

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BINAHONG BATANG HIJAU DAN MERAH (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) MENGGUNAKAN METODE 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL (DPPH)

Hasty Hamzah^{1*}, Asrullah², Sri Yolandari³, Ratih Nurwanti⁴, Evi Mustiqawati⁵

^{1,2,3,4,5} Politeknik Baubau, Baubau, Indonesia

ARTICLE INFORMATION

Received: 19 Oktober 2025

Revised : 14 November 2025

Accepted: 30 November 2025

DOI: 10.57151/jsika.v4i2.1618

KEYWORDS

Antioksidan; Daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Ten.)); Daun binahong hijau (*Anredera cordifolia* (Ten. Steenis)); IC₅₀; metode DPPH

Antioxidants; Binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis); DPPH method; IC₅₀

CORRESPONDING AUTHOR

Nama : Hasty Hamzah

Address: BTN Wanabakti Kel. Sulaa Kec. Betoambari

E-mail : hastyhamzah@gmail.com

ABSTRACT

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tanaman obat yang diketahui mengandung senyawa bioaktif berpotensi sebagai antioksidan. Perbedaan warna batang, yaitu hijau dan merah, diduga memengaruhi kandungan senyawa metabolit sekundernya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong batang hijau dan merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Prinsip pengujian ini didasarkan pada reduksi radikal bebas DPPH dalam larutan metanol yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning seiring dengan tereduksinya radikal bebas tersebut. Daun binahong batang hijau dan merah diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% untuk memperoleh ekstrak etanol daun binahong. Selanjutnya, ekstrak yang diperoleh dibuat dalam beberapa variasi konsentrasi yakni 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm dan diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi ekstrak yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong batang hijau memiliki nilai IC₅₀ sebesar 13,059 µg/mL, sedangkan ekstrak daun binahong batang merah memiliki nilai IC₅₀ sebesar 12,012 µg/mL. Berdasarkan kriteria aktivitas antioksidan, kedua ekstrak tersebut dikategorikan sebagai antioksidan kuat. Perbedaan nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong batang merah memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan batang hijau. Hasil penelitian ini menunjukkan potensi daun binahong sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) is a medicinal plant known to contain bioactive compounds with potential antioxidant properties. Variations in stem color, namely green and red, are presumed to influence the composition of secondary metabolites. This study aimed to evaluate and compare the antioxidant activity of green- and red-stem binahong leaf extracts (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The principle of this assay is based on the reduction of DPPH free radicals in a methanolic solution, which is indicated by a color change from purple to yellow as the free radicals are neutralized. Green- and red-stem binahong leaves were extracted using the maceration method with 70% ethanol as the solvent to obtain ethanolic leaf extracts. The extracts were then prepared at various concentrations (2, 4, 6, 8, and 10 ppm) and evaluated for their antioxidant activity using the DPPH assay. Absorbance was measured using a UV-Vis spectrophotometer at the maximum DPPH wavelength of 517 nm. Antioxidant activity was expressed as the IC₅₀ value, defined as the concentration of extract required to inhibit 50% of DPPH free radicals. The results showed that the IC₅₀ value of the green-stem binahong leaf extract was 13.059 µg/mL, while that of the red-stem binahong leaf extract was 12.012 µg/mL. According to antioxidant activity classification, both extracts were

categorized as strong antioxidants. The lower IC_{50} value of the red-stem binahong leaf extract indicates higher antioxidant activity compared to the green-stem extract. These findings demonstrate the potential of binahong leaves as a natural source of antioxidants that can be further developed.

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan molekul tidak stabil yang terbentuk secara alami dalam tubuh maupun akibat paparan faktor eksternal seperti polusi, radiasi, dan bahan kimia. Akumulasi radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif yang berperan dalam kerusakan sel, protein, dan DNA, sehingga berkontribusi terhadap perkembangan berbagai penyakit degeneratif, termasuk penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes, serta proses penuaan dini. Oleh karena itu, antioksidan memiliki peranan penting dalam sistem biologis sebagai penangkap radikal bebas dan pelindung sel dari kerusakan oksidatif.

Dalam beberapa tahun terakhir, perhatian terhadap sumber antioksidan alami semakin meningkat seiring dengan kekhawatiran terhadap efek samping penggunaan antioksidan sintetis. Tanaman obat menjadi salah satu sumber utama senyawa antioksidan alami karena mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki kemampuan sebagai pendonor elektron atau hidrogen yang efektif dalam menetralkan radikal bebas.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tanaman obat yang banyak digunakan secara empiris dalam pengobatan tradisional, antara lain untuk penyembuhan luka, antiinflamasi, dan peningkatan daya tahan tubuh. Susanti (2023) melaporkan bahwa ekstrak daun binahong mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berkontribusi signifikan terhadap aktivitas antioksidan. Penelitian lain oleh Purwasih, Agustin, dan Rahmawati (2024) menunjukkan bahwa ekstrak daun *Anredera cordifolia* memiliki kemampuan penangkap radikal bebas yang tinggi dan berpotensi dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional.

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Basellaceae yang dikenal luas dalam pengobatan tradisional di berbagai negara tropis, termasuk Indonesia. Tanaman ini telah digunakan secara empiris untuk berbagai tujuan terapeutik seperti penyembuhan luka, antiinflamasi, dan sebagai antioksidan alami karena kandungan metabolit sekundernya yang kaya, seperti flavonoid, fenolik, saponin, dan steroid (Susanti, 2023; Rozi, Siddiq, & Majiding, 2025). Kandungan fitokimia tersebut berperan penting dalam kemampuan binahong untuk menangkal radikal bebas, yang berkaitan erat dengan aktivitas antioksidan dalam menghambat kerusakan oksidatif pada sel biologis. Studi fitokimia juga menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong mengandung berbagai senyawa bioaktif yang dapat mendukung aktivitas antioksidan melalui mekanisme donasi elektron dan hidrogen kepada radikal bebas yang tidak stabil, seperti yang diuji menggunakan metode DPPH. Selain itu, penelitian aplikasi binahong dalam formulasi produk kosmetik menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya tetap kuat bahkan ketika dievaluasi dalam sediaan topikal, mendukung potensinya dalam aplikasi praktis selain penggunaan tradisional. Dengan demikian, binahong tidak hanya memiliki nilai sejarah dalam pengobatan tradisional, tetapi juga menunjukkan relevansi ilmiah yang meningkat sebagai sumber antioksidan alami yang potensial untuk dikembangkan lebih lanjut dalam aplikasi farmasi dan kesehatan modern.

Kajian dalam lima tahun terakhir menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan binahong dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk jenis pelarut, metode ekstraksi, dan bentuk sediaan. Wardani (2025) melaporkan bahwa perbedaan jenis pelarut dan waktu ekstraksi menyebabkan variasi nilai IC_{50} ekstrak daun binahong merah. Sementara itu, Lestari dan Kurniawati (2025) serta Maslamah Aan, Rizkuloh, dan Nur Endah (2025) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun binahong tetap menunjukkan aktivitas antioksidan kuat ketika diaplikasikan dalam sediaan topikal dan kosmetik.

Meskipun demikian, sebagian besar penelitian sebelumnya berfokus pada daun binahong tanpa mempertimbangkan variasi morfologi tanaman. Perbedaan warna batang binahong, yaitu hijau dan merah, diduga berkaitan dengan perbedaan kandungan metabolit sekunder, termasuk senyawa fenolik dan pigmen alami yang berpotensi meningkatkan aktivitas antioksidan. Hingga saat ini, kajian yang membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong berdasarkan perbedaan warna batang masih terbatas.

Pada pengujian aktivitas antioksidan secara *in vitro*, penggunaan senyawa pembanding (kontrol positif) merupakan langkah penting untuk menilai kekuatan relatif aktivitas antioksidan suatu ekstrak bahan alam. Vitamin C (asam askorbat) sering digunakan sebagai larutan pembanding dalam

metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan mekanisme peredaman radikal bebas yang telah dipahami dengan baik. Vitamin C bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen dari gugus hidroksilnya untuk menetralkan radikal bebas, sehingga menghambat reaksi oksidatif berantai (Pham & Nguyen, 2024). Selain itu, vitamin C merupakan senyawa murni dengan kelarutan yang baik dalam pelarut polar seperti metanol, sehingga memberikan respons yang stabil dan linier pada pengujian DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Kusmaningsih, 2024).

Penggunaan vitamin C sebagai pembanding juga memungkinkan evaluasi kuantitatif aktivitas antioksidan ekstrak tanaman melalui perbandingan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} vitamin C yang umumnya rendah mencerminkan efisiensi tinggi dalam meredam radikal DPPH, sehingga dapat dijadikan acuan untuk mengklasifikasikan kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak uji. Beberapa penelitian terkini melaporkan bahwa ekstrak tanaman dengan nilai IC_{50} yang mendekati vitamin C memiliki potensi besar sebagai sumber antioksidan alami (Sultana et al., 2025). Oleh karena itu, penggunaan vitamin C sebagai larutan pembanding dalam penelitian ini bertujuan untuk memperoleh gambaran yang lebih objektif mengenai potensi antioksidan ekstrak daun binahong batang hijau dan merah dibandingkan dengan antioksidan standar yang telah mapan.

METODE

1. Preparasi Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari yakni pada pukul 08.00 sampai pukul 10.00 WITA dengan lokasi yang berbeda, untuk daun binahong batang hijau diambil di Desa Benteng, Kec. Lasalimu, Kab. Buton sedangkan daun binahong batang merah diambil di Desa Takimpo, Kec. Pasarwajo, Kab. Buton. Sampel yang digunakan adalah daun binahong batang hijau dan merah sebanyak ± 2 kg kemudian dibersihkan dari kotoran yang menempel (*sortasi* basah), dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan ditiriskan. Setelah itu daun dirajang hingga 1 cm untuk memudahkan proses pengeringan. Selanjutnya sampel dikeringkan dibawah sinar matahari yang ditutupi kain hitam sampai kering. Simplisia kering diblender hingga halus, kemudian disimpan dalam wadah bersih yaitu toples kaca penutup merah. Serbuk dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Sebanyak ± 350 g serbuk simplisia dituangi dengan cairan pelarut (± 5 L), ditutup toples dan biarkan selama 3 hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk, toples ditutupi seluruhnya dengan lakban hitam. Sampel didiamkan selama 2 – 3 jam kemudian diaduk untuk mempermudah proses pemindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut. Ekstrak sampel tiap 1 x 24 jam dipindahkan ke wadah yang berbeda lalu ampas diperas dan diganti cairan pelarutnya dengan pelarut baru, proses ini dilakukan selama 3 hari. Setelah 3 hari ekstrak yang didapatkan dipekatkan dengan cara diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental, Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk perhitungan rendemen.

2. Pembuatan larutan uji ekstrak

Ditimbang masing-masing 10 mg ekstrak daun binahong, dimasukkan ke dalam gelas kimia 50 mL, selanjutnya dilarutkan dengan metanol p.a. sedikit demi sedikit, setelah itu larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan sampai batas volume sehingga konsentrasi larutan uji ekstrak 100 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran menggunakan pelarut methanol p.a sehingga konsentrasi larutan uji akhir yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm pada tiap masing-masing sampel. Larutan dimasukkan ke dalam botol coklat dan diberi label.

3. Pembuatan Larutan Vitamin C

Larutan standar vitamin C disiapkan untuk digunakan sebagai kontrol positif dalam uji aktivitas antioksidan metode DPPH. Sebanyak 10 mg vitamin C (asam askorbat) ditimbang secara akurat menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Vitamin C yang telah ditimbang dilarutkan dengan pelarut metanol p.a. secara perlahan hingga seluruhnya larut, kemudian volume larutan dicukupkan hingga tanda batas labu ukur untuk menghasilkan larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, larutan stok ini diencerkan secara bertahap menggunakan metanol p.a. hingga diperoleh beberapa larutan standar dengan konsentrasi akhir 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm sesuai kebutuhan untuk pengujian DPPH. Penggunaan metanol p.a. sebagai pelarut sesuai dengan praktik umum dalam uji antioksidan DPPH untuk memastikan pelarut homogen dan tidak mengganggu stabilitas radikal bebas DPPH (Rozi et al., 2023; Zafira et al., 2024). Pengenceran bertahap ini memungkinkan pembuatan kurva standar yang linier antara konsentrasi vitamin C dan persentase inhibisi radikal DPPH yang dibutuhkan untuk menentukan nilai IC_{50} vitamin C sebagai pembanding.

4. Pembuatan Larutan DPPH

Ditimbang 5 mg serbuk DPPH, dimasukkan dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a. sampai batas volume sehingga diperoleh konsentrasi 50 ppm. Dipipet 1 mL larutan DPPH, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan 3 mL metanol p.a., selanjutnya ditambahkan 1 mL larutan ekstrak dengan semua seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm, campuran dikocok hingga homogen. Didiamkan 30 menit pada suhu ruang ditempat gelap kemudian diukur panjang gelombang maksimum 517nm.

5. Perhitungan Aktivitas Antioksidan

Persentase peredaman radikal bebas dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(A_0)}{(A_0 - A_s)} \times 100\%$$

di mana A_0 adalah absorbansi kontrol DPPH dan A_s adalah absorbansi larutan uji. Nilai IC_{50} ditentukan melalui analisis regresi linear antara konsentrasi ekstrak dan persentase inhibisi. Nilai IC_{50} menyatakan konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin kuat aktivitas antioksidan suatu ekstrak (Molyneux, 2004).

6. Penentuan Nilai IC_{50}

Penentuan nilai IC_{50} dilakukan menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva hubungan antara persentase inhibisi radikal bebas DPPH dan konsentrasi ekstrak. Kurva standar dibuat dengan memplotkan konsentrasi ekstrak (x) sebagai sumbu absis dan persentase inhibisi (%) sebagai sumbu ordinat. Hubungan linear antara kedua variabel tersebut dinyatakan dalam persamaan regresi sebagai berikut:

$$y = ax + b$$

di mana y adalah persentase inhibisi radikal bebas DPPH, x adalah konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/mL}$), a adalah koefisien regresi (kemiringan garis), dan b adalah konstanta. Nilai IC_{50} ditentukan dengan memasukkan nilai $y = 50$ ke dalam persamaan regresi tersebut, sehingga diperoleh nilai x yang merepresentasikan konsentrasi ekstrak yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} yang lebih kecil menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) batang hijau dan batang merah ditentukan berdasarkan kemampuannya dalam menghambat radikal bebas sebesar 50%, yang dinyatakan sebagai nilai *Inhibitory Concentration* IC_{50} . Berdasarkan literatur terkini, kekuatan antioksidan diklasifikasikan ke dalam empat kategori utama berdasarkan besaran konsentrasi yang dihasilkan. Suatu sampel dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan **sangat kuat** apabila memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, dan dikategorikan **kuat** jika nilai berada pada rentang 50–100 $\mu\text{g/mL}$ (Sadeer et al., 2020). Selanjutnya, aktivitas antioksidan tergolong **sedang** apabila nilai berkisar antara 101–150 IC_{50} , sementara nilai IC_{50} yang melampaui 150 $\mu\text{g/mL}$ hingga 200 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan aktivitas yang **lemah** (Hassan et al., 2021). Semakin rendah nilai IC_{50} yang diperoleh dari hasil pengukuran metode DPPH, maka semakin tinggi efektivitas senyawa metabolit sekunder dalam sampel untuk mendonorkan atom hidrogen guna menstabilkan radikal bebas (Wali et al., 2022). Perbedaan profil fitokimia antara varietas batang merah dan hijau diprediksi akan memberikan pengaruh signifikan terhadap pergeseran nilai IC_{50} ini (Rahmawati & Shodiq, 2023).

HASIL & PEMBAHASAN

Daun binahong yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong dari batang hijau dan daun binahong dari batang merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) diambil dengan cara dipetik langsung dari pohonnya.



(a)

(b)

Gambar 1. Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)
(a) Batang merah; (b) Batang hijau

Pembuatan ekstrak daun binahong dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pemilihan pelarut etanol 70% didasarkan pada kemampuannya yang efektif mengekstraksi senyawa metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid yang bersifat polar hingga semi-polar serta memberikan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibanding pelarut dengan konsentrasi lain dalam banyak studi tanaman obat, termasuk pada penelitian aktivitas antioksidan daun pegagan yang menggunakan maserasi etanol 70% (Putri et al., 2024). Penggunaan metode maserasi juga dipilih karena kesederhanaannya dan kemampuan mengekstraksi komponen bioaktif tanpa pemanasan yang intens, sehingga meminimalkan kerusakan termal pada senyawa sensitif.

Penyiapan larutan uji ekstrak daun binahong dilakukan secara bertahap untuk memperoleh konsentrasi yang akurat dan homogen, sehingga hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat merepresentasikan kemampuan ekstrak secara tepat. Pada tahap awal, masing-masing ekstrak daun binahong ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan secara perlahan menggunakan metanol p.a. Pelarut metanol p.a dipilih karena memiliki kemurnian tinggi dan mampu melarutkan senyawa fenolik dan flavonoid secara optimal, yang merupakan komponen utama penentu aktivitas antioksidan. Proses pelarutan dilakukan sedikit demi sedikit untuk memastikan ekstrak terdispersi sempurna dan menghindari terbentuknya agregat yang dapat memengaruhi pengukuran absorbansi.

Larutan ekstrak selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan stok ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm. Pembuatan larutan stok dengan konsentrasi tertentu bertujuan untuk mempermudah proses pengenceran dan menjaga konsistensi konsentrasi antar sampel. Larutan stok ini kemudian diencerkan menggunakan metanol p.a. untuk memperoleh variasi konsentrasi akhir sebesar 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm pada masing-masing sampel.

Penggunaan rentang konsentrasi tersebut memungkinkan pengamatan hubungan linier antara konsentrasi ekstrak dan persentase inhibisi radikal bebas DPPH. Hubungan ini penting untuk menentukan nilai IC_{50} secara akurat melalui analisis regresi linear. Semakin meningkat konsentrasi larutan uji, semakin besar pula persentase peredaman radikal bebas yang dihasilkan, yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak bersifat konsentrasi-dependen. Dengan demikian, tahapan preparasi larutan uji ini berperan penting dalam memastikan keandalan data aktivitas antioksidan serta validitas nilai IC_{50} yang diperoleh pada penelitian ini.

Berikut hasil pengujian absorbansi dan % inhibisi ekstrak daun binahong merah dan hijau dan absorbansi larutan vitamin C sebagai pembanding.

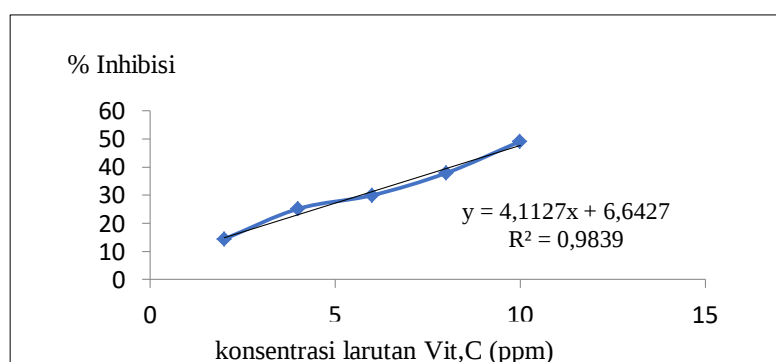
Tabel 1. Pengujian absorbansi dan % inhibisi ekstrak daun binahong merah dan hijau dan absorbansi larutan vitamin C sebagai pembanding

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (As)	Absorbansi Kontrol (Ao)	% Inhibisi	Nilai IC_{50}
Vitamin C	2	0,357	0,417	14,385	10,544
	4	0,312		25,179	
	6	0,292		29,976	
	8	0,259		37,889	
	10	0,212		49,161	
Binahong Hijau	2	0,283	0,398	28,894	13,059
	4	0,263		33,920	
	6	0,257		35,427	
	8	0,243		38,945	
	10	0,217		45,477	
Binahong	2	0,301		28,894	

Merah	4	0,278		30,151	
	6	0,255	0,398	35,930	12,012
	8	0,239		39,950	
	10	0,221		44,472	

Dari di atas diperoleh data seluruh hasil pengujian, diawali dengan mengukur nilai absorbansi masing-masing sampel dengan konsentrasi berbeda (As). Juga diketahui pula absorbansi blanko. Nilai ini selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai persentase penghambatan/ inhibisi (% inhibisi).

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur panjang gelombang maksimum larutan DPPH 517 nm, dimana nilai %inhibisi diplot terhadap variasi konsentrasi uji masing-masing untuk memperoleh persamaan linear. Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak atau sebagai sumbu x, dan % inhibisi sebagai sumbu y atau dapat dituliskan $y = ax + b$. Berikut profil hubungan konsentrasi ekstrak terhadap %inhibisi.

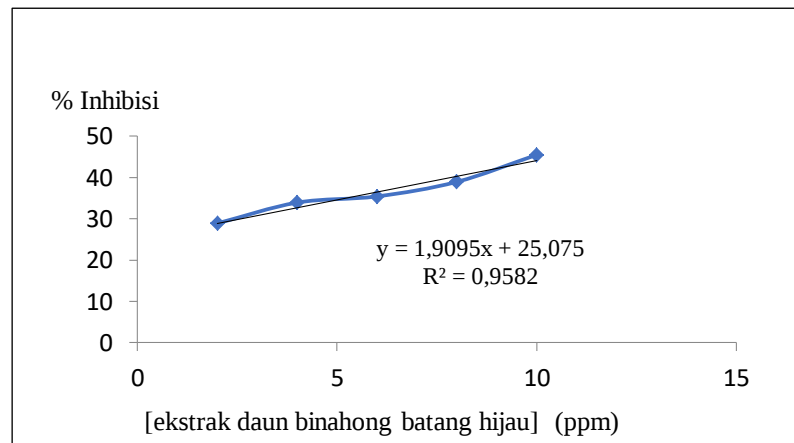


Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi Larutan Standar Vitamin C terhadap %inhibisi

Nilai IC₅₀ sampel dibandingkan dengan IC₅₀ pembanding rutin, dalam penelitian ini vitamin C digunakan sebagai pembanding hal ini karena vitamin C memiliki gugus pendonor elektron. Gugus ini terletak pada C₂ dan C₃. Adanya gugus ini memungkinkan vitamin C menangkap radikal bebas. Pada gambar 2, diperoleh persamaan garis linear: $y = 4,1127x + 6,6427$, dengan mensubstitusikan $y = 50$ maka diperoleh nilai x sebagai nilai IC₅₀ sebesar 10,544 ppm (**Tabel 1**).

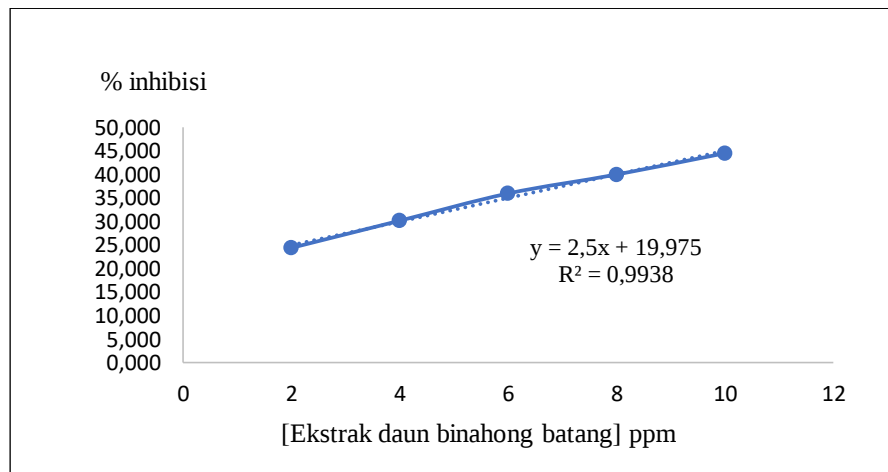
Nilai IC₅₀ ekstrak daun binahong dibandingkan dengan nilai IC₅₀ senyawa pembanding untuk menilai kekuatan aktivitas antioksidan relatif dari sampel uji. Dalam penelitian ini, vitamin C (asam askorbat) digunakan sebagai pembanding karena merupakan antioksidan standar yang umum digunakan dan memiliki kemampuan peredaman radikal bebas yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan vitamin C berkaitan erat dengan struktur kimianya yang mengandung gugus pendonor elektron, khususnya pada atom karbon C2 dan C3, sehingga mampu mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menstabilkan radikal bebas (Nimse & Pal, 2015).

Pada pengujian menggunakan metode DPPH, vitamin C menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan persentase inhibisi radikal bebas. Berdasarkan kurva standar yang ditampilkan pada Gambar 2, diperoleh persamaan regresi linier $y = 4,1127x + 6,6427$, dengan y menyatakan persentase inhibisi dan x menyatakan konsentrasi vitamin C (ppm). Penentuan nilai IC₅₀ dilakukan dengan mensubstitusikan nilai $y = 50$ ke dalam persamaan regresi tersebut, sehingga diperoleh nilai x sebesar 10,544 ppm sebagai nilai IC₅₀ vitamin C. Nilai IC₅₀ yang rendah menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, sesuai dengan kriteria aktivitas antioksidan yang dikemukakan oleh Molyneux (2004), di mana senyawa dengan nilai IC₅₀ < 50 µg/mL dikategorikan sebagai antioksidan kuat.



Gambar 3. Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak daun binahong batang hijau terhadap % inhibisi

Gambar 3 menunjukkan hubungan konsentrasi ekstrak daun binahong batang hijau terhadap % inhibisi, diperoleh persamaan regresi linear untuk menghitung nilai IC_{50} yakni $y = 1,9095x + 25,075$, dengan mensubstitusikan nilai $y = 50$ ke dalam persamaan regresi tersebut, sehingga diperoleh nilai x sebesar 13,059 ppm sebagai nilai IC_{50} (Tabel 1).



Gambar 4. Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstrak daun binahong batang merah terhadap % inhibisi

Gambar 4 menunjukkan hubungan konsentrasi ekstrak daun binahong batang merah terhadap % inhibisi, diperoleh persamaan regresi linear untuk menghitung nilai IC_{50} yakni $y = 1,9095x + 25,075$, dengan mensubstitusikan nilai $y = 50$ ke dalam persamaan regresi tersebut, sehingga diperoleh nilai x sebesar 12,012 ppm sebagai nilai IC_{50} (Tabel 1).

Nilai IC_{50} mencerminkan konsentrasi antioksidan yang diperlukan untuk meredam 50% radikal bebas DPPH. Secara prinsip, semakin rendah nilai IC_{50} , semakin kuat aktivitas antioksidan suatu senyawa atau ekstrak (nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitasnya) karena artinya senyawa tersebut membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk menghambat radikal bebas secara efektif (Huda et al., 2025).

Dalam penelitian ini, vitamin C—yang merupakan senyawa murni dengan struktur kimia yang kaya gugus hidroksil yang efektif mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal DPPH—memiliki nilai IC_{50} sebesar 10,544 ppm. Nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat sesuai dengan kriteria uji DPPH. Hal ini sejalan dengan kajian Arumugam et al. (2024) yang melaporkan bahwa vitamin C sering menunjukkan nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak nabati lain karena kemurnian dan ketersediaan gugus electron donor yang tinggi.

Sementara itu, ekstrak daun binahong batang hijau memiliki nilai IC_{50} 13,059 ppm, dan ekstrak merah memiliki nilai IC_{50} 12,012 ppm. Kedua nilai IC_{50} ini juga menunjukkan bahwa kedua ekstrak binahong termasuk dalam kategori antioksidan kuat, namun nilainya masih lebih tinggi dari

vitamin C. Perbedaan ini dapat dijelaskan oleh fakta bahwa ekstrak tanaman merupakan campuran berbagai senyawa bioaktif—flavonoid, fenolik, dan lain-lain—yang meskipun efektif, umumnya tidak seefisien senyawa murni dalam reaksi dengan radikal DPPH (Mekonnen & Ashebir, 2022).

Perbandingan antara batang merah dan hijau menunjukkan bahwa ekstrak batang merah memiliki aktivitas antioksidan sedikit lebih tinggi (nilai IC_{50} lebih rendah) dibandingkan batang hijau. Perbedaan kecil ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komposisi metabolit sekunder, terutama senyawa fenolik dan pigmen seperti antosianin, yang berkontribusi terhadap kemampuan radikal scavenging. Studi terkini menunjukkan bahwa variasi warna organ tanaman seringkali berkorelasi dengan variasi tingkat metabolit sekunder yang memengaruhi aktivitas antioksidan (Sultana et al., 2025).

Secara umum, hasil IC_{50} ekstrak binahong yang mendekati nilai vitamin C menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi antioksidan yang signifikan—walaupun tidak setinggi antioksidan standar murni seperti vitamin C. Ini konsisten dengan literatur yang menunjukkan bahwa ekstrak tanaman dengan kandungan polifenol dan flavonoid tinggi dapat mendekati aktivitas antioksidan standar dalam uji DPPH, meskipun biasanya memerlukan konsentrasi sedikit lebih tinggi (Sultana et al., 2025; Pham & Nguyen, 2024).

Perbedaan nilai IC_{50} antara ekstrak daun binahong batang hijau dan merah menunjukkan bahwa ekstrak merah memiliki aktivitas antioksidan yang sedikit lebih kuat (nilai IC_{50} lebih rendah) dibandingkan dengan ekstrak hijau pada uji DPPH. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi dan jumlah senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan pada kedua ekstrak tidak identik, meskipun berasal dari spesies yang sama.

1. Variasi Kandungan Senyawa Fitokimia

Variasi IC_{50} yang terukur umumnya dipengaruhi oleh perbedaan kandungan metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, dan pigmen antioksidan lainnya antara dua sampel. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan kontributor utama aktivitas antioksidan karena kemampuannya mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Skrovankova et al., 2025). Perbedaan jumlah atau jenis metabolit tersebut dapat menyebabkan variasi kecil pada kapasitas radikal scavenging meskipun kedua ekstrak termasuk dalam kategori kuat.

2. Pengaruh Pigmen dan Struktur Fitokimia

Variasi morfologi tanaman seperti warna batang sering berkaitan dengan perbedaan pigmen (misalnya antosianin), yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Studi pada tanaman lain menunjukkan bahwa bagian organisme dengan kandungan pigmen tertentu cenderung memiliki profil metabolit sekunder yang berbeda, yang dapat berkontribusi pada variasi IC_{50} (Carocho & Ferreira, 2025; Rozi et al., 2025). Perbedaan pigmen ini mungkin tercermin pada perbedaan kecil LC_{50} antara ekstrak merah dan hijau, meskipun jumlah keseluruhan flavonoid/fenolik tidak jauh berbeda.

3. Faktor Genetik dan Lingkungan

Selain perbedaan komposisi kimia, faktor genetik internal tanaman serta lingkungan tumbuh (misalnya cahaya, suhu, kelembapan, nutrisi tanah) dapat memengaruhi sintesis metabolit sekunder. Variasi dalam ekspresi gen untuk enzim biosintesis flavonoid, fenolik, dan pigmen bisa menghasilkan profil fitokimia yang berbeda walaupun kedua variasi warna batang berasal dari spesies yang sama (Rawat, 2025). Selain itu, kondisi lingkungan selama fase pertumbuhan atau ekspresi pigmen juga bisa memodifikasi tingkat produksi antioksidan (Rawat, 2025).

4. Korelasi Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan

Beberapa studi terkini menunjukkan adanya hubungan positif antara total phenolic content (TPC) dan kapasitas antioksidan. Meski hubungan ini tidak selalu linier pada semua spesies, konsistensi pola tersebut menunjukkan bahwa perbedaan kecil dalam kandungan total fenolik/flavonoid sekalipun dapat menghasilkan perbedaan kecil pada nilai IC_{50} antara dua profil ekstrak (MDPI Study on Antioxidant Activity, 2025).

Dengan demikian, perbedaan nilai IC_{50} antara vitamin C dan ekstrak binahong serta antara jenis batang binahong mengindikasikan perbedaan efisiensi radikal scavenging, yang dipengaruhi oleh komposisi kimiawi dan konsentrasi total senyawa antioksidan dalam masing-masing sampel.

PENUTUP

Berdasarkan penelitian dan pengolahan data yang telah dilakukan disimpulkan:

1. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong batang hijau (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki IC_{50} sebesar 13,059 ppm dan ekstrak

daun binahong batang merah (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki IC₅₀ sebesar 12,012 ppm.

2. Berdasarkan poin (1) nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan daun binahong batang merah dan hijau kurang dari 50 ppm (< 50) dan dikategorikan sebagai antioksidan kuat.
3. Ekstrak batang merah memiliki aktivitas antioksidan sedikit lebih tinggi (nilai IC₅₀ lebih rendah) dibandingkan batang hijau. Perbedaan kecil ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komposisi metabolit sekunder, terutama senyawa fenolik dan pigmen seperti antosianin, yang berkontribusi terhadap kemampuan radikal scavenging.

Berdasarkan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong batang hijau dan merah memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ yang relatif mendekati vitamin C, disarankan agar penelitian selanjutnya melakukan **analisis fitokimia kuantitatif**, seperti penentuan kadar total fenolik dan total flavonoid, untuk mengklarifikasi kontribusi masing-masing senyawa terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Analisis ini akan membantu menjelaskan secara lebih mendalam faktor penyebab perbedaan nilai IC₅₀ antara ekstrak batang hijau dan merah

DAFTAR PUSTAKA

- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Hassan, W., Noreen, H., Khalil, S. K., & Zaman, B. (2021). In vitro antioxidant and free radical scavenging activities of various plant extracts: A comparative study using DPPH method. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 10(1), 82–89. <https://doi.org/10.34172/jhp.2021.08>
- Huda, N., Rahman, S., & Mehta, A. (2025). Antioxidant potential and its changes caused by various factors in plant extracts. *MDPI Agronomy*, 11(1), 104–120.
- Idris, H., & Jamil, F. (2024). Validation of vitamin C analysis method and evaluation of antioxidant activity of various plant extracts using UV-Vis spectrophotometry. *Jurnal Berkala Ilmiah Sains dan Terapan Kimia*, X(X), 1–10.
- Kusmaningsih, A. (2024). Uji linieritas metode DPPH dengan pelarut metanol sebagai penentu aktivitas antioksidan vitamin C (*L-ascorbic acid*). Akademi Farmasi Surabaya.
- Lestari, T. P., & Kurniawati, E. (2025). Physical characteristics and antioxidant activity of peel-off gel mask containing ethanolic extract of binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, X(X), 1–8.
- Maslamah Aan, S., Rizkuloh, L. R., & Nur Endah, S. R. (2025). Antioxidant activity of stick mask containing ethanolic extract of binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.20473/bikfar.v12i1.62836>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>.
- Pham, T. N., & Nguyen, H. T. (2024). Correlation between phenolic content and antioxidant capacity of medicinal plant extracts using DPPH assay. *Journal of Herbal Medicine*, 40, 100693. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2024.100693>
- Purwasih, R., Agustin, A. D., & Rahmawati, T. N. (2024). Antioxidant-rich functional beverage from *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis leaf extract and *Zingiber officinale* var. *rubrum*. *Jurnal Farmasindo*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.46808/farmasindo.v8i1.187>
- Putri, C. E. E., Wulandari, D. M., Hasyim, U. H., Istiqomah, D., & Ramadhan, M. S. (2024). Optimasi waktu maserasi pada ekstraksi daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap uji aktivitas antioksidan. *Prosiding SEMNASTEK*, X(X), 1–8.
- Rahmawati, D., & Shodiq, A. M. (2023). Comparative study of phytochemicals and antioxidant activities in green and red varieties of medicinal plants. *Journal of Natural Products and Pharmaceutical Chemistry*, 1(1), 15–22
- Rozi, F. R., Ash Siddiq, M. N. A., & Majiding, C. M. (2023). Analisis kapasitas antioksidan minuman sumber vitamin C terhadap DPPH radical scavenging activity. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 4(4), 1–7.
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). DPPH, ABTS, FRAP, and CUPRAC assays: Is there a correlation in the antioxidant capacity of plant extracts? *Molecules*, 25(21), 4926. <https://doi.org/10.3390/molecules25214926>

- Sultana, O., Ahmed, S., Islam, M. T., Shah, V. K., & Rahman, M. A. (2025). *Comparative investigation of free radical scavenging and cyclic voltammetric analyses to evaluate antioxidant potential of plant extracts*. *Scientific Reports*, 15, 12731.
- Susanti, H. (2023). Total phenolic content and antioxidant activity of binahong (*Anredera cordifolia*). *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 10(2), 1–11. <https://doi.org/10.20885/JKKI.Vol10.Iss2.art9>
- Wardani, K. K. (2025). Effect of extraction solvent and time on antioxidant activity of red binahong leaf extract (*Anredera cordifolia*). *Indonesian Journal of Health Science*, 4(2), 1–9. <https://doi.org/10.54957/ijhs.v4i2.532>
- Wali, A. F., Majwal, M. A., Alkhoori, M. A., & Akram, M. (2022). Antioxidant assay: A review on DPPH and its modification for the food and pharmaceutical industry. *Journal of Food Science and Technology*, 59(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05451-y>
- Wibowo, D. P., Mariani, R., Yusuf, A. F. (2024).. *Studi perbandingan nilai IC₅₀ vitamin C dan daun ketepeng cina (Senna alata)*. *Jurnal Universitas Pahlawan. Journal Ners*, 8(1), 592–596.
- Zafira, F. N., Anita, A., Helsen, H., & Ermi, A. (2024). Analisis vitamin C menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis (tinjauan literatur dan aplikasi). *Jurnal Kesmas Asclepius*, 6(1), 90–100.