

## KANDUNGAN FLAVONOID DAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG [*Anredera cordifolia*(Ten.)Steenis.]

Widya Selawa, Max Revolta John Runtuwene, Gayatri Citraningtyas  
Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT MANADO, 95115

### ABSTRACT

The objectives of this research were to determine flavonoid content and total antioxidant capacity of Ethanolic extract of Binahong Leaf [*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis]. Total flavonoid were evaluated using Chang (2002) method, identification of flavonoid using thin layer chromatography and color reaction. Evaluation of antioxidant activity using ferric reducing antioxidant power (FRAP) method. The results shows that ethanolic extract of Binahong leaf possess total flavonoids 11,266 mg/kg (fresh) and 7,687 mg/kg (dry). Flavonoids contain in both extracts were flavonols group. Ethanolic extract of Binahong possess total antioxidant 4,25 mmol/100g (fresh) and 3,68 mmol/100g (dry).

Keywords: total flavonoids, total antioxidant, ferric reducing antioxidant power, *Anredera cordifolia* Steenis.

### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun Binahong [*Anredera cordifolia*(Ten.) Steenis]. Kandungan flavonoid total diuji menggunakan metode Chang, (2002), identifikasi flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan reaksi warna. Pengujian antioksidan total menggunakan metode *ferric reducing antioxidant power* (FRAP). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun Binahong mengandung flavonoid total sebesar 11,263 mg/kg (segar) dan 7,81 mg/kg (kering). Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kering dan segar termasuk golongan flavonol. Ekstrak etanol daun Binahong memiliki antioksidan total sebesar 4,25 mmol/100g (segar) dan 3,68 mmol/100g (kering).

Kata kunci: flavonoid total, antioksidan total, ferric reducing antioxidant power, *Anredera Cordifolia*(Ten.) Steenis.

## PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh dan merusak sistem imunitas tubuh. Radikal bebas tersebut dapat timbul akibat berbagai proses kimia yang kompleks dalam tubuh, polutan lingkungan, radiasi zat-zat kimia, racun, makanan cepat saji, dan makanan yang digoreng pada suhu tinggi. Jika jumlahnya berlebih, radikal bebas akan memicu efek patologis.

Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang apa saja terutama yang rentan seperti lipid, protein dan berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif. Oleh karena itu pembentukan radikal bebas harus dihalangi atau dihambat dengan antioksidan.

Senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan efek radikal disebut antioksidan. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Selain itu, antioksidan juga berguna untuk mengatur agar tidak terjadi proses oksidasi berkelanjutan di dalam tubuh.

Keanekaragaman hayati Indonesia sangat berpotensi dalam penemuan senyawa baru sebagai antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa beberapa tumbuhan terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia dari bahaya radikal bebas, karena adanya antioksidan yang terdapat dalam tumbuhan tersebut. Secara alami, tumbuhan yang mengandung antioksidan tersebar pada berbagai bagian tumbuhan seperti akar, batang, kulit, ranting, daun, buah, bunga dan biji (Hutapea, 2005).

Tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat memiliki zat-zat penting yang sangat berperan dalam menentukan aktivitas kerja tumbuhan obat tersebut, salah satunya yaitu flavonoid yang umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai

antioksidan. Salah satu tumbuhan yang menarik untuk diteliti sebagai komponen aktif antioksidan adalah binahong. Secara empiris beragam khasiat binahong telah diakui, untuk mengatasi beberapa penyakit seperti luka bakar, kanker, dan jantung.

Metode FRAP adalah satu-satunya metode yang secara langsung mengukur antioksidan dalam bahan. Vargia (2002) mengemukakan bahwa metode FRAP adalah metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh – tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya yang murah, cepat, dan reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung total antioksidan.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan yaitu pisau, tabung reaksi, gelas kimia, ayakan ukuran 65 mesh, batang pengaduk, *stirrer*, corong, pipet tetes, pipet ukur, labu Erlenmeyer, gelas piala, kertas saring, tissue, lumpang, penjepit tabung, vortex, pemanas listrik, timbangan analitik, mikropipet, *rotary evaporator*, spektrofotometer UV-Vis.

### Bahan

Daun binahong, aquades, butanol, asam asetat, etanol p.a, asam klorida, aluminium klorida, natrium asetat trihidrat, 2,4,6- *tri-ridyal-s-triazine* (TPTZ) lempeng KLT 60 F<sub>254</sub>, feri klorida heksahidrat, fero sulfat heptahidrat.

### Preparasi sampel

Sampel daun binahong yang akan digunakan berupa sampel segar yang dipetik dari tumbuhan binahong tersebut. Sampel segar ini selanjutnya dibagi menjadi dua bagian yaitu bagian untuk serbuk segar dan bagian untuk serbuk kering. Serbuk kering diperoleh dari sampel segar yang dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dikeringkan secara alami di udara dengan tidak dikenai sinar matahari langsung selama  $\pm 7$  hari, kemudian diblender dan diayak dengan ayakan 65 mesh. Serbuk segar diperoleh dari sampel segar yang dipotong-potong

hingga menjadi serbuk tanpa adanya pengeringan.

**Penentuan kadar air(Sudarmadji, 2003).**

Penentuan kadar air ditentukan dengan metode pemanasan menggunakan oven. Sampel ditimbang sebanyak ± 3 g di dalam cawan porselin, dimasukan dalam oven dengan temperetur pemanasan 105 °C selama 3 jam kemudian didinginkan, lalu sampel ditimbang. Kemudian dipanaskan kembali dengan oven dan didinginkan sampai mencapai berat konstan.

Rumus perhitungan kadar air sebagai berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat sampel sebelum dipanaskan

B = Berat sampel setelah dipanaskan

(Sudarmadji, 2003).

**Rendemen**

Pengujian daun binahong diperoleh dari berat ekstrak binahong yang dihasilkan dibagi dengan berat binahong yang digunakan.

Perhitungan :

$$\text{Rendemen binahong (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak binahong (g)}}{\text{Berat serbuk binahong (g)}} \times 100\%$$

**Ekstraksi sampel**

Sebanyak 50 g sampel masing-masing serbuk kering dan segar dimaserasi dengan 250 ml etanol p.a dimasukan ke dalam Erlenmeyer 500 ml selama 24 jam dengan beberapa kali diaduk, setelah itu disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya.

Selanjutnya filtratnya dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan di dalam desikator sebelum digunakan untuk uji selanjutnya.

**Penentuan kadar flavonoid**

Penentuankadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri menggunakan reagen alumunim klorida. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 50 µg/mL, di tambahkan dengan 2 mL alumunium klorida 2% yang telah dilarutkan dengan etanol, kemudian divorteks selama 20 menit, inkubasi

campuran larutan selama 24 menit. Ukur absorbansi pada 415 nm. Buat perhitungan rata-rata 3 kali pengukuran dan kandungan flavonoid dinyatakan dengan kesetaraan pembanding baku (Chang dan Wen, 2002).

**Penentuan antioksidan total**

**Pembuatan larutan :**

**Larutan Buffer Asetat**

Buffer asetat dengan pH 3,6 dibuat dari 0,775 g natrium asetat trihidrat (CH<sub>3</sub>COONa.3H<sub>2</sub>O) yang ditambahkan dengan 4 mL asam asetat pekat dan dilarutkan dengan aquade hingga tepat 250 mL dalam labu takar.

**Larutan 10 mmol/mL 2,4,6-tripyridil-s-triazine (TPTZ)**

Sebanyak 0,15 g TPTZ dilarutkan dalam 40 mmol/L HCl hingga tepat 50 mL. Larutan 40 mmol/L HCl dibuat dengan melarutkan 0,828 mL HCl pekat dalam 250 mL aquades.

**Larutan 20 mmol/L FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O**

Sebanyak 0,54 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O dilarutkan dengan aquades dalam labu takar hingga tepat 100 mL.

**Reagen FRAP**

Reagen FRAP dibuat dengan cara mencampurkan 25 mL buffer asetat, 2,5 mL larutan TPTZ dan 2,5 mL larutan FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, lalu ditambahkan aquades hingga tepat 100 mL dalam labu takar.

**Larutan Standar FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O**

Larutan *stock* 10.000 µmol/L FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dibuat dengan melarutkan 2,78 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dalam 1000 mL aquades. Selanjutnya dari larutan *stock* 10.000 µmol/L FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O diambil sebanyak 100 mL dan diencerkan hingga 1000 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000 µmol/L FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O. Larutan 1000 µmol/L FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O diambil masing – masing sebanyak 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 mL dan ditempatkan pada labu takar berbeda dan diencerkan dengan aquades 100 mL. Konsentrasi larutan standar FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O yang terbentuk berturut – turut 1, 2, 3, 4, 5 µmol/L

**Penentuan Antioksidan Total**

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum diperoleh melalui pengukuran absorbansi dari standar  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  dengan konsentrasi yang paling tinggi (1000  $\mu mol/L$ ). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan reagen FRAP sebanyak 3 mL, lalu dibaca pada setiap panjang gelombang dalam kisaran 588-598 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

**Penentuan Absorbansi Sampel**

Larutan sampel daun binahong sebanyak 0,1 mL ditambah reagen FRAP sebanyak 3 ml dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum (596 nm).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tabel 1. Hasil preparasi sampel binahong [*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis] dilihat secara organoleptik, hasil perhitungan kadar air dan rendemen.

Karakteristik organoleptik	serbuk	Kadar air	rendemen
Bentuk	Serbuk		
Warna	Hijau tua		
Bau	Berbau khas	81,99	3,29 %
Rasa	Pahit dan sepat	%	
Tekstur	Halus dan lembab		

Pada sampel segar tidak mengalami proses pengolahan lebih lanjut sehingga warna masih terlihat cerah. Hal tersebut sejalan dengan pendapat yang dikemukakan oleh Winarno dkk (1980), yaitu proses pengeringan menyebabkan pigmen warna menjadi rusak dan berkurang, sampel segar memiliki kandungan air masih tinggi sehingga kandungan cairan masih besar yang membuat tekstur sampel halus dan lembab. Hal ini juga didukung oleh penelitian Nia (2009), yang menyatakan bahwa perbedaan tekstur pada sampel anggur laut diakibatkan karena adanya proses pengeringan.

**Kandungan Flavonoid**

Flavonoid total pada sampel segar daun binahong diperoleh dengan cara memasukan nilai absorbansi pada kurva standar kuersetin dengan persamaan kurva yaitu  $y = 0,0278x - 0,0022$  sehingga hasil dari besar flavonoid pada sampel segar daun binahong yaitu sebesar 11,23 mg/kg. kandungan flavonoid pada sampel segar lebih besar, karena pada proses preparasi sampel segar tidak mengalami pemanasan. Hal tersebut dikarenakan proses pemanasan dapat membuat kadar dari senyawa flavonoid berkurang. Lusivera (2002) mengatakan bahwa proses pemanasan ini dapat mengakibatkan penurunan kadar total flavonoid sebesar 15 – 78 %.

**Penentuan Konsentrasi Antioksidan Total**

Pada penelitian ini penentuan kandungan antioksidan total dilakukan dengan menggunakan metode FRAP. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$  sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Halvorsen dkk, 2002).

Data yang akan diukur dalam menentukan total antioksidan berupa absorbansi. Absorbansi tersebut didapat pada saat pengukuran pada panjang gelombang maksimal larutan standar  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  1 mL yang ditambahkan dengan reagen FRAP 3 mL. Dapat ditulis persamaan regresinya seperti  $y = 0,8731x - 0,0577$ , dengan y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi. Fungsi persamaan regresi yaitu sebagai acuan untuk menentukan konsentrasi total antioksidan pada daun binahong.

sampel	Konsentrasi antioksidan mmol/100g
Sampel segar	4,25
Sampel kering	3,68

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa total antioksidan pada kedua sampel ini memiliki perbedaan, yang menunjukkan bahwa proses pengolahan sampel memberikan pengaruh yang berbeda terhadap uji aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan sangat mudah mengalami perubahan. Berbagai jenis pengolahan dapat mengakibatkan hilangnya senyawa antioksidan yang terdapat pada suatu sampel.

### **KESIMPULAN**

1. Flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun binahong dari sampel segar dan kering adalah 7,81 mg/kg dan 11,23 mg/kg.
2. Jenis flavonoid yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi serbuk segar dan serbuk kering ekstrak etanol daun binahong ialah flavonol.
3. Ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki kapasitas sebagai antioksidan. Sampel kering memiliki total antioksidan sebesar 3,68 mmol/100 g dan pada sampel segar sebesar 4,25 mmol/100 g.

### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai khasiat antioksidan dari daun binahong yang bermanfaat bagi manusia.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Chang C. Yang M, Wen Hand Chern J. 2002. *Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods*, J. Food Drug Anal.
- Halvorsen BL, et al. 2002. *A Systematic Screening of Total Antioxidant In Dietary Plants*. J. Nutrition.
- Ho HA. 1992. *Antioxydant Activity of Flavonoids Isolated from Scutellaria rehderiana*. J. Am. Oil Chem. Soc.
- Kumalaningsih. 2007. *Antioksidan dan Penangkal Radikal Bebas*. Jakarta: Penerbit Trubus Agrisarana.
- Marhkam, R.K. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Prior, R.L., X.Wu., dan K. Schaich. 2005. *Standardized Method for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic in Food and Dietary Supplements*. Journal of agricultural and food chemistry.

Filename: 4  
Directory: C:\Documents and Settings\User\My Documents  
Template: C:\Documents and Settings\User\Application  
Data\Microsoft\Templates\Normal.dotm  
Title:  
Subject:  
Author: User  
Keywords:  
Comments:  
Creation Date: 1/18/2013 7:04:00 PM  
Change Number: 38  
Last Saved On: 2/19/2013 2:32:00 PM  
Last Saved By: User  
Total Editing Time: 173 Minutes  
Last Printed On: 2/19/2013 2:32:00 PM  
As of Last Complete Printing  
Number of Pages: 5  
Number of Words: 2,033 (approx.)  
Number of Characters: 11,593 (approx.)