halal dan bermanfaat. Pasangan tumbuhan yang *kariim* adalah yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan dari penanamannya (Shihab, 2003). Binahong merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan dengan baik. Salah satu pemanfaatan tanaman binahong yaitu potensinya sebagai obat. Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia bahkan umbi binahong yang memiliki rasa sepat bisa dimanfaatkan sebagai obat untuk manusia.

Firman Allah dalam surat al qomar ayat 49 yang berbunyi:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

“Sesungguhnya segala sesuatu telah Kami ciptakan menurut ukuran”
(QS. al qomar: 49)

Kata *qodar* dari segi bahasa berarti kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Ayat tersebut menerangkan bahwa tidak ada satu pun yang Allah

ciptakan sia-sia atau tanpa tujuan yang benar dan kesemuanya diberi potensi yang sesuai dengan kadar yang cukup untuk melaksanakan fungsinya dan semuanya kait terkait, tunjang menunjang dalam suatu keseimbangan (Shihab, 2003). Berdasarkan penelitian ini, ekstrak etanol 70 % dan ekstrak senyawa flavonoid dalam umbi binahong memiliki nilai EC_{50} berturut-turut 298,10 dan 178,60 mg/L sedangkan isolat senyawa flavonoid memiliki efektivitas antioksidan berturut-turut sebesar 3,470; 6,627; 7,160 dan 6,061 %. Nilai tersebut merupakan ukuran keefektivan umbi binahong sebagai antioksidan. Antioksidan dalam umbi binahong telah terbukti dapat menangkal radikal bebas. Efektivitas antioksidan dalam umbi binahong dapat dijadikan alternatif pengobatan herbal.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Ekstrak senyawa flavonoid memiliki efektivitas antioksidan lebih baik daripada ekstrak etanol 70 %. Ekstrak senyawa flavonoid memiliki nilai EC_{50} sebesar 178,60 mg/L dan ekstrak etanol 70 % umbi binahong sebesar 298,10 mg/L, keduanya memiliki efektivitas antioksidan yang lemah. Hasil efektivitas antioksidan isolat senyawa flavonoid paling tinggi terdapat pada isolat ketiga sebesar 7,16 %.

5.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menguji efektivitas antioksidan pada bagian lain tanaman umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang berpotensi sebagai antioksidan.
2. Hasil pengujian fitokimia reagen menunjukkan bahwa umbi binahong memiliki kandungan alkaloid dengan terbentuknya perubahan warna yang tajam. Maka, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi alkaloid pada umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

DAFTAR PUSTAKA

- Albulescu, A. Puscau D. 2008. Antioxidant Activity of Natural Extracts Containing Isoflavones. *Jurnal Series Chemistry* 17 (1) (2008) 131-138.
- Andrieyani. 2014. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Efek Terapi Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Aktivitas Sod Pada Jantung Tikus (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Annisas, J. 2013. Kadar Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Lima Aksesori Tanaman Kunyit (*Curcuma domestica*) pada Lokasi Budidaya Kecamatan Nagrak, Sukabumi. *Skripsi*. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam-IPB.
- Arishandy, D.N.A.T.A. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah (*Piper betle* L. var *rebrum*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Astuti, M.S. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) dan Fakulti Kejuteraan Kimia dan Sumber Asli (Bioproses)*. Indonesia-Malaysia, 1-13.
- Barazing, H. 2007, Pengobatan Aman Cara Nabi: Herba Sebagai Pengobatan Modern Alternatif, Tinjauan Medis Dan Syariat Islam. [http:// hohanb.webs.com/](http://hohanb.webs.com/). Diakses tanggal 19 September 2013.
- Bimakra, M; Rahman, R.A; Taip, F.S; Ganjloo, A; Salleh, L.M; Selamat, J; Hamid, A; Zaidul, I.S.M. 2010. Comparisson of Different Extraction Methods for the Extraction of Major Bioactive Flavonoid Compounds from Spearmint (*Mentha spicata* L.) Leaves. *Jurnal Food and Bioproducts Procesing*. Malaysia.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical *Nature* 181: 1199-1200.
- Brahmachari, G. 2001. Bio-Flavonoids with Promising Anti-Diabetic Potentials: A critical Survey. *Jurnal Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry*. Departement of Chemistry, Vista-Bharati University- India.

- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat Dan Teknologi*. Bandung: Bumi Aksara.
- Candra, S. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Semarang : Fakultas kedokteran UNDIP
- Dermawan, R. 2012. Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. *Makalah Kimia Organik Analisis*. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
- Djamil, R., Wahyudi, Wahono, dan Hanafi, M. 2012. Antioxidant Activity of Flavonoid From *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves. *International Research Journal of Pharmacy*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Faten, M., Abou, E., and Emad, A.S. 2009. Antioxidant Activity of Extract and Semi-Purified Fractions of *Marine Red Macroalga, Gracilaria Verrucosa*. Australian. *Journal of Basic and Applied Sciences*. Kairo: Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Cairo University. 3(4), 3179-318.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Gamse T. 2002. *Liquid-Liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction*. Graz University of Technology.
- Gandjar, I.B., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. London: Elsivier Applied Science.
- Gritter, R.J. 1991. Pengantar Kromatografi Edisi Kedua. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Guenther, E. 2011. *Minyak Atsiri*. Jakarta : UI Press.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn.) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Hamilton, R.J., and Allen, J.C. 1994. *Rancidity in Foods*. London: Blackie Academic and Professional.

- Hanani, E., Abdul, M., dan Ryany, S. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia sp Dari Kepulauan Seribu*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Volume. II (3) :127-133. ISSN: 1693-9883.
- Handayani, S. 2013. Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (*Avicennia marina* (Forks.)Vierh.) Sebagai Senyawa Aktif Antioksidan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor : Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB.
- Harbone, J.B dan Williams, C.A. 2000. Advances in Flavonoid Reseach in 1992. *Jurnal Phitochemistry* Hal.481-500. Derpatement of Botany, School of Plant Sciences.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Institut Teknologi Bogor.
- Harjadi W. 1993. *Kimia Analitik*. Jakarta: Gramedia.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Posdakarya.
- Hernani dan Nurdjanah R. 2009. Aspek Pengeringan dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder pada Tanaman Obat. *Jurnal Perkembangan Teknologi TRO 2*, Hal 33-39 ISSN 1829-6289.
- Hernani dan Rahardjo M. 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hidajat, B. 2005. Penggunaan Antioksidan Pada Anak. *Artikel Kimia*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Hopia A, Heinonen, M. 1999. Antioxidant Activity of Flavonol Aglycones and Their Glycosides in Methyl Linoleate. *Jurnal AOCS* Volume. 76, no. 1.
- Inayah, F. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Methanol Tanaman Anting-Anting (*Achalypha indica linn*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri (UIN) Maliki Malang.
- Injo, J.D. 2006. Efek Flavonoid Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas pada Diabetes Mellitus. *Skripsi* tidak diterbitkan.
- Kartesz, J. 2000. *Acalypha indica*. The PLANTS Database, database (version5.1.1), National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge,

LA70874-4490 USA. <http://plants.usda.gov>. Diakses tanggal 18 September 2013.

- Kaur, N., and Murphy, J.B. 2012. *Enhanced Isoflavone Biosynthesis in transgenic Cowpea (Vigna unguiculata L.) Callus*. Urbana-Campaign, USA: University of Illinois Departement of Crop Sciences. *Academy Journal-Plant Mol Biol Biotechnol* 2012 3(1):1-8.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, Wiyono, W. I. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Jurnal*. Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT.
- Kristanti, A.N.; Aminah, N.S.; Tanjung, M.; Kurniai, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kumala, L.D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah Tidak Diterbitkan. Medan: MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lu, Y. and Foo, L.Y. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace, *Jurnal Food Chemistry*, 68: 81-85.
- Macari, A. T, Portela C.N, Polhit A.M. 2006. Antioxidant, cytotoxic, and UVB-absorbing activity of *Maynetus guyanensis* Klotzch (Celastraceae) bark extract. *Acta Amazonica* 36:513-518.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., and Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspective*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Makalalag, I. Wullur A. dan Wiyono K. 2013. Uji Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) Terhadap Kadar Gula Darah pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa. Manado. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* Volume. 2 No. 01 Februari ISSN 2302 – 2493: 29-34.
- Manoi, F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan*. Volume.15 No.1: 3-6.
- Mardiyah, U. 2012. *Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah Eucheuma spinosum dari Perairan Banyuwangi*. Skripsi Tidak

Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri (UIN) Maliki Malang.

Marianne, Yuandani, Rosnani. 2011. Antidiabetic Activity From Ethanol Extract of Kluwih's Leaf (*Artocarpus camansi*). *Jurnal Natural* Volume. 11, No. 2.

Marliana, E. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L] A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientifie*, Volume 11, Nomor 1, April 2012 ISSN 1412-498X.

Markham, K.R. 1988. *Cara mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.

Masui, T; Hirose, M; Imaida, K; Fukushima, S; Tamano, S; Ito, N. 1986. Sequential Changes of The Forestomach of F344 Rats, Syrian Golden Hamster, And B6C3F₁ Mice Treated with Butylated Hidroxyanisole. *Jurnal Jpn, J. Cancer Res. (Gann)*, No.77, Hal. 1083-1090. Departement of Pathology-University Medical School.

Molyneux, P. 2003. The Use of the Stable fre radical diphenylpicrylhdrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Article*. Songklanakarin J. Sci. Technol.

Muhammad, A.B dan Syaikh, B.A.B.I.A. 2004. Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.

Murdianto, R.A; Fachriyah, E. dan Kusri D. Tanpa Tahun. Isolasi, Identifikasi Serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal*. Universitas Diponegoro Jurusan Kimia.

Nihlati I. A., Rohman A., Hertiani T. 2014. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci [*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlechth] dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*.

Nunes, X.P; Silva, F.S; Almeida, J.R.G.S; Junior, L.J.Q; Filho, J.M.B. 2012. Biological Oxidations and Antioxidant Actyvity of Natural Products. *Jurnal Phytochemicals as Nutraceuticals*. Brazil-Universidade federal do Vale do Sao Francisco.

Pradana, Fery. 2014. Identifikasi Flavonoid Dengan Pereaksi Geser dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Aloksan. *Skripsi*. Malang:

Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity*. Journal of Analytical Chemistry. Medallion Laboratories: Analytical Progress. Volume 10, No. 2.
- Priyanto, R. A. 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif pada Buah Bakau (*Rhizophora mucronata* Lamk.). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB.
- Putri, A.P. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun Dugong (*Thalassia hemprichii*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan IPB.
- Rahayu, D.S., Dewi, K., Enny, F. 2010. *Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (Terminalia catappa L) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrilhidrazil (DPPH)*. *Skripsi* Diterbitkan. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro
- Rahmawati, L. Fachriyah, W. Kusrini, D. 2014. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Laboratorium Kimia Organik*, Jurusan Kimia, Universitas Diponegoro.
- Rastuti, U dan Purwati. 2012. Uji Aktivitas antioksidan daun kalba (*Albizia falcataria*) dengan metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknik Universitas Jenderal Soedirman. *Jurnal Molekul* Volume 7, No 1.
- Restasari, A. Kusrini, D. Fachriyah, E. 2014. Isolasi dan Identifikasi Fraksi Teraktif Dari Ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia catappa* Linn). *Jurnal Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Diponegoro Semarang*.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Rohman, A., dan Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) , *J. Agritech*. Volume, 25 No 3;131-136.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Jurnal BioTrends No. 1* Hal. 5-9. LIPI.
- Rome. 1990. *Roots, Tubers, Plantains And Bananas In Human Nutrition*. Italy. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

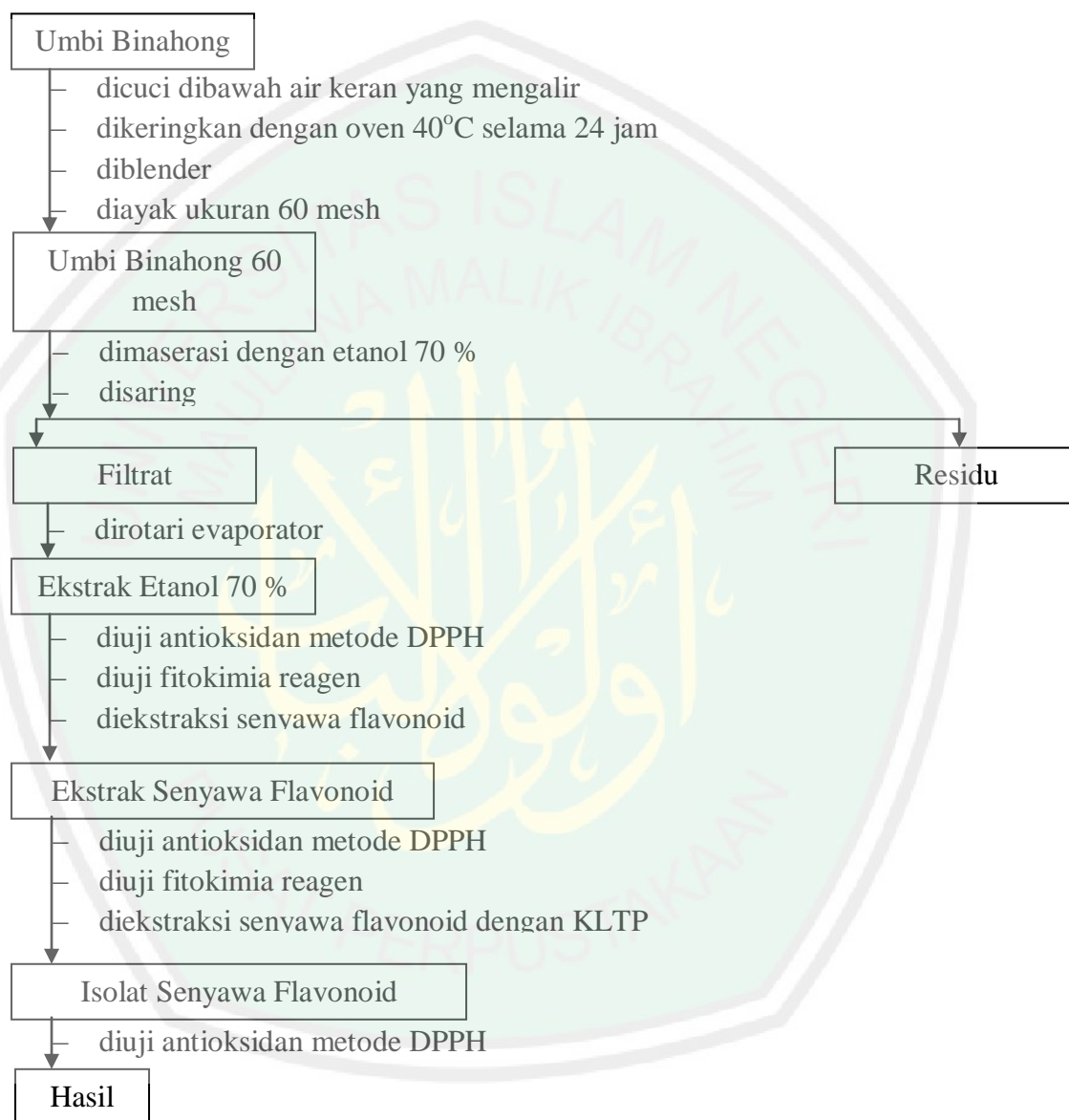
- Rompas, R.A., Edy, H.J., Yudistira, A. 2014. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dalam Lamun (*Syringodium I.*). *Jurnal FMIPA UNSRAT Manado Program Studi Farmasi*.
- Saifudin, A., Suparti, Fuad, A., dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus roseus [L] G.Don* Berbunga Merah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* Volume. 7 No. 2 2006-92-102.
- Saleh, C.; Sitorus S. dan Nursanti R. 2012. Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi *Anredera cordifolia* [Ten.] Stennis. *Jurnal Kimia*. Fakultas MIPA-Universitas Mulawarman. Volume 11 Nomor 1.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sax, D., dan Lewis, R., 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Galler International.
- Selawa, W; Runtuwenw, M.R.J; Citraningtyas, G. 2013. Kandungan flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Baun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.). *Jurnal Ilmiah Farmasi* Volume.2 No.1 Hal. 18-22. Manado-Program Studi Farmasi.
- Setiawan, S. 2008. Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Jati Belanda Berpotensi Antioksidan. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor : Departemen Kimia Fakultas MIPA IPB.
- Shahidi, F., Wanasundoro, U., and Amarowicz,. 1995. *Isolation and Partial Characterization of Oil Seed Phenolics and Evaluation of Their Antioxidant Activity, Dalam Charolambous, editor, Food Flavors; Generation, Analysis and Process Influence*. London: Elvisier Applied Science.
- Shihab, Q. 2003. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Volume.7,dan 13*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Singh, S. Mann R. Sharma, S. 2012. Phytochemical Analysis and Pharmacognostical Standardization of Stem of *Cayratia trifolia* (Linn.) Domin. *Jurnal IJPSR* , Volume. 3, Issue 11 ISSN: 0975-8232.
- Sudibyo, R.S. 2002. Metabolit Sekunder: Manfaat dan Perkembangan dalam Dunia Farmasi. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Farmasi*. Universitas Gadjah Mada.

- Sulandi, A . 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Sulistiyani, N. dan Kumalasari, E. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordofolia* (Tenore) Steen.) Terhadap *Candida albicans* Serta Skrining Fitokimia. Yogyakarta. *Jurnal Kefarmasian*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Volume 1 Nomor 2 Hal: 51-62.
- Suroso, H.C. 2011. Uji Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif pada Tanaman Anting-anting (*Achalypha Indica L.*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Suryohudoyo, P. 1993. *Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Syamsul, E. S., Nugroho, A. E., Pramono, S. 2011. Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burn.F.) Ness.) dan Metformin pada Tikus DM Tipe 2 Resisten Insulin. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 124 – 131.
- Tahir, I., Wijaya, K., dan Widianingsih, D. 2003. *Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon/Flavonol*. Artikel Seminar Chemometrics- Chemistry. Yogyakarta: Dept Gadjah Mada University.
- Tensiska, Marsetio, Silvia, O.N.Y. 2007. *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Isoflavon Dari Ampas Tahu*. Hasil Penelitian Dosen Jurusan Teknologi Industri Pangan. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Titis, M.; Fachriyah, E. dan Kusriani, D. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji aktivitas senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordofolia* (Tenore) Steenis). *Jurnal Chem Info*. Volume 1, No 1, Hal 196-201.
- Tran, A.V. 2013. Do BHA and BHT Induce Morphological Changes and DNA Double-Strand Breaks in *Shizosaccharomyces Pombe*?. *Scripps Senoir Theses*. Claremont. Science Departement.
- Ukieyanna, E. 2012. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor : Departemen Biokimia Fakultas MIPA IPB.

- Vogel. 1978. *Text Book Of Practical Organic Chemistry, 4th Edition*. London: Longman Group Limited.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandhi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- Widyaningsih, W. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura procumbens*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Kosmetika Alami* ISBN : 978-979-18458-2-3.
- Winarno. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winata, H. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Kimiawi Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff.). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB.
- Yu, L., Sun J, Liu S., Bi J., Zhang C. dan Yang Q. 2012. Ultrasonic-Assisted Enzymolysis to Improve the Antioxidant Activities of Peanut (*Arachin conarachin* L.) Antioxidant Hydrolysate. *International Journal of Molecular Sciences* ISSN 1422-0067, Hal. 9051-9068.
- Yuliani, D. 2011. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*, L.). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Yuswantina, R. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Rhizoma Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.). *Skripsi tidak diterbitkan*. Surakarta- Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Zhu, Q.Y., Hackman, R.M., Ensunsa, J.L., Holt, R.R. dan Keen, C.L. 2002. Antioxidative Activities of Oolong Tea. *Jurnal Agric. Food Chem.*, 50: 6929-6934.

Lampiran 1. Diagram Penelitian

Rancangan Penelitian



A. Preparasi Sampel

Rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* T.)

- dicuci dibawah air keran yang mengalir
- dikeringkan dengan oven 40°C selama 24 jam
- diblender
- diayak ukuran 60 mesh

Hasil

B. Analisis Kadar Air

Rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* T.)

- dipanaskan cawan dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama 15 menit, disimpan dalam desikator 10 menit, ditimbang, dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan
- dimasukkan sampel pada cawan
- ditimbang sekitar 5 gr (diratakan serbuk sampel dengan lapisan setebal 5 – 10 mm)
- dikeringkan di dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam
- didinginkan dalam desikator selama ± 10 menit
- ditimbang
- dipanaskan kembali dalam oven ± 20 menit
- didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang kembali, diulangi perlakuan ini sampai tercapai berat konstan
- dihitung kadar airnya menggunakan rumus

$$\text{Kadar air} = \frac{(b - c)}{(b - a)} \times 100 \%$$

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan
c = berat konstan cawan+sampel setelah dikeringkan

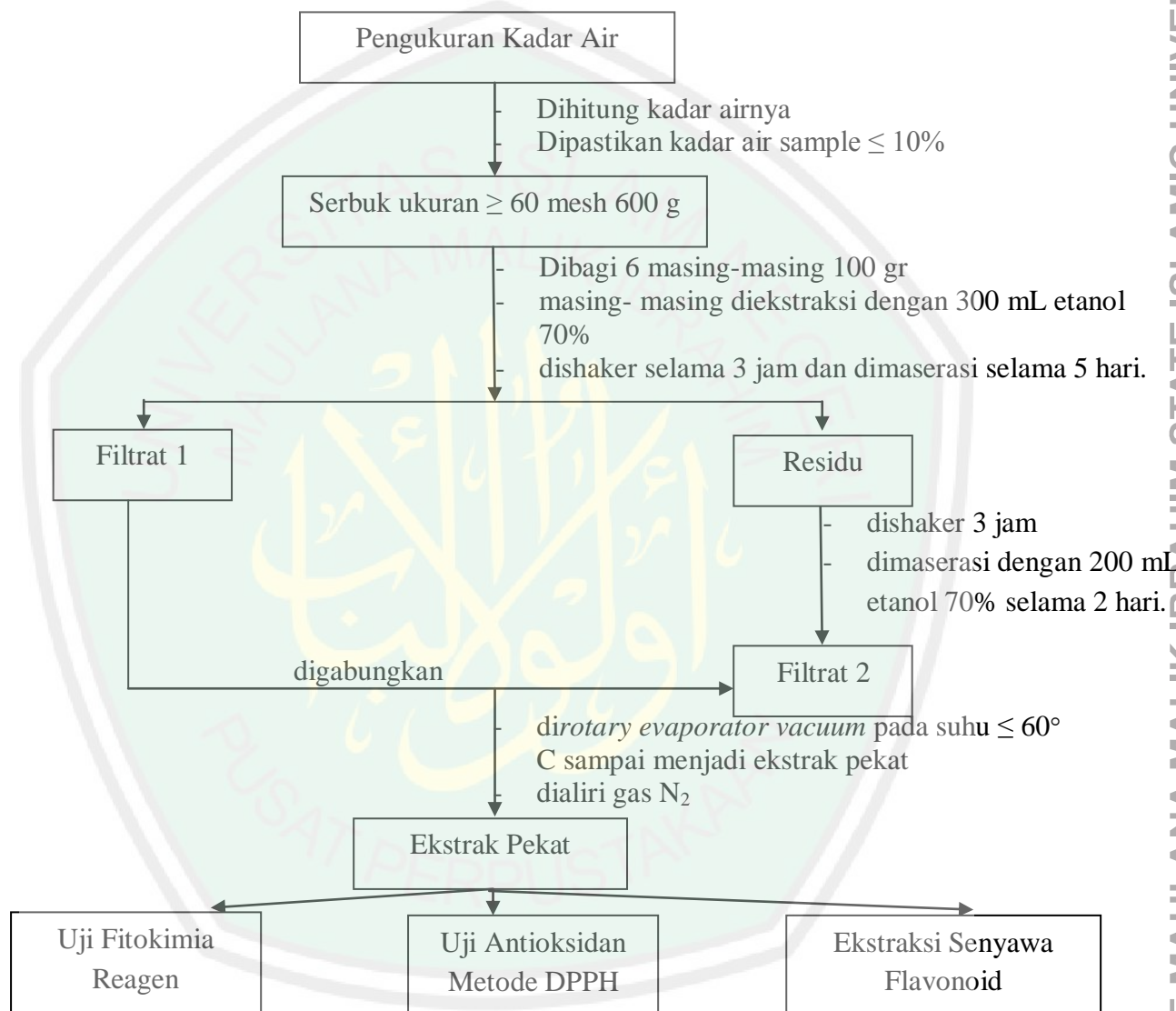
$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}}$$

% Kadar air terkoreksi = kadar air – faktor koreksi

dilakukan 3 kali pengulangan

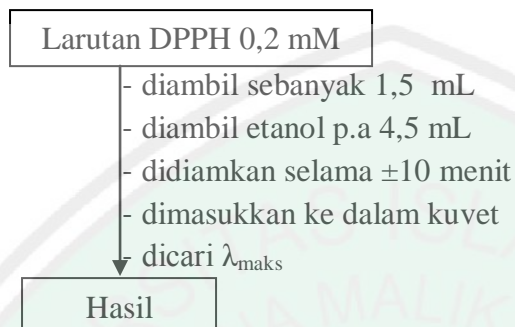
Hasil

**C. Pembuatan Ekstrak Rhizoma Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.)
Metode Maserasi**

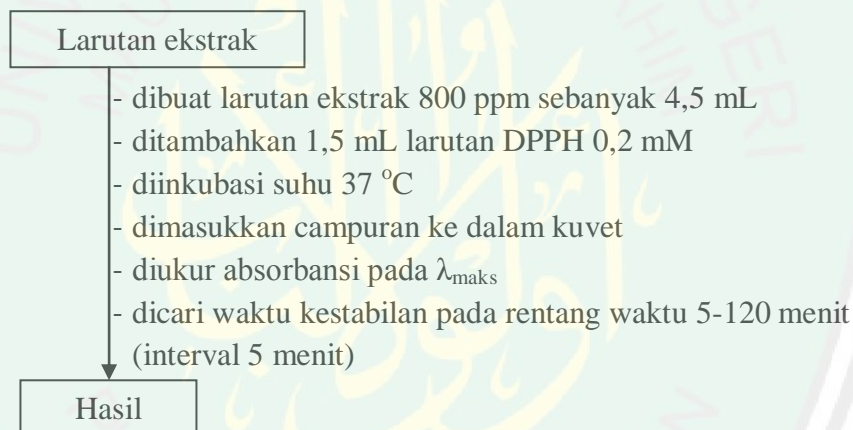


D. Uji Efektivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong dengan Metode DPPH

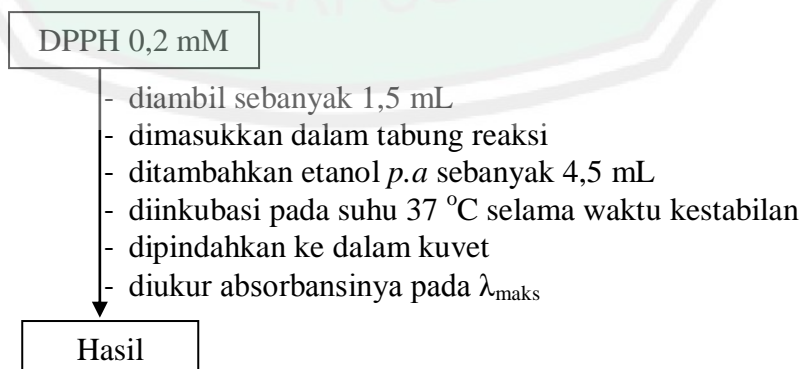
- Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



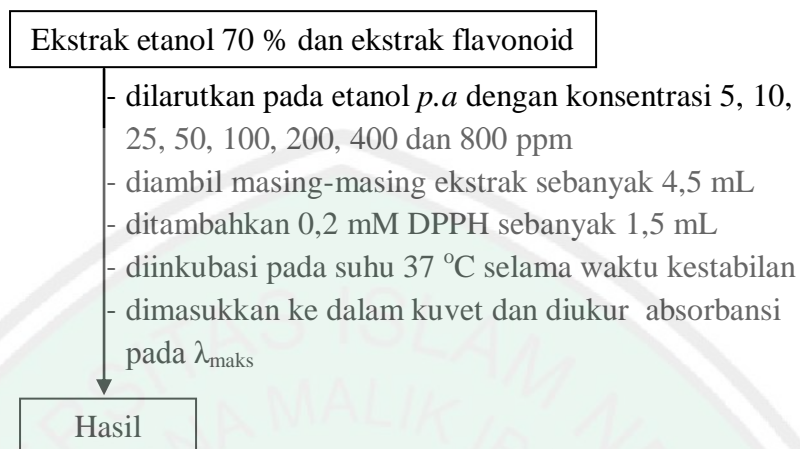
- Penentuan Waktu Kestabilan Pengukuran Antioksidan



- Pengukuran Efektivitas Antioksidan pada Sampel
 - a. Absorbansi Kontrol



b. Absorbansi Sampel

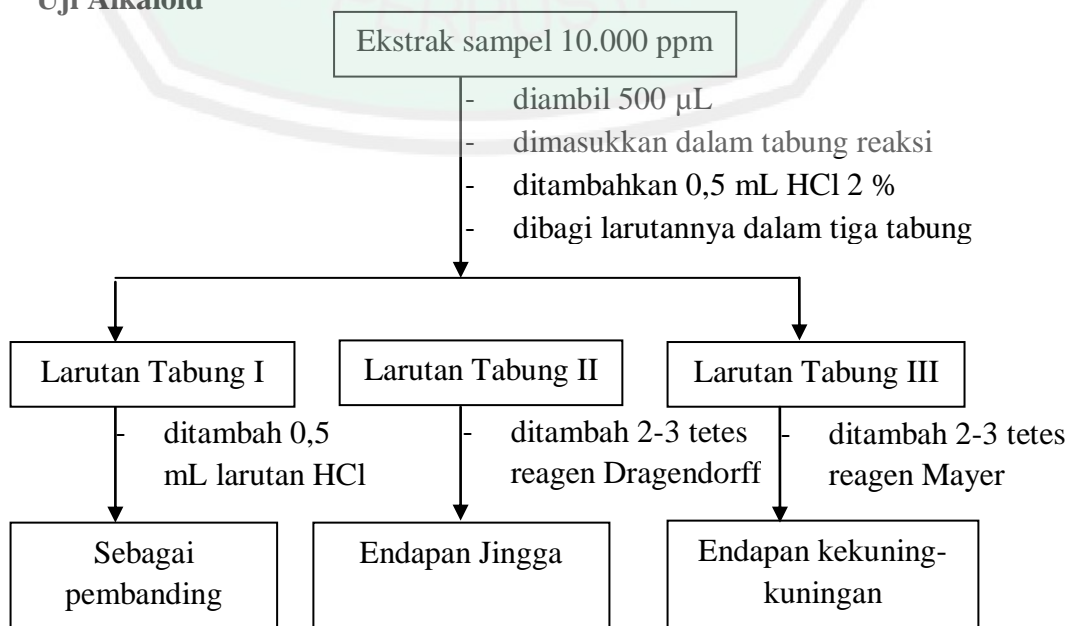


*Pembanding BHT dan asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel tetapi sampel diganti dengan larutan BHT dan asam askorbat (vitamin C)

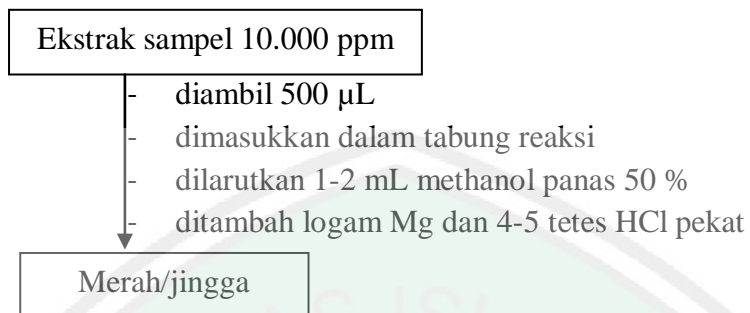
E. Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 70% dari tanaman anting-anting dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Indrayani dkk, 2006).

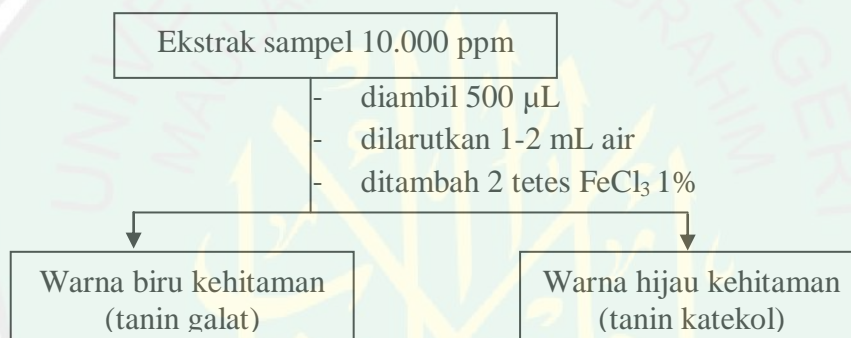
- Uji Alkaloid



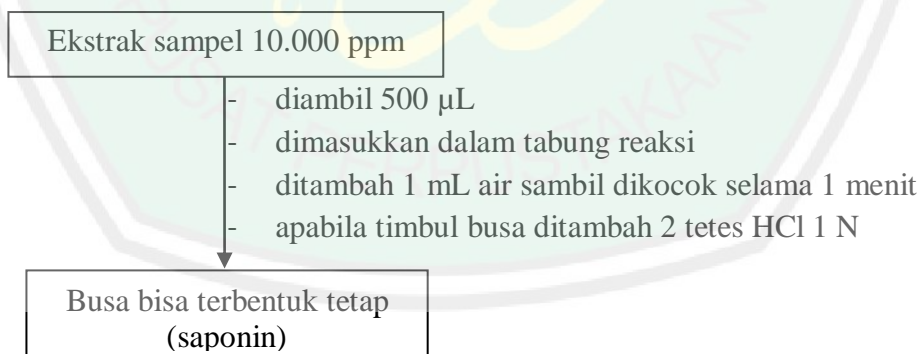
- **Uji Flavonoid**



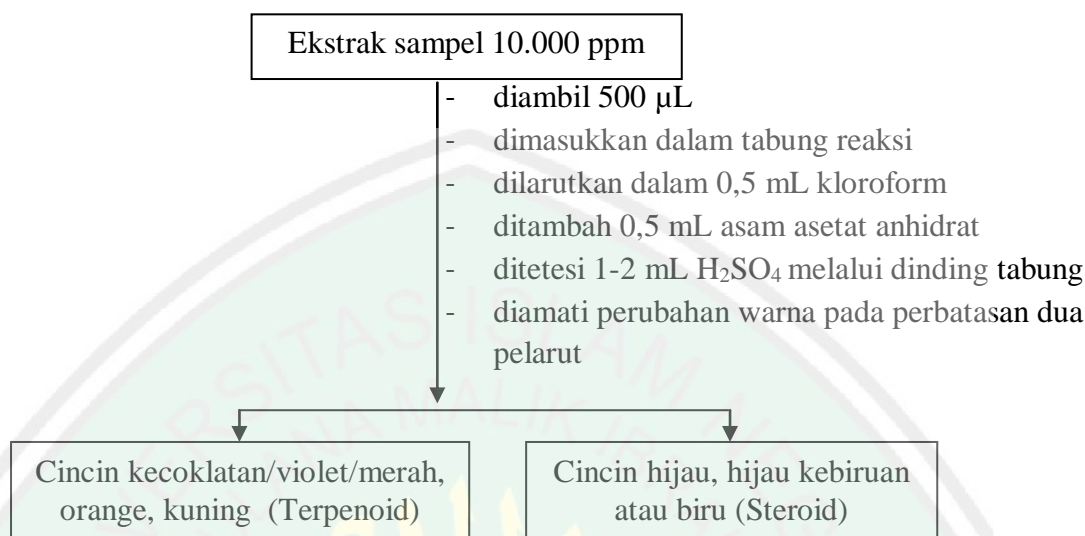
- **Uji Tanin**



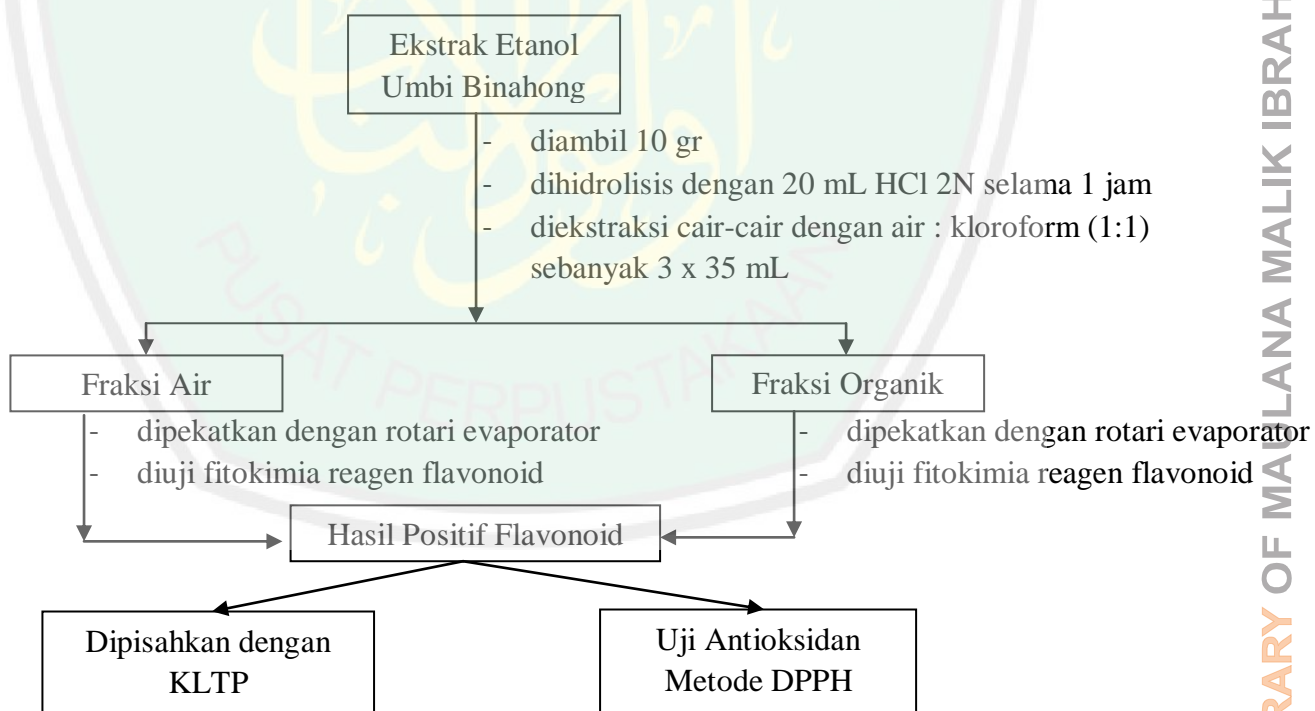
- **Uji Saponin**



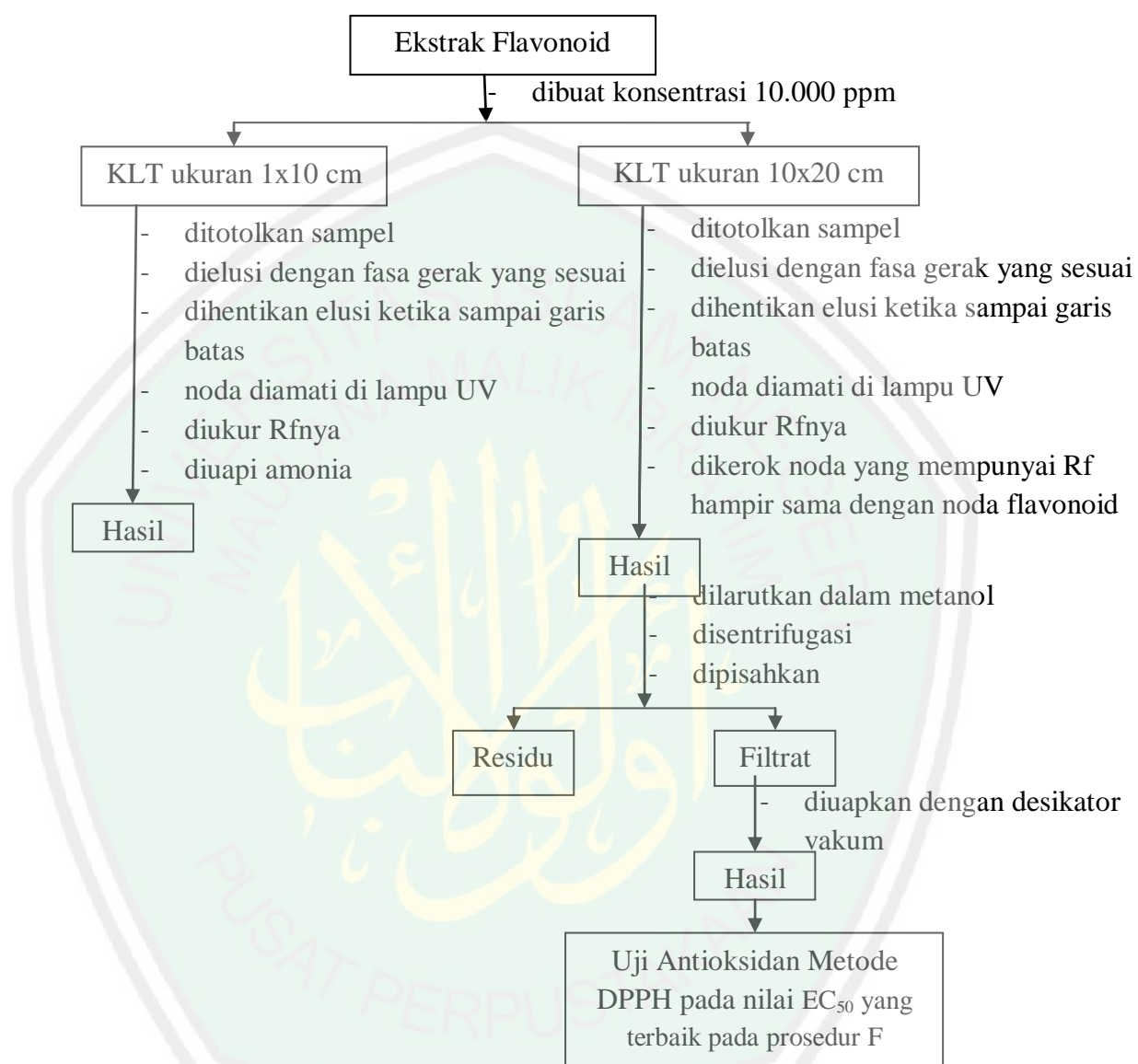
- Uji Terpenoid dan Steroid



F. Ekstraksi Senyawa Flavonoid



G. Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLTP



Lampiran 2. Perhitungan Kadar Air

1. Data Pengukuran Kadar Air Sampel Kering Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Ulangan cawan	Berat Cawan Kosong (gr)						Rata-rata
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
B1	56,774	54,674	54,675	54,675	54,673	54,673	54,673
B2	53,910	53,830	53,829	53,828	53,826	53,826	53,826
B3	57,001	56,434	56,434	56,433	56,431	56,431	56,431

Ulangan sampel	Berat Cawan+Sampel (gr)						Rata-rata berat konstan
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
B1	59,672	59,378	59,359	59,352	59,352	59,352	59,352
B2	58,831	58,529	58,514	58,509	58,501	58,500	58,503
B3	61,432	61,141	61,121	61,114	61,111	61,110	61,112

Keterangan: - P= Perlakuan

- Tanda merah menunjukkan angka yang sudah konstan (2 angka dibelakang koma sama)

1.1 Perhitungan kadar air sampel kering

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan:

a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan konstan+ sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}}$$

% kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

a. Ulangan ke 1 (B1)

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

$$= \frac{(59,672-59,352)}{(59,672-54,673)} \times 100\%$$

$$= \frac{(0,320)}{(4,999)} \times 100\%$$

$$= 6,40 \%$$

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{100}{100\% - 6,40\%} \\
 &= \frac{100}{93,6\%} \\
 &= 1,07\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 6,40\% - 1,07\% \\
 &= 5,33\%
 \end{aligned}$$

b. Ulangan ke 2 (B2)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(58,831 - 58,503)}{(58,503 - 53,826)} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,328)}{(5,005)} \times 100\% \\
 &= 6,55\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 6,55\%} \\
 &= \frac{100}{93,45\%} \\
 &= 1,07\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 6,55\% - 1,07\% \\
 &= 5,48\%
 \end{aligned}$$

c. Ulangan ke 3 (B3)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(61,432 - 61,112)}{(61,432 - 56,431)} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,320)}{(5,001)} \times 100\% \\
 &= 6,40\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi} &= \frac{100}{100\% - \% \text{ kadar air}} \\
 &= \frac{100}{100\% - 6,40\%} \\
 &= \frac{100}{93,6\%} \\
 &= 1,07\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Kadar air terkoreksi} &= \text{Kadar air} - \text{faktor koreksi} \\
 &= 6,40\% - 1,07\% \\
 &= 5,33\%
 \end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata kadar air dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata kadar air} &= \frac{6,40 \% + 6,55 \% + 6,40 \%}{3} \\ &= 6,45\%\end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata faktor koreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata faktor koreksi} &= \frac{1,07 \% + 1,07 \% + 1,07 \%}{3} \\ &= 1,07\%\end{aligned}$$

➤ Hasil rata-rata kadar air terkoreksi dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah:

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata kadar air terkoreksi} &= \frac{5,33 \% + 5,48 \% + 5,33 \%}{3} \\ &= 5,38\%\end{aligned}$$

Kadar air yang terkandung pada sampel kering umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada setiap pengulangannya adalah:

Sampel	Kadar air yang terkandung dalam sampel			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
Umbi Binahong	5,33 %	5,48 %	5,33 %	5,38 %

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

L.3.1 Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 51,711 \text{ g}$$

$$\text{Berat sampel} = 600 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{51,711 \text{ g}}{600 \text{ g}} \times 100 \% = 8,62 \% \end{aligned}$$

L.3.2 Ekstrak Flavonoid Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Fraksi Kloroform

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 4,274 \text{ g}$$

$$\text{Berat sampel} = 10 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{4,274 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100 \% = 42,58 \% \end{aligned}$$

L.3.3 Ekstrak Flavonoid Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Fraksi Air

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 1,839 \text{ g}$$

$$\text{Berat sampel} = 10 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,839 \text{ g}}{10 \text{ g}} \times 100 \% = 18,390 \% \end{aligned}$$

Lampiran 4. Pengujian Antioksidan

L.4.1 Penentuan Waktu Kestabilan

Waktu (menit)	BHT (nm)	Vitamin C (nm)	E.Etanol 70 % (nm)	E. Kasar Flavonoid (nm)
5	0,194	0,204	0,263	0,432
10	0,194	0,204	0,263	0,432
15	0,194	0,204	0,256	0,432
20	0,194	0,201	0,268	0,432
25	0,194	0,201	0,268	0,444
30	0,194	0,201	0,268	0,444
35	0,194	0,201	0,268	0,444
40	0,194	0,201	0,268	0,444
45	0,194	0,201	0,268	0,444
50	0,194	0,201	0,268	0,444
55	0,194	0,201	0,268	0,444
60	0,194	0,201	0,268	0,444
65	0,194	0,201	0,268	0,444
70	0,194	0,201	0,268	0,444
75	0,194	0,201	0,268	0,444
80	0,194	0,201	0,271	0,444
85	0,194	0,201	0,271	0,444
90	0,194	0,201	0,268	0,444
95	0,194	0,201	0,271	0,444
100	0,194	0,201	0,271	0,444
105	0,194	0,201	0,271	0,444
110	0,194	0,201	0,271	0,444
115	0,194	0,201	0,271	0,444
120	0,194	0,201	0,271	0,444

L.4.2 Hasil Uji Efektivitas Antioksidan

1. Vitamin C

Sampel (ppm)	A Kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A Rata-rata	% Antioksidan
5	0,5705	0,2530	0,2518	0,2514	0,2520	55,8282
10	0,6202	0,0587	0,0585	0,0586	0,0586	90,5514
25	0,6182	0,0221	0,0223	0,0223	0,0223	96,3927
50	0,6164	0,0205	0,0205	0,0205	0,0205	96,6742
100	0,6176	0,0216	0,0215	0,0216	0,0216	96,5026
200	0,6117	0,0217	0,0216	0,0215	0,0216	96,4689
400	0,6127	0,0238	0,0236	0,0237	0,0237	96,1319
800	0,6114	0,0291	0,0288	0,0286	0,0288	95,2895

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate
2 parameters different for each data set
2 parameters same for all data sets

Models have the same DF
2 parameters different for each data set

2 parameters different for each data set

Best-fit values

Bottom

= 0.0

Top

= 100.0

LogEC50

0.6613

HillSlope

2.784

EC50

4.585

Span

= 100.0

Std. Error

LogEC50

0.02698

HillSlope

0.5965

95% Confidence Intervals

LogEC50

0.5953 to 0.7273

HillSlope

1.324 to 4.244

EC50

3.938 to 5.337

Goodness of Fit

Degrees of Freedom

6

R square

0.9429

Absolute Sum of Squares

80.00

Sy.x

3.651

Normality of Residuals

D'Agostino & Pearson omnibus K2

2.319

P value

0.3137

Runs test

Points above curve

1

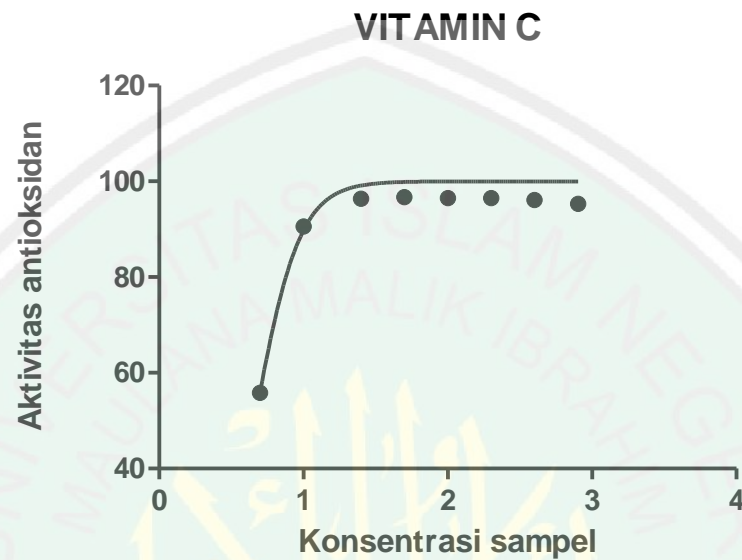
Points below curve

7

Number of runs	3	
P value (runs test)	1.0000	
Deviation from Model	Not Significant	
Covariance Matrix		
LogEC50 & HillSlope	0.5969	
Dependency		
LogEC50	0.3563	
HillSlope	0.3563	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
2 parameters same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	0.6613	0.6613
HillSlope	2.784	2.784
EC50	4.585	4.585
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.02698	0.02698
HillSlope	0.5965	0.5965
95% Confidence Intervals		
LogEC50	0.5953 to 0.7273	0.5953 to 0.7273
HillSlope	1.324 to 4.244	1.324 to 4.244
EC50	3.938 to 5.337	3.938 to 5.337
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		6
R square	0.9429	0.9429
Absolute Sum of Squares	80.00	80.00
Sy.x		3.651
Normality of Residuals		
D'Agostino & Pearson omnibus K2	2.319	
P value	0.3137	
Runs test		
Points above curve	1	1
Points below curve	7	7
Number of runs	3	3
P value (runs test)	1.0000	1.0000
Deviation from Model	Not Significant	Not Significant
Covariance Matrix		
LogEC50 & HillSlope	0.5969	0.5969
Dependency		
LogEC50	0.3563	0.3563
HillSlope	0.3563	0.3563
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		

Analyzed
Outliers (not excluded, Q=1.0%)

8
0



2. BHT

Sampel (ppm)	A Kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A Rata-rata	% Antioksidan
5	0,5793	0,3960	0,3957	0,3962	0,3959	31,6589
10	0,5796	0,3555	0,3582	0,3600	0,3579	38,2505
25	0,5793	0,2149	0,2147	0,2145	0,2147	62,9380
50	0,5793	0,1039	0,1042	0,1042	0,1041	82,0300
100	0,5792	0,1446	0,1446	0,1446	0,1446	75,0345
200	0,5878	0,0823	0,0822	0,0823	0,0823	85,9986
400	0,5875	0,2127	0,2124	0,2127	0,2126	63,8128
800	0,5867	0,0432	0,0430	0,0430	0,0431	92,6538

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion ($\alpha = 0.05$)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate

2 parameters different for each data set

2 parameters same for all data sets

Models have the same DF

2 parameters different for each data set

2 parameters different for each data set

Best-fit values

Bottom

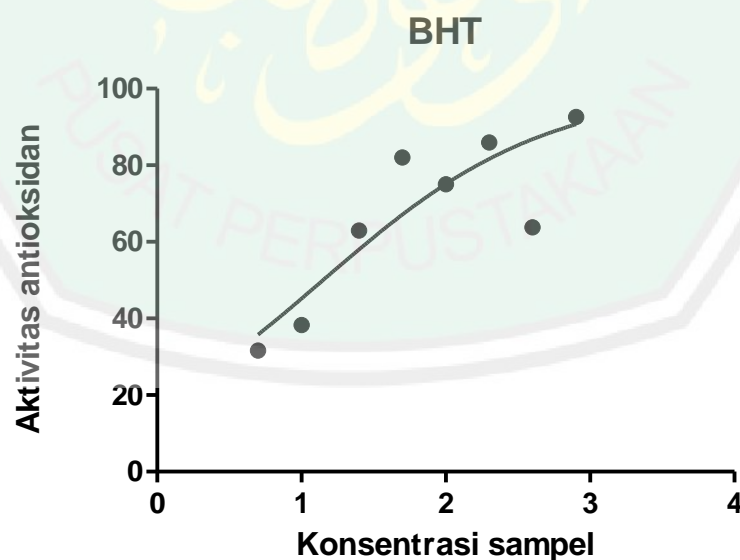
= 0.0

Top	= 100.0
LogEC50	1.149
HillSlope	0.5633
EC50	14.10
Span	= 100.0
Std. Error	
LogEC50	0.1921
HillSlope	0.1611
95% Confidence Intervals	
LogEC50	0.6792 to 1.619
HillSlope	0.1690 to 0.9576
EC50	4.777 to 41.60
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	6
R square	0.7467
Absolute Sum of Squares	863.9
Sy.x	12.00
Normality of Residuals	
D'Agostino & Pearson omnibus K2	3.268
P value	0.1952
Runs test	
Points above curve	4
Points below curve	4
Number of runs	6
P value (runs test)	0.8857
Deviation from Model	Not Significant
Covariance Matrix	
LogEC50 & HillSlope	0.4757
Dependency	
LogEC50	0.2263
HillSlope	0.2263
Constraints	
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0

2 parameters same for all data sets

Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	1.149	1.149
HillSlope	0.5633	0.5633
EC50	14.10	14.10
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.1921	0.1921
HillSlope	0.1611	0.1611
95% Confidence Intervals		
LogEC50	0.6792 to 1.619	0.6792 to 1.619
HillSlope	0.1690 to 0.9576	0.1690 to 0.9576
EC50	4.777 to 41.60	4.777 to 41.60
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		6

R square	0.7467	0.7467
Absolute Sum of Squares	863.9	863.9
Sy.x		12.00
Normality of Residuals		
D'Agostino & Pearson omnibus K2	3.268	
P value	0.1952	
Runs test		
Points above curve	4	4
Points below curve	4	4
Number of runs	6	6
P value (runs test)	0.8857	0.8857
Deviation from Model	Not Significant	Not Significant
Covariance Matrix		
LogEC50 & HillSlope	0.4757	0.4757
Dependency		
LogEC50	0.2263	0.2263
HillSlope	0.2263	0.2263
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
Analyzed	8	
Outliers (not excluded, Q=1.0%)	0	



3. Ekstrak etanol 70 %

Sampel (ppm)	A Kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A Rata-rata	% Antioksidan
5	0,6058	0,5715	0,5714	0,5709	0,5713	5.6949
10	0,6053	0,5831	0,5825	0,5827	0,5828	3.7172
25	0,6054	0,5825	0,5849	0,5844	0,5848	3.4027
50	0,6063	0,5550	0,5546	0,5551	0,5549	8.4776
100	0,6061	0,5332	0,5334	0,5345	0,5337	11.9452
200	0,5787	0,4831	0,4812	0,4812	0,4818	16.7444
400	0,5769	0,3839	0,3829	0,3841	0,3836	33.5067
800	0,5768	0,2904	0,2895	0,2892	0,2897	49.7746

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion ($\alpha = 0.05$)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate

2 parameters different for each data set

2 parameters same for all data sets

Models have the same DF

2 parameters different for each data set

2 parameters different for each data set

Best-fit values

Bottom

= 0.0

Top

= 100.0

LogEC50

2.474

HillSlope

2.086

EC50

298.1

Span

= 100.0

Std. Error

LogEC50

0.04382

HillSlope

0.3991

95% Confidence Intervals

LogEC50

2.367 to 2.582

HillSlope

1.109 to 3.062

EC50

232.9 to 381.6

Goodness of Fit

Degrees of Freedom

6

R square

0.9641

Absolute Sum of Squares

303.6

Sy.x

7.113

Normality of Residuals

D'Agostino & Pearson omnibus K2

1.738

P value

0.4193

Runs test

Points above curve

5

Points below curve

3

Number of runs

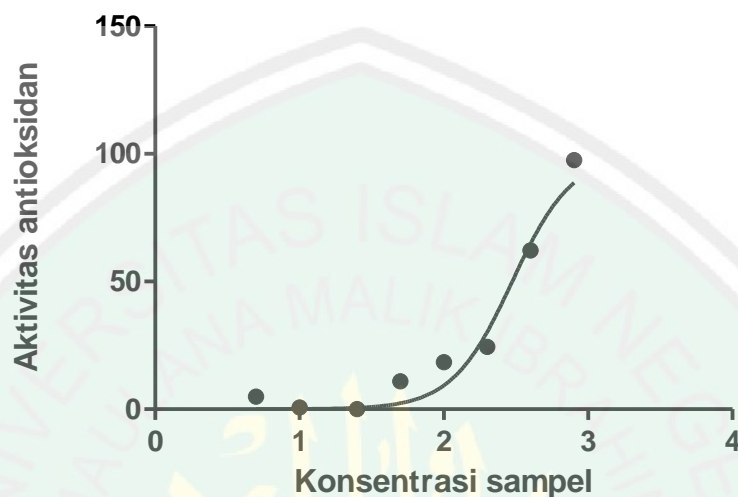
5

P value (runs test)

0.7143

Deviation from Model	Not Significant	
Covariance Matrix		
LogEC50 & HillSlope	-0.02306	
Dependency		
LogEC50	0.0005320	
HillSlope	0.0005320	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
2 parameters same for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	2.474	2.474
HillSlope	2.086	2.086
EC50	298.1	298.1
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.04382	0.04382
HillSlope	0.3991	0.3991
95% Confidence Intervals		
LogEC50	2.367 to 2.582	2.367 to 2.582
HillSlope	1.109 to 3.062	1.109 to 3.062
EC50	232.9 to 381.6	232.9 to 381.6
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		6
R square	0.9641	0.9641
Absolute Sum of Squares	303.6	303.6
Sy.x		7.113
Normality of Residuals		
D'Agostino & Pearson omnibus K2	1.738	
P value	0.4193	
Runs test		
Points above curve	5	5
Points below curve	3	3
Number of runs	5	5
P value (runs test)	0.7143	0.7143
Deviation from Model	Not Significant	Not Significant
Covariance Matrix		
LogEC50 & HillSlope	-0.02306	-0.02306
Dependency		
LogEC50	0.0005320	0.0005320
HillSlope	0.0005320	0.0005320
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
Analyzed	8	
Outliers (not excluded, Q=1.0%)	0	

Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong



4. Ekstrak flavonoid

Sampel (ppm)	A Kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A Rata-rata	% Antioksidan
5	0,5691	0,5625	0,5630	0,5627	0,5627	1,1246
10	0,5698	0,5528	0,5521	0,5525	0,5525	3,0361
25	0,5698	0,5479	0,5475	0,5485	0,5479	3,8434
50	0,5695	0,4948	0,4954	0,4952	0,4951	13,0641
100	0,5691	0,4215	0,4216	0,4257	0,4230	25,6721
200	0,5693	0,3334	0,3320	0,3303	0,3319	41,7003
400	0,5693	0,1929	0,1923	0,1931	0,1928	66,1338
800	0,5692	0,0945	0,0949	0,0943	0,0946	83,3802

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Can't calculate
2 parameters different for each data set
2 parameters same for all data sets

Models have the same DF
2 parameters different for each data set

2 parameters different for each data set

Best-fit values

Bottom

= 0.0

Top

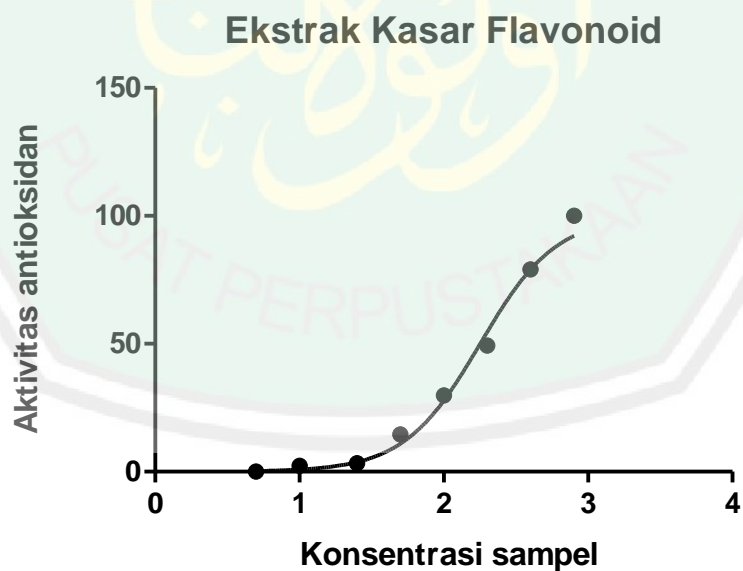
= 100.0

LogEC50

2.252

HillSlope	1.648
EC50	178.6
Span	= 100.0
Std. Error	
LogEC50	0.02944
HillSlope	0.1671
95% Confidence Intervals	
LogEC50	2.180 to 2.324
HillSlope	1.239 to 2.057
EC50	151.3 to 210.9
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	6
R square	0.9893
Absolute Sum of Squares	108.6
Sy.x	4.255
Normality of Residuals	
D'Agostino & Pearson omnibus K2	1.249
P value	0.5355
Runs test	
Points above curve	4
Points below curve	4
Number of runs	6
P value (runs test)	0.8857
Deviation from Model	Not Significant
Covariance Matrix	
LogEC50 & HillSlope	-0.01482
Dependency	
LogEC50	0.0002195
HillSlope	0.0002195
Constraints	
Bottom	Bottom = 0.0
Top	Top = 100.0
2 parameters same for all data sets	
Best-fit values	
Bottom	= 0.0
Top	= 100.0
LogEC50	2.252
HillSlope	1.648
EC50	178.6
Span	= 100.0
Std. Error	
LogEC50	0.02944
HillSlope	0.1671
95% Confidence Intervals	
LogEC50	2.180 to 2.324
HillSlope	1.239 to 2.057
EC50	151.3 to 210.9
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	6
R square	0.9893
Absolute Sum of Squares	108.6

Sy.x		4.255
Normality of Residuals		
D'Agostino & Pearson omnibus K2	1.249	
P value	0.5355	
Runs test		
Points above curve	4	4
Points below curve	4	4
Number of runs	6	6
P value (runs test)	0.8857	0.8857
Deviation from Model	Not Significant	Not Significant
Covariance Matrix		
LogEC50 & HillSlope	-0.01482	-0.01482
Dependency		
LogEC50	0.0002195	0.0002195
HillSlope	0.0002195	0.0002195
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
Analyzed	8	
Outliers (not excluded, Q=1.0%)	0	



5. Isolat Hasil KLT Preparatif

Isolat	A Kontrol	A Pertama	A Kedua	A Ketiga	A Rata-rata	% Antioksidan
1	0,6743	0,6514	0,6500	0,6513	0,6509	3,470
2	0,6730	0,6288	0,6284	0,6407	0,6279	6,627
3	0,6746	0,6239	0,6242	0,6306	0,6263	7,160
4	0,6732	0,6318	0,6328	0,6326	0,6324	6,061



Lampiran 5. Pembuatan Reagen dan Larutan

A. Pembuatan Larutan DPPH 0,2 M

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol (98 %)

Mr DPPH = 394,33 g/mol

$$\begin{aligned}\text{Mol DPPH} &= 50 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 50 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}} \\ &= 0,01 \text{ mmol}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Mg DPPH} &= 0,01 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 0,01 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 3,9433 \text{ mg}\end{aligned}$$

B. Pembuatan Larutan HCl 2 N dalam 50 mL

Densitas : 1,19 gr/mL

Konsentrasi : 37 %

Volume : 50 mL

Mr HCl : 36,5 gr/mol

2 N ~ 2 M

Molaritas HCl = n × Molaritas HCl

$$= \frac{1 \times 37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

Volume HCl 12, 09 N yang diambil untuk membuat larutan HCl 2 N :

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1} = \frac{50 \text{ mL} \times 2 \text{ N}}{12,09 \text{ N}} = 8,27 \text{ mL}$$

Jadi untuk membuat larutan HCl 2N sebanyak 50 mL dibutuhkan HCl 37 % sebanyak 8,27 mL yang dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 50 mL.

C. Pembuatan Larutan Etanol 70 %

Perhitungan pembuatan larutan etanol 70 % dibuat dari etanol absolut, etanol absolut yang diperlukan adalah:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 99 \% = 1000 \text{ mL} \times 70 \%$$

$$V_1 = 707 \text{ mL}$$

D. Pembuatan FeCl_3 1%

$$\text{BM FeCl}_3 = 162,2 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa FeCl}_3 &= \frac{1 \% \times \text{BM FeCl}_3 \times V}{22,4} \\ &= \frac{1 \% \times 162,2 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 0,01 \text{ L}}{22,4} \\ &= 0,072 \text{ g} = 72 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat larutan FeCl_3 1% diambil sebanyak 72 mg serbuk FeCl_3 , dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 10 mL.

E. Pembuatan Larutan HCl 2%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$37\% \times V_1 = 2\% \times 10$$

$$V_1 = 0,54 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan HCl 2 % dibutuhkan 0,54 mL HCl 37 % yang dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 10 mL.

F. Pembuatan reagen Lieberman-Burchard

Sebanyak 5mL asam asetat anhidrat dan 5 mL asam sulfat konsentrat ditambahkan secara hati-hati melalui dindingnya ke dalam 50 mL etanol absolut dalam keadaan dingin (Wagner, 2001).

G. Pembuatan Reagen Dragendorff

1. Sebanyak 0,6 gr bismut subnitrat ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dilarutkan dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O
2. Sebanyak 6 gr KI dilarutkan dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatannya adalah kedua larutan dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H₂O (Harbone, 1987). Pereaksi Dragendorff ini harus disimpan dalam botol yang berwarna gelap.

H. Pembuatan Reagen Mayer

1. HgCl₂ (1,358 g) dilarutkan dalam 60 mL Aquades.
2. KI (5 g) dilarutkan dalam 10 mL Aquades

Cara membuatnya adalah tuangkan larutan 1 ke dalam larutan 2 selanjutnya diencerkan dengan aquades sampai volume larutan menjadi 100 mL (Manan dan Mubasyir, 2006).

I. Pembuatan Larutan HCl 1N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37 \%$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah atom H)}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{37 \% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}}$$

$$= \frac{37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ M} \approx 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} \approx 8,3 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat larutan HCl 1 N diambil sebanyak 8,3 mL larutan HCl pekat 37 % kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 mL.

J. Pembuatan Metanol 50 %

Perhitungan yang digunakan sebagai berikut:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,8\% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat metanol 50 % diambil sebanyak 5 mL metanol 99,8 % dan dilarutkan dengan aquades dalam labu ukur 10 mL.

K. Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

❖ Pembuatan antioksidan pembanding 800 ppm

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$800 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{0,05 \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 800 \text{ ppm} \times 0,05 \text{ L} = 40 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan sampel 800 ppm diperlukan 40 mg sampel yang dilarutkan dengan etanol 70 % dalam labu ukur 50 mL.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 400 ppm

$$V_2 = \frac{V_1 \times M_1}{M_2}$$

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 400 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 12,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 400 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 12,5 mL yang dilarutkan dengan etanol 70 % dalam labu ukur 25 mL.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 200 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 200 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 6,25 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 200 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 6,25 mL yang dilarutkan dengan etanol 70 % dalam labu ukur 25 mL.

❖ Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 3,125 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 100 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 3,12 mL yang dilarutkan dengan etanol 70 % dalam labu ukur 25 mL.

❖ **Pembuatan Larutan Sampel 50 ppm**

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 1,5625 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 50 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 1,56 mL yang dilarutkan dengan etanol 70 % dalam labu ukur 25 mL.

❖ **Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm**

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 0,78125 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 25 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 0,78 mL yang dilarutkan dengan etanol 70 % dalam labu ukur 25 mL.

❖ **Pembuatan Larutan Sampel 5 ppm**

$$V_2 = \frac{25 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}}{800 \text{ ppm}} = 0,15625 \text{ mL}$$

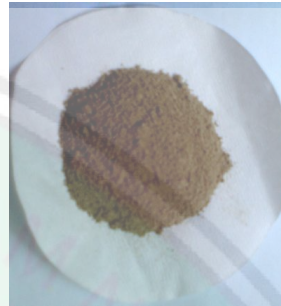
Jadi, untuk membuat 25 mL larutan sampel 5 ppm diperlukan larutan stok 800 ppm sebanyak 0,15 mL yang dilarutkan dengan etanol 70 % dalam labu ukur 25 mL.

Lampiran 6. Dokumentasi

L. 1 Preparasi Sampel



Gambar 1.1 Umbi Binahong



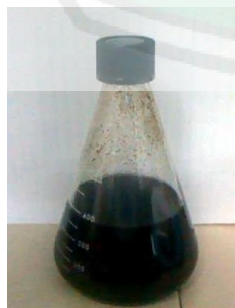
Gambar 1.2 Umbi Binahong yang telah dihaluskan

L. 2 Analisis Kadar Air



Gambar 2.1 Penentuan kadar air sampel kering

L. 3 Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)



Gambar 3.1 Ekstraksi dengan pelarut etanol 70 %



Gambar 3.2 Filtrat Hasil Penyaringan



Gambar 3.3 Ekstrak pekat Etanol 70 %

L.4 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH



Gambar 3.1 Uji efektivitas antioksidan Vitamin C



Gambar 3.2 Uji efektivitas antioksidan BHT



Gambar 3.3 Uji antioksidan ekstrak etanol 70%



Gambar 3.4 Uji antioksidan ekstrak flavonoid



Gambar 3.5 Isolat hasil KLTP



Gambar 3.6 Isolat dilarutkan dengan metanol



Gambar 3.7 Hasil sentrifuge isolat



Gambar 3.8 Uji efektivitas antioksidan

L. 5 Uji Fitokimia**L. 5.1 Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenn.) Steenis)**

Gambar 5.1.1
Blanko



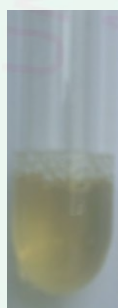
Gambar 5.1.2
Alkaloid
Dragendorff
(+)



Gambar 5.1.3
Alkaloid
Meyer
(+)



Gambar 5.1.4
Flavonoid
(+)



Gambar 5.1.5
Saponin
(+)



Gambar 5.1.6 Tanin
Katekol
(+)



Gambar 5.1.7
Triterpenoid
(+)

L.5.2 Fraksi Air

Gambar 5.2.1
Blanko



Gambar 5.2.2
Alkaloid
Dragendorff
(+)



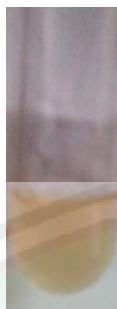
Gambar 5.2.3
Alkaloid
Meyer
(+)



Gambar 5.2.4
Flavonoid
(-)



Gambar 5.2.5
Saponin
(+)



Gambar 5.2.6 Tanin
Katakol
(-)



Gambar 5.2.7
Triterpenoid
(-)

L.5.3 Fraksi Koroform



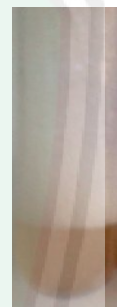
Gambar 5.3.1
Blanko



Gambar 5.3.2
Alkaloid
Dragendorf
(+)



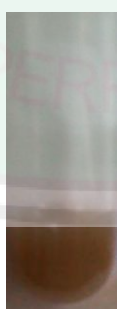
Gambar 5.3.3
Alkaloid
Meyer
(+)



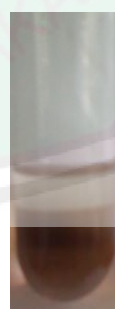
Gambar 5.3.4
Flavonoid
(+)



Gambar 5.3.5
Saponin
(+)



Tanin Katakol
(+)



Triterpenoid
(+)

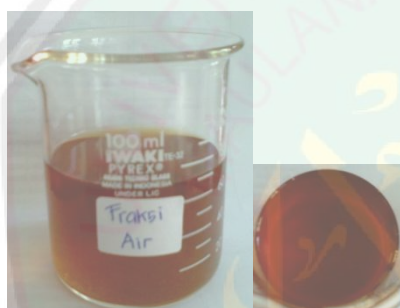
L.6 Ekstraksi Senyawa Flavonoid



Gambar 6.1 Hidrolisis Ekstrak Etanol 70%



Gambar 6.2 Partisi cair-cair (kloroform-air)



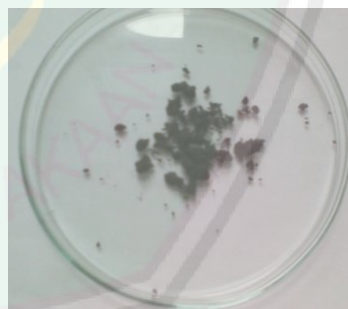
Gambar 6.3 Fraksi air



Gambar 6.4 Fraksi organik

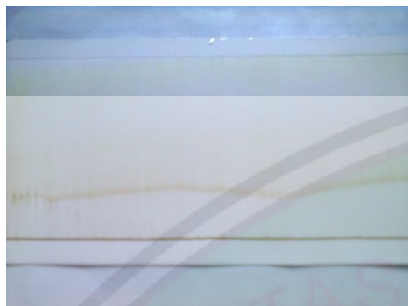


Gambar 6.5 Ekstrak pekat fraksi air

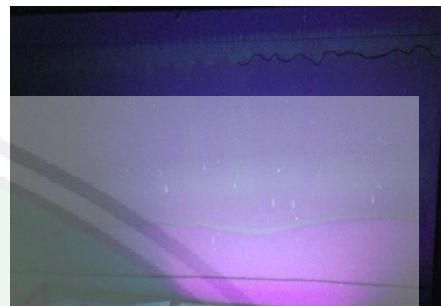


Gambar 6.6 Ekstrak pekat fraksi organik

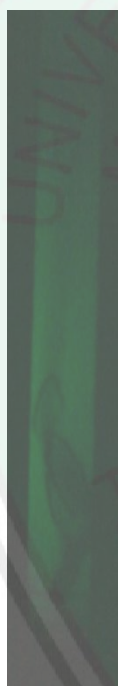
L.7 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif



Gambar 7.1 Plat KLTP hasil elusi



Gambar 7.2 Plat KLTP setelah disinari UV 366 nm



Gambar 7.3
Plat KLT setelah
diuapi NH₃ dan
disinari UV 254 nm



Gambar 7.4
Plat KLT setelah
diuapi NH₃ dan
disinari UV 366 nm