

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP KADAR
FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*)**

SKRIPSI

**Oleh:
ANAH ARISKAH
NIM. 17620059**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP KADAR
FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*)**

SKRIPSI

**Oleh:
ANAH ARISKAH
NIM.17620059**

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

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2022**

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP KADAR
FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK
DAUN KIPA HIT (*Tithonia diversifolia*)**

SKRIPSI

Oleh:

ANAH ARISKAH

NIM. 17620059

Telah Diperiksa dan Disetujui:

Tanggal: 07 Juni 2022

Dosen Pembimbing I



Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106200912 2 002

Dosen Pembimbing II



Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512201903 1 002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Pratiyeka Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

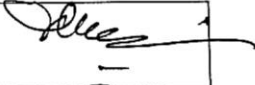

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP KADAR
FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*)**

SKRIPSI

Oleh:
ANAH ARISKAH
NIM.17620059

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)

Tanggal:

Ketua Penguji	Dr.Eko Budi Minarno, M.Pd NIP. 19630114 199903 1 001	
Anggota Penguji 1	<u>Azizatur Rahmah, M.Sc</u> NIP. 19860930 201903 2 011	
Anggota Penguji 2	Kholifah Holil, M.Si NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji 3	Mujahidin Ahmad, M.Sc NIP. 19860512 201903 1 002	

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Biologi

Dr. H. Maulana Malik Ibrahim Malang



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.

NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PERSEMBAHAN

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamduillah, sujud syukur senantiasa kupersembahkan kepada Allah SWT atas karunianya saya dijadikan manusia yang senantiasa berpikir, berilmu, sabar, ikhlas dalam melaksanakan kewajiban-Nya. Semoga dengan selesainya tugas akhir ini menjadi batu pijakan dalam meraih tujuan baik dan cita-cita kedepannya.

Kupersembahkan karya yang jauh dari kata sempurna ini kepada orang-orang hebat yang telah memberikan motivasi dan dukungannya, khususnya kepada kedua orang tua saya Alm. H. Selamat dan Ibu Hj. Warniti, serta kakak laki-laki saya Taba Arizona, atas kasih sayang, dukungan motivasi, canda tawa, dan nasihatnya, semoga Allah membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Semoga karya ini dapat bermanfaat khususnya bagi saya sendiri dan bagi orang lain. Amin

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Anah Ariskah
NIM : 17620059
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan dan/atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan dan/atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 07 Juni 2022
Yang membuat pernyataan,



Anah Ariskah
NIM. 17620059

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya

MOTTO

“BERDO’A, BERUSAHA, DAN BERSYUKUR”

**PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP KADAR
FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN
KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*)**

Anah Ariskah, Kholifah Holil, Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Kipahit (*Tithonia diversifolia*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang memberikan efek antioksidan karena senyawa flavonoid yang dikandungnya. Kipahit dapat hidup dari dataran rendah sampai dataran tinggi. Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan sangat dipengaruhi oleh lingkungan termasuk ketinggian. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*). Jenis penelitian termasuk deskriptif dengan obyek daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) yang diperoleh dari dua lokasi yaitu Kabupaten Pasuruan dan Kota Batu. Sampel diekstraksi maserasi menggunakan pelarut 96%. Kadar flavonoid total diukur menggunakan metode kolorimetri dengan spektrofotometri UV-Vis dengan standart kuersetin sedangkan aktivitas antioksidan diukur menggunakan metode DPPH dengan standart Trolox. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak daun Kipahit Kabupaten Pasuruan sebesar 16,8414 mgGAE/g dan Kota Batu sebesar 8,4450 mgGAE/g. Aktivitas antioksidan pada ekstrak daun Kipahit Kabupaten Pasuruan memiliki aktivitas lebih kuat daripada Kota Batu dengan nilai IC_{50} sebesar 6,5377 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan ekstrak daun kipahit Kota Batu memiliki nilai IC_{50} sebesar 15,7831 $\mu\text{g/mL}$.

Kata kunci : Kipahit, Flavonoid, Antioksidan, DPPH

**THE INFLUENCE OF HEIGHT PLACE OF GROWING ON TOTAL
FLAVONOID LEVELS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF KIPAHIT
LEAF EXTRACT (*Tithonia diversifolia*)**

Anah Ariskah, Kholifah Holil, Mujahidin Ahmad

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim
Islamic State University Malang

ABSTRACT

Kipahit (*Tithonia diversifolia*) is one of the medicinal plant that could give an antioxidant effect due to the flavonoid compound inside. Kipahit is a plant that is able to live on the lowland and the plateau. The growth and the development of a plant is indeed influenced by the environment, including the heights. The purpose of this research is to determine the influence the height of place growing on the total flavonoid levels and the antioxidant extract of Kipahit leaves (*Tithonia diversifolia*). activities. This is a descriptive research where the object is Kipahit leaves (*Tithonia diversifolia*). that is obtained from two locations, are Pasuruan Regency and Batu City. The sample is being extracted maceration using a solvent on 96%. The total flavonoid level is measured by using colorimeter method with spectrophotometer UV-Vis on a quercetin standard. While the antioxidant activities are measured with DPPH method on a Trolox standard. The result of this research exhibits that the total flavonoid level of Kipahit leave's extract from Pasuruan Regency is 16.8414 mgGAE/g and the one from Batu City is 8.4450 mgGAE/g. The antioxidant activity of the Kipahit leaf extract in Pasuruan Regency has a stronger activity than Batu City with an IC₅₀ value of 6.5377 g/mL, while the kipahit leaf extract in Batu City has an IC₅₀ value of 15.7831 g/mL.

Keywords: Kipahit, Flavonoid, Antioxidant, DPPH

تأثير ارتفاع معدل النمو على إجمالي مستويات الفلافونويد ونشاط مضادات الأكسدة في استخلاص أوراق كيباهيت (*Tithonia diversifolia*)

أناه أريسكاه ، خليفة خليل ، مجاهددين أحمد
قسم علم الأحياء بكلية العلوم والتكنولوجيا , جامعة مولانا مالك إبراهيم
الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

كيباهيت (*Tithonia diversifolia*) هو واحد من النباتات الطبية الذي يوفر تأثيرات مضادة الأكسدة بسبب مركبات الفلافونويد التي تحتوي عليها. كيباهيت نبات يمكنه العيش من المهدة إلى السهول المرتفعة. يتأثر نمو النباتات وتطورها بالبيئة ، بما في ذلك الارتفاع. كان الغرض من هذا البحث هو لوصف تأثير ارتفاع معدل النمو على إجمالي مستويات الفلافونويد ونشاط مضادات الأكسدة في استخلاص أوراق كيباهيت (*Tithonia diversifolia*). هذا البحث البحث من البحث الوصفي. الموضوع من هذا البحث هو أوراق كيباهيت (*Tithonia diversifolia*) التي تحصل عليها من موقعين ، وهما ريجنسي باسوروان ومدينة باتو. تستخلص العينات بالنقع باستخدام مذيب 96٪. يقاس إجمالي مستويات الفلافونويد باستخدام طريقة القياس اللوني مع مقياس الطيف الضوئي بالأشعة المرئية وفوق البنفسجية بمعيار كيرسيتين ، وأما يقاس نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH بمعيار ترولوكس. أظهرت النتائج أن إجمالي مستويات الفلافونويد لاستخلاص أوراق كيباهيت في ريجنسي باسوروان بنسبة 16.8414 مليغرام لحمض الجاليك/غرام وفي مدينة باتو بنسبة 8.4450 مليغرام لحمض الجاليك/غرام. نشاط مضادات الأكسدة لاستخلاص أوراق كيباهيت في ريجنسي باسوروان له قيمة 50IC تبلغ 6.5377 ميكروغرام/ مليلتر (قوي جدًا) وفي مدينة باتو لها قيمة 50IC تبلغ 15.7831 ميكروغرام/ مليلتر.

الكلمات الرئيسية: كيباهيت ، الفلافونويد ، مضادات الأكسدة ، DPPH

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT. yang telah memberikan rahmat, nikmat dan hidayah- Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat dalam mencapai gelar sarjana Biologi (S1) di Fakultas Sains dan Teknoli Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu, mengarahkan, membimbing dan mendukung dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi sehingga dapat menjadi suatu karya yang baik. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains & Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.Si selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Kholifah Holil, M.Si dan Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dalam menyelesaikan naskah skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
5. Prof. Dr. Ulfah Utami, M.Si selaku Dosen wali yang telah membimbing dan memberikan dorongan motivasi kepada penulis hingga dapat menyelesaikan studi.
6. Bapak/ibu dosen, laboran dan staff administrasi di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan bimbingan dan ilmu selama studi.
7. Kedua orangtua tersayang, ayahanda alm. H.Selamet dan Ibunda Hj. Warniti dan keluarga penulis, yang selalu memberikan doa, nasihat dan semangat dalam menyelesaikan studi.

8. Sahabat-sahabat seperjuangan di Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang selalu mensupport moral, nasihat, dan menjadi bagian dari perjalanan selama studi di Malang.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya, pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. Aamiin.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Malang, 07 Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
BAB I	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Batasan Penelitian	5
BAB II.....	7
2.1 Kajian Umum Kipahit (<i>Tithonia diversifolia</i>).....	7
2.1.1 Klasifikasi Kipahit (<i>Tithonia diversifolia</i>).....	10
2.1.2 Morfologi	11
2.1.3 Kandungan Kipahit.....	12
2.2 Flavonoid.....	13

2.2.1 Pengertian Flavonoid	13
2.2.2 Struktur Flavonoid	14
2.2.3 Biosintesis flavonoid.....	14
2.2.4 Uji Flavonoid	16
2.2.5 Faktor Yang Mempengaruhi Metabolit Sekunder	17
2.3 Antioksidan	19
2.3.1 Pengertian Antioksidan.....	19
2.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan	20
2.3.4 Hubungan Flavonoid dengan Antioksidan	22
2.3.4 Metode Analisis Antioksidan DPPH (<i>2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil</i>).....	23
BAB III	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	28
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	28
3.3.1 Alat Penelitian.....	28
3.3.2 Bahan Penelitian	29
3.4 Pelaksanaan Penelitian	29
3.4.1 Preparasi Sampel.....	29
3.4.2 Ekstraksi Maserasi	30
3.5. Uji Kadar Flavonoid Total	30
3.5.1. Pembuatan Larutan Pereaksi.....	30
3.6 Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kipahit	32
3.7 Analisis Data	35
BAB IV	36
4.1 Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Kipahit (<i>Tithonia diversifolia</i>).....	36
4.2 Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Kipahit (<i>Tithonia diversifolia</i>).....	42
BAB V.....	50
5.1 Kesimpulan.....	50

5.2	Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA		51

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Kadar Flavonoid	38
Tabel 4.2 Nilai Parameter Lingkungan	40
Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Tumbuhan Kipahit	11
Gambar 2.2 Struktur umum flavonoid.....	14
Gambar 2.3 Biosintesis Flavonoid	15
Gambar 2.4 Biosintesis Flavonoid	15
Gambar 2.5 Reaksi Flavonoid- AlCl_3	16
Gambar 2.6 Mekanisme Perendaman Oleh Flavonoid.....	22
Gambar 2.7 Struktur Kimia DPPH.....	23
Gambar 2.8 Reaksi Penghambatan DPPH.....	24
Gambar 3.1 Kurva Larutan Standar Kuersetin	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian	57
Lampiran 2 Data Hasil Penelitian	61

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alam adalah salah satu ciptaan Allah yang di dalamnya terdapat beranekaragam jenis tumbuhan. Keanekaragaman jenis tumbuhan tersebut juga diikuti dengan keanekaragaman manfaatnya bagi manusia, salah satunya sebagai obat-obatan. Keanekaragaman tumbuhan baik jenis maupun manfaatnya ini telah dikemukakan oleh Allah SWT dalam Al-Qur'an QS: Asy-Syu'ara [26]: 7-8 sebagai berikut:

أَو لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ۘ

Artinya: *Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman (QS: Asy-Syu'ara [26]: 7-8).*

Al-Qurthubi (2009) menjelaskan maksud dari ayat tersebut adalah Allah memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya jika mereka melihat dengan hati dan mata, niscaya akan mengetahui bahwa Allah lah yang berhak disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu. Menurut tafsir Jalalain (2009), kata *أَو لَمْ يَرَوْا* (*Dan apakah mereka tidak memperhatikan*) maksudnya tidak memikirkan tentang *إِلَى الْأَرْضِ كَمْ* (bumi, betapa Kami tumbuhkan di bumi itu) alangkah banyaknya *مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ* (dari bermacam-macam tumbuh-tumbuhan yang baik) jenisnya. Menurut Shihab

(2002) kalimat زُجْ كَرِيمٍ menunjukkan bahwa tumbuhan yang dimaksud adalah tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup.

Salah satu manfaat tumbuhan yaitu untuk mengobati penyakit. Potensi ini dimungkinkan karena di dalamnya mengandung zat aktif yang dapat dimanfaatkan untuk menyembuhkan penyakit, oleh karena itu disebut tumbuhan obat (Sada dan Tanjung, 2010). Hal ini merupakan tanda kuasa Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan sesuai perintah yang tertulis dalam Firman-Nya.

Secara umum kegunaan tumbuhan obat sebenarnya disebabkan oleh kandungan senyawa yang dimilikinya. Kemampuan yang dimiliki suatu tumbuhan didukung dari senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Senyawa aktif pada tumbuhan biasa disebut sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder ini merupakan molekul-molekul kecil, bersifat spesifik dan mempunyai struktur yang bervariasi dimana setiap jenisnya memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda (Ergina, 2014). Salah satu kelompok metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tumbuhan adalah flavonoid (Rajalakshmi, 1985).

Flavonoid merupakan senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$. Struktur flavonoid dapat diidentifikasi menggunakan analisis kualitatif spektrofotometer UV-Vis dengan cara spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak, sedangkan untuk menentukan jumlah flavonoid pada suatu ekstrak dapat menggunakan analisis kuantitatif spektrofotometer UV-Vis dengan cara mengukur absorbansinya. Absorbansi sebagai analisis kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear

yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam suatu tumbuhan juga semakin tinggi (Neldawati, 2013).

Kadar flavonoid pada suatu tumbuhan memiliki kadar yang berbeda-beda. Perbedaan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor baik internal maupun eksternal. Faktor internal seperti gen dan faktor eksternal diantaranya suhu, cahaya, kelembapan, dan kandungan unsur hara didalam tanah (Sholekah, 2017). Malinkova (2013) menambahkan bahwa dalam penelitiannya kadar flavonoid berhubungan erat dengan faktor lingkungan seperti tempat tumbuh tanaman. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Sari (2015) yang menunjukkan ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling rendah memiliki kadar flavonoid total paling tinggi, sedangkan ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling tinggi memiliki kadar flavonoid total paling rendah. Flavonoid pada tanaman memerlukan gula dalam produksinya. Gula ini salah satunya diperoleh dari fotosintesis di sel yang mengandung klorofil. Proses fotosintesis ini akan dipengaruhi oleh intensitas cahaya. Intensitas cahaya ini juga akan dipengaruhi oleh ketinggian tempat tumbuh dimana semakin tinggi tempat tumbuh maka intensitas cahaya akan semakin kecil.

Senyawa flavonoid yang tersebar dalam tumbuhan diketahui mempunyai beberapa peran salah satunya sebagai aktivitas antioksidan. Konate *et al* (2010) menyatakan bahwa semakin besar kandungan senyawa golongan flavonoid maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan adalah Kipahit (*Tithonia diversifolia*). Berdasarkan penelitian (Sasmita dkk. 2017), tumbuhan Kipahit (*Tithonia difersifolia*) mengandung senyawa flavonoid

dan polifenol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Berbagai penelitian mengenai antioksidan Kipahit telah dilaporkan yaitu dalam penelitian Anggresani (2017) bahwa ekstrak etanol 70% daun kipahit dengan kadar flavonoid 0,00592667% memiliki efek aktivitas antioksidan sedang. Gama (2014) menambahkan bahwa bunga kering kipahit mengandung senyawa fenolik dengan IC_{50} kuat.

Kurangnya penelitian lebih lanjut mengenai tumbuhan Kipahit, maka penelitian ini perlu dilakukan untuk melengkapi penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Anggresani (2017). Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap kadar flavonoid serta aktivitas antioksidan pada daun Kipahit. Sampel tumbuhan tersebut diambil dari lokasi dengan kondisi lingkungan yang berbeda. Lokasi tumbuh yang pertama yaitu di daerah Batu yang merupakan dataran tinggi dengan suhu rerata suhu $23^{\circ}C-25^{\circ}C$ setiap harinya sedangkan lokasi tumbuh yang kedua yaitu di daerah Pasuruan yang merupakan dataran rendah dengan rerata suhu $27^{\circ}C-33^{\circ}C$ setiap harinya. Penggunaan organ daun pada penelitian ini dikarenakan senyawa flavonoid lebih banyak terdapat pada daun, hal ini dikarenakan adanya klorofil yang berperan dalam fotosintesis sehingga menghasilkan gula untuk produksi senyawa flavonoid (Sari, 2015).

Penentuan kadar flavonoid dan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini perlu dilakukan karena pada senyawa tersebut dalam kadar tertentu memiliki komponen aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai obat (Robinson, 1995). Senyawa antioksidan pada penelitian ini diisolasi menggunakan metode ekstraksi. Ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut etanol 96% didasarkan pada tingkat keamanan dan kemudahan saat diuapkan

serta sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar serta dapat menarik senyawa flavonoid dan fenolik secara optimum (Sulastri *et al*, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimanakah pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap kadar flavonoid total ekstrak daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)?
2. Bagaimanakah pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap kadar flavonoid total ekstrak daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*).
2. Mengetahui pengaruh ketinggian tempat tumbuh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi tentang kandungan senyawa flavonoid total dan aktivitas antioksidan yang terdapat pada daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*).
2. Memanfaatkan kandungan senyawa flavonoid yang terdapat pada daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) sebagai antioksidan.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian pada penelitian ini adalah

1. Sampel bahan yang digunakan yaitu daun Kipahit yang masih segar (tidak layu) dan secara fisik masih utuh. Daun Kipahit yang diambil adalah daun bagian tengah yakni mulai daun nomor 3 hingga daun nomor 7 dari pucuk tumbuhan. Sampel tumbuhan diambil dari lokasi yang berbeda yaitu di Pasuruan dan Batu
2. Metode ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 96%.
3. Uji kuantitatif yang dilakukan yaitu uji kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan standart kuersetin dan uji Aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dengan standar Trolox.
4. Konsentrasi ekstrak, kuersetin dan Trolox yang digunakan adalah 2,4,6,8,10 dan 12 ppm.
5. Analisis data kadar flavonoid didapatkan dari persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding kuersetin dari nilai absorbansi yang didapat pada pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis sedangkan analisis data aktivitas antioksidan diperoleh dari perhitungan IC_{50} .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Umum Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

Kipahit (*Tithonia diversifolia*) merupakan tumbuhan asli Meksiko dan Amerika Tengah. Tumbuhan ini telah diintroduksi ke sebagian besar negara-negara tropis termasuk Indonesia dan negara lain di Asia Tenggara dengan habitat tumbuh pada ketinggian 200 - 1500 m dpl (Setiawati, dkk. 2008). Menurut Lestari (2016) tumbuhan Kipahit dapat tumbuh baik pada tanah yang kurang subur, sebagai semak di pinggir jalan, lereng-lereng tebing atau gulma di sekitar lahan pertanian.

Di Indonesia tumbuhan Kipahit dikenal dengan sebutan kembang bulan atau tumbuhan insulin (Amanatie dan Eddy, 2015) selain itu tumbuhan ini memiliki banyak nama pada negara lain seperti Mexican Sunflower, Tree Marigold (English), Guasmara, Jalacate (Spanish), Verschiedenblaettrige Fack elblume (Germany), Daoruang-Yipun, Denchamat-Nam, Thantawan-Nu (Thailand) (Ramadani, dkk, 2018). Tumbuhan Kipahit umumnya dimanfaatkan pada bagian daunnya, dari daun tersebut banyak digunakan oleh masyarakat sebagai antimalaria (Nafiu, dkk. 2014), antiinflamasi (Sijuade dkk. 2016), pengobatan perut kembung (Takahashi, 2005), obat gatal-gatal, antidiabetes, antioksidan alami (Fitmawati dan Erwina, 2017). Tumbuhan ini juga mengandung bahan insektisida dan nematisida dan umum digunakan sebagai pupuk hijau, ditanam di lereng-lereng curam untuk mengendalikan erosi, selain itu ditanam di sepanjang jalan dan diperkebunan teh. Di Pulau Jawa, kayunya

dikumpulkan untuk kayu bakar. Bunganya dapat digunakan sebagai obat luka atau luka lebam (Setiawati, dkk. 2008).

Penggunaan tumbuhan sebagai obat-obatan telah dikemukakan oleh Allah dalam Al-Qur'an QS:Az-Zumar [39]: 21 sebagai berikut:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنْبِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا
أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهَيِّجُ فَتَرَهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطًّا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ ۝

Artinya: *Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal.* (QS: Az-Zumar [39]: 21).

Menurut tafsir Al munir (2020), Allah telah menurunkan air hujan untuk diserap bumi dan menjadikannya bumi tersebut menumbuhkan tumbuhan dengan beragam jenis dan warna. Setelah itu tumbuhan tersebut layu dan mengering. Pada yang demikian itu terdapat pelajaran yang dapat dipetik oleh orang-orang yang berakal sehat yaitu mengetahui bahwa keadaan kehidupan dunia seperti tumbuhan, sama-sama cepat hilang dan sirna dari keindahannya, serta tidak ada keraguan pada mereka bahwa Allah SWT berkuasa untuk melakukan ba'ats dan hasyr.

Menurut Quraish shihab dalam tafsir Al-Misbah (2002) menyebutkan bahwa Allah telah menurunkan air dari langit lalu mengalirkannya dalam bentuk mata air di dalam perut bumi kemudian menumbuhkan tumbuhan yang beragam dan Dia pula yang menjadikannya terpecah, dalam proses perpindahan itulah dari satu kondisi ke kondisi terdapat peringatan bagi orang-orang yang berakal. hal tersebut juga diungkapkan oleh

Jalaluddin as-Suyuthi dalam tafsir Jalalain (2009) bahwa Allah menjadikan sumber air dalam bumi kemudian di tumbuhkan tumbuhan lalu menjadikannya (tumbuhan) itu hancur, pada yang demikian itu dapat diambil pelajaran untuk menyimpulkan keesaan dan kekuasaan Allah.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa banyak jenis-jenis tumbuhan yang mampu tumbuh di bumi ini dengan adanya air hujan. Tumbuhan-tumbuhan yang hidup di muka bumi ini banyak sekali macam-macam dan manfaatnya terutama untuk umat manusia baik untuk kehidupan maupun untuk kesehatan.

Demikianlah Allah SWT memberitahukan kepada kita sebagai orang yang berfikir agar dapat memanfaatkan segala yang Allah SWT telah ciptakan di muka bumi yang merupakan tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan-Nya. Kita sebagai manusia harus bisa memanfaatkan hasil alam seperti tumbuhan yang kemudian dapat kita olah sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit. Dengan banyaknya tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, maka Rasulullah SAW memerintahkan kita untuk berobat ketika terkena suatu penyakit. Sebagaimana hadits yang diriwayatkan oleh Abu Hurairah RA bahwa Rasulullah SAW bersabda:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً (رواه البخارى)

Artinya: “Tidaklah Allah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya” (HR. Al-Bukhari No.5354).

Diriwayatkan juga oleh imam Muslim :

عن جابر بن عبد الله لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa Ta’ala.” (HR. Muslim)

Hadits diatas menyebutkan bahwa kehidupan manusia tidak dapat dipisahkan dari penyakit. Penyakit rohani dan jasmani adalah dua jenis penyakit yang diderita setiap individu. Selain itu, tidak ada penyakit yang tidak dapat disembuhkan. Allah SWT menurunkan penyakit serta pengobatannya (Abu Husain). Hadits tersebut juga mengisyaratkan diizinkan seorang muslim mengobati penyakit yang dideritanya, jika obat yang digunakan tepat mengenai sumber penyakit, maka dengan izin Allah SWT penyakit tersebut akan hilang dan orang sakit akan mendapatkan kesembuhan.

Beberapa ayat dan hadits diatas dapat diketahui bahwa Allah SWT telah memperlihatkan kekuasaannya sebagai pencipta alam menumbuhkan tanaman yang memberikan banyak manfaat, salah satunya adalah sebagai bahan pengobatan. Sebagai makhluk hidup, manusia tidak bisa lepas dari penyakit, penyakit yang diturunkan oleh Allah SWT pasti ada obatnya, hanya saja diperlukan usaha (menuntut ilmu) untuk menemukan bahan obatnya. Oleh karena itu, manusia harus senantiasa mengembangkan ilmu pengetahuannya seperti ilmu yang membahas tentang obat-obatan yang berasal dari alam, misalnya tumbuh-tumbuhan sehingga mampu memecahkan penyakit.

2.1.1 Klasifikasi Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

Tumbuhan Kipahit memiliki sistematik sebagai berikut : (USDA,2018)

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Superdivisi : Spermatophyta

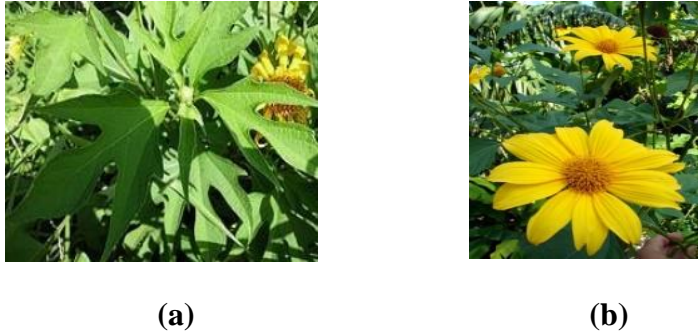
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida -Dicotyledons
Sub kelas : Asteridae
Ordo : Asterales
Familia : Asteraceae / Compositae
Genus : *Tithonia* Desf. ex Juss.
Spesies : *Tithonia diversifolia* (Hemsl)

2.1.2 Morfologi

Tumbuhan ini merupakan perdu dengan tinggi mencapai ± 5 m dengan batang berbentuk bulat, berkayu, batang berwarna hijau, tajuk tumbuhan ini mudah dipangkas dan cepat tumbuh kembali. Tumbuhan ini mempunyai bunga yang majemuk dan terletak di ujung ranting. Tangkai bunga ini berbentuk bulat dan kelopak bunga berbentuk tabung serta memiliki bulu-bulu halus dengan warna kelopak bunga yang hijau serta mahkota berwarna kuning terang. Buah berbentuk bulat sewaktu muda berwarna hijau setengah tua coklat. Biji berbentuk bulat, keras, dan berwarna coklat. Perakaran tumbuhan ini cukup dalam dan tumbuh cukup cepat sehingga biasa tumbuh pada pekarangan sebagai tumbuhan hias serta tumbuhan obat (Hutapea, 1994).

Daun kipahit merupakan daun tunggal dengan ujung runcing, pertulangan menyirip, panjang 26 - 32 cm, berwarna hijau cemerlang, tepi daun bertoreh dan bergerigi, susunan daun berhadapan selangseling dengan jarak beragam 2-7 cm, dan pada setiap ketiak daun terdapat tunas atau cabang yang akan mengeluarkan bunga. Sepanjang batang 60-70 cm teratas memiliki dan 11-17 helai daun. Pada tajuk berdaun

70 cm teratas mengandung unsur hara yang cukup tinggi yaitu 2,52% N; 1,97% K; 0,29% P; 0,51% Ca; dan 0,39% Mg (Hakim, dkk 2012).



Gambar 2.1 (a) Daun Kipahit, (b) Bunga Kipahit (Amanatie dan Eddy, 2015)

2.1.3 Kandungan Kipahit

Tumbuhan Kipahit mengandung senyawa saponin, polifenol, dan flavonoid pada bagian daun, kulit batang dan akarnya (Hutapea, 1994). Berdasarkan penelitian Susanti dkk (2015) menyatakan bahwa hasil uji fitokimia tumbuhan Kipahit mengandung komponen senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid dan flavonoid. Otusanya dan Ilori (2012) menambahkan hasil penelitiannya menyatakan bahwa hasil skrining fitokimia dengan pelarut metanol dan air ekstrak Kipahit mengandung flavonoid, tannin, glikosida, terpenoid, dan fenol, kemudian pengujian lebih lanjut dengan pelarut metanol menunjukkan bahwa ekstrak Kipahit mengandung saponin dan alkaloid.

Daun Kipahit mengandung sedikitnya 12 senyawa terpenoida. 14 senyawa flavonoida, saponin dan gula yang biasa digunakan dalam ilmu kedokteran sebagai obat diabetes dan lepra (Hendra dkk.,2013). Dalam bidang pertanian daun Kipahit sedang dalam pengembangan sebagai pestisida botani menurut Widari (2005) hasil

fitokimia simplisia daun Kipahit menunjukkan terdapat senyawa kimia yang berperan sebagai racun bagi serangga antara lain: flavonoid dapat menghambat atau mengganggu sistem pernapasan serangga, Tanin dapat bereaksi dengan protein dan menimbulkan masalah pada aktivitas enzim di dalam tubuh serangga sehingga semakin tinggi tanin maka proses kerja dari enzim di dalam serangga semakin terganggu, Saponin yang dapat merusak saraf serangga dan mengakibatkan nafsu makan berkurang dan akhirnya mati.

2.2 Flavonoid

2.2.1 Pengertian Flavonoid

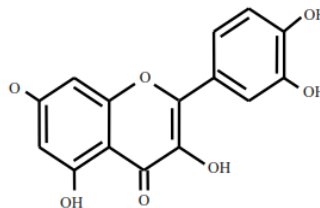
Metabolit sekunder pada tumbuhan telah diketahui memberikan efek farmakologis, diantaranya antioksidan, sitotoksik, antimikroba dan antivirus (Rahakbauw, 2016). Salah satu metabolit sekunder yang penting pada tumbuhan adalah flavonoid yang merupakan turunan dari 2-phenyl-benzyl- γ -pyrone dengan biosintesis menggunakan jalur fenilpropanoid. Flavonoid pada tumbuhan berperan memberi warna, rasa pada biji, bunga, dan buah serta aroma (Mierziak *et al.*, 2014), serta melindungi tumbuhan dari pengaruh lingkungan, sebagai antimikroba, dan perlindungan dari paparan sinar UV. Dalam bidang kesehatan, flavonoid berperan sebagai anti bakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan antidiabetes (Panche *et al.*, 2016).

Dalam perkembangannya, hingga tahun 2011 ditemukan lebih dari 9000 flavonoid dan telah digunakan untuk suplemen kesehatan (Wang *et al.*, 2018). Flavonoid dibagi menjadi beberapa sub kelompok berdasarkan substitusi karbon pada

gugus aromatik sentral (C). Subkelompok tersebut adalah: flavon, flavonols, flavanone, flavanol/ katekin, antosianin dan kalkon (Panche *et al.*, 2016).

2.2.2 Struktur Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok polifenol dan diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia serta biosintesisnya (Seleem *et al.*, 2017). Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik yang digabungkan oleh jembatan karbon (C6-C3-C6) (Uzel *et al.*, 2005). Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk 17 teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid kedalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon disekitar molekulnya (Redha, 2010).

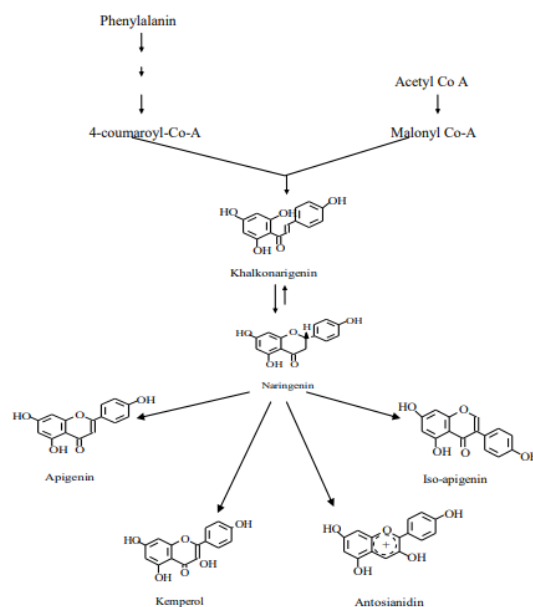


Gambar 2.2 Struktur Umum Flavonoid (Harbone, 1987).

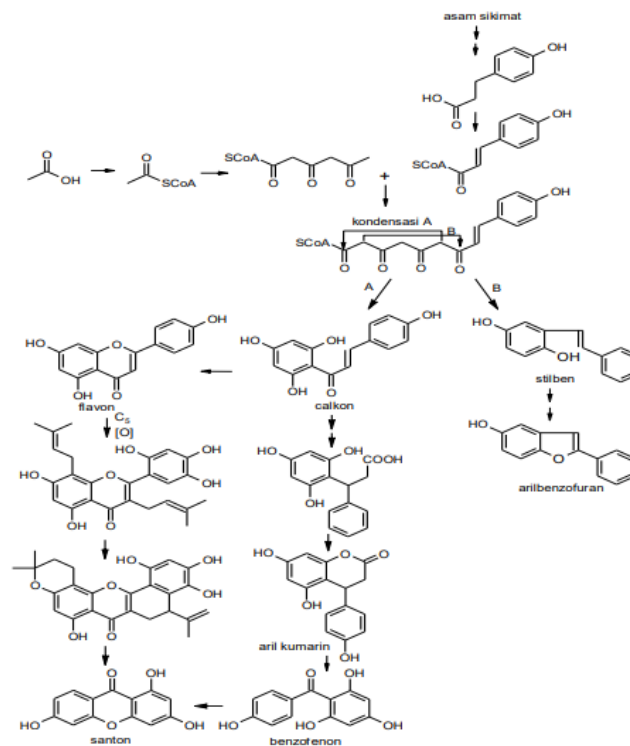
2.2.3 Biosintesis flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolik alam yang tersebar merata dalam dunia tumbuh-tumbuhan, tidak terdapat pada mikroorganisme, bakteri, alga, jamur dan lumut. Sebagian besar senyawa flavonoid dalam bentuk glikosida (gula dan

aglikon) dan juga sebagai aglikon. Dalam bentuk glikosidanya flavonoid larut dalam air dan sedikit larut dalam pelarut organik. Struktur senyawa flavonoid secara biosintesis berasal dari penggabungan jalur sikimat C6-C3 (cincin A) dan jalur asetat malonate. Menurut Hahlbrock (1980), Flavonoid yang dianggap pertama kali terbentuk pada biosintesis ialah khalkon. Modifikasi lebih lanjut mungkin terjadi pada berbagai tahap dan menghasilkan penambahan (pengurangan) hidroksilasi, metilasi gugus hidroksil atau inti flavonoid; isoprenilasi gugus hidroksil atau inti flavonoid ; metilnasi gugus orto-dihidroksil, dimerisasi (pembentukan biflavonoid) ; pembentukan bisulfat dan yang terpenting, glikosilasi gugus hidroksil (pembentukan O-glikosida) atau inti flavonoid (pembentukan flavonoid C-glikosida). Secara lengkapnya biosintesis flavonoid dapat dilihat dalam skema atau gambar berikut ini:



Gambar 2.3 Biosintesis Flavonoid (Parwata, 2016)



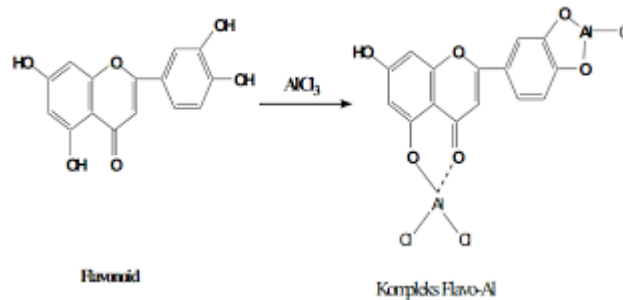
Gambar 2.4 Biosintesis Flavonoid (Parwata, 2016)

2.2.4 Uji Flavonoid

Kandungan total flavonoid diukur berdasarkan keberadaan kuersetin didalam ekstrak tumbuhan. Analisis kandungan flavonoid dilakukan dengan penambahan pereaksi FeCl_3 . Sebagai asam lewis, AlCl_3 akan membentuk ikatan kompleks dengan gugus hidroksil dari senyawaan flavonoid. Perubahan ini diidentifikasi malalui absorbansi pada daerah sinar tampak melalui alat spektrofotometer. Semakin banyak kandungan senyawa flavonoid dalam suatu ekstrak maka secara visual warna kuning yang terbentuk akan semakin pekat (Neldawati, 2013).

Prinsip dari metode AlCl_3 yaitu pembentukan kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Dalam

penambahannya, aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid. Kuersetin dipilih sebagai larutan pembanding karena merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks (Chang, 2002).



Gambar 2.5 Reaksi pembentukan kompleks Flavonoid- $AlCl_3$ (Haeria, dkk. 2016)

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultraviolet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak yang dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Absorbansi sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam suatu tanaman juga semakin tinggi (Neldawati, 2013).

2.2.5 Faktor Yang Mempengaruhi Metabolit Sekunder

2.2.5.1 Faktor Morfogenik

Faktor Morfogenik merupakan faktor yang mempengaruhi proses pertumbuhan dan diferensial sel-sel individu menjadi jaringan kemudian organ dan akhirnya menjadi organisme yang dapat dikenali. Tumbuhan memiliki beberapa jaringan yang berfungsi sebagai penyimpanan, sekresi, pendukung dan penyokong. Jaringan-jaringan ini dikelompokkan berdasarkan bahan yang diproduksi seperti madu, getah, resin, dan minyak. Perbedaan jaringan ini juga menyebabkan perbedaan jalur metabolismenya (Verma dan Shukla, 2015).

2.2.5.2 Faktor Genetik

Beberapa studi genetik menunjukkan bahwa produksi metabolit sekunder pada tumbuhan terjadi dibawah control genetik. Ada ribuan gen yang ditemukan pada genome tumbuhan yang diasumsikan sebanyak 15-25% gen yang berkontribusi pada metabolit sekunder. Gen tersebut diatur oleh transcription factors (TF) yang berbeda yang mempengaruhi perubahan metabolit dan ekspresi gen (Verma dan Shukhla, 2015).

2.2.5.3 Faktor Lingkungan

Kandungan metabolit sekunder pada suatu organisme dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti cahaya, unsur hara yang tersedia, komposisi medium, perbedaan morfologi, jaringan tumbuhan yang digunakan dan aktivitas biosintesa (Nurfitriani, 2016). Metusalach (2007) menambahkan bahwa pertumbuhan suatu biota dipengaruhi faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal seperti habitat, musim, suhu perairan, jenis makanan yang tersedia. Sedangkan faktor internal seperti umur, ukuran, dan faktor biologis lainnya.

Kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman sangat dipengaruhi oleh letak geografis, suhu, iklim, dan kesuburan tanahnya. Komposisi komponen kimia bervariasi dari satu daerah ke daerah lain pada tanaman yang sama (Agustina, 2016). Menurut Astuti (2014), rimpang yang dibudidayakan di dataran rendah memiliki senyawa yang lebih banyak dibandingkan rimpang yang ditanam di dataran tinggi, dan waktu panen juga dapat mempengaruhi kadar metabolit sekunder pada tumbuhan.

Perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh juga dapat menyebabkan perbedaan jenis dan jumlah dari metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan yang tumbuh di suatu daerah tertentu dengan daerah lainnya. Selain itu hal yang menyebabkan perbedaan kandungan metabolit sekunder adalah waktu pengumpulan (Katno, 2008). Menurut penelitian Hasan (2017) waktu panen berpengaruh terhadap produksi dan kadar flavonoid total tempuyung. Panen daun secara bertahap dan kemudian daun atas dipanen setelah bunga mekar menghasilkan bobot basah daun bagian atas tertinggi, sebaliknya panen daun secara bersamaan saat kuncup bunga dan bunga mekar menghasilkan kadar flavonoid total daun atas tertinggi.

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menunda dan mencegah kerusakan yang di sebabkan oleh proses oksidasi. Antioksidan ini mampu mengubah sel-sel tubuh menjadi pengaman untuk melawan radikal bebas sebagai penyebab berbagai penyakit. Antioksidan dapat menghambat oksidasi melalui 2 jalur, pertama yaitu melalui penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*). Anti oksidan jenis

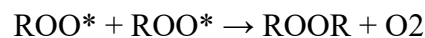
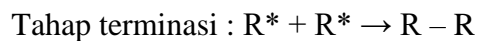
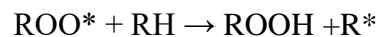
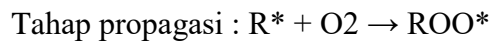
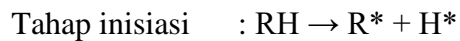
ini di sebut dengan antioksidan primer. Termasuk dalam jenis ini adalah senyawa-senyawa fenolik seperti galat flavonoid. Jalur kedua tanpa melibatkan penangkapan radikal bebas. Anti oksidan ini di sebut dengan antioksidan sekunder yang mekanismenya melalui pengikatan logam dan menyerap sinar ultraviolet (Pokorny *et al.*, 2007).

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Radikal bebas adalah senyawa kimia yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, senyawa ini harus mencari elektron lain sebagai pasangan (Harnani, 2005). Antioksidan mampu menghilangkan, membersihkan, menahan oksigen reaktif atau radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan ditujukan untuk mencegah dan mengobati penyakit seperti aterosklerosis, stroke, diabetes, alzheimer, dan kanker (Aqil *et al.*, 2006).

Antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan enzim dan vitamin. Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroxidases (GSH.Prx). Antioksidan vitamin meliputi alfa tokoferol (Vitamin E), beta karoten dan asam askorbat (Vitamin C). Antioksidan vitamin lebih populer sebagai antioksidan dibandingkan enzim. Antioksidan yang termasuk ke dalam vitamin dan fitokimia disebut flavonoid (Ingrid dan Santoso, 2014).

2.3.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan adalah pertahanan untuk menetralkan radikal bebas. Ketidakseimbangan akan terjadi jika pembentukan radikal bebas melebihi sistem pertahanan, sehingga radikal bebas tidak mampu didetoksifikasi (Saleh & Agarwal, 2002). Terjadinya perubahan keseimbangan karena berlebihnya ROS atau berkurangnya antioksidan yang berfungsi menetralkan ROS, merupakan status positif stres oksidatif. Kondisi tubuh yang berhubungan dengan stres oksidatif adalah penyakit degeneratif (Langseth, 1995). Antioksidan ialah suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Inhibitor radikal bebas menghambat suatu reaksi radikal bebas dengan membentuk reaksi radikal bebas tak reaktif dan relatif stabil. Reaksi berantai pada radikal bebas (tanpa ada antioksidan) terdiri dari tiga tahap, yaitu:



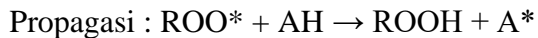
Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal bebas (R^*) yang sangat reaktif, karena (RH) melepaskan satu atom hidrogen, hal ini dapat disebabkan adanya cahaya, oksigen atau panas. Pada tahap propagasi, radikal (R^*) akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^*). Radikal peroksi selanjutnya akan menyerang RH

(misalnya pada asam lemak) menghasilkan hidroperoksida dan radikal baru. Hidrogen peroksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton (Nugroho, 2007).

Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga antar radikal bebas dapat saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks. Dengan adanya antioksidan, antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas (R^* , ROO^*), mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil RH . Sementara turunan radikal antioksidan (A^*) memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula R^* . Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal lipid mengikuti persamaan reaksi sebagai berikut (Inggrid dan Herry, 2014)) :



Radikal lipida

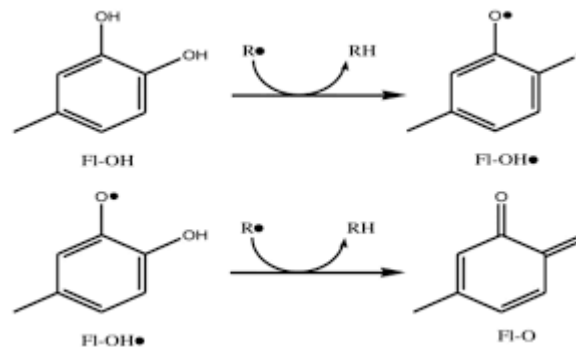


2.3.4 Hubungan Flavonoid dengan Antioksidan

Salah satu sumber antioksidan alami berasal dari tumbuhan. Tumbuhan mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan salah satunya adalah senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas.

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu

mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas, dimana R^\bullet merupakan senyawa radikal bebas, FI-OH merupakan senyawa flavonoid sedangkan FI-OH \bullet merupakan radikal flavonoid. Reaksi peredaman radikal bebas oleh senyawa flavonoid seperti dalam gambar berikut:

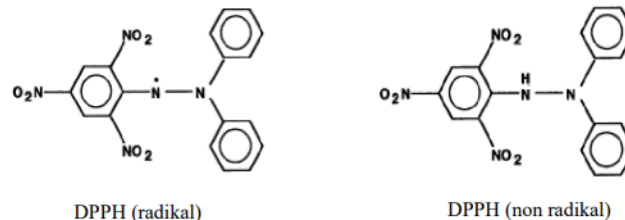


Gambar 2.6 Mekanisme Peredaman Radikal oleh Flavonoid (Kandaswami dan midelton, 1997)

2.3.4 Metode Analisis Antioksidan DPPH (*2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil*)

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat adalah radikal bebas stabil dengan warna ungu

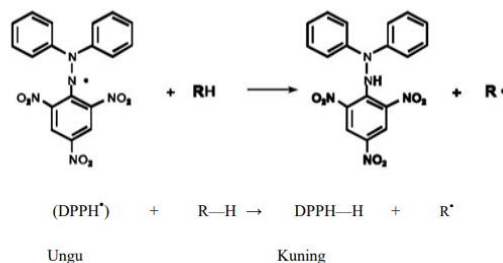
gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk nonradikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Yu, 2008)



Gambar 2.7 Struktur kimia senyawa DPPH radikal dan non radikal (Molyneux, 2004)

Metode yang umum untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah dengan DPPH, DPPH adalah 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. Pada metode ini antioksidan (AH) bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan cara mendonorkan atom hidrogen, menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning, intensitas warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm.

Pada metode ini yang diukur adalah aktivitas penghambatan radikal bebas. Metode ini tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. DPPH digunakan secara luas untuk menguji aktivitas antioksidan makanan. Warna berubah menjadi kuning saat radikal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H (Inggrid dan Santoso, 2014).



Gambar 2.8 Reaksi Penghambatan Radikal DPPH (Prakash, 2001)

Metode DPPH merupakan analisis untuk mengetahui aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (1,1 –diphenyl-2- picrylhydrazyl). Analisis dari DPPH digunakan sebagai uji dalam mencari kemampuan menangkap radikal suatu senyawa dalam ekstrak tumbuhan. DPPH adalah komponen yang berwarna ungu yang tidak berdimerisasi dan berbentuk kristalin. Dalam metode ini, DPPH akan mentransfer elektron atau atom hidrogen ke radikal bebas sehingga menyebabkan karakter radikal bebas ternetralisasi. Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Keuntungan metode DPPH adalah lebih sederhana dan waktu analisis yang lebih cepat (Wulansari, 2018).

Metode ini tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu, tetapi untuk semua senyawa antioksidan dalam sampel. DPPH digunakan secara luas untuk menguji aktivitas antioksidan makanan. Warna berubah menjadi kuning saat radikal DPPH menjadi berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus berikut ini.

$$(\% \text{ Inhibisi }) = \frac{\text{Abs0} - \text{Abs1}}{\text{Abs0}} \times 100\%$$

% 1 = % Hambatan

Abs0 = Absorbansi blanko

Abs1 = Absorbansi sampel

Berdasarkan rumus tersebut, makin kecil nilai absorbansi maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal. Metode DPPH menggunakan parameter IC_{50} yaitu menunjukkan konsentrasi uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil nilai IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai penangkal radikal bebas. Tingkat kekuatan antioksidan menggunakan metode uji DPPH dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Firdianny, 2013)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat deskriptif. Tahap penelitian dimulai dengan ekstraksi daun Kipahit menggunakan metode ekstraksi maserasi, kemudian dilanjutkan tahap kedua yaitu analisis kuantitatif kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Pengujian kadar flavonoid pada penelitian ini menggunakan metode $AlCl_3$ dengan standar kuersetin, sedangkan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan standar Trolox.

3.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2021-Januari 2022. Pengambilan sampel daun Kipahit dilaksanakan di 2 tempat. Sampel pertama diambil dari Desa Ngadimulyo, Pasuruan dengan ketinggian 247 mdpl sedangkan sampel kedua diambil dari Desa Sidomulyo, Batu dengan ketinggian 935 mdpl. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Program studi Biologi dan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gunting, plastik, oven, ayakan 40 mesh, toples masersi, toples kaca, spatula, *rotary evaporator*, labu ukur,

labu takar, aluminium foil, timbangan analitik, pipet mikro, cuvet, gelas vial 2 ml, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex mixer, dan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) yang diambil dari 2 lokasi yang berbeda yaitu Desa Ngaimulyo, Pasuruan dan Desa Sidomulyo, Batu. Bahan lain yang digunakan adalah kertas label, tisu, aquades, etanol 96%, etanol p.a, metanol p.a, AlCl₃ 10% , Kalium Asetat, Kuersetin, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) 0,1 mM, Trolox.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Sampel daun kipahit (*Tithonia diversifolia*) diambil dari Kecamatan Sukorejo Kabupaten Pasuruan dan Kota Batu. Daun kipahit yang diambil adalah daun tumbuhan yang masih segar (tidak layu) dan secara fisik masih utuh. Daun diambil pada bagian tengah yakni mulai daun nomor 3 hingga daun nomor 7 dari pucuk tanaman. Menurut Taofik *et al* (2010) daun paitan pada nomor 3 sampai 7 dari ujung tangkai atau batang merupakan daun yang paling baik metabolismenya. Proses pembuatan simplisia dimulai dari sortasi, pembersihan, pencucian, penirisan, perajangan, dan pengeringan menggunakan oven. Sebanyak 1 kg daun Kipahit dicuci kemudian di angin-anginkan, selanjutnya dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C selama 48 jam sampai kadar air habis atau biasa disebut dengan simplisia kasar.

Simplisia yang masih kasar tersebut ditimbang untuk kemudian diserbukkan menggunakan blender. Hasil simplisia yang telah di blender kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh sehingga diperoleh serbuk simplisia halus untuk kemudian ditimbang Kembali. Tujuan dilakukan penghalusan pada sampel hingga menjadi serbuk simplisia yaitu agar memperluas permukaan sampel serta memudahkan bertemunya pelarut dan sampel saat proses ekstraksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Mutmainnah, 2015) bahwa semakin kecil ukuran bahan (sampel) yang digunakan maka semakin besar pula luas permukaannya dan terjadinya interaksi antara sampel dan pelarut dalam proses ekstraksi tersebut dapat berlangsung secara efektif.

3.4.2 Ekstraksi Maserasi

Disiapkan toples untuk maserasi. Tahap pertama yang dilakukan dalam ekstraksi sampel yaitu penimbangan simplisia. Simplisia daun Kipahit sebanyak 300 gram diekstrak dengan perbandingan pelarut 1:3. Sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 96% lalu disimpan dalam suhu kamar selama 2x24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan kemudian disaring. Filtrat hasil penyaringan kemudian dipisahkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C samai diperoleh ekstrak kental.

3.5. Uji Kadar Flavonoid Total

3.5.1. Pembuatan Larutan Pereaksi

1) Pembuatan Kalium Asetat 1 M

Kalium asetat 1 M dibuat dengan cara ditimbang 500 mg kalium asetat, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

2) Pembuatan AlCl_3 10%

AlCl_3 10% dibuat dengan cara ditimbang 500 mg AlCl_3 , kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dilarutkan etanol p.a sampai tanda batas dan dihomogenkan.

b) Pembuatan Larutan Stok Kuersetin

Ditimbang 25 mg kuersetin, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas lalu dihomogenkan (1000 ppm). Untuk mendapatkan larutan standar kuersetin 100 ppm, dilakukan dengan cara dipipet 1 mL larutan standar 1000 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas (100 ppm).

c) Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Kuersetin

Penentuan Panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pembanding kuersetin. Sebanyak 1000 μL dari seri konsentrasi 6 ppm ditambahkan AlCl_3 10% 200 μL dan 200 μL kalium asetat 1M. Dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada range 400-500 nm.

d) Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Penentuan Panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pembanding kuersetin. Sebanyak 1000 μL dari seri konsentrasi 6 ppm ditambahkan AlCl_3 10% 200 μL dan 200 μL kalium asetat 1M. Dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 450 nm.

e) Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Sebanyak 1000 μL dari seri konsentrasi 2,4,6,8,10, dan 12 ppm masing-masing ditambahkan AlCl_3 10% 200 μL dan 200 μL kalium asetat 1M. Dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 450 nm dan *operating time* 30 menit.

Pengukuran absorban dibuat kurva antara konsentrasi larutan standar kuersetin dengan nilai absorban yang diperoleh dan akan dihasilkan persamaan regresi linier ($y = bx + a$). Persamaan regresi ini untuk menghitung kadar ekstrak (ppm) dengan memasukkan absorban ekstrak sebagai nilai y ke dalam persamaan (Chang *et al*, 2002).

f) Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Kipahit

Sampel ekstrak etanol 96% daun Kipahit di pipet Sebanyak 1000 μL kemudian ditambahkan AlCl_3 10% 200 μL dan 200 μL kalium asetat 1M. Dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 450 nm dan *operating time* 30 menit (replikasi 3x).

Absorban yang dihasilkan dimasukkan kedalam persamaan regresi dari kurva standar kuersetin (Chang *et al*, 2002). Kemudian dihitung flavonoid total dengan menggunakan rumus:

$$Kadar = \frac{ppm \times volume \times fp \times 10^{-6}}{}$$

$$Bobot\ simplisia - (bobot\ simplisia \times \% \text{ kadar air}) \times 100\%$$

3.6 Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kipahit

a) Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Larutan DPPH 0,1 mM dibuat dengan cara menimbang 10 mg DPPH dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga 100 mL dalam labu ukur.

b) Pembuatan Larutan Blanko

Pembuatan larutan blanko dilakukan dengan cara memipet 1 mL larutan DPPH 0,1 mM kemudian dicukupkan volumenya hingga 5 mL dengan etanol p.a. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 30 menit ditempat gelap kemudian serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 280-600 nm.

c). Pembuatan Larutan Pembanding Trolox

Trolox sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 25 mL etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk, kemudian diencerkan menjadi 100 ppm. Dari larutan induk dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8,10 dan 12 ppm.

d) Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol 96% daun kipahit dibuat seri 2, 4, 6, 8,10 dan 12 ppm. Dari larutan induk 500 ppm, di pipet dan ditambahkan etanol p.a dalam labu takar 5 ml hingga tanda batas.

e) Penetapan Kurva Baku Trolox

Trolox pada masing masing seri konsentrasi 2, 4, 6, 8,10 dan 12 ppm. Dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 4 ml DPPH, didiamkan selama *operating time* 30 menit, kemudian dibaca absorbansi pada Panjang gelombang maksimum 515 nm (replikasi 3x)

f) Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Sampel seri konsentrasi 2, 4, 6, 8,10 dan 12 ppm dari ekstrak etanol 96% daun Kipahit dipipet 1 ml, kemudian ditambahkan 4 ml DPPH, didiamkan selama *operating*

time 30 menit, kemudian dibaca absorbansi pada Panjang gelombang maksimum 515 nm (replikasi 3x).

g) Perhitungan IC₅₀

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan IC₅₀ (50% *Inhibition Concentration*) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan rumus: (Valentao *et al*, 2001).

$$(\% \text{ Inhibisi }) = \frac{Abs0 - Abs1}{Abs0} \times 100\%$$

% I = % Hambatan

Abs0 = Absorbansi blanko

Abs1 = Absorbansi sampel

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan $y = A + Bx$, dimana x adalah konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan y adalah presentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition Concentration 50%* atau IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat merendam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

Misalnya diperoleh persamaan $y = 0.6345x - 18.75$ maka :

$$y = 0.6345x - 18.75$$

$$50 = 0.6345x - 18.75$$

$$X = \frac{50-18.75}{0.6345} = 49,2$$

Berdasarkan persamaan tersebut menunjukkan hasil nilai $x = 49,2$ atau nilai IC_{50} 49,2 yang artinya aktivitas antioksidan sampel tersebut termasuk sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ (Tristantini, 2016).

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Nilai IC_{50} dianalisis dengan kategori sangat kuat apabila < 50 , 50-100 dikatakan kuat, nilai IC_{50} 100-150 dikatakan sedang, 150-200 dikatakan lemah dan > 200 dikatakan sangat lemah.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid Total

Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*).

Tabel 4.1 Hasil penentuan total kadar flavonoid pada ekstrak daun Kipahi berdasarkan ketinggian tempat tumbuh.

Ekstrak	Ketinggian (Mdpl)	Nilai absorbansi pada ulangan ke			Absorbansi rata-rata	Kadar Flavonoid Total (mg/g QE)
		1	2	3		
Pasuruan	274	0,828	0,737	0,781	0,782	16,84144 µg/mL ^a
Batu	935	0,35	0,337	0,261	0,316	8,445045 µg/mL ^b

Pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa hasil kadar flavonoid total Kipahit dari Kabupaten Pasuruan lebih tinggi (16,84144 µg/mL) dibandingkan dengan hasil kadar flavonoid dari Kota Batu (8,445045 µg/mL). Perbedaan ini dikarenakan beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan suatu tumbuhan salah satunya yaitu ketinggian tempat. Semakin tinggi suatu tempat kondisi lingkungan yang dihasilkan juga berbeda, seperti suhu dan intensitas cahaya. Hal ini yang menyebabkan berbeda pula aktivitas metabolisme pada tumbuhan daerah tersebut. Menurut Laily (2012) ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman. Sehingga diduga bahwa perbedaan ketinggian tempat akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Akibatnya serangkaian proses metabolisme pada tanaman tersebut juga akan terganggu seperti

terjadinya cekaman sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda-pada setiap ketinggian tempat. Hal ini didukung Katuuk dkk (2019) pada penelitiannya terkait pengaruh perbedaan ketinggian tempat terhadap kandungan metabolit sekunder pada gulma babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang menunjukkan hasil bahwa ketinggian tempat dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder pada babadotan (*Ageratum conyzoides* L). Selain ketinggian tempat, faktor lingkungan juga sangat mempengaruhi kadar flavonoid pada tumbuhan.

Perbedaan ketinggian tempat dapat menghasilkan perbedaan kondisi lingkungan yang signifikan. Rahakbauw (2016) menambahkan bahwa keberadaan senyawa flavonoid dalam tanaman dapat disebabkan oleh perbedaan kondisi lingkungan tempat tumbuh, suhu, intensitas cahaya, hara, ketersediaan air dan kadar CO₂ dalam atmosfer. Montesinos-Navarro *et al* (2011) menyebutkan bahwa kondisi lingkungan akan membentuk suatu sistem yang dapat berpengaruh pada tumbuhan yang tumbuh pada lingkungan tersebut. Kondisi lingkungan sangat berpengaruh pada proses fisiologis tumbuhan baik berupa metabolisme primer maupun sekunder. Metabolisme primer akan menghasilkan pertumbuhan yang dapat diamati dari morfologi tumbuhan tersebut sedangkan metabolisme sekunder merupakan hasil akhir dari metabolit primer yang dapat berupa mekanisme kimia yang terjadi dalam tubuh tumbuhan.

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap kondisi lingkungan seperti temperatur, intensitas cahaya dan pH tanah. Menurut Ping *et al* (2013) Ketinggian tempat dapat menghasilkan temperatur, kelembapan, intensitas cahaya, curah hujan

dan kandungan nutrisi dalam tanah yang berbeda. Parameter lingkungan yang diambil dari kedua lokasi tersebut disajikan pada tabel berikut

Tabel 4.2 Nilai Parameter Lingkungan di Lokasi Pengambilan Sampel

Lokasi	Ketinggian (Mdpl)	Suhu (°C)	Intensitas Cahaya (Lx)	pH tanah
Pasuruan	274	26 °C	989x100Lux	6,8
Batu	935	23°C	857x100Lux	7,5

Berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan bahwa lokasi pengambilan sampel dari kabupaten Pasuruan memiliki suhu dan intensitas cahaya yang lebih tinggi daripada kota Batu, sedangkan pH tanah pada kedua lokasi tidak jauh berbeda. Perbedaan kondisi lingkungan ini dipengaruhi oleh ketinggian tempat. Menurut Sulistyono dalam Nurnasari (2010) tinggi tempat berpengaruh terhadap temperatur udara dan intensitas cahaya. Temperatur dan intensitas cahaya akan semakin kecil dengan semakin tingginya tempat tumbuh. Cahaya matahari sangat berpengaruh pada proses fotosintesis pada tumbuhan yang berkorelasi dengan kandungan metabolit baik primer maupun sekunder. Abdullah *et al* (2006) menambahkan bahwa suhu yang tinggi akan memberikan cekaman sebagai respon untuk melakukan adaptasi terhadap lingkungan dengan memproduksi metabolit sekunder.

Pada penelitian ini intensitas cahaya dan suhu pada lokasi kabupaten Pasuruan lebih tinggi dibandingkan dari Kota Batu. Hal ini dikarenakan suhu dan intensitas cahaya yang tinggi berpengaruh pada pembentukan flavonoid melalui fotosintesis pada tumbuhan. Flavonoid pada tanaman memerlukan gula dalam produksinya. Gula ini

salah satunya diperoleh dari fotosintesis di sel yang mengandung klorofil. Proses fotosintesis ini akan dipengaruhi oleh intensitas cahaya. Intensitas cahaya ini juga akan dipengaruhi oleh ketinggian tempat tumbuh dimana semakin tinggi tempat tumbuh maka intensitas cahaya akan semakin kecil. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sari (2015) bahwa ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling rendah dengan intensitas cahaya yang tinggi memiliki kadar flavonoid total paling tinggi, sedangkan ekstrak daun sirsak yang berasal dari daerah dengan ketinggian paling tinggi dengan intensitas cahaya rendah memiliki kadar flavonoid total paling rendah. Ini menunjukkan bahwa intensitas cahaya dan ketinggian tempat berpengaruh terhadap pembentukan flavonoid. Salim dkk (2016) menambahkan pada penelitiannya mengenai kandungan hara tanah terhadap metabolit sekunder pada Duku menunjukkan bahwa terdeteksinya senyawa flavonoid pada ekstrak dataran rendah dikarenakan tingginya kandungan Ca dibandingkan dengan dataran tinggi. Berdasarkan penelitian Siswoyo (2016) diketahui bahwa pemberian kalsium yang tertinggi menghasilkan kandungan flavonoid tertinggi pada daun Tabat Barito (*Ficus deltoidea*), hal ini dikarenakan fungsinya sebagai pengaktif enzim terutama yang berhubungan dengan protein sehingga akan lebih mendukung proses terbentuknya metabolit sekunder yang merupakan reaksi spesifik.

Allah berfirman dalam Al-Qur'an QS: Al-A'raf [7] : 58 sebagai berikut :

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًّا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ
الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ۝۸

Artinya : Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan izin Tuhan; dan tanah yang buruk, tanama-tanamannya yang tumbuh merana.

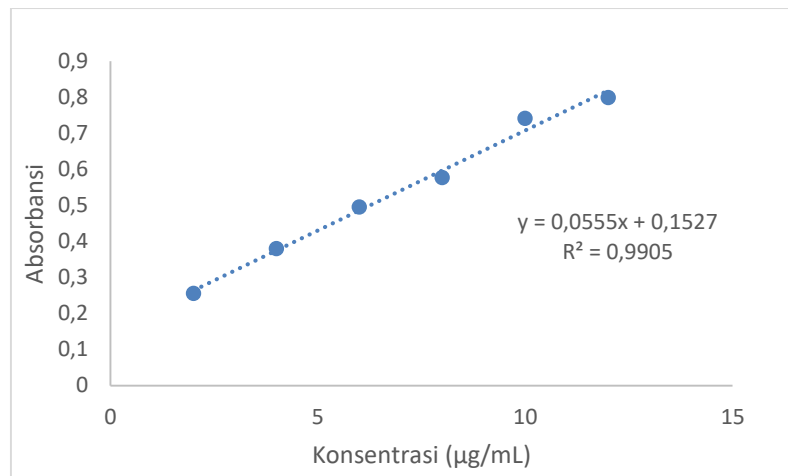
Demikianlah Kami menjelaskan berulang-ulang tanda-tanda (kebesaran Kami) bagi orang-orang yang bersyukur (QS. Al-A'raf [7] : 58).

Menurut tafsir Quraish Shihab (2002) menjelaskan maksud ayat ini, bahwa tanah yang baik, tanamannya tumbuh subur dan hidup dengan izin Allah. Dan tanah yang tidak subur, tidak menghasilkan kecuali sedikit tanaman yang tidak berguna, bahkan menjadi penyebab kerugian pemiliknya. Sama halnya menurut Ahmad Musthafa Al-Maraghi dalam tafsir Al-Maraghi (1993) menjelaskan maksud ayat ini, bahwa sesungguhnya bumi itu, di antaranya ada yang tanahnya baik yang pemurah, yang tanaman-tanamannya keluar dengan mudah dan tumbuh dengan cepat. Dengan demikian banyak hasilnya. Ada pula di antaranya yang tanahnya buruk, seperti tanah hitam berbatu, dan tanah tandus yang tanam-tanamannya tidak tumbuh karena jumlahnya tidak seberapa, kecuali dengan kesulitan.

Berbeda dengan Al-Maraghi, Al-Qurthubi (2008) menjelaskan bahwa kata **الْبَلَدُ** pada ayat ini maksudnya adalah tanah, dan sifat **الطَّيِّبُ** menandakan bahwa tanah tersebut baik dan subur. Sedangkan sifat **خَبِيثٌ** menandakan bahwa tanah tersebut dipenuhi dengan bebatuan dan kerikil, sehingga membuatnya tidak subur. Pendapat ini sama sebagaimana yang dikemukakan oleh Al-Hasan. Ini adalah tanda-tanda, hujjah- hujjah, dan dalil-dalil untuk menolak kemusyrikan. Dan Allah juga memberikan tanda-tanda atas segala yang dibutuhkan oleh manusia.

Dalam penentuan kadar flavonoid pada penelitian ini, hasil yang diperoleh pada pengukuran kurva larutan standar yaitu semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi nilai absorbansinya. Hal ini sesuai dengan Neldawati (2013) bahwa absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam suatu tumbuhan juga semakin tinggi.

Berikut grafik kurva larutan standar kuersetin yang telah didapatkan



Gambar 3.1 Kurva larutan standar kuersetin

Berdasarkan gambar 3.1 menunjukkan konsentrasi larutan baku kuersetin dan absorbansi yang didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0555x + 0,1527$ dengan nilai koefisien korelasi r yaitu 0,9905. Nilai r yang didapat dikatakan kuat, sehingga hubungan linear antara absorbansi dan konsentrasi kuat. Hal ini ditunjukkan dari hasil absorbansi yang naik dengan adanya peningkatan konsentrasi larutan baku kuersetin. Menurut Riyanto (2015) Nilai r yang mendekati angka 1 membuktikan bahwa persamaan regresi linear tersebut linear

4.2 Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Aktivitas Antioksidan

Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*).

Tabel 4.3 Hasil pengujian aktivitas antioksidan standart dan sampel menggunakan DPPH

Standart dan sampel	IC ₅₀	Kategori Antioksidan
Trolox	3,9996 µg/mL	Sangat kuat
Pasuruan	6,5377 µg/mL	Sangat kuat
Batu	15,7831 µg/mL	Sangat kuat

Berdasarkan tabel 4.3 menunjukkan hasil bahwa nilai aktivitas antioksidan Trolox (3,9996) lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun Kipahit Pasuruan (6,5377), dan aktivitas antioksidan ekstrak daun Kipahit Pasuruan lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun Kipahit Batu (15,7831). Trolox dalam penelitian ini mempunyai antioksidan yang tinggi karena trolox merupakan antioksidan hasil sintesis sebagai derivat vitamin E yang secara stuktur serupa dengan α -tokoferol. mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan α -tokoferol, BHA, serta BHT. Hal ini didukung dengan penelitian Deniati (2006) yang menyebutkan bahwa antioksidan sintetik trolox mempunyai kekuatan antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan vitamin C dan BHT dalam menangkal radikal bebas DPPH. Penggunaan Trolox sebagai kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak daun Kipahit jika dibandingkan dengan Trolox. Hasil penelitian menunjukkan bahwa IC₅₀ Kipahit sama atau mendekati nilai IC₅₀ kontrol positif maka dapat dikatakan bahwa sampel daun Kipahit berpotensi

sebagai salah satu alternatif antioksidan yang sangat kuat. Hal tersebut menandakan dataran rendah dan dataran tinggi mampu mendorong proses metabolisme daun Kipahit untuk memproduksi metabolit sekunder yang lebih tinggi. Menurut Kofidis dan Bosabalidis (2008) ketinggian tempat yang berkaitan langsung dengan iklim adalah suhu, intensitas cahaya matahari dan kelembaban. Yoana (2012) menambahkan pada dataran rendah memiliki intensitas cahaya yang tinggi sehingga tumbuhan dataran rendah dapat melakukan metabolisme secara optimal. Sedangkan pada dataran tinggi memiliki kondisi lingkungan yang lebih ekstrim, hal ini menjadi salah satu faktor pemicu peningkatan metabolisme sekunder pada tumbuhan untuk melakukan adaptasi agar dapat bertahan hidup (Montesinos dan Navarro *et al*, 2011).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada kedua ekstrak Kipahit yang diambil di lokasi yang berbeda menunjukkan bahwa ekstrak daun Kipahit yang diperoleh dari Pasuruan menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Perbedaan ini dapat terjadi karena kondisi lingkungan pada dataran rendah mendorong terbentuknya metabolit sekunder lebih tinggi melalui intensitas cahaya yang dapat mempengaruhi proses fotosintesis pada tumbuhan. Menurut Montesinos-Navarro *et al* (2011) keberadaan senyawa antioksidan dalam organ tumbuhan merupakan salah satu produk metabolisme tumbuhan. Ketinggian tempat memberikan pengaruh paling besar pada metabolisme tumbuhan berkaitan dengan ketersediaan cahaya matahari, suhu lingkungan dan nutrisi. Puspitasari *et al* (2013) menambahkan bahwa dataran rendah secara umum memiliki kondisi tanah subur dengan ketersediaan air cukup serta memiliki intensitas cahaya dan suhu udara yang cukup tinggi dengan curah hujan dan

kelembaban yang rendah. Hal ini yang mengakibatkan tumbuhan pada dataran rendah memiliki kandungan senyawa yang lebih tinggi daripada tumbuhan pada dataran tinggi.

Pengaruh ketinggian tempat terhadap tanaman berkaitan erat dengan faktor lingkungan, misalnya suhu. Pada penelitian ini lokasi pengambilan sampel memiliki suhu rata-rata 27-30°C dengan intensitas cahaya tinggi. Suhu udara pada dataran rendah yang lebih tinggi menyebabkan kapasitas uap air meningkat, sehingga kelembaban udara relatif berkurang terutama disiang hari. Selain itu juga faktor intensitas cahaya matahari, rendahnya nilai intensitas cahaya matahari dapat disebabkan karena adanya naungan seperti awan, pohon atau bentuk naungan lainnya. Menurut Yuliani *et al* (2015), perbedaan suhu dan kelembaban pada lingkungan sangat berpengaruh pada proses metabolisme tumbuhan yang berkaitan dengan reaksi enzimatik sedangkan intensitas cahaya berpengaruh pada laju fotosintesis, transpirasi dan respirasi tumbuhan. Mekanisme tersebut akan berpengaruh pada produksi metabolit baik primer maupun sekunder. Hal ini didukung Utomo dkk (2020) dalam hasil penelitiannya yang menyebutkan bahwa kondisi lingkungan mempengaruhi kadar flavonoid, fenolik, dan aktivitas antioksidan pada daun *S.jamaicensis*, Semakin tinggi cekaman suhu yang berada dalam lingkungan, maka kadar flavonoid, fenolik, dan aktivitas antioksidan yang dihasilkan semakin tinggi.

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an QS: Yasin [36]: 36 sebagai berikut:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ ۝۳۶

Artinya: *Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui (QS. Yasin [36] : 36).*

Menurut Imam Suyuti dalam tafsir jalalain (2003) lafal **الْأَزْوَاجَ** dimaknai dengan kata golongan. Kata **كُلُّهَا مِمَّا تُنْبِثُ الْأَرْضُ** berarti semua makhluk Allah baik tumbuhan dan manusia mereka diciptakan berpasang-pasangan. Kata **وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ** menunjukkan arti bahwa apa yang belum diketahui (makhluk-makhluk Allah yang belum diketahui) itu juga berpasang-pasangan.

Imam Thobari dalam tafsir Ath Thobari (2008) menyebutkan bahwa kata **سُبْحَانَ** mempunyai arti suatu generasi tercipta karna adanya berpasang-pasangan. Dan maksud kata **تَنْزِيهَا وَتَبْرِئَةَ** mempunyai arti mensucikan zat Allah yaitu mensucikan Allah dari sifat yang tidak pantas atau sifat yang tidak dimiliki makhluknya (sifat berpasang-pasangan) karena Allah memiliki sifat berbeda dengan makhluknya. sedangkan kata **خَلَقَ الْأَزْوَاجَ** memiliki arti Allah menciptakan makhluknya berpasang-pasangan tidak hanya untuk orang muslim namun juga untuk orang kafir.

Menurut Quraish Shihab di dalam tafsir Al-Misbah (2002) ayat tersebut merupakan jawaban terhadap kedurhakaan orang kafir pada ayat 35. Ini mempertegas bahwa Allah SWT Maha suci dan Dia adalah Tuhan yang menciptakan segala tumbuhan dan menumbuhkan buah-buahan dengan cara menciptakan pasangan bagi masing-masing. Dengan itu, maka Allah SWT Sang pencipta Maha Suci dari segala kekurangan dan sifat buruk.

Hasil uji aktivitas antioksidan yang didapat pada penelitian ini terhadap ekstrak tumbuhan Kipahit didapatkan hasil antioksidan sangat kuat. Dengan begitu setelah meneliti kandungan antioksidan pada tumbuhan Kipahit, peneliti menyadari bahwa tidak ada satupun ciptaan Allah baik tumbuhan, dan apa saja yang terkandung didalamnya diantaranya zat-zat bioaktif mempunyai peran dan fungsinya masing-masing. Hal ini merupakan bukti bahwa tidak ada satupun ciptaan Allah yang sia-sia, sebagaimana firmanNya dalam Al-Qur'an QS: Ali Imran [3]: 191 yang berbunyi :

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ
رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۝١٩١

Artinya : (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (QS: Ali Imran[3]: 191).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian adalah:

1. Ketinggian suatu tempat berpengaruh terhadap kadar flavonoid ekstrak daun Kipahit. Semakin tinggi suatu tempat, maka kandungan flavonoid pada tumbuhan semakin rendah. Faktor yang mempengaruhi tinggi dan rendahnya kadar flavonoid adalah suhu dan intensitas cahaya. Suhu dan intensitas cahaya pada Kabupaten Pasuruan lebih tinggi, hal ini tumbuhan melakukan cekaman yang menghasilkan metabolit sekunder seperti flavonoid sedangkan intensitas cahaya sangat dibutuhkan pada proses fotosintesis.
2. Ketinggian suatu tempat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun Kipahit. Semakin rendah tempat tumbuh maka semakin tinggi kadar flavonoid. Flavonoid dengan kadar yang tinggi menyebabkan aktivitas antioksidannya juga semakin tinggi.

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini adalah :

1. Perlu adanya pemurnian/purifikasi untuk mengetahui golongan turunan flavonoid yang terkandung pada daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)
2. Perlu adanya pengujian terhadap kandungan unsur hara di dalam tanah pada lokasi pengambilan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel, Daem al-Kaheel. 2012. *Rahasia Medis dalam Al-Qur'an dan Hadis Operasi Tanpa Luka*, ter. Muhammad Misbah. Jakarta : Amzah.
- Abdullah, Mohammad; Muhamad, Babar; Kee, Won Yu; Eun, Joo Hahn; Kee, Yoeup Paek. 2006. Effect of Temperature on Secondary Metabolites Production and Antioxidant Enzyme Activities in *Eleutherococcus Senticosus* Somatic Embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 85: 219–28.
- Al-Maraghi, Ahmad Musthafa. 1993. *Tafsir Al-Maraghi Jilid 8*, Terj: Bahrin Abubakar dkk. Semarang: Karya Toha Putra.
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2008. *Tafsir Al-Qurthubi*, terj, Asmuni jilid 7. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Agustina. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Pendidikan MIPA STKIP Bima, Cakra Kimia . *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*. Vol 4. No 1.
- Amanatie, Eddy Sulistyowati. 2015. Structure Elucidation of the Leaf of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. *Jurnal Sains dan Matematika*. Vol. 23 (4).
- Anggresani, L., Yuliyawati., dan Eliza, D. 2017. Uji Total Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray). *Riset Informasi Kesehatan*. Vol 6 (1).
- Aqil, F., Ahmad, I. & Mehmood, Z. 2006. Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Medicinal Plants. *Turk. J. Biol*, 30.
- Ath-Thabari, Abu Ja'far Muhammad Jarir. 2008. *Tafsir Al-Qur'an Ath Thabari*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Az-zuhaili, Syaikh Wahbah, 2020. *Tafsir Al-Munir*. Jakarta: Gema Insani.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. Vol 10 (3).
- Deniati, Siti Hawa. dkk. 2006. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenol Total Beberapa Ekstrak Bahan Alam Pangan. Tesis. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.
- Ergina, Siti Nuryanti, Indarini Dwi Pursitasari. 2014. Uji kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Di Ekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademia Kimia*. Vol 3 (3).
- Fatchurrozak., Suranto., Sugiyarto. 2013. Pengaruh ketinggian tempat terhadap kandungan vitamin C dan zat antioksidan pada buah *Carica pubescens* di dataran Tnggi Dieng. Pasca Sarjana UNS.
- Firdianny, I., Rahmiyani, I., Irasutisna, K. 2013. Antioxidant Capacities From Various Leaves Extracts of Four Varieties Mangoes Using DPPH, ABTS Assays and Correlation With Total Phenolic, Flavonoid, Carotenoid. *Int.J Pharmacy and Pharmaceutical Sci*. 5.
- Fitmawati., Erwina Juliantari. 2017. *Tanaman Obat Dari Semak Menjadi Obat*. Riau: Badan Penerbit Universitas Riau.

- Gama, R. M., Marcelo, G., Luiz, C.A., dan José, A.J. 2014. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray Dry Flowers. Asian Pacific. *Journal of Tropical Biomedicine*. Vol 4(9).
- Gupta, Pranay Kumar, Siddarth Pulapalli, and Srikanth. 2015. Research and Review: *Journal of Medicinal Chemistry*. Tulsi: An Elixir For Human Life. Volume 4 Issue 1.
- Haeria. 2014. *Kimia Produk Alami*. Makassar: Alauddin University Press.
- Hanani, E, Abdul M dan Ryany S, 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons cally *Spongia* sp. Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol 2 No 3.
- Harbone J. B. 1987. *Metode Fitokimia Terbitan Kedua*. Penerbit ITB, Bandung.
- Hasan, Fardyansjah, Sandra Arifin Aziz, dan Maya Melati. 2017. Perbedaan Waktu Panen Daun terhadap Produksi dan Kadar Flavonoid Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *J. Hort. Indonesia* 8(2)
- Hendra. W., Salbiah D., & Sutikno A. 2013. Penggunaan Ekstrak Daun Paitan (*Tithonia diversifolia* Grey) untuk Mengendalikan Hama Kutu Daun (*Aphis gossypii* Glover) pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum* L.) Laporan Penelitian. Universitas Riau.
- Hidayat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Hutapea. J.K., dkk. 1994. *Inventaris Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Ingrid, Maria., Herry Santoso. Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif Dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*). 2014. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat. Universitas Katolik Parahyangan.
- Jalalain, Imam. 2008. *Tafsir Jalalain Jilid 1*. Bandung: Penerbit Sinar Baru Algensindo
- Jalalain, Imam. 2009. *Tafsir Jalalain Jilid 2*. Bandung. Penerbit Sinar Baru Algensindo.
- Kandaswami, C. and Middleton, E. 1997. Flavonoidn as antioxidant, In F. Shahidi (Ed). *Natural Antioxidant Chemistry, Health Effect and Application*. Champaign Illions:AOCS Press.
- Katno. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Depkes RI. Hal 21-37.
- Katuuk, Rino H.H Sesilia A. Wanget, Pemmy Tumewu. 2019. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)
- Konate, K., Souza, A., Roland, M., Coulibaly, A., Kiendrebeogo, M., Lamien-Meda, A., Lamidi, M., Millogo-Rasolodimby, J. & Nacoulma, O. G. 2010. Polyphenol contents, antioxidant and anti-inflammatory activities of six Malvaceae species traditionally used to treat hepatitis B in Burkina Faso. *European Journal of Scientific Research*, 44, 570-580.
- Kofidis, G. and Bosabalidis, AM. 2008. Effect of altitude and season on glandular hairs and leaf structural traits of *Nepeta nuda*L. *Botanical studies*. 49: 363 –372.





- Laily AN, Suranto, Sugiyarto. 2012. Characteristics of *Carica pubescens* of Dieng Plateau Central Java according to its morphology, antioxidant and protein pattern. *Nusantara Bioscience* 4 No. 1, halaman 16- 21.
- Lestari, Sri Ayu Dewi. 2016. Pemanfaatan Paitan (*Tithonia diversifolia*) sebagai Pupuk Organik pada Tanaman Kedelai. *Iptek Tanaman Pangan*. Vol. 11 No. 1
- Malnikova, E., J. Kulka, M. Kuklova, and M. Balazona. 2013. Altitudinal Variation of Plant Traits: Morphological Characteristics in *Fragaria Vesca* L. (Rosaceae). *Annals of Forest Research* 56, no. 1: 79-89.
- Metusalach, 2007. Pengaruh Fase Bulan dan Ukuran Tubuh terhadap Rendemen, Kadar Protein, Air dan Abu Daging Kepiting Rajungan, *pertunus* spp. *Jurnal Ilmu Kelautan dan perikanan Universitas Hasanudin* 17(3).
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A., 2014. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Mol. Basel Switz.* 19, 16240–16265.
- Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar J. Sci. Technol.* 2004. Vol. 26.
- Montesinos-Navarro, AJ., Wig, FX., Pico, and Tonsor, SJ. 2011. Arabidopsis thaliana populations show clinal variation in a climatic gradient associated with altitude. *New Phytologist.* 189: 282 -294.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Makassar: *Jurnal kesehatan*. Vol. VII No. 2.
- Mukhriani. 2014. *Farmakognosi Analisis*. Makassar: Alauddin University Press. Hal: 34-35.
- Nafiu MO, Akanji MA, Raji ZA, Abdulsalam TA. 2014. Phytochemical analysis and in vivo anti-malarial activities of aqueous extracts of *Tithonia diversifolia* Hemsl and *Parquetina nigrescens* leaves in mice. *Biokemistri.* 26(2).
- Neldawati, Ratnawulan, Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. Padang: *Pillar Physics*, Vol 2.
- Nurjanah, Laili Izzati, dan Asadatun Abdullah. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen s* pp. Bogor: *Ilmu Kelautan*. Vol. 16 (3).
- Nurnasari, Elda, dan Djumali. 2010. Pengaruh Kondisi Ketinggian Tempat Terhadap Produksi dan Mutu Tembakau Temanggung. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*. Vol 2(2).
- Nurfitriani E. 2016. Hubungan Kualitas Air dengan Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daging *Holothuria* atra di Perairan Teluk Lampung dan Perairan Garut. Skripsi pogramstudi ilmu kelautan. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Otusanya, O. and O. Ilori. 2012. Phytochemical screening and the phytotoxic effects of aqueous extracts of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. *International Journal of Biology.* 4(3).
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., 2016. Flavonoids: an overview. *J. Nutr. Sci.* 5, e47.





- Ping, C., Michaelson, G.J., Stiles, C.A., and Gonzalez, G. 2013. Soil characteristics, carbon stores, and nutrient distribution in eight forest types along an elevation gradient, eastern Puerto Rico. *Ecology Bulletin*. 54: 67 – 86.
- Pokorny, J. Yanishlieva, N. and Gordon M. 2001. *Antioxidant in Food*. CRC Press Cambridge. England.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. Medallion Laboratories: Analytical Progress. 2:1-4.
- Puspitasari, N., Santoso TL., and Mawardi, S. 2013. Sebaran Tingkat Kesuburan Tanah pada Perkebunan Rakyat Kopi Arabika di Dataran Tinggi Ijen-Raung Menurut Ketinggian Tempat dan TanamanPenaung. *Pelita Perkebunan*. 29(2): 93–107.
- Rahakbauw , Icak Darling., Th. Watuguly. 2016. Analisis Senyawa Flavonoid Daun Lamun *Enhalus Acoroides* Di Perairan Pantai Desa Waai Kabupaten Maluku Tengah. *Biopendix*, Volume 3 (1).
- Rajalakshmi, D, dan Narasimhan, S. 1985. Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation dalam D.L Madhavi : Food Antioxidant, Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker Inc., Hongkong: 77-76.
- Ramadhani, Arba P, Lucie Paloque, Hugo Belda, and Hady Anshory Tamhid. 2018. “Antiprotozoal Properties of Indonesian Medicinal Plant Extracts.” *Journal of Herbal Medicine*. 46–52.
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* Vol. 9 No. 2 196-202.
- Ridho, Ery Al, dkk. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum dengan Metode DPPH (2,2 Diifenil-1-Pikrilhidrazil)*. Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Rizal, Syaiful. 2020. Manfaat Alam Dan Tumbuhan”Sumber Belajar Anak” Dalam Perspektif Islam”. *Jurnal Pendidikan Anak Usia Dini*. Vol 1(2).
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, diterjemahkan oleh Kokasih Padmawinata edisi VI*. Bandung: Penerbit ITB.
- Sada,J.T., Tanjung, R.H.R, . (2010). Keragaman Tumbuhan Obat Tradisional di Kampung Nansfori Distrik Supiori Utara , Kabupaten Supiori – Papua. *Jurnal Biologi Papua*, 2(2).
- Sari, Ayu Kartika. 2015. Penetapan Kadar Polifenol Total, Flavonoid Total, Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) Dari Jember Pada Ketinggian Tanah Yang Berbeda.
- Sasmita, F. W., Susetyarini, E., Husamah, H., & Pantiwati, Y. 2017. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Biosfera*, 34(1), 22
- Siswoyo, Irmanida Batuubara, Devi Aristyanti. 2016. Tempat Tumbuh dan Kandungan Flavonoid Total Daun Tabat Barito (*Ficus deltoidea* Jack.) Prosiding Seminar nasional Tumbuhan Obat Indonesia.
- Sholekah, Friska Fitriani. 2017. Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Flavonoid dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas MIPA. Universitas Negeri Yogyakarta.

- Sulastri, E. Cristadeolia, O., dan Yusriadi. 2015. Formulasi Mikroemulsi Ejstrak Bawang Hutan dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Pharmasience*. vol 2 (2)..
- Seleem, D., Pardi, V., Murata, R.M., 2017. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-*Candida albicans* activity in vitro. *Arch. Oral Biol.* 76, 76–83.
- Setiawati, Wiwin, dkk. 2008. *Tumbuhan Bahan Pestisida Nabati*. Bandung: Balai Penelitian Tanaman Sayuran.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sijuade AO, Fadare JO, Oseni OA. 2016. Evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of *Tithonia diversifolia* Hemsl in experimental animal models. *Br J Med Med Res*. 15(3).
- Susanti, Dian., Rahma Widyastuti., Ato Sulisty. 2015. Aktivitas Antifeedant dan Antioviposisi Ekstrak Daun *Tithonia* terhadap Kutu Kebul. *Agrosains*. Vol 17 (2).
- Taofik, M., E. Yulianti, A. Barizi, dan E. K. Hayati. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air Daun Paitan (*Thitonia diversifolia*) sebagai Bahan Insektisida Botani Untuk Pengendalian Hama Tungau Eriophyidae. *Alchemy*, (2)1.
- Takahashi, M. 2005. *Compositions for Curing Diabetes Mellitus*. Process for the Preparation of same, and Usage of same.
- Tristantini, Dewi, dkk. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.) Yogyakarta: Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia.
- Ul, Noor, and Saeded R. 2018. “Biomedicine & Pharmacotherapy Antinociceptive E Ff Ectiveness of *Tithonia Tubaeformis* in a Vincristine Model of Chemotherapy-Induced Painful Neuropathy in Mice.” *Biomedicine & Pharmacotherapy* 103. 1043–51.
- Utomo, Daniel Setyo, Elizabeth Betty Elok Kristiani dan Anggara Mahardika. 2020. Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma*. Vol 22. No 2
- Uzel, A., Sorkun, K., Onçağ, O., Cogulu, D., Gençay, O., Salih, B., 2005. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol. Res.* 160, 189–195
- Verdiana, Melia., I Wayan Rai Widarta, I Dewa Gede Mayun Permana. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus Limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 7, No.4.
- Verma, N. dan Shukla, S. 2015. Impact Of Varios Factors Responsible For Fluctations In Plant Secondary Metabolite. *J App Res On Med Ar Plants*:105-113.
- Vidak, Marko, Damjana Rozman and Radovan Komel. 2015. Review Effect of Flavonoids From Food and Dietary Supplements On Glial and Glioblastoma Multiforne Cells. *Moleculers*, 20, 19406-19432.




- Wang, T., Li, Q., Bi, K., 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J. Pharm. Sci.* 13, 12–23.
- Widari, M. 2005. Isolasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Kenbang Bulan (*Tithonia diversifolia* Hemsl A. Gray). Skripsi Departemen Farmasi FMIPA USU. Medan. Halaman. 43.
- Widyastuti, Niken. 2010. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan metode CUPRAC, DPPH, dan FRAP serta korelasinya dengan fenol dan flavonoid pada enam tanaman. Institut Pertanian Bogor.
- Winarsi, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wulansari, Anisa Nur. 2018. Alternatif Cantigu Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami:Review. *Farmaka*. Vol16. No 2.
- Yoana, P. 2012. The effect of light intensity on the stomatal density of lavender, *Lavandula angustifolia*. *Young Scientists Journal*. 12: 89 –93.
- Yuliani, Soemarno, Yanuwiadi, B., and Leksono, AS. 2015. The relationship between habitat altitude, enviromental factors and morphological characteristics of *Pluchea indica*, *Ageratum conyzoides* and *Elephantopus scaber*. *OnLine Journal of Biological Sciences*. 15(3): 143 –151.

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian**5.2.1 Preparasi Sampel**





No.	Perlakuan	Keterangan
1.		Sampel Daun Kipahit
2.		Penyerbukan Simplisia
3.		Pengayakan
4.		Serbuk simplisia

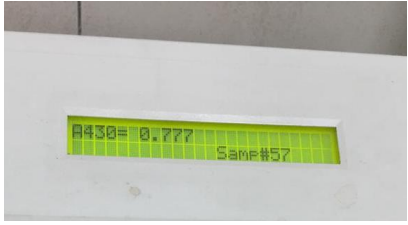


5.		Proses maserasi
6.		Penyaringan
7.		Penguapan ekstrak menggunakan <i>rotary vacuum evaporator</i>
8.		Ekstrak pekat

5.2.2 Parameter Lingkungan Lokasi Pengambilan Sampel


No.	Alat	Keterangan
1.	 <p>Anemometer</p>	Mengukur suhu, ketinggian tempat dan kecepatan udara
2.	 <p>Moisture Meter</p>	Mengukur kelembapan tanah
3.	 <p>Lux Meter</p>	Mengukur intensitas cahaya





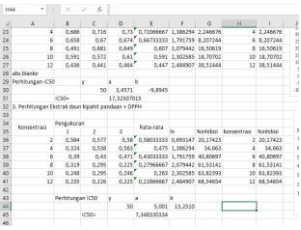
5.2.3 Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

No.	Perlakuan	Keterangan
1.		Pembuatan Kalium Asetat 1 M
2.		Pembuatan AlCl ₃ 10%
3.		Pembuatan larutan stok kuersetin
4.		Pengenceran larutan stok kuersetin
5.		Penentuan Gelombang Maksimum Kuersetin

6.		Penentuan Operating Time
7.		Pembuatan seri kuersetin
8.		Penentuan kadar flavonoid total

5.2.4 Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

No.	Perlakuan	Keterangan
1.		Pembuatan larutan DPPH

<p>2.</p>		<p>Pembuatan larutan Trolox</p>
<p>3.</p>		<p>Pembuatan larutan uji</p>
<p>4.</p>		<p>Pembuatan seri Trolox</p>
<p>5.</p>		<p>Pengujian Antioksidan Ekstrak</p>
<p>6.</p>		<p>Perhitungan IC₅₀</p>

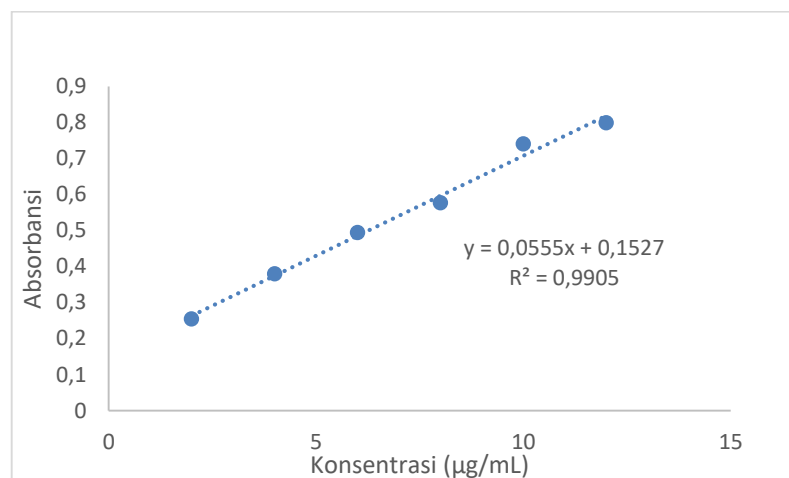
Lampiran 2. Data Hasil Penelitian

2.1 Uji Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

2.1.1 Data Hasil Kuersetin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	A. Pengukuran			Rata-rata	A Quercetin
	1	2	3		
12	0,808	0,774	0,815	0,799	0,799
10	0,662	0,786	0,777	0,741667	0,7416667
8	0,346	0,796	0,59	0,577333	0,5773333
6	0,493	0,609	0,385	0,495667	0,4956667
4	0,464	0,26	0,418	0,380667	0,3806667
2	0,304	0,227	0,235	0,255333	0,2553333
Blanko	0	0	0	0	

2.1.2 Kurva Standar Kuersetin



2.1.3 Data Hasil Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

ekstrak	pengukuran			rata2
	1	2	3	
Pasuruan	0,828	0,737	0,781	0,782
batu	0,35	0,337	0,261	0,316

2.1.2.1 Perhitungan KFT Ekstrak daun Kipahit Pasuruan

Didapatkan persamaan $y=0,0555x+0,1527$

Ulangan 1. $Y = 0,0555+0,1527$

$$X = \frac{0,828 - 0,1527}{0,555}$$

$$X = 12,16757 \mu\text{g/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 2. } Y &= 0,0555+0,1527 \\ X &= \frac{0,737-0,1527}{0,555} \\ X &= 10,52793 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 3. } Y &= 0,0555+0,1527 \\ X &= \frac{0,781-0,1527}{0,555} \\ X &= 11,32072 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

2.1.2.2 Perhitungan KFT Ekstrak Daun Kipahit Batu

Didapatkan persamaan $y=0,0555x+0,1527$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 1. } Y &= 0,0555+0,1527 \\ X &= \frac{0,35-0,1527}{0,555} \\ X &= 3,554955 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 2. } Y &= 0,0555+0,1527 \\ X &= \frac{0,337-0,1527}{0,555} \\ X &= 3,320721 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ulangan 3. } Y &= 0,0555+0,1527 \\ X &= \frac{0,261-0,1527}{0,555} \\ X &= 1,951357 \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

2.1.2.3 Data Hasil Kadar Flavonoid Total Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

ekstrak	Kadar total flavonoid			rata2
	1	2	3	
pandaan	12,16757	10,52793	11,32072	11,33874
Batu	3,554955	3,320721	1,951351	2,942342

2.3 Data Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

2.3.1 Data Hasil Trolox + DPPH

konsentrasi	Pengukuran			Rata-rata	ln	%inhibisi
	1	2	3			
2	0,36	0,386	0,387	0,377666667	0,693147	48,05135
4	0,316	0,35	0,347	0,337666667	1,386294	53,55342
6	0,483	0,209	0,236	0,309333333	1,791759	57,45071
8	0,279	0,292	0,321	0,297333333	2,079442	59,10133

10	0,242	0,235	0,279	0,252	2,302585	65,337
12	0,25	0,205	0,236	0,2303333333	2,484907	68,31729

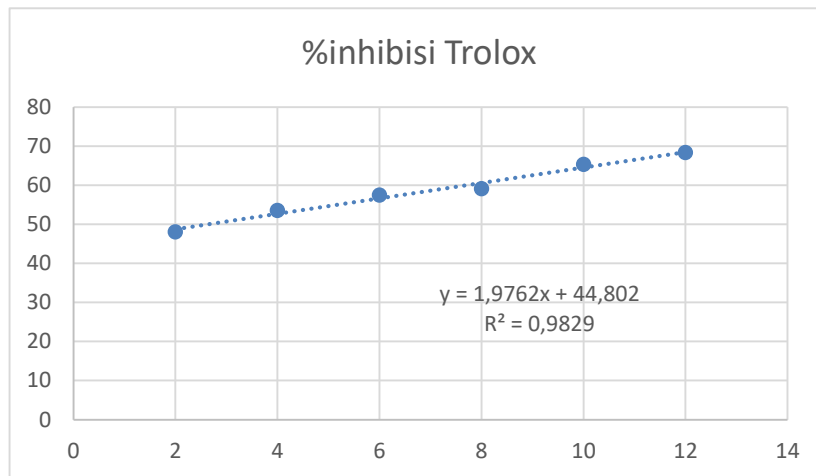
2.3.1.1 Perhitungan IC₅₀ Trolox

$$y = 1,9762x + 44,802$$

$$50 = \frac{50 - 44,802}{1,976}$$

$$X = 2,630301 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

2.3.1.2 Kurva Standar Trolox



2.3.2 Data Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kipahit Pasuruan

Konsentrasi	Pengukuran			Rata-rata	%inhibisi1	%inhibisi2	%inhibisi3
	1	2	3				
2	0,584	0,577	0,58	0,580333333	0,693147	20,17423	20,17423
4	0,324	0,538	0,563	0,475	1,386294	34,663	34,663
6	0,39	0,43	0,471	0,430333333	1,791759	40,80697	40,80697
8	0,319	0,295	0,225	0,279666667	2,079442	61,53141	61,53141
10	0,248	0,295	0,246	0,263	2,302585	63,82393	63,82393
12	0,235	0,226	0,225	0,228666667	2,484907	68,54654	68,54654

2.3.2.1 Perhitungan IC₅₀ Ekstrak Daun Kipahit Pasuruan

$$y = 5,001x + 13,251$$

$$50 = \frac{50 - 13,251}{5,001}$$

$$X = 7,348330334 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

2.3.3 Data Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak daun Kipahit Batu

konsentrasi	pengukuran			rata-rata	%inhibisi	%inhibisi	%inhibisi
	1	2	3				
2	0,761	0,715	0,741	0,739	0,693147	1,650619	1,650619
4	0,686	0,716	0,73	0,710666667	1,386294	2,246676	2,246676
6	0,658	0,67	0,674	0,667333333	1,791759	8,207244	8,207244
8	0,491	0,681	0,649	0,607	2,079442	16,50619	16,50619
10	0,591	0,572	0,61	0,591	2,302585	18,70702	18,70702
12	0,436	0,441	0,464	0,447	2,484907	38,51444	38,51444

2.3.3.1 Perhitungan IC₅₀ Ekstrak Daun Kipahit Batu

$$y = 3,4571x - 9,8945$$

$$50 = \frac{50 - 9,8945}{3,4571}$$

$$X = 17,32507015 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Anah Ariskah
NIM : 17620059
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2021/2022
Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	08-02-2021	Pembekalan dosen pembimbing	<i>h</i>
2.	19-03-2021	Konsultasi Ketersambungan antar kalimat	<i>h</i>
3.	02-09-2021	Pemilihan Sampel dan Pelarut	<i>h</i>
4.	08-10-2021	Konsultasi Alur Prosedur	<i>h</i>
5.	04-11-2021	Analisis Data	<i>h</i>
6.	15-03-2022	Konsultasi pembahasan 4.1	<i>h</i>
7.	27-04-2022	Konsultasi pembahasan 4.2	<i>h</i>
8.	03-06-2022	Konsultasi bab 5 dan abstrak	<i>h</i>
9.	24-06-2022	Acc Naskah	<i>h</i>

Pembimbing Skripsi,



Kholifah Holil, M.Si
NIP.19751106200912 2 002

Malang, 24 Juni 2022

Kepala Program Studi,






Dr. Dyka Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Anah Ariskah
NIM : 17620059
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2021/2022
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc
Judul Skripsi : Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	10-11-2021	Konsultasi Penulisan Font dan Ayat Al-Qur'an	
2.	02-06-2022	Penambahan tafsir dan hadits	
3.	24-06-2022	ACC Naskah Skripsi	
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			

Pembimbing Skripsi,



Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP.19860512201903 1 002

Malang, 24 Juni 2022

Ketua Program Studi,



Dr. Evi Sandi Savitri, M.P

NIP.07410182003122002

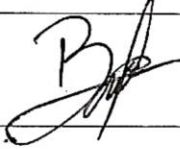


KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : ANAH ARISKAH
NIM : 17620059
Judul : PENGARUH KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Maharani Retna Duhita, M.Sc.,n PhD.Med.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	20	
5	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		

Mengetahui,

Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P

NIP. 19741018 200312 2 002