

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antioksidan endogen maupun eksogen, termasuk flavonoid, bekerja bersama menetralkan radikal bebas untuk menekan kerusakan oksidatif pada sistem biologis (Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Pemahaman mekanisme ini penting untuk pengembangan antioksidan alami sebagai terapi pencegahan stres oksidatif (Forman *and* Zhang, 2021). Antioksidan melindungi tubuh dari stres oksidatif dengan menetralkan radikal bebas melalui donasi elektron atau hidrogen. Antioksidan alami dari tanaman lebih disukai dibandingkan sintetis seperti butylated hydroxytoluene (BHT) karena risikonya lebih rendah dan sumbernya berkelanjutan (Hassanpour *and* Doroudi, 2023). Senyawa ini mampu menurunkan risiko penyakit kronis dan memperlambat penuaan dengan menghambat reaksi oksidatif yang merusak membran sel dan biomolekul penting (Yadav *et al.*, 2020). Mekanisme perlindungannya meliputi penangkapan radikal bebas atau konversi ROS menjadi senyawa kurang reaktif seperti air (Kurutas, 2016). Sistem pertahanan tubuh, termasuk enzim superoksida dismutase dan molekul seperti glutathione, diperkuat oleh asupan antioksidan eksogen dari tanaman (Liguori *et al.*, 2018). Senyawa polifenol dan karotenoid juga terbukti meningkatkan kapasitas antioksidan total tubuh (Kurutas, 2016). Selain mencegah kerusakan oksidatif, antioksidan mengatur jalur sinyal seluler yang mempengaruhi peradangan dan apoptosis, membantu menjaga fungsi fisiologis normal (Forman *and* Zhang, 2021). Antioksidan alami bahkan dapat meningkatkan ekspresi gen enzim pertahanan seperti katalase untuk memperkuat sistem antioksidan endogen (Yadav *et al.*, 2020). Flavonoid sebagai polifenol utama berbagai

tanaman menjadi fokus penelitian karena kemampuannya menetralkan radikal bebas dan mendukung pertahanan tubuh (Kurutas, 2016).

Flavonoid, kelompok senyawa polifenol utama pada tanaman, memiliki struktur kimia C6-C3-C6 yang terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan oleh rantai tiga atom karbon membentuk cincin heterosiklik beroksigen (cincin C). Senyawa flavonoid dapat berupa aglikon atau glikosida, dengan kelarutan yang dipengaruhi oleh polaritas pelarut. Flavonoid glikosida umumnya lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti air dan etanol, sedangkan flavonoid aglikon cenderung lebih larut dalam pelarut semi-polar seperti etil asetat (Panche, Diwan *and* Chandra, 2016). Flavonoid diklasifikasikan menjadi flavonol, flavanon, isoflavon, antosianidin, dan kalkon, yang memiliki aktivitas antioksidan kuat melalui penetralan radikal bebas, donasi elektron, dan peningkatan ekspresi enzim antioksidan seperti katalase (Tungmunthum *et al.*, 2018). Flavonoid merupakan salah satu senyawa bioaktif utama dalam daun binahong (*Anredera cordifolia*), menjadikan tanaman ini sumber potensial antioksidan alami untuk mencegah kerusakan oksidatif (Souhoka, Kapelle *and* Sihasale, 2021).

Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan salah satu tanaman tropis yang kaya senyawa bioaktif, terutama flavonoid, yang berperan sebagai antioksidan alami. Tanaman anggota famili Basellaceae ini berasal dari Amerika Selatan dan telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional di berbagai negara, termasuk Indonesia, karena kemampuannya menangkal kerusakan oksidatif (Salim *et al.*, 2021). Daun binahong, bagian yang paling sering dimanfaatkan, berbentuk jantung dengan ujung lancip, berwarna hijau tua, berpermukaan licin dan berlendir, serta memiliki bau khas. Setelah proses pengeringan, daun menjadi keriput dan berubah warna menjadi hijau keabu-abuan tanpa aroma (Purwaningsih,

Nababan dan Firmansyah, 2025). Secara tradisional, daun binahong juga digunakan untuk mengobati hipertensi, diabetes melitus, diare, dan mempercepat penyembuhan luka pascaoperasi, berkat kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin (Salim *et al.*, 2021).

Aktivitas antioksidan daun binahong terbukti kuat, di mana ekstrak etanolnya mampu menetralkan radikal bebas dan melindungi sel dari stres oksidatif, sehingga berpotensi mencegah penyakit degeneratif (Souhoka, Kapelle *and* Sihasale, 2021). Selain flavonoid, binahong juga mengandung alkaloid, saponin, dan tanin, namun flavonoid merupakan konstituen utama yang paling berperan dalam mekanisme perlindungan sel (Utami, Rochmah dan Prahesti, 2023). Penelitian lain melaporkan bahwa kandungan polifenol dan flavonoid daun binahong dapat meningkatkan kapasitas antioksidan total serta mendukung pengembangan terapi berbasis herbal (Prantika, Susanti dan Nofita, 2024). Berdasarkan potensi antioksidan yang tinggi pada daun binahong, diperlukan proses ekstraksi yang efisien untuk memperoleh senyawa aktif secara optimal. Pemilihan jenis pelarut yang tepat pada proses ekstraksi sangat penting karena berpengaruh langsung terhadap kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Ekstraksi merupakan teknik pemisahan senyawa dari matriks tanaman menggunakan pelarut tertentu, di mana faktor seperti jenis pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi sangat memengaruhi hasil ekstrak (Zhang, Lin *and* Ye, 2018).

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan senyawa bioaktif dari matriks tanaman dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan sifat kimia senyawa target. Keberhasilan ekstraksi sangat dipengaruhi oleh polaritas pelarut, sesuai dengan prinsip *like dissolves like*, di mana senyawa akan lebih mudah larut pada pelarut dengan polaritas yang serupa (Wardani, 2024). Flavonoid umumnya merupakan senyawa polar hingga semi-polar. Sesuai prinsip polaritas, pelarut sangat polar seperti air atau pelarut polar

seperti etanol (termasuk konsentrasi 70%) lebih efektif melarutkan golongan flavonoid polar (Mehmood *et al.*, 2022). Di sisi lain, pelarut semi-polar (etil asetat) dilaporkan mampu mengekstrak flavonoid aglikon dan komponen semi-polar lainnya, yang juga berkontribusi pada aktivitas antioksidan ekstrak. Studi komparatif yang menguji variasi polaritas pelarut (air, etanol, dan etil asetat) menunjukkan bahwa hasil akhir kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan yang diperoleh berbeda-beda secara signifikan. Hal ini menegaskan bahwa efektivitas pelarut sangat tergantung pada jenis tanaman dan komposisi senyawanya (Mehmood *et al.*, 2022; Anati, Mohamad and Roslan, 2025).

Penelitian terdahulu pada daun Binahong merah menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan etanol 70% menghasilkan kadar flavonoid tertinggi (47,92 mg QE/g ekstrak) dengan aktivitas antioksidan terkuat IC_{50} (95,70 $\mu\text{g/mL}$), dibandingkan dengan pelarut semi-polar seperti etil asetat (34,16 mg QE/g ekstrak, IC_{50} 122,25 $\mu\text{g/mL}$) (Wardani, 2024). Hasil ini konsisten dengan prinsip *like dissolves like*, di mana pelarut polar cenderung mengekstrak flavonoid glikosida polar dalam jumlah lebih besar, menghasilkan aktivitas antioksidan yang kuat. Efektivitas pelarut polar juga didukung oleh studi pada Labu Kuning (*Cucurbita maxima* D.) yang menunjukkan etanol 96% menghasilkan kadar flavonoid tertinggi (93,00 mg QE/100 g) (Pujiastuti, Erwiyani dan Sunnah, 2022), serta penelitian pada beberapa tanaman obat (*Achillea*, *Bergenia*, *Aloe*) di mana etanol dan metanol (polar) secara konsisten memberikan kadar flavonoid tertinggi (Mehmood *et al.*, 2022). Namun, efektivitas ini dapat bervariasi tergantung pada jenis tanaman, komposisi senyawa bioaktif dan kondisi ekstraksi.

Dalam penelitian ini menggunakan tiga kategori pelarut yang mewakili polaritas yang berbeda yaitu air, etanol 70% dan etil asetat. Konsentrasi etanol 70% dipilih karena etanol 70% secara sinergis mampu

menyari flavonoid, baik flavonoid glikosida maupun flavonoid aglikon. Efektivitas etanol 70% ini didukung oleh penelitian pada rumput laut *Sargassum polycystum*. Hasil penetapan kadar flavonoid dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% menghasilkan kadar tertinggi, yaitu 0,1300% b/b melampaui etanol 96% (0,1180% b/b) dan etanol 50% (0,0539% b/b) (Riwanti, Farizah dan Amaliyah, 2020). Pemilihan ini didasarkan pada temuan bahwa efektivitas ekstraksi sangat bergantung pada polaritas flavonoid yang dominan dalam tanaman, di mana variasi polaritas pelarut menghasilkan profil senyawa bioaktif yang berbeda dan memengaruhi aktivitas antioksidan. Air dipilih karena merupakan pelarut yang paling polar dan terbukti sangat efektif untuk mengekstrak flavonoid dalam bentuk glikosida yang sangat polar. Potensi air terlihat jelas dalam penelitian pada *Senna alata*, di mana air menghasilkan kadar flavonoid yang sangat tinggi ($51,04 \pm 2,05$ mg QE/g), menempati peringkat kedua tertinggi. Di sisi lain, etil asetat dipilih karena efisien dalam menyari flavonoid dalam bentuk aglikon dan komponen semi-polar lainnya yang juga berkontribusi pada aktivitas antioksidan. Perbandingan antara etil asetat dan pelarut polar sangat krusial karena hasilnya sering kali tidak terduga, yang mencerminkan komposisi senyawa unik pada tanaman. Sebagai contoh pada labu kuning, ekstrak dengan pelarut etil asetat menghasilkan kadar flavonoid yang jauh lebih rendah daripada etanol, studi pada *Senna alata* menunjukkan etil asetat mampu menghasilkan kadar flavonoid yang kompetitif (46,99 mg QE/g) dan bahkan lebih tinggi dari etanol. Oleh karena itu, perbandingan antara air, etanol 70%, dan etil asetat dalam penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi pelarut yang paling efisien dalam mengekstrak flavonoid dari daun Binahong.

Pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi menggunakan metode perkolasi. Metode ini dipilih karena bersifat stabil dan terkontrol, sehingga

perbedaan kadar flavonoid yang diperoleh benar-benar disebabkan oleh variasi jenis pelarut. Selain itu, proses ekstraksi dengan metode perkolasi berlangsung secara berkelanjutan dengan efisiensi tinggi karena pelarut mengalir secara kontinu melalui serbuk simplisia dalam alat perkolator. Hal ini menyebabkan terjadinya kontak berulang antara pelarut segar dan bahan yang meningkatkan pelarutan senyawa aktif secara maksimal. Teknik ini juga menjaga kestabilan senyawa termolabil karena dilakukan pada suhu kamar serta memungkinkan pengendalian waktu kontak dan volume pelarut (Wardani, 2024).

Flavonoid yang diekstrak menggunakan air, etanol 70%, dan etil asetat berperan penting sebagai senyawa antioksidan alami, sehingga pengukuran aktivitas antioksidan diperlukan untuk mengevaluasi potensi bioaktif ekstrak. Berbagai metode pengujian antioksidan telah dikembangkan, yang dapat dikelompokkan menjadi metode berbasis transfer atom hidrogen (HAT) seperti ORAC, metode berbasis transfer elektron tunggal (SET) seperti FRAP dan CUPRAC, serta metode kombinasi HAT/SET seperti DPPH dan ABTS. Pengujian ini umumnya dilakukan dengan spektrofotometri untuk mendeteksi perubahan warna atau absorbansi (Munteanu *and* Apetrei, 2021).

Dalam penelitian ini, metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dipilih karena kesederhanaan, kecepatan, dan sensitivitasnya dalam mengevaluasi aktivitas antioksidan senyawa alami. DPPH merupakan radikal bebas stabil berwarna ungu dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Ketika flavonoid dari ekstrak bereaksi dengan DPPH, radikal ini mengalami reduksi yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning pucat, yang kemudian diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer (Munteanu *and* Apetrei, 2021; Gulcin *and* Alwasel, 2023). Parameter utama yang digunakan adalah nilai IC₅₀, yaitu

konsentrasi sampel yang mampu menurunkan 50% aktivitas DPPH radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin tinggi kemampuan sampel dalam menetralkan radikal bebas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh perbedaan jenis pelarut terhadap kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun Binahong (*Anredera cordifolia*) yang diperoleh melalui metode perkolasi. Pelarut yang digunakan meliputi air sebagai pelarut sangat polar, etanol 70% sebagai pelarut polar, dan etil asetat sebagai pelarut semi-polar, guna menganalisis pengaruh rentang polaritas pelarut secara komprehensif terhadap efektivitas ekstraksi senyawa flavonoid secara optimal. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pemilihan pelarut yang tepat untuk memperoleh ekstrak daun Binahong dengan kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi, sehingga dapat mendukung pengembangan sumber antioksidan alami untuk aplikasi di bidang farmasi dan fitoterapi (Munteanu *and* Apetrei, 2021).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh perbedaan jenis pelarut (etanol 70%, air dan etil asetat) terhadap kadar flavonoid ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan menggunakan metode perkolasi?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan jenis pelarut (etanol 70%, air dan etil asetat) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) menggunakan metode DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh perbedaan jenis pelarut (etanol 70%, air dan etil asetat) terhadap kadar flavonoid ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan menggunakan metode perkolasi.

2. Mengetahui pengaruh perbedaan jenis pelarut (etanol 70%, air dan etil asetat) terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) menggunakan metode DPPH.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Perbedaan jenis pelarut, yaitu etanol 70%, air dan etil asetat berpengaruh terhadap kadar flavonoid dalam ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*), dengan etanol 70% menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi.
2. Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dengan pelarut etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan paling kuat (nilai IC₅₀ paling rendah) dibandingkan air dan etil asetat.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah mengenai pengaruh perbedaan jenis pelarut (etanol 70%, air dan etil asetat) terhadap kemampuan ekstraksi flavonoid dan aktivitas antioksidan daun binahong (*Anredera cordifolia*) menggunakan metode perkolasi. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menentukan pelarut yang paling efektif dalam memperoleh ekstrak dengan kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan tertinggi. Selain itu, temuan ini berpotensi menjadi acuan bagi penelitian lanjutan dan pengembangan formulasi sediaan farmasi atau fitoterapi berbasis antioksidan alami dari daun binahong.