

**PENGARUH KETINGGIAN LOKASI TUMBUH TERHADAP KADAR
TOTAL FLAVONOID DAN DAYA ANTIOKSIDAN DAUN KIRINYUH
(*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob)**

SKRIPSI

Oleh:

AKHMAD RUBANI

NIM. 18620004



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

**PENGARUH KETINGGIAN LOKASI TUMBUH TERHADAP KADAR
TOTAL FLAVONOID DAN DAYA ANTIOKSIDAN DAUN KIRINYUH
(*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob)**

SKRIPSI

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)

Oleh:
AKHMAD RUBANI
NIM. 18620004

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

**PENGARUH KETINGGIAN LOKASI TUMBUH TERHADAP KADAR
TOTAL FLAVONOID DAN DAYA ANTIOKSIDAN DAUN KIRINYUH
(*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob)**

SKRIPSI

**Oleh:
AKHMAD RUBANI
NIM. 18620004**

**telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
tanggal 12 Mei 2022**

Pembimbing I



**Kholifah Holil, M. Si.
NIP. 19751106 200912 2 002**

Pembimbing II



**Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIP. 19860512 201903 1 002**



**Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi**

**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002**

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH KETINGGIAN LOKASI TUMBUH TERHADAP KADAR
TOTAL FLAVONOID DAN DAYA ANTIOKSIDAN DAUN KIRINYUH
(*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob)**

SKRIPSI

Oleh:

AKHMAD RUBANI

NIM. 18620004

Telah Dipertahankan

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

Tanggal: 24 Mei 2022

Ketua Penguji : Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114 199903 1 001
Anggota Penguji I : Azizatur Rahmah, M.Sc
NIP. 19860930 201903 2 011
Anggota Penguji II : Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002
Anggota Penguji III : Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512 201903 1 002

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Erika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Akhmad Rubani
NIM : 18620004
Prodi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul : Pengaruh Ketinggian Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Total
Flavonoid dan Daya Antioksidan Daun Kirinyuh (*Chromolaena
odorata* (L.) R. M. King & H. Rob)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan 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, 12 Mei 2021
Yang membuat pernyataan,


Akhmad Rubani
NIM. 18620004

HALAMAN MOTTO

“Akal bukan ditunjukkan untuk mengetahui segalanya, tapi akal ditunjukkan untuk mengakui yang punya segalanya, Dia yang Sempurna (Simetry), Dia Esa (Singularity), Dia Tak Terhingga (Infinity)”

وَلَمْ يَكُنْ لَهُ كُفُوًا أَحَدٌ

“Dan tidak ada sesuatu pun yang setara dengan Dia”

(QS. Al-Ikhlās [112]: 4)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim...

Dengan menyebut nama Allah Subhanahu wa ta'ala yang maha pengasih lagi maha penyayang. Alhamdulillah puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa ta'ala, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan inayat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dalam bentuk skripsi. Shalawat serta salam semoga senantiasa terlimpah curahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini saya persembahkan kepada orang-orang spesial yaitu:

1. Orang tua saya tercinta, Ibu Soliyah dan Bapak Abdillah, kakak-kakak dan adikku yang tersayang, beserta keluarga besar yang segenap hati memberikan dukungan, motivasi dan ketulusan do'anya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Keluarga besar Ma'had Sunan Ampel Al-Aly yang memberikan motivasi dan kehangatan persaudaraan kepada penulis selama ini.
3. Teman-teman Komunitas Botanical Garden yang telah memberikan ilmu dan inspirasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi.
4. Teman-teman Biologi'18 (Booster: khususnya Izzul, Noval, Cece, Heny, Aka, Hafidah, Donny, Titin, Vena, Bidri dan Hanif). Terimakasih atas dukungan semangat, perjuangan dan kekompakan dalam menjalani segala hal baik dalam suka dan duka.
5. Adik-adik Biologi Angkatan '19 dan '20 yang telah bersedia membantu dalam bentuk usaha dan do'a sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan.
6. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah meluangkan waktunya sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan.

KATA PENGHANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb.

Alhamdulillah robbil a'lamiin, Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia agung-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Pengaruh Ketinggian Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Total Flavonoid dan Daya Antioksidan Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob)” dengan baik. Sholawat serta salam tetap tercurah limpahkan kepada junjungan umat, baginda Nabi Muhammad SAW yang telah membawa pelita ilmu dan akhlak sehingga membawa umat manusia kedalam jalan yang benar, jalan yang di ridhoi Allah Subhanahu wa ta'ala.

Penulis menyadari keberhasilan penulisan tugas akhir ini tidak lepas dari beberapa pihak yang Allah Subhanahu wa ta'ala kirimkan agar menjadi washilah untuk membantu penulis baik berupa pikiran, motivasi, tenaga, materi, maupun do'a. Karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P, selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Eko Budi Minarno, M. Pd selaku ketua penguji skripsi.
5. Azizatur Rahmah, M. Sc selaku anggota penguji skripsi.
6. Kholifah Holil, M. Si, selaku dosen pembimbing biologi, yang telah banyak memberikan pengarahan, do'a, motivasi, ilmu, dan pengalaman yang berharga

dan membimbing penulis menjadi insan yang lebih baik sehingga memiliki semangat dalam menyelesaikan skripsi.

7. Mujahidin Ahmad, M. Sc, selaku dosen pembimbing integrasi sains-islam, karena atas bimbingan, pengarahan dan kesabaran beliau penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
8. Segenap civitas akademik Program Studi Biologi, seluruh dosen Biologi, terutama Ibu Fitriyah M. Si selaku sekretaris program studi terimakasih atas ilmu dan bimbingannya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dan berbagai pihak demi terwujudnya karya yang lebih baik di masa mendatang. Semoga karya ini memberikan manfaat bagi semua pihak terutama dalam dalam pengembangan ilmu biologi.

Malang, 8 Mei 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGAJUAN	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DARTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACK	xv
مستخلص البحث	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Manfaat Penelitian	9
1.5 Batasan Masalah	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan dalam Prespektif Islam	11
2.2 Kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i> (L.) R.M. King dan H. Robinson) ..	13
2.3 Metabolit Sekunder Tumbuhan	20
2.4 Flavonoid	26
2.5 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Metabolisme Tumbuhan	32
2.6 Antioksidan dan Daya Antioksidan	37
2.7 Spektrofotometri UV-Vis	41
2.8 Metode FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	44
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	46
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	46
3.3 Alat dan Bahan	47
3.4 Prosedur Penelitian	47
3.5 Teknik Analisis Data	54

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ketinggian Terhadap Total Flavonoid Daun <i>C. odorata</i>	56
4.1.1 Faktor lingkungan pada tiap ketinggian	58
4.1.2 Karakteristik daun <i>C. odorata</i> pada tiap ketinggian.....	65
4.1.2.1 Warna daun.....	67
4.1.2.2 Luas daun.....	73
4.1.2.3 Ketebalan daun	76
4.1.2.4 Kerapatan stomata daun.....	81
4.1.3 Analisis perbedaan total flavonoid daun <i>C. Odorata</i> pada setiap ketinggian	86
4.2 Pengaruh Ketinggian Terhadap Daya Antioksidan Daun <i>C. odorata</i> ..	95

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	102
5.2 Saran	102

DAFTAR PUSTAKA	104
-----------------------------	-----

LAMPIRAN	118
-----------------------	-----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tumbuhan <i>C. odorata</i>	15
Gambar 2.2. Morfologi tumbuhan <i>C. odorata</i>	16
Gambar 2.3. Jalur biosintesis metabolit sekunder.....	24
Gambar 2.4. Jalur biosintesis flavonoid	26
Gambar 2.5. Jalur pembentukan turunan flavonoid	27
Gambar 2.6. Struktur kimia dasar flavonoid	29
Gambar 2.7. Diagram spektrofotometer UV-Vis	42
Gambar 4.1. Warna daun <i>C. odorata</i>	68
Gambar 4.2. Diagram luas daun <i>C. odorata</i> pada setiap ketinggian.....	75
Gambar 4.3. Diagram ketebalan daun <i>C. odorata</i> pada setiap ketinggian.....	77
Gambar 4.4. Ketebalan daun <i>C. odorata</i>	79
Gambar 4.5. Diagram kerapatan stomata daun <i>C. odorata</i> setiap ketinggian.....	82
Gambar 4.6. Kerapatan stomata daun <i>C. odorata</i>	83
Gambar 4.7. Diagram total flavonoid daun <i>C. odorata</i> pada setiap ketinggian .	87
Gambar 4.8. Grafik total flavonoid dan daya antioksidan daun <i>C. odorata</i>	96

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Absorpsi sinar UV pada λ_{maks} dari beberapa pelarut.....	43
Tabel 4.1 Total flavonoid dan daya antioksidan daun <i>C. odorata</i> pada setiap ketinggian	57
Tabel 4.2 Hasil pengukuran faktor lingkungan pada setiap ketinggian	58
Tabel 4.3 Sifat morfologi-anatomi daun <i>C. odorata</i> pada setiap ketinggian	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi tumbuhan <i>C. odorata</i> pada setiap ketinggian	118
Lampiran 2 Dokumentasi langkah kerja	119
Lampiran 3 Kurva Baku	123
Lampiran 4 Analisis Statistik Parameter	125
Lampiran 5 Hasil Pengukuran Warna Daun	129
Lampiran 6 Perhitungan parameter	130

**Pengaruh Ketinggian Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Total Flavonoid Dan
Daya Antioksidan Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King &
H.Rob)**

Akhmad Rubani, Kholifah Holil, Mujahidin Ahmad

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

ABSTRAK

Chromolaena odorata merupakan tanaman gulma yang banyak dimanfaatkan untuk kebutuhan obat, terutama daunnya, karena memiliki kandungan metabolit sekunder tinggi berupa flavonoid. Kandungan flavonoid pada daun *C. odorata* tidak pasti atau tidak konstan, tergantung lokasi tumbuh yang menyebabkan faktor lingkungan bervariasi, sehingga mempengaruhi biosintesis flavonoid *C. odorata*. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh ketinggian terhadap total flavonoid dan daya antioksidan daun *C. odorata*. Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskriptif eksploratif. Objek penelitian berupa sampel daun *C. odorata* yang berasal dari tiga lokasi dengan ketinggian berbeda, yaitu altitud rendah (223 mdpl), sedang (618 mdpl), dan tinggi (1012 mdpl). Parameter utama yang diamati adalah total flavonoid menggunakan metode kolorimetri dan daya antioksidan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Sedangkan parameter pendukung yang diamati adalah sifat morfologi-anatomi daun sampel (warna, luas, ketebalan, dan kerapatan stomata daun) dan faktor lingkungan (suhu, intensitas cahaya, pH tanah, kelembapan tanah). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, terdapat pengaruh ketinggian terhadap total flavonoid dan daya antioksidan daun *C. odorata*, dengan nilai terbesar terdapat pada altitud tinggi. Total flavonoid daun *C. odorata* pada altitud tinggi ($26,57 \pm 0,24$ mg QE/g), diikuti altitud sedang ($10,28 \pm 0,28$ mg QE/g) dan rendah ($5,63 \pm 0,26$ mg QE/g). Sedangkan daya antioksidan daun *C. odorata* pada altitud tinggi ($91,54 \pm 0,817$ mg QE/g), diikuti altitud sedang ($73,06 \pm 0,97$ mg QE/g) dan rendah ($61,74 \pm 0,59$ mg QE/g).

Kata Kunci: *Chromolaena odorata*, daya antioksidan, ketinggian/altitud, total flavonoid

**Altitude Influence of Growth Location on Total Flavonoid Content and
Antioxidant Power of Kirinyuh Leaves (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King
& H.Rob)**

Akhmad Rubani, Kholifah Holil, Mujahidin Ahmad

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

ABSTRACT

Chromolaena odorata is a weed plant that is widely used for medicinal purposes, especially its leaves, because it contains high secondary metabolites in the form of flavonoids. The content of flavonoids in *C. odorata* leaves is uncertain or not constant, depending on the growing location which causes environmental factors to vary, then affecting the biosynthesis of *C. odorata* flavonoids. This research was conducted to determine the effect of altitude on total flavonoids and antioxidant power of *C. odorata* leaves. This research is an exploratory descriptive research. The object of the research was a sample of *C. odorata* leaves from three locations with different altitude, that are low altitude (223 masl), middle (618 masl), and high (1012 masl). The main parameters observed were total flavonoids using the colorimetric method and the antioxidant power test using the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) method. While the supporting parameters observed were morphological-anatomical properties of the sample leaves (color, area, thickness, and density of leaf stomata) and environmental factors (temperature, light intensity, soil pH, soil moisture). The results showed that, there was an effect of altitude on the total flavonoid and antioxidant power of *C. odorata* leaves, with the highest value being at high altitude. Total flavonoid leaves of *C. odorata* at high altitude (26.57 ± 0.24 mg QE/g), followed by middle (10.28 ± 0.28 mg QE/g) and low (5.63 ± 0.26 mg) QE/g). While the antioxidant power of *C. odorata* leaves at high altitude (91.54 ± 0.817 mg QE/g), followed by middle (73.06 ± 0.97 mg QE/g) and low (61.74 ± 0.59 mg QE) /g).

Keywords: *Chromolaena odorata*, antioxidant power, altitude, total flavonoids

تأثير ارتفاع الموقع المتزايد ضد مجموع مستويات الفلافونويد والقوة مضادات الأكسدة ورقة كيرينيوه (H.Rob & Chromolaena odorata (L.) R.M.King)

أحمد رباني، خليفة خليل، مجاهدين أحمد

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

Chromolaena odorata هو نبات الاعشاب تستفاد كثيرا لحاجة إلى الطب، خاصة أوراقها، لأن ملك المحتوى المستقلبات ثانوي طويل في شكل مركبات الفلافونويد. محتوى الفلافونويد في الأوراق *C. odorata* غير ثابت، اعتمادًا على موقع النمو الذي يتسبب في اختلاف العوامل البيئية، تؤثر في النهاية على التخليق الحيوي لمركبات الفلافونويد *C. odorata*. لذلك أجريت هذا البحث لتحديد تأثير الارتفاع على مركبات الفلافونويد الكلية والقوة المضادة للأكسدة لأوراق *C. odorata*. هذا البحث هو بحث استكشافي وصفي. كان الهدف من الدراسة عينة من أوراق *C. odorata* من ثلاثة مواقع بارتفاعات، وهي منخفضة الارتفاع (223 masl)، ومتوسطة (618 masl)، ومرتفعة (1012 masl). كانت الملزمات الرئيسية التي لوحظت هي مركبات الفلافونويد الكلية باستخدام طريقة القياس اللوني واختبار القدرة المضادة للأكسدة باستخدام طريقة (FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power). بينما كانت الملزمات الداعمة الملحوظة هي الخصائص المورفولوجية-التشريحية لأوراق العينة (اللون، المساحة، السماكة، وكثافة ثغور الأوراق) والعوامل البيئية (درجة الحرارة، شدة الضوء، درجة حموضة التربة، رطوبة التربة). أظهرت النتائج وجود تأثير للارتفاع على مركبات الفلافونويد الكلية والقوة المضادة للأكسدة لأوراق *C. odorata*. أعلى مجموع فلافونويد في أوراق *C. odorata* جاء من علو مرتفع (0.24 ± 26.57 ملجم QE / جم)، يليه متوسط (0.28 ± 10.28 ملجم QE / جم) ومنخفض (5.63 ± 26.0 ملجم QE / جم). وكذلك جاءت أكبر قوة مضادات الأكسدة لأوراق *C. odorata* من ارتفاعات عالية (0.817 ± 91.54 ملجم QE / جم)، تليها ارتفاعات معتدلة (0.97 ± 73.06 ملجم QE / جم) ومنخفضة (0.59 ± 61.74 ملجم QE / جم).

الكلمات المفتاحية: *Chromolaena odorata*، القوة المضادة للأكسدة، الارتفاع، جملة الفلافونويد

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan adalah salah satu bentuk makhluk hidup yang memiliki keanekaragaman tinggi, sehingga menjadi sumber daya hayati bermanfaat bagi lingkungan maupun manusia (Sansena, 2018). Setiap tumbuhan memiliki habitat tumbuh yang berbeda sesuai dengan tingkat adaptasinya terhadap kondisi lingkungan. Tumbuhan melakukan adaptasi dengan beberapa mekanisme, salah satunya adalah pengaturan biosintesis senyawa metabolit sekunder (Julianto, 2019).

Fenomena tersebut merupakan salah satu bukti bahwa Allah Subhanahu wa ta'ala menciptakan segala sesuatu dalam keadaan seimbang, seperti halnya Allah Subhanahu wa ta'ala katakan dalam Al-Qur'an Surah Al-Mulk ayat 3 yang berbunyi:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَا تَرَى فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِنْ تَفْوُتٍ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَى مِنْ
فُطُورٍ ﴿٣﴾

Artinya: “(Dia juga) yang menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu tidak akan melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pengasih ketidakseimbangan sedikit pun. Maka, lihatlah sekali lagi! Adakah kamu melihat suatu cela?” (Al-Mulk[67]:3).

Ibnu Katsir menafsirkan bahwa firman Allah Subhanahu wa ta'ala (مَا تَرَى فِي خَلْقِ) (الرَّحْمَنِ مِنْ تَفْوُتٍ) “Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pengasih ketidakseimbangan sedikitpun” maksudnya bahwa, semua yang ada di dunia saling bersesuaian dan seimbang. Keseimbangan tersebut menjadi *Sunnatullah* bagi setiap makhluk tanpa terkecuali, tidak adanya ketidakcocokan, pertentangan, kekurangan ataupun kerusakan pada setiap makhluk-Nya. Maka dari

itu, Dia berfirman “*Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang*” Yakni, melihat ke alam semesta dan meneliti secara komprehensif, apakah terdapat kecacatan, kekurangan, kerusakan atau ketidakseimbangan pada alam semesta (Ibnu Katsir, 2013). Oleh karena itu secara eksplisit muncul seruan oleh Allah Subhanahu wa ta'ala untuk meneliti lebih lanjut fenomena alam, seperti tumbuhan-tumbuhan yang ada disekitar.

Lingkungan tempat tumbuh akan mempengaruhi ekspresi fenotip suatu tumbuhan berupa kandungan maupun kadar metabolit sekunder, hal tersebut merupakan proses adaptasi tumbuhan untuk menjaga keseimbangan (homeostatis) dalam pertumbuhan dan perkembangannya. Beberapa penelitian membuktikan bahwa produksi dan ekskresi metabolit sekunder dan senyawa bioaktif tumbuhan dipengaruhi faktor lingkungan tempat tumbuh, seperti curah hujan, kekeringan, lama dan intensitas penyinaran serta fluktuasi suhu siang dan malam. Terdapat variasi kandungan metabolit sekunder terkait dengan variasi dalam kondisi iklim tempat tumbuh, kandungan tersebut bervariasi dari waktu ke waktu dengan lokasi yang berbeda (Gultom, 2020; Soegianto, 2019).

Kandungan fitokimia dari hasil metabolit sekunder suatu tumbuhan akan berbeda pada setiap wilayah karena dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan diantaranya yaitu suhu, cahaya, kelembapan, pH maupun kualitas tanah tempat tumbuh yang akan berpengaruh terhadap kandungan fitokimia suatu tumbuhan (Safrina, 2018). Beberapa penelitian menunjukkan ketinggian tempat tumbuh merupakan salah satu penentu beragamnya faktor yang berpengaruh terhadap metabolisme suatu tumbuhan (Hadiyanti, 2018; Utomo, 2020).

Ketinggian tempat atau altitud menjadi faktor yang mempengaruhi unsur-unsur iklim, sebagai contoh adalah curah hujan dan suhu udara. Suhu udara akan semakin rendah seiring meningkatnya ketinggian suatu tempat karena suhu yang diterima permukaan bumi semakin kecil (Hadiyanti, 2018). Pada umumnya menurunnya suhu udara dapat memperlambat laju reaksi yang menyebabkan perlambatan laju tumbuh tumbuhan akibat aktivitas fotosintesis menjadi terganggu. Sebaliknya, kenaikan suhu udara akan diikuti oleh kenaikan laju fotosintesis. Perbedaan ketinggian tempat juga akan mempengaruhi distribusi cahaya yang ada. Semakin tinggi suatu tempat, maka intensitas cahaya yang sampai ke permukaan semakin kecil, intensitas cahaya dan konduksi dari bumi akan mempengaruhi suhu tanah. Berdasarkan hasil penelitian Istiawan (2019), suhu tanah pada daerah atas menunjukkan nilai paling rendah dan sebaliknya pada daerah bawah menunjukkan suhu tanah paling tinggi. Penurunan intensitas cahaya karena adanya perbedaan ketinggian tempat akan menyebabkan suhu udara menurun, kelembaban meningkat dan suhu tanah menurun. Keadaan lingkungan seperti ini akan berefek pada proses pertumbuhan serta metabolisme tumbuhan.

Tekanan biotik juga akan mempengaruhi peningkatan kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid. Interaksi negatif dengan tumbuhan lain disekitarnya memunculkan kompetisi dalam mendapatkan nutrisi tanah dan cahaya untuk pertumbuhan dan perkembangan. Hal tersebut berimplikasi terhadap kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan (Hadiyanti, 2018). Tumbuhan yang mengalami stress lingkungan, produksi metabolit sekundernya dapat ditingkatkan karena pertumbuhannya sering terhambat. Karbon tetap tidak dialokasikan untuk pertumbuhan, tetapi dialokasikan untuk pembentukan metabolit sekunder (Yuliani,

2019). Stres lingkungan yang berasal dari faktor biotik dan faktor abiotik menyebabkan peningkatan ataupun penurunan produktivitas metabolit sekunder tumbuhan sebagai proses adaptasi. Jika suatu tumbuhan ingin dibudidayakan, maka faktor lingkungan harus disesuaikan dengan habitatnya agar produktivitas metabolit sekunder dapat optimal (Soegianto, 2019).

Tumbuhan yang memiliki tingkat adaptasi tinggi terhadap kondisi lingkungan diantaranya adalah tumbuhan gulma. Tumbuhan gulma diartikan sebagai tumbuhan liar yang tumbuh pada tempat dan waktu yang tidak diharapkan, atau tumbuh tanpa dikehendaki. Tumbuhan gulma dianggap merugikan karena bersifat mengganggu bagi tumbuhan lainnya. Tumbuhan ini menjadi kompetitor bagi tanaman budidaya, terutama pada penyerapan unsur hara dan air (Paiman, 2020). Tumbuhan gulma memiliki sifat toleransi tinggi terhadap lingkungan. Tumbuhan ini memiliki beberapa karakter khusus yang membantu untuk penyesuaian dengan lingkungan. Sejumlah besar senyawa khusus (sekitar 200.000 senyawa) dihasilkan dari metabolisme lanjutan dari metabolit primer yang fungsinya tidak berperan signifikan untuk pertumbuhan maupun perkembangan tumbuhan, tetapi diperlukan tumbuhan untuk bertahan dari keadaan lingkungan (Julianto, 2019).

Salah satu tumbuhan gulma yang banyak ditemukan di alam liar adalah *Chromolaena odorata* (kirinyuh), yang memiliki habitat yang cukup luas (Muniappan, 2005). Tumbuhan ini memiliki nama yang berbeda-beda di berbagai daerah seperti gulma siam, balakacida, serunai, kopasenda, bau-bau, tekelan, dan sunga-sunga. *C. odorata* dicirikan sebagai gulma berbentuk semak berkayu. Tumbuhan ini merupakan gulma padang rumput yang penyebarannya sangat luas

di Indonesia, tidak hanya di lahan kering atau pegunungan, tetapi juga di lahan rawa dan lahan-lahan basah lainnya (Prawiradiputra, 2007).

C. odorata merupakan salah satu jenis gulma kosmopolit yang memiliki sifat toleransi tinggi terhadap lingkungan, tumbuhan ini memiliki kemampuan invasif yang tinggi dan mudah tumbuh sehingga penyebaran habitatnya cukup luas. Biji yang terbentuk tersebar secara luas oleh angin dan berkecambah segera setelah lingkungan mendukung. Selain itu *C. odorata* memiliki sifat alelopati yang mengganggu pertumbuhan tumbuhan di sekitarnya, sehingga tumbuhan ini berkembang cepat dan sulit dikendalikan (Muniappan, 2005). Senyawa alelokimia *C. odorata* berupa senyawa khusus yang merupakan metabolit sekunder tumbuhan.

Tumbuhan *C. odorata* memang dianggap merugikan, namun tumbuhan ini memiliki nilai positif tersendiri, karena dapat memberikan manfaat bagi manusia. Pemanfaatan oleh beberapa kalangan masyarakat membuktikan bahwa *C. odorata* menjadi tumbuhan potensial karena kandungan dan manfaatnya. Beberapa studi etnobotani menunjukkan bahwa, adanya pemanfaatan daun *C. odorata* secara masif dalam bidang kesehatan oleh beberapa kelompok masyarakat dalam etnis tertentu, mulai dari penyembuhan luka luar (Leksikowati, 2020), maag (Rahayu, 2017), diabetes, dan kolesterol (Sari, 2020). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung, menjadi alasan potensi yang dimiliki oleh *C. odorata* untuk dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Penelitian secara in-vitro membuktikan bahwa daun *C. odorata* dianggap efektif mengatasi suatu penyakit ringan hingga penyakit kronis seperti penyembuhan luka (Pandith, 2013) hingga anti-kanker (Yusriadi, 2019). Lebih lanjut, penelitian secara in-vivo membuktikan bahwa *C. odorata* dapat menurunkan kadar gula darah (Amaliah, 2019).

Pemanfaatan *C. odorata* yang lebih banyak digunakan yaitu berupa daunnya (Leksikowati, 2020; Rahayu, 2017; Sari, 2020). Daun *C. odorata* menghasilkan senyawa metabolit lebih tinggi dibanding dengan organ lainnya (Hanphakphoom, 2016). Hal ini didasarkan pada fakta bahwa proses metabolisme pada tumbuhan, terutama anabolisme, lebih dominan terjadi di organ daun, sehingga senyawa metabolit yang dihasilkan lebih tinggi. Hal tersebut karena pada dasarnya senyawa metabolit sekunder merupakan akumulasi dari hasil metabolisme lanjutan dari produk metabolisme primer (Anggraito, 2018).

Kandungan senyawa metabolit yang dimiliki, membuat daun *C. odorata* dimanfaatkan sebagai bahan baku obat karena bersifat antioksidan yang berperan dalam pencegahan maupun penyembuhan berbagai penyakit (Yusriadi, 2019). Salah satu kandungan metabolit sekunder pada *C. odorata* yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi adalah flavonoid. Eksplorasi senyawa metabolit sekunder pada daun *C. odorata* membuktikan bahwa senyawa flavonoid merupakan senyawa yang paling dominan, diikuti oleh steroid dan fenol (Gultom, 2020). Flavonoid menjadi senyawa alami yang memiliki potensi sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang bertanggung jawab pada timbulnya penyakit melalui mekanisme degeneratif imunitas tubuh, oksidasi lipid dan protein (Aminah, 2017).

Produksi senyawa flavonoid oleh tumbuhan *C. odorata* berfungsi sebagai proteksi bagi tumbuhan itu sendiri, seperti perlindungan terhadap fitopatogen dan radiasi ultraviolet (UV) (Maria, 2012). Namun, beberapa penelitian melaporkan adanya perbedaan kadar total flavonoid yang berasal dari berbagai daerah. Ance (2018) melalui standarisasi pada sampel daun *C. odorata*, berupa analisis kimiawi, membuktikan bahwa ada perbedaan kadar flavonoid dari tiga sampel yang berasal

dari daerah yang berbeda (Surabaya, Malang, dan Bogor). Hal ini didukung dengan hasil skrining, dengan penambahan pereaksi Wilstater, sampel dari Surabaya memiliki kadar flavonoid lebih tinggi, yaitu memiliki warna kuning lebih intens daripada sampel dari Malang dan Bogor. Lebih lanjut, dalam penetapan kadar total flavonoid, sampel ekstrak etanol *C. odorata* yang berasal dari Palembang memiliki total flavonoid sebesar 16,8069 mg/g (Badri, 2019). Sampel yang berasal dari Banjarmasin memiliki total flavonoid sebesar 26,736 mg QE/g (Suliani, 2021). Sedangkan ekstrak *C. odorata*, dengan metode MAE, yang berasal dari Pahang, Malaysia memiliki total flavonoid berkisar pada 21,09–56,99 mg QE/g (Alara, 2019). Perbedaan total flavonoid daun *C. odorata* karena adanya perbedaan laju sintesis flavonoid pada daun *C. odorata* yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan sebagai induksi dalam biosintesis flavonoid, serta karakteristik daun yang memuat organela biosintesis flavonoid (Gultom, 2020).

Perbedaan kadar flavonoid pada tumbuhan tersebut berkaitan langsung dengan aktivitas antioksidan berupa daya reduksi senyawa metabolit terhadap radikal bebas. Nur (2019) membuktikan melalui metode FRAP, bahwa terdapat korelasi yang tinggi ($R^2=0,999$) antara kandungan total flavonoid ekstrak daun yang bervariasi terhadap daya antioksidan dalam mereduksi besi. Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan metode yang dapat menentukan suatu kandungan antioksidan total berdasarkan kemampuan senyawa antioksidannya mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga kekuatan antioksidan tersebut dapat dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Maryam, 2015). Metode FRAP digunakan sebagai metode pendeteksi daya antioksidan suatu

ekstrak karena cukup cepat dan sederhana dibandingkan dengan metode lain, seperti DPPH dan ABTS (Pridatama, 2021).

Pendeteksian senyawa flavonoid pada tumbuhan kirinyuh (*C. odorata*) penting dilakukan, baik secara kualitas maupun kuantitas, dari sampel yang diperoleh dengan asal yang berbeda. Hal tersebut dapat menjadi salah satu langkah standarisasi sampel simplisia sebelum dimanfaatkan lebih lanjut. Endarini (2016) menyatakan bahwa simplisia dari hasil pengumpulan tumbuhan liar (*wild crop*) maupun produk hasil pertanian memiliki kandungan kimia yang tidak bisa ditetapkan selalu ajeg atau konstan. Perlu dilakukan proses standarisasi, termasuk asal perolehan, untuk memenuhi persyaratan sebagai bahan baku dengan penetapan nilai berbagai parameter. Mengingat bahwa perbedaan lingkungan asal bahan, berupa tempat tumbuh, akan mempengaruhi produksi metabolit sekundernya.

Berdasarkan uraian di atas dilakukan penelitian bersifat eksplorasi untuk mengetahui pengaruh ketinggian lokasi tempat tumbuh *C. odorata*, yang berkaitan dengan faktor lingkungan, dalam menghasilkan flavonoid secara optimal sehingga dapat dijadikan sebagai tanaman obat atau bahan baku obat potensial. Lokasi dipilih secara *purposive sampling* pada tiga *range* ketinggian atau altitud di wilayah Malang Raya yaitu rendah (200-600 mdpl), sedang (600-1000 mdpl), dan tinggi (1000-1400 mdpl), untuk mengetahui pengaruh keberagaman faktor lingkungan pada tiap lokasi tempat tumbuh terhadap parameter berupa kadar total flavonoid serta daya antioksidan yang dimiliki. Penentuan lokasi ketinggian ini didasarkan pada penelitian sebelumnya, membuktikan terdapat perbedaan kadar metabolit sekunder antara ketinggian tersebut (Yuliani, 2019; Safrina, 2018; Katuuk, 2018).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan permasalahan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ketinggian lokasi tumbuh terhadap kadar total flavonoid daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*)?
2. Bagaimana pengaruh ketinggian lokasi tumbuh terhadap daya antioksidan daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh ketinggian lokasi tumbuh terhadap kadar total flavonoid daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*).
2. Mengetahui pengaruh ketinggian lokasi tumbuh terhadap daya antioksidan daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai kandungan flavonoid dan daya antioksidan daun *C. odorata* berdasarkan dari ketinggian lokasi tumbuhnya, sehingga dapat dijadikan sumber acuan untuk memaksimalkan potensi tumbuhan obat *C. odorata*. Informasi yang diberikan pada penelitian ini dapat dijadikan sumber acuan dalam melakukan standarisasi obat *C. odorata* dalam hal tempat perolehanan.

1.5 Batasan Masalah

Adapun Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagian tumbuhan *C. odorata* yang digunakan adalah bagian berupa daun dewasa berwarna hijau dan memiliki panjang diatas 5 cm.
2. Daun diambil dari tumbuhan yang tumbuh pada lokasi dengan *range* ketinggian yang berbeda, yaitu ketinggian rendah (200-600 mdpl; Bendungan Karangates, Malang), sedang (600-1000 mdpl; Kampus 2 UIN Malang, Batu), dan tinggi (1000-1400 mdpl; Desa Kasinan, Batu).
3. Parameter utama yang diamati berupa kadar total flavonoid sampel menggunakan metode kolorimetri dan daya antioksidan sampel menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).
4. Parameter pendukung yang diamati berupa faktor lingkungan (intensitas cahaya, suhu, pH tanah, kelembapan tanah) dan karakteristik daun *C. odorata* (warna, luas, ketebalan dan kerapatan stomata daun) pada setiap lokasi ketinggian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan dalam Prespektif Islam

Tumbuhan menjadi salah satu makhluk hidup yang mampu melakukan proses fotosintesis menggunakan bantuan energi sinar matahari. Tumbuhan memerlukan komponen utama dalam melangsungkan proses fotosintesis, salah satunya adalah air, karena air merupakan perkusor proses biokimia tersebut. Tumbuhan juga memerlukan air untuk mendukung proses tumbuh dan berkembangnya. Sebagaimana fenomena tersebut diisyaratkan dalam Surah Thaha ayat 53, yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُم فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ
تَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “(Dialah Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan dan meratakan jalan-jalan di atasnya bagimu serta menurunkan air (hujan) dari langit.” Kemudian, Kami menumbuhkan dengannya (air hujan itu) beraneka macam tumbuh-tumbuhan.” (QS. Thaha[20]: 53).

Ayat “Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” tersebut ditujukan untuk mengisyaratkan mengenai ditumbuhkannya beraneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya yang merupakan pertanda akan agungnya Allah Subhanahu wa ta'ala. Kata (أَزْوَاجٍ) *Azwarz* yang menguraikan beraneka tumbuhan bisa dipahami dalam arti jenis-jenis tumbuhan, tumbuhan monokotil (berkeping satu), atau seperti tumbuhan dikotil (berkeping dua). Ayat diatas juga mengisyaratkan bahwa air merupakan persyaratan utama berlangsungnya proses tumbuh dan berkembangnya tumbuhan (Shihab, 2002). Hal ini didukung oleh

beberapa ahli yang menerangkan bahwa air menjadi komponen penting yang diperlukan bagi kehidupan dan kelangsungan hidup, dan tidak ada satu interaksi kimia pun yang terjadi di dalam tubuh tanpa pelibatan peran air didalamnya (Pasya, 2004).

Keanekaragaman tumbuhan juga dapat ditinjau dari perawakan (*habitus*) yang dimiliki. Berdasarkan *habitus*-nya tumbuhan dibagi menjadi lima yaitu pohon, terna, tumbuhan memanjat, perdu, dan semak. Hal ini juga secara eksplisit disebutkan dalam Al-Qur'an surah Al-An'am ayat 141 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرِّمَانَ
مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُّوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ
الْمُسْرِفِينَ ﴿١٤١﴾

Artinya: “Dialah yang menumbuhkan tanaman-tanaman yang merambat dan yang tidak merambat, pohon kurma, tanaman yang beraneka ragam rasanya, serta zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak serupa (rasanya). Makanlah buahnya apabila ia berbuah dan berikanlah haknya (zakatnya) pada waktu memetik hasilnya. Akan tetapi, janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.” (QS. Al-An'am [6]:141).

Ali ibnu Abu Talha Radhiyallahu'anhu meriwayatkan dari Ibnu Abbas Radhiyallahu'anhu, bahwa makna (مَعْرُوشَاتٍ) merambat. Misalnya tumbuhan gulma yang tumbuh merambat pada tumbuhan lain sekitarnya, yang dalam konteks ini merupakan tumbuhan gulma yang berasosiasi pada tanaman budidaya. Sedangkan (غَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ) diartikan sebagai tumbuhan yang tumbuh dengan sendirinya, seperti gulma yang tumbuh alami dengan sendirinya di bukit-bukit, di hutan-hutan dan juga lingkungan disekitar (Shihab, 2002).

Al-Qur'an sering menggunakan tumbuhan sebagai bukti kuasa Allah Subhanahu wa ta'ala dan perumpamaan dalam menyampaikan suatu hikmah. Selain itu, terdapat sebagian tumbuhan maupun buah-buahan yang disebutkan secara

langsung namanya dalam Al-Qur'an. Penyebutan beberapa tumbuhan tersebut memiliki sebab dan tujuan dalam penyebutannya. Bahkan tidak hanya sekedar disebutkan, melainkan Allah Subhanahu wa ta'ala menjelaskan manfaat dan fungsi dari beberapa tumbuhan yang berguna bagi manusia misalnya sebagai obat (*ṣifa'*) (Fauzan, 2015). Hal tersebut menguatkan kembali tentang keistimewaan tumbuhan, sebagaimana diungkapkan dalam Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

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

Artinya: “Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik?” (QS: Asy-Syu'ara[26]: 7).

Manfaat disebutkannya tumbuhan tersebut berimplikasi pada pemahaman manusia dalam menjaga serta memperhatikan kesehatan. Bahwasannya penyebutan tumbuhan yang memiliki fungsi sebagai obat dapat dipelajari zat yang terkandung didalamnya sehingga manusia dapat memanfaatkannya secara baik. Hal tersebut tentu sangat membantu bagi manusia untuk keberlangsungan hidupnya (Muftikah, 2019).

2.2 Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R. M. King dan H. Robinson)

Chromolaena odorata (L.) R. M. King dan H. Robinson adalah salah satu gulma tropis di dunia. Ini adalah anggota suku Eupatorieae dalam keluarga bunga matahari Asteraceae. Gulma memiliki banyak nama pada berbagai wilayah diantaranya yaitu gulma Siam, gulma setan, gulma Prancis, gulma komunis, hagonoy, co hoy dan lain-lain (Vaisakh, 2012). Sedangkan nama umum lain dari *Chromolaena odorata* yaitu *Eupatorium affine* Hook & Arn., *Eupatorium brachiatum* Wikstrom, *Eupatorium clematitis* DC., *Eupatorium conyzoides* M. Vahl., *Eupatorium divergens* Less., *Eupatorium floribundum* Kunth, *Eupatorium*

graciliiflorum DC., *Eupatorium odoratum* L., *Eupatorium odoratum* L. & Walp., *Osmia conyzoides* (Vahl) Sch.-Bip., *Osmia divergens* (Kurang) SchultsBip., *Osmia floribunda* (Kunth) Schultz-Bip., *Osmia graciliflora* (DC) Sch.Bip., *Osmia odorata* (L) Schultz- bip (Cakraborty, 2011).

2.2.1 Klasifikasi

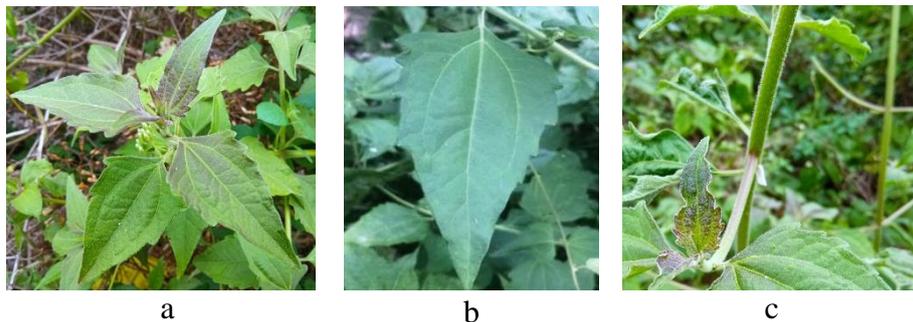
Secara sistematis *Chromolaena odorata* memiliki klasifikasi sebagai berikut (ITIS, 2020):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivision	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Asteranae
Order	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: Chromolaena
Species	: <i>Chromolaena odorata</i> (L.) R.M. King dan H. Robinson

2.2.2 Deskripsi Morfologi

Tumbuhan *Chromolaena odorata* (kirinyuh) dikenal sebagai gulma yang merupakan tumbuhan semak menahun, termasuk ke dalam tumbuhan golongan Aster yang mempunyai karakteristik batang rapuh, lurus dan bercabang banyak. *C. odorata* merupakan jenis gulma dengan masa hidup bisa lebih dari satu tahun dan

beradaptasi sangat baik dengan iklim tropis basah-kering. *C. odorata* adalah tumbuhan perdu yang merambat berbatang lurus, mudah bercabang, bernas, bersifat rapuh, berdaun tiga, daun berbentuk segitiga bulat telur yang bertempat saling berlawanan pada batang dan memiliki sistem akar berserat yang dangkal. *C. odorata* memiliki siklus hidup yang pendek, maksimal sepuluh tahun. Tumbuhan ini adalah herba yang membentuk semak lebat setinggi 2 m hingga tinggi maksimum 6 meter (memanjat pada vegetasi lainnya). Memiliki cabang yang berpasangan tumbuh bebas melalui batang utama. Batang tua di pangkal berwarna coklat dan berkayu, sedangkan ujungnya lunak dan hijau. Tumbuhan ini memiliki akar berserat dan dapat menembus tanah kurang dari 20-30 cm di sebagian besar jenis tanah (Zahara, 2019; Omokhua, 2015).



Gambar 2.1. Tumbuhan *C. odorata* (a) habitus *C. odorata*, (b) daun *C. odorata*, (c) batang *C. odorata* (Zahara, 2019)

Sesuai dengan Gambar 2.1, tumbuhan ini mempunyai ciri khas daun berbentuk oval dan di bagian bawahnya lebih lebar, lebar daun 3-6 cm, panjang daun 6-10 cm, panjang tangkai daun 1-2 cm, daunnya memiliki tiga tulang daun yang nampak. Pangkal daun membulat dengan ujungnya yang tumpul, tepi daun bergerigi, daun bersifat kaku dengan permukaannya berbulu pendek, daun tumbuh secara berpasang-pasang pada sepanjang batang dan cabang. Seperti yang

ditunjukkan oleh nama spesies “odora”, daunnya mengeluarkan bau yang menyengat ketika diremas. Memiliki batang berkayu, tegak, bercabang-cabang, batang bercorak garis membujur paralel, ditumbuhi rambut-rambut halus, tinggi batangnya dapat mencapai 5 meter bahkan bisa lebih (Zahara, 2019; Thamrin dkk, 2007).



Gambar 2.2. Morfologi tumbuhan *C. odorata* (a) bunga, (b) palpus akan gugur menjadi benih (Zahara, 2019).

Gambar 2.2 menunjukkan morfologi bunga *C. odorata* yang berwarna putih atau ungu pucat kebiruan, dan bentuknya menutupi seluruh permukaan. Buah *C. odorata* hanya berupa kelopak yang tertinggal sebagai jambul (*pappus*), sehingga *C. odorata* dianggap tidak menghasilkan buah. Biji *C. odorata* berukuran kecil (panjang 3-5mm, lebar ~1mm, dan berat sekitar 2,5 mg) (Zahara, 2019). Gulma ini mampu menghasilkan biji yang banyak serta memiliki rambut *palpus* sehingga mudah tersebar karena bantuan angin. Berkembang biak melalui biji atau dapat melalui stek batang (Thamrin dkk, 2007). Pada kenyataannya, *C. odorata* menunjukkan variabilitas morfologi dalam hal warna bunga, bentuk dan bulu daun, bau daun hancur dan arsitekturnya. Di beberapa daerah menunjukkan beberapa bentuk dan peralihan, sementara di daerah lain tampak homogen dan variabilitas ini hingga saat ini masih belum dapat dijelaskan (Zahara, 2019).

2.2.3 Persebaran Tumbuhan

Chromolena odorata (L.) RM King dan H Robinson (Asteraceae) adalah semak perintis asli Amerika dari Amerika Serikat bagian selatan hingga Argentina utara. Di daerah asalnya, *C. odorata* adalah spesies yang umum, tumbuh dari pantai sampai ketinggian 1000-1500 mdpl, meskipun telah ditemukan pada ketinggian maksimum hampir 3000 mdpl. Di Amerika Tengah dan Selatan, *C. odorata* biasa ditemukan di daerah dengan curah hujan melebihi 1500 mm per tahun. Di Trinidad, di mana satu-satunya studi ekologi lingkungan asli dilakukan, *C. odorata* cenderung menyukai tanah yang lebih kering karena cenderung mati dalam kondisi tergenang air. Tumbuh paling baik pada lokasi terbuka yang cerah seperti pinggir jalan, ladang terbengkalai, padang rumput, dan hutan yang terganggu, tetapi juga mentolerir kondisi semi-teduh. *C. odorata* tidak tumbuh subur di bawah kondisi teduh di hutan yang tidak terganggu atau di kebun yang ditanam dengan baik dan teratur (Zachariades, 2009).

C. odorata adalah tumbuhan neotropis yang diperkenalkan ke Asia dan Afrika tropis yang memiliki kondisi lembab pada pertengahan 1800-an. Pada pertengahan 1900-an menjadi masalah gulma di Afrika Barat, Tengah dan Selatan, Asia Selatan dan Tenggara dan Mikronesia. *C. odorata* telah menginvasi Afrika Barat dari lebih satu sumber introduksi tetapi semuanya berasal dari Asia. Tumbuhan ini mulai diketahui di Nigeria pada tahun 1937 melalui benih pohon hutan yang terkontaminasi, yaitu *Gmelina arborea* Roxb. (Verbenaceae) yang didatangkan dari Sri Lanka. Diperkirakan juga pada tahun 1936-1937, tumbuhan lada dan kopi dari Asia Tenggara yang dibudidayakan di Kamerun dan Republik Afrika Tengah, membawa spesies itu bersama mereka. Selanjutnya *C. odorata*

diperkenalkan baik secara tidak sengaja atau sengaja ke Pantai Gading setelah Perang Dunia II. Dari perkenalan ini, telah menyebar ke sebagian besar daerah tropis lembab di Afrika Barat dan Tengah. Di pulau Mauritius di Samudera Hindia diperkenalkan sekitar tahun 1949 (Muniappan, 2005).

Pada wilayah di seluruh dunia yang terinvansi *C. odorata*, menjadi gulma serius di tanaman perkebunan seperti jeruk, kelapa sawit, jambu mete, jati, dan karet, serta hutan rusak, padang rumput, dan cagar alam. *C. odorata* tidak menjadi masalah dalam tanaman tahunan karena pembajakan yang sering dan operasi budaya lainnya menjaga gulma ini tetap terkendali. Namun pada hutan yang terganggu, tumbuhan ini menjadi belukar yang mengganggu pergerakan bebas satwa liar. Pertumbuhan *C. odorata* di sepanjang bantaran sungai di Afrika Selatan mengancam perkembangbiakan buaya Nil (Muniappan, 2005).

C. odorata di Indonesia telah menyebar dari Sumatera di barat, hingga Irian Barat di timur. Dimulai dengan diperkenalkan budidaya komersial tembakau pada pergantian abad kedua puluh pada daerah Deli di pantai timur Sumatera Utara. Tumbuhan ini juga dianggap sebagai gulma berbahaya di antara berbagai tumbuhan. Di perkebunan karet dan lainnya, petani berusaha sangat keras untuk menjaga populasi *C. odorata* pada tingkat yang rendah, dari tahap awal penanaman hingga sekitar 15-20 tahun kemudian (Sipayung, 1991; Tjitrosoedirdjo, 1991).

2.2.4 Kandungan

Chromolaena odorata memiliki kandungan karbohidrat total tinggi (20,58% WW dan 50,82% DW), serat kasar (10,76% WW dan 26,57% DW) dan protein (6,56% WW dan 16,20% DW). Protein ini kaya akan asam amino esensial (dengan histidin dan fenilalanin yang sangat tinggi) dan memiliki nilai protein

88,24% dengan metionin sebagai asam amino pembatas. Skrining fitokimia pada daun *C. odorata* mengungkapkan adanya alkaloid, glikosida sianogenik, flavonoid (aurone, chalcone, flavon dan flavonol), fitat, saponin dan tanin (Ngozi, 2009). Komposisi anti-nutrisi termasuk glikosida sianogenik (0,05% WW dan 0,13% DW), fitat (0,22% WW dan 0,54% DW), saponin (0,80% WW dan 1,98% DW), tanin (0,15% WW dan 0,37% DW), Oxalate 1,89%, *Phytic acid* 1,34% dan Haemagglutinin 9,72 mg/g. (Ikhimioya, 2003). Minyak essential *C. odorata* mengandung camphora, limonene, α -pinene, cadinene, candinol isomer, dan β -caryophyllene (Inya-agma, 2008).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak metanol/diklorometana *C. odorata* dari *aerial-organ* (organ tumbuhan di atas tanah) mengandung beberapa jenis senyawa flavonoid esensial, enam flavonoid yang diketahui diantaranya apigenin-7,40-dimethyl ether 5-hidroksi 6,7,40-trimetoksiflavanon, alyssifolinone, eriodictyol-7,30,40-trimetil eter, dihydrokaempferide, dan aromadendrin-7-dimethyl ether yang belum pernah dilaporkan sebelumnya (Pisutthanan, 2006). Sedangkan flavonoid yang diketahui lebih lanjut yaitu isosakuranetin, sakuranetin, sakuranetin-40-metil eter, persikogenin, aromadendrin-7,4-dimetil eter, acacetin, ombuin, odoratin (Pisutthanan, 2006; Putri, 2018), dan scandenin (Putri, 2018).

2.2.5 Pemanfaatan

C. odorata (kirinyuh) dikenal sebagai tumbuhan gulma pengganggu, namun disisi lainnya tumbuhan ini bermanfaat bagi kelangsungan hidup manusia sebagai biopestisida, pupuk organik, serta obat, uniknya gulma ini dapat digunakan sebagai herbisida pembasmi gulma (Sugiyanto, 2013). *C. odorata* merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dimanfaatkan secara tradisional untuk pengobatan, misalnya

ramuan daun *C. odorata* digunakan sebagai obat batuk dan juga sebagai obat tradisional lainnya termasuk antiinflamasi, anti-diare, antihipertensi, anti-spasmodik, antipiretik, diuretik, tonik, dan jantung tonik. Daun *C. odorata* juga telah diaplikasikan pada manusia untuk membantu pembekuan darah akibat luka luar (Vaisakh, 2012). Berdasarkan tinjauan literatur tentang penggunaan secara tradisional, *C. odorata* memiliki sifat fitokimia diantaranya anti-bakteri, antikanker, antikonvulsan, antidiabetes, anti-diare, antijamur, antiinflamasi, antioksidan, dan antiparasit, hemostatik dan penyembuhan luka, dan aktivitas hepatoprotektif (Sirinthipaporn, 2017).

Penelitian secara empiris membuktikan bahwa *C. odorata* dapat dijadikan sebagai obat penyembuh luka, terapi infeksi kulit, dan pengobatan masalah perut (Aziz, 2020). Studi *in vitro* dan *in vivo* dari ekstrak tumbuhan *C. odorata* telah menunjukkan bahwa mereka meningkatkan proliferasi (fibroblas, sel endotel dan keratinosit), merangsang migrasi keratinosit, meregulasi produksi protein matriks ekstraseluler (ECM) yang diinduksi keratinosit dan komponen membran dasar, dan menghambat kontraksi kisi kolagen oleh fibroblast (Vijayaraghavan, 2017). Penelitian secara *in vivo* juga telah membuktikan bahwa ekstrak daun *C. odorata* dapat menurunkan gula darah (Amaliah, 2019).

2.3 Metabolit Sekunder Tumbuhan

Metabolit sekunder merupakan produk reaksi sekunder dari proses metabolisme dalam tumbuhan. Tumbuhan melakukan proses metabolisme dalam dirinya dalam memenuhi kebutuhan untuk tumbuh dan berkembang hingga melalui

fase-fase didalamnya. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an Surah Al-An'am ayat 99, yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. Maka, darinya Kami mengeluarkan tanaman yang menghijau. Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk (banyak). Dari mayang kurma (mengurai) tangkai-tangkai yang menjuntai. (Kami menumbuhkan) kebun-kebun anggur. (Kami menumbuhkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah dan menjadi masak. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang beriman” (QS: Al-An'am [6]: 99).

Pada Tafsir *al-Muntakhab* mengemukakan adanya suatu perintah pada ayat

انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ (*perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah, dan*

menjadi masak), yaitu mendorong perkembangan ilmu tumbuh-tumbuhan (botani)

untuk mengandalkan metode pengamatan tumbuhan pada semua fase

perkembangannya. Ayat tentang tumbuh-tumbuhan ini menerangkan proses

penciptaan tumbuhan dan buahnya, yang tumbuh dan berkembang melalui

beberapa fase hingga sampai pada fase kematangan (dewasa). Pada saat mencapai

fase tertentu, suatu jenis tumbuhan mengandung komposisi metabolit pada berbagai

organ sehingga menghasilkan buah (Shihab, 2002). Kandungan metabolit tersebut

merupakan hasil metabolisme (anabolisme) yang terjadi pada tumbuhan melalui

proses fotosintesis. Bahan organik yang dihasilkan oleh metabolisme tumbuhan,

seperti karbohidrat, lemak, dan protein, sebagian mengalami reaksi sekunder

hingga menghasilkan bahan organik lain yang biasa disebut metabolit sekunder

(Ergina, 2014).

2.3.1 Peran metabolit sekunder

Metabolit sekunder berhubungan dengan produk reaksi sekunder dari metabolit primer dalam hal senyawa penyusun dan enzim yang terlibat dalam biosintesis. Reaksi biokimia metabolit primer membentuk seluruh proses fisiologis yang memungkinkan tumbuhan mengalami pertumbuhan melalui penerjemahan kode genetik untuk menghasilkan karbohidrat, protein, dan lipid. Sedangkan senyawa khusus metabolit sekunder berguna untuk komunikasi antar organisme lain secara mutualistik (contohnya penarik organisme untuk membantu penyerbukan) dan antagonis (contohnya pencegah terhadap organisme herbivora dan mikroba patogen). Selain itu, metabolit sekunder juga membantu mengatasi stress abiotik seperti peningkatan radiasi UV (Julianto, 2019).

Metabolit sekunder berupa molekul-molekul kecil dan memiliki sifat yang spesifik, strukturnya bervariasi, dan fungsinya berbeda-beda. Metabolit sekunder berperan dalam pertahanan tubuh makhluk hidup. Selain itu, metabolit sekunder juga dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan atau pengembangan obat-obat baru (Ergina, 2014). Metabolit sekunder merupakan senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme (tumbuhan) dan banyak ditemukan dalam bentuk yang berbeda-beda antar spesies. Metabolit sekunder berfungsi dalam mempertahankan diri tumbuhan dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti untuk mengatasi penyakit dan hama, sebagai molekul sinyal, dan menarik pollinator (Verpoorte, 2000).

Tidak ditemukannya metabolit sekunder pada tumbuhan tidak akan mengakibatkan kematian tumbuhan secara langsung, namun mengakibatkan gangguan jangka panjang pada kelangsungan hidup organisme, menyebabkan

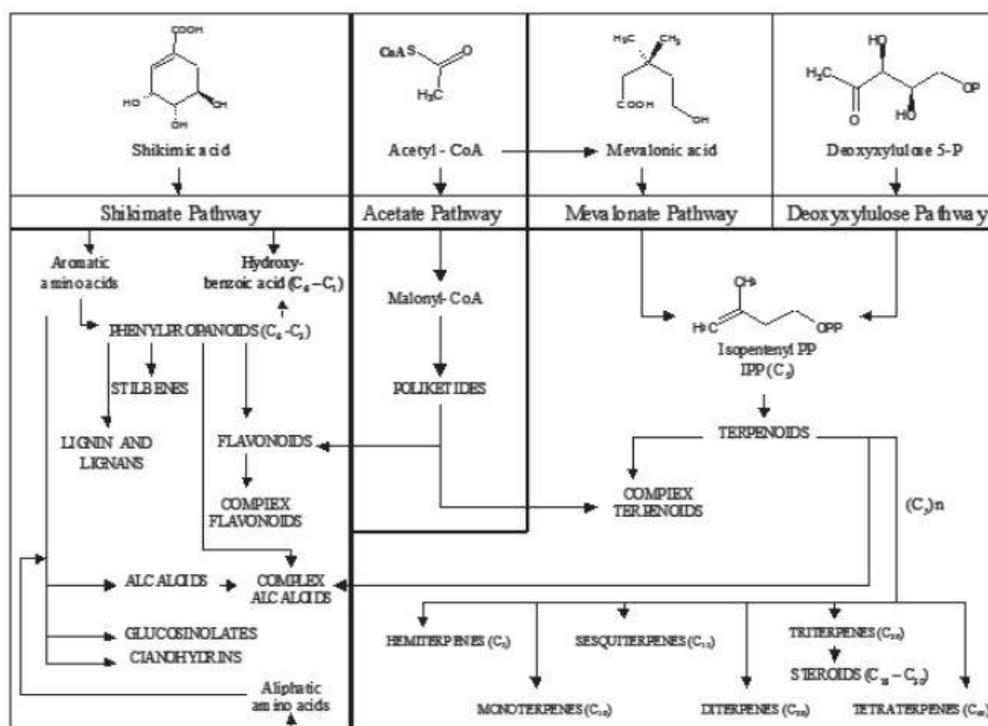
berkurangnya ketahanan hidup tumbuhan secara tidak langsung, ketahanan penyakit, estetika, atau bahkan tidak memiliki efek sama sekali bagi tumbuhan tersebut. Metabolit sekunder setiap tumbuhan memiliki kualitas dan kuantitas yang berbeda. Tumbuhan herbal banyak mengandung metabolit sekunder, kelompok bahan kimia yang beragam, seperti alkaloid, glikosida, amina, insektisida, steroid, flavonoid, dan metabolit terkait (Jain, 2019).

Senyawa metabolit didalam tumbuhan ada pada dinding sel, vakuola dan inti sel (Holil, 2020). Banyak metabolit sekunder tumbuhan yang bersifat khusus dan mendasar pada tumbuhan normal dalam bentuk senyawa biologis aktif, tetapi juga ada yang bersifat prekursor tidak aktif dan dapat diaktifkan sebagai respon terhadap respon lingkungan. Metabolit sekunder dapat berperan secara ekologis dalam perlindungan tumbuhan terhadap tekanan biotik dan abiotik. Beberapa metabolit sekunder, seperti flavonoid terlibat dalam pigmentasi sel pada bunga dan biji yang dapat menarik penyerbuk, penyebar biji, dan juga terlibat dalam reproduksi tumbuhan (Jain, 2019). Senyawa metabolit sekunder tidak dibutuhkan oleh sel sebagai *building block*, senyawa penyusun, sebagaimana metabolit primer, tetapi senyawa-senyawa ini dibutuhkan oleh sel untuk sistem pertahanan, sebagai senyawa atraktan, sebagai sinyal atau respon terhadap lingkungan, hingga sebagai senyawa mediasi dalam melakukan komunikasi antar organisme (Anggraito, 2018).

2.3.2 Jalur biosintesis metabolit sekunder

Jalur biosintesis metabolit sekunder berasal dari berbagai prekursor reaksi primer dalam metabolisme. Prekursor diartikan sebagai molekul yang digunakan enzim biosintetik sebagai substrat dan dikonversi menjadi sebuah produk. Produk yang dihasilkan dapat berupa senyawa-senyawa intermediet, sehingga digunakan

untuk menjadi prekursor enzim berikutnya atau dijadikan produk akhir dari reaksi khusus. Pada sebuah skema reaksi kompleks, beserta percabangan reaksinya, suatu senyawa intermediat secara simultan menjadi prekursor untuk produk lain dari jalur reaksi. Contohnya pada metabolisme asam amino, asam sikimat dapat menjadi senyawa intermediatnya, sekaligus sebagai prekursor dalam biosintesis metabolit sekunder senyawa aromatik (Anggraito, 2018). Jalur biosintesis metabolit sekunder pada tumbuhan terbagi menjadi tiga jalur berdasarkan senyawa pembangunnya (*Building block*) yakni: a) Jalur asam asetat (*Acetate Pathway*), b) Jalur asam sikimat (*Shikimic Acid Pathway*), c) Jalur asam mevalonat dan deoksisilulosa (*mevalonate acid and deoxyxylulose pathway*) (Julianto, 2019). Ketiga jalur pada pembentukan metabolit sekunder tersebut ditampilkan pada Gambar 2.3. Beberapa senyawa metabolit sekunder dihasilkan diantaranya flavonoid, terpenoid, steroid, dan alkaloid.



Gambar 2.3. Jalur biosintesis metabolit sekunder (Julianto, 2019)

a. Jalur Asam Asetat

Asetil KoA terbentuk melalui reaksi *oxidative decarboxylation* melalui jalur glikolitik dari produk asam piruvat. Proses β -oksidasi asam lemak juga menghasilkan Asetil KoA, bila prosesnya secara efektif dibalik maka asetil KoA dapat mensintesis asam lemak itu sendiri. Metabolit yang dihasilkan dari jalur asam asetat diantaranya senyawa fenolik, antibiotik, makrolida, dan prostaglandin serta berbagai asam lemak dan turunannya pada metabolisme, baik reaksi primer atau sekunder (Julianto, 2019). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui jalur asam asetat antara lain berupa asam lemak (laurat, linoleat, linolenic, miristat, oleat, palmitat, dan stearat), fosfolipida, glikolipida, gliserida, dan poliasetilen (Mariska, 2013).

b. Jalur Asam Sikimat

Asam sikimat disntesis melalui kombinasi fosfoenolpiruvat, *glycolytic intermediate*, dan erythrose 4-fosfat dari jalur pentose fosfat. Reaksi pada siklus pentose fosfat digunakan untuk mendegradasi glukosa, selain itu pada reaksi baliknya digunakan untuk sintesis sukrosa pada saat fotosintesis. Sintesis pada jalur sikimat membentuk berbagai senyawa fenolik, alkaloid, lignan, dan beberapa turunan dari asam sinamat (Julianto, 2019). Lebih lanjut, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui jalur ini diantaranya asam amino benzoic, asam sinamat, quinon, koumarin, tannin, lignin dan, fenol asam benzoic (Mariska, 2013).

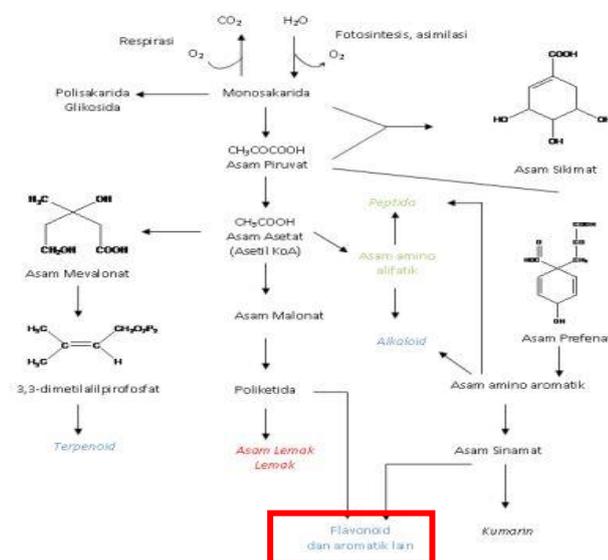
c. Jalur Asam Mevalonat dan Deoksisilulosa

Asam mevalonik sendiri dibentuk dari tiga molekul asetil KoA, namun jalur mevalonatasetat membentuk deretan senyawa yang berbeda dengan jalur asetat. Kombinasi dua senyawa intermediet dari jalur glikolitik, yaitu gliseraldehida-3-

fosfat dan asam piruvat membantu deoksisilulosa pospat, Jalur fosfat mevalonat dan deoksisilulosa secara simultan bertanggung jawab terhadap biosintesis yang mengarah pada pembentukan steroid dan terpenoid (Juliato, 2019). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui jalur asam mevalonat antara lain adalah ABA, essential oil, GA3, geraniol, korosinoid, menthol, monoterpenoid, sapogenin, squalent, streoid, dan terpenoid (Mariska, 2013).

2.4 Flavonoid

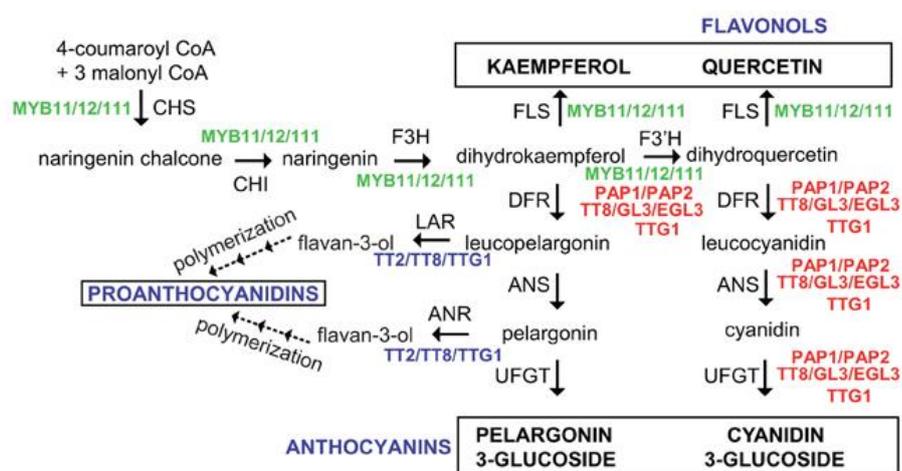
Flavonoid merupakan kelompok senyawa dengan berat molekul yang kecil dan memiliki inti 2-fenil-kromon yang berasal dari biosintesis turunan fenilalanin/asam asetat melalui jalur asam asetat maupun jalur asam sikimat (Arifin, 2018). Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Jalur biosintesis flavonoid (Juliato, 2019)

Gambar 2.4 menunjukkan bahwa flavonoid juga golongan dari metabolit sekunder yang merupakan hasil sintesis asam piruvat (pada metabolisme asam amino). Jika ditambahkan amoniak ataupun basa, maka akan terjadi perubahan

warna. Flavonoid menjadi senyawa pereduksi yang efektif untuk penghambatan reaksi oksidasi, baik secara enzimatis maupun non enzimatis (Fita, 2018). Pada tumbuhan, flavonoid merupakan golongan dari metabolit sekunder hasil dari sintesis asam piruvat pada metabolisme asam amino, dimana asam piruvat menjadi substrat awal dari proses glikolisis glukosa (sukrosa) hasil fotosintesis. Asam piruvat dapat mengalami transaminase menjadikan Alanin + α -ketoglutarat yang akhirnya menjadi fenilalanin, Flavonoid sendiri disintesis melalui jalur fenilpropanoid, mengubah fenilalanin menjadi 4-coumaroyl-CoA, yang akhirnya memasuki jalur biosintesis flavonoid. Secara lengkap ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5. Jalur pembentukan turunan flavonoid (Maria, 2012)

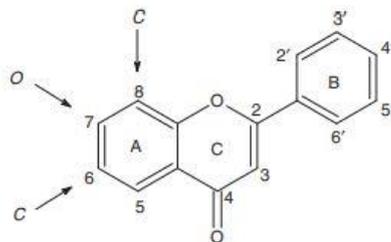
Enzim pertama yang spesifik untuk jalur flavonoid, *chalcone synthase*, menghasilkan perancah *chalcone* (*chalcone scaffolds*) yang merupakan prekursor dari semua flavonoid berasal. Meskipun jalur utama untuk biosintesis flavonoid dipertahankan pada tumbuhan, tergantung pada spesiesnya, sekelompok enzim, seperti isomerase, reduktase, hidrosilase, dan beberapa dioksigenase yang bergantung pada Fe^{2+} /2-oksoglutarat dengan memodifikasi kerangka dasar

flavonoid, mengarah ke subkelas flavonoid. Terakhir, transferase memodifikasi tulang punggung flavonoid dengan gula, gugus metil dan/atau gugus asil, memodulasi aktivitas fisiologis dari flavonoid yang dihasilkan dengan mengubah kelarutan, reaktivitas dan interaksinya dengan target seluler (Maria, 2012).

Flavonoid (khususnya antosianin dan proanthocyanidins) disintesis di sepanjang jalur fenilpropanoid umum oleh aktivitas kompleks multienzim sitosol, yang dikenal juga sebagai metabolon flavonoid, yang sedikit terkait dengan permukaan sitoplasma retikulum endoplasma (ER). Secara khusus, beberapa enzim merupakan golongan sitokrom-P450 dan memiliki kemampuan untuk mengikat membran. Di sisi lain, beberapa enzim yang terlibat dalam jalur biosintetik secara longgar juga terkait dengan membran organel yang berbeda, seperti vakuola, plastida dan nukleus. Secara khusus, didalam plastida menunjukkan adanya *chalcone synthase* (CHS) dan *leucoanthocyanidin oxidase* (LDOX), yang terakhir juga dijelaskan dalam nukleus. Temuan tersebut mungkin menunjukkan bahwa distribusi bercabang dari enzim yang terlibat dalam biosintesis flavonoid (Petrucci, 2013).

Flavonoid adalah sekelompok metabolit sekunder polifenol tumbuhan yang menunjukkan struktur kimia tiga cincin yang sama (C₆-C₃-C₆). Flavonoid adalah nama umum dari kelas senyawa yang lebih dari 6500 molekul berdasarkan kerangka 15-karbon. Struktur intinya berupa 2-fenilbenzopiranon, di mana ikatan tiga karbon antara gugus fenil biasanya disikluskan dengan oksigen seperti pada Gambar 2.6. Kelas utama flavonoid yaitu flavon, isoflavon, flavonol, antosianidin, flavanon, flavanol, kalkon, dan auron. Mereka dibedakan menurut tingkat ketidakejenuhan dan tingkat oksidasi segmen tiga karbon. Pada berbagai kelas,

diferensiasi secara lanjut dimungkinkan berdasarkan sifat dan jumlah kelompok substituen yang melekat pada cincin (Corradini, 2011).



Gambar 2.6. Struktur Kimia Dasar Flavonoid (Corradini, 2011).

Flavonoid memiliki peran yang beragam dalam memberikan pigmentasi pada bunga, buah dan biji yang terlibat dalam kesuburan tumbuhan dan perkecambahan serbuk sari dan pertahanan terhadap patogen tumbuhan (Das, 2014). Selain itu, senyawa ini merupakan zat fenolik terhidroksilasi dan diketahui disintesis oleh tumbuhan sebagai respons reaksi degeneratif. Aktivitas flavonoid bergantung pada strukturnya. Sifat kimia flavonoid tergantung pada kelas strukturalnya, derajat hidroksilasi, substitusi dan konjugasi lain, dan derajat polimerisasi. Flavonoid juga mengatur faktor pertumbuhan pada tumbuhan seperti auksin (Kumar, 2013).

Secara biologis flavonoid memiliki fungsi yang berbeda tergantung jenisnya, diantaranya untuk perlindungan terhadap fitopatogen dan radiasi ultraviolet (UV), pensinyalan untuk nodulasi, fertilitas, transport auksin, maupun pewarnaan bunga yang berfungsi untuk sinyal secara visual untuk penyerbuk. Selain itu senyawa flavonoid berperan dalam pewarnaan tumbuhan di musim gugur pada beberapa tumbuhan, yang dapat melindungi sel-sel daun dari kerusakan fotooksidatif, sehingga efisiensi pengambilan nutrisi meningkat selama penuaan.

Flavonol mungkin merupakan flavonoid terpenting yang berperan dalam respons stres, karena memiliki berbagai aktivitas fisiologis yang kuat (Maria, 2012).

Sebagian jenis flavonoid memberikan proteksi terhadap stres, salah satunya bertindak sebagai pemulung radikal bebas seperti spesies oksigen reaktif (ROS), serta logam pengkelat yang menghasilkan ROS melalui reaksi Fenton. Flavonoid juga terlibat dalam ketahanan terhadap toksisitas aluminium pada beberapa tanaman, seperti jagung. Akar tanaman yang terpapar aluminium menghasilkan senyawa flavonoid dalam jumlah tinggi seperti kuarsetin dan katekin, kemampuan mereka dalam mengkelat logam dapat menjadi mekanisme untuk proteksi dan perbaikan toksisitas dari aluminium (Kidd, 2001).

Terdapat hubungan antara flavonoid dengan kontrol transportasi kutub hormon auksin. Hormon auksin memiliki peran terhadap respon stres berupa pengendalian pembukaan stomata serta pengalokasian hormon tersebut di bawah kondisi pertumbuhan yang buruk. Flavonoid, seperti quercetin, kaempferol, apigenin, dan molekul aglikon lainnya yang disintesis pada langkah pertama jalur biosintesis flavonoid, menghambat transpor auksin polar dan meningkatkan akumulasi auksin terlokalisasi pada tumbuhan (Maria, 2012).

Flavonoid disajikan dalam nutrisi dan obat-obatan herbal, baik flavonoid ataupun banyak komponen fenolik lainnya telah dilaporkan efektif sebagai antioksidan, antikanker, antibakteri, agen kardioprotektif, antiinflamasi, peningkatan sistem kekebalan tubuh, maupun perlindungan kulit dari radiasi UV (Tungmunnithum, 2018). Flavonoid terkait erat dengan seluruh organ tumbuhan, flavonoid hampir ditemukan pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, kulit luar batang, akar dan buah. Flavonoid berpotensi digunakan sebagai antioksidan

yang dapat menangkal radikal bebas penyebab penyakit degeneratif melalui mekanisme perusakan sistem imun tubuh, oksidasi lipid dan protein (Aminah, 2017). Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari *Low Density Lipoproteins* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi (Minarno, 2015).

Pada pemanfaatannya, flavonoid diekstraksi dari tumbuhan menggunakan berbagai pelarut. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi senyawa metabolit dari tanaman dipilih berdasarkan polaritas zat terlarut. Suatu pelarut dengan polaritas yang mirip dengan zat terlarut akan melarutkan zat terlarut dengan baik (Holil, 2020). Pelarut pengestraksi mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai dengan konsep *like dissolve like*, dimana senyawa polar akan larut dalam pelarut polar, dan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar (Savitri, 2019). Flavonoid merupakan senyawa polar, oleh karena itu flavonoid akan larut dengan baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan lain lain. Campuran pelarut dan air merupakan pelarut yang efektif untuk flavonoid glikosida (flavonoid terikat dalam bentuk glikosida). Sedangkan senyawa aglikon flavonoid seperti flavanon, flavon, dan flavonol lebih mudah terlarut dalam kloroform dan eter (Arifin, 2018).

2.5 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Metabolisme Tumbuhan

Terdapat peran serta kondisi lingkungan terhadap proses metabolisme dan perkembangan tumbuhan, hal tersebut berdampak pada metabolit yang dihasilkan. Oleh karena itu produksi metabolit setiap tumbuhan akan berbeda, salah satunya tergantung pada kondisi lingkungan tempat tumbuh. Variasi respon karena adanya perbedaan kondisi lingkungan, menunjukkan bahwa suatu tumbuhan melakukan adaptasi. Salah satu adaptasi berupa variasi sifat morfologi-anatomi daun yang sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, seperti cahaya, suhu, kelembapan, tekanan udara dan kondisi tanah. Sifat tersebut dipertunjukkan untuk menjaga keseimbangan metabolisme pada tumbuhan (Salisbury, 1995).

Melalui tinjauan fisiologi tumbuhan, diketahui bahwa berbagai tekanan lingkungan (suhu tinggi dan rendah, kekeringan, alkalinitas, salinitas, stres UV dan infeksi patogen) berpotensi berbahaya bagi tumbuhan. Tekanan lingkungan sering meningkatkan akumulasi metabolit sekunder seperti fenilpropanoid. Stres nutrisi juga memiliki efek nyata pada kadar fenolik dan flavonoid dalam jaringan tumbuhan. Konsentrasi berbagai produk sekunder tumbuhan sangat tergantung pada kondisi pertumbuhan dan berdampak pada jalur metabolisme yang bertanggung jawab atas akumulasi produk alami terkait (Ramakrishna, 2011).

Kandungan fitokimia dari hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan akan berbeda di setiap lokasi tumbuh, hal ini disebabkan oleh faktor lingkungan yang juga berbeda. Ketinggian tempat tumbuh merupakan salah satu penentu beragamnya kondisi lingkungan tersebut seperti suhu, cahaya, kelembapan, pH maupun kualitas tanah tempat tumbuh (Safrina, 2018; Hadiyanti, 2018).

2.5.1 Suhu

Suhu udara akan semakin rendah seiring dengan meningkatnya ketinggian suatu tempat karena suhu yang diterima oleh permukaan bumi semakin kecil. Secara umum, kenaikan suhu udara akan diikuti oleh kenaikan laju fotosintesis, sementara itu suhu udara yang berkurang dapat memperlambat laju reaksi, yang selanjutnya dapat mengurangi hasil metabolit tumbuhan akibat aktivitas fotosintesis menjadi terganggu. Hal tersebut berefek langsung pada produksi metabolit sekunder yang merupakan hasil dari reaksi lanjutan dari metabolit primer tumbuhan (Hadiyanti, 2018).

Terdapat efek fluktuasi suhu pada produksi metabolit sekunder tumbuhan. Suhu tanah yang lebih rendah menyebabkan peningkatan kadar metabolit sekunder, seperti steroid furostanol dan saponin spirostanol. Variasi suhu memiliki banyak efek pada regulasi metabolisme, permeabilitas, laju reaksi intraseluler. Perubahan suhu dapat mengubah fisiologi dan metabolisme sel dan selanjutnya mempengaruhi pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan stress dan cekaman bagi tumbuhan, sebagai responnya melakukan adaptasi dengan meningkatkan produksi metabolit sekunder sebagai perlindungan (Ramakrishna, 2011).

Suhu lingkungan yang tinggi akan menginduksi tumbuhan untuk mensintesis metabolit sekunder yang bersifat antioksidan untuk melawan radikal bebas yang disebabkan oleh faktor suhu tersebut. Pada suhu yang lebih tinggi, tumbuhan akan memproduksi total flavonoid tingkat tinggi sebagai ekstra sinergi pertahanan terhadap cekaman pada lingkungan (Utomo, 2020). Suhu yang rendah selama musim dingin, mempengaruhi metabolisme tanaman beriklim sedang, mengarah ke

sintesis molekul krioprotektan seperti gula alkohol (sorbitol, ribitol, inositol) gula larut (sakarosa, rafinosa, stachyose, trehalose), dan nitrogen dengan berat molekul rendah senyawa (prolin, glisin betaine). Stres dingin meningkatkan produksi senyawa-senyawa fenolik maupun flavonoid dan penggabungan selanjutnya ke dalam dinding sel baik sebagai suberin atau lignin (Ramakrishna, 2011).

2.5.2 Cahaya

Perbedaan ketinggian tempat juga akan mempengaruhi distribusi cahaya yang ada. Semakin tinggi suatu tempat, maka intensitas cahaya yang sampai ke permukaan semakin kecil, selanjutnya intensitas cahaya dan konduksi dari bumi akan mempengaruhi suhu tanah. Keadaan lingkungan seperti ini akan berefek pada proses pertumbuhan serta metabolisme tumbuhan (Istiawan, 2019).

Cahaya matahari menjadi salah satu faktor pembatas untuk tumbuhan. Berkurangnya intensitas cahaya matahari pada akhirnya akan mempengaruhi pertumbuhan, anatomi, morfologi, dan berpengaruh negatif terhadap proses fisiologi dan biokimia sel, serta penurunan ukuran daun melalui pengontrolan terhadap pembelahan sel (Saputri, 2019). Sebagai contoh, intensitas cahaya mempengaruhi kerapatan stomata, walaupun setiap jenis tumbuhan memiliki respon yang berbeda-beda. Umumnya tumbuhan yang mendapatkan intensitas cahaya rendah memiliki kadar klorofil lebih rendah. Akibatnya terjadi penurunan laju fotosintesis. Penurunan laju fotosintesis menyebabkan penurunan konsumsi CO₂ yang masuk melalui stomata. Kebutuhan rendah terhadap CO₂ tersebut, akan mempengaruhi anatomi tumbuhan, yaitu menurunnya kerapatan stomata (Shao, 2014).

Intensitas cahaya dapat mempengaruhi produksi metabolit, karena keberadaan cahaya dapat merangsang metabolit sekunder. Telah dilaporkan bahwa terdapat sebuah korelasi positif antara peningkatan intensitas cahaya dengan kadar metabolit sekunder (Ramakrishna, 2011). Penelitian ekstensi telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh intensitas cahaya yang berbeda pada tanaman dalam melakukan fotosintesis dengan parameter fisiologis dan biokimia. Menunjukkan bahwa beberapa tumbuhan membutuhkan intensitas cahaya yang berbeda, misalnya memerlukan intensitas lebih tinggi atau lebih rendah daripada intensitas cahaya normal yang dapat menghambat fotosintesis (Thoma, 2020). Penyerapan cahaya oleh daun secara efisiensi dapat menyebabkan perubahan morfologi dan fisiologi yang berbeda. Penyerapan cahaya optimal berdampak langsung pada proses fotosintesis secara efisien, yang selanjutnya mempengaruhi pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder (Yustiningsih, 2019).

2.5.3 Kelembapan tanah

Kelembapan tanah juga berpengaruh terhadap pertumbuhan. Ketinggian tempat berkaitan dengan kelembapan karena perbedaan curah hujan maupun evaporasi-transpirasi potensial. Kondisi ini berpengaruh pada perkembangan dan pertumbuhan secara tidak langsung. Setiap jenis tumbuhan memiliki respon metabolit yang unik terhadap variasi pada berbagai aspek iklim tersebut (Karyati, 2018). Tanah yang lembab dan udara yang kering mempercepat metabolisme yang mengarah pada pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan (Nurwahyuni, 2016).

Kelembapan tanah juga berkaitan dengan kandungan air pada tanah. Tanah kering (kelembapan rendah) menandakan tanah kurang mengandung air. Diketahui bahwa air merupakan reagen yang penting dalam proses-proses fotosintesis dan

dalam proses-proses hidrolis. Disamping itu air berfungsi sebagai pelarut dari hara, garam, gas, dan beberapa material yang bergerak ke dalam tumbuhan, melalui dinding sel ataupun jaringan esensial untuk memastikan adanya turgiditas, pertumbuhan sel, pembukaan dan penutupan stomata, konsistensi bentuk daun, serta kelangsungan gerak struktur tumbuhan (Wiraatmaja, 2017). Paparan kekeringan atau stres garam menyebabkan banyak reaksi umum pada tumbuhan, seperti penghambatan proses sintesis metabolit seluler. Tekanan tersebut menyebabkan dehidrasi seluler, yang menyebabkan stres osmotik dan pemindahan air dari sitoplasma ke vakuola (Ramakrishna, 2011). Oleh karena itu, peranan air yang sangat penting tersebut, menimbulkan konsekuensi secara langsung maupun tidak langsung, seperti tumbuhan yang kekurangan air akan mempengaruhi seluruh proses metaboliknya (Wiraatmaja, 2017).

2.5.4 pH tanah

Curah hujan pada tempat dengan ketinggian yang berbeda juga akan mempengaruhi kesuburan tanah karena air sangat berperan proses kimiawi dan biologi dalam tanah, seperti pH tanah. Ketetapan pH berpengaruh terhadap ketersediaan unsur hara (mudah tidaknya ion-ion unsur hara diserap oleh tumbuhan). Tanah yang memiliki pH rendah (asam) memiliki kecenderungan kandungan bahan organiknya yang rendah sedangkan kandungan anorganiknya tinggi (Putri, 2018).

Metabolisme tumbuhan dipengaruhi sifat asam-basa tanah tempat tumbuh yang berhubungan erat dengan pH tanah. Tanah dengan pH rendah memiliki kejenuhan kation basa yang rendah (kejenuhan kation asam tinggi), sedangkan tanah dengan pH tinggi memiliki kejenuhan kation basa yang tinggi pula. Kation

yang termasuk ke dalam kation asam yaitu Al_3^+ dan H^+ , sedangkan yang termasuk ke dalam kation basa yaitu Mg^+ , Ca^+ , Na^+ , dan K^+ . Kation-kation basa umumnya merupakan unsur hara yang diperlukan tumbuhan, namun kation basa ini dapat mudah mengalami pelindihan (pencucian). Oleh karena itu tanah yang memiliki kejenuhan basa tinggi menunjukkan tidak terlalu banyak mengalami pencucian pada tanah tersebut dan merupakan tanah yang subur (Roni, 2015).

Tanah-tanah dengan kejenuhan basa rendah berarti kompleks serapan lebih banyak diisi oleh kation-kation asam. Apabila jumlah kation asam terlalu besar, terutama Al_3^+ , maka tanah akan semakin masam. Kondisi ini dapat menjadi racun bagi tumbuhan (Roni, 2015). Sedangkan Tanah dengan pH tinggi ($\text{pH} > 7$) disebut sebagai tanah alkalin/tanah berkapur, memiliki kandungan CaCO_3 tinggi, terkadang dapat mencapai 95%. Tanah alkalin memiliki sifat fisik tanah kurang bagus, defisi air dengan aerasi tanah yang buruk, mengandung HCO_3^- tinggi, serta defisiensi Mn, P, Zn dan Fe disertai toksisitas oleh Na dan B. Kondisi tanah seperti ini juga dapat menyebabkan penyerapan hara dan proses metabolisme tumbuhan terganggu, hal tersebut dapat mengarah ke peningkatan atau penurunan produksi senyawa metabolit tumbuhan (Wiraatmaja, 2017).

2.6 Antioksidan dan Daya Antioksidan

Antioksidan berfungsi melindungi lipid dari proses peroksidasi oleh radikal bebas. Radikal bebas secara luas didefinisikan sebagai molekul yang memiliki satu elektron tak berpasangan di orbit terluar. Pada proses metabolisme oksidatif, sebagian besar oksigen yang terlibat terikat dengan hidrogen selama fosforilasi oksidatif, sehingga membentuk air. Namun, diperkirakan bahwa 4-5% dari oksigen

yang terlibat selama respirasi tidak sepenuhnya direduksi menjadi air, melainkan membentuk radikal bebas. Dengan demikian, peningkatan konsumsi oksigen selama aktivitas, maka terjadi peningkatan produksi radikal bebas dan peroksidasi lipid (Clarkson, 2000). Saat radikal bebas mendapatkan elektron dari antioksidan, maka terjadi pemutusan reaksi rantai oksidasi dan radikal bebas tersebut tidak perlu menyerang sel kembali. Namun disisi lain, antioksidan juga berpotensi menjadi radikan bebas (secara definisi) setelah melakukan donor elektron. Akumulasi antioksidan pada keadaan ini dapat membahayakan karena memiliki kemampuan untuk melakukan perubahan elektron tanpa menjadi reaktif (Muchtadi, 2013).

Secara kimia antioksidan diartikan sebagai senyawa pendonor elektron (*electron donors*), sedangkan secara biologis antioksidan diartikan sebagai senyawa yang mampu meredam dampak negatif radikal bebas (oksidan) dalam tubuh seperti rusaknya beberapa komponen vital sel tubuh. Fungsi sistem imunitas tubuh dipengaruhi oleh keseimbangan antara oksidan dan antioksidan, seperti menjaga integritas dan fungsi membran lipid, asam nukleat, dan protein sel, serta berperan dalam kontrol transduksi signal dan ekspresi gen pada sel-sel imun (Winarsi, 2007).

Mekanisme oksidan (radikal bebas) dan antioksidan dalam tubuh menggambarkan bahwa segala sesuatu di dunia ini diciptakan berpasangan (lihat QS. Fathir (35):11; al-An'am (6):143; dan al-Zumar (39):6). Al-Qur'an menggambarkan bahwa segala sesuatu di dunia ini diciptakan berpasangan. Keberpasangan dalam semua ciptaan Allah Subhanahu wa ta'ala tersebut berfungsi untuk menjaga keseimbangan, sehingga terjadi reproduksi dan regenerasi secara berkelanjutan (Zenrif, 2014). Ilmu pengetahuan menemukan bahwa pola

sunnatullah ketika tidak ada pasangannya akan menjadi perusak, seperti radikal bebas akan bersifat degenaratif bila tidak diimbangi dengan adanya antioksidan.

Produksi antioksidan di dalam tubuh manusia terjadi secara alami untuk mengimbangi produksi radikal bebas. Beberapa faktor stress (polusi udara dan lingkungan, radiasi UV) dapat memicu peningkatan produksi radikal bebas, sehingga diperlukan tambahan antioksidan dari luar. Terdapat dua garis pertahanan antioksidan di dalam sel, yaitu endogen yang diproduksi dalam tubuh dan eksogen yang didapat dari asupan tubuh. Tubuh mengandung sistem pertahanan terhadap radikal bebas yang bergantung pada asupan vitamin dan mineral antioksidan dan produksi endogen senyawa antioksidan, seperti glutathione. Vitamin C, Vitamin E serta beta-karoten merupakan vitamin antioksidan primer. Selain glutathione, ada banyak enzim yang terlibat dalam penghilangan radikal bebas (Clarkson, 2000; Muchtadi, 2013).

Antioksidan biasanya diklasifikasikan menjadi enzimatik dan non-enzimatik. Diantaranya ada berbagai senyawa dengan mode dan tempat aksi yang berbeda dan efek akhir yang berbeda pula. Keragaman ini menentukan peran individu masing-masing dalam tubuh. Perlu ditekankan bahwa jaringan memiliki interaksi enzim antioksidan, seperti enzim superoksida dismutase (SODs), katalase (CAT), glutathione peroksidase (GPx), dan glutathione reduktase (GRd), menunjukkan tingkat tertinggi (Flieger, 2021).

Antioksidan dengan berat molekul rendah, termasuk vitamin C, E, koenzim Q (ubiquinon), karoten, dan glutathione, juga bertanggung jawab untuk menonaktifkan radikal reaktif. Beberapa diantaranya, antara lain glutathione, ubiquinone, albumin dan metallothioneins, serta asam urat, yang diproduksi di

dalam tubuh. Namun sebagian besar merupakan senyawa eksogen yang berasal dari sumber alam seperti tumbuhan (flavonoid, asam fenolat, karotenoid, stilbene, kumarin, lignan, senyawa organosulfur, vitamin) atau mineral (selenium, seng, mangan) yang diberikan bersama makanan. Ketika antioksidan endogen yang terlibat dalam pertahanan radikal bebas tidak dapat melindungi tubuh terhadap ROS (*Radical Oxidative Species*), maka dibutuhkan antioksidan secara eksogen. Hampir semua organisme hidup, baik prokariota maupun eukariota, mampu menghasilkan bioaktif (Flieger, 2021).

Selain dibentuk di dalam tubuh, antioksidan juga dapat berasal dari makanan seperti kacang-kacangan, buah-buahan, biji-bijian, sayuran, minyak, dan daging. Sumber antioksidan alami terutama berasal dari tumbuh-tumbuhan kaya akan vitamin, senyawa fenolik, karotenoid, dan unsur mikro. Antioksidan alami memiliki kemampuan untuk menghambat proses oksidasi dan pertumbuhan mikroorganisme, khususnya yang bersifat patogen (Flieger, 2021).

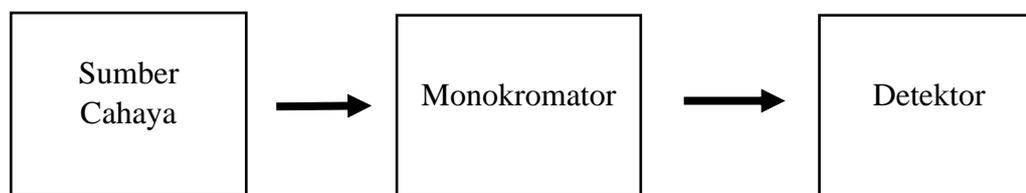
Daya antioksidan menggambarkan konsentrasi senyawa bersifat antioksidan yang dapat mereduksi radikal bebas, semakin tinggi konsentrasinya maka daya reduksi yang dimiliki juga semakin besar. Analisis ini dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan kandungan pada suatu sampel makanan, yakni kemampuan suatu nutrisi untuk mereduksi radikal bebas tanpa menunjukkan jenis senyawa aktifnya (Kusuma, 2012). Daya antioksidan ditampilkan sebagai TAC (*Total Antioxidant Capacity*). TAC merupakan kapasitas antioksidan kumulatif dalam suatu sampel tanpa menunjukkan jenis senyawa aktifnya. TAC diukur dari ekstrak murni sampel baik ekstrak polar maupun non-polar (Istiningrum, 2013).

Daya antioksidan dipengaruhi oleh efektivitas senyawa antioksidan dalam mereduksi suatu oksidan (radikal bebas). Efektivitas senyawa antioksidan bergantung pada beberapa faktor, paling utama adalah sifat struktural, suhu, karakteristik substrat yang rentan terhadap oksidasi, konsentrasi, adanya senyawa sinergis dan prooksidan, serta keadaan fisik sistem. Struktur kimia antioksidan menentukan reaktivitas intrinsiknya terhadap radikal bebas dan ROS lainnya dan dengan demikian mempengaruhi aktivitas antioksidannya. Efisiensi antioksidan juga tergantung pada konsentrasi dan lokasinya dalam sistem, misalnya distribusi intrasel (Shahidi, 2011). Faktor lain yang berperan penting dalam aksi protektifnya, dalam jangka pendek atau panjang, adalah kinetika reaksi. Hal ini melibatkan laju reaksi antara antioksidan dan oksidan yang berbeda, dipengaruhi oleh termodinamika reaksi dan kemampuan antioksidan untuk bereaksi. Semua parameter ini harus diperhitungkan ketika mempertimbangkan efisiensi dan pemilihan zat antioksidan yang cocok untuk penggunaan tertentu (Munteanu, 2021).

Aktifitas antioksidan pada suatu nutrisi dibatasi oleh proses ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicology), terkait dengan kemampuan pengikatan dalam saluran pencernaan yang disebabkan oleh pembatasan penetrasi membran sel dan degradasi di dalam lambung dan usus. Juga telah dilaporkan bahwa antioksidan dengan berat molekul rendah kehilangan kemampuannya untuk mengais radikal bebas di dalam sel. Hal ini terutama berlaku untuk pengikatan radikal hidroksil (OH), superoksida (O_2^-), dan H_2O_2 (Flieger, 2021).

2.7 Spektrofotometri UV-Vis

Istilah spektrofotometri diartikan sebagai pengukuran seberapa jauh absorpsi energi cahaya yang ditangkap oleh kompleks kimia itu sebagai fungsi dari panjang gelombang radiasi (Underwood, 2001). Spektrofotometri yang sesuai untuk pengukuran pada daerah spektrum ultraviolet, infrared dan sinar tampak terdiri dari suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang berkisar 200-800 nm. Gambar 2.7 menunjukkan diagram sederhana dari spektrofotometer UV-Vis, komponen penyusunnya meliputi sistem optik, monokromator, dan sumber sinar (Kusuma, 2012).



Gambar 2.7. Diagram spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV-Vis divisualisasi dalam bentuk dua dimensi, absis mewakili panjang gelombang dan ordinat mewakili absorbansi yang dihasilkan. Umumnya spektrum UV-Vis berbentuk pita lebar, pita melebar dari spektrum UV-Vis disebabkan karena energi yang diabsorpsi selain menyebabkan transisi elektronik terjadi juga transisi rotasi elektron dan vibrasi elektron ikatan dalam molekul. Interaksi sinar dengan sampel menghasilkan transisi elektronik dari elektron-elektron ikatan, baik ikatan sigma (σ) dan pi (π) maupun elektron non ikatan (n) yang ada dalam molekul organik. Nilai absorbansi yang tinggi menandakan banyaknya sinar yang diabsorpsi oleh sampel organik pada panjang gelombang tertentu (Suharti, 2017).

Interaksi antara radiasi UV-Vis terhadap molekul menghasilkan Spektrum UV-Vis. Interaksi tersebut mengakibatkan molekul mengalami transisi elektronik,

sehingga disebut spektrum elektronik. Hal tersebut terjadi karena adanya gugus terkonjugasi yang mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah UV-Vis (Kusuma, 2012). Pada pengecekan sampel digunakan beberapa pelarut yang disesuaikan dengan kandungan yang dimiliki. Hal ini tergantung kepolaran senyawa yang diinginkan, karena senyawa polar dalam sampel akan cenderung larut dalam pelarut polar, begitu juga sebaliknya (Endarini, 2016). Diketahui bahwa setiap pelarut memiliki spesifikasi absorpsi pada panjang gelombang tertentu. Tabel 2.1 menampilkan beberapa pelarut dengan panjang gelombang spesifik UV-Vis.

Tabel 2.1 Absorpsi sinar UV pada λ_{maks} dari beberapa pelarut (Suharti,2017).

Pelarut	λ_{maks} (nm)	Pelarut	λ_{maks} (nm)
Asetronitril	190	n-heksana	201
Kloroform	240	Metanol	205
Sikloheksana	195	Isooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzana	285	Piridina	305

Pada pengujian sebuah sampel, umumnya sampel uji harus diubah atau diturunkan konsentrasinya hingga menjadi larutan yang lebih jernih, untuk sampel berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain: 1) Sampel terlarut dengan sempurna, 2) Menggunakan pelarut yang tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi serta tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel), 3) Tidak adanya interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, 4) Memiliki kemurnian tinggi (Suharti, 2017).

Metode spektrofotometri UV-Vis menjadi metode analisis yang banyak digunakan untuk penjaminan mutu produk herbal yang dilakukan dengan melakukan uji kandungan senyawa aktif menggunakan metode yang telah

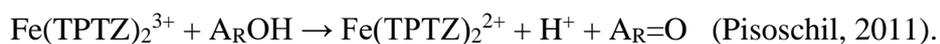
divalidasi. Metode tersebut memberikan cara sederhana untuk menentukan jumlah sedikit zat yang terkandung. Metode yang digunakan dalam pengujian harus divalidasi. Validasi metode analisis adalah penilaian tindakan parameter tertentu berdasarkan eksperimen laboratorium. Kegiatan ini dilakukan untuk membuktikan parameter yang digunakan telah memenuhi persyaratan penggunaannya (Yunita, 2020).

2.8 Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Metode FRAP atau *Ferric Reducing Antioxidant Power* adalah salah satu metode penetapan kandungan antioksidan secara spektrofotometri, berdasarkan pada reduksi analog ferroin, yaitu kompleks Fe_3^+ dari tripiridiltriazin $\text{Fe}(\text{TPTZ})_3^+$ menjadi kompleks Fe_2^+ , $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^+$ yang berwarna biru akibat berikatan dengan antioksidan pada suasana asam. Beberapa pengujian menginterpretasikan melalui peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm dan diketahui sebagai jumlah Fe_2^+ (dalam mikromolekular) ekuivalen dengan antioksidan standard (Pisoschi 1, 2011). Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan dan cukup sederhana dan cepat. Metode ini dapat menentukan kandungan antioksidan total dari suatu bahan berdasarkan kemampuan (daya) senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe_3^+ menjadi Fe_2^+ sehingga kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Maryam, 2015).

Kemampuan antioksidan dalam mereduksi ditampilkan dengan nilai TAC pada sampel dilakukan dengan mencampurkan reagen FRAP dengan ekstrak sampel. Dalam reagen FRAP terdapat campuran TPTZ, FeCl_3 dan buffer asetat,

sehingga reagen FRAP merupakan senyawa kompleks $\text{Fe}_3^+\text{-TPTZ}$ yang tidak berwarna (berbeda dengan kompleks Fe_2^+ yang berwarna biru). Senyawa $\text{Fe}_3^+\text{-TPTZ}$ mewakili senyawa oksidator yang mungkin terdapat di dalam tubuh dan dapat mendegradasi sel-sel tubuh, sedangkan ekstrak sampel mengandung antioksidan yang kemudian dapat mereduksi $\text{Fe}_3^+\text{-TPTZ}$ menjadi $\text{Fe}_2^+\text{-TPTZ}$ sehingga senyawa $\text{Fe}_3^+\text{-TPTZ}$ tidak akan melakukan reaksi yang mendegradasi sel-sel tubuh. Semakin banyak konsentrasi $\text{Fe}_3^+\text{-TPTZ}$ yang direduksi oleh sampel menjadi $\text{Fe}_2^+\text{-TPTZ}$, maka aktivitas antioksidan dari sampel juga semakin besar (Pisoschi1, 2011). Reaksi kimia antara antioksidan dan reagen FRAP ditunjukkan pada reaksi berikut:



Uji FRAP memiliki kelebihan diantaranya tidak mahal, reagen mudah disiapkan, dan prosedurnya mudah dan cepat. Uji FRAP menawarkan indeks dugaan antioksidan atau pereduksi, maupun potensi cairan biologis dalam jangkauan teknologi setiap laboratorium dan peneliti yang tertarik pada stres oksidatif dan efeknya (Benzie, 1996). Kadar antioksidan total suatu bahan ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan yang terkandung mereduksi ion Fe_3^+ menjadi Fe_2^+ . Oleh karena itu, kekuatan antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuan mereduksi dari senyawa tersebut (Halvorsen, 2002). Kompleks reagen $\text{Fe}(\text{TPTZ})_3^+$ yang tak berwarna berikatan dengan antioksidan sehingga tereduksi menjadi $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^+$ yang berwarna biru (Pisoschil, 2011).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif eksploratif, untuk mengetahui pengaruh ketinggian, sebagai faktor penentu, terhadap kadar flavonoid dan daya antioksidan daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*). Parameter utama yang diamati yaitu Total Flavonoid menggunakan metode kolorimetri dan Daya Antioksidan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Sedangkan parameter pendukung yang diamati yaitu sifat morfologi-anatomi dan faktor lingkungan, untuk menjelaskan keterkaitan antara faktor penentu terhadap parameter utama.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Bulan Januari 2022 hingga April 2022. Pengambilan sampel Daun Kirinyuh (*C. odorata*) dilakukan menggunakan metode *purposive sampling* pada lokasi yang memiliki *range* ketinggian yang berbeda, yaitu altitud rendah (223 mdpl; Waduk Karangates, Malang), altitud sedang (618 mdpl; Kampus 2 UIN Malang), dan altitud tinggi (1012 mdpl; Desa Kasinan, Batu). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Program Studi Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Toples kaca, pengaduk, gelas ukur, timbangan, saringan kain, tabung reaksi, rak reaksi, pipet tetes, gelas ukur, beaker glass 100 ml, bunsen burner, kaki segitiga, kawat pemanas, lemari asam, mikropipet, labu ukur 10 ml, botol kaca vial, beaker glass 100 ml, kuvet, tube mikropipet, botol penyemprot, timbangan analitik, labu ukur 50 ml, labu ukur 250 ml, spektrofotometer Uv-vis 2 bim, thermometer, soiltaster ETP 306, lux-meter, mikroskop, *object glass*, *cover glass*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Daun *C. odorata* (kirinyuh), etanol 96%, tissue, serbuk magnesium, HCl pekat, kuersetin, etanol p.a, AlCl₃, CH₃COONa, asam Asetat, akuades, buffer asetat 300 mM (pH 3,6), TPTZ (Tris Pyridyl Triazinedalam) 10 mM, HCl 40 mM, FeCl₃.6H₂O (besi III klorida heksahidrat) 20 mM, kutex.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penyiapan Sampel

Penentuan lokasi pengambilan sampel daun *C. odorata* dilakukan dengan metode *Purposive Sampling*, yaitu sampel diambil pada tiga *range* ketinggian lokasi tumbuh yang berbeda, yaitu ketinggian rendah (266 mdpl; Waduk Karangates, Malang), sedang (618 mdpl; Kampus 2 UIN Malang), dan tinggi (1012 mdpl; Desa Kasinan, Batu). Penentuan lokasi ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Yuliani (2019).

3.4.2 Pengecekan Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan diukur pada tiap lokasi ketinggian tempat pengambilan sampel daun *C. odorata* berupa intensitas cahaya, suhu, pH tanah, dan kelembapan tanah. Pengecekan suhu menggunakan termometer, pengecekan pH tanah dan kelembapan tanah menggunakan soilaster ETP 306, dan pengecekan intensitas cahaya menggunakan lux-meter. Pengecekan faktor lingkungan dilakukan pada dua waktu yang berbeda, yaitu pada pagi hari (07.30 – 08.30 WIB) dan siang hari (11.30 – 12.30 WIB). Hal ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan suhu dan intensitas cahaya minimum-maksimum pada tiap lokasi ketinggian.

3.4.3 Pengamatan Morfologi dan Anatomi Daun

Pengamatan karakteristik daun menjadi parameter pendukung, berupa pengamatan keberagaman sifat morfologi dan anatomi daun sampel. Sifat morfologi yang diamati berupa warna daun dan luas daun. Warna daun diidentifikasi menggunakan aplikasi *Color Grab* dan pengukuran luas daun menggunakan *Software ImageJ*. Sedangkan sifat anatomi yang diamati berupa ketebalan daun dan kerapatan stomata.

a. Mengamati ketebalan daun

Ketebalan daun diamati dengan menggunakan preparat daun yang disayat secara melintang. Preparat diamati menggunakan mikroskop yang terkoneksi dengan kamera *optilab*. Ketebalan daun diukur dengan kalibrasi aplikasi *ImageRaster* pada komputer. Pengamatan dilakukan sebanyak tiga kali untuk mencari rata-rata ketebalan daun yang diperoleh dari setiap ketinggian (Marantika, 2021).

b. Mengamati kerapatan stomata

Kerapatan stomata di permukaan daun diamati menggunakan metode replika. Langkah pertama, daun diolesi kutek transparan, lalu ditunggu sampai mengering (sekitar 15-20 menit). Setelah kering, olesan kutek ditempel pada potongan selotip transparan dan diratakan, lalu dikelupas secara perlahan. Hasil kelupasan tersebut ditempelkan pada kaca objek dan diamati menggunakan mikroskop (perbesaran 10 x 40). Kerapatan stomata dihitung dengan rumus:

$$\text{Kerapatan stomata} = \frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{Luas bidang pandang stomata}}$$

Bidang pandang difoto menggunakan kamera optilab yang tersambung mikroskop yang telah terkalibrasi dengan aplikasi Imageraster pada komputer. Bidang pandang digunakan berbentuk persegi dan diakumulasi dengan luasan yang sama. Pengamatan dilakukan sebanyak tiga kali untuk mencari rata-rata kerapatan stomata daun yang diperoleh dari setiap ketinggian (Marantika, 2021).

3.4.4 Penyiapan Simplisia

Sampel daun *C. odorata* yang didapatkan, dilakukan sortasi, pencucian, dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 55 °C selama 48 jam. Sampel kering yang didapatkan dijadikan serbuk simplisia untuk dilakukan ekstraksi.

3.4.5 Ekstraksi Sampel

Ekstrak daun *C. odorata* dibuat dengan menimbang sebanyak 50 gram serbuk simplisia daun *C. odorata*, kemudian dimasukkan kedalam wadah atau toples kaca, dimaserasi menggunakan 300 ml pelarut etanol 96% dan diaduk sampai merata (Hanphakphoom, 2016). Kemudian didiamkan selama 3 hari pada suhu ruang dengan tetap dilakukan pengadukan hingga tidak terjadi perubahan warna

larutan, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh di evaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu yang sesuai untuk memisahkan dengan pelarutnya (Ayoola, 2008).

3.4.6 Skrining Fitokimia (Uji Flavonoid)

Dibuat larutan induk untuk diujikan dengan cara diambil 2 ml ekstrak murni pada tabung ukur 10 ml dan dicukupkan dengan air hangat sampai tanda batas, setelah itu didinginkan pada suhu ruang dan disaring menggunakan kertas penyaring. Lalu sebanyak 1 ml larutan uji ditambahkan 0,5 gram serbuk magnesium dan 4-5 tetes HCl pekat, bila bereaksi positif akan menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda atau merah (Pratiwi, 2020).

3.4.7 Uji Kadar Flavonoid Total

Pengujian kadar flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri dan spektrofotometri menggunakan pereaksi AlCl_3 dan kuersetin sebagai pembanding (Pratiwi, 2020). Langkah kerja dalam uji kadar flavonoid total adalah sebagai berikut.

a. Preparasi

1) Larutan Induk (1000 ppm)

Ditimbang serbuk kuersetin sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga volume 25 mL untuk menghasilkan kuersetin 1000 ppm.

2) Pereaksi AlCl_3 10%

Ditimbang sebanyak 1 gram AlCl_3 padat dilarutkan dengan aquadest steril hingga 10 mL.

3) Larutan Asam Asetat 5 %

Sebanyak 0,5 ml asam asetat dilarutkan dengan aquadest sebanyak 10 mL.

4) larutan sampel ekstrak (10.000 ppm)

Sebanyak 0,1 ml ekstrak etanol daun krinyuh lalu dilarutkan dalam 10 ml etanol p.a, sehingga didapat konsentrasi larutan sampel 10.000 ppm.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks)

Dibuat larutan kuersetin konsentrasi 50 ppm, yaitu diambil 0,5 ml dari larutan baku kuersetin 1000 ppm dan ditambahkan etanol p.a ke dalam labu 10 ml sampai tanda batas. Setelah itu, diambil sebanyak 1 mL kuersetin 50 ppm, tambahkan 3 ml etanol p.a, 0,2 ml $AlCl_3$, 0,2 ml asam asetat dan 5,6 ml aquadest dan dihomogenkan. Panjang gelombang maksimum dibaca menggunakan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang 300-600 nm. Panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan garis kurva tertinggi pada kurva spektrofotometri (pada penelitian ini adalah 420 nm).

c. Penentuan kurva baku kuersetin

Dibuat larutan seri kuersetin menggunakan kuersetin 1000 ppm sebagai baku standar. Dibuat seri kadar lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dengan konsentrasi yaitu 1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 ppm dalam 10 ml pelarut etanol p.a. Kemudian di pipet sebanyak 0,5 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 1,5 ml etanol p.a, direaksikan dengan 0,1 ml $AlCl_3$, 0,1 ml asam asetat dan 2,8 ml aquadest pada masing-masing konsentrasi didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar, lalu dilakukan pembacaan panjang gelombang maksimum. Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan kuersetin dengan hasil serapan absorbansi yang diperoleh. Selanjutnya di analisis secara statistik menggunakan analisis regresi untuk mendapatkan persamaan $y=ax+b$.

d. Penentuan kadar flavonoid total pada sampel dengan spektrofotometri UV-Vis

Sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak sampel 100.000 ppm diambil ke dalam botol vial, ditambahkan 1,5 ml etanol p.a; 0,1 ml AlCl₃; 0,1 ml CH₃COONa 1 M dan 2,8 ml akuades, dikocok dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri. Pembacaan absorbansi sampel dibuat dalam tiga replikasi. Nilai absorbansi sampel dimasukkan pada persamaan regresi yang didapatkan sebelumnya untuk mengetahui konsentrasi flavonoid dalam sampel (ppm). Kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan berikut

$$\text{Kadar flavonoid total (mg/100g)} = \frac{\text{kosentrasi (ppm)} \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \text{ (Kusuma, 2002).}$$

3.4.8 Uji Daya Antioksidan

Penetapan daya antioksidan menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) yang dimodifikasi (Munadiah, 2017). Daya antioksidan sampel ditampilkan sebagai TAC (*Total Antioxidant Capacity*), yaitu kapasitas antioksidan kumulatif dalam suatu sampel tanpa menunjukkan jenis senyawa aktifnya. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka daya antioksidan juga semakin besar, serta dapat diketahui kemampuan sampel untuk mereduksi radikal bebas. Langkah kerja dalam uji daya antioksidan adalah sebagai berikut.

a. Penyiapan larutan pereaksi

Reagent FRAP dengan mencampur Buffer Asetat 300 mM (pH 3,6), 10 mM TPTZ (Tris Pyridyl Triazine) dalam 40 mM HCl dan 20 mM FeCl₃.6H₂O (Besi III klorida heksahidrat) pada perbandingan masing-masing 10:1:1.

1) Buffer Asetat 300 mM (pH 3,6)

Dibuat dari 0,775 gram natrium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ditambahkan dengan 4 mL asam asetat, dilarutkan dengan aquadest hingga tepat 250 mL dalam labu tentu ukur.

2) TPTZ 10 mM

Dibuat dengan melarutkan 0,8 mL HCl pekat dalam 250 mL aquadest. Ditimbang 31,2 mg TPTZ kemudian dilarutkan dengan HCl 40 mM dalam labu 50 mL dan dicukupkan sampai tanda batas.

3) Besi III Klorida Heksahidrat ($\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 20 mM

Ditimbang 270 mg $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam labu 50 mL dan dicukupkan dengan aquadest sampai tanda.

4) Reagent FRAP

Dibuat dengan cara mencampurkan buffer asetat, TPTZ dan $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan perbandingan 10:1:1.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks)

Pengujian dilakukan dengan mencampur 3 mL reagen FRAP dan 1 mL aquadest dalam vial, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan garis kurva tertinggi pada kurva spektrofotometri (pada penelitian ini adalah 480 nm).

c. Pembuatan kurva baku kuersetin

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm sebagai baku standar. Dari larutan kuersetin 1000 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 1,5625; 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 ppm. Kemudian dipipet 3 mL dari reagen FRAP ke dalam vial kemudian

ditambahkan 1 mL kuersetin dari masing-masing konsentrasi. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan standar dengan hasil serapan absorbansi yang diperoleh (serapan pada ordinat dan konsentrasi kuersetin pada absis). Selanjutnya di analisis secara statistik menggunakan analisis regresi untuk mendapatkan persamaan $y=ax+b$.

d. Pengukuran daya antioksidan ekstrak etanol kirinyuh (*C. odorata*)

Ekstrak daun *C. odorata* 10.000 ppm diencerkan menjadi 500 ppm. Kemudian dibuat larutan dalam vial dengan memipet 3 mL reagen FRAP ditambahkan 1 mL sampel (500 ppm). Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pembacaan absorbansi sampel dibuat dalam tiga replikasi. Nilai absorbansi sampel dimasukkan pada persamaan regresi yang didapatkan sebelumnya untuk mengetahui daya antioksidan sampel (ppm). Kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Daya antioksidan (mg/100g)} = \frac{\text{konsentrasi (ppm)} \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \text{ (Kusuma, 2002).}$$

3.5 Teknik Analisis Data

Data pada penelitian ini akan dihimpun menggunakan program Ms. Excel 2016. Data faktor lingkungan, karakter morfologi-anatomi, total flavonoid, dan daya antioksidan ditampilkan dalam bentuk tabel dan diagram dan dianalisis hubungannya dengan analisis regresi untuk menggambarkan pengaruh variabel satu terhadap variabel lain. Pengaruh lingkungan terhadap kadar total flavonoid dan

daya antioksidan dianalisis secara statistik dengan analisis Krustal Wallis menggunakan IBM SPSS 26 untuk mengetahui adanya perbedaan (berpengaruh) pada setiap altitud. Sementara hubungan antara kadar total flavonoid dan daya antioksidan dianalisis menggunakan analisis regresi, untuk menggambarkan hubungan dari variabel tersebut.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ketinggian Terhadap Total Flavonoid Daun *C. odorata*

Ketinggian tempat atau altitud berpengaruh pada pola adaptasi tumbuhan dalam menghasilkan metabolit sekunder, seperti flavonoid, sesuai dengan kondisi lingkungannya (Hadiyanti, 2018). Sintesis flavonoid pada daun *C. odorata* dipengaruhi oleh faktor lingkungan sebagai induksi dalam biosintesis flavonoid. Selain itu akumulasi flavonoid berhubungan erat dengan karakter morfologi-anatomi yang dikembangkan, memuat organela sebagai “pabrik” dalam biosintesis flavonoid. Oleh karena itu keduanya saling berkaitan dalam tingkat produktifitas flavonoid sebagai metabolit sekunder daun *C. odorata*. Perbedaan sifat morfologi-anatomi daun *C. odorata* yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan, berefek pada produktifitas flavonoid sebagai metabolit sekunder yang selaras dengan potensi reduksinya (daya antioksidan). Antioksidan sendiri berperan dalam sistem pertahanan radikal bebas yang disebabkan oleh faktor dari luar seperti suhu, radiasi UV, pH tanah, polusi udara di lingkungan, dan pencemaran yang lain (Utomo, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ketinggian mempengaruhi total flavonoid daun *C. odorata* (*Asymp. sign.* $0,027 < 0,05$) (Lampiran 4). Tabel 4.1 menunjukkan adanya perbedaan total flavonoid beserta potensi reduksinya (daya antioksidan) pada setiap kategori altitud. Total flavonoid dan daya antioksidan meningkat seiring dengan bertambahnya ketinggian tempat tumbuh.

Tabel 4.1 Total flavonoid dan daya antioksidan daun *C. odorata* pada setiap ketinggian

No	Sampel	Total Flavonoid (mg QE/g)	Daya Antioksidan (mg QE/g)
1	Altitud Rendah	5,63 ± 0,26	61,74 ± 0,59
2	Altitud Sedang	10,28 ± 0,28	73,06 ± 0,97
3	Altitud Tinggi	26,57 ± 0,24	91,54 ± 0,817

Tabel 4.1 menunjukkan menunjukkan bahwa total flavonoid daun *C. odorata* terbesar pada altitud tinggi (26,57±2,63 mg/g), diikuti altitud sedang (10,28±0,28 mg/g) dan altitud rendah (5,63±0,26 mg/g). Pada penelitian ini perbedaan total flavonoid daun *C. odorata* disebabkan oleh perbedaan efisiensi fotosintesis yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan karakteristik daun. Bila ditinjau kembali sifat morfologi-anatomi daun dan faktor lingkungannya, diketahui bahwa daun *C. odorata* yang menghasilkan total flavonoid tertinggi memiliki karakteristik daun paling lebar dan tebal serta kerapatan stomata paling rendah, dibandingkan dengan daun *C. odorata* dari kedua altitud lainnya (sedang dan rendah) (Tabel 4.3). Sedangkan faktor lingkungan yang berpengaruh berupa faktor iklim, yaitu intensitas cahaya dan suhu dengan nilai paling kecil pada altitud tinggi (Tabel 4.2). Kondisi lingkungan maupun sifat morfologi-anatomi daun tersebut mendukung efisiensi fotosintesis dalam menghasilkan metabolit berupa sukrosa yang merupakan prekursor dalam biosintesis flavonoid (Maria, 2012). Hubungan-hubungan tersebut dijelaskan secara mendalam pada pembahasan berikut.

4.1.1 Faktor lingkungan pada tiap ketinggian

Ketinggian atau altitud suatu tempat merupakan ukuran jarak secara vertikal terhadap permukaan laut. Ketinggian suatu tempat mempengaruhi faktor lingkungan yang ada dengan saling berkesinambungan. Penelitian ini mengobservasi faktor lingkungan pada beberapa ketinggian berbeda dari tempat

tumbuh *C. odorata* yang dikategorikan menjadi tiga, yaitu altitud rendah (223 mdpl; Waduk Karangates, Malang), altitud sedang (618 mdpl; Kampus 2 UIN Malang), dan altitud tinggi (1012 mdpl; Desa Kasinan, Batu). Faktor lingkungan yang diamati dari ketiga tempat tersebut berupa faktor iklim dan faktor tanah. Hasil pengukuran ditampilkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil pengukuran faktor lingkungan pada setiap ketinggian

No	Kategori Altitud	Waktu	Ketinggian (mdpl)	Suhu (°C)	pH tanah	Kelembapan Tanah	Intensitas Cahaya (x100 lux)
1	Rendah	I	223	32,4	6,6	2,4	551,7
		II		36,3	6,6	1,9	938,3
2	Sedang	I	618	27,7	5,8	4,6	375,3
		II		34,1	5,8	3,2	897,3
3	Tinggi	I	1012	24,2	6,4	2,5	350
		II		29,7	6,4	2,0	889,3

Keterangan: Waktu I = 07:30–08:30 WIB, Waktu II = 11:30–12:30 WIB

Data lingkungan diamati pada dua waktu yang berbeda, yaitu waktu I (Jam 07:30–08:30 WIB) dan waktu II (Jam 11:30–12:30 WIB) untuk mengukur nilai minimum dan maksimum tiap parameter yang diamati, sehingga dapat mengetahui rentang nilai dari parameter tersebut. Data yang dihasilkan menunjukkan faktor lingkungan bervariasi pada tiap ketinggian, baik faktor iklim maupun faktor tanah. Faktor iklim mencakup suhu dan intensitas cahaya. Faktor iklim menunjukkan *linier-antagonis* terhadap ketinggian, semakin bertambahnya ketinggian lokasi maka semakin turun suhu dan intensitas cahaya yang dimiliki. Sedangkan faktor tanah mencakup pH dan kelembapan tanah. Faktor tanah menunjukkan fluktuatif terhadap ketinggian, hal ini disebabkan lokasi di setiap ketinggian pada penelitian ini memiliki topografi yang berbeda.

Data menunjukkan bahwa, semakin tinggi tempat maka intensitas cahaya yang sampai ke permukaan semakin kecil. Hal ini dapat terlihat Tabel 4.2, yaitu terjadi penurunan intensitas cahaya harian akibat perbedaan ketinggian tempat. Pada daerah tinggi cenderung memiliki distribusi cahaya paling sedikit dibandingkan dengan daerah lain (Istiawan, 2019). Secara keseluruhan intensitas cahaya pada setiap ketinggian memiliki pola yang sama, yaitu intensitas cahaya lebih rendah di pagi hari dan mencapai maksimum pada siang hari.

Intensitas cahaya matahari rendah pada pukul 07:00 pagi, meningkat pada jam-jam selanjutnya sampai mencapai maksimum pada jam 12:00 siang. Namun terdapat perbedaan rentang nilai intensitas cahaya (minimum-maksimum) pada setiap ketinggian, yaitu intensitas cahaya terbesar terdapat pada altitud rendah. Intensitas cahaya pada altitud rendah sebesar 551-938 (x100 lux), altitud sedang sebesar 375-897 (x100 lux), dan altitud tinggi sebesar 350-889 (x100 lux). Intensitas cahaya pagi hari jauh lebih kecil daripada siang hari dipengaruhi oleh sudut kemiringan matahari terhadap bumi. Hal tersebut karena cahaya matahari harus melewati lebih banyak atmosfer (atau massa udara yang lebih besar) di pagi dan sore hari untuk mencapai permukaan vertikal, daripada saat berada di puncak (siang hari) ke permukaan horizontal (BMKG, 2022). Lebih lanjut, Istiawan (2019) menjelaskan bahwa, penurunan intensitas cahaya dapat mempengaruhi faktor lingkungan lain. Intensitas cahaya yang menurun berefek langsung pada penurunan suhu udara dan tanah, dan meningkatnya kelembapan udara.

Tabel 4.2 juga menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara intensitas cahaya matahari dengan suhu pada tiap ketinggian tempat, yaitu semakin turun intensitas cahaya maka semakin turun juga suhu yang dimiliki. Alam (2014)

menerangkan bahwa, suhu udara sangat dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang ada sebagai sumber panas, serta kecepatan angin untuk menyebarkan udara panas. Dibuktikan pada penelitian ini, yaitu suhu udara di pagi hari lebih kecil dibandingkan di siang hari pada setiap ketinggian, sesuai dengan intensitas cahaya pada waktu tersebut.

Berkaitan dengan ketinggian tempat, suhu udara semakin berkurang seiring dengan meningkatnya ketinggian. Lokasi dataran tinggi biasanya jauh lebih dingin daripada daerah yang lebih dekat ke permukaan laut. Ini karena tekanan udara yang rendah. Udara semakin mengembang seiring bertambahnya ketinggian, serta semakin sedikit molekul gas termasuk nitrogen, oksigen, dan karbon dioksida, sehingga memiliki peluang lebih kecil untuk saling bertabrakan dan menghasilkan kalor (NatGeo, 2022).

Hal ini sejalan dengan Guslim (2007) yang menyatakan bahwa semakin tinggi suatu daerah, semakin rendah suhu di daerah tersebut. Setiap naik 100 m suhu udara rata-rata turun sekitar $0,6^{\circ}\text{C}$ sampai pada ketinggian 1,5 Km. Penjelasan tersebut dibuktikan dengan data yang didapatkan dalam penelitian ini, diketahui melalui Tabel 4.1 bahwa pada altitud rendah memiliki suhu tertinggi yaitu berkisar $32-36^{\circ}\text{C}$, diikuti oleh altitud sedang berkisar $27-34^{\circ}\text{C}$, dan altitud tinggi berkisar $24-29^{\circ}\text{C}$. Kisaran suhu pada setiap ketinggian tersebut masih dapat ditoleransi oleh *C. odorata* untuk dapat tumbuh dengan baik. Walaupun kelimpahan gulma tersebut lebih banyak ditemukan di lokasi dengan altitud rendah. Hal ini disebabkan tumbuhan *C. odorata* merupakan jenis gulma berdaun lebar (*broad leaf*) yang penyebarannya sangat cepat dan tumbuh baik pada suhu udara $25-35^{\circ}\text{C}$ (Hazmi, 2020).

Faktor tanah berupa kelembapan tanah menunjukkan berbeda pada setiap ketinggian. Tabel 4.2 menunjukkan tingkat kelembapan tanah pada altitud sedang memiliki nilai tertinggi daripada altitud rendah dan tinggi. Tingkat kelembapan tanah pada altitud rendah hampir sama dengan altitud tinggi yaitu berkisar 1,9-2,6. Sedangkan altitud sedang memiliki tingkat kelembapan jauh lebih tinggi yaitu berkisar 3,2-4,6. Perbedaan kelembapan tanah ini secara umum, ditentukan oleh beberapa faktor yaitu diantaranya curah hujan, jenis tanah, dan laju evapotranspirasi, kelembapan tanah akan menentukan ketersediaan air dalam tanah bagi pertumbuhan tumbuhan (Djumali, 2014). Laju evaporasi tanah dipengaruhi oleh suhu dan intensitas cahaya yang diterima permukaan, menjelaskan kelembapan tanah pada pagi hari lebih besar daripada siang hari karena suhu dan intensitas cahaya yang semakin meningkat.

Parameter kelembapan tanah yang tidak linier dengan bertambahnya ketinggian kemungkinan disebabkan oleh faktor lain (Tabel 4.2). Kelembapan tanah berhubungan dengan kadar air didalam tanah yang dipengaruhi oleh daya serap tanah atau daya ikat tanah terhadap air yang berkaitan dengan jenis tanah dan kemiringan tempat. Lokasi pada altitud rendah dan tinggi memiliki kemiringan daripada lokasi pada altitud sedang. Hal tersebut menjadi alasan kelembapan tanah pada lokasi altitud sedang memiliki nilai terbesar dibanding dua lokasi lain. Penelitian Banjarnahor (2018) menunjukkan bahwa kadar air cenderung turun sebanyak 0,38 % untuk setiap 1% kenaikan kemiringan lahan. Kadar air tanah semakin menurun seiring dengan semakin curamnya lahan. Disebabkan air hujan lebih cenderung mengalir karena kemiringan lahan daripada terserap kedalam tanah.

Ketersediaan air tanah yang berbeda ini masih dalam tingkat toleransi *C. odorata* untuk tumbuh di berbagai kondisi lingkungan tersebut. Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan gulma dari famili Asteraceae (termasuk *C. odorata*) mempunyai sifat yang mudah tumbuh serta mampu memproduksi biji dalam jumlah banyak yang memiliki daya dispersal tinggi sehingga banyak ditemukan pada berbagai lahan. Selain itu, mempunyai kemampuan beradaptasi pada lingkungan dengan sedikit air sampai lingkungan basah dan tahan terhadap naungan (Suryaningsih, 2011; Utami, 2020). Oleh karena itu, dapat dikatakan variasi kelembapan tanah pada penelitian ini (1,9-4,6) tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *C. odorata*. Hal tersebut diperkuat dengan tidak adanya korelasi linier antara nilai kelembapan tanah dan sifat morfologi-anatomi daun (Lampiran 4).

Kelembapan tanah dapat mempengaruhi pH tanah. Pada lingkungan yang hangat dan lembab, pH tanah menurun seiring waktu melalui pengasaman karena pencucian dari curah hujan tinggi. Sedangkan lingkungan kering (pelapukan dan pencucian kurang intens), pH tanah mungkin netral atau basa. Xie (2015) membuktikan bahwa pH tanah yang bervariasi, berkorelasi secara signifikan dengan indeks kegersangan (Di), sehingga menunjukkan kelembapan tanah merupakan faktor kunci yang menentukan pH tanah. Namun kelembapan tanah tidak mempengaruhi rata-rata kandungan C dan N organik tanah.

Hubungan tersebut menjadi alasan dalam penelitian ini, yaitu parameter pH tanah bersifat fluktuatif seperti halnya kelembapan pada setiap ketinggian. Nilai pH menunjukkan adanya reaksi tanah, dimana pH sendiri merupakan logaritma dari kebalikan konsentrasi ion H (hidrogen), maka semakin kecil nilai pH maka ketersediaan ion H lebih tinggi (Harjadi, 2019). Diketahui bahwa pH tanah antara

altitud rendah dengan altitud tinggi memiliki nilai rata-rata pH tanah yang hampir sama yaitu 6,4-6,6, sedangkan pada altitud sedang memiliki pH tanah 5,8. Nilai pH tanah pada keseluruhan lokasi ketinggian cenderung tergolong pada pH asam, namun altitud sedang memiliki tanah yang lebih asam.

Iklm dan topografi sangat mempengaruhi variasi pH tanah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa suhu dan curah hujan merupakan faktor penting yang mengontrol pH tanah (Cheng, 2014). Chytry (2007) melaporkan adanya korelasi negatif yang signifikan antara pH tanah dan jumlah curah hujan yang mungkin disebabkan oleh peningkatan curah hujan yang meningkatkan laju pelindian beberapa kation alkalin, seperti Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} , dan Na^{+} di sepanjang gradien medan tanah. Pada beberapa lingkungan yang hangat, larutan tanah akan banyak mengandung ion H^{+} karena suhu yang tinggi dapat mempercepat akumulasi bahan organik tanah sehingga tanah cenderung bersifat asam.

Suhu dapat mempengaruhi laju pelapukan batuan, serta curah hujan sebagian besar mempengaruhi aliran material. Sampai batas tertentu, faktor iklim dapat mempengaruhi proses reaksi kimia tanah dan dengan demikian mempengaruhi pH tanah. Tanah pada daerah lembab umumnya bersifat asam dengan pH tanah yang rendah. Disisi lain topografi mempengaruhi pH tanah terutama dalam dua cara, salah satunya adalah dengan mengontrol aliran air dan transportasi material (Zhang, 2019). Oleh karena itu, pH tanah pada altitud sedang bersifat lebih rendah (lebih asam) dikarenakan tanah yang lebih lembab, serta topografi lokasi yang datar sehingga air cenderung tidak mengalir menyebabkan pengasaman tanah lebih besar.

Secara umum Harjadi (2019) menjelaskan bahwa pH tanah yang cocok (6-7) untuk pertumbuhan tumbuhan sangatlah vital. Nilai pH tanah yang terlalu tinggi (di atas 9) atau pH rendah (di bawah 4) sudah menjadi racun bagi akar tumbuhan. Data yang dihasilkan mengungkapkan, bahwa variasi pH tanah pada setiap altitud masih dalam kisaran pH yang ditolerasi oleh *C. odorata* untuk tumbuh. Hal ini didukung dengan nilai pH tanah tidak berkorelasi linier dengan sifat morfologi-anatomi daun (Lampiran 4), sehingga dapat diketahui bahwa perbedaan nilai pH tanah tidak mempengaruhi, atau dengan kata lain kisaran pH tanah 5,8-6,4 cocok dengan *C. odorata*. Sebelumnya diketahui bahwa tumbuhan *C. odorata* sendiri digolongkan sebagai gulma komposit dari famili Asteraceae, memiliki tingkat toleransi yang tinggi terhadap faktor lingkungan salah satunya pH tanah. Penelitian Chen (2015) menunjukkan bahwa beberapa spesies gulma Asteraceae, termasuk *C. odorata*, mampu hidup di beberapa kondisi tanah, mulai dari tanah alluvial hingga tanah podsolik yang bersifat basa lemah hingga asam. Bahkan lebih lanjut, dalam penelitiannya membuktikan bahwa sifat tanah mengalami perubahan yang signifikan dibandingkan dengan tanah asli setelah invasi oleh tumbuhan Asteraceae, salah satunya adalah turunya pH tanah. Mengacu pada fakta diatas, pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengamatan jenis tanah sebagai parameter tambahan untuk mengetahui tingkat toleransi *C. odorata* terhadap kondisi tanah secara spesifik.

4.1.2 Karakteristik daun *C. odorata* pada tiap ketinggian

Sifat morfologi-anatomi daun *C. odorata* menunjukkan linier terhadap ketinggian tempat tumbuh *C. odorata*. Tabel 4.3 menunjukkan sifat morfologi yaitu luas daun bertambah seiring pertambahan ketinggian dengan warna daun semakin

hijau-gelap. Sifat anatomi berupa ketebalan daun juga bertambah, sedangkan kerapatan stomata menurun seiring pertambahan ketinggian.

Tabel 4.3 Sifat morfologi-anatomi daun *C. odorata* pada setiap ketinggian

No	Sampel	Warna Daun	Luas Daun (cm ²)	Tebal Daun (μm)	Kerapatan Stomata Daun (mm ⁻²)
1	Altitud rendah	Dark Green:Yellow (hijau gelap:kuning)	109,97 ± 5,61	158 ± 25,06	505,08 ± 43,22
2	Altitud sedang	Blak green (hijau kehitaman)	125,83 ± 19,50	270,24 ± 11,30	458,06 ± 16,96
3	Altitud tinggi	Dark Green (hijau gelap)	140,51 ± 9,28	345,71 ± 37,49	370 ± 26,94

Perbedaan karakteristik daun ini merupakan adaptasi morfologi-anatomi *C. odorata* sebagai respon faktor lingkungan pada setiap ketinggian. Sifat adaptasi ini menunjukkan bahwa tumbuhan *C. odorata* digolongkan sebagai tumbuhan toleran, sebagai sifat umum gulma. Hal ini sesuai dengan Song-Lin (1999) bahwa pengaruh perubahan faktor iklim dengan bertambahnya ketinggian menyebabkan peningkatan ketebalan mesofil palisade, ketebalan mesofil bunga karang, panjang pembuluh dan panjang serat, tetapi frekuensi pembuluh dan kepadatan stomata menurun. Salah satu faktor lingkungan dominan seperti intensitas cahaya, yang menurun seiring bertambahnya ketinggian mempengaruhi sifat morfologi-anatomi daun. Utami (2018) menjelaskan bahwa tumbuhan toleran dibawah intensitas lebih rendah, sedikit mengalami stimuli pertumbuhan (kadang-kadang menghambat), tetapi disisi lain meningkatkan luas daun, ketebalan dan luas daun spesifik. Peningkatan luas daun dmenyebabkan kandungan klorofil yang juga semakin meningkat.

Bila dikaji kembali hubungan antara faktor lingkungan dan sifat morfologi-anatomi daun *C. odorata* yang dihasilkan. Diketahui bahwa, intensitas cahaya matahari dan suhu berkorelasi linier terhadap sifat morfologi-anatomi daun. Sebaliknya pH tanah dan kelembapan tanah tidak berkorelasi linier terhadap sifat morfologi-anatomi daun (Lampiran 4). Oleh karena itu, pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa variasi faktor iklim mempengaruhi terhadap sifat morfologi-anatomi daun *C. odorata* pada setiap ketinggian, sedangkan faktor tanah tidak menunjukkan hal yang sama (tidak mempengaruhi).

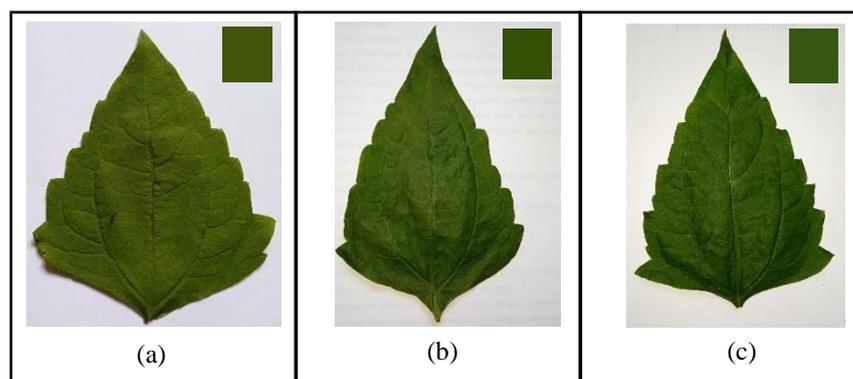
Namun hasil penelitian Akinlabi (2014) menunjukkan hasil yang sebagian berbeda dengan penelitian ini, tentang hubungan ketinggian dengan sifat morfologi-anatomi pada daun *C. odorata*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa karakter morfologi seperti rata-rata luas daun *C. odorata* berkurang secara signifikan ($p < 0,05$) dan rata-rata panjang tangkai daun berkurang secara signifikan ($p < 0,05$) dengan bertambahnya ketinggian. Karakter anatomi seperti indeks stomata rata-rata ($p < 0,05$) menurun secara signifikan dengan meningkatnya ketinggian dan rata-rata ketebalan daun dan mesofil meningkat secara signifikan ($p < 0,05$) dari altitud rendah hanya ke altitud menengah dan tidak ke altitud yang lebih tinggi. Bila dibandingkan dengan hasil penelitian ini, terdapat perbedaan hasil pada karakter morfologi, yaitu luas daun. Sedangkan karakter anatomi, yaitu indeks stomata dan ketebalan daun, memiliki kesamaan hasil seiring meningkatnya ketinggian.

Perlu diketahui bahwa pada penelitian Akinlabi (2014) memiliki penentuan *range* ketinggian yang berbeda dalam pengambilan sampel daun *C. odorata*, yaitu 280, 312 dan 360 mdpl. *Range* ketinggian yang lebih sedikit tersebut menyebabkan fenomena berbeda dengan hasil penelitian ini yang menggunakan *range* ketinggian

yang lebih besar. Penelitian Chuyong (2019) juga mengamati adanya perbedaan secara kualitatif karakter morfologi daun *C. odorata* yang berasal dari beberapa altitud yang berbeda, yaitu pada rentang ketinggian 311-1970 mdpl. Secara lengkap, sifat morfologi-anatomi daun *C. odorata* pada setiap ketinggian dalam penelitian ini dijelaskan sebagai berikut.

4.1.2.1 Warna Daun

Warna daun diidentifikasi menggunakan aplikasi *Color Grab* dengan menyertakan kode HEX-nya (Lampiran 1). Melalui penjelasan deskriptif, daun dari altitud rendah berwarna hijau menuju kekuningan, daun dari altitud sedang berwarna hijau kehitaman, sedangkan daun dari altitud tinggi berwarna hijau gelap. Analisis secara organoleptis warna daun menunjukkan penguatan warna hijau pada daun *C. odorata* dengan bertambahnya ketinggian tempat tumbuh. Gambar 4.1 menampilkan komparasi morfologi daun *C. odorata* pada setiap ketinggian.



Gambar 4.1. Warna daun *C. odorata*. (a) altitud rendah, (b) sedang, (c) tinggi.

Warna hijau pada daun terbentuk karena adanya klorofil (Chl), yaitu pigmen pemberi warna hijau. Pigmen tersebut terbagi menjadi klorofil a (Chl-a) dan klorofil b (Chl-b). Pigmen-pigmen tersebut berperan penting dalam fotosintesis sebagai penyerap radiasi cahaya matahari dan melepaskan elektron dalam proses fotokimia,

sehingga dapat mengubah energi cahaya menjadi energi kimia. Dengan demikian proses fotosintesis tumbuhan dipengaruhi oleh konsentrasi Chl (Gogahu, 2016).

Warna hijau daun bervariasi karena perbedaan jumlah Chl atau dipengaruhi oleh kombinasi pigmen lain. Pratama (2015) menjelaskan warna hijau ini dihasilkan dari kombinasi pigmen di dalam tumbuhan, kadang lebih dominan Chl-a sehingga warna daun cenderung hijau muda, kadang lebih dominan karotenoid sehingga warna daun cenderung kekuningan. Jadi warna hijau berorientasi pada perbedaan spektrum warna hijau yang dihasilkan oleh kombinasi pigmen tumbuhan, khususnya klorofil a dan b (Chl a+b). Dharmadewi (2020) menyatakan bahwa perbedaan warna daun dapat ditunjukkan oleh perbedaan kadar Chl. Semakin hijau warna daun menandakan semakin tinggi kandungan klorofil yang dimiliki. Oleh karena itu, bertambah kuatnya warna hijau daun *C. odorata* seiring meningkatnya ketinggian dapat diindikasikan bertambahnya kadar Chl daun. Diketahui bahwa pada penelitian ini perbedaan warna daun *C. odorata* dipengaruhi oleh faktor lingkungan, terutama intensitas cahaya matahari dan suhu lingkungan.

Pada altitud tinggi menunjukkan daun *C. odorata* lebih berwarna hijau pekat dibanding dengan daun dari kedua altitud lainnya. Hal tersebut dikarenakan intensitas cahaya dan suhu paling rendah yang terdapat pada altitud tinggi (Tabel 4.1). Intensitas cahaya mempengaruhi warna daun *C. odorata* melalui kadar Chl. Jumlah Chl dapat meningkat di bawah intensitas cahaya rendah. Setiawati (2018) mengungkapkan bahwa, jumlah Chl yang lebih tinggi pada tumbuhan di bawah naungan (intensitas cahaya rendah) berfungsi untuk memaksimalkan penyerapan cahaya pada kondisi minim cahaya, sehingga tumbuhan menyesuaikan kadar Chl nya dengan intensitas cahaya di lingkungannya. Peningkatan kadar Chl, terkait

dengan peningkatan kompleks pemanenan cahaya (*Light Harvesting Complex II*) dan pembesaran antena pada fotosistem II yang meningkatkan efisiensi penangkapan cahaya (Setiawati, 2018). Penelitian serupa melaporkan bahwa penurunan intensitas cahaya diikuti dengan peningkatan Chl-a, Chl-b maupun klorofil total (Chl a+b) pada *Lithocarpus litseifolius* (Li, 2016), *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* “Diabolo” (Zhang, 2016)

Sedangkan daun *C. odorata* pada altitud rendah cenderung menguning disebabkan oleh intensitas cahaya yang terlalu tinggi. Bila ditinjau kembali dari Tabel 4.1, diketahui intensitas cahaya berkurang seiring bertambahnya ketinggian, rentang intensitas cahaya pada altitud sedang dan altitud tinggi hampir sama (berkisar pada 300-800 x100 lux) dibandingkan pada altitud rendah yang jauh lebih tinggi (berkisar pada 500-900 x100 lux). Li (2016) menjelaskan bahwa, cahaya intensitas berlebih secara kontinyu, dapat merusak peralatan fotosintesis dan menyebabkan fotooksidasi klorofil dan kematian sel. Seperti pada ketinggian yang lebih rendah, memiliki kecenderungan intensitas cahaya tinggi sehingga beresiko pada kerusakan kompleks fotosintesis pada daun *C. odorata*, ditandai warna daun yang cenderung menguning. Intensitas cahaya yang tinggi juga tercatat menyebabkan kerusakan kloroplas pada tanaman *pimedium pseudowushanense* yang mengakibatkan penurunan kandungan Chl (Pan, 2016). Daun *C. odorata* yang menguning juga dipengaruhi kandungan pigmen lain, seperti karotenoid. Fungsi karotenoid adalah untuk melindungi klorofil dari intensitas sinar UV yang tinggi supaya tetap mampu memaksimalkan proses fotosintesis, dan semakin tinggi intensitas cahaya maka kandungan karotenoid akan semakin banyak (Utomo, 2020).

Suhu juga mempengaruhi kandungan Chl yang berimplikasi pada warna daun. Suhu yang fluktuatif dapat mempengaruhi pembentukan Chl. Bahkan dalam keadaan suhu ekstrim (temperatur tinggi dan temperatur rendah) dapat menginisiasi penghambatan pembentukan Chl. Dalam kondisi pertumbuhan normal, sintesis dan degradasi Chl mencapai keseimbangan dan kadar molekul ini tetap stabil. Namun, ketika tumbuhan mengalami tekanan lingkungan, termasuk suhu tinggi, kandungan Chl dapat menurun dan menyebabkan klorosis. Di bawah perlakuan panas, aktivitas klorofilase dan peroksidase pendegradasi Chl meningkat drastis, menghasilkan penurunan kadar Chl yang serius (Hu, 2020). Keadaan tersebut menyebabkan daun *C. odorata* menguning karena penurunan kadar Chl disebabkan suhu yang tinggi pada altitud rendah (Tabel 4.1). Berbeda dengan daun *C. odorata* pada altitud lebih tinggi yang relatif menghijau. Hal ini karena suhu rendah (dalam batas toleransi) dan kelembaban relatif besar seperti pada altitud tinggi, dapat meningkatkan penundaan degradasi Chl (Manolopoulou, 2016). Nagata (2005) menjelaskan bahwa sintesis Chl perlu melalui serangkaian reaksi enzimatik, dengan suhu yang terlalu tinggi atau rendah menghambat reaksi enzim tersebut, bahkan mendegradasi Chl aslinya. Suhu optimum sintesis Chl tumbuhan secara umum adalah 30°C, aktivitas enzim DVR (*Divinyl chlorophyllide a 8-vinyl-reductase*) mencapai puncaknya pada 30°C. Dengan demikian, suhu mempengaruhi sintesis klorofil.

Hubungan antara faktor iklim dan tanah juga memainkan peran penting dalam mengatur Chl, terutama dalam skala besar. Curah hujan dan kondisi tanah juga berperan dalam ketersediaan air yang sangat dibutuhkan bagi tumbuhan, air merupakan media yang digunakan untuk mengangkut nutrisi pada tumbuhan karena garam mineral harus dilarutkan dalam air untuk diserap oleh tumbuhan. Sintesis

Chl membutuhkan banyak unsur (yaitu magnesium (Mg), nitrogen (N), karbon (C), fosfor (P)) dari tanah, terutama Mg dan N yang merupakan pembangun kompleks inti Chl, dengan demikian unsur tanah mempengaruhi Chl. Walaupun dalam beberapa penelitian mengungkapkan kandungan unsur hara yang rendah dalam tanah memiliki pengaruh yang kecil terhadap Chl (Li, 2018; Yan, 2018). Namun diketahui, secara kualitatif, pada penelitian ini faktor tanah tidak mempengaruhi warna daun, yaitu tidak linier terhadap penguatan warna hijau daun *C. odorata* atau dapat diartikan tidak berkorelasi dengan kadar Chl daun *C. odorata*.

Kombinasi faktor yang ada (iklim dan tanah) dalam skala besar, sangat mempengaruhi sifat fisiologi tumbuhan *C. odorata*, diantaranya adalah respirasi dan transpirasi yang berhubungan dengan regulasi air pada tumbuhan. Tumbuhan yang hidup pada lingkungan intensitas cahaya dan suhu tinggi cenderung kehilangan air lebih besar melalui respirasi pada daun. Sama halnya dengan kondisi tanah yang menyediakan air, beserta mineral yang dibawa, yang diangkut melalui proses transpirasi tumbuhan sebagai substrat dalam berbagai metabolisme tumbuhan seperti sintesis Chl. Terdapat juga bukti tidak langsung bahwa kandungan Chl pada tumbuhan merupakan sifat indikatif untuk mengkarakterisasi tumbuhan dalam merespons perubahan faktor lingkungan agar tercapainya homeostatis (Li, 2008).

Fenomena tersebut telah banyak diisyaratkan oleh Allah Subhanahu wa ta'ala, yaitu air sangat berkaitan dengan “zat hijau daun”, seperti yang telah dibahas sebelumnya. Satu hal paling banyak disinggung adalah hubungan air dengan tumbuhan yang menghijau. Seperti disebutkan dalam Surah Al-Hajj ayat 63 yang berbunyi:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَتُصْبِحُ الْأَرْضُ مُخْضَرَّةً إِنَّ اللَّهَ لَطِيفٌ خَبِيرٌ ﴿٦٣﴾

Artinya: “*Tidakkah engkau memperhatikan bahwa Allah menurunkan air (hujan) dari langit sehingga bumi menghijau? Sesungguhnya Allah Mahalembut lagi Mahateliti.*” (Q.S Al-Hajj[22]: 63).

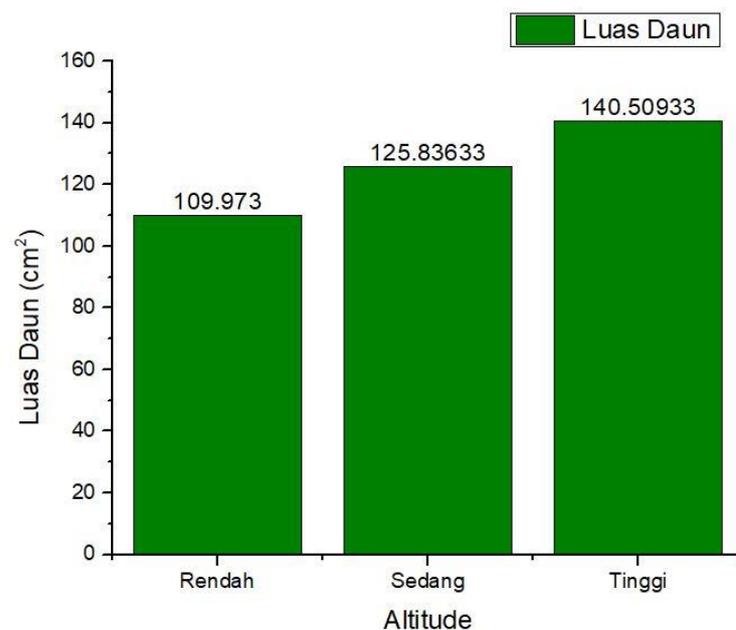
Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah Subhanahu wa ta'ala menurunkan air hujan sebagai rizki dan berkah bagi makhluk-Nya, maka dari rizki dan berkah-Nya dapat menumbuhkan tumbuhan-tumbuhan berwarna hijau untuk mengisi bumi. Kata مُخْضَرَّةً (menghijau), selain menggambarkan keindahan bumi dengan kehijauan tumbuh-tumbuhan, tetapi juga penyebutan kata hijau menunjuk pada zat hijau daun (klorofil) yang sangat diperlukan oleh tumbuhan (Shihab, 2002). Makna hijau dalam ayat tersebut sungguh luas, diketahui sebelumnya terdapat spektrum warna hijau berbeda yang bisa dihasilkan dari pengaturan komposisi maupun kombinasi pigmen tumbuhan, sebagai respon tumbuhan terhadap lingkungan (Pratama, 2015). Fenomena luar biasa tersebut tidak terlepas dari Kuasa Allah Subhanahu wa ta'ala yang pada ayat ini disifati خَبِيرٌ لَطِيفٌ (Mahalembut lagi Mahateliti), yang menyiratkan bahwa hubungan keseimbangan air dengan zat hijau daun sudah diatur oleh Allah Subhanahu wa ta'ala dengan sangat teliti agar tetap dapat mendukung tumbuhan hidup dengan baik.

Bukti saintifik membuktikan bahwa keseimbangan air pada tumbuhan mempengaruhi aktivitas fotokimia kloroplas, kekurangan air dalam daun mempengaruhi sintesis Chl dan mendorong penguraiaan Chl, dan menyebabkan daun menguning (Li, 2018). Walaupun demikian, degradasi Chl dapat melindungi sel tumbuhan dari efek berbahaya dari pigmen fototoksik, yaitu membantu bertahan dalam mencegah akumulasi fototoksik akibat fotooksidasi klorofil. Selain itu, keseimbangan biosintesis dan penguraian klorofil sangat penting untuk

mempertahankan peralatan fotosintesis untuk meningkatkan efisiensi fotosintesis yang pada akhirnya mempengaruhi perkembangan dan hasil tumbuhan (Hu, 2020). Dari fenomena ini, dapat diketahui sedikit kekuasaan Allah Subhanahu wa ta'ala yang Mahateliti dalam mengatur setiap proses yang telah ditetapkan sebelumnya, tentunya hal tersebut ditunjukkan untuk keseimbangan bagi makhluk hidupnya.

4.1.2.2 Luas Daun

Luas daun *C. odorata* bervariasi pada setiap ketinggian. Hasil menunjukkan luas daun berkorelasi positif ($r=0.764$) terhadap ketinggian (Lampiran 4), yaitu luas daun terbesar dihasilkan tumbuhan *C. odorata* altitud tinggi. Gambar 4.2 menunjukkan secara visual luas daun *C. odorata* dari setiap ketinggian.



Gambar 4.2. Diagram luas daun *C. odorata* pada setiap ketinggian

Gambar 4.2 menunjukkan luas daun bertambah seiring dengan meningkatnya ketinggian, yaitu *C. odorata* pada altitud tinggi memiliki luas daun terbesar ($140,51 \pm 9,28 \text{ cm}^2$) diikuti dengan altitud sedang ($125,83 \pm 19,50 \text{ cm}^2$) dan rendah ($109,97 \pm 5,61 \text{ cm}^2$). Fenomena ini berkaitan dengan faktor lingkungan pada setiap ketinggian, faktor lingkungan menjadi salah satu yang mempengaruhi

pertambahan luas daun, seperti intensitas cahaya, suhu, maupun serapan hara oleh tumbuhan dapat mempengaruhi fotosintesis dan tampak pengaruhnya pada luas daun (Setyanti, 2013).

Intensitas cahaya matahari pada setiap altitud yang terbukti secara signifikan ($P(0,02) < 0,05$) mempengaruhi luas daun *C. odorata*. Sebelumnya diketahui bahwa *C. odorata* merupakan tumbuhan yang memiliki sifat toleransi yang cukup luas sebagai gulma. Utami (2018) menjelaskan bahwa tumbuhan yang toleran terhadap intensitas cahaya rendah (seperti pada altitud lebih tinggi) mengalami perubahan signifikan terhadap nilai LAR (*leaf area ratio*) dan luas daun. Apabila terjadi perubahan intensitas cahaya, tumbuhan toleran dapat meningkatkan atau menurunkan luas daun, dan sebaliknya pada tumbuhan tidak toleran mengalami perubahan yang relatif kecil.

Luas daun *C. odorata* terbesar terdapat pada altitud tinggi ($140,51 \pm 9,28$ cm²) dipengaruhi oleh intensitas cahaya rendah pada altitud tersebut (Tabel 4.1). Menurut Setiawati (2018) Tumbuhan beradaptasi dengan kondisi intensitas cahaya rendah dengan meningkatkan luas daun untuk mendapatkan permukaan yang lebih luas untuk penyerapan cahaya. Peningkatan luas daun menjadi salah satu mekanisme toleransi terhadap intensitas cahaya rendah berguna untuk optimalisasi penerimaan cahaya atau memperoleh cahaya lebih banyak oleh tumbuhan. Dengan demikian, pertambahan luas daun *C. odorata* pada intensitas cahaya yang semakin menurun seiring bertambahnya ketinggian, merupakan proses stimuli internal sebagai bentuk adaptasi daun memaksimalkan penerimaan cahaya. Sebaliknya, pengurangan ukuran daun *C. odorata* di area yang terkena sinar matahari tinggi,

pada altitud rendah, akan menurunkan suhu daun, potensi kehilangan air, dan merusak fotosistem daun (Wright, 2017).

Suhu lingkungan yang berbeda pada tiap lokasi ketinggian secara signifikan mempengaruhi ($P(0,04) < 0,05$) luas daun *C. odorata* oleh kondisi suhu (Lampiran 4). Daun *C. odorata* mengecil seiring dengan bertambahnya suhu, sehingga luas daun *C. odorata* terkecil ($109,97 \pm 5,61 \text{ cm}^2$) berada pada altitud rendah dengan suhu yang relatif tinggi. Daun *C. odorata* yang lebih kecil diharapkan memiliki suhu daun yang lebih rendah daripada daun besar di habitat yang cerah (intensitas lebih tinggi) dan bersuhu tinggi, dengan demikian dapat menghindari panas berlebih. Hal tersebut karena laju konveksi panas, antara daun dengan udara, lebih tinggi pada daun yang kecil daripada daun yang lebih besar (Leigh, 2017).

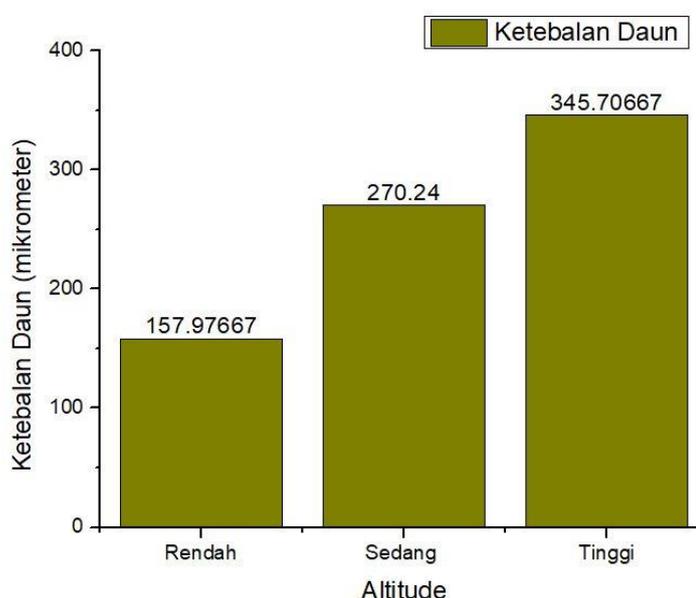
Ukuran daun cenderung mengecil seiring dengan berkurangnya ketersediaan air. Umumnya daun yang lebih kecil menguntungkan di lingkungan yang panas dan kering serta intensitas radiasi matahari yang tinggi. Sedangkan daun besar, dengan kapasitas pertukaran energi (kalor) yang kurang efisien, menguntungkan di lingkungan yang lebih dingin, lembab dan dengan radiasi yang lebih rendah seperti pada altitud tinggi (Wang, 2019).

Daun *C. odorata* lebih luas pada suhu rendah menguntungkan untuk mempertahankan suhu di dalamnya lebih hangat. Penelitian Shin (2001) juga membuktikan hal yang sama pada tumbuhan mawar, yaitu terdapat peningkatan luas daun seiring dengan menurunnya suhu lingkungan. Beberapa penelitian sebelumnya telah menemukan bahwa variabilitas dalam ukuran daun memainkan peran penting dalam regulasi termal daun (Zwieniecki, 2013; Wright, 2017). Adaptasi pengaturan termal daun mengarah pada optimalisasi reaksi biokimia

dalam daun dan aktivitas enzim yang menyertai, seperti proses fotosintesis. Pada akhirnya berefek langsung terhadap metabolit yang dihasilkan.

4.1.2.3 Ketebalan Daun

Pengukuran ketebalan daun diukur untuk mengestimasi densitas sel-sel penyusun daun secara melintang (seperti epidermis, parenkim, ataupun sel-sel pengangkut). Ketebalan daun dapat mempengaruhi efisiensi fotosintesis dan penyimpanan metabolit pada daun. Gambar 4.3 menunjukkan secara visual ketebalan daun *C. odorata* pada setiap ketinggian.



Gambar 4.3. Diagram ketebalan daun *C. odorata* pada setiap ketinggian

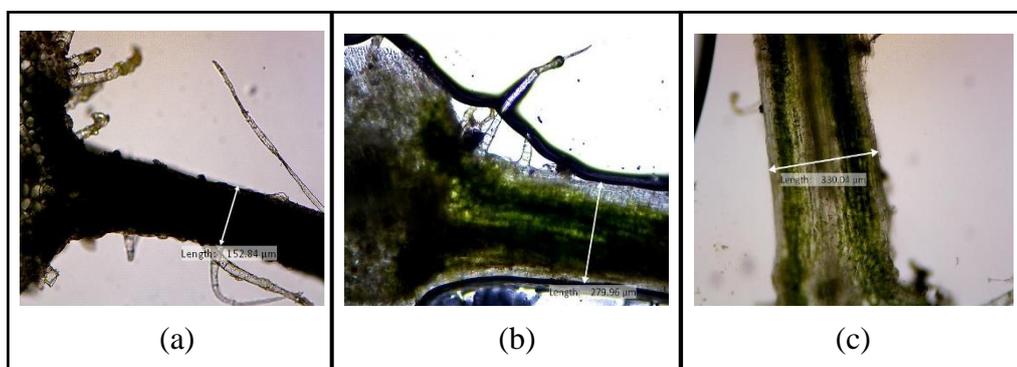
Gambar 4.3 menunjukkan ketebalan daun *C. odorata* linier terhadap bertambahnya ketinggian. Daun *C. odorata* memiliki ketebalan yang meningkat seiring altitud tempat tumbuhnya, menandakan adanya korelasi positif antara ketinggian tempat tumbuh dengan ketebalan daun ($r= 0,955$) (Lampiran 4). Peningkatan tebal daun *C. odorata* seiring bertambahnya ketinggian pada penelitian ini sama dengan hasil Akinlabi (2014), yaitu daun *C. odorata* mengalami penebalan

seiring dengan meningkatnya ketinggian (280, 312 dan 360 mdpl). Hasil ini juga selaras dengan penelitian pada spesies lain, seperti Kofidis (2008) yang melaporkan bahwa perubahan ketinggian tempat menyebabkan perubahan ketebalan jaringan daun tumbuhan *Nepeta Nuda* (Labiatae).

Ketebalan jaringan daun pada beberapa spesies bertambah dengan meningkatnya ketinggian (950-1480 mdpl) namun berkurang pada ketinggian 1760 mdpl (Alponsin, 2017). Di sisi lain, pada penelitian sebelumnya juga mengungkapkan bertambahnya ketinggian pada altitud diatas 2000 mdpl menyebabkan bertambahnya tebal daun, disebabkan faktor lingkungan yang berbeda pada tiap altitud. Penelitian Liu (2020) membuktikan bahwa ketebalan palisade, mesofil bunga karang, epidermis atas, epidermis bawah, dan vena utama daun meningkat dengan meningkatnya ketinggian (3000-4600 mdpl) pada tumbuhan *Epilobium amurense*, *Pedicularis densispica*, dan *Potentilla fulgens*. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh penelitian Fajrina (2014) pada tumbuhan *Anaphalis*, yaitu daun menebal seiring dengan bertambahnya ketinggian tempat, yaitu tumbuhan cenderung memiliki jaringan bunga karang yang longgar dan banyak ruangan diantara jaringan spons. Berdasarkan fakta-fakta tersebut, dimungkinkan ketebalan daun *C. odorata* dapat terus meningkat sampai batas ketinggian tertentu, dibandingkan *range* ketinggian pada penelitian ini. Oleh karena itu dibutuhkan penelitian lebih lanjut dengan menambah variasi ketinggian.

Ketebalan daun ini salah satunya dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang dimiliki oleh lingkungan. Pada penelitian ini penurunan intensitas cahaya pada altitud tinggi berpengaruh secara signifikan terhadap ketebalan daun ($P(0,002) < 0.05$). Ketebalan daun terbesar daun *C. odorata* ($345,71 \pm 37,49 \mu\text{m}$) berada pada

altitud tinggi dengan intensitas cahaya rendah (Tabel. 4.1), diikuti pada altitud sedang ($270,24 \pm 11,30 \mu\text{m}$) dan rendah ($158 \pm 25,06 \mu\text{m}$). Hasil penelitian ini berbeda dengan beberapa penelitian sebelumnya yang mengungkapkan bahwa bertambahnya intensitas cahaya maka daun semakin tebal (Volkenburgh, 2002; Rezai, 2018). Namun hal ini berbeda pada tiap spesies dan genotipnya dalam merespon faktor lingkungan (Kisman, 2007). Selain itu, penebalan daun tersebut berorientasi pada pembentukan lapisan kutikula dan penebalan epidermis pada daun sebagai pelindung sel-sel daun dari kerusakan akibat intensitas cahaya yang terlalu tinggi (Alponsin, 2017; Liu, 2019). Sebaliknya pada penelitian ini, peningkatan ketebalan daun *C. odorata* dengan menurunnya intensitas cahaya, berorientasi pada peningkatan sel-sel palisade sehingga menambah kompleks fotosintesis dalam penangkapan cahaya yang menguntungkan dalam efisiensi fotosintesis. Gambar 4.4 menampilkan ketebalan sampel daun *C. odorata* pada masing-masing altitud.



Gambar 4.4. Ketebalan daun *C. odorata*. (a) altitud rendah, (b) sedang, (c) tinggi (perbesaran 400x)

Diketahui bahwa intensitas cahaya menurun seiring dengan ketinggian tempat, intensitas cahaya tertinggi terdapat pada altitud rendah (500-900 x100). Namun ketebalan daun *C. odorata* menurun seiring bertambahnya intensitas cahaya. Hal ini disebabkan karena intensitas cahaya yang tinggi dapat merusak

sistem fotosintesis, dan menyebabkan kerusakan oksidatif yang serius pada jaringan daun yang berimplikasi pada sifat anatomi daun, salah satunya ketebalan daun (Xuyang, 2017). Paparan cahaya terlalu tinggi dapat menyebabkan kejenuhan asimilasi CO₂ dan akibatnya menghasilkan energi eksitasi berlebih yang mengakibatkan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) dan dengan demikian menginduksi stres fotooksidatif pada sel-sel fotosintesis sehingga menyebabkan kerusakan sel tersebut. Pada akhirnya mengakibatkan berkurangnya tebal daun dan rusaknya kloroplas (Zha, 2019).

Ketinggian tempat juga mempengaruhi kualitas cahaya yang diterima oleh permukaan bumi seperti sinar biru ultraviolet (UV), di mana semakin tinggi suatu tempat maka radiasi sinar ultraviolet (cahaya biru) yang diterima akan semakin besar (BMKG, 2022). Fenomena tersebut dapat menjadi salah satu faktor penyebab pada penelitian ini, ketebalan daun *C. odorata* meningkat seiring dengan bertambahnya ketinggian karena kualitas cahaya yang berbeda, walaupun memang dibutuhkan pengukuran lebih lanjut. Beberapa penelitian membuktikan bahwa peningkatan cahaya biru UV berkorelasi dengan tebal daun melalui penentuan dalam perkembangan jaringan palisade, seperti pada tumbuhan *Brassica napus* L. (Shengxin, 2016), *Arabidopsis* (Weston, 2000) dan *Alternanthera brasiliana* (Macedo, 2011).

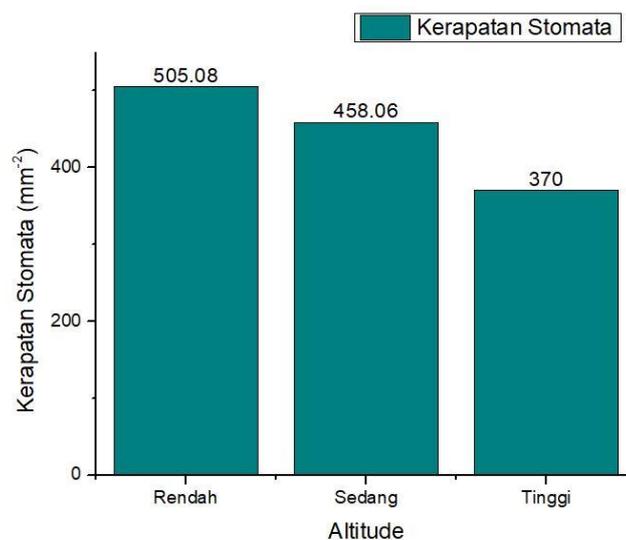
Penebalan daun *C. odorata* juga merupakan respon terhadap faktor suhu. Perbedaan kondisi suhu pada setiap ketinggian secara langsung mempengaruhi ($P(0,002) < 0,05$) adaptasi untuk penebalan daun *C. odorata*. Sama halnya dengan penambahan luas daun, penebalan daun *C. odorata* juga merupakan respon fisiologi dalam mengatur termoregulasi daun. Diketahui bahwa daun *C. odorata*

paling tebal berada pada altitud tinggi yang memiliki suhu rendah (24-29 °C), daun yang tebal tersebut berfungsi mempertahankan suhu daun dari suhu lingkungan yang lebih rendah. Sedangkan daun *C. odorata* pada altitud lebih rendah cenderung lebih tipis sebagai respon fisiologi untuk memudahkan daun mengurangi suhu daun akibat suhu lingkungan yang terlalu tinggi. Hal tersebut kerana area daun dapat mengatur suhu daun melalui ketebalan lapisan batas daun, di mana perpindahan panas lebih lambat dibandingkan dengan udara yang lebih fluktuatif di luar daun (Wang, 2019).

Daun dan epidermis yang lebih tebal dapat memberikan penyangga yang lebih besar antara suhu daun bagian dalam dengan suhu lingkungan luar, sehingga menjaga suhu internal tetap tinggi yang akan berkontribusi untuk mempertahankan aktivitas fisiologis normal tumbuhan di bawah suhu rendah pada altitud tinggi. Selain itu, daun dan epidermis yang lebih tebal dapat mengurangi kerusakan yang ditimbulkan oleh iradiasi ultraviolet tingkat tinggi yang dapat terjadi di dataran tinggi (Ma, 2012).

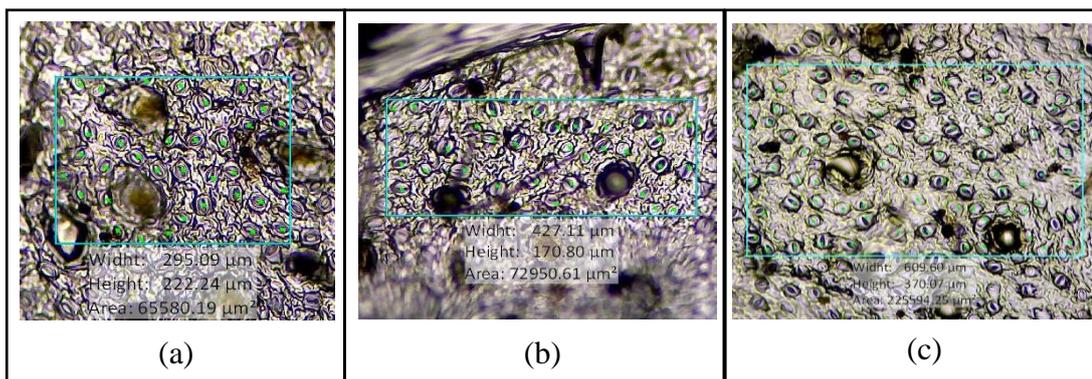
4.1.2.4 Kerapatan Stomata

Stomata memainkan peran penting dalam pengaturan pertukaran gas antara bagian luar dan dalam daun, sehingga kerapatan stomata menjadi penting terkait efisiensi pengaturan tersebut. Namun, efek perubahan kerapatan stomata atau *stomata density* (SD) pada fotosintesis dan pertumbuhan dapat bervariasi tergantung pada spesies tumbuhan atau kondisi lingkungan. Pada penelitian ini diketahui bahwa perubahan kerapatan stomata mengalami perubahan, yaitu semakin menurun kerapatannya seiring bertambahnya ketinggian, ditampilkan secara visual pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Diagram kerapatan stomata daun *C. odorata* pada setiap ketinggian

Gambar 4.5 menunjukkan kerapatan stomata daun *C. odorata* linier-*antagonis* terhadap ketinggian sehingga menghasilkan korelasi negatif ($r = -0,882$) (Lampiran 4), yang artinya kerapatan stomata daun semakin berkurang seiring dengan ketinggian tempat. Sama halnya dengan hasil penelitian Akinlabi (2014) yang telah disebutkan sebelumnya, membuktikan indeks rata-rata stomata daun *C. odorata* menurun seiring meningkatnya ketinggian. Hasil tersebut juga sama dengan penelitian sebelumnya yang mengungkapkan bahwa terdapat hubungan negatif yang signifikan antara kepadatan stomata dengan ketinggian, serta antara potensi kehilangan air dengan ketinggian (Hill, 2014; Wang, 2014). Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan pada tiap ketinggian. Ukuran stomata dan kepadatan diketahui berubah sebagai respons terhadap berbagai faktor lingkungan, termasuk ketersediaan air, suhu, cahaya, nutrisi tanah, kelembaban dan tekanan parsial dan konsentrasi atmosfer dari CO₂ (Hill, 2014; Liu, 2020).



Gambar 4.6. Kerapatan tomat daun *C. odorata*. (a) altitud rendah, (b) sedang, (c) tinggi (perbesaran 400x)

Gambar 4.6 menampilkan kerapatan sampel daun *C. odorata* pada masing-masing altitud. Kerapatan stomata daun *C. odorata* tertinggi berada pada altitud rendah ($505,08 \pm 43,22 \text{ mm}^{-2}$) diikuti pada altitud sedang ($458,06 \pm 16,96 \text{ mm}^{-2}$) dan tinggi ($370 \pm 26,94 \text{ mm}^{-2}$). Intensitas cahaya menjadi salah satu faktor yang secara signifikan ($P(0,008) < 0,05$) mempengaruhi kerapatan stomata daun. Intensitas cahaya yang semakin tinggi dengan berkurangnya ketinggian menjadi salah satu alasan penambahan kerapatan stomata pada daun *C. odorata*. Penelitian sebelumnya membuktikan adanya peningkatan kerapatan stomata seiring dengan peningkatan intensitas cahaya (Budiono, 2016; Haryanti, 2010). Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa intensitas cahaya memiliki efek signifikan pada *stomata density* (SD) atau kerapatan stomata dengan menginduksi perubahan ekspansi sel epidermis (Hovenden, 2006; Mott, 2009).

Selain intensitas cahaya, kualitas cahaya pun dapat mempengaruhi kerapatan stomata daun *C. odorata*, kerapatan stomata daun *C. odorata* pada altitud tinggi lebih sedikit dibanding kedua altitud lainnya. Wang (2014) menjelaskan bahwa, kerapatan stomata yang lebih rendah pada altitud lebih tinggi dimungkinkan karena kondisi lingkungan yang lebih parah (misalnya, suhu yang lebih rendah,

tingkat UV-B yang lebih tinggi) yang menginduksi penghambatan pembentukan stomata. Kouwenberg (2007) menambahkan bahwa tumbuhan di dataran tinggi memungkinkan mengalami peningkatan kerentanan terhadap tingkat radiasi UV-B yang lebih tinggi, dengan lama penyinaran yang pendek dan suhu yang dingin dapat menunda perkembangan epidermis pelindung (*guard cell*), kutikula dan lilin epikutikular. Dalam beberapa penelitian eksperimental, sebagian besar spesies tanaman menunjukkan penurunan kepadatan stomata sebagai tanggapan terhadap peningkatan UV-B (Keiller, 2001; Poulson, 2006). Dengan demikian, walaupun intensitas cahaya lebih rendah pada altitud tinggi, namun radiasi UV-B semakin besar. Hal tersebut dapat menjadi salah satu penyebab perbedaan kerapatan stomata pada daun *C. odorata*.

Suhu lingkungan juga mempengaruhi secara signifikan ($P(0,02) < 0,05$) terhadap kerapatan stomata daun *C. odorata*. Diketahui bahwa kerapatan stomata menurun seiring dengan menurunnya suhu lingkungan pada altitud tinggi. Gregoriou (2007) membuktikan bahwa, suhu rendah dan kelembaban yang tinggi pada tempat yang memiliki altitud tinggi dapat menyebabkan penurunan jumlah stomata. Fenomena tersebut terbukti pada penelitian ini, yaitu kerapatan stomata daun *C. odorata* semakin berkurang seiring bertambahnya ketinggian (Tabel 4.2). Hal ini disebabkan karena suhu yang lebih rendah dapat menginduksi penghambatan pembentukan stomata (Wang, 2014).

Selain itu, induksi kerapatan stomata daun *C. odorata* juga berhubungan dengan potensi kehilangan air melalui pembukaan porus stomata. Menurut Haryanti (2010), pada lingkungan intensitas tinggi dan suhu tinggi stomata harus mengurangi lebar porusnya untuk mengurangi penguapan air, sebaliknya pada lingkungan

intensitas rendah dan suhu rendah stomata lebih membuka. Pembukaan porus yang berkurang ini berakibat pada asimilasi CO₂ yang juga berkurang. Oleh karena itu, sebagai bentuk adaptasinya, kerapatan stomata *C. odorata* ditingkatkan sebagai strategi tumbuhan untuk mempertahankan efisiensi fotosintesis.

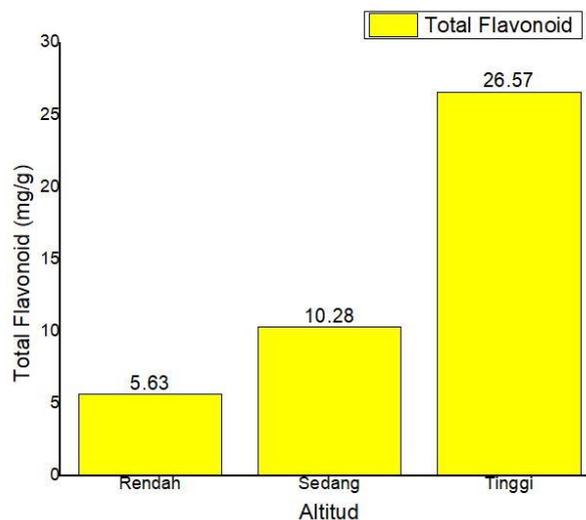
Sakoda (2020) menambahkan bahwa peningkatan *stomatal density* (SD) yang moderat akan mencapai perolehan karbon yang lebih efisien dengan potensi kehilangan air yang kecil, hal ini disebabkan oleh induksi asimilasi CO₂ (A) yang lebih cepat. Melalui penjelasan tersebut, dapat dipahami bahwa peningkatan kerapatan stomata pada daun *C. odorata* pada altitud rendah dimungkinkan bertujuan menjaga keseimbangan antara asimilasi CO₂ untuk fotosintesis dan potensi kehilangan air untuk transpirasi, yaitu dengan mengatur lubang pori stomata maupun densitas stomata, sehingga tumbuhan dapat mengoptimalkan penyerapan CO₂ untuk fotosintesis sambil meminimalkan kehilangan air. Fenomena ini juga dijelaskan oleh Izza (2015) bahwa, pori stomata yang terlalu berdekatan, dapat menghambat penguapan dari pori di dekatnya. Hal tersebut terjadi karena jalan yang dilalui molekul-molekul air yang lewat pori stomata tidak lurus, melainkan membelok akibat pengaruh sudut sel-sel penutup. Oleh karena, itu potensi kehilangan air melalui penguapan secara ekstrim dapat terhidarkan.

Disisi lain, hasil pada penelitian ini bertolak belakang dengan hubungan antara kerapatan stomata dan ketinggian yang dijelaskan dengan teori ketersediaan CO₂. Teori mengasumsikan bahwa tekanan parsial CO₂ (PCO₂) berpengaruh signifikan terhadap kepadatan stomata. Karena CO₂ dan O₂ menjadi lebih tipis dengan meningkatnya ketinggian, tumbuhan dapat meningkatkan kepadatan stomata untuk meningkatkan kemampuan penyerapan gasnya. Melalui peningkatan

kepadatan tinggi, stomata memfasilitasi peningkatan cepat dalam konduktansi stomata yang memaksimalkan difusi CO₂ untuk fotosintesis dalam kondisi lingkungan yang menguntungkan (Liu, 2020). Akan tetapi hasil yang didapat menunjukkan kerapatan stomata daun *C. odorata* menurun seiring bertambahnya ketinggian, sehingga melahirkan asumsi bahwa ketersediaan CO₂ pada setiap altitud (rendah, sedang, dan tinggi) masih dalam batas toleransi untuk tumbuhan *C. odorata* melakukan proses fisiologi (fotosintesis) secara normal. Oleh karena itu, penurunan kerapatan stomata daun *C. odorata* seiring bertambahnya ketinggian dipengaruhi oleh faktor dominan lain seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

4.1.3 Analisis Perbedaan Total Flavonoid Daun *C. odorata* pada Setiap Ketinggian

Analisis statistik menunjukkan total flavonoid daun *C. odorata* berbeda secara signifikan pada setiap ketinggian, yaitu dengan nilai *Asymp. sign.* $0,027 < 0,05$ (Lampiran 4). Total flavonoid daun *C. odorata* terbesar berasal dari altitud tinggi ($26,57 \pm 0,24$ mg QE/g), diikuti altitud sedang ($10,28 \pm 0,28$ mg/g) dan rendah ($5,63 \pm 0,26$ mg/g). Perbandingan total flavonoid daun *C. odorata* secara visual ditampilkan pada Gambar 4.7 yang meningkat secara eksponensial ($R^2 = 0,9901$) terhadap kategori altitud. Peningkatan eksponensial total flavonoid dimungkinkan karena *range* ketinggian pengambilan sampel terlalu besar (sekitar 400 mdpl), sehingga menutupi akumulasi linier dari ketinggian lain.



Gambar 4.7. Diagram total Flavonoid daun *C. odorata* pada setiap ketinggian

Perbedaan total flavonoid daun *C. odorata* dikarenakan adanya perbedaan kemampuan sistesis dan akumulasi flavonoid pada setiap ketinggian. Kemampuan tersebut dipengaruhi oleh dua mekanisme utama, yaitu efisiensi fotosintesis dan cekaman lingkungan. Efisiensi fotosintesis berkaitan metabolit yang dihasilkan, yaitu glukosa (sukrosa) yang merupakan prekursor dalam sintesis flavonoid. Sedangkan cekaman lingkungan menjadi sinyal bagi tumbuhan untuk meningkatkan atau menurunkan laju sintesis flavonoid sebagai metabolit sekunder. Oleh karena itu, keduanya saling berkaitan dalam produksi flavonoid.

Namun dalam penelitian ini kondisi lingkungan pada setiap ketinggian belum dapat dikategorikan sebagai cekaman, sehingga respon fisiologi dan biokimia tumbuhan *C. odorata* terjadi sebagai respon adaptasi karena perbedaan kondisi lingkungan. Selain itu, *C. odorata* digolongkan sebagai gulma kosmopolitan yang memiliki sifat toleran yang luas terhadap lingkungan. (Muniappan, 2005). Perlu diingat juga bahwa gulma merupakan tumbuhan yang tumbuh tanpa diharapkan (tidak ditanam), dan hanya dapat tumbuh dan berkembang bila kondisi mendukung (Paiman, 2020). Atas dasar tersebut,

tumbuhnya gulma *C. odorata* yang tumbuh pada lokasi di setiap ketinggian menandakan faktor lingkungannya mendukung untuk tumbuh dan berkembang dan tidak menjadi cekaman.

Diketahui bahwa sukrosa menjadi bahan awal pembentukan flavonoid (Gambar 2.5), sehingga kadar sukrosa hasil fotosintesis mempengaruhi sintesis flavonoid. Penelitian sebelumnya juga menjelaskan bahwa peningkatan kandungan sukrosa mungkin memberikan pengaruh yang lebih besar dalam regulasi metabolit sekunder dibandingkan dengan kandungan pati, walaupun dengan koefisien korelasi rendah terhadap total flavonoid dan fenolat (Guo, 2011). Sukrosa juga dapat berfungsi sebagai molekul pemberi sinyal seperti hormon dan mengontrol berbagai metabolisme dan pertumbuhan pada tumbuhan. Hal ini merupakan faktor penting yang mempengaruhi sintesis jalur metabolit sekunder termasuk flavonoid (Ibrahim, 2011; Kim, 2020).

Penelitian Kim (2020) juga membuktikan, melalui analisis ekspresi gen untuk kadar flavonoid total, bahwa sukrosa dapat menginduksi up-regulasi biosintesis flavonoid. Namun, belum diketahui tentang hubungan antara biosintesis flavonoid dan kadar sukrosa melalui profil metabolit. Hal tersebut mengungkapkan bahwa peningkatan kandungan sukrosa bisa menjadi penjelasan yang memungkinkan terjadi peningkatan produksi total flavonoid daun *C. odorata* dalam penelitian ini.

Menjadi perhatian khusus bahwa perbedaan total flavonoid pada daun *C. odorata* disebabkan oleh proses fotosintesis dan proses biokimia yang menyertai dalam menghasilkan glukosa (sukrosa). Oleh karenanya efisiensi fotosintesis menjadi hal yang penting dalam proses tersebut. Setyanti (2013) menjelaskan

bahwa efisiensi fotosintesis pada tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah luas daun, tebal daun, jumlah klorofil, serta faktor lingkungan. Pada penelitian ini, daun *C. odorata* paling luas dan lebar, serta karapatan stomata rendah (pada altitud tinggi) diduga mengalami laju fotosintesis yang tinggi, hal tersebut dibuktikan dengan total flavonoid tertinggi pada daun *C. odorata* pada altitud tinggi (Gambar 4.7).

Daun yang lebih luas atau lebar pada *C. odorata* memungkinkan terjadinya efisiensi fotosintesis lebih tinggi. Peningkatan luas daun merupakan salah satu mekanisme adaptasi untuk optimalisasi penerimaan cahaya oleh tumbuhan terhadap intensitas cahaya rendah guna memperoleh cahaya yang lebih banyak. Cahaya yang diserap daun digunakan untuk sintesis klorofil yang kemudian dirubah menjadi energi kimia pada proses fotosintesis (Setyanti, 2013; Setiawati, 2018). Penerimaan cahaya yang tinggi pada daun *C. odorata* yang lebih luas, mempengaruhi laju fotosintesis yang lebih tinggi melalui induksi beberapa enzim fotosintesis. Taiz (2010) menyatakan bahwa faktor yang dapat mempengaruhi laju fotosintesis adalah aktivitas Rubisco, regenerasi *ribulose bisphosphate* (RuBP) dan metabolisme *gliserol dehide 3 fosfat* (G3P). Aktivitas rubisco dan RuBP sangat dipengaruhi oleh intensitas cahaya sedangkan metabolisme G3P ditentukan oleh fiksasi CO₂, maka optimalisasi penangkapan cahaya mempengaruhi aktifitas fiksasi CO₂ dalam reaksi gelap fotosintesis, dimana metabolit primer (glukosa) dihasilkan dari reaksi ini.

Daun *C. odorata* yang lebih tebal juga mempengaruhi laju fotosintesis menjadi lebih optimal. Ketebalan daun sangat menentukan panjang jalur optik cahaya melalui daun dan jumlah karakter anatomi (misalnya, dinding sel dan kloroplas) yang memantulkan, menyerap, atau mengirimkan cahaya. Daun yang

tebal memiliki luas permukaan yang lebih besar, sehingga memiliki potensi untuk meningkatkan intersepsi cahaya. Oleh karena itu daun yang lebih tebal biasanya memiliki laju fotosintesis yang lebih tinggi. Sifat tersebut juga memiliki hubungan penting dengan partisi biomassa, produktivitas bersih dan respon tumbuhan terhadap defisit air (Pauli, 2017).

Efektifitas fotosintesis pada daun *C. odorata* yang lebih tebal tersebut berkorelasi densitas palisade yang dimiliki daun. Karakter tersebut menunjukkan bahwa palisade menjadi jaringan penting dalam proses fotosintesis. Rasio palisade terhadap sponge yang tinggi menunjukkan keefektifan jaringan tersebut dalam mendapatkan dan menyebarkan cahaya serta mengikat CO₂ untuk proses fotosintesis (Tihurua, 2020). Daun-daun yang mempunyai lapisan palisade yang lebih tebal ini akan mempunyai kapasitas fotosintesis yang lebih besar (per cm²), sehingga *net assimilation rate* (NAR) atau laju asimilasi bersih akan lebih besar, dan *relative growth rate* (RGR) atau laju tumbuh relatif secara potensial bisa lebih tinggi (Utami, 2018).

Daun *C. odorata* yang lebih luas dan tebal pada altitud tinggi, memungkinkan pengaturan termoregulasi daun lebih baik untuk mendukung aktivitas enzim-enzim fotosintesis, sehingga produksi flavonoid lebih optimal (Gambar 4.7). Michaletz (2016) menjelaskan bahwa, ukuran daun merupakan penentu termoregulasi daun karena mempengaruhi keseimbangan energi daun antara pemanasan radiasi matahari dan pendinginan transpirasi melalui lapisan batas daun. Daun yang lebih tebal pada *C. odorata* berfungsi untuk mengatur termoregulasi daun lebih baik agar suhu daun lebih stabil, karena konveksi atau perpindahan kalor lebih lambat antar sel dibandingkan dengan suhu lingkungan.

Kestabilan suhu pada daun akan mempengaruhi aktivitas enzim-enzim yang terlibat dalam proses fotosintesis untuk berjalan lebih optimal (Shin, 2001; Wang, 2019).

Ketersediaan CO₂ di atmosfer secara teoritis menguntungkan bagi tumbuhan, sehingga memudahkan terjadinya fotosintesis. Namun, bahkan jika karbon berlimpah di atmosfer, tanpa nitrogen yang cukup, tumbuhan tidak dapat berfotosintesis dengan baik. Dalam hal ini memiliki daun tebal lebih menguntungkan, daun yang lebih tebal berpotensi membantu memusatkan nitrogen untuk memastikan laju fotosintesis per area daun tetap tinggi di lingkungan yang kaya karbon. Daun yang menebal mampu menyerap karbon dan menghasilkan uap air, memungkinkan tumbuhan untuk tumbuh dan mengatur suhu jauh lebih efisien daripada tumbuhan yang diprogram untuk memiliki lebih banyak karbon dan relatif terhadap nitrogen di daunnya (Hickey, 2021). Dengan demikian, tumbuhan *C. odorata* berdaun lebih tebal mampu mengungguli tumbuhan lain dengan menyerap lebih banyak CO₂ melalui peningkatan laju fotosintesis. Dibuktikan dengan daun *C. odorata* yang lebih tebal, pada altitud tinggi, menghasilkan total flavonoid tertinggi (Gambar 4.7).

Bila ditinjau dari hubungan tekanan parsial (CO₂ dan O₂) dengan efisiensi fotosintesis, data yang didapatkan (Gambar 4.7) menunjukkan bahwa daun *C. odorata* pada altitud tinggi menghasilkan total flavonoid lebih besar. Oleh karena itu, diasumsikan bahwa tidak ada perbedaan ketersediaan CO₂ pada setiap ketinggian, ataupun penurunan ketersediaan CO₂ seiring bertambahnya ketinggian tidak memiliki efek pada fotosintesis daun *C. odorata* karena tingkat toleransi *C. odorata* yang luas. Sebaliknya daun *C. odorata* pada altitud rendah menghasilkan total flavonoid paling kecil (Gambar 4.7) karena fotosintesis yang kurang optimal,

dimungkinkan karena adanya efek fotorespirasi disebabkan tekanan parsial O₂ yang tinggi. Kouwenberg (2007) menjelaskan bahwa, tekanan udara yang lebih rendah di altitud tinggi tidak hanya menurunkan tekanan parsial CO₂ tetapi juga tekanan parsial O₂, yang menghasilkan laju fotorespirasi yang lebih rendah dan fotosintesis yang lebih efisien. Namun untuk mengetahui efek tersebut secara kuantitatif dapat dilakukan pengamatan parameter lain berupa tekanan udara tekanan parsial pada penelitian selanjutnya.

Berbeda dengan daun *C. odorata* pada altitud rendah yang menghasilkan total flavonoid paling rendah dikarenakan adanya hubungan antara sifat morfologi-anatomi daun *C. odorata* dengan faktor lingkungan, berupa intensitas cahaya dan suhu yang tinggi, yang dapat mengakibatkan penghambatan fotosintesis sehingga pembantukan flavonoid juga kurang optimal. Telah disebutkan sebelumnya bahwa, kerapatan stomata yang tinggi daun *C. odorata* pada altitud rendah dapat mengalami penghambatan penguapan molekul-molekul air yang sebenarnya menguntungkan bagi tumbuhan agar tidak kehilangan air secara ekstrim (melalui respirasi) karena suhu yang terlalu tinggi (Izza, 2015), namun pergerakan air melalui vaskuler menjadi lambat karena tenaga hisap daun semakin berkurang. Hal ini tentunya berakibat pada terhambatnya proses transpirasi (Dwidjoseputro, 1992). Penghambatan transpirasi berefek pada proses *cooling* (pendinginan) tumbuhan pada suhu tinggi dan “pemompaan” air dan mineral ke daun untuk fotosintesis (Hernández, 2010). Walaupun memang transpirasi total dari tumbuhan berpengaruh kecil terhadap kapasitas fotosintesis daun bila dijaga dalam kondisi konstan (Sharkey, 1984). Atas dasar tersebut, diketahui bahwa kerapatan stomata daun *C. odorata* pada altitud rendah berpotensi menghambat proses pendinginan tumbuhan

akibat respirasi pada daun terhambat, akibatnya suhu tumbuhan terlalu besar, hal ini dapat mengganggu optimalisasi kerja enzim metabolisme. Penghambatan respirasi juga berefek pada daya hisap daun yang rendah, akibatnya kecepatan pergerakan air ke daun semakin berkurang. Bila tumbuhan *C. odorata* mengalami “komplikasi” tersebut, maka akan merugikan bagi tumbuhan karena dapat membatasi efisiensi fotosintesis.

Kondisi lingkungan berupa intensitas cahaya dan suhu yang tinggi pada altitud rendah juga dapat membatasi efisiensi fotosintesis melalui beberapa mekanisme. Wimalasekera (2019) menjelaskan bahwa, intensitas cahaya yang lebih tinggi berarti lebih banyak paket cahaya yang disebut "foton" yang mengenai daun. Ketika intensitas cahaya meningkat mengenai daun, laju fotosintesis akan meningkat karena ada lebih banyak cahaya yang tersedia untuk mendorong reaksi fotosintesis. Namun, begitu intensitas cahaya cukup tinggi, laju tidak akan meningkat lagi karena akan ada faktor lain yang membatasi laju fotosintesis. Faktor pembatas dapat berupa jumlah molekul klorofil yang menyerap cahaya. Intensitas cahaya yang terlalu tinggi dapat menyebabkan adanya fotooksidasi klorofil yang berlangsung cepat sehingga mendegradasi klorofil. Hal tersebut dibuktikan dengan daun *C. odorata* menguning (Gambar 4.1) pada altitud rendah yang menunjukkan jumlah klorofil yang rendah, sehingga menjadi faktor pembatas laju fotosintesis.

Penelitian Li (2012) menemukan bahwa, peningkatan intensitas cahaya menyebabkan inaktivasi fotosistem yang lebih parah ketika daun mengalami dehidrasi. Sedangkan penurunan aktivitas fotosistem II (PSII) yang lebih besar terutama disebabkan oleh fotoinhibisi langsung oleh cahaya. Penurunan aktivitas fotosistem I (PSI) terutama merupakan hasil dari peningkatan kehilangan air dari

daun di bawah pencahayaan intens yang lebih tinggi. Fenomena ini menunjukkan bahwa cahaya memainkan peran yang berbeda dalam kerusakan situs yang berbeda dalam fotosistem selama dehidrasi daun di bawah cahaya tinggi.

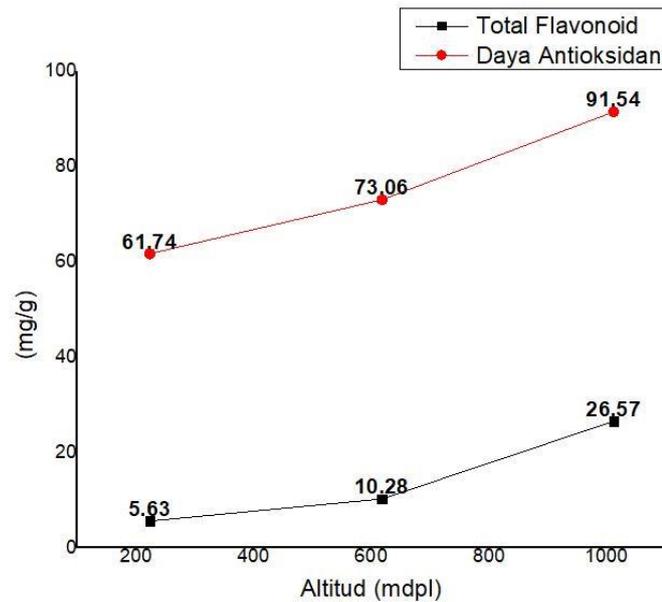
Sedangkan suhu yang tinggi, sampai batas maksimal, berpotensi menghambat reaksi metabolisme dalam pembentukan flavonoid. Kecepatan reaksi sangat dipengaruhi oleh suhu, biasanya semakin tinggi suhu maka reaksi semakin cepat sampai pada ambang tertentu. Akan tetapi hubungan suhu dan reaksi biokimia yang berlangsung dalam tumbuhan jarang berhubungan langsung karena adanya faktor lain yang rumit. Misalnya, hasil akhir yang dihasilkan seperti gula dapat menumpuk dan memblokir reaksi selanjutnya. Dalam beberapa reaksi, ketersediaan unsur hara juga dapat menjadi faktor pembatas (Harjadi, 2019).

Intensitas cahaya dan suhu yang tinggi menyebabkan kelembaban udara berkurang, sehingga proses respirasi berlangsung lebih cepat menyebabkan daun cenderung kehilangan air. Oleh karena itu, fotosintesis yang diatur merupakan hasil interaksi antara kekeringan dan cahaya yang berlebihan atau dalam kondisi stres ganda. Suhu dan intensitas cahaya yang tinggi dapat menyebabkan dehidrasi jaringan daun karena peningkatan penguapan, serta cahaya yang tinggi menyebabkan fotoinhibisi yang secara langsung dapat diinduksi oleh absorbansi energi cahaya berlebih tersebut. Keduanya berpotensi mengurangi produksi fotosintesis pada tumbuhan (Haryanti, 2010, Ping, 2015). Fakta tersebut menjelaskan fenomena dalam penelitian ini, yaitu walaupun intensitas cahaya paling tinggi pada altitud rendah tetapi daun *C. odorata* pada altitud rendah menghasilkan total flavonoid terkecil akibat penghambatan fotosintesis dalam menghasilkan metabolit. Namun disisi lain, intensitas cahaya yang terlalu rendah

juga akan membatasi fotosintesis dan menyebabkan cadangan makanan cenderung lebih banyak dipakai daripada disimpan (Haryanti, 2010). Hal tersebut memungkinkan dapat terjadi pada altitud yang sangat tinggi (<1200 mdpl). Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih lanjut dengan menambah ketinggian lokasi tumbuh *C. odorata*.

4.2 Pengaruh Ketinggian terhadap Daya Antioksidan Daun *C. odorata*

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa ketinggian atau altitud berpengaruh pada daya antioksidan kandungan metabolit daun *C. odorata*. Terdapat perbedaan secara signifikan (*Asymp. sign.* 0,027<0,05) daya antioksidan daun *C. odorata* pada setiap ketinggian. Tabel 4.1 menunjukkan perbedaan daya antioksidan daun *C. odorata* pada setiap ketinggian. Daya antioksidan daun *C. odorata* meningkat secara eksponensial ($R^2= 0,993$) terhadap kategori altitud. Daya antioksidan terbesar berasal dari altitud tinggi ($91,54\pm 0,817$ mg QE/g), diikuti altitud sedang ($73,06\pm 0,97$ mg QE/g) dan rendah ($61,74\pm 0,59$ mg QE/g). Perbedaan Daya antioksidan daun *C. odorata* tersebut dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder, yaitu dalam penelitian ini adalah flavonoid. Kandungan total flavonoid daun *C. odorata* terbukti berpengaruh secara signifikan ($P(0,00)<0,05$) terhadap daya antioksidan, yaitu daya antioksidan daun *C. odorata* meningkat seiring dengan kandungan flavonoid yang dimiliki. Hubungan tersebut ditampilkan secara sederhana pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Grafik total flavonoid dan daya antioksidan daun *C. odorata*

Daya antioksidan diartikan sebagai kapasitas reduksi senyawa metabolit terhadap radikal bebas. Pada penelitian ini digunakan reagen kompleks Fe^{3+} -TPTZ, mewakili senyawa oksidator sebagai radikal bebas. Senyawa fenolik dianggap sebagai komponen antioksidan paling penting dari bahan tumbuhan karena terdapat korelasi positif antara senyawa fenolik tumbuhan dengan kapasitas antioksidan total terhadap radikal bebas. Radikal bebas berperan penting dalam menyebabkan banyak penyakit, baik penyakit kronik maupun degeneratif termasuk penuaan, jantung koroner, inflamasi, stroke, diabetes militus, dan kanker. Oleh karena itu obat alternatif berbasis tumbuhan dikembangkan karena dianggap lebih layak dan aman dibandingkan dengan produk sintetis (Pellegrini, 2000).

Potensi antioksidan dalam tumbuhan menjadi dasar pengembangan obat berbasis tumbuhan yang dimanfaatkan untuk kebutuhan preventif maupun kuratif suatu penyakit. Manfaat pada tumbuhan ini telah diisyaratkan oleh Allah Subhanahu wa ta'ala dalam Al-Qur'an Surah Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi sebagai berikut:

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

Artinya: “Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami telah menumbuhkan di sana segala jenis (tanaman) yang tumbuh baik?” (QS: Asy-Syu‘ara [26]: 7).

Pada ayat di atas, menurut tafsir Al Qurthubi ada tiga kata yang ditekankan yaitu kata يَرَوْا yang artinya memperhatikan, زَوْجٍ yang artinya tumbuh-tumbuhan (berpasangan) dan كَرِيمٍ yang artinya baik dan mulia (Al-Qurtubi, 2009). Shihab (2002) menjelaskan, kata كَرِيمٍ pada akhir ayat antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya berupa kebaikan dan kemuliaan, yaitu dalam konteks ayat ini segala jenis tumbuhan yang ada. Tumbuh-tumbuhan yang baik dapat diartikan sebagai tumbuhan yang hidup subur serta memiliki berbagai manfaat didalamnya, seperti *C. odorata* yang dibahas dalam penelitian ini.

Berdasarkan penelitian terdahulu, secara *in vitro*, daun *C. odorata* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Daun *C. odorata* dilaporkan mengandung senyawa fenolik total tinggi, termasuk flavonoid, yang mampu menghambat dan meredam radikal bebas untuk menghentikan reaksi berantai radikal bebas dan bertindak sebagai agen pereduksi. Senyawa fenolik tersebut terutama bertanggung jawab atas potensi antioksidan tumbuhan (Rao, 2010; Solihah, 2020). Hasil pemeriksaan daya antioksidan dalam penelitian ini selaras dengan penelitian sebelumnya, yaitu terbukti adanya hubungan antara total flavonoid *C. odorata* dengan potensi reduksinya. Krishanti (2010) menemukan bahwa *C. odorata* jumlah total flavonoid ($62,83 \pm 0,30$ mg/mL CE) dalam ekstrak daun tumbuhan berkorelasi langsung dengan aktivitas antioksidannya, ditemukan memiliki kapasitas reduksi sebesar $10,39 \pm 0,03$ μ g/mL AAE. Sedangkan Oso (2019) mengungkapkan kapasitas reduksi

C. odorata sebesar 921,67 mg/100g. Kapasitas reduksi menjadi indikator penting dari potensi aktivitas antioksidan, dan hal ini didasarkan pada kemampuan senyawa mengubah Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} .

Pemeriksaan kandungan senyawa fenolik, yaitu fenol dan flavonoid, menjadi salah satu dasar dalam pengujian aktivitas antioksidan. Hal tersebut karena diketahui bahwa senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung gugus OH yang terikat pada cincin aromatik yang dapat menangkal radikal bebas sehingga lebih stabil. Radikal bebas sendiri diartikan sebagai merupakan senyawa kimia yang memiliki elektron bebas atau elektron tidak berpasangan yang bersifat tidak stabil sehingga mudah berikatan dengan molekul lain dan membentuk reaksi yang tidak diinginkan (Maulida, 2019; Nurulita, 2019).

Gugus hidroksil fungsional dalam flavonoid memediasi efek antioksidannya dengan menangkap radikal bebas dan/atau dengan mengkelat ion logam (Fe). Flavonoid berperan sebagai sistem pertahanan antioksidan sekunder pada jaringan tumbuhan yang terpapar cekaman abiotik dan biotik yang berbeda. Flavonoid terletak di inti sel mesofil dan di dalam pusat generasi ROS (Kumar, 2013). Flavonoid telah dianggap sebagai sistem *ROS scavenger* sekunder pada tumbuhan yang mengalami kerusakan pada aparatus fotosintesis, akibat energi eksitasi yang berlebihan. Flavonoid juga memiliki peran dalam mengais $^1\text{O}_2$ dan mengurangi kerusakan yang terjadi pada selubung luar membran kloroplas (Das, 2014). Diketahui juga bahwa senyawa fenolik (flavonoid dan fenol) telah terlibat dalam metabolisme antioksidan dan aktivitas pemulungan oksida nitrat (NO) (Bhargava, 2013).

Aktivitas reduksi flavonoid pada tumbuhan juga hampir sama dengan peroksidase kelas III, yaitu dapat mereduksi H_2O_2 , sedangkan asam askorbat berfungsi terutama untuk mendaur ulang radikal flavonoid ke bentuk tereduksinya. Terdapat bukti tentang re-distribusi besar kumpulan askorbat ke kompartemen vakuolar di bawah cahaya berlebih yang menyebabkan stres. Flavonoid mesofil dapat secara efektif mengurangi H_2O_2 yang keluar dari kloroplas, ketika kumpulan antioksidan kloroplas habis sebagai akibat dari kelebihan cahaya yang parah. Peran kunci tak terduga dari vakuola dalam homeostasis ROS yang memungkinkan dimediasi oleh flavonoid. Terdapat kisaran konsentrasi H_2O_2 yang sangat kecil sebagai ancaman bagi sel, termasuk kematian sel terprogram, atau sebagai molekul pemberi sinyal yang bertanggung jawab untuk meningkatkan toleransi, dan flavonoid dapat memainkan peran fungsional untuk menjaga konsentrasi H_2O_2 pada tingkat yang aman atau normal (Fini, 2011). Dari penjelasan diatas diketahui bahwa total flavonoid pada metabolit sekunder berbanding lurus dengan potensi daya reduksinya, seperti pada penelitian ini, yaitu semakin tinggi total flavonoid daun *C. odorata* maka besar pula daya antioksidan yang dimiliki (Gambar 4.8).

Bila ditinjau kembali hasil yang ditampilkan pada Gambar 4.8, diketahui bahwa total flavonoid jauh lebih kecil dibanding dengan potensi reduksi (daya antioksidan) pada daun *C. odorata*. Oleh karena itu dapat diasumsikan bahwa aktivitas antioksidan pada daun *C. odorata* dipengaruhi juga oleh senyawa metabolit selain flavonoid. Telah disinggung sebelumnya bahwa, potensi antioksidan tidak seluruhnya berasal dari flavonoid, namun dari beberapa senyawa yang terkandung dalam daun *C. odorata* seperti fenol, alkaloid, tannin, saponin, terpenoid dan lainnya (Akinmoladun, 2007). Diketahui juga bahwa kandungan

senyawa fenolik yang melimpah pada *C. odorata* setelah flavonoid adalah fenol (Gultom, 2020). Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi potensi antioksidan pada setiap senyawa metabolit sekunder daun *C. odorata*.

Melalui penelitian ini, seluruh penjelasan yang telah diutarakan dapat diketahui bahwa Allah Subhanahu wa ta'ala menciptakan segala sesuatu disertai dengan alasan dan manfaat didalamnya, tidak ada sesuatu hal yang sia-sia pada yang terjadi ataupun yang ada di alam ini. Tanda-tanda tersebut ditunjukkan bagi makhlukNya yang mau berfikir, meneliti serta mengambil hikmah didalamnya. Allah Subhanahu wa ta'ala berfirman dalam surah Al-Mulk ayat 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Mahasuci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka.” (Ali-Imran [3]: 191).

Shihab (2002) dalam Kitab Al-Misbah menjelaskan bahwa, ayat diatas menerangkan sebagian ciri-ciri kaum Ulul Albab, yaitu orang-orang yang senantiasa berdzikir kepada Allah Subhanahu wa ta'ala dalam kondisi apapun, serta bertafakur tentang ciptaanNya, yakni pada segala kejadian dan sistem kerja alam lalu berkesimpulan bahwa “tidaklah Allah Subhanahu wa ta'ala menciptakan alam raya dan segala isinya ini dengan sia-sia, tanpa tujuan yang hak”. Sedangkan menurut pandangan Sayyid Qutub (2001) pada kitab Tafsir Fil Dzilalil Qur’an, konteks Ulul Albab di dalam Al-Quran surat Ali-Imron Ayat 191 menggambarkan secara cermat tahap-tahap gerakan jiwa yang ditumbuhkan oleh pandangan terhadap fenomena-fenomena Alam. Pada saat yang sama merupakan

penggambaran inspiratif, yang mengalihkan hati kepada metode yang benar dalam berinteraksi dengan alam dan menangkap isyarat-isyarat didalamnya. Konteks ini juga menjadikan alam yang terbuka ini sebagai kitab atau sumber pengetahuan bagi manusia mu'min yang bersambung dengan Allah Subhanahu wa ta'ala dan segala sesuatu yang diciptakanNya. Menggabungkan antara perenungan tentang makhluk ciptaan Allah Subhanahu wa ta'ala dan ibadah kepadaNya dengan perenungan (tadabbur) terhadap ciptaanNya, sehingga perenungan ini bernilai ibadah dan menjadikanya sebagai bagian dari manifestasi dzikir kepada Allah Subhanahu wa ta'ala.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ketinggian lokasi tumbuh berpengaruh terhadap kadar total flavonoid daun *Chromolaena odorata*. Total flavonoid daun *C. odorata* meningkat secara eksponensial seiring bertambahnya ketinggian, dipengaruhi secara nyata oleh faktor lingkungan (intensitas cahaya, suhu) dan sifat morfologi-anatomi daun (warna daun, luas daun, ketebalan daun, kerapatan stomata).
2. Ketinggian lokasi tumbuh berpengaruh terhadap daya antioksidan daun *Chromolaena odorata*. Daya antioksidan daun *C. odorata* meningkat secara eksponensial seiring bertambahnya ketinggian, dipengaruhi secara nyata oleh kadar flavonoid total daun.

5.2 Saran

Berdasarkan analisis dari penelitian dapat dikemukakan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan pengamatan terhadap efisiensi fotosintesis sebagai parameter pendukung untuk menjelaskan perbedaan total flavonoid.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambahkan variasi ketinggian atau altitud.

3. Perlu dilakukan penelitian lebih kompleks dengan menentukan beberapa lokasi yang berbeda pada ketinggian yang sama, agar data yang didapatkan lebih valid.

DAFTAR PUSTAKA

- Akinlabi, A. A., M. A. Jimoh & S. A. Saheed. 2014. Effects of Altitudinal Gradients on Morphoanatomical Characters of *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson. *FUTA Journal of Research in Sciences*. 2: 150-156.
- Akinmoladun, Afolabi C., E.O. Ibukun & I.A. Dan-Ologe. 2007. Phytochemical Constituents and Antioxidant Properties of Extracts from The Leaves of *Chromolaena odorata*. *Scientific Research and Essay*. 2(6): 191-194. doi: <https://www.researchgate.net/publication/228340591>
- Alam, T. 2014. Optimasi Pengelolaan Sistem Agroforestri Cengkih, Kakao dan Kapulaga di Pegunungan Menoreh. *Tesis*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Alara, Oluwaseun Ruth., Abdurahman Hamid Nour and Siti Kholijah Abdul Mudalip. 2019. Screening of Microwave-Assisted-Batch Extraction Parameters for Recovering Total Phenolic and Flavonoid Contents from *Chromolaena odorata* Leaves Through Two-Level Factorial Design. *Indones. J. Chem.* 19(2). DOI: 10.22146/ijc.40863
- Alponsin., Tesri Maideliza & Zozy Aneloi Noli. 2017. Studi Anatomi Daun Cantigi (*Vaccinium korinchense* Ridl.) Pada Altitud Berbeda Di Gunung Talang. *Jurnal Metamorfosa*. 4(1): 114-121.
- Al-Qurtubi, Imam Syaikh. 2009. *Tafsir Al Qurthubi*. Jakarta Selatan: Pustaka Azzam.
- Amaliah, Ulfah Nur Amalia., Eva Johannes, Munif S. Hassan & Elis Tambaru. 2019. The Use Extract of Siam Leaf *Eupatorium odoratum* L. as Alternative Material In Lowering Blood Glucose. *International Journal of Applied Biology*. 3(1).
- Aminah, Nurhayati Tomayahu, dan Zainal Abidin. 2017. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* mill.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Fitomarka Indonesia*. 4(2). DOI: <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.265>
- Ance, Paulina Erlianda. Sumi Wijaya, Henry Kurnia Setiawan. 2018. Standarisasi dari Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dan Simplisia Kering dari Tiga Daerah yang Berbeda. *Journal Of Pharmacy Science And Practice*. 5(2).
- Anggraito, Ulung. Susanti. Retno Sri Iswari. Ari Yuniastuti. 2018. *Metabolit Sekunder Dari Tanaman: Aplikasi dan Produksi*. Semarang. Universitas Negeri Semarang
- Arifin, Bustanul and Sanusi Ibrahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1).
- Ayoola, G. A., Folawewo, A. D., Adesegun, S. A., Abioro, O. O., Adepoju-Bello, A. A. and Coker, H. A. B. 2008. Phytochemical and Antioxidant Screening of Some Plants of Apocynaceae From South West Nigeria. *African Journal of Plant Science*. 2(9):124-128.
- Aziz, Nur Amirah., Mashani Mohamad, Hannis Fadzillah Mohsin, Nurul Aqmar, Mohamad Nor Hazalin, Khuriah Abdul Hamid. 2020. The Pharmacological

- Properties and Medicinal Potential of *Chromolaena odorata*: A Review. *International Journal of Pharmaceuticals, Nutraceuticals and Cosmetic Science*. 2:30-41.
- Badri, Solihah, Indah, dan Helina. 2019. Uji Aktivitas Anti Hiperlipidemia Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* linn.) Terhadap Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. *Undergraduate thesis*. Universitas Sriwijaya.
- Banjarnahor, Nurlina., Kanang Setyo Hindarto & Fahrurrozi. 2018. Hubungan Kelerengan Dengan Kadar Air Tanah, pH Tanah, Dan Penampilan Jeruk Gerga Di Kabupaten Lebong. *JUPI*. 20 (1): 13-18.
- Benzie, Iris F. F. and J. J. Strain. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry* . 239, 70–76
- Bhargava D., Mondal C. K., Shivapuri J. N., Mondal S. & Kar S. 2013. Antioxidant Properties of the Leaves of *Chromolaena odorata* Linn. *Journal of Institute of Medicine*. 35: 53-56.
- BMKG. 2022. Indeks Sinar Ultraviolet (UV). *Online*. Diakses pada tanggal 25 Maret 2022 <https://www.bmkg.go.id/>
- Budiono, Ruly., Dini Sugiarti, Mohamad Nurzaman, Tia Setiawati, Titin Supriatun, & Asep Zainal Mutaqi. 2016. Kerapatan Stomata Dan Kadar Klorofil Tumbuhan *Clausena excavata* Berdasarkan Perbedaan Intensitas Cahaya. *Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek; Universitas Padjajaran*.
- Cakraborty A K, Rambhade S and Patil U K 2011 *Chromolaena odorata* (L.) : An Overview. *Journal of Pharmacy Research*. 4(3) pp 573-576.
- Chen, X.W., Liu, Y.X., Liu, H.M., Wang, H., Yang, D.L. & Huangfu, C.H. 2015. Impacts of Four Invasive Asteraceae on Soil Physico-Chemical Properties and AM Fungi Community. *American Journal of Plant Sciences*, 6, 2734-2743. doi: <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.617274>
- Cheng, Jim J. I., Yuan-He Y. A. N. G., Wen-Xuan H. A. N., Yan-Fang H. E., Smith J., Smith P. 2014. Climatic and Edaphic Controls on Soil pH in Alpine Grasslands on the Tibetan Plateau, China: A Quantitative Analysis. *Pedosphere*. 4(1): 39–44.
- Chuyong, George B., Isaac Duah & Kwabena Darkwa. 2019. The Morphometric Evidence and Antifungal Activity of *Chromolaena odorata* in Western Cameroon. *Journal Of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. doi: <https://doi.org/10.1080/10496475.2019.1636335>
- Chytry, M., Danihelka J., Ermakov N., Ha'jek M., Ha'jkova' P., Koč'ı M. 2007. Plant Species Richness in Continental Southern Siberia: Effects of pH and Climate in the Context of The Species Pool Hypothesis. *Global Ecology and Biogeography*. 16(5): 668–678.
- Clarkson, Priscilla M. dan Heather S. Thompson. 2000. Antioxidants: What Role Do They Play In Physical Activity And Health. *Am J Clin Nutr*. 72.
- Corradini, Eleonora., Patrizia Fogliaa; Piero Giansantia; Riccardo Gubbiottia; Roberto Samperia, Aldo Laganà. 2011. Flavonoids: Chemical Properties And Analytical Methodologies of Identification And Quantitation In Foods And Plants. *Natural Product Research*. 25(5). DOI:

- 10.1080/14786419.2010.482054.
- Das, Kaushik & Aryadeep Roychoudhury. 2014. Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as ROS-Scavengers During Environmental Stress in Plants. *Env. Sci.* 2(53). doi: 10.3389/fenvs.2014.00053
- Dharmadewi, A. A. Istri Mirah. 2020. Analisis Kandungan Klorofil Pada Beberapa Jenis Sayuran Hijau Sebagai Alternatif Bahan Dasar Food Suplement. *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains.* 9(2). doi: 10.5281/zenodo.4299383
- Djumali & Mulyaningsih, S. 2014. Pengaruh Kelembaban Tanah terhadap Karakter Agronomi, Hasil Rajangan Kering dan Kadar Nikotin Tembakau (*Nicotiana tabacum* L: Solanaceae) Temanggung pada Tiga Jenis Tanah. Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat. *Berita Biologi.* Malang.
- Dwidjoseputro, D. 1992. *Penghantar Fisiologi Tumbuhan.* Jakarta; Erlangga.
- Endarini, Lully Hanni. 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia.* Pusdik SDM Kesehatan.
- Ergina. Siti Nuryanti. Indarini Dwi Puspitasari. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia.* 3(3).
- Fajrina, A. 2012. Analisis kemungkinan hybrid alami antara *Anaphalis longifolia* Blume exDC. Dengan *A. javanica* (DC) Sch.Bip. (Asteraceae) berdasarkan karakter anatomi dan molekuler. *Tesis.* Padang: Universitas Andalas.
- Fauzan, Apriadi. 2015. Tumbuh-tumbuhan dan Buah-buahan dalam Al-Qur'an" , *Skripsi,* UIN Sunan Kalijaga.
- Fini, Alessio, Cecilia Brunetti, Martina Di Ferdinando, Francesco Ferrini & Massimiliano Tattin. 2011. Stress-Induced Flavonoid Biosynthesis and The Antioxidant Machinery of Plants. *Plant Signaling & Behavior.* 6(5): 709-711. doi: 10.4161/psb.6.5.15069
- Fita, Rissa. 2018. Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus.* 1.
- Flieger, Jolanta., Wojciech Flieger, Jacek Baj and Ryszard Maciejewski. 2021. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for The Synthesis of Nanoparticles. *Materials.* 14. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Fuadi, Muhammad Ali. 2016. Ayat-Ayat Pertanian Dalam Al-Qur'an (Studi Analisis Terhadap Penafsiran Thanthawi Jauhari dalam Kitab Al-Jawāhir fī Tafsīr Al-Qur'an Al-Karīm). *Skripsi.* Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang.
- Gogahu, Yelni., Nio Song Ai & Parluhutan Siahaan. 2016. Konsentrasi Klorofil pada Beberapa Varietas Tanaman Puring (*Codiaeum variegatum* L.). *Jurnal Mipa UNSRAT.* 5(2): 76-80.
- Gregoriou, K., Pentikis K. & Vemmos K. 2007, Effects of Reduced Irradiance on Leaf Morphology, Photosynthetic Capacity, and Fruit Yield in Olive (*Olea europaea* L.). *Photosynthetica.* 45(2): 172-181.
- Gultom, Endang Sulistyarini., Mutiara Sakinah & Uswatun Hasanah. 2020. Eksplorasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Kirinyuh (*Chromolaena*

- odorata*) dengan GC-MS. *Jurnal Biosains*. 6(1). doi: <https://doi.org/10.24114/jbio.v6i1.16450>
- Guo, R., Yuan G. & Wang Q. 2011. Effect of Sucrose and Mannitol on The Accumulation of Health-Promoting Compounds and The Activity of Metabolic Enzymes in Broccoli Sprouts. *Sci. Hortic*. 128:159–165.
- Guslim. 2007. *Agroklimatologi*. USU Press, Medan.
- Hadiyanti, Nugraheni., Supriyadi dan Pardono. 2018. Keragaman Beberapa Tumbuhan Ciplukan (*Physalis* spp.) di Lereng Gunung Kelud, Jawa Timur. *Berita Biologi: Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. 17(2). DOI: 10.14203/beritabiologi.v17i2.3238
- Halvorsen, B.L., Holte, Kari., Myhrstad, Mari C. W., Barikmo, I., Hvattum Erlend, Remberg Siv Fagertun, Wold Anne-Brit, Haffner Karin, Baugerød Halvard, Andersen Lene Frost, Moskaug Jan, Jacobs David R, Blomhoff Rune .2002. A Systematic Screening of Total Antioxidant in Dietary Plants. *Journal of Nutrition*.
- Hanphakphoom. Srisuda., Suchada Thophon, Piyaporn Waranusantigul, Niwat Kangwanransan & Sukhumaporn Krajangsang. 2016. Antimicrobial Activity of *Chromolaena odorata* Extracts Against Bacterial Human Skin Infections. *Modern Applied Science*. 10(2). Doi: 10.5539/mas.v10n2p159
- Harjadi, Sri Setyati. 2019. *Dasar-Dasar Agronomi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Haryanti, Sri. 2010. Pengaruh Naungan yang Berbeda Terhadap Jumlah Stomata dan Ukuran Porus Stomata Daun *Zephyranthes Rosea* Lindl. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 18(1).
- Hazmi, Muhammad., Meni Sari & Oktarina. 2020. Identifikasi Jenis Gulma Dari Empat Lokasi Pertanaman Jagung di Kabupaten Jember. *Agritrop*. 18(1).
- Hernández, Carmen N. & Karo Michaelian. 2010. Transpiration in Plants: A Thermodynamic Imperative. *Nature Precedings*. doi: 10.1111/pce.12857
- Hickey, Hannah. 2021. Thicker-Leaved Plants May Thrive Due to Climate Change, Which May Help Temper Climate Change's Effects. Article University of Washington (online). Diakses pada tanggal 30 Maret 2022 <https://pcc.uw.edu/blog/2021/04/06/thicker-leaved-plants-may-thrive-due-to-climate-change-which-may-help-temper-climate-changes-effects/>
- Hill, Kathryn E., Greg R. Guerin, Robert S. Hill & Jennifer R. Watling. 2014. Temperature Influences Stomatal Density and Maximum Potential Water Loss Through Stomata of *Dodonaea viscosa* subsp. *angustissima* Along A Latitude Gradient in Southern Australia. *Australian Journal of Botany*. 62: 657–665. doi: <http://dx.doi.org/10.1071/BT14204>
- Holil, Kholil. & Tias Pramesti Griana. 2020. Analisis Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Metode DPPH. *J. Islamic Pharm*. 5(1).
- Hovenden, M. J. & Vander, S. J. 2006. The Response of Leaf Morphology to Irradiance Depends on Altitude of Origin in *Nothofagus cunninghamii*. *New Phytologist*. 169: 291–297. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01585.x>

- Hu, Shanshan., Yanfei Ding & Cheng Zhu. 2020. Sensitivity and Responses of Chloroplasts to Heat Stress in Plants. *Front. Plant Sci.* 11: 375. doi: 10.3389/fpls.2020.00375
- Ibnu Katsir. 2013. *Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'I.
- Ibrahim, Mohd Hafiz., Hawa Z.E. Jaafar, Asmah Rahmat & Zaharah Abdul Rahman. 2011. Effects of Nitrogen Fertilization on Synthesis of Primary and Secondary Metabolites in Three Varieties of Kacip Fatimah (*Labisia Pumila* Blume). *Int. J. Mol. Sci.* 12: 5238-5254. doi:10.3390/ijms12085238
- Ikhimioya, I. 2003. Acceptability of Selected Common Shrubs/Tree Leaves in Nigeria by West African Dwarf Goats. *Departement of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ambrose Alli University, Ekpoma, Nigeria.*
- Inya-agma, Stella., O. Oguntimein, A. Sofowora, dan T. V. Benjamin. 2008. Phytochemical and Antibacterial Studies on The Essential Oil of *Eupatorium odoratum*. *Pharmaceutical Biology.* 25(1). DOI: 10.3109/13880208709060911
- Istiawan, Nugraha Dewa & Dody Kastono. 2019. Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh terhadap Hasil dan Kualitas Minyak Cengkih (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry.) di Kecamatan Samigaluh, Kulon Progo. *Vegetalika.* 8(1).
- Istiningrum, Reni Banowati. 2013. Analysis of Total Antioxidant Capacity on Ingredients of Lotek Menu by Ferric Reducing Antioxidant Power Assay. *Eksakta.* 13(1).
- ITIS .2020 . *Integrated Taxonomic Information System*. Diakses pada tanggal 10 November 2021.
- Izza, Faizatul & Ainun Nikmati Laily. 2015. Karakteristik Stomata Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dan Hubungannya dengan Transpirasi Tanaman di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam.*
- Jain, Chitra. SHivani Khatana. Rekha Vijayvergia. 2019. Bioactivity of Secondary Metabolites of Various Plants: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 10(2).
- Julianto, Tatang Shabur. 2019. *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Karyati, Rani Octaviani Putri, dan Muhammad Syafrudin. 2018. Suhu dan Kelembaban Tanah Pada Lahan Revegetasi Pasca Tambang di Pt Adimitra Baratama Nusantara, Provinsi Kalimantan Timur. *Jurnal AGRIFOR.* 12(1).
- Katuuk, Rino H.H., Sesilia A. Wanget, dan Pemmy Tumewu. 2018. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado.*
- Keiller, Don & M. G. Holmes. 2001. Effects of Long-Term Exposure to Elevated UV-B Radiation On The Photosynthetic Performance of Five Broad-Leaved Tree Species. *Photosynthesis Research.* 67 (3):229-40. doi: 10.1023/A:1010620228989

- Kidd, P. S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Gunse, B., and Barcelo, J. 2001. The Role of Root Exudates In Aluminium Resistance And Siliconinduced Amelioration of Aluminium Toxicity in Three Varieties of Maize (*Zea mays* L.). *J. Exp.* 52:1339–1352.
- Kim, Sooh., Jungyeon Kim, Nahyun Kim, Dongho Lee, Hojung Lee, Dong-Yup Lee & Kyoung Heon Kim. 2020. Metabolomic Elucidation of the Effect of Sucrose on the Secondary Metabolite Profiles in *Melissa officinalis* by Ultraperformance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *ACS Omega*. 5: 33186–33195.
- Kisman, Nurul Khumaida, Trikoesoemaningtyas, Sobir, & Didy Sopandie. 2007. Karakter Morfo-Fisiologi Daun, Penciri Adaptasi Kedelai terhadap Intensitas Cahaya Rendah. *Bul. Agron.* 35(2): 96 – 102.
- Kofidis., G. & A. M. Bosabalidis. 2008. Effects of Altitude and Season on Glandular Hairs and Leaf Structural Traits of *Nepeta nuda* L. *Botanical Studies*. 49: 363-372.
- Kouwenberg, Lenny L. R. 2007. Stomatal Frequency Change Over Altitudinal Gradients: Prospects for Paleoaltimetry. *Mineralogy & Geochemistry*. 66: 215-241. doi: 10.2138/rmg.2007.66.9
- Krishanti, Melinda P., Xavier Rathinam, Marimuthu Kasi, Diwakar Ayyalu, Ramanathan Surash, Kathiresan Sadasivam & Sreeramanan Subramaniam. 2010. A Comparative Study on The Antioxidant Activity of Methanolic Leaf Extracts of *Ficus regiliosa* L., *Chromolaena odorata* (L.) King & Rabinson, *Cynodon dactylon* (L.) Pers. and *Tridax procumbens* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 348-350.
- Kumar, Shashank. & Abhay K. Pandey. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>
- Kusuma, Pebrianti. 2012. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Daya Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L). *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
- Leigh, A., Sevanto, S., Close, J. D., & Nicotra, A. B. (2017). The Influence of Leaf Size and Shape on Leaf Thermal Dynamics: Does Theory Hold Up Under Natural Conditions?. *Plant Cell Environ.* 40: 237–248. doi: 10.1111/pce.12857
- Leksikowati, S. S., & Oktaviani, I. 2020. Etnobotani Tumbuhan Obat Masyarakat Lokal Suku Lampung di Kabupaten Lampung Barat. *Jurnal Biologica Samudra*. 2(1): 35–53.
- Li Y., He N., Hou J., Xu L., Liu C., Zhang J., Wang Q., Zhang X. & Wu X. 2018. Factors Influencing Leaf Chlorophyll Content in Natural Forests at the Biome Scale. *Front. Ecol. Evol.* 6:64. doi: 10.3389/fevo.2018.00064
- Li, Aimin., Shenghua Li, Xianjin Wu, Jian Zhang, Anna He, Guang Zhao & Xu Yang. 2016. Effect of Light Intensity on Leaf Photosynthetic Characteristics and Accumulation of Flavonoids in *Lithocarpus litseifolius* (Hance) Chun. (Fagaceae). *Open J For.* 6: 445-59
- Li, P. & Ma F. Different Effects of Light Irradiation on the Photosynthetic Electron Transport Chain During Apple Tree Leaf Dehydration. 2012. *Plant Physiol Biochem.* 55:16-22. doi: 10.1016/j.plaphy.2012.03.007.

- Liu, Wensheng., Li Zheng, Danhui Qi. 2020. Variation in Leaf Traits at Different Altitudes Reflects The Adaptive Strategy of Plants To Environmental Changes. *Ecology and Evolution*. 10: 8166–8175. DOI: 10.1002/ece3.6519
- Ma J., Ji C., Han M., Zhang T, Yan X, Hu D, Zeng H & He J. 2012. Comparative Analyses of Leaf Anatomy of Dicotyledonous Species in Tibetan and Inner Mongolian Grasslands. *Sci. China Life. Sci.* 55(1):68-79. doi: 10.1007/s11427-012-4268-0.
- Macedo A. F., Leal-Costa M V, Tavares E S, Lage C L S, Esquibel M A. 2011. The Effect of Light Quality on Leaf Production and Development of In Vitro-Cultured Plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. *Environmental and Experimental Botany*. 70: 43–50.
- Manolopoulou, E. & T. Varzakas. 2016. Effect of Temperature in Color Changes of Green Vegetables. *Curr. Res. Nutr Food Sci Jour.* 1: 10-17. doi: <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.4.Special-Issue-October.02>
- María L. Falcone Ferreyra., Sebastián P. Rius & Paula Casati. 2012. Flavonoids: Biosynthesis, Biological Functions, and Biotechnological Applications. *Frontiers in Plant Science*. 3.
- María, L. Falcone Ferreyra., Sebastián P. Rius and Paula Casati. 2012. Flavonoids: Biosynthesis, Biological Functions, and Biotechnological Applications. *Frontiers in Plant Science*. 3.
- Mariska, I. 2013. Metabolit Sekunder: Jalur Pembentukan dan Kegunaannya. <http://biogen.litbang.pertanian.go.id/?p=56130>. Diakses tanggal 6 Desember 2021.
- Maryam, St., Baits, M dan Ainun, N. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Menggunakan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2 (2).
- Maulida, Putri Anni, Devi Anggraini Putri & Sri Fatmawati. 2019. Free Radical Scavenging Activity of *Chromolaena odorata* L. Leaves. *The Journal for Technology and Science*. 30(3): 2088-2033.
- Mercyana Marantika, A. Hiariej, D. E. Sahertian. 2021. Kerapatan dan Distribusi Stomata Daun Spesies Mangrove di Desa Negeri Lama Kota Ambon. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 12(1):1-6.
- Michaletz, Sean T., Michael D. Weiser, Nate G. McDowell, Jizhong Zhou^{4,5,6}, Michael Kaspari, Brent R. Helliker & Brian J. Enquist. 2016. The Energetic and Carbon Economic Origins of Leaf Thermoregulation. *Nature Plants*. doi: 10.1038/NPLANTS.2016.129
- Minarno, Eko Budi. 2015. Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavanoid Pada Buah *Carica pubescens* Lenne & K. Koch di Kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng. *El-Hayah*. 5(2).
- Mott Keith A. (2009) Opinion: Stomatal Responses to Light and CO₂ Depend on The Mesophyll. *Plant Cell and Environment*. 32: 1479-1486.
- Muchtadi, Deddy. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung: Alfabeta.
- Muftikah, Dewi Muniroh. 2019. Tumbuhan Obat Perspektif Al-Qur'an (Kajian Tafsir Sains *Al-Jawāhir Fī Tafsir Al-Qur'an Al-Karīm*). *Skripsi*. IAIN Salatiga.

- Munadiah. 2017. Penentuan Kadar Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan Metode DPPH, Cuprac dan FRAP. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Muniappan, R., G.V.P. Reddy, and Po-Yung L. 2005. Distribution and Biological Control of *Chromolaena odorata*. *Invasive Plants: Ecological and Agricultural Aspect*. pp. 223-233.
- Munteanu, I.G. and Apetrei, C. 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 22:3380. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nagata, N., Tanaka, R., Satoh, S., & Tanaka, A. 2005. Identification of a Vinyl Reductase Gene for Chlorophyll Synthesis in *Arabidopsis thaliana* and Implications for The Evolution of Prochlorococcus species. *Plant Cell*. 17: 233-240. doi: 10.1105/tpc.104.027276
- National Geographic. 2022. Altitude : Altitude, Like Elevation, IS the Distance Above Sea Level. *National Geographic Encyclopedic Entry* (online). Diakses pada tanggal 15 April 2020 <https://www.nationalgeographic.org/encyclopedia/altitude/>
- Ngozi, Igboh M. Ikewuchi C. Jude and C. Catherine, 2009. Chemical Profile of *Chromolaena odorata* L. (King and Robinson) Leaves. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8:521-524. DOI: 10.3923/pjn.2009.521.524.
- Nur, Syamsu., Fitriyanti Jumaetri Sami, Wilda R., Akbar Awaluddin, Mutiara Indah Ayu Afsari. 2019. Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika*. 5(1). DOI : 10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12034
- Nurulita, Luthfiana Munandika., Slamet & Nurul Aktifah. 2019. Uji Perbandingan Aktivitas Antioksidan Partisi N-Heksan, Metanol, Dan Ekstrak Etanol Biji Mentimun (*Cucumis sativus* L.) dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Universitas Muhammadiyah Pekalongan*.
- Nurwahyuni, Isnaini. 2016. *Penuntun Praktikum Fisiologi Tumbuhan*. Departemen Universitas Sumatra Utara.
- Omokhua, A.G. 2015, Phytochemical and Pharmacological Investigations of Invasive *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae), *Thesis*. Agriculture, Engineering, and Science University of KwaZulu-Natal: South Africa
- Oso, Babatunde Joseph., Nosarieme Abey, Moses Oyedotun Oyeleke & Boyede Olowookere. 2019. Comparative Study of the in vitro Antioxidant Properties of Methanolic Extracts of *Chromolaena odorata* and *Ageratum conyzoides* use in Wound Healing. *International Annals of Science*. 6(1): 8-12. doi: <https://doi.org/10.21467/ias.6.1.8-12>
- Paiman. 2020. *Gulma Tanaman Pangan*. Yogyakarta: UPY Press.
- Pan, Junjian & Boulian Guo. 2016. Effects of Light Intensity On The Growth, Photosynthetic Characteristics, and Flavonoid Content of *Epimedium pseudowushanense* B.L. Guo. *Molecules*. 21: 1475.

- Pandith H, Zhang X, Liggett J, Min KW, Gritsanapan W, Baek SJ. 2013. Hemostatic and Wound Healing Properties Of *Chromolaena Odorata* Leaf Extract. *ISRN Dermatol*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/168269>
- Pasya, A. F. 2004. *Dimensi Sains dan Al-Qur'an Menggali Ilmu Pengetahuan dari Al-Qur'an*. Solo: Penerbit Tiga Serangkai.
- Pauli, D., White J. W., Andrade-Sanchez P., Conley M. M., Heun J., Thorp K. R., French A. N., Hunsaker D. J., Carmo-Silva E., Wang G. & Gore M. A. 2017. Investigation of the Influence of Leaf Thickness on Canopy Reflectance and Physiological Traits in Upland and Pima Cotton Populations. *Front. Plant Sci.* 8: 1405. doi: 10.3389/fpls.2017.01405
- Pellegrini, Nicoletta., Paolo Simonetti, Claudio Gardana, Oreste Brenna, Furio Brighenti & Piergiorgio Pietta. 2000. Polyphenol Content and Total Antioxidant Activity of *Vini Novelli* (Young Red Wines). *J. Agric. Food Chem.* 48(3): 732–735. doi: <https://doi.org/10.1021/jf990251v>
- Petrussa, Petrusa., Enrico Braidot, Marco Zancani, Carlo Peresson, Alberto Bertolini, Sonia Patui and Angelo Vianello. 2013. Plant Flavonoids; Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses. *International Journal of Molecular Sciences.* 14. doi:10.3390/ijms140714950
- Ping, Ma., Bai Tuan-hui, Wang Xiao-qian & Ma Feng-wang. 2015. Effects of Light Intensity on Photosynthesis and Photoprotective Mechanisms in Apple Under Progressive Drought. *Journal of Integrative Agriculture.* 14(9): 1755–1766. doi: 10.1016/S2095-3119(15)61148-0
- Pisoschil, M. G.P. Negulescu. 2011. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochem & Anal Biochem.* 1(1);1-10.
- Pisutthanan, N., B. Liawruangrath, S. Liawruangrath & J. B. Bremner. 2006. A New Flavonoid from *Chromolaena odorata*. *Natural Product Research.* 20(13).
- Poulson, Mary E., Maria Regina Torres Boeger & Raymon A. Donahue. 2006. Response of Photosynthesis to High Light and Drought for *Arabidopsis thaliana* Grown Under a UV-B Enhanced Light Regime. *Photosynth Res.* 90: 79–90. doi: 10.1007/s11120-006-9116-2
- Pratama, Andi Jaya & Ainun Nikmati Laily. 2015. Analisis Kandungan Klorofil Gandasuli (*Hedychium gardnerianum* Shephard ex Ker-Gawl) pada Tiga Daerah Perkembangan Daun yang Berbeda. *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam.*
- Pratiwi, Anjani Chintya. 2020. Perbandingan Kadar Flavonoid Total dan Fenolik Total Pada Ekstrak Etanol Bunga Rosella Merah (*Hibiscuss sabdariffa* L.) Asal Kabupaten Bengkulu Tengah dan Kabupaten Semarang Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi.* Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.
- Prawiradiputra, B. R. 2007. Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob), Gulma Padang Rumput yang Merugikan. *Jurnal Wartazoa.* 17(1).
- Pridatama, Yolanda. 2021. Studi Komparatif Metode DPPH dan FRAP Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Telur Keong Mas (*Pomaceae cannaliculata*). *Jurnal Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Riau Pekanbaru.*

- Putri, Bella Febryskhia., Yulian Fakhurrozi, Sri Rahayu. 2018. Pengaruh Perbedaan Jenis Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Setek *Hoya coronaria* Berbunga Kuning Dari Kawasan Hutan Kerangas Air Anyir, Bangka. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. 3(1).
- Rahayu, M. U., & Ustiami, H. I. R. 2017. Etnobotani Masyarakat Samawa Pulau Sumbawa. *Scripta Biologica*. 4:235–245.
- Ramakrishna, Akula dan Gokare Aswathanarayana Ravishankar. 2011. Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites In Plants. *Journal Plant Signaling & Behavior*. 6(11).
- Rao, K. Srinivasa., Pradeep Kumar Chaudhury & Anshuman Pradhan. 2010. Evaluation of Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of *Chromolaena odorata*. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 729–732. doi:10.1016/j.fct.2009.12.005
- Rezai, Sedigheh., Nematollah Etemadi, Ali Nikbakht, Mostafa Yousefi, & Mohamad Mahdi Majidi. 2018. Effect of Light Intensity on Leaf Morphology, Photosynthetic Capacity, and Chlorophyll Content in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Horticultural Science and Technology*. 36(1): 46-57.
- Roni, Ni Gusti Ketut. 2015. Bahan Ajar: Tanah Sebagai Media Tumbuh. *Diktat*. Fakultas Peternakan Universitas Udayana.
- Safrina, Devi dan Wahyu Joko Priyambodob. 2018. Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh dan Pengeringan terhadap Flavonoid Total Sambang Colok (*Iresine herbstii*). *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*. 15(3).
- Sakoda, K., Yamori W., Shimada T., Sugano S. S., Hara-Nishimura I. & Tanaka Y. 2020. Higher Stomatal Density Improves Photosynthetic Induction and Biomass Production in Arabidopsis Under Fluctuating Light. *Front. Plant Sci*. 11: 589603. doi: 10.3389/fpls.2020.589603
- Salisbury, F. B. & Cleon W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Bandung:Penerbit ITB.
- Sansena, Mona Anju., Rida Oktorida K., dan Indria Wahyuni. 2018. *Ensiklopedia Tanaman Pangan dan Obat: Berbasis Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati di Masyarakat Adat Baduy Dalam*. Banten: FKIP Untirta Publishing.
- Saputri, Dwijowati Asih., Marlina Kamelia, Shinta Almayra, Siti Fatayati. 2019. Perubahan Anatomi dan Morfologi Daun Kedelai (*Glysin max* l. (merril), dan Alang-Alang (*Imperata cylindrica* l.) yang Tumbuh Di Tempat Terbuka dan Ternaungi. *Jurnal Bioedukasi*. 10(1).
- Sari, R. H. N., & Prayitno, B. 2020. Tumbuhan Berkhasiat Obat Pada Masyarakat Daerah Desa Bumi Asih Kabupaten Kotabaru Rini. *Jurnal Pendidikan Hayati*. 6(4):189–193.
- Savitri, Evika Sandi, Kholifah Holil & Ruri Siti Resmisari. 2019. Effect of Extraction Solvent on Total Phenol, Total Flavonoid Content and Antioxidant Activities of Extract Plants *Punica granatum*, *Vitis vinifera* L, *Ficus carica* L. and *Olea europea*. *International Conference on Biology and Applied Science (ICOBAS)*. Doi: <https://doi.org/10.1063/1.5115638>

- Sayyid Qutub. 2001. *Tafsir Fi Dhilalil Quran*. Jakarta: Gema Insani Press
- Setiawati, T, A. Ayalla, M. Nurzaman & A. Z Mutaqin. 2018. Influence of Light Intensity on Leaf Photosynthetic Traits and Alkaloid Content of Kiasahan (*Tetracera scandens* L.). *Earth and Environmental Science*. 166. doi :10.1088/1755-1315/166/1/012025
- Setyanti, Y. H., S. Anwar & W. Slamet. 2013. Karakteristik Fotosintetik dan Serapan Fosfor Hijauan Alfalfa (*Medicago sativa*) pada Tinggi Pemotongan dan Pemupukan Nitrogen Yang Berbeda. *Animal Agriculture Journal*. 2(1): 86-96.
- Shahidi, F. and Zhong, Y. 2011. Revisiting the Polar Paradox Theory: A Critical Overview. *J. Agric. Food Chem*. 59:3499–3504.
- Shao, Q, H. Wang, & H. Guo. 2014. Effects of Shade Treatments on Photosynthetic Characteristics Chloroplast Ultrastructure and Physiology of *Anoectochylus roxburgii*. *PLoS ONE*. 9(2).
- Sharkey TD. Transpiration-Induced Changes in the Photosynthetic Capacity of Leaves. 1984. *Planta*. 160(2): 143-50. doi: 10.1007/BF00392862.
- Shengxin C, Chunxia L, Xuyang Y, Song C, Xuelei J, Xiaoying L, Zhigang X and Rongzhan G (2016) Morphological, Photosynthetic, and Physiological Responses of Rapeseed Leaf to Different Combinations of Red and Blue Lights at the Rosette Stage. *Front. Plant Sci*. 7: 1144. doi: 10.3389/fpls.2016.01144
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shin, Hak Ki., J. Heinrich Lieth & Soo-Hyung Kim. 2001. Effects Of Temperature On Leaf Area and Flower Size in Rose. *Acta Hort*. 547.
- Sipayung, A., R. Desmier de Chenon & P.S. Sudharto. 1991. Observation on *C. odorata* (L.) R.M. King and H. Robinson in Indonesia. *BIOTROP Spec*. 44:43-49.
- Sirinthipaporn, Anushika and Wannee Jiraungkoorskul. 2017. Wound Healing Property Review of Siam Weed, *Chromolaena odorata*. *Pharmacognosy Reviews*. 11. Issue 21.
- Soegianto, Agoes. 2019. Kandungan Fenolik dan Flavonoid Daun Kenikir dari Habitat dengan Berbagai Ketinggian. *Cakrawala UNAIR News*. <http://news.unair.ac.id/2019/09/10/kandungan-fenolik-dan-flavonoid-daun-kenikir-dari-habitat-dengan-berbagai-ketinggian/> Diakses pada tanggal 23 Oktober 2021.
- Solihah, Indah., Herlina, Inayatul Munawwaroh & Riana Sari Puspita Rasyid. 2020. In vivo study of the antioxidant test of ethanolic extract of *Chromolaena odorata* Linn. leaves. *Medisains*. 18(3): 86-92. doi: https://doi.org/10.30595/medisains.v18i3.8307
- Song-Lin, Fei., Fang Jing-Yun, Fan Yong-Jun, Zhao Kun, Liu Xue-Jiao & Cui Ke Ming. 1999. Anatomical Characteristics of Leaves and Woods of *Fagus lucida* and Their Relationship to Ecological Factors in Mountain Fanjingshan, Guizhou, China. *J. Integr. Plant Biol*. 41(9).
- Sugiyanto, 2013. Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*), Gulma Dengan Banyak Potensi Manfaat. Kementerian Pertanian. Direktorat Jenderal Perkebunan

- (Online) (<http://ditjenbun.pertanian.go.id/>), diakses 7 Desember 2021.
- Suharti, Tati. 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Anugrah Utama Raharja: Lampung.
- Suliani. 2021. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi N-Heksana Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga*.
- Suryaningsih, Martin Joni, A.A Ketut Darmadi. 2011. Inventarisasi Gulma Pada Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) di Lahan Sawah Kelurahan Padang Galak, Denpasar Timur, Kodya Denpasar, Provinsi Bali. *Jurnal Simbiosis*. 1(1) : 1-8.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Thamrin, M., S. Asikin, Mukhlis, dan A. Budiman. 2007. *Potensi Ekstrak Flora Lahan Rawa Sebagai Pestisida Organik*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian Bogor. 23 – 31p.
- Thoma, Felix., Annette Somborn-Schulz, Dennis Schlehner, Volkmar Keuter dan Göрге Deerberg. 2020. Effects of Light on Secondary Metabolites in Selected Leafy Greens: A Review. *Front. Plant Sci*. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00497>
- Tihurua, Eka Fatmawati, Esthi Liani Agustiani & Kusuma Rahmawati. 2020. Karakter Anatomi Daun sebagai Bentuk Adaptasi Tumbuhan Penyusun Zonasi *Mangrove* di Banggai Kepulauan, Provinsi Sulawesi Tengah. *Jurnal Kelautan Tropis*. 23(2): 255-264
- Tjitrosoedirdjo, S., S.S. Tjitrosoedirdjo & R.C. Umaly. 1991. The Status of *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King and H. Robinson in Indonesia. *BIOTROP Spec*. 44:57-66.
- Tungmunnithum, Duangjai., Areeya Thongboonyou, Apinan Pholboon and Aujana Yangsabai. 2018. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*. 5(93). Doi:10.3390
- Underwood & Day, JR. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Terjemahan Sopyan Lis dkk. Erlangga. Jakarta.
- Utami, Sri., Murningsih, & Fuad Muhammad. 2020. Keanekaragaman dan Dominansi Jenis Tumbuhan Gulma Pada Perkebunan Kopi di Hutan Wisata Nglimut Kendal Jawa Tengah. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 18: 411-416.
- Utami. 2018. Pengaruh Cahaya Terhadap Pertumbuhan Tanaman (Suatu Kajian Pustaka). *Fakultas Pertanian Universitas Udayana*.
- 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*). *Jurnal Bioma*. 22(2).
- Vaisakh, M. N. and Anima Pandey. 2012. The Invasive Weed With Healing

- Properties: A Review On *Chromolaena Odorata*. *IJPSR*. 3(1).
- Verpoorte, R. & A W Alfermann. 2000. Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. *Springer*. ISBN 978-0-7923-6360-6
- Vijayaraghavan, Kavitha., Johanna Rajkumar, Syed Nasir Abbas Bukhari. Badr Al-Sayed, Mohammed Ali Seyed. 2017. *Chromolaena odorata*: A neglected weed with a wide spectrum of pharmacological activities (Review). *Molecular Medicine Report*. 15(3).
- Volkenburgh, E. Van. 2002. Leaf Expansion—an Integrating Plant Behaviour. *Plant, Cell and Environment*. 22: 1463–1473. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1999.00514.x>
- Wang, C., He J., Zhao T-H, Cao Y., Wang G., Sun B., Yan X., Guo W. & Li M-H. 2019. The Smaller the Leaf Is, the Faster the Leaf Water Loses in a Temperate Forest. *Front. Plant Sci*. 10: 58. doi: 10.3389/fpls.2019.00058
- Wang, Ruili., Guirui Yu, Nianpeng He, Qiufeng Wang, Fucai Xia, Ning Zhao, Zhiwei Xu & Jianping Ge. 2014. Elevation-Related Variation in Leaf Stomatal Traits as a Function of Plant Functional Type: Evidence from Changbai Mountain, China. *Plos One*. 9(12): e115395. doi: 10.1371/journal.pone.0115395
- Weston E, Thorogood K, Vinti G & López-Juez E. 2000. Light Quantity Controls Leaf-Cell and Chloroplast Development in Arabidopsis Thaliana Wild Type and Blue-Light-Perception Mutants. *Planta*, 211, 807–815.
- Winarsi, 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wiraatmaja, I Wayan. 2017. Bahan Ajar Cara Tanaman Beradaptasi Terhadap Cekaman Fisiologis. *Diklat*. Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian UNUD.
- Wright, I. J., Dong N., Maire V., Prentice I. C., Westoby M. & Díaz S. 2017. Global Climatic Drivers of Leaf Size. *J. Science*. 357: 917–921. doi: 10.1126/science.aal4760
- Xie, Yu., Jinbo Zhang, Lei Meng, Christoph Müller & Zucong Ca. 2015. Variations of Soil N Transformation and N₂O Emissions in Tropical Secondary Forests Along an Aridity Gradient. *J. Soils Sediments*. doi: 10.1007/s11368-015-1121-7.
- Xu-yang, Yao., Liu Xiao-ying, Xu Zhi-gang & Jiao Xue-lei. 2017. Effects of Light Intensity on Leaf Microstructure and Growth of Rape Seedlings Cultivated Under A Combination Of Red and Blue LEDs. *Journal of Integrative Agriculture*. 16(1): 97-105.
- Yan, Bo & Ying Hou. 2018. Effect of Soil Magnesium on Plants: a Review. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*. 170: 022168. doi :10.1088/1755-1315/170/2/022168
- Yuliani, Fida Rachmadiarti, Sari Kusuma Dewi, Mahanani Tri Asri and Agoes Soegianto. 2019. Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Elephantopus scaber* and *Ageratum conyzoides* (Asteraceae) Leaves Extracts From Various Altitude Habitats. *Eco. Env. & Cons*. 25.
- Yunita, Erma, Deni Yulianto, Siti Fatimah, Tirsia Firanita. 2020. Validation of UV-Vis Spectrophotometric Method of Quercetin in Ethanol Extract of

- Tamarind Leaf. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*. Doi: 10.18196/jfaps.010102.
- Yusriadi, A. Ahmad , N. Khaerah, R. Arfah, A. Karim dan H. Karim. 2019. Isolation, Characterization And Anticancer Potential Test of Crude Extract of L-asparaginase Enzyme From Siam Weed Leaf (*Chromolaena odorata* Linn): A Novel Source. *Journal of Physics: Conference Series*. Doi:10.1088/1742-6596/1341/3/032016
- Yustiningsih, Maria. 2019. Intensitas Cahaya dan Efisiensi Fotosintesis pada Tanaman Naungan dan Tanaman Terpapar Cahaya Langsung. *Jurnal BIOEDU*. 4(2).
- Zachariades, C., M. Day, R. Muniappan, & G.V.P. Reddy. 2009. *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson (Asteraceae). *Biological Control of Tropical Weeds using Arthropods*. Cambridge University Press.
- Zahara, Meutia. 2019. Description of *Chromolaena odorata* L. R.M King and H. Robinson as Medicinal Plant: A Review. *The Electrochemical Society*.
- Zenrif, MF. dan Erna Susanti. 2014. Al-Qur'an dan Sains (Bukti Kebenaran Dalam Kasus Propolis Madu). *Khazanah*. 12(1).
- Zha L., Liu W., Zhang Y., Zhou C. and Shao M. 2019. Morphological and Physiological Stress Responses of Lettuce to Different Intensities of Continuous Light. *Front. Plant Sci*. 10: 1440. doi: 10.3389/fpls.2019.01440
- Zhang Y-Y, Wu W, Liu H. 2019. Factors Affecting Variations of Soil pH in Different Horizons in Hilly Regions. *PLoS ONE*. 14(6). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218563>
- Zhang, Huihui., Haixiu Zhong, Jifeng Wang, Xin Sui & Nan Xu. 2016. Adaptive Changes in Chlorophyll Content and Photosynthetic Features to Low Light in *Physocarpus amurensis* Maxim and *Physocarpus opulifolius* "Diabolo". *PeerJ*. doi: 10.7717/peerj.2125
- Zwieniecki, M. A. & Jensen, K. H. 2013. Physical Limits To Leaf Size IN Tall Trees. *Physical. Rev. Lett*. 110, 1–5. doi: 10.1103/PhysRevLett.110.018104

Lampiran 1. Dokumentasi tumbuhan *C. odorata* pada setiap ketinggian



Gambar 1. Tumbuhan *C. odorata* altitud rendah

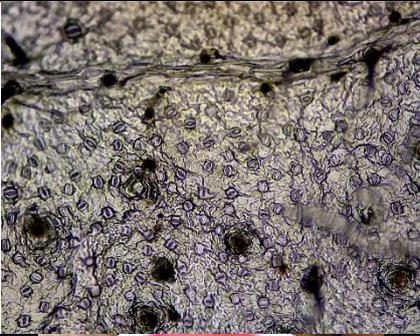


Gambar 2. Tumbuhan *C. odorata* altitud sedang

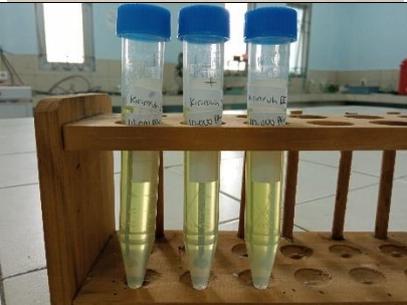


Gambar 3. Tumbuhan *C. odorata* altitud tinggi

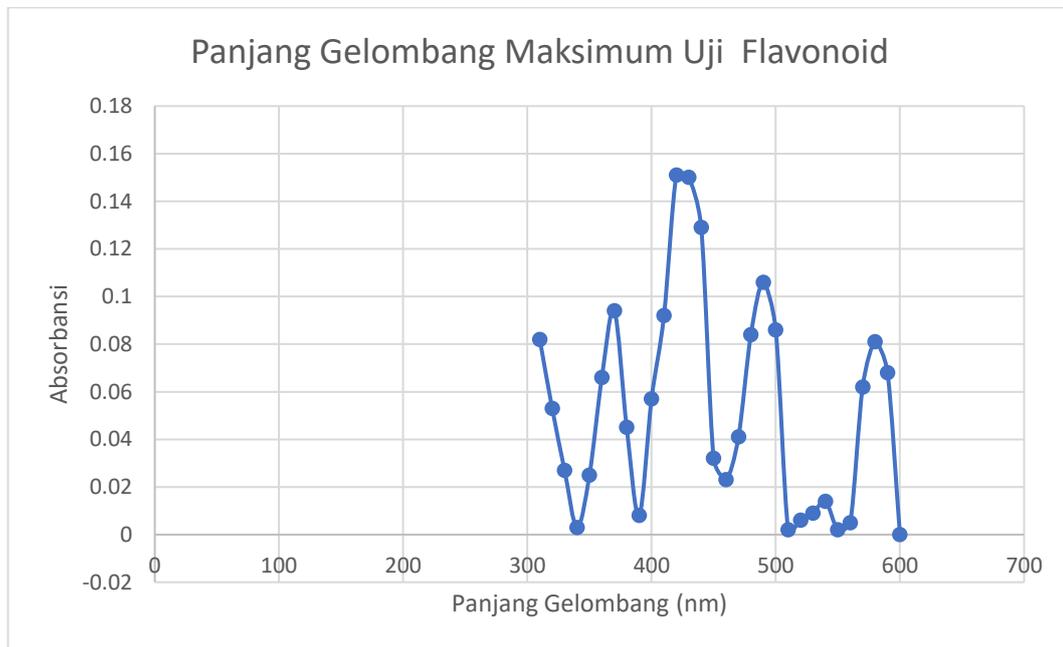
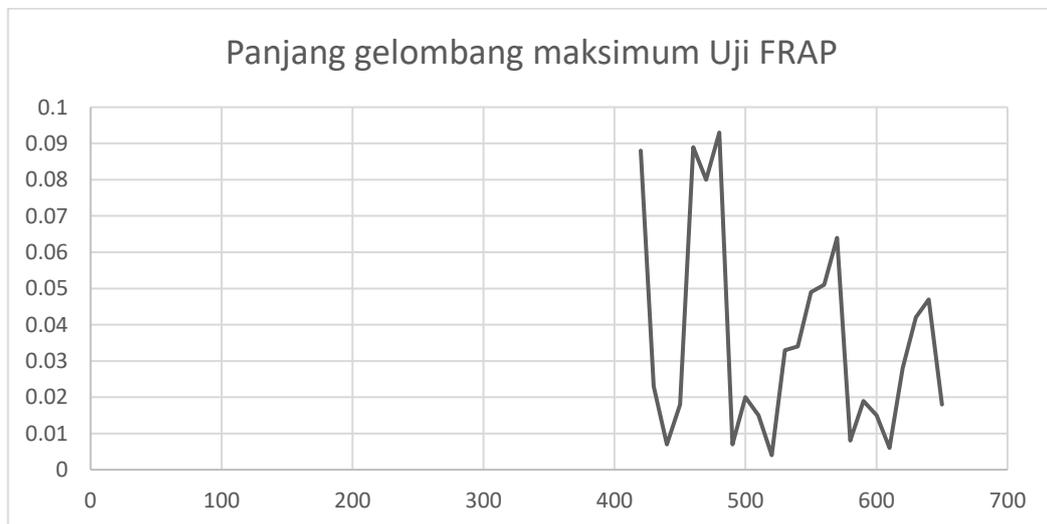
Lampiran 2 Dokumentasi langkah kerja

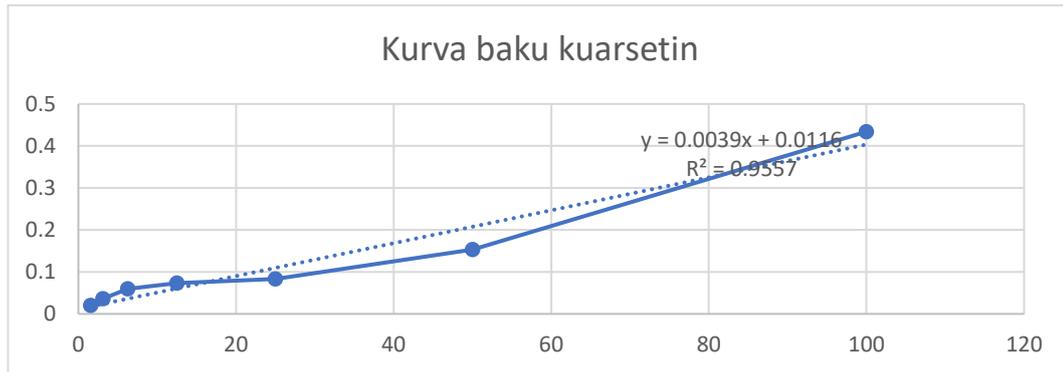
No	Gambar	Keterangan
1		Pengambilan sampel
2		Pengecekan faktor lingkungan
3		Perhitungan ketebalan daun
4		Perhitungan kerapatan stomata
5		Pencucian sampel

6		Pengovenan simplisia dengan suhu 55 °C selama 48 jam
7		Penyerbukan Simplisia
8		Maserasi
9		Evaporasi menggunakan <i>vaccum rotatory evaporator</i>
10		Ekstrak daun <i>C. odorata</i>

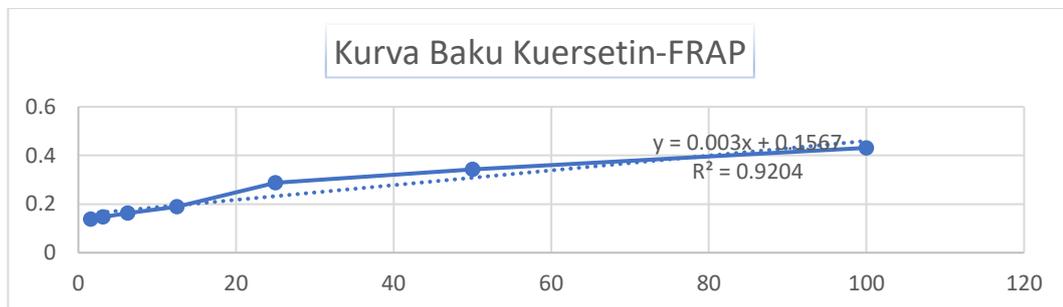
11		Uji fitokimia flavonoid: positif
12		Pembuatan reagen untuk perhitungan total flavonoid
13		Pembuatan baku kuarsetin
14		Pengenceran ekstrak sampel
15		Perhitungan absorbansi total flavonoid

16		Pembuatan reagen untuk perhitungan daya antioksidan
17		Pencampuran sampel dengan reagen FRAP
18		Perhitungan absorbansi daya antioksidan

Lampiran 3 Kurva Baku**Gambar 1.** Panjang gelombang maksimum uji total flavonoid**Gambar 2.** Panjang gelombang maksimum uji total flavonoid



Gambar 3. Kurva baku kuarsetin total flavonoid



Gambar 4. Kurva baku kuarsetin-FRAP daya antioksidan

Lampiran 4 Analisis Statistik Parameter

Tabel 1. Analisis Kruskal Wallis Total Flavonoid

Test Statistics^{a,b}

Total Flavonoid	
Kruskal-Wallis H	7.261
df	2
Asymp. Sig.	.027

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Sampel

Tabel 2. Analisis Kruskal Wallis Daya Antioksidan

Test Statistics^{a,b}

Daya Antioksidan	
Kruskal-Wallis H	7.261
df	2
Asymp. Sig.	.027

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Sampel

Tabel 3. Analisis Korelasi Sifat Morfologi-Anatomi Daun *C. odorata* dengan
Ketinggian tempat

	<i>Asal</i>	<i>luas Daun (cm2)</i>
Asal	1	
luas Daun (cm2)	0.764151776	1
	<i>Ketinggian (mdpl)</i>	<i>Ketebalan (mikrometer)</i>
Ketinggian (mdpl)	1	
Ketebalan (mikrometer)	0.955896434	1
	<i>Ketinggian (mdpl)</i>	<i>Kerapatan Stomata</i>
Ketinggian (mdpl)	1	
Kerapatan Stomata	-0.882823251	1

Tabel 4. Analisis Regresi Suhu X Luas Daun

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1079.872	1	1079.872	5.746	.048 ^o
	Residual	1315.538	7	187.934		
	Total	2395.410	8			

a. Dependent Variable: Luas Daun

b. Predictors: (Constant), Suhu

Tabel 5. Analisis Regresi Intensitas Cahaya X Luas Daun

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1323.964	1	1323.964	8.650	.022 ^b
	Residual	1071.446	7	153.064		
	Total	2395.410	8			

a. Dependent Variable: Luas Daun

b. Predictors: (Constant), Intensitas Cahaya

Tabel 6. Analisis Regresi Suhu X Ketebalan Daun

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	45285.392	1	45285.392	25.201	.002 ^b
	Residual	12578.631	7	1796.947		
	Total	57864.023	8			

a. Dependent Variable: Ketebalan Daun

b. Predictors: (Constant), Suhu

Tabel 7. Analisis Regresi Intensitas Cahaya X Ketebalan Daun

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	43945.407	1	43945.407	22.101	.002 ^b
	Residual	13918.617	7	1988.374		
	Total	57864.023	8			

a. Dependent Variable: Ketebalan Daun

b. Predictors: (Constant), Intensitas Cahaya

Tabel 8. Analisis Regresi Suhu X Kerapatan Stomata

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	59697.372	1	59697.372	8.076	.025 ^b
	Residual	51744.761	7	7392.109		
	Total	111442.133	8			

a. Dependent Variable: Kerapatan Stomata

b. Predictors: (Constant), Suhu

Tabel 9. Analisis Regresi Intenistas Cahaya X Kerapatan Stomata

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	73939.626	1	73939.626	13.801	.008 ^b
	Residual	37502.507	7	5357.501		
	Total	111442.133	8			

a. Dependent Variable: Kerapatan Stomata

b. Predictors: (Constant), Intensitas Cahaya

Tabel 10. Analisis Regresi Luas Daun X Total Flavonoid

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	38912.234	1	38912.234	8.097	.025 ^b
	Residual	33642.093	7	4806.013		
	Total	72554.327	8			

a. Dependent Variable: Total Flavonoid

b. Predictors: (Constant), Luas Daun

Tabel 11. Analisis Regresi Ketebalan Daun X Total Flavonoid

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	55351.423	1	55351.423	22.523	.002 ^b
	Residual	17202.904	7	2457.558		
	Total	72554.327	8			

a. Dependent Variable: Total Flavonoid

b. Predictors: (Constant), Ketebalan Daun

Tabel 12. Analisis Regresi Kerapatan Stomata X Total Flavonoid

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	45055.746	1	45055.746	11.469	.012 ^b
	Residual	27498.580	7	3928.369		
	Total	72554.327	8			

a. Dependent Variable: Total Flavonoid

b. Predictors: (Constant), Kerapatan Stomata

Tabel 13. Analisis Regresi Total Flavonoid X Daya Antioksidan

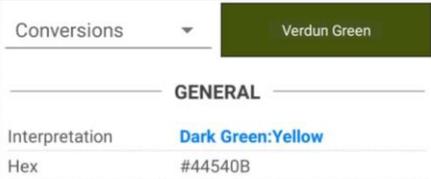
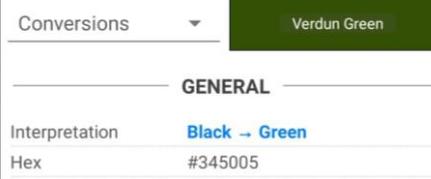
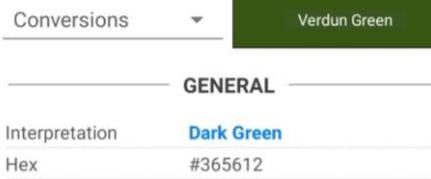
ANOVA^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	131706.425	1	131706.425	206.043	.000 ^b
	Residual	4474.527	7	639.218		
	Total	136180.952	8			

a. Dependent Variable: daya reduksi

b. Predictors: (Constant), total flavonoid

Lampiran 5 Hasil Pengukuran Warna Daun

Tabel 14. Nomer Hex warna Daun *C. odorata*

Sampel	Warna Daun	Kode Hex	Hasil pengukuran
Altitud rendah	Dark Green: Yellow (hijau gelap:kuning)	#44540B	 <p>Conversions ▼ Verdun Green</p> <p>GENERAL</p> <p>Interpretation Dark Green:Yellow</p> <p>Hex #44540B</p>
Altitud sedang	Blak green (hijau kehitaman)	#345005	 <p>Conversions ▼ Verdun Green</p> <p>GENERAL</p> <p>Interpretation Black - Green</p> <p>Hex #345005</p>
Altitud tinggi	Dark Green (hijau gelap)	#365612	 <p>Conversions ▼ Verdun Green</p> <p>GENERAL</p> <p>Interpretation Dark Green</p> <p>Hex #365612</p>

Lampiran 6 Perhitungan Parameter

1. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Tabel 15. Perhitungan absorbansi larutan baku kuersetin kadar flavonoid total pada panjang gelombang 420 nm dengan Spektrofotometri UV-Vis

Kosentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Regresi
1.5625	0.02	$y = 0.0039x + 0.0116$
3.125	0.036	
6.25	0.06	
12.5	0.073	
25	0.083	
50	0.153	
100	0.434	

Penentuan kosentrasi sampel pada tiap altitud dapat dihitung menggunakan

persamaan:

$$y = 0.0039x + 0.0116$$

$$y = \text{Absorbansi (A)}$$

$$x = \text{Kosentrasi (C)}$$

a. Kosentrasi flavonoid Altitud Rendah

$$y = 0,033 \longrightarrow y = 0,0039x + 0,0116$$

$$0,033 = 0,0039x + 0,0116$$

$$0,0039x = 0,033 - 0,0116$$

$$x = 5,49$$

b. Kosentrasi flavonoid Altitud Sedang

$$y = 0,052 \longrightarrow y = 0,0039x + 0,0116$$

$$0,052 = 0,0039x + 0,0116$$

$$0,0039x = 0,052 - 0,0116$$

$$x = 10,36$$

c. Kosentrasi flavonoid Altitud Tinggi

$$y = 0,118 \longrightarrow y = 0,0039x + 0,0116$$

$$0,118 = 0,0039x + 0,0116$$

$$0,0039x = 0,118 - 0,0116$$

$$x = 27,28$$

Penentuan kadar flavonoid total daun *C. odorata* pada tiap altitud

a. Kadar flavonoid total Altitud Rendah

$$\text{Berat sampel} = 0.097 \text{ g}$$

$$\text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) = 5,49 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Volume} = 1 \text{ ml}$$

$$fp = 100 \left(\frac{\text{volume pelarut}}{\text{volume terlarut}} \right)$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid total} &= \frac{\text{konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \\ &= \frac{5,49 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}}{0.097 \text{ g}} \times 100 \\ &= 5637,513172 \mu\text{g/g} \\ &= 5,637513172 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

b. Kadar flavonoid total Altitud Sedang

$$\text{Berat sampel} = 0,102 \text{ g}$$

$$\text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) = 10,36 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Volume} = 1 \text{ ml}$$

$$fp = 100 \left(\frac{\text{volume pelarut}}{\text{volume terlarut}} \right)$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid total} &= \frac{\text{konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \\ &= \frac{10,36 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}}{0.102 \text{ g}} \times 100 \\ &= 10122,77625 \mu\text{g/g} \\ &= 10,12277625 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

c. Kadar flavonoid total Altitud Tinggi

$$\text{Berat sampel} = 0,102 \text{ g}$$

$$\text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) = 27,28 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Volume} = 1 \text{ ml}$$

$$fp = 100 \left(\frac{\text{volume pelarut}}{\text{volume terlarut}} \right)$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid total} &= \frac{\text{konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \\ &= \frac{27,28 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}}{0.102 \text{ g}} \times 100 \end{aligned}$$

$$= 26573,42657 \mu\text{g/g}$$

$$= 26,57342657 \text{ mg/g}$$

2. Penentuan Daya Antioksidan

Tabel 16. Perhitungan absorbansi larutan baku kuersetin-TPTZ Daya Antioksidan pada panjang gelombang 480 nm dengan Spektrofotometri UV-Vis

Kosentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Regresi
1.5625	0.138	$y = 0.003x + 0.1567$
3.125	0.147	
6.25	0.163	
12.5	0.189	
25	0.287	
50	0.343	
100	0.431	

Penentuan kosentrasi daya reduksi sampel pada tiap altitud dapat dihitung menggunakan persamaan:

$$y = 0.003x + 0.1567$$

$$y = \text{Absorbansi (A)}$$

$$x = \text{Kosentrasi (C)}$$

a. Daya Reduksi Altitud Rendah

$$y = 0,336 \longrightarrow y = 0,003x + 0,1567$$

$$0,336 = 0,0039x + 0,0116$$

$$0,0039x = 0,336 - 0,0116$$

$$x = 59,77$$

b. Daya Reduksi Altitud Sedang

$$y = 0,381 \longrightarrow y = 0,003x + 0,1567$$

$$0,381 = 0,003x + 0,1567$$

$$0,003x = 0,381 - 0,1567$$

$$x = 74,77$$

c. Daya Reduksi Altitud Tinggi

$$y = 0,439 \longrightarrow y = 0,003x + 0,1567$$

$$0,439 = 0,003x + 0,1567$$

$$0,003x = 0,439 - 0,1567$$

$$x = 94,1$$

Penentuan daya antioksidan daun *C. odorata* pada tiap altitud

a. Daya Antioksidan Altitud Tinggi

$$\text{Berat sampel} = 0.097 \text{ g}$$

$$\text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) = 59,77 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Volume} = 1 \text{ ml}$$

$$fp = 100 \left(\frac{\text{volume pelarut}}{\text{volume terlarut}} \right)$$

$$\begin{aligned} \text{Daya Antioksidan} &= \frac{\text{kosentrasi } (\mu\text{g/ml}) \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \\ &= \frac{59,77 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}}{0.097 \text{ g}} \times 100 \\ &= 614041,0959 \mu\text{g/g} \\ &= 614,0410959 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

b. Daya Antioksidan Altitud Sedang

$$\text{Berat sampel} = 0,102 \text{ g}$$

$$\text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) = 74.77 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Volume} = 1 \text{ ml}$$

$$fp = 100 \left(\frac{\text{volume pelarut}}{\text{volume terlarut}} \right)$$

$$\begin{aligned} \text{Daya Antioksidan} &= \frac{\text{kosentrasi } (\mu\text{g/ml}) \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \\ &= \frac{74.77 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}}{0.102 \text{ g}} \times 100 \\ &= 730618,8925 \mu\text{g/g} \\ &= 730,6188925 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

c. Daya Antioksidan Altitud Rendah

$$\text{Berat sampel} = 0,102 \text{ g}$$

$$\text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml}) = 94,1 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Volume} = 1 \text{ ml}$$

$$fp = 100 \left(\frac{\text{volume pelarut}}{\text{volume terlarut}} \right)$$

$$\begin{aligned} \text{Daya Antioksidan} &= \frac{\text{kosentrasi } (\mu\text{g/ml}) \times \text{vol. sampel}}{\text{berat sampel}} \times fp \\ &= \frac{94,1 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}}{0.102 \text{ g}} \times 100 \end{aligned}$$

$$= 916558,4416 \mu\text{g/g}$$

$$= 916,5584416 \text{ mg/g}$$



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
 Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341)551354, Fax. (0341) 572533
 Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 18620004
 Nama : AKHMAD RUBANI
 Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
 Jurusan : BIOLOGI
 Dosen Pembimbing 1 : Kholifah Holil, M.Si
 Dosen Pembimbing 2 : MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc
 Judul Skripsi : PENGARUH KETINGGIAN LOKASI TUMBUH TERHDAP KADAR TOTAL FLAVONOID DAN DAYA ANTIOKSIDAN DAUN KIRINYUH (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob)

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	2021-09-10	Kholifah Holil, M.Si	Diskusi Perencanaan judul skripsi, dan pendalaman literatur sebagai kajian pustaka penyusunan judul skripsi.	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
2	2021-10-02	Kholifah Holil, M.Si	Penentuan judul dan pembahasan latarbelakang penelitian	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
3	2021-10-29	Kholifah Holil, M.Si	Bimbingan Bab 1	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
4	2021-11-03	Kholifah Holil, M.Si	Bimbingan lanjutan Bab 1	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi

5	2021-11-18	Kholifah Holil,M.Si	Bimbingan lanjutan Bab 1	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
6	2021-11-22	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Bimbingan Integrasi Proposal	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
7	2021-11-25	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Bimbingan lanjutan Integrasi proposal	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
8	2021-11-30	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	ACC Integrasi Proposal	2020/2021 Ganjil	Sudah Dikoreksi
9	2021-12-06	Kholifah Holil,M.Si	Bimbingan Proposal Skripsi Bab 1 & 2	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
10	2021-12-09	Kholifah Holil,M.Si	Bimbingan Proposal Skripsi Bab 1,2,3	2021/2022 Ganjil	Sudah Dikoreksi
11	2022-04-14	Kholifah Holil,M.Si	Diskusi hasil penelitian	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi
12	2022-04-18	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Bimbingan Integrasi Skripsi	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi
13	2022-04-19	Kholifah Holil,M.Si	Bimbingan Bab 4	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi
14	2022-04-20	Kholifah Holil,M.Si	Revisi Pembahasan	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi
15	2022-04-21	MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc	Revisi Integrasi Bab 4	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi
16	2022-04-22	Kholifah Holil,M.Si	Revisi lanjutan hasil dan pembahasan	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi
17	2022-04-25	Kholifah Holil,M.Si	Diskusi hasil dan pembahasan	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi
18	2022-05-11	Kholifah Holil,M.Si	Acc Bab 4 & 5	2021/2022 Genap	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Desertasi

Dosen Pembimbing 2

Malang : 20 Juni 2022
Dosen Pembimbing 1



MUJAHIDIN AHMAD, M.Sc



KHOLIFAH HOLIL, M.Si



KAJURKAPRODI,
DI. EVIKO SANTI SAVITRI, M.P.



**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@uinmalang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Akhmad Rubani

NIM : 18620004

Judul : Pengaruh Ketinggian Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Total Flavonoid dan Daya Antioksidan Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Dr. Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD. Med. Sc	23%	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi




Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002