

**PERBANDINGAN FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)
ASAL CIANJUR DAN SUMENEP**

SKRIPSI

**Oleh:
FARAH DHUHA AR-RAIHANI
NIM. 16620104**



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

**PERBANDINGAN FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)
ASAL CIANJUR DAN SUMENEP**

SKRIPSI

**Oleh:
FARAH DHUHA AR-RAIHANI
NIM. 16620104**

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

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

PERBANDINGAN FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)
ASAL CIANJUR DAN SUMENEP

SKRIPSI

Oleh:

Farah Dhuha Ar-Raihani

NIM. 16620104

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I



Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si
NIP. 19870522201802011232

Dosen Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 19890113201802011244

Tanggal,07 Juni 2022.....

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



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

**PERBANDINGAN FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)
ASAL CIANJUR DAN SUMENEP**

SKRIPSI

**Oleh:
FARAH DHUHA AR-RAIHANI
NIM. 16620104**

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana sains (S.Si)
Tanggal: 14 Juni 2022

**Penguji Utama : Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP. 19630114 199903 1 001**

()

**Ketua Penguji : Azizatur Rahmah, M.Sc
NIP. 19860930 201903 2 011**

()

**Sekretaris Penguji : Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si
NIP. 19870522 20180201 1 232**

()

**Anggota Penguji : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 19890113 20180201 1 244**

()

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi


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



HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah bini'matihi tatimmusshaliha telah selesai skripsi ini, saya berterima kasih kepada Allah *Subhanahu wa ta'ala* yang telah memberikan kemudahan dan kelancaran sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini. Semoga sholawat dan salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad *Shalallahu 'alaihi wa sallam* yang telah memberikan jalan penerangan kepada umat-Nya. Skripsi ini saya persembahkan kepada orang-orang yang berharga dalam hidup saya yang telah membantu saya melangkah hingga sejauh ini. Saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Muhammad Rofiqul Ghodiy dan Ibunda Nunuk Aristyowati selaku kedua orang tua saya yang selalu mendo'akan, memotivasi, menasihati, dan mengajarkan saya ilmu kehidupan yang sangat berharga.
2. Adik-adikku Fathi Muhammad Shalahuddin, Azzam Muhammad Al-Barra', Azka Hanin Tsabitah, dan Halwa Fathimah Az-Zahra yang selama ini menemani dan memberikan saya dukungan melalui do'a.
3. Teman-teman Biologi 16', Biologi D khususnya (Yuliana Purnamasari, Nadya Urmila, Tri Tra Ardila, Indah Suryanti, Arinda Fitriana, Qoyin Nadhori, Badruz Zaman, dan Ibrohim), KD-21, Jaisyu Qur'an (Mba Hilya dan Mufidah), sahabat (Himmatul Mufida, Magfiroh Firdausi, R. Ayu Riska Norcamalia, dan Nabilah Mursyidah) yang telah menemani melalui masa perkuliahan, memberikan kehangatan dan persahabatan, berbagi banyak waktu senang maupun duka, membantu menyelesaikan kesulitan, dan memberikan banyak kenangan indah, semoga kita bisa selalu berada disisi satu sama lain.

Jazaakumullahu khoiron, mudah-mudahan Allah selalu memberikan kalian kebaikan, kebahagiaan, dan kelapangan dalam hidup.

MOTTO

“There are always bumps on the road of youth, don’t forget the distant places you originally decided to reach because of one setback”

“If there are things that cannot be reached even on tiptoe then try to jump”

“Seek and meet Allah before seeking those who are strong, sincere, and faithful”

“Be brave, humble and happy”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Farah Dhuha Ar-Raihani
NIM : 16620104
Program studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Perbandingan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Asal Cianjur dan Sumenep

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, 14 Juni 2022

buat pernyataan,


Farah Dhuha Ar-Raihani
NIM. 16620104

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

Perbandingan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Asal Cianjur dan Sumenep

Farah Dhuha Ar Raihani, Muhammad Asmuni Hasyim, Oky Bagas Prasetyo

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

ABSTRAK

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) merupakan salah satu tumbuhan sumber antioksidan. Kabupaten Cianjur dan Sumenep memiliki faktor lingkungan tumbuh yang berbeda. Bidara mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid dan senyawa berpotensi antioksidan yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbandingan kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan daun bidara asal Cianjur dan Sumenep dengan metode kolorimetri (AlCl_3) dan DPPH yang pengukuran absorbasinya menggunakan spektrofotometer uv-vis. Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental. Hasil penelitian ini menunjukkan kadar total flavonoid tertinggi pada daun bidara asal Cianjur sebesar 1,14% (11,37 mgQE/g) sedangkan bidara asal Sumenep sebesar 0,97% (9,71 mgQE/g) dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ tertinggi berasal dari bidara Cianjur sebesar 54,37 ppm dengan kategori kuat sedangkan nilai IC₅₀ bidara Sumenep sebesar 73,55 ppm dengan kategori kuat.

Kata kunci: daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.), Cianjur, Sumenep, total flavonoid, aktivitas antioksidan

Comparison of Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Bidara Leaves Extract (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) from Cianjur and Sumenep

Farah Dhuha Ar Raihani, Muhammad Asmuni Hasyim, Oky Bagas Prasetyo

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

ABSTRACT

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) is one of the plant sources of antioxidants. Cianjur and Sumenep regencies have different environmental factors. Bidara contains phytochemical compounds such as flavonoids and antioxidant compounds that environmental factors can influence. The purpose of this research was to compare the total flavonoid content and antioxidant activity of bidara leaves from Cianjur and Sumenep with the colorimetric method (AlCl_3) and DPPH whose absorption measurements use a uv-visible spectrophotometer. This research belongs to the experimental type of research. The results of this research showed the highest total flavonoid levels in bidara leaves from Cianjur by 1.14% (11.37 mgQE/g) while bidara from Sumenep was 0.97% (9.71 mgQE/g) and antioxidant activity with the highest IC50 value came from cianjur bidara of 54.37 ppm with strong category while the IC50 value of bidara Sumenep is 73.55 ppm with a strong category.

Keyword: bidara leaves (*Ziziphus mauritiana* Lamk.), Cianjur, Sumenep, total flavonoid, antioxidant activity

ملخص البحث

مقارنة بين محتوى الفلافونويد والمضادات الاكسدة في أوراق السدر (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) من سيانجور وسومينيب

المشرف الأول : محمد أسموني هاسيم، المشرف الثاني: أوكي باغاس براسيتيو

الكلمات الرئيسية: أوراق السدر (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) ، سيانجور، سومينيب، الفلافونويد، المضادات الاكسدة

السدر (*Ziziphus mauritiana* Lamk) هي واحدة من المصادر النباتية لمضادات الأكسدة. منطقتي سيانجور وسومينيب بعوامل بيئية مختلفة. يحتوي السدر على مركبات كيميائية نباتية مثل الفلافونويد والمضادات الاكسدة التي يمكن أن تؤثر عليها العوامل البيئية. كان الغرض من هذا البحث هو مقارنة بين محتوى الفلافونويد والمضادات الاكسدة لأوراق السدر من سيانجور وسومينيب باستخدام طريقة قياس الألوان (AlCl₃) و DPPH التي تستخدم قياسات امتصاصها مقياس الطيف الضوئي (UV-Visible Spectrophotometer). ينتمي هذا البحث إلى النوع التجريبي من البحوث. أظهرت نتائج أعلى مستويات الفلافونويد الكلية في أوراق السدر من سيانجور بنسبة 1.14% (11.37 ملليغرام QE/غرام) بينما كانت السدر من سومينيب 0.97% (9.71 ملليغرام QE/غرام) والمضادات الاكسدة بأعلى قيمة IC₅₀ من السدر سيانجور 54.37 جزء في المليون (ppm) مع فئة قوية بينما تبلغ قيمة IC₅₀ السدر من سومينيب 73.55 جزء في المليون (ppm) مع فئة قوية.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmaanirrohiim, segala puji bagi Allah rabb alam semesta atas hidayah dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Perbandingan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Asal Cianjur dan Sumenep”. Shalawat dan salam kepada Nabi Muhammad *Shalallahu ‘alaihi wa sallam* yang telah menegakkan agama Islam hingga terus melekat dalam diri umat muslim hingga akhir zaman. Aamiin.

Berkat bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak maka penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A 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, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si dan Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku Pembimbing skripsi dan integrasi agama yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam mengarahkan, menasihati, memotivasi, dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. Fitriyah, M.Si selaku Konsultan skripsi yang telah meluangkan waktu dengan penuh keikhlasan dan kesabaran dalam membimbing penulis dalam penulisan tugas akhir ini.
6. Didik Wahyudi, M.Si selaku Dosen wali yang telah membimbing, memotivasi, dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.
7. Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd dan Azizatur Rahmah, M.Sc selaku Penguji yang telah memberikan saran yang membangun.
8. Seluruh Dosen dan Sivitas Akademika Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Kedua orang tua penulis Bapak Muhammad Rofiqul Ghodiy dan Ibu Nunuk Aristyowati, serta saudara dan keluarga yang senantiasa mendo’akan dan mensupport penulis dalam menuntut ilmu selama ini.
10. Teman-teman seperjuangan Biologi dan semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril dan materiil.

Jazaakumullahu khoiron, mudah-mudahan Allah memberikan balasan atas kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat.

Malang, 14 Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN..... | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iv |
| MOTTO | v |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | vi |
| HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI..... | vii |
| ABSTRAK..... | viii |
| ABSTRACT..... | ix |
| ملخص البحث..... | x |
| KATA PENGANTAR | xi |
| DAFTAR ISI..... | xii |
| DAFTAR TABEL..... | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xvi |
| DAFTAR SINGKATAN | xvii |

BAB I. PENDAHULUAN

| | |
|------------------------------|----|
| 1.1 Latar belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan masalah | 9 |
| 1.3 Tujuan penelitian | 9 |
| 1.4 Hipotesis | 10 |
| 1.5 Manfaat penelitian | 10 |
| 1.6 Batasan masalah | 11 |

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

| | |
|--------------------------------------|----|
| 2.1 Deskripsi bidara | 12 |
| 2.1.1 Klasifikasi bidara | 12 |
| 2.1.2 Nama daerah | 12 |
| 2.1.3 Morfologi bidara..... | 12 |
| 2.1.4 Ekologi bidara..... | 15 |
| 2.1.5 Kandungan tanaman bidara | 16 |
| 2.1.6 Manfaat bidara | 18 |
| 2.2 Senyawa flavonoid | 21 |
| 2.3 Biosintesis flavonoid | 25 |
| 2.4 Metode pengukuran flavonoid..... | 29 |
| 2.5 Antioksidan..... | 33 |
| 2.6 Metode DPPH..... | 39 |
| 2.7 Kuersetin..... | 43 |
| 2.8 Asam askorbat | 45 |

BAB III. METODE PENELITIAN

| | |
|---------------------------------------|----|
| 3.1 Rancangan penelitian..... | 48 |
| 3.2 Waktu dan tempat penelitian | 48 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.3 | Alat dan bahan | 48 |
| 3.3.1 | Alat | 48 |
| 3.3.2 | Bahan | 49 |
| 3.4 | Prosedur penelitian | 49 |
| 3.4.1 | Determinasi tanaman | 49 |
| 3.4.2 | Preparasi sampel | 50 |
| 3.4.3 | Ekstraksi daun bidara..... | 50 |
| 3.4.4 | Uji fitokimia flavonoid | 50 |
| 3.4.5 | Uji kadar total flavonoid..... | 51 |
| 3.4.5.1 | Pembuatan larutan $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 10% | 51 |
| 3.4.5.2 | Pembuatan larutan $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ 1M | 51 |
| 3.4.5.3 | Pengukuran larutan standar kuersetin..... | 51 |
| 3.4.5.4 | Pengukuran kadar flavonoid total dalam ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep..... | 52 |
| 3.4.6 | Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH..... | 52 |
| 3.4.6.1 | Pembuatan larutan stok DPPH 0,4 mM..... | 52 |
| 3.4.6.2 | Pembuatan larutan stok uji ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep..... | 53 |
| 3.4.6.3 | Pembuatan larutan asam askorbat (pembanding) | 53 |
| 3.4.6.4 | Pengukuran larutan asam askorbat | 53 |
| 3.4.6.5 | Pengukuran larutan kontrol | 53 |
| 3.4.6.6 | Pengukuran larutan uji ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep..... | 54 |
| 3.4.6.7 | Analisis aktivitas antioksidan | 54 |
| 3.5 | Analisis data | 55 |

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

| | | |
|-----|--|----|
| 4.1 | Hasil uji kadar flavonoid ekstrak daun bidara | 56 |
| 4.2 | Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara | 65 |
| 4.3 | Korelasi antara kadar total flavonoid dengan aktivitas antioksidan..... | 70 |
| 4.4 | Korelasi antara kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan dengan lokasi tumbuh | 71 |
| 4.5 | Integrasi Al-Qur'an..... | 73 |

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

| | | |
|-----|-----------------|----|
| 5.1 | Kesimpulan..... | 75 |
| 5.2 | Saran | 76 |

| | |
|-----------------------------|----|
| DAFTAR PUSTAKA | 77 |
|-----------------------------|----|

| | |
|-----------------------|----|
| LAMPIRAN | 89 |
|-----------------------|----|

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Kandungan tanaman bidara..... | 17 |
| 2.2 Kelebihan dan kekurangan antioksidan alami dan sintetis | 35 |
| 2.3 Klasifikasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50 | 43 |
| 4.1 Uji fitokimia flavonoid daun bidara asal Cianjur dan Sumenep | 56 |
| 4.2 Hasil penetapan kadar total flavonoid ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep..... | 61 |
| 4.3 Nilai IC50 aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara dan asam askorbat..... | 65 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Pohon <i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk..... | 13 |
| 2.2 <i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk. a. daun bidara, b. bunga bidara, c. buah dan biji bidara..... | 14 |
| 2.3 Struktur kimia flavonoid | 22 |
| 2.4 Struktur penomoran flavonoid | 22 |
| 2.5 Peran flavonoid dalam berbagai bioaktivitas, kesehatan manusia dan pertanian..... | 23 |
| 2.6 Biosintesis beberapa kelas flavonoid | 26 |
| 2.7 Biosintesis flavonoid melalui jalur sikimat..... | 26 |
| 2.8 Biosintesis flavonoid melalui jalur shikimat dan asetat..... | 27 |
| 2.9 Posisi kalkon sebagai perantara umum pertama dalam biosintesis semua kelas flavonoid | 28 |
| 2.10 Reaksi flavonoid terhadap Mg dan HCl..... | 30 |
| 2.11 Reaksi pembentukan kompleks flavonoid-aluminium klorida (AlCl ₃)..... | 32 |
| 2.12 Struktur kimia (1) radikal bebas DPPH, (2) DPPH non radikal | 40 |
| 2.13 Larutan DPPH pada absorbansi λ ₅₁₇ nm dalam pelarut metanol, etanol dan metanol terbufer | 40 |
| 2.14 Reaksi DPPH dengan antioksidan, AH=antioksidan dan R=spesies radikal..... | 41 |
| 2.15 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas | 41 |
| 2.16 Reaksi antara DPPH (radikal bebas) dan antioksidan..... | 41 |
| 2.17 Orientasi besarnya reduksi DPPH oleh gugus hidroksil | 42 |
| 2.18 Struktur kuersetin | 44 |
| 2.19 Struktur asam askorbat | 45 |
| 2.20 Asam askorbat-antioksidan dan potensi sifat prooksidan | 46 |
| 2.21 Reaksi asam askorbat dan asam isoaskorbat masing-masing mereduksi dua molekul DPPH | 47 |
| 4.1 Kurva standar kuersetin | 59 |
| 4.2 Perbandingan kadar total flavonoid ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep..... | 61 |
| 4.3 Perbandingan nilai IC ₅₀ aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara dan asam askorbat | 66 |
| 4.4 Korelasi antara kadar total flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep | 70 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| 1. Alur Penelitian | 89 |
| 2. Determinasi Tanaman | 90 |
| 3. Perhitungan, Pembuatan Reagen dan Larutan | 91 |
| 4. Pengukuran Absorbansi Larutan Uji dan Standar | 95 |
| 5. Dokumentasi | 99 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|-------------------------|---------------------------------------|
| BC | Bidara cianjur |
| BS | Bidara sumenep |
| DPPH | <i>Diphenylpicrylhidrazyl</i> |
| QE | Quersetin equivalent |
| μ l | microliter |
| ml | milliliter |
| mg | microgram |
| μ g/mL | microgram/milliliter |
| nm | nano meter |
| mM | millimolar |
| ppm | parts per million (bagian per sejuta) |
| IC50 | <i>Inhibition Concentration 50%</i> |
| $AlCl_3$ | Aluminium klorida |
| $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ | Aluminium klorida heksahidrat |
| $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ | Sodium asetat trihidrat |

BAB I PENDAHULUAN

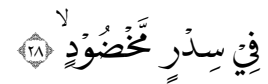
1.1 Latar belakang

Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) termasuk salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan umat Islam karena merujuk firman Allah dalam Al-Qur'an dan sabda Nabi Muhammad *Shallallahu 'alaihi wa sallam* dalam Hadits. Allah sebutkan bidara dalam Qur'an surat Saba ayat 16 dan Al-Waqi'ah ayat 28, Allah *Subhanahu wa ta'ala* berfirman:

فَاعْرَضُوا فَاَرْسَلْنَا عَلَيْهِمْ سَيْلَ الْعَرِمِ وَبَدَّلْنَاهُمْ بِجَنَّتَيْهِمْ جَنَّتَيْنِ ذَوَاتِي أُكُلٍ خَمْطٍ
وَاثِلٍ وَشَيْءٍ مِّنْ سِدْرٍ قَلِيلٍ ﴿١٦﴾

Artinya: “Akan tetapi, mereka berpaling sehingga Kami datangkan kepada mereka banjir besar dan Kami ganti kedua kebun mereka dengan dua kebun yang ditumbuhi (pohon-pohon) berbuah pahit, pohon asl (sejenis cemara) dan sedikit pohon sidr (bidara)” (QS: Saba [34]: 16).

Tafsir pada penggalan ayat “*sidrin qoliil*” dalam Tafsir Al Misbah menurut Shihab (2002) sedikit dari pohon sidr (bidara) semacam seroja yang sedikit gunanya, sedangkan dalam Tafsir Ibnu Katsir menurut Abdullah (1994) pohon sidr (bidara) yang banyak duri besar dan sedikit buahnya. Selain itu, juga dideskripsikan secara khusus dengan sifat sedikit karena buahnya bisa dimakan (Az-Zuhaili, 2018). Buah bidara yang masak dapat dimakan langsung atau direbus (Dahiru & Obidoa, 2018) sebagai salad atau acar, obat radang tenggorokan, dan batuk, serta memiliki aktivitas antihiperlipidemik, antidiare, hepatoprotektif, dan antikanker (Khoo *et al.*, 2016). Buah kering bidara yang diseduh sebagai teh bermanfaat untuk mengobati campak dan rebusan buahnya sebagai obat gangguan bronkial (asma) (Shah *et al.*, 2013).



Artinya: “(Mereka) berada di antara pohon bidara yang tidak berduri” (QS: Al-Waqi’ah [56]: 28).

Tafsir pada ayat “*fii sidrin makhdhuud*” dalam Tafsir Al Misbah menurut Shihab (2002) golongan kanan mendapat kenikmatan (di Surga) berada diantara pohon bidara yang tidak berduri atau telah dipotong durinya sehingga tidak dapat mengganggu kenyamanan penghuninya, sedangkan dalam Tafsir Ibnu Katsir menurut Abdullah (1994) pohon bidara ketika di dunia memiliki duri yang banyak dan buah yang sedikit. Namun, sebaliknya di akhirat pohon tersebut tidak berduri dan memiliki buah yang banyak. Penyebutan “sidr” (bidara) dalam ayat Qur’an di atas menunjukkan bahwa terdapat suatu hikmah dari penciptaan bidara sehingga manusia bisa mengambil manfaat melalui tanaman tersebut. Bidara memiliki manfaat dalam pengobatan fisik maupun rohani.

Para praktisi ruqyah menggunakan bidara dalam proses pengobatan rohani dari gangguan jin dan sihir. Menurut Tyassuma & Pasiak (2019) sejak zaman dahulu kaum muslim menggunakan bidara dalam proses ruqyah. Masyarakat juga menggunakan bidara untuk mengobati anemia, hipertonia, nefritis, penyakit saraf, diabetes, tekanan darah tinggi, dan berbagai bentuk peradangan. Bidara khususnya bagian daun memiliki manfaat dalam mengobati diare, abses (bisul), gonore, tekanan darah tinggi, gangguan hati, dan diabetes (Seri *et al.*, 2020).

Bidara merupakan salah satu tumbuhan berkhasiat herbal yang hingga saat ini masyarakat masih menggunakannya sebagai bahan pengobatan tradisional. Obat tradisional hampir tidak memiliki efek samping dan mendukung konsep *back to nature* sehingga penggunaannya semakin meningkat (Ladeska & Dingga,

2019). Sebanyak 75-80% penduduk dunia masih mengandalkan pengobatan menggunakan tumbuhan mengikuti sistem cerita rakyat terutama berdasarkan fitoterapi, karena tumbuhan merupakan sumber pengobatan tertua bersamaan dengan ditemukannya metode pengobatan sejak ribuan tahun lalu (Azaizeh *et al.*, 2003 dan Tyassuma & Pasiak, 2019). Pemanfaatan tumbuhan obat secara etnobotani juga turun-temurun dari generasi ke generasi (Lev & Amar, 2000) meski sudah banyak muncul obat-obatan modern.

Bidara merupakan tumbuhan asli India (Awasthi & More, 2009) yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Orwa *et al.*, 2009) termasuk di Indonesia. Masyarakat Indonesia mengembangkan bidara untuk budidaya dan memanfaatkannya sebagai bahan pengobatan ruqyah dan herbal. Tyassuma & Pasiak (2019) menyatakan bahwa sejak zaman dahulu kaum muslim menggunakan bidara dalam proses ruqyah, sebagai pelengkap mandi wajib (bersuci) pasca menstruasi, dan memadikan jenazah. Sementara itu, masyarakat saat ini selain menggunakan bidara sebagai bahan pengobatan herbal juga sebagai bahan makanan, minuman, kosmetik, dan kecantikan seperti, sayur (Dahiru & Obidoa, 2008), teh (Adhamatika & Murtini, 2021), obat jerawat, shampo (Shah *et al.*, 2013), sabun mandi (Muthmainnah, 2020), dan sediaan gel (Murniyati dkk., 2021).

Bidara memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba (jamur dan bakteri), antitumor, antikanker, antidiabetes, antiplasmodial, hemolitik, sedatif, ansiolitik, diuretik, analgesik, antipiretik, antiinflamasi, antidepresan, antiseptik, antidiare, antiskorbut, hemostatik, stimulan, tonik, emolien, hipotensi, sebagai pembaru jaringan, hepatoprotektif, dan proteksi berbagai sel tubuh (Diallo *et al.*, 2004;

Dahiru & Obidoa, 2008; Ashraf *et al.*, 2015; Akhtar *et al.*, 2016; Siregar, 2020). Bidara juga efektif untuk mengobati diabetes, asma, gangguan bronkial, campak, maag, peradangan, alergi, dan depresi, serta sebagai sumber baru asam lemak esensial (Shah *et al.*, 2013 dan Ashraf *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian fitokimia daun bidara mengandung alkaloid siklopeptida, sterol, saponin triterpen, dan flavonoid (Seri *et al.*, 2020). Daunnya dilaporkan mengandung flavonoid, tanin, dan triterpenoid (Palejkar *et al.*, 2012).

Bidara mengandung salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan, yaitu flavonoid yang banyak terdapat pada bagian daun. Menurut Agati *et al.* (2012) akumulasi flavonoid terbesar terdapat pada bagian sel-sel daun, yaitu trikoma, vakuola dari sel kelenjar trikoma, dan kloroplas. Menurut Julianto (2019) sebagian besar flavonoid terhimpun di dalam vakuola sel, walaupun tempat sintesisnya berada di luar vakuola. Menurut Samanta *et al.* (2011) flavonoid diproduksi didalam sel sitosol.

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang memiliki beberapa aktivitas, seperti antioksidan (mendegradasi radikal bebas), antiplatelet, antiinflamasi, antimutagenik, antimikroba, antitrombogenik, antikarsinogenik, antikolinesterase, antipenuaan, mengatasi resistensi antibiotik, serta dapat memodulasi fungsi enzim seluler utama. Senyawa tersebut memiliki aktivitas biokimia dan antioksidan yang efektif mengobati berbagai penyakit, seperti diabetes melitus, influenza H1N1, hipertensi, kanker, kardiovaskular, osteoporosis, alzheimer, parkinson, dan mencegah aterosklerosis. Flavonoid pada tumbuhan berperan sebagai sistem pertahanan dari stres biotik dan abiotik, sebagai UV filter, molekul sinyal, senyawa *allopathic*, fitoaleksin, agen

detoksifikasi, dan senyawa pertahanan antimikroba. Flavonoid juga memiliki peran tahan beku dan kekeringan, serta berperan fungsional dalam aklimatisasi panas tanaman dan toleransi pembekuan (Panche *et al.*, 2016).

Flavonoid merupakan komponen antioksidan penting yang bertanggung jawab untuk mendegradasi radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas (Aryal *et al.*, 2019). Menurut Adawiah dkk. (2015) senyawa flavonoid mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH (*2,2-difenil-1 pikril hidrazil*) sehingga dapat menstabilkan senyawa DPPH yang tereduksi. Flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil pada atom karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas dari hasil reaksi peroksidasi lemak (Dewi dkk., 2014).

Flavonoid pada daun bidara memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi (Siregar, 2020), seperti bekerja pada pembuluh darah untuk mencegah aterosklerosis (komplikasi utama pada penderita diabetes) (Diallo *et al.*, 2004). Daunnya mengandung saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid yang secara bersamaan dapat bekerja menghambat pembentukan ROS dan protein amiloid β sehingga memiliki aktivitas proteksi berbagai sel tubuh (renal, liver, dan neuro protektor). Daunnya juga memiliki aktivitas analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi karena kandungan flavonoid yang bekerja melalui dua mekanisme dalam menghambat faktor peradangan, yaitu sebagai antidepresan karena kandungan alkaloid dan flavonoid serta sebagai antimikroba karena kandungan fenolat dan flavonoid yang memiliki manfaat sebagai pengawet daging alami (Siregar, 2020).

Mengidentifikasi dan mengukur kadar flavonoid sebagai antioksidan perlu dilakukan agar bisa memaksimalkan pemanfaatan daun bidara sebagai alternatif pengobatan herbal dan sumber alami antioksidan. Kandungan senyawa bioaktif tergantung dari usia tanaman, tipe tanah, iklim dan lingkungan (Tyassuma & Pasiak, 2019). Menurut Chikmawati dkk. (2013) senyawa metabolit sekunder tiap tanaman berbeda-beda tergantung pada letak tumbuhnya. Hal ini yang mendorong dilakukannya penelitian untuk mengetahui kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara dari lokasi tumbuh yang berbeda.

Berdasarkan penelitian Harahsheh (2017) daun *Z. spina-christi* yang dipanen pada bulan April dalam dua musim (tahun 2014 dan 2015) dan di tiga lokasi yang berbeda wilayah Tepi Barat Palestina (Kota Zbedat, Jericho dan Bani Naim), kemudian diekstraksi masing-masing dengan pelarut air suling, etanol 80%, dan etanol 99% memiliki kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan yang berbeda yaitu, masing-masing dalam dua musim memiliki kadar flavonoid total berkisar antara 9.1-118.7 mgCE/g dan 10.5-39.6 mgCE/g, sedangkan aktivitas antioksidannya berkisar antara 32.4-84.5 mg Trolox/g dan 67.4-134 mg Trolox/g.

Yahia *et al.* (2020) melaporkan daun *Z. lotus* yang berasal dari dua lokasi berbeda di kota Medinine (Tunisia Tenggara), yaitu Ben Gardane dan Oued Esseder mengandung kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan yang berbeda. Ekstrak metanol 70% daun *Z. lotus* dari kota Oued Esseder memiliki kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan DPPH lebih tinggi sebesar 92.22 mgQE/100g berat kering dengan nilai IC50 sebesar 16.60 µg/mL, sedangkan yang berasal dari kota Ben Gardane sebesar 91.89 mgQE/100g berat kering dengan nilai IC50 sebesar 18.27 µg/mL. Penelitian di atas sesuai menurut Adawiah dkk. (2015)

semakin tinggi kandungan flavonoid maka semakin banyak radikal DPPH yang tereduksi sehingga konsentrasinya semakin berkurang dan semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Produksi metabolit sekunder sebagai hasil samping metabolit primer juga dapat dipengaruhi oleh kompetisi antar tanaman sehingga berperan penting sebagai bentuk pertahanan (Matyssek *et al.*, 2005). Selain itu, metabolit sekunder juga dipengaruhi oleh faktor internal berupa gen dan faktor eksternal, berupa cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara tanah, dan ketinggian tempat (Katuuk dkk., 2019). Menurut Laily *et al.* (2012) ketinggian tempat termasuk salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman. Perbedaan ketinggian tempat akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Selanjutnya, serangkaian proses metabolisme pada tanaman tersebut juga akan terganggu sehingga senyawa dari hasil proses tersebut akan berbeda pada setiap ketinggian tempat.

Ketinggian tempat tumbuh bidara di Kabupaten Cianjur dan Sumenep memiliki perbedaan. Kecamatan Ciranjang Kabupaten Cianjur terletak pada ketinggian 200-316 mdpl dengan kemiringan tanah 0-40 % (BPS, 2017), sedangkan Kecamatan Talango Kabupaten Sumenep terletak pada ketinggian 20 mdpl dengan kemiringan tanah 30-60 % (Pemkab Sumenep, 2017). Menurut Bermana (2006) ketinggian relatif pada <50 m termasuk topografi dataran rendah, sedangkan 200-500 m termasuk topografi perbukitan dan kemiringan lereng sebesar 21-55% termasuk kategori lereng curam, sedangkan 56-140% termasuk kategori lereng sangat curam.

Keadaan iklim berupa suhu di Kabupaten Cianjur dan Sumenep memiliki perbedaan. Kabupaten Cianjur memiliki suhu rata-rata 19,9-22,3°C (BPS, 2022), sedangkan Kabupaten Sumenep memiliki suhu rata-rata 27,24-29,32°C (BPS, 2021). Menurut Yang *et al.* (2018) keadaan iklim berupa suhu secara signifikan dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder dan kenaikan suhu dapat meningkatkan semua metabolit sekunder dalam spesies tanaman, seperti suhu tinggi dapat menginduksi biosintesis alkaloid. Suhu rendah juga dapat menginduksi akumulasi antosianin dalam daun dan batang *Arabidopsis thaliana*, dan memfasilitasi sintesis antosianin melalui jalur fenilpropanoid yang terkait dengan peningkatan transkrip gen biosintetik flavonoid termasuk fenilalanin amonylase (PAL) dan kalkon sintase (CHS) (Leyva *et al.*, 1995).

Intensitas penyinaran matahari di Kabupaten Cianjur dan Sumenep juga berbeda. Kabupaten Cianjur memiliki intensitas penyinaran matahari sebesar 11,7-71,7 % (BPS, 2022), sedangkan Kabupaten Sumenep memiliki intensitas penyinaran matahari sebesar 29,29-100 % (BPS, 2021). Menurut Yang *et al.* (2018) iradiasi cahaya sangat diperlukan dalam proses biosintesis tanaman yang sedang tumbuh dengan faktor kunci meliputi fotoperiode (durasi), intensitas (kuantitas), arah, dan kualitas (frekuensi atau panjang gelombang) sehingga dapat mempengaruhi metabolit sekunder.

Flavonoid yang berperan sebagai antioksidan sebagian besar sintesisnya diinduksi oleh iradiasi UV (Rusalepp *et al.*, 2021). Kualitas cahaya dapat mempengaruhi sintesis senyawa bioaktif dan metabolisme sekunder tanaman. Cahaya monokromatik lebih sensitif daripada cahaya kombinasi karena kadar total fenol termasuk klorogenat, caffeic, chicoric, asam ferulat, dan kaempferol

pada *Lactuca sativa* “Sunmang” menurun seiring dengan meningkatnya proporsi pemberian cahaya merah (Yang *et al.*, 2018). Umek *et al.* (1999) melaporkan bahwa *Hypericum perforatum* yang tumbuh pada ketinggian 800 m memiliki kandungan rutin empat kali lipat lebih tinggi dibandingkan yang tumbuh pada ketinggian 200 m karena adanya perbedaan tingkat radiasi matahari. Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara yang dibudidayakan di Kabupaten Cianjur dan Sumenep.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana perbandingan kadar flavonoid pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep?
2. Bagaimana perbandingan aktivitas antioksidan IC50 pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep?
3. Bagaimana hubungan antara kadar flavonoid dengan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.)?
4. Bagaimana hubungan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) dengan lokasi tumbuh?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis perbandingan kadar flavonoid ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep.
2. Menganalisis perbandingan aktivitas antioksidan IC50 ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep.

3. Menganalisis hubungan antara kadar flavonoid dengan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.).
4. Menganalisis hubungan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) dengan lokasi tumbuh.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat perbedaan kadar flavonoid pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep.
2. Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep.
3. Terdapat hubungan antara kadar flavonoid dengan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.).
4. Terdapat hubungan antara kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) dengan lokasi tumbuh.

1.5 Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, yaitu:

1. Memberikan informasi ilmiah tentang kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan pada daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep sehingga dapat memaksimalkan potensinya sebagai bahan pengobatan alami herbal, kosmetik dan kecantikan.
2. Sebagai landasan untuk penelitian selanjutnya.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kondisi lingkungan yang bagus untuk budidaya bidara.

1.6 Batasan masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) diambil di Kecamatan Ciranjang, Kabupaten Cianjur Jawa Barat pada ketinggian 200-316 mdpl dan Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep Jawa Timur pada ketinggian 20 mdpl.
2. Segala macam dan bagian daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) digunakan.
3. Pelarut etanol 70% digunakan untuk mengekstraksi daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep dengan metode maserasi.
4. Uji kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri (AlCl_3) yang nilai absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis λ 415 nm dan dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/g ekstrak.
5. Larutan standar yang digunakan dalam penentuan kadar flavonoid adalah kuersetin.
6. Metode uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dan diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis λ 517 nm, serta dievaluasi dengan nilai IC50.
7. Aktivitas antioksidan dibandingkan dengan larutan pembanding yaitu asam askorbat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi bidara

2.1.1 Klasifikasi bidara

Klasifikasi bidara berdasarkan Backer & Brink (1965) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Rosales

Famili : Rhamnaceae

Genus : *Ziziphus*

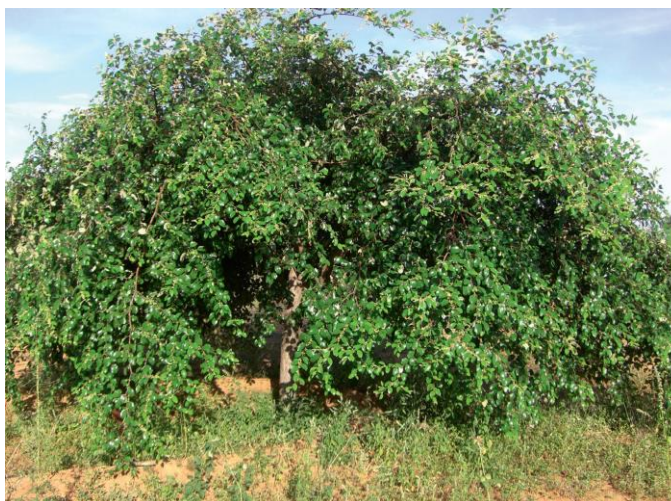
Spesies : *Ziziphus mauritiana* Lamk.

2.1.2 Nama daerah

Bidara di beberapa daerah di Indonesia memiliki beberapa nama diantaranya, yaitu rangga (Bima), bidara (Jawa, Sunda), kalangga (Sumba), dan bekul (Bali) (Hariana, 2006).

2.1.3 Morfologi bidara

Bidara memiliki akar tunggang, berupa perdu menyemak yang tingginya 1,2-1,8 m atau pohon berduri yang dapat tumbuh tegak tinggi 3-12 m (Indriyani, 2017) hingga mencapai 15 m atau menyebar dengan percabangan menjuntai, memiliki diameter batang \pm 40 cm, ranting bidara simpangsiur menyendiri dan lurus (berukuran 5-7 mm) atau berbentuk dimorfik berpasangan, berbulu kempa, dan penumpunya berduri (Fattah, 2016). Batang bidara memiliki daun dan duri pada setiap nodusnya (Indriyani, 2017). Kulit batang bidara berwarna abu-abu kehitaman dengan tekstur pecah-pecah tidak beraturan (Goyal *et al.*, 2012).



Gambar 2.1. Pohon *Ziziphus mauritiana* Lamk. (Pasternak *et al.*, 2016)

Pohon bidara berdaun lebat atau setengah meranggas (Gambar 2.1). Daun bidara tunggal, berbentuk bundar telur-jorong sampai bundar-telur-lonjong, berukuran panjang 2,5-6 cm dan lebar 1,5-5 cm, letak daun bidara berselang-seling (Fattah, 2016). Permukaan atas daun bidara berwarna hijau mengkilap, tidak berambut, tepinya sedikit bergerigi, bagian bawah daun bidara tertutup oleh rambut yang berwarna keputihan sampai kecoklatan (warna karat) (Indriyani, 2017), memiliki tiga tulang daun membujur dengan panjang tangkai daun 8-15 mm (Fattah, 2016).

Perbungaan bidara muncul pada ketiak daun dan terdapat dua atau tiga bunga (Indriyani, 2017), berbentuk payung menggarpu, panjangnya 1-2 cm, tersusun atas 7-20 kuntum bunga, panjang gagang perbungaan 2-3 mm. Bunga bidara sedikit harum, berwarna kekuningan, berdiameter 2-3 mm, panjang gagang bunganya 3-8 mm, daun kelopaknya bercuping lima, berbentuk delta, bagian luarnya berambut dan bagian dalamnya gundul. Daun mahkota bunga berjumlah lima helai, sedikit berbentuk sudip yang cekung, dan terlentik (Gambar 2.2)

(Fattah, 2016).



Gambar 2.2. *Ziziphus mauritiana* Lamk. a. daun bidara, b. bunga bidara, c. buah dan biji bidara (Rahayu *et al.*, 2018)

Benang sari bidara terdapat lima utas, bakal buah bidara beruang dua, tangkai putiknya bercabang dua, cakramnya bercuping 10 atau beralur-alur (Fattah, 2016). Bunga bidara bersifat *protandrous*, yaitu benang sari masak lebih dulu dibandingkan putiknya sehingga pembentukan buah tergantung pada penyerbukan silang yang dilakukan oleh serangga. Beberapa kultivar terjadi ketidaksesuaian dalam persilangan sehingga buah dihasilkan secara partenokarpi (Goyal *et al.*, 2012).

Buah bidara bertipe buah batu, berbentuk bulat hingga bulat telur dengan diameter 6x4 cm (Goyal *et al.*, 2012). Buah bidara liar memiliki panjang 1,25–2,5 cm. Kulit buah bidara bertekstur halus, dan kasar mengkilat tipis, tetapi keras. Warna buah bidara berubah dari hijau muda ke kuning, kemudian sebagian atau seluruhnya menjadi orange atau merah kecokelatan, atau berwarna merah keseluruhan ketika masak. Ketika mendekati masak, daging buah bidara berwarna putih, renyah, berair, dan memiliki rasa asam hingga manis. Buah bidara yang masak kurang renyah dan agak bertepung (Indriyani, 2017).

Buah bidara yang terlalu masak kisut, daging buah bidara berwarna

kekuningan, lembut, kenyal, dan berbau tajam. Aroma buah bidara seperti apel. Buah bidara mempunyai biji besar berbentuk bulat (Indriyani, 2017). Biji bidara terletak dalam tempurung beralur tidak teratur yang berisi 1-2 inti biji berbentuk jorong, berwarna coklat dengan ukuran 6 mm (Gambar 2.2) (Goyal *et al.*, 2012).

2.1.4 Ekologi bidara

Bidara merupakan tumbuhan asli India (Awasthi & More, 2009) yang umum ditemukan di daerah tropis dan subtropis, serta tersebar luas di daerah dengan curah hujan tahunan 300-500 mm (Orwa *et al.*, 2009). Bidara liar di Cina dan India tumbuh pada ketinggian 1.650 m namun, untuk budidaya komersial dapat ditanam pada ketinggian 1.000 m. Bidara dapat tumbuh di India pada iklim cukup kering, suhu minimum 7°-13°C dan suhu maksimum 37°-48°C, curah hujan tahunan 15-225 cm, serta sinar matahari penuh untuk mendapatkan produksi yang tinggi. Bidara di India dapat tumbuh paling bagus pada lempung berpasir dengan pH netral atau sedikit basa (Indriyani, 2017). Bidara termasuk tanaman yang toleransi terhadap cekaman biotik dan abiotik termasuk kekeringan (Goyal *et al.*, 2012) dan genangan (Indriyani, 2017).

Bidara sudah tersebar dan banyak dikembangkan di berbagai daerah di Indonesia termasuk Cianjur dan Sumenep yang menanam dalam kapasitas besar untuk budidaya dan memanfaatkannya sebagai bahan pengobatan ruqyah. Bidara dapat tumbuh di Kecamatan Ciranjang Kabupaten Cianjur pada ketinggian 200-316 mdpl, kemiringan tanah 0-40 % (BPS, 2017), memiliki jenis tanah yang bervariasi, yaitu aluvial, regosol, grumusol, mediteran, dan podsolik (SIPPA, 2015). Termasuk daerah dataran dengan kemiringan lereng berkisar 0-8% yang memiliki tingkat erosi rendah, curah hujan tahunan rata-rata berkisar 1000-1500

mm (SIPPA, 2015). Keadaan iklim dengan suhu minimum 15,5-17 °C, suhu maksimum 23,3-27,2 °C, suhu rata-rata 19,9-22,3 °C, kelembaban minimum 62-72 %, kelembaban maksimum 88-96 %, kelembaban rata-rata 67,3-85,1 %, kecepatan angin minimum 25,4 m/det, kecepatan angin maksimum 36 m/det, kecepatan angin rata-rata 29,9 m/det, jumlah curah hujan 110-442,3 mm, dan penyinaran matahari 11,7-71,7 % (BPS, 2022).

Bidara di Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep tumbuh pada ketinggian 20 mdpl dengan jenis tanah kering (BPS, 2017), struktur tanah yang tidak kedap air (BPS, 2022), kemiringan tanah 30-60% berupa kawasan perbukitan dengan asosiasi tanah litosol dan mediterian (Pemkab Sumenep, 2017), serta memiliki pH rendah (4,5-5,0) dan pH sekitar 6,0-7,5 (Mulyanto, 2013). Keadaan iklim dengan suhu minimum 20,6-24,8 °C, suhu maksimum 32,4-35 °C, suhu rata-rata 27,24-29,32 °C, kelembaban minimum 45-64%, kelembaban maksimum 92-100%, kelembaban rata-rata 70,55-86,47 %, kecepatan angin maksimum 10,29 m/det, kecepatan angin rata-rata 1,69 m/det, jumlah curah hujan 1,5-429,8 mm, dan penyinaran matahari 29,29-100 % (BPS, 2021). Lahan kering dengan iklim kering memiliki ciri berupa terbatasnya ketersediaan air sebab hujan bersifat eratik, curah hujan yang sangat rendah, dan di beberapa wilayah mengandung C-organik tanah atau bahan organik yang rendah (Suwardjo & Nurida, 1993 *dalam* Nurida & Jubaedah, 2014).

2.1.5 Kandungan tanaman bidara

Tanaman bidara memiliki tiap organ yang mengandung berbagai senyawa bioaktif yang saling bersinergi menghasilkan berbagai manfaat (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Kandungan tanaman bidara

| Organ | Kandungan | Rujukan |
|---------------|--|---------------------------------|
| Akar | Alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, minyak atsiri. | (Thomas, 2004) |
| Batang | Alkaloid, antosianin, glikosida antrasen, antrakuinon, aukubin iridoid, karbohidrat, glikosida jantung, karotenoid, flavonoid, poliuronida, saponin, pati, steroid, tanin, triterpenoid. | |
| Kulit batang | Flavonoid, alkaloid, fenolik, saponin, tanin. | (Hidajati & Rokhmania, 2019) |
| | Triterpenoid, saponin, flavonoid. | (Samirana dkk, 2017) |
| Buah | Flavonoid naringenin triglikosida, <i>myricetin 3-O-galactoside</i> , <i>quercetin 3-O-pentosylhexoside</i> , <i>robinobioside</i> , <i>galactoside</i> , <i>galactoside-Rutinoside</i> , <i>glucoside</i> , <i>rhamnoside</i> , <i>quercetin 3-O-6-malonylglucoside</i> , <i>quercetin 3-O-malonylglucoside</i> , <i>luteolin 7-O-malonylglucoside</i> , <i>luteolin 7-O-6-malonyl glukosida</i> . | (Memon <i>et al.</i> , 2013) |
| | asam protocatechuic, asam p-hydroxybenzoic, asam ferulic, asam klorogenat, asam vanillic, asam caffeic, vanillin, asam orto-dan para-kumarat. | |
| | Lipid, fenolik dari kelompok flavanol, flavonol, dan tanin | (Zozio <i>et al.</i> , 2014) |
| Biji | Flavonoid, glikosida, fenol, lignin, saponin, tanin | (Rathore <i>et al.</i> , 2012) |
| | Alkaloid, terpen, tanin, flavonoid, saponin, sterol, fitosterol | (Mishra & Bathia, 2014) |
| Daun | Flavonoid, tanin, triterpenoid, sterol, <i>oses</i> , <i>holoside</i> , glukosida kardiotonik, leukoantosianin | (Palejkar <i>et al.</i> , 2012) |
| | Kumarin, heterosida kardiotonik, polisakarida, poliuronida (<i>mucilage</i>), saponosida | (Diallo <i>et al.</i> , 2004) |
| | <i>Diglycerol</i> , <i>2,3 dihydrobenzofuran</i> , <i>1,2 diacetate glycerol</i> , <i>Ureicosane</i> , <i>Lauric acid</i> , <i>Myristic acid</i> , <i>E-15-Heptadecenal</i> , <i>Phytol acetate</i> , <i>Methyl palmitate</i> , <i>Palmitic acid</i> , <i>Hentriaconate</i> , <i>Linoleic acid methyl ester</i> , <i>Phytol</i> , <i>Methyl stearate</i> , <i>Linoleic acid</i> , α - <i>Linolenic acid</i> , <i>Stearic acid</i> , α - <i>Nonadecylene</i> , <i>Archidic acid methyl ester</i> , <i>Carbromal</i> , <i>Bacchotricuneatin C</i> , <i>3-methyl piperidine</i> , <i>o-methyl delta-tochopherol</i> , <i>Octacosane</i> , <i>Cyclobarbitol</i> , <i>squalene</i> , <i>Trans-Geranylgeraniol</i> , <i>2,4-Dimethyl Benzoquinoline</i> , α - <i>tochopherol</i> , vitamin E, <i>4-Chloro-2-trifluoromethylbenzoquinoline</i> , thymol TMS, γ -sitosterol, <i>17-Hydroprogesterone</i> . | (Ashraf <i>et al.</i> , 2015) |
| | Saponin, tanin, alkaloid, fenol, flavonoid | (Siregar, 2020) |
| Seluruh organ | Alkaloid siklopeptida, sterol, saponin triterpen, flavonoid | (Seri <i>et al.</i> , 2020) |
| | Flavonoid, alkaloid, glikosida, saponin, resin, polifenol, <i>mucilage</i> (lendir), vitamin. | (Hariana, 2006) |

2.1.6 Manfaat bidara

Bidara memiliki manfaat sejak zaman dahulu, yaitu dalam proses ruqyah, sebagai pelengkap mandi wajib (bersuci) pasca menstruasi, dan memadikan jenazah (Tyassuma & Pasiak, 2019). Bahkan, masyarakat saat ini mulai banyak yang memanfaatkan bidara sebagai bahan dalam produk kosmetik dan kecantikan karena kandungan metabolit sekunder dan antioksidannya yang tinggi. Contohnya, untuk bahan pembuatan sabun mandi (Muthmainnah, 2020), shampo (Shah *et al.*, 2013), dan sediaan gel (Murniyati dkk., 2021). Menurut Akhtar *et al.* (2016) emulsi ekstrak daun bidara memiliki manfaat untuk aplikasi topikal sebagai peremajaan kulit yang mengatasi penuaan, meningkatkan sifat viskoelastik, serta mengatasi hiperpigmentasi.

Bidara memiliki manfaat dalam pengobatan tradisional, seperti asma, alergi, depresi, diabetes, maag, peradangan (Ashraf *et al.*, 2015), anemia, hipertonia, nefritis, penyakit saraf, diabetes, tekanan darah tinggi, dan berbagai bentuk peradangan (Seri *et al.*, 2020). Bidara juga memiliki aktivitas antidiabetes, antiplasmodial, anitimikroba, hemolitik, sedatif, ansiolitik, diuretik, analgesik, dan antioksidan. Akar bidara memiliki manfaat sebagai obat pahit, penyejuk, dan sakit kepala. Rebusan akarnya memiliki manfaat untuk mengobati demam dan sebagai bedak untuk mengobati luka lama dan bisul (Akhtar *et al.*, 2016). Akarnya juga memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Mycobacterium phlei* yang secara tradisional dapat mengobati kurap dengan cara mengoleskan pasta akar tersebut (Khoo *et al.*, 2016).

Akar dan kulit batang bidara mengandung 7% tanin serta daunnya mengandung 2% tanin yang bermanfaat sebagai bahan campuran untuk

penyamakan kulit. Kulit batang dan buahnya sebagai pewarna alami (Indriyani, 2017). Kulit kayunya sebagai astrigen saat gingivitis (radang gusi). Rebusan kulit kayunya untuk mengobati diare dan disentri (Akhtar *et al.*, 2016). Abu kayunya dengan campuran cuka untuk mengobati gigitan ular (Shah *et al.*, 2013).

Buah bidara yang matang dapat langsung dimakan atau direbus (Dahiru & Obidoa, 2008), sebagai salad atau acar, obat radang tenggorokan, batuk, memiliki aktivitas antihiperqlikemik, antidiare, hepatoprotektif, dan antikanker. Bijinya untuk mengobati diare dan sakit perut (Khoo *et al.*, 2016). Teh dari buah kering bidara bermanfaat untuk mengobati campak, rebusan buahnya sebagai obat gangguan bronkial (asma), rebusan daunnya sebagai shampo, dan daun yang dihaluskan bersama dengan jus lemon untuk menghilangkan jerawat wajah (Shah *et al.*, 2013). Daun muda bidara untuk sayur (Dahiru & Obidoa, 2008). Daunnya juga dapat diseduh sebagai teh (Adhamatika & Murtini, 2021), serta dapat mengobati penyakit asma, liver, demam (Dahiru & Obidoa, 2008) dan tipes pada anak (Akhtar *et al.*, 2016). Daun bidara memiliki manfaat dalam pengobatan diare, abses (bisul), gonore, tekanan darah tinggi, gangguan hati, dan diabetes (Seri *et al.*, 2020).

Daun bidara mempunyai beberapa manfaat diantaranya, yaitu sebagai antidiabetes karena kandungan polisakarida tipe glukana (Diallo *et al.*, 2004) melalui mekanisme penghambatan enzim pemecah karbohidrat menjadi glukosa pada saluran cerna, sebagai antioksidan karena kandungan flavonoidnya yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi (Siregar, 2020), seperti bekerja pada pembuluh darah untuk mencegah aterosklerosis (komplikasi utama pada penderita diabetes), dan sebagai pembaru jaringan karena kandungan taninnya yang penting

dalam proses penyembuhan luka sebab diabetes (Diallo *et al.*, 2004). Ekstrak etanol daun bidara memiliki senyawa aktif yang berpotensi sebagai inhibitor (penghambat) protein α -glukosidase dibandingkan dengan acarbose melalui uji in silico. Penghambat α -glukosidase terbukti efektif untuk mengobati diabetes melitus (Herbani & Bintari, 2017).

Daun bidara memiliki sifat proteksi terhadap berbagai sel tubuh (renal, liver, dan neuro protektor). Karena adanya kandungan saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid yang bekerja menghambat pembentukan ROS dan protein amiloid β (Siregar, 2020). Ekstrak etanol daun bidara juga memiliki aktivitas hepatoprotektif terhadap penurunan fungsi hati yang diinduksi CCl₄ pada tikus (Dahiru & Obidoa, 2008).

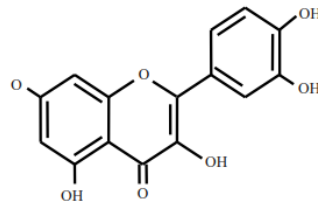
Daun bidara dapat bermanfaat sebagai hemostatik, antiseptik, stimulan, tonik, antidiare, antiskorbut, diuretik, emolien, hipotensi (Diallo *et al.*, 2004). Selain itu, kandungan daunnya dapat bersifat analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi karena kandungan flavonoid yang bekerja melalui dua mekanisme dalam mengambat faktor peradangan, yaitu sebagai antidepresan karena kandungan alkaloid dan flavonoid, serta sebagai antimikroba karena kandungan fenolat dan flavonoid yang dapat bermanfaat sebagai pengawet daging alami (Siregar, 2020). Daunnya juga mengandung asam α -linolenat (ALA) yang tinggi pada ekstrak heksan sebesar 26,45% dan ekstrak metanol sebesar 14,21%, serta terkandung asam lemak yang tinggi, yaitu asam palmitat sebesar 38,55% dan metil stearate sebesar 15,59% sehingga daun bidara berpotensi sebagai sumber makanan baru untuk asam lemak esensial (Ashraf *et al.*, 2015).

Fraksi n-heksana dan etanol daun bidara berguna sebagai antikanker karena

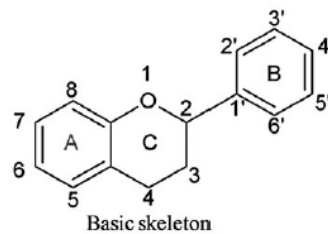
adanya senyawa alkaloid, saponin, triterpenoid, dan steroid yang memiliki aktivitas sitotoksik (Siregar, 2020). Ekstrak metanol daun bidara juga mengandung kadar flavonoid dan antioksidan yang tinggi serta memiliki aktivitas antimikroba (antibakteri dan antijamur), sedangkan ekstrak kloroform daunnya mengandung kadar fenol tinggi menunjukkan aktivitas antitumor dan antikanker yang tinggi terhadap sel limfoma monosit leukemia manusia (U937) serta terhadap sel karsinoma usus besar manusia (HCT 116) (Ashraf *et al.*, 2015). Pohon bidara berguna untuk pengendali erosi, reklamasi lahan, pagar hidup sekitar rumah, stabilisasi tanah dan tepi sungai, serta naungan atau pemecah angin (Indriyani, 2017). Masyarakat di Pulau Timor biasa menggunakan tanaman bidara untuk memperbaiki kualitas lahan atau untuk mempertahankan produktivitasnya (Kurniawan & Pujiono, 2019).

2.2 Senyawa flavonoid

Flavonoid merupakan molekul organik polar (Singh *et al.*, 2017), memiliki kerangka dasar karbon sebanyak 15 atom (C_{15}) (Julianto, 2019) terdiri atas dua inti fenol (C_6) yang dihubungkan oleh satu unit tiga karbon (C_3), dan memiliki struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ (Gambar 2.3). Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen, serta bentuk teroksidasi cincin dijadikan dasar pembagian flavonoid menjadi beberapa sub kelompok. Sistem penomorannya dipakai untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Gambar 2.4) (Redha, 2010).



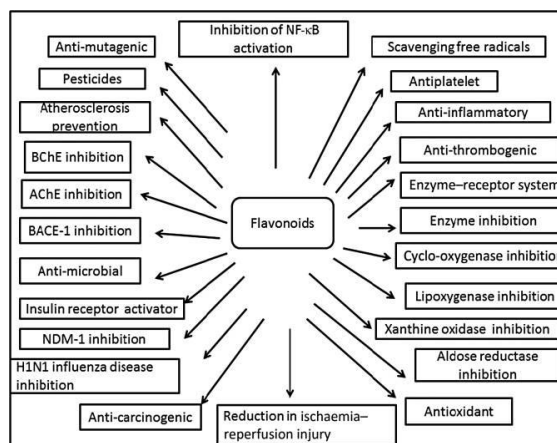
Gambar 2.3. Struktur kimia flavonoid (Redha, 2010)



Gambar 2.4. Struktur penomoran flavonoid (Panche *et al.*, 2016)

Flavonoid dibagi menjadi beberapa sub kelompok yang berbeda tergantung pada karbon cincin C tempat cincin B dipasang dan tingkat ketidakjenuhan, serta oksidasi cincin C. Sub kelompok flavonoid, yaitu isoflavon, neoflavonoid, flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, flavanol atau katekin, antosianin, dan kalkon. Flavonoid termasuk metabolit sekunder tanaman yang paling banyak ditemukan memiliki struktur polifenol, aktivitas biokimia, dan antioksidan yang bermanfaat untuk berbagai penyakit, seperti diabetes melitus, influenza H1N1, hipertensi, kanker, kardiovaskular, osteoporosis, alzheimer, parkinson, dan mencegah aterosklerosis. Senyawa tersebut memiliki beberapa aktivitas, seperti antioksidan (mencegah radikal bebas), antiplatelet, antiinflamasi, antimutagenik, antimikroba, antitrombogenik, antikarsinogenik, antikolinesterase, antipenuaan, melawan resistensi antibiotik, serta dapat memodulasi fungsi enzim seluler utama.

Flavonoid juga berpotensi sebagai inhibitor untuk beberapa enzim, yaitu xanthine oxidase (XO), cyclo-oxygenase (COX), lipoxigenase, dan phosphoinositide 3-kinase (Gambar 2.5) (Panche *et al.*, 2016).



Gambar 2.5. Peran flavonoid dalam berbagai bioaktivitas, kesehatan manusia dan pertanian (Panche *et al.*, 2016)

Flavonoid disintesis di beberapa tempat tertentu dan bertanggung jawab atas warna dan aroma pada bunga, menarik penyerbuk pada buah-buahan, membantu perkecambahan biji dan spora, serta pertumbuhan dan perkembangan bibit. Flavonoid berfungsi untuk melindungi tanaman dari stres biotik dan abiotik, bertindak sebagai UV filter, sebagai molekul sinyal, senyawa *allopathic*, fitoaleksin, agen detoksifikasi, dan senyawa pertahanan antimikroba. Flavonoid juga memiliki peran tahan beku dan kekeringan, serta dapat memainkan peran fungsional dalam aklimatisasi panas tanaman dan toleransi pembekuan (Panche *et al.*, 2016).

Flavonoid hanya terdapat pada tumbuhan karena tidak terdapat pada alga, jamur, lumut, bakteri, dan mikroorganisme. Flavonoid alami tumbuhan sebagian besarnya mengikat gula disebut flavonoid glikosida dan sebagian kecilnya tidak

mengikat gula disebut flavonoid aglikon. Flavonoid glikosida dapat larut dalam pelarut polar (air dan alkohol) dan mudah terhidrolisis menjadi aglikon yang tidak larut dalam pelarut polar (Hahlbrock & Griscbach, 1975 *dalam* Wong, 1976).

Flavonoid termasuk salah satu kelompok senyawa fenolik yang dapat ditemukan dalam buah dan sayur serta telah terbukti memiliki potensi dalam melawan penyakit yang disebabkan oleh penangkapan radikal. Senyawa fenolik memiliki berbagai efek biologis, yaitu aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai peredam terbentuknya oksigen singlet, penangkap radikal bebas, pereduksi, pengelatan logam, serta pendonor elektron (Sayuti & Yenrina, 2015). Flavonoid yang berasal dari tumbuhan dinilai sebagai antioksidan alami yang kuat, memiliki spektrum aktivitas biologis yang luas, membantu dalam mengurangi gangguan stres oksidatif dan penyakit infeksi (Ashraf *et al.*, 2015). Flavonoid juga berpotensi sebagai agen terapi berbagai macam penyakit yang sebagian besar melibatkan penurunan oksidan (Ross & Kasum, 2002).

Flavonoid dapat mencegah terjadinya degradasi akibat radikal bebas dengan cara mencegah radikal bebas secara langsung. Flavonoid dioksidasi oleh radikal sehingga menghasilkan radikal yang lebih stabil dan kurang reaktif. Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan spesies oksigen reaktif yang bereaksi dengan senyawa reaktif radikal. Karena gugus hidroksil dari flavonoid reaktivitasnya tinggi sehingga radikal dibuat tidak aktif, seperti persamaan menurut Korkina & Afanas'ev (1997) sebagai berikut:



R= radikal bebas

O= radikal bebas oksigen

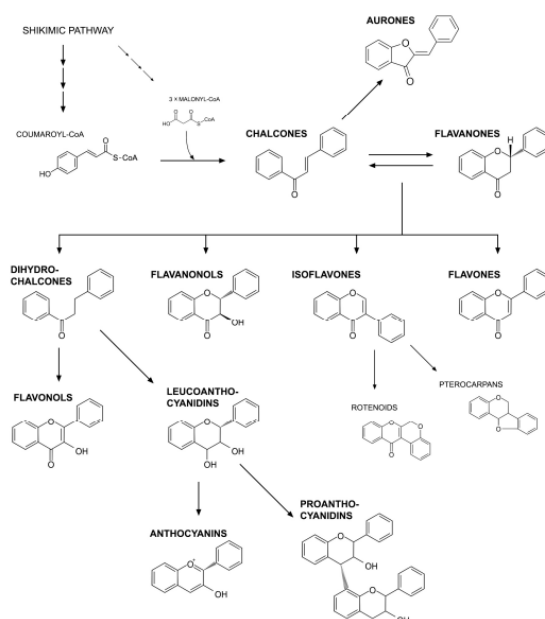
Beberapa flavonoid secara langsung dapat menangkap superoksida, sedangkan flavonoid lainnya dapat menangkap radikal oksigen yang sangat reaktif, seperti peroksinitrit. Selain itu, flavonoid seperti epicatechin dan rutin merupakan pengais radikal yang kuat. Rutin mampu dalam mengais radikal karena memiliki aktivitas penghambatan pada enzim xanthine oxidase (Hanasaki *et al.*, 1994). Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam serta berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau bentuk bebas (aglikon) (Redha, 2010). Flavonoid telah dilaporkan sebagai antioksidan karena dapat menangkap berbagai spesies oksigen reaktif dan menghambat peroksidasi lipid (Williams *et al.*, 2004).

2.3 Biosintesis flavonoid

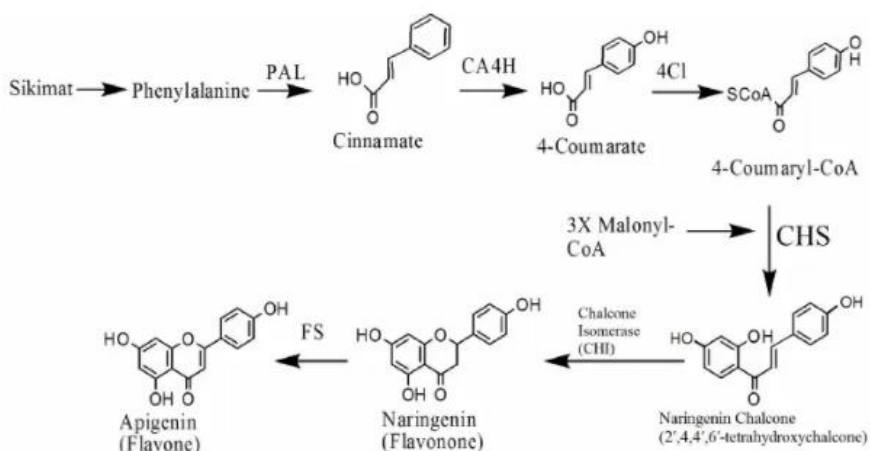
Flavonoid merupakan metabolit sekunder turunan dari 2-fenil-benzil- γ -piron pada tanaman. Jalur biosintesisnya (bagian dari jalur fenil propanoid) mulai dari kondensasi satu molekul p-coumaroyl-CoA dengan tiga molekul malonil-KoA untuk menghasilkan kalkon (4',2',4',6'-tetrahidroksikalkon) yang dikatalisis oleh kalkon sintase (CHS). Tahap selanjutnya adalah isomerisasi kalkon menjadi flavanon oleh kalkon isomerase (CHI). Kemudian, jalur bercabang menjadi beberapa kelas flavonoid yang berbeda termasuk auron, dihydrochalcone, flavanonol (dihydroflavonol), isoflavon, flavon, flavonol, leucoanthocyanidin, anthocyanin dan proanthocyanidin (Gambar 2.6) (Mierziak *et al.*, 2014).

Proses sintesis flavonoid melalui jalur fenil propanoid (sikimat) dan poliketida. Diawali dengan kondensasi satu molekul CoA-ester asam sinamat atau turunannya, seperti asam kumarat atau ferulic dengan tiga molekul malonil-KoA

yang menghasilkan naringenin chalcone sebagai produk utama. Reaksi tersebut dilakukan oleh enzim chalcone synthase (CHS). Kalkon diisomerisasi menjadi flavanon oleh enzim chalcone isomerase (CHI). Melalui perantara pusat ini, jalur menyimpang menjadi beberapa cabang masing-masing menghasilkan kelas flavonoid yang berbeda (Gambar 2.7) (Dao *et al.*, 2011).

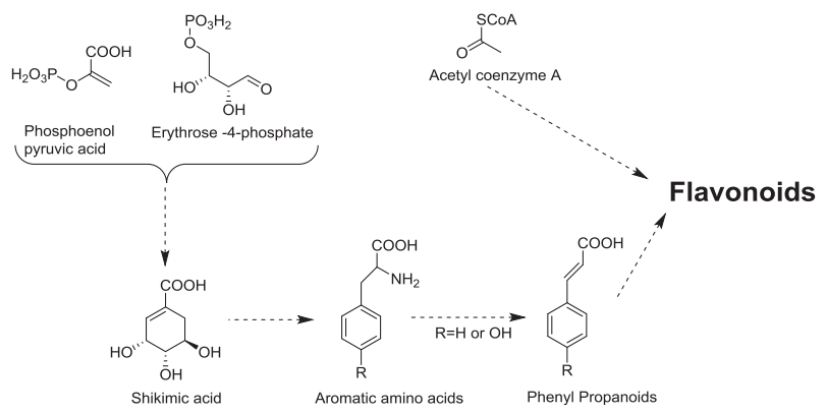


Gambar 2.6. Biosintesis beberapa kelas flavonoid (Mierziak *et al.*, 2014)



Gambar 2.7. Biosintesis flavonoid melalui jalur sikimat (Chotimah, 2019)

Sintesis flavonoid, seperti flavon, flavanon, flavanol, isoflavon selalu melalui khalcon sebagai zat perantara (Patonay *et al.*, 1996). Enzim *chalcone synthase* (CHS) bertanggung jawab dalam pembentukan khalcon dari satu molekul p-coumaroyl-CoA dan tiga malonyl-CoA untuk membentuk dua cincin fenil (yaitu cincin A dan B) dari kerangka flavonoid (C6-C3-C6). Pembentukan cincin C heterosiklik dikatalisis oleh chalcone isomerase (CHI) menghasilkan naringenin (flavanon) sebagai senyawa antara (Nabavi *et al.*, 2020).

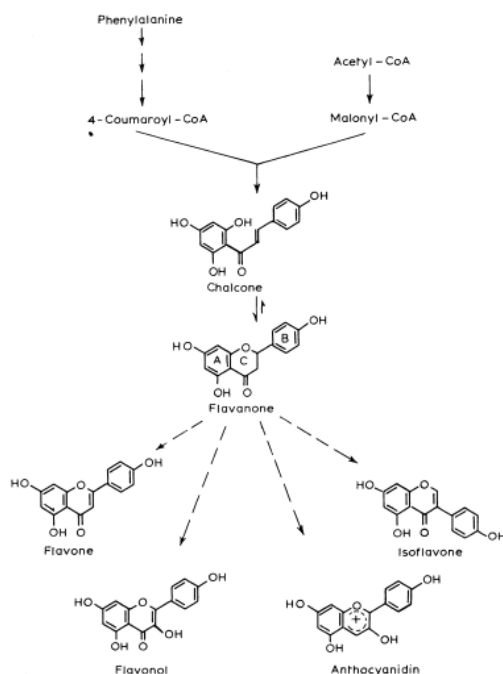


Gambar 2.8. Biosintesis flavonoid melalui jalur shikimat dan asetat (Nabavi *et al.*, 2020)

Terdapat dua jalur biosintesis senyawa flavonoid, yaitu jalur asam shikimat yang menghasilkan kerangka fenil propanoid (C6-C3) dan jalur asetat yang berfungsi sebagai blok bangunan untuk unit 2-karbon polimer. Jalur asetat (cincin A) dan jalur shikimat (cincin B bersama dengan rantai penghubung (cincin C) membuat komponen C6-C3). Cincin A disintesis dari tiga molekul malonil-KoA yang dihasilkan melalui transformasi glukosa, sedangkan cincin B disintesis dari 4-coumaroyl-CoA yang dihasilkan dari fenilalanin melalui jalur shikimat. Kondensasi cincin A dan B menghasilkan khalcon, kemudian mengalami siklisasi

yang dikatalisis isomerase untuk membentuk flavanon. Senyawa selanjutnya digunakan sebagai senyawa awal untuk sintesis flavonoid lainnya (Gambar 2.8) (Nabavi *et al.*, 2020).

Biosintesis flavonoid berawal dari penggabungan jalur shikimat C6-C3 (cincin A) dan jalur asetat malonat (Hahlbrock & Griscbach, 1975 *dalam* Wong, 1976). Sintesis flavonoid berawal dari produk glikolisis, yaitu fosfoenol piruvat kemudian produk akan masuk ke jalur shikimat untuk menghasilkan fenilalanin sebagai materi awal untuk jalur fenil propanoid. Jalur tersebut akan menghasilkan 4-coumaroyl-CoA yang bergabung dengan malonyl-CoA lalu melalui khalkon sebagai perantara umum pertama untuk menghasilkan stuktur flavonoid (Gambar 2.9) (Eber & Hahlbrock, 1982).



Gambar 2.9. Posisi kalkon sebagai perantara umum pertama dalam biosintesis semua kelas flavonoid (Eber & Hahlbrock, 1982)

Jalur fenilpropanoid diawali oleh p-coumaryl-CoA yang disintesis dari asam amino aromatik, fenilalanin (Phe) menggunakan enzim berikut: fenilalanin amonia liase (PAL), sinamat 4-hidroksilase (C4H), dan 4-coumaroyl CoA ligase (4CL). Enzim-enzim ini mengkatalisis reaksi deaminasi Phe menjadi asam kumarat (oleh PAL), oksidasi menjadi asam 4-kumarat (oleh C4H), dan akhirnya aktivasi menjadi p-kumarol-KoA (4CL) dengan penambahan koenzim A (CoA) (Nabavi *et al.*, 2020).

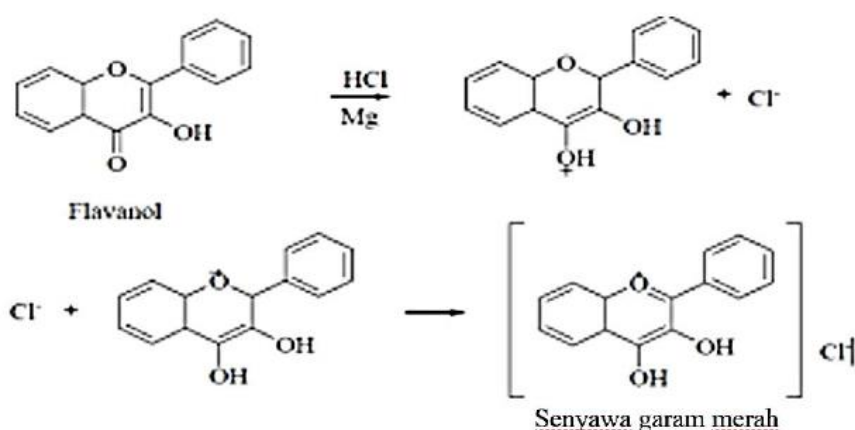
Biosintesis flavonoid pada tanaman tergantung pada spesiesnya, sekelompok enzim, seperti isomerase, reduktase, hidroksilase, dan beberapa dioksigenase yang bergantung pada $Fe^{2+}/2$ -oksoglutarat dapat memodifikasi kerangka dasar flavonoid sehingga menghasilkan beberapa sub kelompok yang berbeda. Jenis 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 yang terlokalisasi (Ferreya *et al.*, 2012).

2.4 Metode pengukuran flavonoid

Analisis flavonoid dapat dilakukan melalui uji kualitatif dan kuantitatif dengan spektrofotometer uv-vis. Uji kualitatif dilakukan dengan menambahkan logam magnesium (Mg) dan HCl pada senyawa flavonoid yang bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron dalam struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna jingga atau merah (Gambar 2.10) (Mukhriani dkk., 2019), sedangkan uji kuantitatif dengan menentukan jumlah atau kadar flavonoid yang terdapat dalam ekstrak melalui pengukuran nilai absorbansinya. Uji kuantitatif menggunakan hukum Lambert-Beer dalam membuat kuva kalibrasi atau standar, yakni

absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi. Berdasarkan hukum *Lambert-Beer* bahwa hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi akan linear apabila nilai absorbansi berkisar 0,2-0,8 maka akan terbentuk grafik garis lurus (Suhartati, 2017). Kadar flavonoid dengan nilai absorbansi memiliki hubungan linear, yaitu semakin tinggi nilai absorbansinya maka kadar flavonoid juga semakin tinggi (Neldawati dkk., 2013).

Senyawa flavonoid bersifat polar sehingga butuh pelarut yang dapat mengikat senyawa bersifat polar (Verdiana dkk., 2018). Kadar flavonoid diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis karena senyawa flavonoid mengandung gugus terkonjugasi sehingga mampu menyerap sinar pada daerah uv-vis (Harborne, 1987). Spektrum flavonoid biasanya diukur dalam larutan dengan pelarut metanol atau etanol. Namun, spektrum yang dihasilkan dalam etanol kurang memuaskan (Endarini, 2016).



Gambar 2.10. Reaksi flavonoid terhadap Mg dan HCl (Mukhriani dkk., 2019)

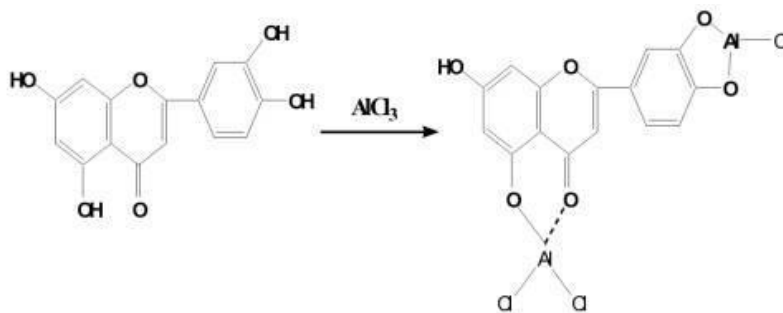
Teknik kuantifikasi flavonoid berdasarkan pada kompleksasinya dengan aluminium klorida (AlCl_3) dan penentuan spektrofotometri kompleks yang

terbentuk, yang memberikan perpindahan batokromik dan efek hiperkromik (Da Silva *et al.*, 2015). Adanya ion logam (AlCl_3) berguna untuk mengamati pergeseran batokromik dalam spektrum penyerapan flavonoid. Pembentukan kompleks menyebabkan pergeseran batokromik di kedua pita serapan I (dalam kisaran 300-400 nm) dan II (sekitar 250 nm), dan pergeseran itu dibalik dengan meningkatkan keasaman medium. Perilaku serupa diamati untuk semua subkelas flavonoid yang memiliki gugus 5-hidroksil-4-keto, 3-hidroksil-4-keto dan/atau dihidroksil, menunjukkan bahwa gugus ini penting untuk khelasi. Pergeseran merah ini disebabkan oleh peningkatan efek konjugasi ketika kompleks terbentuk untuk memberikan cincin beranggota 5 atau 6 baru dengan logam antara gugus fungsi 3-hidroksi- dan keto atau 5-hidroksi- dan keto (Attia, 2014).

Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi aluminium klorida (AlCl_3). Kolorimetri merupakan metode mengukur warna suatu zat sebagai perbandingan menggunakan cahaya putih sebagai sumber cahaya untuk membandingkan absorpsi cahaya relatif terhadap suatu zat. Metode tersebut memiliki kelebihan, yaitu dapat menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Bassett *et al.*, 1978).

Prinsip metode kolorimetri aluminium klorida adalah aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus keto C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 dari golongan flavon dan flavonol (Gambar 2.11). Selain itu, aluminium klorida membentuk kompleks asam labil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau B dari senyawa flavonoid. Secara umum, senyawa kompleks aluminium klorida dengan gugus fungsi lebih banyak dan lebih kuat diserap pada λ_{415} nm, serta menunjukkan penyerapan maksimum pada

panjang gelombang yang lebih panjang. Kompleks tambahan yang terbentuk antara aluminium klorida dan gugus hidroksil berdekatan pada cincin B tidak hanya mempengaruhi spektrum serapan, tetapi juga meningkatkan absorbansi pada $\lambda 415$ nm (Chang *et al.*, 2002). Berdasarkan penelitian Chang *et al.* (2002) quersetin memberikan pembacaan absorbansi tinggi kedua diantara 15 larutan standar, yaitu sebesar 0.451 dengan metode kolorimetri (AlCl_3) pengukuran menggunakan spektrofotometer pada $\lambda 415$ nm.



Gambar 2.11. Reaksi pembentukan kompleks flavonoid-aluminium klorida (AlCl_3) (Makuasa & Ningsih, 2020)

Larutan standar baku menggunakan kuersetin. Larutan kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga sehingga dengan adanya gugus tersebut akan menyebabkan pembentukan senyawa kompleks AlCl_3 dan kuersetin yang memberikan efek batokromik, yaitu pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih panjang sehingga mengubah panjang gelombang kuersetin untuk masuk ke dalam range panjang gelombang uv-vis (Riwanti dkk., 2020). Hasilnya dapat dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (mgQE/g ekstrak) (Mukhriani dkk., 2019).

Senyawa flavonoid merupakan komponen antioksidan penting yang bertanggung jawab untuk mendegradasi radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas (Aryal *et al.*, 2019). Posisi dan jumlah gugus hidroksil pada struktur flavonoid dapat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Dewi dkk., 2014). Menurut Adawiah dkk. (2015) senyawa flavonoid mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH (*2,2-difenil-1-pikril hidrazil*) sehingga dapat menstabilkan senyawa DPPH yang tereduksi.

2.5 Antioksidan

Antioksidan secara kimia merupakan senyawa pemberi elektron. Antioksidan secara biologi adalah senyawa yang dapat mencegah atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat terhambat (Winarti, 2010). Antioksidan merupakan zat pada konsentrasi rendah atau tertentu secara signifikan mampu mencegah atau menghambat oksidasi substrat, seperti protein, lipid, DNA dan RNA (Isnindar dkk., 2011). Antioksidan dapat memutus rantai reaksi radikal bebas dengan mendonorkan elektronnya tanpa menjadi radikal bebas reaktif (Dontha, 2016).

Antioksidan adalah agen yang dapat membatasi pengaruh dari reaksi oksidasi dalam tubuh secara langsung dengan mereduksi radikal bebas dan secara tidak langsung dengan mencegah terjadinya pembentukan radikal. Antioksidan bersifat efektif dalam mencegah atau menghambat degradasi akibat proses reaksi oksidasi (Sayuti & Yenrina, 2015) dengan menetralkan radikal bebas baik dalam tubuh maupun dalam suatu produk farmasi dan makanan sehingga dapat berperan untuk meningkatkan masa simpan suatu produk serta mengurangi penyakit,

seperti kanker, penuaan dan peradangan (Ashraf *et al.*, 2015). Tubuh memproduksi antioksidan secara alami sebagai mekanisme perlindungan terhadap paparan radikal bebas (Sayuti & Yenrina, 2015).

Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan kompleks berupa antioksidan enzimatis dan non enzimatis alami yang dapat melawan pengaruh negatif dari radikal bebas dan oksidan lainnya. Radikal bebas dapat menyebabkan berbagai penyakit, seperti kanker, kardiovaskular, gangguan saraf, alzheimer, gangguan kognitif ringan, parkinson, kolitis ulseratif, penuaan dan aterosklerosis. Akan tetapi, asupan antioksidan yang cukup dapat mencegah atau menghambat radikal bebas (Harahsheh, 2017).

Antioksidan terdiri atas dua macam, yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan produksi tubuh dalam jumlah terbatas. Apabila terbentuk banyak radikal bebas dalam tubuh maka tubuh tidak memiliki cadangan antioksidan berlebih (Sayuti & Yenrina, 2015). Antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang berasal dari luar tubuh dan tubuh memerlukannya untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih, seperti melalui asupan makanan (Casas-Grajales & Muriel, 2017) dan suplemen (Bouayed & Bohn, 2010).

Antioksidan eksogen terdapat dua macam, yaitu alami dan sintetis. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang berasal dari bahan tumbuhan, seperti herbal, rempah-rempah, biji-bijian dan sayuran (Lourenco *et al.*, 2019). Antioksidan alami dari bahan tumbuhan diantaranya, yaitu polifenol (asam fenolik, flavonoid, antosianin, lignan dan stilben), karotenoid (xantofil dan karoten), vitamin (C dan E) (Xu *et al.*, 2017), vitamin A, selenium, dan isoflavon (Sayuti & Yenrina, 2015). Secara umum, antioksidan alami dari golongan

polifenol dan karotenoid memiliki berbagai manfaat, seperti antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antipenuaan, dan antikanker (Xu *et al.*, 2017). Antioksidan sintetis adalah antioksidan produksi sintetis (hasil sintesa reaksi kimia) untuk tujuan komersial. Antioksidan sintetis biasanya berguna sebagai pengawet suatu produk atau makanan diantaranya, yaitu Butil Hidroksi Nisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Tersier Butil Hidroksi Quinon (TBHQ), propil galat, dan tokoferol (Sayuti & Yenrina, 2015).

Tabel 2.2 Kelebihan dan kekurangan antioksidan alami dan sintetis

| Antioksidan Alami | Antioksidan Sintetis |
|--|--|
| Mahal | Murah |
| Penggunaan khusus untuk beberapa produk | Penggunaan umum |
| Aktivitas antioksidan cakupan luas | Aktivitas antioksidan sedang-tinggi |
| Bahan yang tidak berbahaya | Perlu adanya keamanan |
| Jangkauan daya kelarutan yang luas | Daya larut air rendah |
| Penggunaannya terus meningkat dan berkembang | Penggunaannya dibatasi untuk beberapa produk |
| Meningkatkan daya Tarik | Mengurangi daya Tarik |

(Pokorny *et al.*, 2001)

Alkil menggantikan antioksidan fenolik sintetis untuk meningkatkan kelarutannya dalam lemak dan minyak (Pokorny *et al.*, 2001). Beberapa penelitian melaporkan bahwa antioksidan sintetis memiliki pengaruh toksik dan bersifat karsinogen dalam penggunaan jangka panjang terhadap kesehatan manusia (Bouayed & Bohn, 2010), seperti alergi kulit, masalah saluran pencernaan, dan meningkatkan risiko kanker. Antioksidan sintetis pada dosis tinggi dapat menyebabkan degradasi DNA dan menginduksi penuaan dini (Lourenco *et al.*,

2019). Batas penggunaan antioksidan sintetis utama, yaitu 0,02 % dari kandungan lemak atau minyak (Sayuti & Yenrina, 2015). Karena adanya pengaruh toksik yang dirasakan dari antioksidan sintetis dan beberapa bakteri mengalami resistensi terhadap antibiotik sehingga beralih dengan penggunaan antioksidan alami dan senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan (Ashraf *et al.*, 2015).

Antioksidan memiliki dua macam kelompok, yaitu enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis merupakan metaloenzim yang aktivitasnya bergantung dengan ion logam, berperan sebagai sistem pertahanan dari paparan stres oksidatif contohnya, glutathion peroksidase, superoksida dismutase (SOD), dan katalase (Sayuti & Yenrina, 2015). Stres oksidatif merupakan keadaan saat jumlah antioksidan dalam tubuh yang bertugas untuk menjaga homeostasis tidak seimbang dengan jumlah radikal bebas (Casas-Grajales & Muriel, 2017).

Stres oksidatif terjadi sebab tidak seimbang antara produksi dan akumulasi spesies oksigen reaktif (ROS) dalam sel dan jaringan, serta kemampuan sistem biologis untuk mendetoksifikasi produk reaktif tersebut. Tubuh menghasilkan ROS sebagai produk samping dari metabolisme oksigen dan berperan dalam pensinyalan sel. Namun, produksi dan akumulasi ROS dapat meningkat sebab stressor lingkungan (radiasi sinar UV, pengion, polutan, dan logam berat) dan xenobiotik (obat antiblastik) (Pizzino *et al.*, 2017). Stres oksidatif dapat mengakibatkan berbagai penyakit, seperti diabetes, kanker, penyakit saraf, hati dan lain-lain (Casas-Grajales & Muriel, 2017).

Antioksidan non enzimatis terbagi dalam dua kelompok yaitu (Sayuti & Yenrina, 2015):

- a. Antioksidan larut lemak, yaitu bilirubin, flavonoid, tokoferol, quinon, dan karotenoid.
- b. Antioksidan larut air, yaitu protein pengikat logam dan asam askorbat.

Antioksidan memiliki fungsi dan mekanisme kerja yang terbagi menjadi tiga kelompok sebagai berikut (Sayuti & Yenrina, 2015):

- 1) Antioksidan primer: bereaksi dengan radikal lipid sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Bekerja dengan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum senyawa radikal bebas bereaksi untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru. Contohnya, yaitu protein pengikat logam, Superoksida Dismutase (SOD), katalase, dan Glutation Peroksidase (GPx).
- 2) Antioksidan sekunder: bekerja dengan mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal, dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Prinsip kerjanya, yaitu memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau menangkapnya (*scavenger free radical*) sehingga radikal bebas tidak dapat bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder berperan sebagai penyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen, pengikat ion logam, pengurai hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, dan penangkap oksigen. Contohnya, albumin, isoflavon, bilirubin, β -karoten, vitamin E, dan vitamin C.

- 3) Antioksidan tersier: bekerja dengan memperbaiki biomolekul yang rusak sebab radikal bebas. Contohnya, metionin sulfida reductase dan enzim-enzim yang memperbaiki DNA.

Antioksidan memiliki lima mekanisme sebagai berikut (Pokorny *et al.*, 2001):

1. *Radical scavenger*/penangkapan radikal bebas: bekerja dengan menetralkan radikal bebas yang tertangkap sehingga jumlah radikal menjadi berkurang. Senyawa yang berfungsi sebagai penangkap radikal disebut Antioksidan. Metode yang digunakan, yaitu ABTS (2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) atau TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*), dan DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil).
2. *Reducing power* (daya mereduksi): bekerja dengan menetralkan oksidan menggunakan reduktor. Senyawa yang mampu menetralkan oksidan melalui jalur reduksi disebut antioksidan. Metode yang digunakan adalah FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).
3. *Lipid peroxidation inhibition*: bekerja dengan menghambat peroksidasi lipid supaya tidak terjadi pembentukan radikal. Metode yang digunakan adalah *β -carotene bleaching*.
4. Pengkelatan logam/*chelating agent*: bekerja dengan membentuk kelat antara logam berat yang mengkatalisis reaksi oksidasi dengan suatu ligan (antioksidan) supaya tidak menginisiasi terjadinya katalisis reaksi oksidasi atau pembentukan radikal. Logam berat merupakan promotor penting oksidasi lipid karena dapat mengkatalisis dekomposisi hidroperoksida lipid menjadi radikal bebas. Mengelasi ion logam berat ke dalam kompleks yang tidak aktif

dapat meningkatkan stabilitas lemak, minyak, dan lemak makanan. Contoh agennya: EDTA (*Ethylene diamine tetra-acetic acid*), flavonoid, asam fosfat, sitrat, dan senyawa maillard.

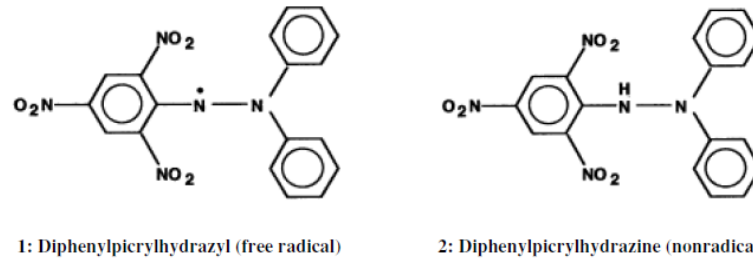
5. Sinergis: bekerja dengan meningkatkan aktivitas antioksidan atau penguatan satu sama lain menghasilkan inhibitor yang bekerja secara kooperatif selama oksidasi. Contoh antioksidannya: asam askorbat dan sitrat.

2.6 Metode DPPH

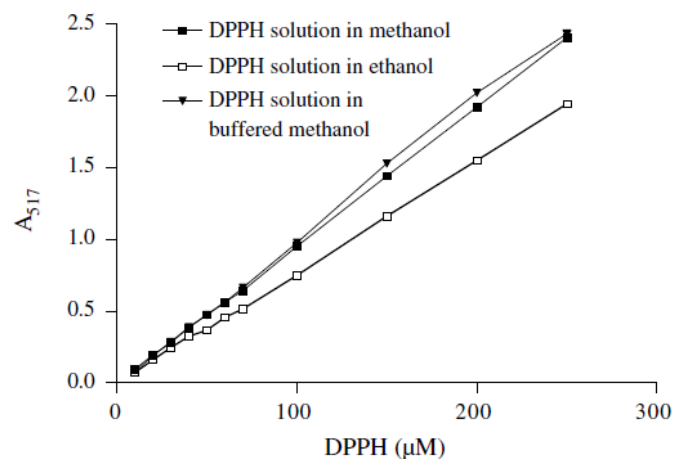
Metode DPPH merupakan pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat, mudah untuk skrining aktivitas penangkapan radikal bebas beberapa senyawa, tidak membutuhkan banyak reagen, terbukti akurat, reliabel dan praktis (Sayuti & Yenrina, 2015). Larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga bersifat non-radikal. Ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan bisa diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan. Senyawa tersebut peka terhadap oksigen, pH, dan cahaya. Prinsip pengujian ini, yaitu ekstrak sampel diukur serapan cahayanya dan dihitung aktivitas antioksidannya dengan persentase inhibisi (Molyneux, 2004). DPPH mempunyai struktur kimia yang terdapat pada Gambar 2.12.

Pelarut organik yang dapat digunakan dalam ekstraksi adalah heksana, diklorometana, etil asetat, etanol dan metanol. Namun, DPPH dapat dilarutkan dalam suatu pelarut polar, seperti metanol dan etanol (Sayuti & Yenrina, 2015). Hal tersebut sesuai dengan Gambar 2.13 mengenai hubungan antara jenis pelarut untuk melarutkan DPPH dengan nilai absorbansinya sehingga diketahui bahwa

DPPH paling stabil atau paling sensitif jika diukur dengan larutan metanol terbufer, kemudian metanol, dan etanol (Sharma & Bhat, 2009).



Gambar 2.12. Struktur kimia (1) radikal bebas DPPH, (2) DPPH non radikal (Molyneux, 2004)

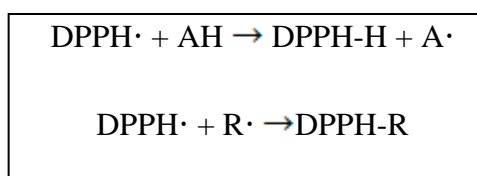


Gambar 2.13. Larutan DPPH pada absorbansi λ_{517} nm dalam pelarut metanol, etanol dan metanol terbufer (Sharma & Bhat, 2009)

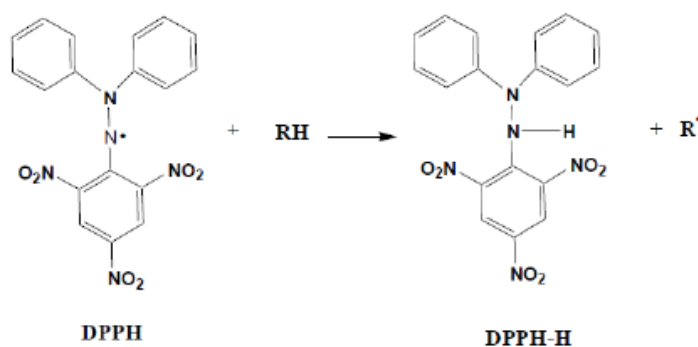
DPPH dicirikan sebagai radikal bebas yang stabil berdasarkan delokalisasi elektron cadangan atas molekul secara keseluruhan sehingga molekul tidak mengalami dimerisasi, seperti yang akan terjadi pada sebagian besar radikal bebas lainnya. Delokalisasi elektron juga menimbulkan warna ungu yang ditandai dengan pita serapan berpusat di sekitar 517 nm. Ketika larutan DPPH dicampur dengan substrat (AH) yang dapat mendonorkan atom hidrogen maka hal ini dapat

menimbulkan bentuk tereduksi dengan hilangnya warna ungu (Gambar 2.15 dan 2.16) (Alam *et al.*, 2013).

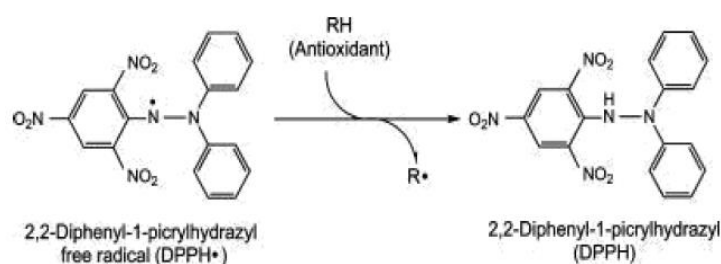
Reaksi penangkapan radikal bebas DPPH dengan antioksidan sebagai berikut (Pokorny *et al.*, 2001):



Gambar 2.14. Reaksi DPPH dengan antioksidan, AH=antioksidan dan R=spesies radikal (Pokorny *et al.*, 2001)



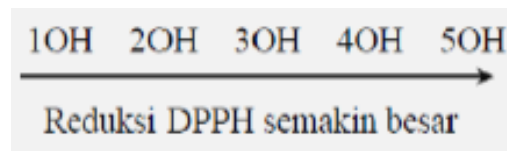
Gambar 2.15. Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Prakash *et al.*, 2001)



Gambar 2.16. Reaksi antara DPPH (radikal bebas) dan antioksidan (Moon & Shibamoto, 2009)

Peredaman warna DPPH disebabkan oleh adanya senyawa yang dapat memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi. Reduksi

DPPH menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil. Senyawa-senyawa hidroksil didalam ekstrak etanol akan terpisah menggunakan kromatografi kolom menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil. Oleh karena itu, terjadi pengurangan jumlah hidrogen yang dapat didonorkan dari fraksi pada DPPH. Semakin banyak gugus hidroksil bebas yang dapat menyumbangkan hidrogen maka semakin banyak pula reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH (Gambar 2.17) (Sayuti & Yenrina, 2015).



Gambar 2.17. Orientasi besarnya reduksi DPPH oleh gugus hidroksil (Sayuti & Yenrina, 2015)

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen (%) penghambatan. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus sebagai berikut (Sayuti & Yenrina, 2015):

$$\text{Daya Antioksidan} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil pada serapan kuat $\lambda 517$ nm dengan warna violet gelap. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan, kemudian hilangnya warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sayuti & Yenrina, 2015). Evaluasi potensi antioksidan dengan nilai IC50, yaitu konsentrasi ekstrak/fraksi/senyawa/sampel uji yang memberikan persen aktivitas penangkapan radikal DPPH sebesar 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis

regresi linear (Pokorny *et al.*, 2001). Sumbu y sebagai persentase inhibisi dan sumbu x sebagai konsentrasi fraksi antioksidan. Nilai 50% dimasukkan ke persamaan kurva y , sedangkan nilai x dihitung sebagai konsentrasi IC50-nya. Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin rendah nilai IC50 (Molyneux, 2004).

Tabel 2.3 Klasifikasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50

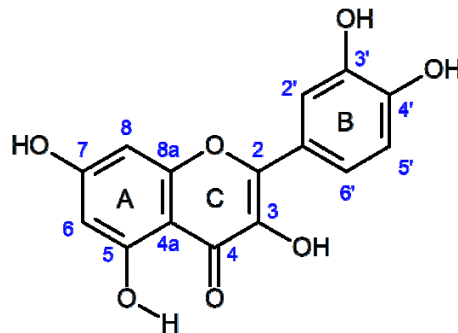
| IC50 | Klasifikasi |
|-------------|-------------|
| <50 ppm | Sangat Kuat |
| 50-100 ppm | Kuat |
| 100-150 ppm | Sedang |
| 150-200 ppm | Lemah |

(Molyneux, 2004)

2.7 Kuersetin

Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) (Gambar 2.18) merupakan salah satu flavonoid kelas flavonol yang tidak diproduksi dalam tubuh manusia. Kuersetin adalah bentuk aglikon yang berasal dari glikosida flavonoid. Warnanya kuning dan sukar larut dalam air panas, cukup larut dalam alkohol dan lemak, dan tidak larut dalam air dingin. Kuersetin digunakan sebagai suplemen nutrisi dan memiliki beberapa manfaat, seperti melindungi kardiovaskular, antikanker, antitumor, antiulkus, antialergi, antivirus, aktivitas antiinflamasi, antidiabetes, gastroprotektif, antihipertensi, imunomodulator, dan antiinfeksi. Kuersetin juga

dapat melindungi eritrosit dari degradasi membran yang disebabkan oleh merokok. (David *et al.*, 2016).



Gambar 2.18. Struktur kuersetin (Attia, 2014)

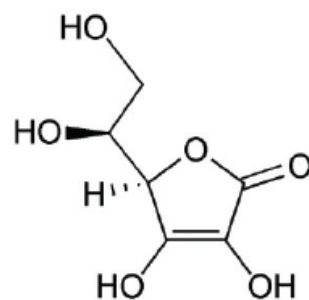
Kuersetin memiliki kelarutan dan bioavailabilitasnya yang tinggi sehingga dapat menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat setelah membentuk kompleks untuk membentuk beberapa sediaan baru yang digunakan untuk perawatan kesehatan manusia (Xu *et al.*, 2019). Kuersetin bertindak sebagai pertahanan kedua antioksidan yang menghambat inisiasi rantai oksidasi dan mencegah propagasi rantai. Kuersetin dapat memberikan perlindungan terhadap degradasi jaringan iskemik reperfusi. Kuersetin mencegah degradasi jaringan salah satunya dengan mencegah radikal bebas secara langsung. Pemulungan radikal bebas oleh kuersetin dapat menghambat oksidasi LDL secara *in vitro* sehingga dapat melindungi dari aterosklerosis (Lakhanpal & Rai, 2007).

Menurut Makuasa & Ningsih (2020) Kuersetin merupakan salah satu senyawa flavonoid yang paling efektif menangkap radikal bebas (radikal hidroksil, superoksida dan peroksil) dan menghambat berbagai reaksi oksidasi karena dapat menghasilkan radikal fenolik yang distabilkan oleh efek resonansi dari cincin aromatik. Terbentuknya warna kuning pada larutan standar kuersetin

menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam larutan standar. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin pekat warna kuning yang dihasilkan.

2.8 Asam askorbat

Vitamin C (asam l-askorbat) adalah asam dibasic dengan kelompok enediol yang dibangun menjadi cincin lakton heterosiklik beranggota lima (Gambar 2.19). Asam askorbat merupakan senyawa organik yang dapat larut dalam air dan bertindak sebagai buffer redoks yang dapat mengurangi atau menetralkan spesies oksigen reaktif. Asam askorbat dapat bertindak sebagai prooksidan terutama dengan adanya logam transisi, seperti besi dan tembaga yang memulai berbagai reaksi radikal berbahaya. Asam askorbat juga dapat bertindak sebagai agen antioksidan yang kuat, efisien, murah, dan pada saat yang sama bertindak sebagai promotor radikal (Pehlivan, 2017).

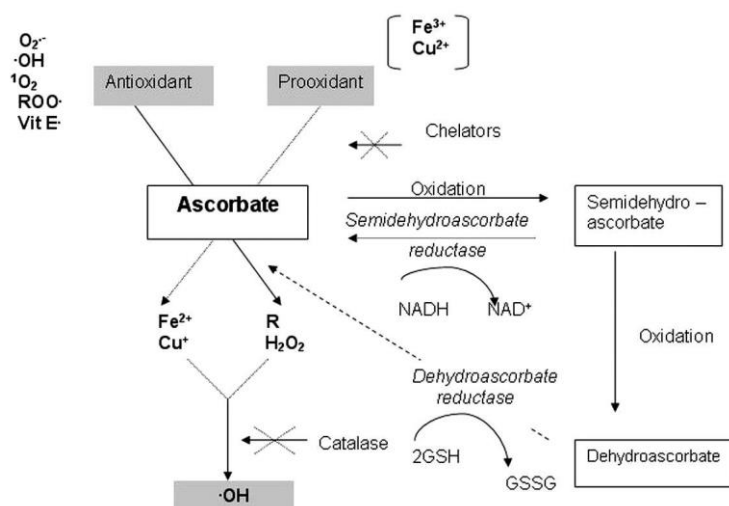


Gambar 2.19. Struktur asam askorbat (Pehlivan, 2017)

Asam askorbat merupakan agen pereduksi yang bertindak dengan cara mendonorkan elektron. Asam askorbat menyumbangkan dua elektron dari ikatan rangkap antara karbon kedua dan ketiga dari molekul 6-karbon. Asam askorbat disebut antioksidan karena dapat menyumbangkan elektronnya dan mencegah

senyawa lain teroksidasi. Namun, asam askorbat sendiri teroksidasi dalam prosesnya (Padayatty *et al.*, 2003).

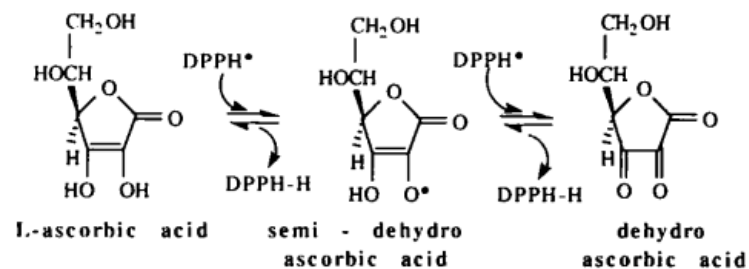
Asam askorbat merupakan penangkal radikal bebas yang baik karena dapat mereduksi radikal bebas reaktif sehingga radikal bebas berkurang reaktivitasnya dan radikal askorbil yang terbentuk menjadi kurang reaktif. Spesies yang terbentuk setelah kehilangan satu elektron adalah radikal bebas, asam semidehidroaskorbat atau radikal askorbil (Gambar 2.20) (Padayatty *et al.*, 2003). Reaksi asam askorbat dengan DPPH sangat cepat dan dapat selesai dalam beberapa menit (Brand-Williams *et al.*, 1995). Asam askorbat adalah salah satu agen pereduksi ampuh dan pemulung radikal bebas spesies turunan oksigen berbahaya, seperti radikal hidroksil, hidrogen peroksida (H_2O_2), dan oksigen singlet.



Gambar 2.20. Asam askorbat-antioksidan dan potensi sifat prooksidan (Al-Dalaen & Al-Qtaitat, 2014)

Asam askorbat dapat berguna sebagai kofaktor untuk enzim yang terlibat dalam mengatur fotosintesis, biosintesis hormon, regenerasi antioksidan lain,

dapat mengatur pembelahan dan pertumbuhan sel, terlibat dalam transduksi sinyal, dan berperan dalam beberapa proses fisiologis, seperti stimulasi kekebalan, sintesis kolagen, hormon, neurotransmitter, dan penyerapan zat besi, serta detoksifikasi logam berat dalam tubuh (Pehlivan, 2017). Aktivitas antioksidan pada vitamin C membantu mencegah penyakit tertentu, seperti kanker, kardiovaskular, pilek, degenerasi otot terkait usia, dan katarak (Devaki & Raveendran, 2017).



Gambar 2.21. Reaksi asam askorbat dan asam isoaskorbat masing-masing mereduksi dua molekul DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang dilakukan untuk mengetahui perbandingan kadar flavonoid total dengan metode AlCl_3 (kolorimetri) dan nilai IC_{50} aktivitas antioksidan dengan metode DPPH 0,4 mM pada ekstrak etanol 70% daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep menggunakan alat spektrofotometer uv-vis.

3.2 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2021-Januari 2022. Pengambilan sampel daun bidara dilakukan di kebun bidara Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur dan Kecamatan Ciranjang, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Aplikasi Kimia dan Pelayanan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jatinangor.

3.3 Alat dan bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut: kantong plastik, 1 buah gunting, kertas label, 1 set alat tulis, 1 unit blender (Mitochiba CH 200), 1 buah pipet tetes, 1 buah mikropipet vol. 20-200 μL (Eppendorf Research), 1 buah mikropipet vol. 10-1000 μL (Eppendorf Research), tip kuning vol. 200 μL , tip biru vol. 1000 μL , 16 buah tabung reaksi (Pyrex), 2 buah rak tabung reaksi, 1 buah gelas ukur vol. 10 mL (Pyrex), 1 buah gelas ukur vol. 100 mL (Pyrex), 1 buah gelas *beaker* vol. 10 mL (Pyrex), 3 buah gelas *beaker* vol. 25 mL (Pyrex), 1 buah gelas *beaker* vol. 50 mL (Pyrex), 2 buah gelas *beaker* vol. 500 mL (Pyrex), 2

buah gelas *beaker* vol. 1000 mL (Pyrex), 5 buah labu ukur vol. 10 mL (Pyrex), 5 buah labu ukur vol. 25 mL (Pyrex), 2 buah labu *erlenmeyer* vol. 250 mL (Pyrex), 2 buah botol vial gelap vol. 20 mL, 2 buah botol labor vol. 1 L, 2 buah spatula *stainless steel*, 1 buah ayakan 60 mesh *stainless steel*, kertas saring Whatman no. 1 diameter 125 mm, 2 buah corong kaca 50 mm (Pyrex), 2 buah toples maserasi vol. 1,5 L, 1 unit timbangan digital (SF-400), 1 unit neraca digital (Mettler Toledo AL204), 1 buah kaca arloji, sarung tangan, masker, tissue, *aluminium foil* (Klin pak), 1 unit *rotary evaporator* (Buchi R-210/B-491), 2 buah kuvet kaca, 2 buah kuvet plastik vol. 1 mL dan 1 unit spektrofotometer uv-vis (Shimadzu UV-1800).

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut: 1,5 kg daun bidara (*Z. mauritiana* Lamk.) Cianjur dan Sumenep, 78,8 mL aquades, 93,25 mL etanol teknis, 10 mg kuersetin (Sigma Aldrich, USA), 1 gr aluminium klorida heksahidrat ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 10% (Merck, Jerman), 1,36 gr sodium asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 1 M (Merck, Jerman), 4 mL HCl 37% (Merck, Jerman), 1,57 mg DPPH (*2,2-difenil 1-pikril hidrazil*) 0,4 mM (Sigma Aldrich, USA), 197,4 mL metanol teknis, 2 L etanol 70%, 1 gr serbuk magnesium (Merck, Jerman) dan 10 mg asam askorbat (Merck, Jerman).

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Determinasi tanaman

Sampel daun bidara yang diperoleh dari kebun bidara Sumenep dan Cianjur, dideterminasi di Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-LIPI, Bogor, Jawa Barat.

3.4.2 Preparasi sampel

Tiap sampel daun bidara sebanyak 1,5 kg dicuci dan dikeringkan pada suhu ruang selama beberapa hari (5 hari) (Khaleel *et al.*, 2016). Daun bidara kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (Abu-Raghif *et al.*, 2017) dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Selanjutnya, serbuk sampel siap untuk diekstraksi.

3.4.3 Ekstraksi daun bidara (Haeria dkk., 2016 yang dimodifikasi)

Simplisia daun bidara masing-masing ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam toples maserasi. Tiap sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 750 mL dan diaduk selama 10 menit. Sampel disimpan pada suhu ruang selama 3x24 jam dan setiap hari diaduk selama 10 menit. Setelah tiga hari ekstrak disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat pertama dan residu.

Ampas atau residu diekstraksi kembali dengan etanol 70% sebanyak 250 mL selama 24 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring sehingga diperoleh filtrat kedua. Seluruh filtrat dikumpulkan dalam wadah dan dimasukkan ke dalam botol labor, kemudian filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan skala kecepatan 3-4 selama 6 jam sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat kemudian dimasukkan ke dalam botol vial, ditimbang, dan dihitung rendemennya menggunakan rumus sebagai berikut (Wijaya dkk., 2018):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (gr)}}{\text{Bobot simplisia sebelum diekstraksi (gr)}} \times 100\%$$

3.4.4 Uji fitokimia flavonoid (Harborne, 1987)

Ekstrak pekat masing-masing daun bidara sebanyak 100 mg dilarutkan dengan 1 mL pelarut etanol 70% di dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL

HCl pekat kemudian dikocok kuat, kemudian ditambahkan 0,5 gr serbuk magnesium dan dikocok kuat. Sampel terdeteksi positif flavonoid apabila terdapat buih dengan intensitas banyak dan perubahan warna menjadi jingga pada larutan.

3.4.5 Uji kadar total flavonoid

3.4.5.1 Pembuatan larutan $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10%

Aluminium klorida heksahidrat ditimbang sebanyak 1 gr dan dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 mL.

3.4.5.2 Pembuatan larutan $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1M

Sodium asetat trihidrat ditimbang sebanyak 1,36 gr dan dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 10 mL.

3.4.5.3 Pengukuran larutan standar kuersetin

Kuersetin sebanyak 10 mg ditimbang dan dilarutkan dengan 10 mL etanol teknis dalam labu ukur sebagai larutan stok kuersetin konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, dibuat seri konsentrasi larutan standar kuersetin 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm dalam labu ukur vol. 10 mL. Tiap seri konsentrasi larutan kuersetin sebanyak 500 μl dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian masing-masing ditambahkan 100 μl aluminium klorida heksahidrat 10%, 100 μl sodium asetat trihidrat 1 M dan 2800 μl aquades (Haeria dkk., 2016).

Campuran tersebut dihomogenkan, kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, tiap seri konsentrasi larutan kuersetin dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur dengan spektrofotometer uv-vis pada $\lambda 415$ nm sebanyak tiga kali dan dicatat nilai absorbansi tiap sampel (Chang *et al.*, 2002). Selanjutnya, dibuat kurva standar (Ashraf *et al.*, 2015) dengan menghubungkan

nilai absorbansi sebagai koordinat (Y) dan konsentrasi larutan kuersetin sebagai absis (X) sehingga diperoleh garis regresi persamaan linear.

3.4.5.4 Pengukuran kadar flavonoid total dalam ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep

Ekstrak masing-masing daun bidara ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan 10 mL etanol teknis dalam labu ukur sehingga diperoleh larutan stok uji konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, tiap sampel uji sebanyak 500 µl dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 100 µl aluminium klorida heksahidrat 10%, 100 µl sodium asetat trihidrat 1 M dan 2800 µl aquades. Setelah diinkubasi selama 30 menit (Haeria dkk., 2016) pada suhu ruang, kemudian tiap sampel dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimum kuersetin 415 nm (Chang *et al.*, 2002) sebanyak tiga kali dan dicatat nilai absorbansi tiap sampel. Kadar flavonoid total dinyatakan sebagai jumlah miligram kuersetin ekuivalen tiap gram ekstrak (mg QE/g ekstrak) dan dihitung menggunakan rumus kadar flavonoid metode kolorimetri sebagai berikut (Mukhriani dkk., 2019):

$$KTF = \frac{c \cdot v \cdot fp}{g}$$

Keterangan: c = Konsentrasi sampel (mg/mL)
v = Volume ekstrak (mL)
fp = Faktor pengenceran
g = Berat ekstrak (g)

3.4.6 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

3.4.6.1 Pembuatan larutan stok DPPH 0,4 mM

DPPH sebanyak 1,57 mg ditimbang dan dilarutkan dengan 10 mL metanol teknis dalam gelas *beaker* yang ditutup dan dilapisi permukaannya dengan *aluminium foil*, kemudian disimpan pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya.

3.4.6.2 Pembuatan larutan stok uji ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep

Ekstrak pekat masing-masing daun bidara sebanyak 15 mg dilarutkan ke dalam 15 mL pelarut metanol teknis, kemudian dihomogenkan sehingga diperoleh larutan stok uji konsentrasi 1000 ppm.

3.4.6.3 Pembuatan larutan asam askorbat (pembeding)

Asam askorbat sebanyak 10 mg ditimbang dan dilarutkan dengan pelarut metanol teknis sebanyak 10 mL dalam gelas *beaker*, kemudian dihomogenkan sehingga diperoleh larutan stok asam askorbat konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, diencerkan menjadi konsentrasi 0.5, 1, 1.5, 2, dan 2.5 ppm dengan dipipet larutan stok sebanyak 12.5, 25, 37.5, 50, dan 62.5 μ L, kemudian tiap variasi konsentrasi asam askorbat ditambahkan metanol teknis sampai tanda batas pada labu ukur vol. 25 mL.

3.4.6.4 Pengukuran larutan asam askorbat

Larutan asam askorbat tiap variasi konsentrasi dipipet sebanyak 800 μ L dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 200 μ L DPPH 0,4 mM dan dihomogenkan lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, tiap variasi konsentrasi larutan asam askorbat dimasukkan ke dalam kuvet vol. 1 mL dan diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis pada λ 517 nm sebanyak tiga kali serta dicatat nilai absorbansi tiap sampel.

3.4.6.5 Pengukuran larutan kontrol

Larutan stok DPPH 0,4 mM sebanyak 200 μ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan metanol teknis sebanyak 800 μ L dan permukaan tabung reaksi dilapisi serta ditutup *aluminium foil*, kemudian dihomogenkan dan

diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, larutan kontrol dimasukkan ke dalam kuvet vol. 1 mL dan diukur serta dicatat nilai absorbansi sebanyak tiga kali menggunakan spektrofotometer uv-vis pada $\lambda 517$ nm (Sharma & Bhat, 2009) sehingga diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Yulia & Ranova, 2019).

3.4.6.6 Pengukuran larutan uji ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep

Larutan uji masing-masing ekstrak dibuat konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 ppm dengan dipipet larutan stok uji ke dalam tabung reaksi secara berturut-turut sebanyak 25, 50, 75, 100, 125 μ l dan pelarut metanol teknis secara berturut-turut sebanyak 775, 750, 725, 700, 675 μ l, kemudian tiap sampel ditambahkan 200 μ l DPPH 0,4 mM lalu ditutup dan dilapisi permukaan tabung reaksi dengan *aluminium foil*. Selanjutnya, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, kemudian tiap sampel dimasukkan ke dalam kuvet vol. 1 mL dan diukur serta dicatat nilai absorbansi sebanyak tiga kali menggunakan spektrofotometer uv-vis pada $\lambda 517$ nm (Sharma & Bhat, 2009).

3.4.6.7 Analisis aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan yang diperoleh dapat diketahui melalui perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut (Sayuti & Yenrina, 2015):

$$\text{Daya Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Selanjutnya, melalui nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi sampel uji berupa ekstrak daun bidara dan larutan asam askorbat (sebagai pembanding) yang memberikan persen aktivitas penangkapan radikal DPPH senilai 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linear (Pokorny *et al.*, 2001).

3.5 Analisis data

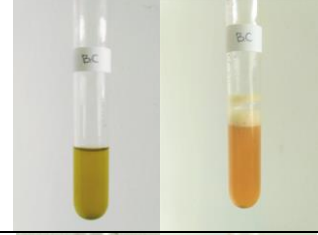
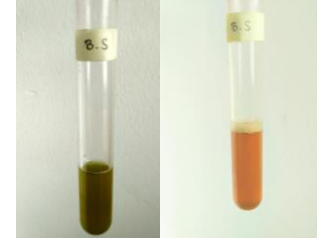
Data yang diperoleh pada penelitian ini diolah untuk dianalisis secara deskriptif. Data hasil uji kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dianalisis dan dibandingkan dengan kurva standar regresi linear, kemudian data uji kadar flavonoid dikorelasikan dengan aktivitas antioksidan untuk mendapatkan persamaan regresi linear berupa R^2 yang menunjukkan seberapa besar hubungan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan menggunakan Microsoft Excel 2016. Selanjutnya, dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk dan korelasi parsial menggunakan IBM SPSS Statistics ver. 26 (Wardani dkk., 2020) untuk mengetahui hubungan antara flavonoid total dan aktivitas antioksidan dengan lokasi tumbuh.

**BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil uji kadar flavonoid ekstrak daun bidara

Uji fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa kimia tertentu dalam suatu tumbuhan. Uji senyawa flavonoid menggunakan larutan HCl pekat dan logam Mg pada ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep. Hasil dari uji pendahuluan flavonoid secara kualitatif terdapat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Uji fitokimia flavonoid daun bidara asal Cianjur dan Sumenep

| Sampel ekstrak daun bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk.) | Gambar sebelum dan sesudah pengujian | Flavonoid | Keterangan |
|--|---|-----------|---|
| Cianjur |  | + | Berbuih dan berubah warna dari hijau menjadi jingga |
| Sumenep |  | + | Berbuih dan berubah warna dari hijau menjadi jingga |

Berdasarkan hasil uji fitokimia flavonoid pada Tabel 4.1 menunjukkan adanya banyak buih dan perubahan warna dari hijau menjadi jingga pada sampel sehingga mengartikan bahwa daun bidara asal Cianjur dan Sumenep mengandung senyawa flavonoid. Hasil ini didukung oleh Mukhriani dkk. (2019) bahwa penambahan larutan HCl pekat dapat mengakibatkan reaksi oksidasi reduksi

antara logam Mg sebagai pereduksi dengan senyawa flavonoid sehingga inti benzopiron dalam struktur flavonoid tereduksi dan terjadi perubahan warna jingga atau merah. Menurut Sudira *et al.* (2019) uji flavonoid dengan pereaksi wilstater, yaitu penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis senyawa flavonoid menjadi aglikon melalui hidrolisis O-glikosil. H⁺ dari asam akan menggantikan glikosil yang bersifat elektrofilik. Reaksi reduksi logam Mg dan HCl pekat menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton. Kandungan flavonoid berpotensi sebagai antioksidan yang dapat berkhasiat sebagai obat diabetes melitus, influenza H1N1, hipertensi, kanker, kardiovaskular, osteoporosis, alzheimer, parkinson, dan mencegah aterosklerosis (Panche *et al.*, 2016).

Allah *Subhanahu wa Ta'ala* memberikan keberkahan kepada para makhluk-Nya melalui ciptaan-Nya yang dapat memberikan berbagai manfaat salah satunya tentang hikmah penciptaan tumbuhan dalam Qur'an surat Thaha ayat 53-54, Allah *Subhanahu wa Ta'ala* berfirman:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَوَّلَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ۝۳ كُلُوا وَارْعَوْا أَنْعَامَكُمْ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّأُولِي النَّهْيِ ۝۴

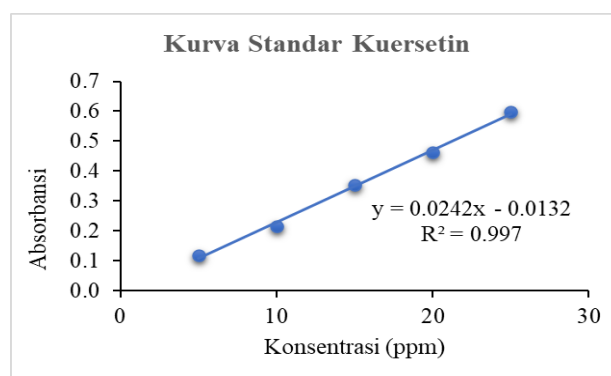
Artinya: “(Dialah Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan dan meratakan jalan-jalan di atasnya bagimu serta menurunkan air (hujan) dari langit. Kemudian, Kami menumbuhkan dengannya (air hujan itu) beraneka macam tumbuh-tumbuhan (53). Makanlah dan gembalakanlah hewan-hewanmu! Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang berakal (54)” (QS: Thaha [20]: 53-54).

Tafsir pada penggalan ayat “*azwaajan min nabatin syattaa*” dalam Tafsir Al Misbah menurut Shihab (2002) segala macam tumbuhan diciptakan untuk

manusia agar dapat memanfaatkannya dengan baik sehingga termasuk ke dalam golongan orang-orang yang menggunakan akalnyanya dalam berfikir. Allah memberikan pelajaran melalui penciptaan segala sesuatu agar manusia dapat mengambil manfaat. Salah satunya bidara mengandung flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan dan dapat menghambat banyak reaksi oksidasi (Siregar, 2020), seperti bekerja pada pembuluh darah untuk mencegah aterosklerosis (komplikasi utama pada penderita diabetes) (Diallo *et al.*, 2004). Daunnya mengandung saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid yang saling sinergi bekerja menghambat pembentukan ROS dan protein amiloid β sehingga memiliki aktivitas proteksi berbagai sel tubuh (renal, liver, dan neuro protektor). Daunnya juga memiliki aktivitas analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi karena kandungan flavonoid yang bekerja melalui dua mekanisme dalam menghambat faktor peradangan, yaitu sebagai antidepresan karena kandungan alkaloid dan flavonoid, serta sebagai antimikroba karena kandungan fenolat dan flavonoid yang memiliki manfaat sebagai pengawet daging alami (Siregar, 2020).

Penetapan uji kadar flavonoid total ekstrak daun bidara menggunakan metode kolorimetri, penambahan reagen aluminium klorida ($AlCl_3$) (Bassett *et al.*, 1978) dan CH_3COONa (Haeria dkk., 2016) dengan mengukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer pada $\lambda 415$ nm (Chang *et al.*, 2002). Tahap pertama dengan membuat kurva standar (Ashraf *et al.*, 2015) dengan menghubungkan nilai absorbansi sebagai koordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar sebagai absis (X) untuk mendapatkan persamaan regresi dan koefisien korelasi sehingga dapat mengetahui linearitas atau tidak (Makuasa & Ningsih, 2020). Larutan standar uji kadar flavonoid total menggunakan serbuk kuersetin

dengan membuat larutan dalam seri konsentrasi, yaitu 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Kemudian, mengukur nilai absorbansi dari tiap seri konsentrasi sehingga memperoleh persamaan regresi linear yang berguna untuk membuat kurva standar kuersetin dan sebagai penetapan kadar total flavonoid sampel daun bidara. Hasil kurva standar kuersetin terdapat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Kurva standar kuersetin

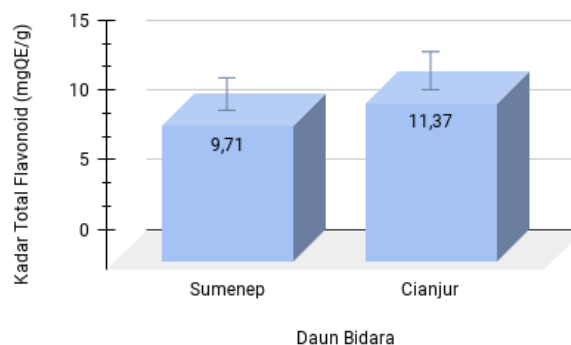
Berdasarkan kurva standar kuersetin pada Gambar 4.1 menunjukkan bahwa kadar total flavonoid menghasilkan persamaan $y = 0.0242x - 0.0132$ dengan nilai $R^2 = 0.997$ yang mendekati 1 menunjukkan kurva standar linear dan terdapat intensitas korelasi sangat kuat antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai absorbansi. Koefisien korelasi atau nilai R merupakan nilai yang berguna untuk mengetahui arah dan tingkat keeratan (intensitas) hubungan antara dua variabel atau lebih. Nilai positif dan negatif menentukan arah hubungan, sedangkan besarnya angka koefisien korelasi menyatakan lemah atau kuatnya hubungan. Korelasi positif terjadi saat suatu variabel menyebabkan peningkatan variabel lain, sedangkan korelasi negatif terjadi saat suatu variabel menyebabkan penurunan variabel lain. Angka koefisien korelasi menyatakan intensitas korelasi, yaitu 0

sampai 1 untuk korelasi positif dan 0 sampai -1 untuk korelasi negatif. Interpretasi koefisien korelasi sebagai berikut: 0,000-0,199 memiliki intensitas korelasi sangat rendah, 0,200-0,399 memiliki intensitas korelasi rendah, 0,400-0,599 memiliki intensitas korelasi sedang, 0,600-0,799 memiliki intensitas korelasi kuat, dan 0,800-1,000 memiliki intensitas korelasi sangat kuat (Sugiyono, 2012).

Koordinat X pada kurva menunjukkan konsentrasi kuersetin dan koordinat Y menunjukkan nilai absorpsi. Berdasarkan hukum *Lambert-Beer* bahwa hubungan antara absorpsi dengan konsentrasi akan linear apabila nilai absorpsi berkisar 0,2-0,8 maka akan terbentuk grafik garis lurus (Suhartati, 2017). Menurut Makuasa & Ningsih (2020) kuersetin termasuk senyawa flavonoid yang paling efektif dalam menangkap radikal bebas (radikal hidroksil, superoksida dan peroksil) dan menghambat berbagai reaksi oksidasi karena efek resonansi dari cincin aromatik dapat menghasilkan radikal fenolik yang stabil. Terbentuknya warna kuning pada larutan standar kuersetin menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang semakin tinggi konsentrasinya maka semakin pekat warna kuning yang dihasilkan. Reaksi flavonoid dengan sitroborat atau pereaksi aluminium klorida akan membentuk kompleks yang berwarna kuning (Mabry *et al.*, 1970). Analisis kadar total flavonoid menggunakan persamaan kurva standar kuersetin ($y = 0.0242x - 0.0132$) dan rumus KTF atau TFC. Hasil analisis kadar total flavonoid daun bidara terdapat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil penetapan kadar total flavonoid ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep

| Daun Bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk.) | Ulangan | Absorbansi | Rata-rata Absorbansi | Kadar Total Flavonoid (mg QE/g) | Rata-rata KTF (mg QE/g) | Kadar Total Flavonoid (%) |
|---|---------|------------|----------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Cianjur | 1 | 0.253 | 0.262 | 11.00 | 11.37 | 1.14 |
| | 2 | 0.263 | | 11.41 | | |
| | 3 | 0.270 | | 11.70 | | |
| Sumenep | 1 | 0.210 | 0.222 | 9.22 | 9.71 | 0.97 |
| | 2 | 0.227 | | 9.93 | | |
| | 3 | 0.228 | | 9.97 | | |



Gambar 4.2. Perbandingan kadar total flavonoid ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep

Berdasarkan Tabel 4.2 dan Gambar 4.2 hasil penetapan kadar total flavonoid ekstrak daun bidara menunjukkan bahwa daun bidara asal Cianjur memperoleh kadar lebih tinggi, yaitu sebesar 11,37 mgQE/g, dibandingkan dengan daun bidara asal Sumenep sebesar 9,71 mgQE/g. Nilai rata-rata absorbansi juga menunjukkan bahwa ekstrak daun bidara asal Cianjur memiliki absorbansi lebih tinggi, yaitu sebesar 0,262 dibandingkan daun bidara asal Sumenep sebesar 0,222. Menurut Neldawati dkk. (2013) nilai absorbansi memiliki hubungan linear dengan kadar

flavonoid, yaitu semakin tinggi nilai absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid pada daun semakin tinggi. Analisis data menggunakan kurva kalibrasi dapat mengkonversi ke rumus TFC dalam bentuk persen sehingga dapat diketahui dalam 1 gram ekstrak kadar flavonoid pada bidara asal Cianjur sebesar 1,14 % dan bidara asal Sumenep sebesar 0,97 %.

Hasil uji total flavonoid daun bidara tertinggi berasal dari lokasi tumbuh Kecamatan Ciranjang Kabupaten Cianjur yang memiliki ketinggian 200-316 mdpl dengan kemiringan tanah 0-40 % (BPS, 2017). Menurut Bermana (2006) ketinggian relatif pada 200-500 m termasuk topografi perbukitan dan kemiringan lereng sebesar 21-55% termasuk kategori lereng curam. Menurut Laily *et al.* (2012) perbedaan ketinggian tempat dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman sehingga serangkaian proses metabolisme pada tanaman tersebut juga akan terganggu dan senyawa dari hasil proses tersebut akan berbeda pada setiap ketinggian tempat.

Dataran Kabupaten Cianjur menerima spektrum cahaya yang sesuai untuk fotosintesis karena berada di tingkat atas, sedangkan Kabupaten Sumenep hanya menerima intensitas cahaya matahari yang lebih banyak, yaitu sebesar 29,29-100 % (BPS, 2021) karena berada pada dataran rendah tetapi tidak menerima spektrum cahaya yang sesuai untuk fotosintesis. Menurut Shafiq *et al.*, (2021) cahaya dapat mempengaruhi fotosintesis tanaman karena dapat mendorong metabolisme karbon. Terdapat dua komponen cahaya yang sangat mempengaruhi fotosintesis tanaman, yaitu kualitas cahaya dan intensitas cahaya.

Cahaya biru (425-490 nm) dan cahaya merah (610-700 nm) sebagai spektrum cahaya terbaik untuk fotosintesis tanaman, sementara jumlah cahaya

hijau yang sangat rendah (520-610 nm) diserap oleh tanaman. Cahaya merah (*Red*) berkontribusi pada pengembangan aparatus fotosintesis dan menginduksi transformasi dalam sistem fotokromik sehingga memengaruhi morfogenesis. Cahaya merah jauh (*Far Red*) berkontribusi minimal pada fotosintesis tanaman karena penyerapannya yang buruk oleh daun dan eksitasi yang tidak seimbang dari dua fotosistem (Fotosistem I dan II). Cahaya biru untuk mengatur proses fotosintesis, pembukaan stomata, foto-morfogenesis, pematangan kloroplas, dan biosintesis klorofil dan enzim. Cahaya hijau berkontribusi pada pertumbuhan tanaman dengan merangsang asimilasi karbon di bagian bawah tajuk tanaman karena dapat menembus lebih dalam pada dedaunan (Shafiq *et al.*, 2021).

Kecamatan Talango Kabupaten Sumenep terdapat pada ketinggian 20 mdpl dengan kemiringan tanah 30-60 % (Pemkab Sumenep, 2017). Menurut Bermana (2006) ketinggian relatif pada <50 m termasuk topografi dataran rendah dan kemiringan lereng sebesar 56-140% termasuk kategori lereng sangat curam. Menurut Chikmawati dkk. (2013) senyawa metabolit sekunder tiap tanaman berbeda-beda tergantung pada letak tumbuhnya. Tumbuhan yang tumbuh di lokasi berbeda akan memiliki kandungan metabolit sekunder yang berbeda, bervariasi antar spesies tumbuhan yang berbeda dan dalam spesies yang sama (Ashraf *et al.*, 2018).

Produksi metabolit sekunder tumbuhan memiliki faktor yang mempengaruhinya, yaitu faktor internal berupa gen dan faktor eksternal, berupa cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara tanah, ketinggian tempat (Katuuk dkk., 2019), usia tanaman, tipe tanah, iklim dan lingkungan (Tyassuma & Pasiak, 2019). Keadaan iklim berupa suhu di Kabupaten Cianjur dan Sumenep

memiliki perbedaan. Kabupaten Cianjur memiliki suhu rata-rata 19,9-22,3°C (BPS, 2022), sedangkan Kabupaten Sumenep memiliki suhu rata-rata 27,24-29,32°C (BPS, 2021). Menurut Yang *et al.* (2018) keadaan iklim berupa suhu secara signifikan dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder dan kenaikan suhu dapat meningkatkan semua metabolit sekunder dalam spesies tanaman, seperti suhu tinggi yang dapat menginduksi biosintesis alkaloid.

Intensitas penyinaran matahari di Kabupaten Cianjur dan Sumenep juga memiliki perbedaan. Kabupaten Cianjur memiliki intensitas penyinaran matahari sebesar 11,7-71,7 % (BPS, 2022), sedangkan Kabupaten Sumenep memiliki intensitas penyinaran matahari sebesar 29,29-100 % (BPS, 2021). Menurut Yang *et al.* (2018) iradiasi cahaya sangat diperlukan dalam proses biosintesis tanaman yang sedang tumbuh dengan faktor kunci meliputi fotoperiode (durasi), intensitas (kuantitas), arah, dan kualitas (frekuensi atau panjang gelombang) sehingga dapat mempengaruhi metabolit sekunder.

Flavonoid yang berperan sebagai antioksidan sebagian besar sintesisnya diinduksi oleh iradiasi UV (Rusalepp *et al.*, 2021). Kualitas cahaya juga dapat mempengaruhi sintesis senyawa bioaktif dan metabolisme sekunder tanaman (Yang *et al.*, 2018). Umek *et al.* (1999) melaporkan bahwa *Hypericum perforatum* yang tumbuh pada ketinggian 800 m memiliki kandungan rutin empat kali lipat lebih tinggi dibandingkan yang tumbuh pada ketinggian 200 m karena adanya perbedaan tingkat radiasi matahari.

4.2 Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara

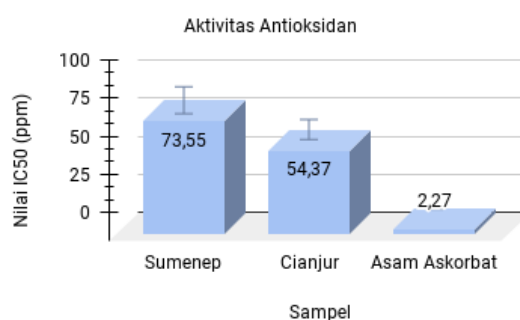
Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep menggunakan metode DPPH dengan larutan perbandingan (standar) asam askorbat dan menyiapkan seri konsentrasi larutan uji 25, 50, 75, 100, 125 ppm. Kemudian, inkubasi larutan selama 30 menit bertujuan agar reaksi antara larutan DPPH dan sampel berlangsung sempurna (Handayani dkk., 2020). mengukur nilai absorbansi dari tiap seri konsentrasi larutan uji menggunakan spektrofotometer uv-vis pada $\lambda 517$ nm. Prinsip pengujian ini adalah mengukur serapan cahaya pada ekstrak sampel dan menghitung aktivitas antioksidannya dengan persentase inhibisi (Molyneux, 2004). Hasil dari pengukuran IC50 ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep terdapat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Nilai IC50 aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara dan asam askorbat

| Sampel | | Persamaan Regresi | R | IC50 (ppm) | Kategori |
|---|---------|------------------------|--------|------------|-------------|
| Asam askorbat | | $y = 11.82x + 23.119$ | 0.9927 | 2.27 | Sangat kuat |
| Daun bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk.) | Cianjur | $y = 0.5166x + 21.912$ | 0.9706 | 54.37 | Kuat |
| | Sumenep | $y = 0.2967x + 28.178$ | 0.9672 | 73.55 | Kuat |

Tabel 4.3 menunjukkan nilai IC50 ekstrak daun bidara asal Cianjur lebih tinggi, yaitu sebesar 54,37 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan asal Sumenep sebesar 73,55 $\mu\text{g/mL}$ dan keduanya memiliki antioksidan dengan kategori kuat. Interpretasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50, yaitu nilai IC50 <50 ppm

termasuk kategori sangat kuat, 50-100 ppm kategori kuat, 100-150 ppm kategori sedang, dan 150-200 ppm kategori lemah (Molyneux, 2004). Koordinat X sebagai konsentrasi fraksi antioksidan dan koordinat Y sebagai persentase inhibisi. Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin rendah nilai IC50 (Molyneux, 2004). Evaluasi potensi antioksidan dengan nilai IC50, yaitu konsentrasi ekstrak atau sampel uji yang memberikan 50% aktivitas penangkapan radikal DPPH dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linear (Pokorny *et al.*, 2001). Perhitungan nilai IC50 dengan memasukkan persamaan $y = ab + b$. Hasil nilai IC50 ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep serta asam askorbat terdapat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Perbandingan nilai IC50 aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara dan asam askorbat

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa nilai IC50 ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep lebih besar daripada nilai IC50 asam askorbat. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan menghambat aktivitas radikal bebas oleh ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep lebih rendah dibandingkan asam askorbat namun, keduanya termasuk dalam kategori kuat untuk menghambat

aktivitas radikal bebas. Kategori nilai IC50 dalam menghambat aktivitas radikal bebas pada tiap sampel terdapat pada Tabel 4.3.

DPPH merupakan radikal bebas stabil dengan elektron tidak berpasangan yang terdelokalisasi di seluruh molekul (Kedare & Singh, 2011) sehingga dapat berguna sebagai bahan dalam uji aktivitas antioksidan. Berdasarkan prinsip Blois (1958) antioksidan yang mengais radikal DPPH akan menghasilkan penurunan pembacaan penyerapan dari waktu ke waktu dan besarnya penurunan absorpsi DPPH sebanding dengan konsentrasi radikal yang ditangkap. Keuntungan dari uji DPPH adalah metode yang mudah, ekonomis dan cepat untuk mengevaluasi aktivitas radikal antioksidan non-enzimatik Uji DPPH mengacu pada reaksi transfer elektron dan transfer atom hidrogen (Prior *et al.*, 2005). Karena DPPH adalah radikal stabil, pengujian ini tidak hanya mempertimbangkan konsentrasi sampel yang diuji, tetapi juga waktu reaksi dan suhu (Liang & Kitts, 2014).

Radikal DPPH pada panjang gelombang 517 nm memberikan warna ungu atau violet. Penangkapan radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan dan memudarnya warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Reduksi DPPH menjadi DPPH-H karena adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil yang menyebabkan meredamnya warna DPPH. Semakin banyak gugus hidroksil bebas yang menyumbangkan hidrogen maka semakin banyak reduksi yang terjadi terhadap DPPH (Sayuti & Yenrina, 2015). Perubahan warna larutan dari ungu tua menjadi merah muda atau kuning pucat mengindikasikan kemampuan antioksidan dalam meredam radikal bebas (DPPH) (Molyneux, 2004). Reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan terdapat pada gambar

2.14, 2.15, dan 2.16 (Pokorny *et al.*, 2001; Prakash *et al.*, 2001; Moon & Shibamoto, 2009).

DPPH merupakan enzim dengan sisi aktif pengikat substrat yang menghasilkan suatu produk, sedangkan antioksidan merupakan inhibitor yang mengikat enzim sehingga bersifat stabil (Inayah, 2019). Senyawa flavonoid merupakan komponen antioksidan yang bertanggung jawab dalam mendegradasi radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogennya (Aryal *et al.*, 2019). Posisi dan jumlah gugus hidroksil pada struktur flavonoid dapat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Dewi dkk., 2014). Menurut Adawiah dkk. (2015) senyawa flavonoid mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH sehingga dapat menstabilkan senyawa DPPH yang tereduksi.

Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mencegah terjadinya radikal bebas sehingga dapat menghambat dan menetralkan ROS yang memicu proses melanogenesis. Penghambatan melanogenesis terjadi melalui penghambatan aktivitas tirosinase, yaitu mencegah atau menghambat pembentukan melanin. Tirosinase merupakan enzim yang memiliki peran dalam proses melanogenesis, yaitu pembentukan pigmen kulit. Inhibitor tirosinase merupakan penghambat reaksi enzimatik yang dapat menginhibisi tirosinase, yaitu reaksi pencoklatan (Sholikha dkk., 2020).

Allah *Subhanahu wa ta'ala* juga berfirman dalam Qur'an surat Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS: Asy-Syu'ara [26]: 7).

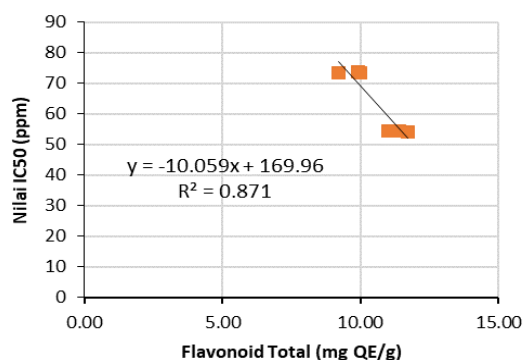
Makna dari kata “*zauj*” pada penggalan ayat “*min kulli zaujin kariim*” di atas memiliki dua penafsiran, yaitu tumbuhan dan pasangan dalam Tafsir Al Mishbah menurut Shihab (2002), yakni segala jenis tumbuhan subur lagi bermanfaat yang Allah tumbuhkan. Allah menciptakan tumbuhan yang beranekaragam jenis, rasa, warna dan manfaat yang dapat manusia gunakan sebagai bahan pangan, papan, sandang dan obat. Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam daun bidara dapat bermanfaat sebagai obat untuk mencegah aterosklerosis (komplikasi utama pada penderita diabetes) (Diallo *et al.*, 2004) karena kandungan flavonoidnya yang dapat menghambat reaksi oksidasi. Kandungan daunnya seperti, saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid saling sinergi bekerja dalam menghambat pembentukan ROS dan protein amiloid β sehingga dapat memproteksi berbagai sel tubuh (renal, liver, dan neuro protektor) (Siregar, 2020).

Ayat Al-Qur’an di atas juga menjelaskan bahwa Allah menciptakan segala sesuatu berpasangan. Menurut Shihab (2002) maksud ayat ini adalah pasangan tumbuhan. Allah menciptakan tumbuhan secara berpasangan (jantan dan betina) untuk proses tumbuh dan kembangannya. Tumbuhan yang memiliki putik dan benang sari dalam satu tumbuhan, tidak membutuhkan pejantan dari bunga lain dalam penyerbukannya, tetapi jika hanya memiliki salah satunya saja maka ia membutuhkan penyerbukan dari tumbuhan lain. Melalui ayat ini manusia diajak untuk memaksimalkan potensi akal dan pikirannya agar dapat mengambil manfaat dari segala sesuatu yang Allah ciptakan termasuk tumbuhan. Kadar flavonoid daun bidara selaras dengan aktivitas antioksidan karena menurut Adawiah dkk.

(2015) semakin tinggi kandungan flavonoid maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

4.3 Korelasi antara kadar total flavonoid dengan aktivitas antioksidan

Korelasi antara kadar total flavonoid masing-masing sampel terhadap nilai IC50 aktivitas antioksidan dapat diketahui melalui persamaan regresi linear sehingga diperoleh nilai R (koefisien korelasi) yang menunjukkan arah dan tingkat keeratan (intensitas) hubungan antara dua variabel (Sugiyono, 2012). Hasil korelasi antara kadar total flavonoid ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep dengan aktivitas antioksidan melalui persamaan regresi linear terdapat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Korelasi antara kadar total flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep

Berdasarkan Gambar 4.4 hubungan antara kadar total flavonoid (sumbu x) dan nilai IC50 aktivitas antioksidan (sumbu y) ekstrak daun bidara menghasilkan persamaan regresi linear $y = -10.059x + 169.96$ dengan nilai koefisien korelasi $R^2 = 0.871$ yang mendekati 1 menunjukkan terdapat intensitas korelasi sangat kuat (Sugiyono, 2012). Hal ini juga menunjukkan bahwa sebanyak 87,1 % aktivitas antioksidan dari ekstrak daun bidara asal Cianjur dan Sumenep karena kandungan

senyawa flavonoid serta sebanyak 12,9 % aktivitas antioksidan berasal dari metabolit sekunder lain, seperti tanin, triterpenoid (Palejkar *et al.*, 2012), saponin, alkaloid, dan fenol (Siregar, 2020). Menurut Adawiah dkk. (2015) semakin tinggi kandungan flavonoid maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Posisi dan jumlah gugus hidroksil pada struktur flavonoid juga dapat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan (Dewi dkk., 2014).

4.4 Korelasi antara kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan dengan lokasi tumbuh

Korelasi antara kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan dengan lokasi tumbuh dapat diketahui melalui uji korelasi parsial menggunakan IBM SPSS Statistics ver. 26 (Wardani dkk., 2020). Sebelum melakukan uji korelasi parsial perlu dilakukan uji normalitas Shapiro-Wilk. Berdasarkan output nilai df (derajat kebebasan) pada Lampiran 4 adalah 3, artinya jumlah sampel data untuk masing-masing kelompok kurang dari 50 sehingga penggunaan uji Shapiro-Wilk untuk mendeteksi normalitas data dalam penelitian ini sudah tepat. Output juga menunjukkan nilai Sig. kadar flavonoid bidara Sumenep sebesar 0.167, kadar flavonoid bidara Cianjur sebesar 0.831, daya antioksidan bidara Sumenep sebesar 0.146, dan daya antioksidan bidara Cianjur sebesar 0.977. Menurut Santoso (2014) data berdistribusi normal (simestris) dalam uji Shapiro-Wilk jika nilai Sig. lebih besar dari 0.05. Karena nilai Sig. untuk keempat kelompok tersebut > 0.05 maka dapat disimpulkan bahwa data kadar flavonoid dan daya antioksidan pada lokasi tumbuh di Sumenep dan Cianjur adalah berdistribusi normal.

Hasil uji korelasi antara kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan dengan lokasi tumbuh terdapat pada Lampiran 4. Pada tabel “Lokasi”

menunjukkan nilai korelasi antara Flavonoid dengan nilai IC50 setelah memasukkan variabel kontrol (Lokasi) ke dalam analisis. Output ini menunjukkan kenaikan nilai koefisien korelasi (*Correlations*) menjadi -0.996 dan nilai significance (2-tailed) sebesar $0.000 < 0.05$ yang mengartikan adanya hubungan negatif dengan kategori kuat sekali dan signifikan (nyata) antara kadar flavonoid dengan nilai IC50 dengan lokasi tumbuh sebagai variabel kontrol, yakni suatu lokasi atau lingkungan tumbuh dapat mempengaruhi kadar flavonoid yang semakin meningkat dan nilai IC50 yang makin menurun. Menurut Molyneux (2004) semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin rendah nilai IC50.

Kompetisi nutrisi antar tumbuhan dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder termasuk kadar flavonoid. Kondisi lingkungan tumbuh bidara di Kabupaten Cianjur dan Sumenep memiliki perbedaan karena bidara yang tumbuh di Kabupaten Cianjur berdampingan dengan tumbuhan lain, yaitu pohon kelapa dan mangga, sedangkan bidara yang tumbuh di Kabupaten Sumenep tidak berdampingan dengan tumbuhan lain atau tumbuh dengan spesies tumbuhan yang sama. Produksi metabolit sekunder dapat dipengaruhi oleh kompetisi antar tanaman sehingga berperan penting sebagai bentuk pertahanan (Matyssek *et al.*, 2005). Flavonoid pada tumbuhan berperan sebagai sistem pertahanan dari stres biotik dan abiotik, sebagai UV filter, molekul sinyal, senyawa allopathic, fitoaleksin, agen detoksifikasi, dan senyawa pertahanan antimikroba. Flavonoid juga memiliki peran tahan beku dan kekeringan, serta berperan fungsional dalam aklimatisasi panas tanaman dan toleransi pembekuan (Panche *et al.*, 2016).

Berdasarkan pembahasan dalam uji korelasi parsial menunjukkan bahwa kehadiran variabel lokasi tumbuh sebagai variabel kontrol akan memberikan

pengaruh terhadap hubungan antara variabel flavonoid dengan variabel IC50, yakni kondisi suatu lokasi atau lingkungan tumbuh dapat mempengaruhi kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara. Oleh karena itu, simpulan dari uji korelasi ini adalah variabel flavonoid bukan satu-satunya variabel yang menentukan nilai IC50 karena ada variabel lokasi tumbuh yang berhubungan dengan flavonoid.

4.5 Integrasi Al-Qur'an

Bidara termasuk salah satu tumbuhan ciptaan Allah yang mengandung senyawa flavonoid dan memiliki potensi aktivitas antioksidan. Allah *Subhanahu wa ta'ala* menyampaikan pesan-Nya melalui Qur'an surat Ali-Imran 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

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” (QS: Ali-Imran [3]: 191).

Ayat Qur'an di atas memiliki makna dalam Tafsir Tahlili, yaitu salah satu ciri orang berakal (*ulul albab*) adalah orang yang dapat memperhatikan sesuatu, mengambil manfaat dan hikmah, dapat menggambarkan kebesaran Allah, mengingat banyaknya nikmat yang Allah berikan kepadanya, serta dapat mengingat Allah dalam setiap keadaan sehingga tidak ada waktu yang terlewat secara percuma termasuk memikirkan tentang penciptaan alam semesta hingga dapat memahami bahwa segala sesuatu yang Allah ciptakan tidak ada yang sia-sia

(Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, 2011). Hikmah dari penciptaan bidara adalah potensinya sebagai obat yang dapat manusia manfaatkan dalam mengobati berbagai macam penyakit fisik maupun rohani (jiwa). Para praktisi ruqyah menggunakan bidara dalam proses ruqyah untuk mengatasi gangguan jin dan sihir pada tubuh manusia. Sementara itu, kaum muslim sejak zaman dahulu telah menggunakan daun bidara dalam proses ruqyah (Tyassuma & Pasiak, 2019). Bidara memiliki manfaat dalam pengobatan tradisional, seperti asma, alergi, depresi, diabetes, maag, peradangan (Ashraf *et al.*, 2015), anemia, hipertonia, nefritis, penyakit saraf, diabetes, tekanan darah tinggi, dan berbagai bentuk peradangan (Seri *et al.*, 2020).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian daun bidara asal Cianjur dan Sumenep terhadap uji fitokimia flavonoid, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar total flavonoid ekstrak etanol 70% daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) tertinggi berasal dari Cianjur, yaitu sebesar 11,37 mgQE/g ekstrak atau 1,14 %, sedangkan asal Sumenep sebesar 9,71 mgQE/g ekstrak atau 0,97 %. Karena dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuh yang berbeda, seperti ketinggian tempat dan iklim.
2. Aktivitas antioksidan tertinggi ekstrak etanol 70% daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) berasal dari Cianjur yang menunjukkan aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC50 sebesar 54,37 µg/mL, sedangkan daun bidara asal Sumenep dengan nilai IC50 sebesar 73,55 µg/mL. Keduanya termasuk memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat sebagai sumber antioksidan alami.
3. Kadar total flavonoid dengan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) memiliki korelasi sangat kuat dengan nilai R sebesar 0.871. Karena sebanyak 87,1 % aktivitas antioksidan berasal dari kandungan senyawa flavonoid, serta sebanyak 12,9 % aktivitas antioksidan berasal dari metabolit sekunder lain.
4. Kadar total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) terhadap lokasi tumbuh memiliki korelasi kategori kuat sekali dengan nilai sebesar -0.996. Karena lingkungan tumbuh

dapat mempengaruhi kadar flavonoid yang semakin meningkat dan nilai IC50 yang makin menurun (semakin tinggi aktivitas antioksidannya).

5.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Penelitian bidara pada perbedaan lokasi tumbuh dapat diamati juga lingkungan tumbuh bidara, seperti kandungan unsur hara tanah (khususnya C-organik, Phospat, N total), kadar air tanah, intensitas cahaya, suhu lingkungan, kelembapan, dan lingkungan sekitar tempat tumbuh.
2. Melakukan uji fitokimia lain yang berpotensi sebagai obat, seperti alkaloid, tanin, dan saponin.
3. Penelitian bidara secara tanaman tunggal dengan berbagai range ketinggian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. (1994). *Tafsir Ibnu Katsir*. Jilid 7. Terjemahan M. A. Ghoffar dan A. I. Al-Atsari. 2008. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abdullah. (1994). *Tafsir Ibnu Katsir*. Jilid 9. Terjemahan M. A. Ghoffar dan A. I. Al-Atsari. 2008. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abu-Raghif, A. R., Jasim, G. A. & Hanoon, M. M. (2017). Anti-Proliferative Activity of *Zizyphus Spina Christi* Leaves Methanol Extract Against Rhabdomyosarcoma (RD) Cell Line. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 9(2): 279-282. <http://dx.doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i2.15013>.
- Adawiah, D. Sukandar & Muawanah, A. (2015). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *J. Kim. Val.*, 1(2): 130-136. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3155>.
- Adhamatika, A. & Murtini, E. S. (2021). Pengaruh Metode Pengeringan dan Persentase Teh Kering Terhadap Karakteristik Seduhan Teh Daun Bidara (*Zizyphus mauritiana* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 9(4): 196-207.
- Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. & Tattini, M. (2012). Flavonoids as Antioxidants in Plants: Location and Functional Significance. *Plant Science*. 196: 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.07.014>.
- Akhtar, N., Ijaz, S., Khan, H. M. S., Uzair, B., Reich, A. & Khan, B. A. (2016). *Zizyphus mauritiana* Leaf Extract Emulsion for Skin Rejuvenation. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 15(5): 929-936. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v15i5.5>.
- Alam, M. N., Bristi, N. J. & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* Methods Evaluation of Antioxidant Activity. *Sau. Pharm. J.*, 21(2): 143-152. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>.
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R. & Koirala, N. (2019). Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*. 8(4), 96: 1-12. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>.
- Ashraf, A., Sarfraz, R. A., Anwar, F., Shahid, S. A. & Alkharfy, K. M. (2015). Chemical Composition and Biological Activities of Leaves of *Zizyphus mauritiana* L. Native to Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 47(1): 367-376.
- Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M. & Arif, M. S. (2018). Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants: an Overview. dalam P. Ahmad, M. A. Ahanger, V. P. Singh, D. K. Tripathi, P. Alam & M. N. Alyemini (Eds.). *Plant Metabolites and Regulation Under*

- Environmental Stress*. Academic Press. Hal. 153-167.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812689-9.00008-X>.
- Attia, E. M. H. (2014). Interaction of Quercetin-Uranium Complexes with Biomembranes and DNA. *Disertasi*. Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Technical University of Dresden. Germany.
- Awasthi, O. P. & More, T. A. (2009). Genetic Diversity and Status of Ziziphus in India. *Acta Hort.* 840: 33-40.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.840.2>.
- Azaizeh, H., Fulder, S., Khalil, K. & Said, O. (2003). Ethnobotanical Knowledge of Local Arab Practitioners in The Middle Eastern Region. *Fitoterapia*. 74: 98-108. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00285-X](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00285-X).
- Az-Zuhaili, W. (2018). *Tafsir Al-Munir: Aqidah, Syariah, Manhaj*. Jilid 11. Jakarta: Gema Insani.
- Backer C. A. & Van Den-Brink, RCB. Jr. (1965). *Flora of Java (Spermatophytes only)*, vol 2. Wolters-Noordhoff, Groningen. Hal. 641.
- Badan Pusat Statistik (BPS). (2017). Kecamatan Talango dalam Angka 2017. <https://sumenepkab.bps.go.id>. Diakses 9 Maret 2021.
- Badan Pusat Statistik (BPS). (2017). Ketinggian Wilayah dan Kemiringan Tanah Setiap Kecamatan di Kabupaten Cianjur 2015. <https://cianjurkab.bps.go.id>. Diakses 9 Maret 2021.
- Badan Pusat Statistik (BPS). (2021) Kabupaten Sumenep dalam Angka 2021. <https://sumenepkab.bps.go.id>. Diakses 2 April 2022.
- Badan Pusat Statistik (BPS). (2022) Kabupaten Cianjur dalam Angka 2022. <https://cianjurkab.bps.go.id>. Diakses 2 April 2022.
- Badan Pusat Statistik (BPS). (2022) Kabupaten Sumenep dalam Angka 2022. <https://sumenepkab.bps.go.id>. Diakses 2 April 2022.
- Bassett, J., Denney, R. C., Jeffery, G. H. & Mendham, J. (1978). *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Edisi Keempat. Terjemahan A. H. Pudjaatmaka dan L. Setiono. 1994. Jakarta: Buku Kedokteran E. G. C.
- Bermana, Ike. (2006). Klasifikasi Geomorfologi Untuk Pemetaan Geologi Yang Telah Dibakukan. *Bulletin of Scientific Contribution*. 4(2): 161-173.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by The Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 181(4617): 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>.

- Bouayed, J. & Bohn, T. (2010). Exogenous Antioxidants Double-edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses Versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 3(4): 228-237. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology.* 28(1): 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Casas-Grajales, S. & Muriel, P. (2017). The Liver Oxidative Stress, and Antioxidants. dalam P. Muriel (Ed.). *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants.* Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804274-8.00043-6>.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis.* 10(3): 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>.
- Chikmawati, T., Sopyati, P. D. & Miftahudin, M. (2013). Pertumbuhan dan Analisis Kualitatif Tanin, Saponin, dan Flavonoid dari *Selaginella plana*, *S. willdenovii*, dan *S. mayeri* pada Tiga Naungan Berbeda. *Bioslogos.* 3(1): 1-9. <https://doi.org/10.35799/jbl.3.1.2013.14503>.
- Chotimah, C. (2019). Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Kulit Batang Dadap Serep (*Erythrina subumbrans* (Hassk.) Merr.) Menggunakan Pelarut Yang Berbeda. *Skripsi.* Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Da Silva, L. A. L., Pezzini, B. R. & Soares, L. (2015). Spectrophotometric Determination of The Total Flavonoid Content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) Leaves. *Pharmacogn. Mag.* 11(41): 96-101. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.149721>.
- Dahiru, D. & Obidoa, O. (2008). Evaluation of The Antioxidant Effects of *Ziziphus mauritiana* Lam. Leaf Extracts Against Chronic Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Rat Liver. *Afr. J. Trad. CAM.* 5(1): 39-45. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v5i1.31254>.
- Dao, T. T. H., Linthorst, H. J. M. & Verpoorte, R. (2011). Chalcone Synthase and Its Functions in Plant Resistance. *Phytochem Rev.* 10: 397-412. <https://doi.org/10.1007/s11101-011-9211-7>.
- David, A. V. A., Arulmoli, R. & Parasuraman, S. (2016). Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn. Rev.* 10(20): 84-89. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194044>.

- Devaki, S. J. & Raveendran, R. L. (2017). Vitamin C: Source, Function Sensing and Analysis. dalam A. H. Hamza (Ed.). *Vitamin C*. Rijeka, Croatia: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70162>.
- Dewi, N. W. O. A. C., Puspawati, N. M., Swantara, I. M. D., Asih, I. A. R. A. & Rita, W. S. (2014). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia*. 2(1): 7-16.
- Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K. & Maiga, A. (2004). Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. *C. R. Chimie*. 7: 1073-1080. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2003.12.035>.
- Dontha, S. (2016). A Review on Antioxidant Methods. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 9(2): 14-32. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v9s2.13092>.
- Eber, J. & Hahlbrock, K. (1982). Biosynthesis. dalam J. B. Harborne & T. J. Mabry (Ed.). *The Flavonoids: Advances in Research*. London: Chapman and Hall. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2915-0_11.
- Endarini, L. H. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Fattah, M. H. A. (2016). *Mukjizat Herbal dalam Al-Qur'an, vol 1: Pohon-pohonan, Buah-buahan, Tumbuh-tumbuhan*. Jakarta: Mirqat.
- Ferreira, M. L. F., Rius, S. P. & Casati, P. (2012). Flavonoids: Biosynthesis, Biological Functions, and Biotechnological Applications. *Frontiers in Plant Science*. 3: 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00222>.
- Goyal, M., Nagori, B. P. & Sasmal, D. (2012). Review on Ethnomedicinal Uses, Pharmacological Activity and Phytochemical Constituents of *Ziziphus mauritiana* (*Z. jujube* Lam., non Mill). *Spatula DD*. 2(2): 107-116. <https://doi.org/10.5455/spatula.20120422080614>.
- Haeria, Hermawati & Andi, T. U. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *J. Pharm. Med. Sci.* 1(2): 57-61.
- Hanasaki Y., Ogawa, S. & Fukui, S. (1994). The Correlation Between Active Oxygens Scavenging and Antioxidative Effects of Flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*. 16(6): 845-850. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)90202-X](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)90202-X).

- Handayani, S., Najib, A., Wisdawati., & Khoiriyah, A. 2020. Aktivitas Antioksidan *Caulerpa lentillifera* J. Agardh dengan Metode Peredaman Radikal Bebas 1,1-diphenyl-2- picrylhydrazil. *Jurnal Kesehatan*. 13(1): 61-70.
- Harahsheh, S. M. A. (2017). Antioxidant Activity, Phenolic Content and Flavonoid Content of Palestinian *Ziziphus spina christi*. *Tesis*. Teknologi Terapan dan Industri Universitas Al-Quds. Yerusalem, Palestina.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Cetakan II. Terjemahan K. Padinawinata dan I. Suediro. Tanpa tahun. Bandung: Penerbit ITB.
- Hariana, A. (2006). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri 3. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Herbani, M. & Bintari, Y. R. (2017). In Silico Studies on Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Leaves Ethanol Extract Bioactive Ligands Compared to Acarbose Toward α -Glucosidase Enzyme. *JIMR-J. Islamic Med. Res.* 1(2): 1-9.
- Hidajati, N. & Rokhmania, S. N. (2019). Antioxidant and Phytochemical Test of *Ziziphus mauritiana* Ethanol Extract. *Atlantis Highlights in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. 1: 47-49.
- Inayah, I. (2019). Uji Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Biji Gayam (*Inocarpus fagiferus* (Park.) Forst.) Menggunakan Pelarut yang Berbeda. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Indriyani, N. L. P. (2017). Bidara, Sumber Daya Genetik yang Makin Langka. dalam I. W. Arsanti, C. Hermanto, E. Mansyah, R. Soehendi & M. T. Ratule (Eds.). *Iptek Hortikultura*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Hal. 51-54.
- Isnindar, Wahyuono, S. & Setyowati, E. P. (2011). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros kaki* Thumb.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3): 161-169.
- Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Katuuk, R. H. H., Wanget, S. A. & Tumewu, P. (2019). Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Cocos*. 1(4): 1-6.

- Kedare, S. B. & Singh, R. P. (2011). Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *Journal of Food Science and Technology*. 48(4): 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>.
- Khaleel, S. M. J., Jaran, A. S. & Haddadin, M. S. Y. (2016). Evaluation of Total Phenolic Leaf Extracts of *Ziziphus spina-christi* (Sedr) Grown in Jordan. *British Journal of Medicine & Medical Research*. 14(6): 1-8. <https://doi.org/10.9734/BJMMR/2016/24935>.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Kong, K. W. & Ismail, A. (2016). Phytochemicals and Medicinal Properties of Indigenous Tropical Fruits with Potential for Commercial Development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Hal. 1-20. <https://doi.org/10.1155/2016/7591951>.
- Korkina, L. G. & Afanas'ev, I. B. (1997). Antioxidant and Chelating Properties of Flavonoids. dalam Helmu Sies (Ed.). *Antioxidant in Disease Mechanisms and Therapy*, Advances in Pharmacology. London: Academic Press. 38: 151–163. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(08\)60983-7](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(08)60983-7).
- Kurniawan, H. & Pujiono, E. (2019). Allometri Biomassa Atas Tanah *Ziziphus mauritiana* Untuk Pendugaan Biomassa di Pulau Timor. *Jurnal FALOKA*. 3(2): 59-74. <https://doi.org/10.20886/jpkf.2019.3.2.59-74>.
- Ladeska, V. & Dingga, M. (2019). Kajian Farmakognosi dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Herba Nanas Kerang (*Tradescantia spathacea* Sw.). *J. Sains Farm. Klin*. 6(3): 254-264. <https://doi.org/10.25077/jsfk.6.3.254-264.2019>.
- Laily, A. N., Suranto & Sugiyarto. (2012). Characterization of *Carica pubescens* in Dieng Plateau, Central Java Based on Morphological Characters, Antioxidant Capacity, and Protein Banding Pattern. *Nus. Biosci*. 4(1): 16-21. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n040104>.
- Lajnah, Pentashihan Mushaf Al-Qur'an. (2011). *Al-Qur'an dan Tafsirnya (Edisi yang Disempurnakan)*. Jakarta: Departemen Agama RI.
- Lakhanpal, P. & Rai, D. K. (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*. 2(2): 22-37.
- Lev, E. & Amar Z. (2000). Ethnopharmacological Survey of Traditional Drugs Sold in Israel at The End of 20th Century. *Journal of Ethnopharmacology*. 72(1-2): 191-205.
- Leyva, A., Jarillo, J. A., Salinas, J., & Martinez-Zapater, J. M. (1995). Low Temperature Induces the Accumulation of Phenylalanine Ammonia-lyase and Chalcone Synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a Light Dependent Manner. *Plant physiology*. 108(1): 39-46.

- Liang, N. & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*. 19: 19180-19208. <https://doi.org/10.3390/molecules191119180>.
- Lourenco, S. C., Moldao-Martins, M. & Alves, V. D. (2019). Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. *Molecules*. 24(4132): 1-25. <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>.
- Mabry, T. J., Markham, K. R. & Thomas, M. B. (1970). *The Systematic Identification of Flavonoid*. New York: Springe-Verlag.
- Makuasa, D. A. A. & Ningsih, P. (2020). Analysis of Total Flavonoid Levels in Young Leaves and Old Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using UV-Vis Spectrofotometry Methods. *J. Appl. Sci. Eng. Technol. Educ.* 2(1): 11-17. <https://doi.org/10.35877/454RI.asci2133>.
- Matyssek, R., Agerer, R., Ernst, D., Munch, J. C., Osswald, W., Pretzsch, H., Priesack E., Schnyder H. & Treutter D. (2005). The Plant's Capacity in Regulating Resource Demand. *Plant Biology*. 7(6): 560-580.
- Memon, A. A., Memon, N., Bhangar, M. I. & Luthria, D. L. (2013). Assay of Phenolic Compounds from Four Species of Ber (*Ziziphus mauritiana* L.) Fruits: Comparison of Three Base Hydrolysis Procedure for Quantification of Total Phenolic Acids. *Food Chem.* 139: 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.065>.
- Mierziak, J., Kostyn, K. & Kulma, A. (2014). Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules*. 19(10): 16240-16265. <https://doi.org/10.3390/molecules191016240>.
- Mishra & Bathia. (2014). *Chinee Apple Indian Jujube Ziziphus mauritiana*. America: Queensland Government.
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Moon, J. K. & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J. Agric. Food Chem.* 57(5): 1655-1666. <https://doi.org/10.1021/jf803537k>.
- Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M. & Arsul, M. I. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L.). *ad-Dawaa' J. Pharm. Sci.* 2(2): 95-102. <https://doi.org/10.24252/djps.v2i2.11503>.

- Mulyanto, B. S. (2013). Kajian Rekomendasi Pemupukan Berbagai Jenis Tanah Pada Tanaman Jagung, Padi dan Ketela Pohon di Kabupaten Wonogiri. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Murniyati, Subaidah, W. A. & Ananto, A. D. (2021). Formulasi dan Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk) Menggunakan Metode DPPH. *LUMBUNG FARMASI; Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2(2): 96-102. <https://doi.org/10.31764/lf.v2i2.5491>.
- Muthmainnah, A. N. (2020). Formulasi dan Karakterisasi Sabun Mandi Cair dengan Ekstraksi Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*). *Skripsi*. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Nabavi, S. M., Samec, D., Tomczyk, M., Milella, L., Russo, D., Habtemariam, S., Sutar, I., Rastrelli, L., Daglia, M., Xiao, J., Giampieri, F., Battino, M., Sobarzo-Sanchez, E., Nabavi, S. F., Yousefi, B., Jeandet, P., Xu, S. & Shirooie, S. (2020). Flavonoid Biosynthetic Pathways in Plants: Versatile Targets for Metabolic Engineering. *Biotech. Adv.* 38: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.005>.
- Neldawati, Ratnawulan & Gusnedi. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*. 2: 76-83.
- Nurida, N. L. & Jubaedah. (2014). Teknologi Peningkatan Cadangan Karbon Lahan Kering dan Potensinya Pada Skala Nasional. dalam F. Agus, D. Subardja & Y. Soelaeman (Eds.). *Konservasi Tanah Menghadapi Perubahan Iklim*. Jakarta: IAARD Press. Hal. 53-81.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. & Simons, A. (2009). Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0. <https://www.worldagroforestry.org>. Diakses 10 April 2021.
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., Chen, S., Corpe, C., Dutta, A., Dutta, S. K. & Levine M. (2003). Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of The American College of Nutrition*. 22(1): 18-35. <https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>.
- Palejkar, C. J., Palejkar, J. H., Patel, A. J. & Patel, M. A. (2012). A Plant Review on *Ziziphus mauritiana*. *International Journal of Universal Pharmacy and Life Science*. 2(2): 203-211.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. & Chandra, S. R. (2016). Flavonoid: An Overview. *Journal of Nutritional Science (JNS)*. 5: 1-15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.

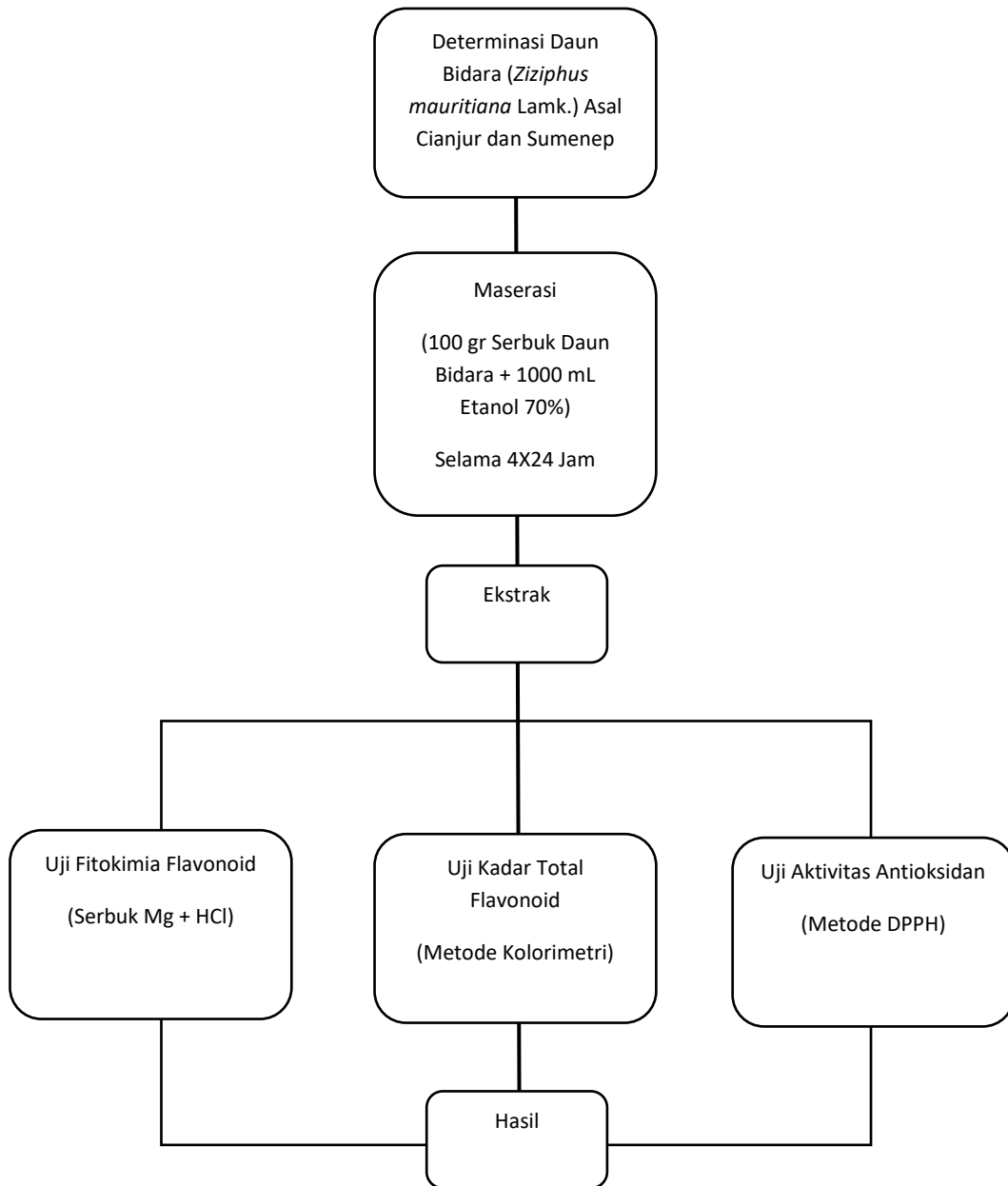
- Pasternak, D., Niklema, A., Ibrahim, A., Senbeto, D. & Djibrilla, I. (2016). How Domesticated *Ziziphus mauritiana* (Lam) Spread in The Sahel Region of Africa and in Ethiopia. *Chronica Horticulturae*. 56(1): 21-25.
- Patonay, T., Levai, A. & Nemes, C. (1996). Synthesis and Cyclization of 1-(2-Hydroxyphenyl)-2-propen-1-one Epoxides: 3-Hydroxy chromanones and -flavanones versus 2-(1-Hydroxyalkyl)-3-coumaranones. *J. Org. Chem.* 61(16): 5375-5383. <https://doi.org/10.1021/jo960163z>.
- Pehlivan, F. E. (2017). Vitamin C: An Antioxidant Agent. dalam A. H. Hamza (Ed.). *Vitamin C*. Rijeka, Croatia: IntechOpen. <https://dx.doi.org/10.5772/intechopen.69660>.
- Pemkab Sumenep. (2017). Rencana Pembangunan Jangka Menengah Daerah (RPJMD) Kabupaten Sumenep Tahun 2016-2021. <http://bappeda.sumenepkab.go.id>. Diakses 9 Maret 2021.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hal. 1-13. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. (Ed). (2001). *Antioxidant in Food: Practical Applications*. USA: CRC Press.
- Prakash, A., Rigelhof, F. & Miller, E. (2001). Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. 19(2): 1-4.
- Prior, R. L., Wu, X. & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for The Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10): 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>.
- Rahayu, E. S., Dewi, N. K. & Bodijantoro, F. P. M. H. (2018). Profile of *Elaeocarpus grandiflorus* and *Ziziphus mauritiana* As Identity Plants of Salatiga and Tegal Towns, Central Java Province, Indonesia. *J. Phys.: Conf. Ser.* 983. Hal. 1-7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/983/1/012195>.
- Rathore, S. K., Bhatt, S., Dhyani, S. & Jain, A. (2012). Preliminary Phytochemical Screening of Medicinal Plant *Ziziphus mauritiana* Lam. Fruits. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 4(3): 160-162.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. 9(2): 196-202.
- Riwanti, P., Izazih, F. & Amaliyah. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol Pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70, dan 96%

- Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*. 2(2): 82-95. <http://dx.doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.1>.
- Ross, J. A. & Kasum, C. M. (2002). Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition*. 22(1): 19-34. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.111401.144957>.
- Rusalepp, L., Lutter, R., Hepner, H., Kaasik, A., & Tullus, A. (2021). Secondary Metabolites in Leaves of Hybrid Aspen are Affected by The Competitive Status and Early Thinning in Dense Coppices. *Annals of Forest Science*. 78(1): 1-14.
- Samanta, A., Das, G. & Das, S. K. (2011). Roles of Flavonoids in Plants. *Int.J.Pharm.Sci.Tech*. 6(1): 12-35.
- Samirana, P. O., Putra, P. A. S. & Leliqia, N. P. E. (2017). Uji Penangkapan Radikal 2,2-difenil-1-pikril hidrazil dan Profil Bioautografi Ekstrak Etanol Kulit Batang Bidara (*Ziziphus mauritiana* Auct. Non Lamk.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 6(1): 55-61.
- Santoso, S. 2014. *Panduan Lengkap SPSS Versi 20 Edisi Revisi*. Jakarta: Elex Media Komputindo. Hal. 191.
- Sayuti, K. & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan, Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Seri, C. S., Okpekon, T. A., Yao-Kouassi, P. A., Magid, A. A., Sayagh, C., Voutquenne-Nazabadioko, L. (2020). Saponins and Flavonoid Glycosides from The Leaves of *Ziziphus mauritiana* Lam. Native of a Forest Area of Ivory Coast. *Phytochemistry Letters*. 37: 5-9. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.03.001>.
- Shafiq, I., Hussain, S., Raza, M. A., Iqbal, N., Asghar, M. A., Ali, R., Fan, Y. F., Mumtaz, M., Shoaib, M., Ansar, M., Manaf, A., Yang, W. F. & Yang, F. (2021). Crop Photosynthetic Response to Light Quality and Light Intensity. *Journal of Integrative Agriculture*. 20(1): 4-23.
- Shah, A., Marwat, S. K., Gohar, F., Khan, A., Bhatti, K. H., Amin, M., Din, N. U., Ahmad, M. & Zafar, M. (2013). Ethnobotanical Study of Medicinal Plants of Semi-Tribal Area of Makerwal & Gulla Khel (Lying between Khyber Pakhtunkhwa and Punjab Provinces), Pakistan. *American Journal of Plant Sciences*. 4: 98-116.
- Sharma, O. P. & Bhat T. K. (2009). Analytical Methods: DPPH Antioxidant Assay Revisited. *Food Chem*. 113(4): 1202-1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>.

- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Vol. 8. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Vol. 10. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir Al Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Vol. 13. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholikha, M., Febriani, A. & Wahyuningrum, A. (2020) Formulasi Gel Ekstrak Lobak (*Raphanus sativus* L.) sebagai Antioksidan dan Inhibitor Tirosinase. *Sainstech Farma*. 13(1): 15-20.
- Singh, O., Kaur, R. & Mahajan, R. K. (2017). Spectrochim Acta Part A: Molecular and Biomolecular. *Spectroscopy*. 170: 77-88.
- Siregar, M. (2020). Berbagai Manfaat Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Bagi Kesehatan di Indonesia. *Jurnal Pandu Husada*. 1(2): 75-81. <http://doi.org/10.30596/jph.v1i2.4415>.
- Sistem Informasi Perencanaan & Penganggaran (SIPPA). (2015). Rencana Program Investasi Jangka Menengah (RPI2JM) Kab. Cianjur Tahun 2015-2019. <https://sippa.ciptakarya.pu.go.id>. Diakses 9 Maret 2021.
- Sudira, I.W., Merdana, I. M. & Qurani, S. N. (2019). Preliminary Phitochemical Analysis of Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) as Antidiarrheal in Calves. *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*. 3(2): 21-24. <https://doi.org/10.24843/ATBES.2019.v03.i02.p01>.
- Sugiyono. (2012). *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: AURA.
- Thomas, A. N. S. (2004). *Tanaman Obat Tradisional 2*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tyassuma, T. & Pasiak, T. (2019). *Nutrisi Surgawi 7 Colors Garden*. Jakarta: Ahlina Institute.
- Umek, A., Kreft, S., Kartnig, T., & Heydel, B. (1999). Quantitative Phytochemical Analyses of Six Hypericum Species Growing in Slovenia. *Planta Medica*. 65(4): 388-390.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R. & Permana, I. D. G. M. (2018). Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap

- Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) (Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 7(4): 213-222.
- Wardani, Y. K., Kristiani, E. B. E. & Sucahyo. (2020). Korelasi Antara Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Senyawa Fenolik dan Lokasi Tumbuh Tanaman (*Celosia argentea* Linn.). *Bioma*. 22(2): 136-142.
- Wijaya, H., Novitasari & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 4(1): 79-83.
- Williams, R. J., Spencer, J. P. E. & Rice-Evans, C. (2004). Flavonoids: Antioxidants or Signalling Molecules?. *Free Radical Biology & Medicine*. 36(7): 838-849. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.001>.
- Winarti, S. (2010). *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Wong, E. (1976). Biosynthesis of Flavonoids. dalam T. W. Goodwin (Ed.). *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. London: Academic Press.
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J. & Li, H. B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *Int. J. Mol. Sci.* 18(96): 1-32. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>.
- Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q. & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*. 24(1123): 1-15. <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>.
- Yahia, Y., Benabderrahim, M. A., Tlili, N., Bagues, M. & Nagaz, K. (2020). Bioactive Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts from Different Plant Part of Two *Ziziphus* Mill. Species. *Plos One*. 15(5): 1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232599>.
- Yang, L., Wen, K. S., Ruan, X., Zhao, Y. X., Wei, F., & Wang, Q. (2018). Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental factors. *Molecules*. 23(4): 762.
- Yulia, M. & Ranova, R. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Berdasarkan Teknik Pengolahan. *Jurnal Katalisator*. 4(2): 84-90.
- Zozio, S., Servent, A., Casal, G., Mbeguie-A-Mbeguie, D., Ravion, S., Pallet, D. & Abel, H. (2014). Changes in Antioxidant Activity During the Ripening of Jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk). *Food Chem*. 150: 448-456. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.022>.

LAMPIRAN 1. ALUR PENELITIAN



LAMPIRAN 2. DETERMINASI TANAMAN



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(*INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES*)
PUSAT PENELITIAN KONSERVASI TUMBUHAN DAN KEBUN RAYA
(*Research Center For Plant Conservation And Botanic Gardens*)
Jalan Ir. H. Juanda No. 13, PO Box 309 Bogor 16003, Indonesia
Telepon +62 251 8322187; +62 251 8322220 Faximili +62 251 8322187

Nomor : B- 2469/III/KS.01.03/3/2021 Bogor, 31 Maret 2021
Sifat : -
Lamp. : -
Perihal : Identifikasi tanaman

Yth. Dr. Anton Prasetyo, M.Si
a. n Dekan Wakil Dekan Bidang Akademik
Fak. Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Malang 65144

Menindak lanjuti surat Saudara Nomor B-31.0/FST.01/TL.00/03/2021 tanggal 16 Maret 2021, dengan ini kami sampaikan hasil identifikasi berupa foto dan tanaman; akar, batang, ranting muda dan daun yang dikirim ke Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya – LIPI oleh :

N a m a : Farah Dhuha Ar Raihani
N I M : 16620104
Prodi : Sains dan Teknologi

adalah dari jenis :

| No. | Kode | Nama | Suku | Nama umum |
|-----|--------------------------|---------------------------------|------------|--------------------|
| 1. | bidara arab asal Sumenep | <i>Ziziphus mauritiana</i> Lam. | Rhamnaceae | bidara atau widara |
| 2. | bidara arab asal Cianjur | <i>Ziziphus mauritiana</i> Lam. | Rhamnaceae | bidara atau widara |

Demikian kami sampaikan dan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Kepala 
Dr. R. Hendrian, M.Sc.

LAMPIRAN 3. PERHITUNGAN, PEMBUATAN REAGEN DAN LARUTAN

1. Perhitungan Berat dan Rendemen Ekstrak

Berat Ekstrak Daun *Z. mauritiana* Cianjur: 0,46 gr = 460 mg

Berat Ekstrak Daun *Z. mauritiana* Sumenep: 0,06 gr = 60 mg

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (gr)}}{\text{Bobot simplisia sebelum diekstraksi (gr)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen Ekstrak Bidara Cianjur} = \frac{0,46 \text{ gr}}{100 \text{ gr}} \times 100\% = 0,46\%$$

$$\text{Rendemen Ekstrak Bidara Sumenep} = \frac{0,06 \text{ gr}}{100 \text{ gr}} \times 100\% = 0,06\%$$

2. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

$$\text{Larutan stok} = \frac{\text{Berat kuersetin (mg)}}{\text{Pelarut (mL)}} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{10.000 \mu\text{l/ml}}{10 \text{ mL}} = 1000 \text{ ppm}$$

Pengenceran stok kuersetin 1000 ppm menjadi 5, 10, 15, 20, 25 ppm dalam labu ukur 10 mL

a. Seri 5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,05 \text{ mL} = 50 \mu\text{l}$$

b. Seri 10 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{l}$$

c. Seri 15 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,15 \text{ mL} = 150 \mu\text{l}$$

d. Seri 20 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,2 \text{ mL} = 200 \mu\text{l}$$

e. Seri 25 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{l}$$

3. Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat

$$\text{Larutan stok} = \frac{\text{Berat asam askorbat (mg)}}{\text{Pelarut (mL)}} = \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{10.000 \mu\text{l/ml}}{10 \text{ mL}} = 1000 \text{ ppm}$$

Pengenceran stok asam askorbat 1000 ppm menjadi 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 ppm dalam labu ukur 25 mL

a. Seri 0,5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 0,5 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{0,5 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,0125 \text{ mL} = 12,5 \mu\text{l}$$

b. Seri 1 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 1 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,025 \text{ mL} = 25 \mu\text{l}$$

c. Seri 1,5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 1,5 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1,5 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,0375 \text{ mL} = 37,5 \mu\text{l}$$

d. Seri 2 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{2 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,05 \text{ mL} = 50 \mu\text{l}$$

e. Seri 2,5 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 2,5 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{2,5 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 0,0625 \text{ mL} = 62,5 \mu\text{l}$$

4. Pembuatan Larutan $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10%

$$\frac{1 \text{ gr}}{10 \text{ mL}} \times 100\% = 10\%$$

5. Pembuatan Larutan $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1M

Molaritas yang dibutuhkan = 1 M

Mr $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ = 136,08 gr/mol

Volume larutan = 10 mL

$$\text{Molaritas} = \frac{\text{Berat } \text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}}{\text{Mr } \text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}} \times \frac{1000}{\text{volume larutan}}$$

$$1 \text{ M} = \frac{X}{136,08 \text{ gr/mol}} \times \frac{1000}{10 \text{ mL}}$$

$$X = \frac{1 \text{ M} \times 136,08 \text{ gr/mol}}{100}$$

$$X = 1,3608 \text{ gr} = 1360,8 \text{ mg}$$

6. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Molaritas DPPH yang dibutuhkan = $4 \cdot 10^{-4}$ M

Mr DPPH = 394,32 gr/mol

Volume larutan = 10 mL

$$\text{Molaritas} = \frac{\text{Berat DPPH}}{\text{Mr DPPH}} \times \frac{1000}{\text{volume larutan}}$$

$$4 \cdot 10^{-4} \text{ M} = \frac{X}{394,32 \text{ gr/mol}} \times \frac{1000}{10 \text{ mL}}$$

$$X = 15,7728 \times 10^{-4} \text{ gr}$$

$$X = 1,57 \text{ mg}$$

7. Pembuatan Larutan Stok Uji Ekstrak Bidara Cianjur dan Sumenep

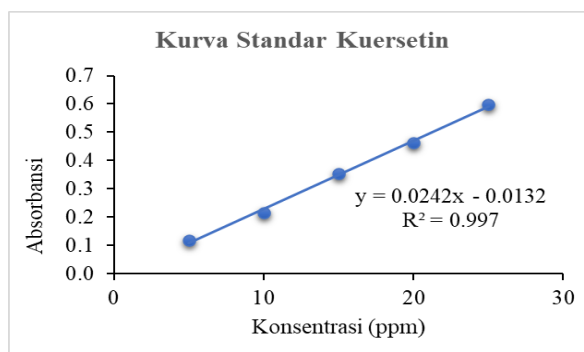
$$\text{Larutan stok uji} = \frac{\text{Berat ekstrak (mg)}}{\text{Pelarut (mL)}} = \frac{15 \text{ mg}}{15 \text{ mL}} = \frac{15.000 \text{ } \mu\text{l/ml}}{15 \text{ mL}} = 1000 \text{ ppm}$$

LAMPIRAN 4. PENGUKURAN ABSORBANSI LARUTAN UJI DAN STANDAR

1. Pengukuran absorbansi standar kuersetin

| Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) | Pengukuran Kuersetin (Abs.) | | | Rata-rata |
|-------------------------------------|--------------------------------|-------|-------|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| 5 | 0,126 | 0,125 | 0,126 | 0,126 |
| 10 | 0,224 | 0,221 | 0,218 | 0,221 |
| 15 | 0,363 | 0,360 | 0,358 | 0,360 |
| 20 | 0,475 | 0,471 | 0,468 | 0,471 |
| 25 | 0,608 | 0,606 | 0,602 | 0,605 |

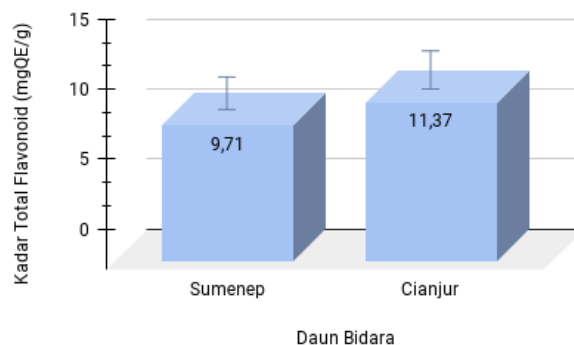
2. Pembuatan kurva standar kuersetin



3. Hasil penetapan kadar total flavonoid ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep

| Daun Bidara (<i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk.) | Ulangan | Abs. | Rata-rata Abs. | Kadar Total Flavonoid (mg QE/g) | Rata- rata KTF (mg QE/g) | Kadar Total Flavonoid (%) |
|---|---------|-------|-------------------|---|--------------------------------------|------------------------------------|
| Cianjur | 1 | 0.253 | 0.262 | 11.00 | 11.37 | 1.14 |
| | 2 | 0.263 | | 11.41 | | |
| | 3 | 0.270 | | 11.70 | | |
| Sumenep | 1 | 0.210 | 0.222 | 9.22 | 9.71 | 0.97 |
| | 2 | 0.227 | | 9.93 | | |
| | 3 | 0.228 | | 9.97 | | |

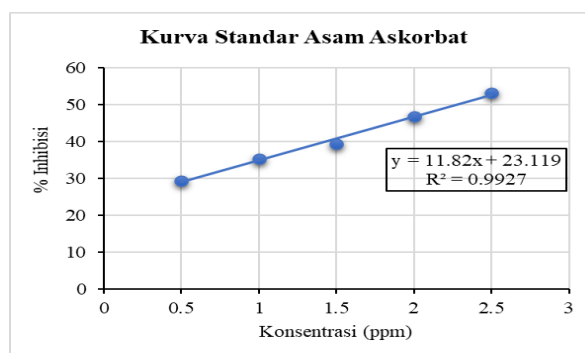
4. Perbandingan kadar total flavonoid ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) asal Cianjur dan Sumenep



5. Daya antioksidan asam askorbat

| Konsentrasi Sampel (ppm) | Absorbansi | | | Rata-rata | % Inhibisi | IC50 (ppm) |
|--------------------------|------------|-------|-------|-----------|------------|------------|
| | 1 | 2 | 3 | | | |
| 0 | 0.820 | 0.825 | 0.827 | 0.824 | 0 | 2.27 |
| 0.5 | 0.581 | 0.583 | 0.580 | 0.581 | 29.45 | |
| 1 | 0.530 | 0.533 | 0.537 | 0.533 | 35.28 | |
| 1.5 | 0.500 | 0.498 | 0.499 | 0.499 | 39.44 | |
| 2 | 0.438 | 0.441 | 0.434 | 0.438 | 46.89 | |
| 2.5 | 0.390 | 0.382 | 0.385 | 0.386 | 53.20 | |

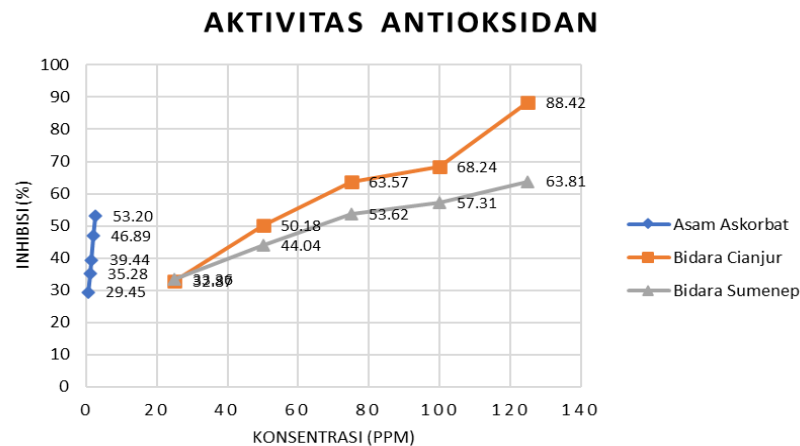
6. Pembuatan kurva asam askorbat



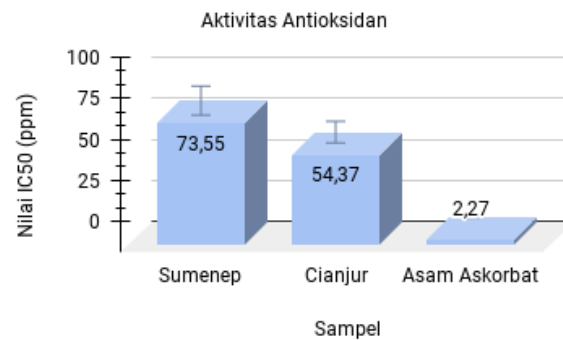
7. Nilai IC50 aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) dan asam askorbat

| Sampel | Konsentrasi (ppm) | Absorbansi | Inhibisi (%) | Persamaan Regresi | IC50 (ppm) |
|---|-------------------|------------|--------------|--|------------|
| Asam Askorbat | Kontrol | 0.824 | 0.00 | $y = 11.82x + 23.119$ $R^2 = 0.9927$ | 2.27 |
| | 0.5 | 0.581 | 29.45 | | |
| | 1 | 0.533 | 35.28 | | |
| | 1.5 | 0.499 | 39.44 | | |
| | 2 | 0.438 | 46.89 | | |
| | 2.5 | 0.386 | 53.20 | | |
| Daun Bidara Cianjur (<i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk.) | Kontrol | 0.814 | 0.00 | $y = 0.5166x + 21.912$ $R^2 = 0.9706$ | 54.37 |
| | 25 | 0.547 | 32.87 | | |
| | 50 | 0.406 | 50.18 | | |
| | 75 | 0.297 | 63.57 | | |
| | 100 | 0.259 | 68.24 | | |
| | 125 | 0.094 | 88.42 | | |
| Daun Bidara Sumenep (<i>Ziziphus mauritiana</i> Lamk.) | Kontrol | 0.814 | 0.00 | $y = 0.2967x + 28.178$ $R^2 = 0.9672$ | 73.55 |
| | 25 | 0.543 | 33.36 | | |
| | 50 | 0.456 | 44.04 | | |
| | 75 | 0.378 | 53.62 | | |
| | 100 | 0.348 | 57.31 | | |
| | 125 | 0.295 | 63.81 | | |

8. Kurva aktivitas antioksidan



9. Perbandingan nilai IC50 aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) dan asam askorbat



10. Data spss uji normalitas Shapiro-Wilk (sampel <50 dan sig. >0.05)

| | Lokasi | Shapiro-Wilk | | |
|-----------|---------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. |
| Flavonoid | Sumenep | .822 | 3 | .167 |
| | Cianjur | .992 | 3 | .831 |
| IC50 | Sumenep | .813 | 3 | .146 |
| | Cianjur | 1.000 | 3 | .977 |

11. Data spss uji korelasi parsial

| Control Variables | | | Flavonoid | IC50 | Lokasi |
|-------------------|-----------|-------------------------|-----------|-------|--------|
| Lokasi | Flavonoid | Correlation | 1.000 | -.996 | |
| | | Significance (2-tailed) | . | .000 | |
| | | Df | 0 | 3 | |
| IC50 | Lokasi | Correlation | -.996 | 1.000 | |
| | | Significance (2-tailed) | .000 | . | |
| | | Df | 3 | 0 | |

LAMPIRAN 5. DOKUMENTASI

1. Pengambilan sampel



Pengambilan sampel daun bidara di Kecamatan Talango Kabupaten Sumenep



Pengambilan sampel daun bidara di Kecamatan Ciranjang Kabupaten Cianjur

2. Pengeringan



Penimbangan daun bidara basah sebelum dikeringkan



Proses pengeringan daun bidara



Proses penghalusan dan pengayakan daun bidara

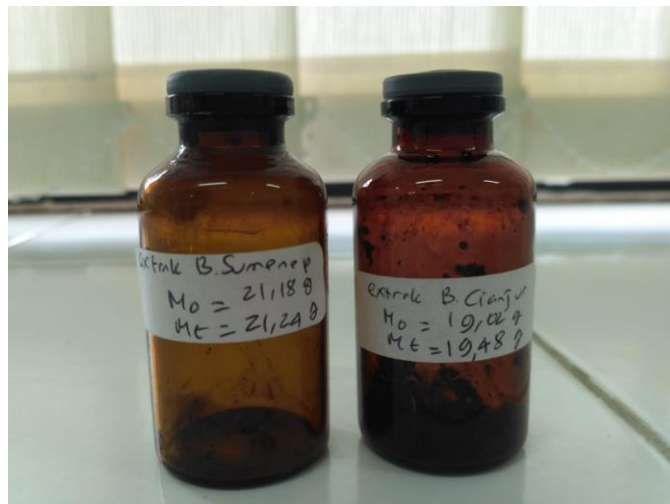
3. Ekstraksi



Penyaringan ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep hasil maserasi

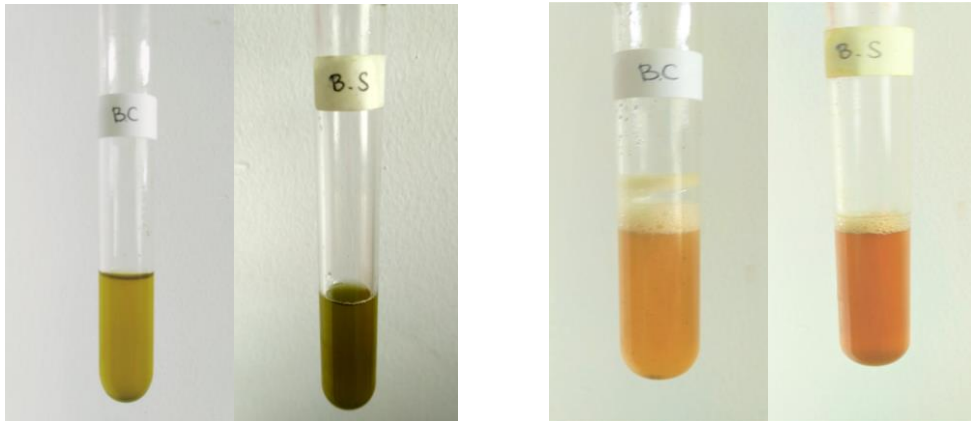


Proses rotary ekstrak pada suhu 40°C



Hasil ekstrak daun bidara Cianjur dan Sumenep

4. Uji fitokimia



Sebelum dan sesudah uji fitokimia flavonoid

5. Uji kadar total flavonoid



Larutan stok sampel dan reagen

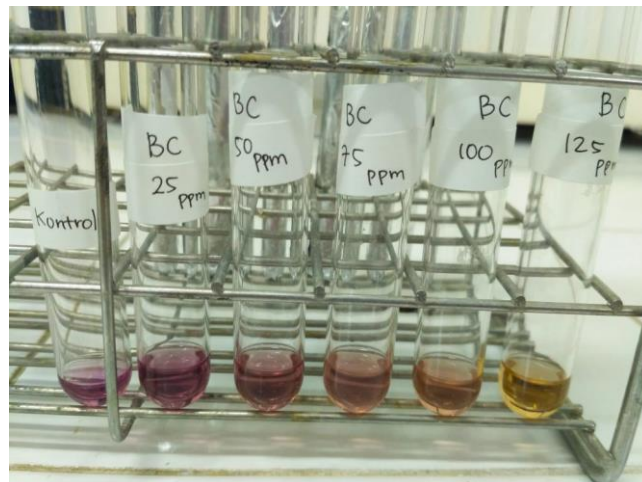


Hasil uji kadar total flavonoid

6. Uji aktivitas antioksidan



Proses inkubasi



Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara Cianjur



Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun bidara Sumenep



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

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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Farah Dhuha Ar Raihani

NIM : 16620104

Program Studi : S1 Biologi

Semester : ~~Ganjil~~ Genap TA. ~~2021~~ / ~~2022~~

Pembimbing : Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si

Judul Skripsi : Perbandingan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara
(*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Asal Cianjur dan Sumenep

| No | Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd. Pembimbing |
|----|-------------------|-----------------------------|-----------------|
| 1 | 22 Februari 2021 | Konsultasi Judul | |
| 2 | 02 Juni 2021 | Konsultasi Bab I, II, & III | |
| 3 | 10 Juni 2021 | Revisi Bab I & II | |
| 4 | 22 Juni 2021 | Konsultasi Bab I, II, & III | |
| 5 | 15 September 2021 | Revisi Bab I, II, & III | |
| 6 | 28 September 2021 | Revisi Bab I & II | |
| 7 | 04 Oktober 2021 | Konsultasi Bab I, II, & III | |
| 8 | 11 Oktober 2021 | ACC Proposal Skripsi | |
| 9 | 06 Juni 2022 | Konsultasi Skripsi | |
| 10 | 07 Juni 2022 | ACC Skripsi | |

Malang, 07 Juni 2022

Pembimbing Skripsi

Muhammad Asmuni Hasyim, M.Si
NIP. 19870522201802011232



Ketua Jurusan

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



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

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

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Farah Dhuha' Ar Raihani
NIM : 16620104
Program Studi : S1 Biologi
Semester : ~~Ganjil~~ Genap TA. ~~2021~~ / ~~2022~~
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
Judul Skripsi : Perbandingan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bidara
(*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Asal Cianjur dan Sumenep

| No | Tanggal | Uraian Materi Konsultasi | Ttd. Pembimbing |
|----|--------------|----------------------------|-----------------|
| 1 | 02 Juni 2021 | Konsultasi Integrasi Agama | |
| 2 | 04 Juni 2021 | ACC Integrasi Agama | |
| 3 | 06 Juni 2022 | Konsultasi Integrasi Agama | |
| 4 | 06 Juni 2022 | ACC Integrasi Agama | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Pembimbing Skripsi

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 19890113201802011244



Malang, 07 Juni 2022

Cetua Jurusan

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



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

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

Form Checklist Plagiasi Skripsi

Nama : Farah Dhuha Ar-Raihani
NIM : 16620104
Judul : Perbandingan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan
Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Asal Cianjur
dan Sumenep

| No | Tim Cek Plagiasi | Tgl Cek | Skor Plagiasi | TTD |
|----|-----------------------------|------------|---------------|-----|
| 1 | Azizatur Rohmah, M.Sc | | | |
| 2 | Berry Fakhry Hanifa, M.Sc | | | |
| 3 | Bayu Agung Prahardika, M.Si | 6 Juni '22 | 19% | |

