

**PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN DAN BUNGA KITOLOD (*Isotoma
longiflora* (L.) C. Presl.) METODE 1,1-diphenyl-2- picrylhydrazil (DPPH)**

SKRIPSI

**Oleh:
NI'MATUL MAGHFIROH
NIM. 17620127**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN DAN BUNGA KITOLOD (*Isotoma
longiflora* (L.) C. Presl.) METODE *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH)**

SKRIPSI

**Oleh:
NI'MATUL MAGHFIROH
NIM. 17620127**

**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
2021**

**PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN DAN BUNGA KITOLOD (*Isotoma
longiflora* (L.) C. Presl.) METODE 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH)**

SKRIPSI

Oleh:
NI'MATUL MAGHFIROH
NIM. 17620127

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
pada tanggal 23 Mei 2022**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



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

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410018 200312 2 002

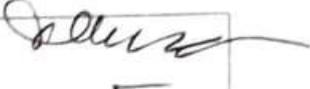
**PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN DAN BUNGA KITOLOD (*Isotoma
longiflora* (L.) C. Presl.) METODE *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH)**

SKRIPSI

Oleh:
NI'MATUL MAGHFIROH
NIM. 17620127

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

Tanggal: 25 Mei 2022

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

Mengesahkan,



Ketua Program Studi Biologi
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

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

HALAMAN PERSEMBAHAN

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Puji Syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ini. Sholawat dan salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang selalu penulis harapkan syafaatnya, beserta para keluarga dan sahabatnya. Skripsi ini penulis persembahkan untuk semua pihak yang telah terlibat dalam membantu dan menyelesaikan penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Kedua orang tua penulis yang selalu memberikan dukungan dan semangat untuk terus belajar. Semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan jasmani dan rohani, diberi umur yang panjang dan barokah, diberi kelancaran rizki, dan kebahagiaan dunia dan akhirat.
2. Dosen Wali penulis yang telah memberikan bimbingan dari awal hingga akhir studi kepada penulis. Semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan dan kelancaran dalam segala urusan.
3. Dosen pembimbing skripsi penulis yang telah memberikan dorongan semangat dan kesabaran selama penulisan skripsi ini. Semoga Allah memberikan kesehatan dan kelancaran dalam segala urusan.
4. Dosen pembimbing agama penulis yang telah memberikan bimbingan integrasi sains dan islam. Semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan dan kebahagiaan dunia akhirat.
5. Sahabat-sahabat penulis yang selalu sabar menemani, membantu dan telah meluangkan waktunya dalam proses pengambilan data sampai penyusunan skripsi ini. Semoga senantiasa diberikan kesuksesan kepada kita semua.
6. Teman-teman Angkatan Wolves Biologi 2017 dan Biologi kelas D yang selalu memberikan informasi dan dorongan semangat dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Semoga senantiasa diberi kesehatan.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ni'matul Maghfiroh

NIM : 17620127

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Dan Bunga Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.) METODE 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil (DPPH)

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

Malang, 14 Mei 2022
Yang membuat pernyataan,



Ni'matul Maghfiroh
NIM. 17620127

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

MOTTO

“لَقَدْ كَانَ لَكُمْ فِي رَسُولِ اللَّهِ أُسْوَةٌ حَسَنَةٌ لِّمَن كَانَ يَرْجُوا اللَّهَ وَالْيَوْمَ الْآخِرَ وَذَكَرَ اللَّهَ كَثِيرًا

“Sesungguhnya telah ada pada (diri) Rasulullah itu suri teladan yang baik bagimu (yaitu) bagi orang yang mengharap (rahmat) Allah dan (kedatangan) hari kiamat dan dia banyak menyebut Allah”

“Orang beradab sudah pasti berilmu. Orang berilmu belum tentu beradab”

**PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DAN BUNGA
KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.) METODE 1,1-diphenyl-2-
picrylhydrazil (DPPH)**

Ni'matul Maghfiroh, Kholifah Holil, Mujahidin Achmad

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

ABSTRAK

Kitolod (*Isotoma longiflora*) merupakan salah satu jenis tumbuhan yang cukup mudah ditemukan karena tumbuh liar. Tumbuhan ini memiliki potensi sebagai antioksidan yang terdapat pada metabolit sekunder khususnya flavonoid. Organ tumbuhan yang digunakan adalah bagian bunga dan daun. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan pada daun dan bunga kitolod. Penelitian ini termasuk penelitian deskriptif, objek penelitian adalah daun dan bunga kitolod, kadar flavonoid total didapatkan menggunakan metode kolorimetri menggunakan reagen $AlCl_3$ dengan pembanding kuersetin, sedangkan pada uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) menggunakan pembanding trolox dan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian didapatkan kadar flavonoid total daun kitolod sebesar 7,631 mgGAE/g dan bunga kitolod sebesar 5,590mgGAE/g, sedangkan pada uji aktivitas antioksidan didapatkan hasil daun kitolod memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 61,26 ppm (kuat), nilai IC_{50} bunga kitolod yaitu 84.15 ppm (kuat), dan pembanding trolox dengan nilai IC_{50} 7,82 ppm (sangat kuat).

Kata Kunci: Ekstrak, Daun dan Bunga Kitolod, Flavonoid, Antioksidan, DPPH, Ekstraksi

**DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID LEVELS AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT 70% LEAVES
AND FLOWERS OF KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.)
METHOD 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH)**

Ni'matul Maghfiroh, Kholifah Holil, Mujahidin Achmad

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

ABSTRACT

Kitolod (*Isotoma longiflora*) is a type of plant that is quite easy to find because it grows wild. This plant has potential as an antioxidant contained in secondary metabolites, especially flavonoids. The plant organs used are the flowers and leaves. The purpose of this study was to determine total flavonoid levels and antioxidant activity in kitolod leaves and flowers. This research is a descriptive research, the object of research is the leaves and flowers of kitolod, total flavonoid levels were obtained using colorimetric method using $AlCl_3$ reagent with quercetin as a comparison, while the antioxidant activity test using the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) using trolox as a comparison. and measured using UV-Vis spectrophotometry. The results showed that the total flavonoid content of kitolod leaf was 7.631 mgGAE/g and kitolod flower was 5.590 mgGAE/g, while the antioxidant activity test showed that kitolod leaf had antioxidant activity with IC_{50} value of 61,26 ppm (strong), IC_{50} value of kitolod flower. namely 84.15 ppm (strong), and the comparison of trolox with an IC_{50} value of 7.82 ppm (very strong).

Keywords: Extract, Kitolod Leaf and Flower, Flavonoid, Antioxidant, DPPH, Extraction

تحديد مستوى الفلافونويد الإجمالية والنشاط المضاد للأكسدة من استخراج الإيثانول 70 % من الأوراق والزهور
KITOLOD (*isotoma longiflora*) (L). ج. الضغط). الطريقة 1,1-ديفينيل-2-بيسيريل هيدرازيل
(DPPH)

نعمة المغفرة ، خليفة خليل الماجستير ، مجاهدين أحمد الماجستير

مستخلص

Kitolod (*Isotoma longiflora*) هو نوع من النباتات يسهل العثور عليه لأنه ينمو بشكل بري. يحتوي هذا النبات على إمكانية استخدامه كمضاد للأكسدة موجود في المستقبلات الثانوية ، وخاصة مركبات الفلافونويد. أعضاء النبات المستخدمة هي الزهور والأوراق . الغرض من هذه الدراسة كان أن يحدد إجمالية فلافون مستويات و [أنتيوإكسيدنت] نشاط في كيتولود أوراق وأزهار. هذا بحث وصفية بحث ، كانت كائنات البحث عبارة عن أوراق وأزهار كيتولود ، وتم الحصول على مستويات الفلافونويد الكلية باستخدام طريقة قياس الكلور باستخدام $AlCl_3$ مع كيرسيتين كمقارنة ، بينما تم اختبار نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH (1,1-ثنائي فينيل-2-بيكريل هيدرازيل) باستخدام ترولوكس مثل مقارنة. تم إجراء القياسات باستخدام القياس الطيفي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية. أظهرت النتائج أن محتوى الفلافونويد الكامل لأوراق كيتولود كان 7.631 مجم / جم وزهرة كيتولود 5.590 مجم / جم ، بينما كان اختبار نشاط مضادات الأكسدة لأوراق كيتولود ذو نشاط مضاد للأكسدة بقيمة IC_{50} بقيمة 61,26 جزء في المليون (قوي) بقيمة IC_{50} ل kitolod: 84,15 جزء في المليون (قوي) ، وقارن Trolux بقيمة IC_{50} تبلغ 7.82 جزء في المليون (قوي جدًا).

الكلمات المفتاحية: مستخرج، ورق كيتولود والزهرة، نكهة، مضاد للتأكسد، DPPH، استخراج

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji bagi Allah SWT atas segala nikmat, karunia dan Ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dan studi di fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, para keluarga, dan sahabat-sahabatnya. Semoga senantiasa diberi syafaatnya kelak. Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapakan terimakasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang terlibat dan telah membantu memenuhi skripsi ini, khususnya kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains & Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.Si selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Kholifah Holil, M.Si dan Mujahidin Achmad, M.Sc selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dalam menyelesaikan naskah skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
5. Asmuni Hasyim, M.Si selaku Dosen wali yang telah membimbing dan memberikan dorongan motivasi kepada penulis hingga dapat menyelesaikan studi.
6. Seluruh dosen, laboran dan staff administrasi di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan bimbingan dan ilmu selama studi.
7. H. Thoyibin dan Hj. Musrifah selaku orang tua serta keluarga besar penulis, yang selalu memberikan doa, nasihat dan semangat dalam menyelesaikan studi.
8. Sahabat-sahabat seperjuangan di Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang selalu mensupport moral, nasihat, dan menjadi bagian dari perjalanan selama studi di Malang.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya, pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. Aamiin.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Malang, 16 Mei 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
المخلص.....	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	5
1.3.Tujuan Penelitian	5
1.4.Manfaat Penelitian	5
1.5.Batasan Masalah.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tinjauan tentang kitolod	7
2.1.1 Morfologi Daun kitolod (<i>Isotoma longiflora</i>).....	9
2.1.2. Klarifikasi kitolod (<i>Isotoma longiflora</i>).....	10
2.1.3. Khasiat tanaman	10
2.1.4 Kandungan Kimia Daun kitolod (<i>Isotoma Longiflora</i>).....	11
2.2. Flavonoid	11
2.3. Antioksidan	13

2.3.1. <i>1,1-diphenyl-3-picrylhydrazil</i> (Dpph)	15
2.4. Ekstraksi	16
2.5. Spektrofotometri	17
BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1. Jenis Penelitian	19
3.2. Waktu dan Tempat	19
3.3. Alat dan Bahan	19
3.3.1. Alat	19
3.3.2. Bahan	19
3.4. Prosedur Penelitian	19
3.4.1. Persiapan bahan	20
3.4.2. Pembuatan ekstrak	20
3.4.3. Analisis Kualitatif kandungan Flavonoid	20
3.4.4. Penentuan kadar flavonoid total	21
3.4.5. Uji aktivitas antioksidan	22
3.5 Analisis data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Penentuan kadar flavonoid total	26
4.2 Penentuan nilai IC ₅₀	31
BAB V PENUTUP	37
5.1. Kesimpulan	37
5.2. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tanaman kitolod	9
Gambar 2.2. Struktur umum flavonoid	12
Gambar 2.3. Mekanisme reaksi metode DPPH	16
Gambar 4.1. Persamaan regresi linier flavonoid	26

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat antioksidan berdasarkan nilai IC_{50}	14
Tabel 4.1 Hasil penetapan kadar flavonoid total daun dan bunga kitolod	27
Tabel 4.2 Hasil perhitungan nilai IC_{50}	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan pengambilan bahan kadar flavonoid.....	51
Lampiran 2. Perhitungan pengambilan bahan uji aktivitas antioksidan	53
Lampiran 3. Hasil uji kadar flavonoid total	56
Lampiran 4. Hasil uji aktivitas antioksidan.....	62

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia terkenal sebagai negara yang kaya akan sumber daya alamnya sehingga diberi julukan megabiodiversitas dari 17 negara – negara (Sutarno & Ahmad, 2015). Satu di antara kekayaan yang dimiliki oleh Indonesia adalah keanekaragaman tumbuhan yang berjumlah sekitar 47.000 spesies (Aziz, dkk., 2018). Menurut Qardhawi (1998), tumbuhan yang beranekaragam memiliki berbagai manfaat untuk keberlangsungan makhluk hidup di bumi, hal tersebut telah Allah jelaskan dalam al Quran surah Asy – Syu'ara [26]: 7 – 8 yang berbunyi:

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

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

Tafsir jalalayn: (Dan apakah mereka tidak memperhatikan) maksudnya tidak memikirkan tentang (bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu) alangkah banyaknya (dari bermacam-macam tumbuh-tumbuhan yang baik) jenisnya?. (Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda) yang menunjukkan akan kesempurnaan kekuasaan Allah swt. (Dan kebanyakan mereka tidak beriman), menurut ilmu Allah. Imam Sibawaih berpendapat bahwa lafal Kaana di sini adalah Zaidah.

Tafsir quraisy shihab: Adakah mereka akan terus mempertahankan kekufuran dan pendustaan serta tidak merenungi dan mengamati sebagian ciptaan Allah di bumi ini? Sebenarnya, jika mereka bersedia merenungi dan mengamati hal itu, niscaya mereka akan mendapatkan petunjuk. Kamilah yang mengeluarkan dari bumi ini beraneka ragam tumbuh-tumbuhan yang mendatangkan manfaat. Dan itu semua hanya dapat dilakukan oleh Tuhan yang Mahaesa dan Mahakuasa. Sesungguhnya adanya beraneka ragam tumbuh-tumbuhan di bumi merupakan bukti

yang jelas akan adanya Sang Pencipta Yang Mahakuasa. Tetapi kebanyakan kaum, ternyata, tidak mau beriman.

Tafsir Al-Mukhtashar / Markaz Tafsir Riyadh, di bawah pengawasan Syaikh Dr. Shalih bin Abdullah bin Humaid (Imam Masjidil Haram): Apakah mereka semua akan terus-menerus berada dalam kekafiran dan tidak mau memperhatikan bumi, berapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan; yang indah dipandang dan banyak manfaatnya?. Sesungguhnya pada proses penciptaan tetumbuhan dengan spesiesnya; benar-benar terdapat suatu tanda paling jelas akan kekuasaan Zat yang menciptakannya dalam menghidupkan makhluk yang telah mati, namun sungguh kebanyakan mereka sama sekali tidak beriman.

Berdasarkan Q.S. Asy – Syu'ara' ayat 7 – 8 terdapat kata kunci pada kata (مِنْ (كُلِّ رَوْحٍ كَرِيمٍ) yang memiliki arti *berbagai tumbuhan yang baik* makna kata baik dalam ayat ini berarti kebermanfaatannya bagi alam semesta, bagi makhluk hidup (biotik) maupun abiotik. Tumbuhan yang berkontribusi bagi keberlangsungan kehidupan diantaranya adalah tumbuhan yang berpotensi sebagai tumbuhan obat, baik tumbuhan liar maupun budidaya yang ada disekitar kita (Bangun, 2012). Masyarakat Indonesia kurang lebih 300 Orang yang menggunakan tumbuhan dalam kehidupan mereka, seperti peralatan rumah tangga, kerajinan upacara adat dan obat-obatan (Karina, 2014). Salah satu tumbuhan yang memiliki fungsi sebagai obat adalah tanaman kitolod (Steenis, 2006).

Kitolod merupakan tanaman yang mudah ditemui karena tumbuhnya yang liar (Wijayakusuma dkk, 1996). Berdasarkan observasi tanaman kitolod dapat digunakan sebagai obat (Amaliah, 2014). Tanaman kitolod telah lama digunakan oleh masyarakat untuk mengobati iritasi mata atau konjungtivitis yang disebabkan oleh infeksi bakteri, jamur dan virus (Ali, 2013). Pada beberapa riset tanaman ini mempunyai fungsi sebagai tabir surya (Savira D, *et al.*, 2020), antifungi (Herdianto *et al.*, 2016), antibakteri (Fazil, 2017), dan penelitian sebelumnya menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada kitolod karena kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik dan klorofil (Egarani *et al.*, 2020).

Peneliti yang menjadi latar belakang adalah tentang kandungan metabolit sekunder pada kitolod, pada penelitian sebelumnya hanya diketahui adanya senyawa

metabolit sekunder akan tetapi jumlah metabolit sekunder pada tumbuhan tersebut belum diketahui, pada penelitian ini menggunakan 2 bagian Kitolod yaitu bunga dan daun. Pada kehidupan masyarakat khususnya pedesaan, kitolod dipercaya dapat menyembuhkan beberapa penyakit khususnya pada bagian bunga kitolod (Hariana, 2008). Alasan lain yaitu pada daun muda, kandungan flavonoid masih rendah, kemudian meningkat dengan semakin tuanya daun, dimana fotosintesis terjadi secara optimal (Devy, 2010). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Damayanti, (2021). Kadar klorofil akan meningkat seiring bertambahnya umur sampai daun berkembang penuh dan kemudian kadar klorofil menurun ketika daun semakin tua. Pada saat daun sudah tua diindikasikan bahwa ada senyawa lain yang berperan sebagai barrier utama untuk reaksi oksidasi yaitu flavonoid. Menurut Chan et al (2019) Sementara hasil studi farmakologi tanaman ini secara rinci telah dilaporkan bahwa kitolod masih relatif jarang diuji. Pada penelitian Siregar (2015), bagian bunga dan daun kitolod mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya saponin, tanin alkaloid dan flavonoid.

Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman (Worotikan, 2011). Flavonoid disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino (Apak dkk, 2007). Senyawa flavonoid dalam suatu tanaman diproduksi dalam jumlah tertentu pada kondisi tercekam (Noviani, 2008). Adanya senyawa flavonoid pada tanaman memiliki fungsi yaitu sebagai mekanisme pertahanan dengan cara menghambat pertumbuhan jamur, bakteri dan herbivora, sedangkan sebagai penarik serangga atau atraktan dengan mengeluarkan bau, warna dan flavor yang akan menarik hewan penyerbuk dan penyebar benih (Anggraito dkk, 2018). Sedangkan pada manusia senyawa flavonoid dapat digunakan sebagai antioksidan dan bahan baku obat dalam kadar tertentu (Setyorini, 2016).

Kadar flavonoid pada setiap tumbuhan berbeda hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, menurut Zuraida dkk. (2017) diantaranya seperti komposisi tanah, suhu, curah hujan, dan radiasi ultraviolet dapat mempengaruhi konsentrasi komponen fenol termasuk flavonoid. Selain itu, pelarut merupakan faktor penting dalam mengekstraksi komponen fenolik dan flavonoid. Menurut penelitian Safrina (2018) yang meneliti tentang faktor lingkungan menyatakan bahwa faktor lain dari

perbedaan kandungan kadar senyawa flavonoid adalah ketinggian dan pengeringan. Sedangkan pada penelitian Yuswi (2013), lama waktu ekstraksi dari ekstrak juga mempengaruhi terbentuknya kadar flavonoid. Pada penelitian Riwanti (2020) perbedaan konsentrasi pelarut dapat mempengaruhi konsentrasi kadar flavonoid pada tanaman. Hal tersebut didukung oleh riset Khoddani (2013) bahwa pelarut juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhi produksi kadar flavonoid disetiap tumbuhan.

Adanya faktor tersebut dapat dilihat dari uji kadar flavonoid total dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis (Tandi, 2020). Sebelumnya telah diketahui bahwa kandungan kadar flavonoid total akan menyebabkan perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh, yaitu semakin besar kadar flavonoid maka tinggi pula aktivitas antioksidannya (Konaté *et al.*, 2010). Oleh karena itu, penting adanya uji mengenai kadar flavonoid dan nilai IC_{50} yang ada pada ekstrak kitolod sesuai penelitian Dewi dkk. (2018) pada ekstrak *Pleurotus ostreatus* bahwa semakin tinggi kandungan flavonoid dalam ekstrak semakin rendah nilai IC_{50} nya, sehingga aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsih, 2007). Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi berantai, menyebabkan kerusakan sel dalam tubuh (Miksusanti dkk, 2012). Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal radikal bebas secara berulang, akan tetapi jika senyawa oksigen reaktif melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh mengakibatkan stres oksidatif dan berbagai kemungkinan akan terjadi akibat kerja radikal bebas, maka dibutuhkan antioksidan tambahan sebagai pertahanan tubuh (Winarsih, 2007).

Antioksidan terdiri dari dua jenis yakni antioksidan sintesis dan antioksidan alami. Pada antioksidan sintesis memang memiliki efektivitas yang tinggi, tetapi tidak aman karena bersifat karsinogenik dan juga memiliki harga yang lebih mahal (Djamil dan Anelia, 2009). antioksidan sintetik dapat diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia (Sayuti, 2015). Antioksidan alami merupakan alternatif yang sangat

aman untuk menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan alami tersebut dapat diperoleh dari senyawa flavonoid yang terkandung di tanaman (Nur dkk, 2019).

Salah satu metode uji untuk menghambat radikal bebas adalah 1.1-difenil-3-pikrildrazil, yang disebut DPPH. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, dan cepat, serta reaksinya dengan antioksidan mirip dengan reaksi radikal bebas di dalam tubuh (Aprilianty, 2013). Senyawa antioksidan ini bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan mendonorkan atom hidrogen, mengubah warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Metode ini didasarkan pada sensitivitasnya, ukuran sampel yang kecil, sederhana, mudah, cepat dan stabil pada suhu ruang (Karadag, 2009). Hasil didapatkan dari uji spektrofotometri UV-Vis dengan Trolox sebagai pembanding (kontrol positif). Aktivitas radikal bebas diwakili oleh nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mereduksi aktivitas radikal bebas sebesar 50% (Dewi, 2018).

Berdasarkan penjelasan di atas mengingat kadar flavonoid total menyebabkan perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh, maka dibutuhkan info kadar flavonoid. Penentuan kadar flavonoid dan nilai aktivitas antioksidan perlu dilakukan karena pada senyawa tersebut dalam kadar tertentu memiliki komponen aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai obat (Robinson, 1995). Menurut Apsari (2011) usaha pemanfaatan tanaman kitolod sebagai obat herbal dapat lebih maksimal karena dengan melihat kadar flavonoid total maka besar aktivitas antioksidannya dapat diperkirakan. Oleh karena itu perlu dilakukan penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 70% bagian daun dan bunga kitolod, uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dan menghitung persentasi nilai IC_{50} ekstrak 70% daun Kitolod.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Berapakah kadar flavonoid dari ekstrak etanol 70% pada bunga dan daun Kitolod (*Isotoma longiflora*)?

2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% bunga dan daun Kitolod (*Isotoma longiflora*) yang diuji menggunakan DPPH berdasarkan nilai IC_{50} ?

1.3. Tujuan

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini antara lain:

1. Mengetahui kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% pada daun Kitolod (*Isotoma longiflora*).
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% bunga dan daun Kitolod (*Isotoma longiflora*) yang diuji menggunakan DPPH berdasarkan nilai IC_{50} .

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat antara lain:

1. Sebagai landasan untuk penelitian selanjutnya
2. Memberikan informasi tentang kandungan flavonoid pada tanaman Kitolod yang berpotensi sebagai antioksidan.
3. Memberikan informasi dan database kepada masyarakat umum mengenai pemanfaatan tanaman lokal yaitu Kitolod.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak dari bagian daun dan bunga Kitolod (*Isotoma longiflora*), diambil daun dewasa dan bunga yang sudah mekar penuh kemudian diekstraksi menggunakan etanol 70%.
2. Analisis senyawa aktif menggunakan uji fitokimia senyawa flavonoid menggunakan Mg dan Hcl pekat.
3. Uji kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan standart kuersetin, sedangkan uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dengan standart Trolox.
4. Analisis data kadar flavonoid didapatkan dari persamaan regresi linier pembacaan nilai absorbansi sampel melalui spektrofotometri UV-Vis. Sedangkan aktivitas antioksidan diperoleh dari perhitungan IC_{50} .

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Obat Dalam Perspektif Al-Quran

Tumbuhan obat merupakan bahan alam yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan. Berdasarkan pengalaman, dan keanekaragaman tumbuhan obat dapat menunjang ketersediaan obat tradisional yang siap pakai (Jumiarni, 2017). Allah berfirman dalam Q.S. Al-An'am ayat 99 :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا كَثِيرًا وَمِمَّنْ أَلْخَلَّ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-An'am [6] 99).

Tafsir Al-Wajiz / Syaikh Prof. Dr. Wahbah az-Zuhaili, pakar fiqih dan tafsir negeri Suriah : Allah adalah Dzat yang menurunkan hujan dari awan, lalu Dia mengeluarkan macam-macam tumbuhan yang berbeda di bumi. Dia mengeluarkan tumbuhan yang hijau dan segar, yang mana dari sebagian tumbuhan itu keluarlah biji yang tersusun satu sama lain seperti tangkai, dan dari mayang kurma (hal pertama yang tumbuh dari kurma) tangkai-tangkai yang hampir bisa diambil orang yang berdiri dan yang didik. Dia menumbuhkan kebun-kebun anggur, zaitun, dan delima yang ukuran dan warnanya hampir serupa, namun rasanya tidak serupa. Perhatikanlah buahnya saat tumbuhan itu berbuah, begitu juga perkembangannya, yang mana sesuai dengan bentuknya. Sesungguhnya dalam sesuatu yang telah disebutkan itu terdapat dalil-dalil atas kesempurnaan kuasa sang Khaliq bagi kaum yang mengimani keberadaan dan kuasa Allah. Mereka itulah orang-orang yang mengambil manfaat dari suatu petunjuk.

Tafsir Ash-Shaghir / Fayiz bin Sayyaf As-Sariih, dimuraja'ah oleh Syaikh Prof. Dr. Abdullah bin Abdul Aziz al-'Awaji, professor tafsir Univ Islam Madinah : Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. lalu darinya Kami mengeluarkan} tanaman {yang menghijau} tanaman dan pepohonan yang hijau {Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk} saling bertumpuk satu sama lain seperti tangkai-tangkai {dan dari mayang kurma tangkai-tangkai} tangkai-tangkai {yang menjuntai} yang dekat, sehingga bisa dijangkau orang yang berdiri dan orang yang duduk {kebun-kebun anggur. zaitun dan delima yang serupa} yang serupa daunnya {dan yang tidak serupa} berbeda buahnya {Perhatikanlah buahnya ketika berbuah dan menjadi masak} matang {Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda bagi kaum yang beriman.

Tafsir Al-Mukhtashar / Markaz Tafsir Riyadh, di bawah pengawasan Syaikh Dr. Shalih bin Abdullah bin Humaid (Imam Masjidil Haram): Dan Dia lah -Subhānahu wa Ta'ālā- yang menurunkan air hujan dari langit. Kemudian dengan air hujan itu Dia menumbuhkan segala jenis tanaman. Lalu dari tumbuh-tumbuhan itu Kami keluarkan tanam-tanaman dan pepohonan yang hijau. Dan darinya Kami keluarkan biji-bijian yang bertumpuk-tumpuk, seperti yang terjadi pada bulir-bulir (gandum dan sejenisnya). Dan dari mayang kurma muncul tangkai-tangkai yang dekat sehingga dapat diraih oleh orang yang berdiri maupun orang yang duduk. Kami pun mengeluarkan kebun-kebun anggur. Dan Kami juga mengeluarkan pohon zaitun dan pohon delima yang memiliki kemiripan dalam bentuk daunnya tetapi buahnya berbeda. Perhatikanlah -wahai manusia- bagaimana kondisi buahnya pada awal kemunculannya dan bagaimana kondisinya ketika buahnya telah matang. Sesungguhnya di situ terdapat petunjuk yang nyata mengenai kekuasaan Allah bagi orang-orang yang percaya kepada-Nya. Karena merekalah yang bisa mendapatkan manfaat dari petunjuk-petunjuk dan bukti-bukti semacam itu.

Menurut Abdullah (2008) dalam Lubabut Tafsir Min Ibnī Katsir kata (أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرَةٍ إِذَا أَنْمَرَ وَيَنْعِهِ) dimaksudkan agar manusia berfikir akan kebesaran Allah SWT, seperti tentang proses terbentuknya bagian tanaman. Allah SWT telah menciptakan tumbuhan jauh sebelum adanya manusia, maka alangkah baiknya

untuk manusia selalu bersyukur. Adanya tumbuhan tersebut untuk mencukupi kebutuhan manusia selama hidup, salah satunya sebagai obat penyakit.

Harun bin Ma'ruf dan Abu Ath Thahir serta Ahmad bin 'Isa mereka berkata; telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb; telah mengabarkan kepadaku 'Amru, yaitu Ibnu al-Harits dari 'Abdu Rabbih bin Sa'id dari Abu Az Zubair dari Jabir dari Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam, beliau bersabda: *"Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah 'azza wajalla."* (HR Muslim).

Dalam Tafsir Surat Al An'am Ayat 99 ini disertakan pula penjelasan mengenai proses fotosintesis segala jenis tumbuhan. Bagaimana sebuah cahaya dikelola sedemikian rupa hingga akhirnya menghasilkan buah-buahan yang bisa dimanfaatkan oleh manusia. Selain itu manfaat lainnya dari adanya tumbuh-tumbuhan ini adalah sebagai penyuplai oksigen bagi manusia agar kelangsungan hidupnya bisa terus-menerus terjaga. Pada surat Al An'am Ayat 9 terdapat kata *al-khadir* (bahan hijau) disebut dengan kloroplas yang mengandung klorofil, di mana tumbuhan memanfaatkan energi cahaya matahari dan mengubahnya menjadi energi kimia yang pada akhirnya menghasilkan senyawa senyawa yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Proses yang disebut fotosintesis ini dilakukan tidak oleh sel tetapi oleh kloroplas, organel-organel yang memberi warna hijau pada tumbuhan.

2.2 Tinjauan Tentang Tanaman Obat dalam Perspektif Sains

Tanaman obat dapat diidentifikasi melalui dua ilmu yaitu etnobotani dan farmakologi, etnobotani memiliki definisi pengembangan ilmu masyarakat lokal untuk mendapatkan senyawa-senyawa baru yang dapat digunakan pengobatan dalam berbagai penyakit manusia (Permatasari dkk, 2011). Sedangkan farmakologi memiliki definisi ilmu yang mendiskusikan terkait mekanisme kerja obat dalam tubuh, seperti mekanisme dan interaksi obat dan khasiat obat dalam tubuh. Lebih detailnya farmakologi merupakan proses obat-obatan dari tumbuhan, mineral hingga hewan atau yang biasa disebut dengan ilmu herbal. Pada prinsipnya kedua

ilmu tersebut ikut serta dalam mengeksplor macam macam tumbuhan sampai fungsinya dalam tubuh manusia (Etnofarmakologi) (Sanjoyo, R., 2010).

Seperti halnya dengan tanaman Kitolod, Tanaman Kitolod (*Isotoma longiflora*; *Hippobroma longiflora* (L.) (sinonim); *G.Don, Laurentia longiflora* (L.) *Peter.* (Sinonim)) adalah tanaman yang dikenal liar yang tumbuh di tepi parit di antara bebatuan lembab dan sering dianggap sebagai gulma bahkan di area vegetasi hias (Wijayakusuma,1996). Sesuai dengan pernyataan Ali, (2013) Kitolod merupakan tanaman yang banyak dijumpai disekitar aliran sungai, semak, dan tempat yang memiliki kelembapan cukup. Budidaya kitolod dapat dilakukan dengan perbanyakkan melalui bijinya. Pemeliharaannya pun cukup mudah hanya dengan penyiraman yang cukup hingga kelembapannya terjaga.

Kitolod merupakan tumbuhan liar yang dapat ditemukan di dataran rendah sampai ketinggian 1.100m dari permukaan laut 28 (Nuarini, 2014). Tumbuhan ini tergolong ke dalam family Campanulaceae yang dikenal memiliki distribusi kosmopolitan (Lammers, 2007). Tumbuhan ini tergolong dalam subfamily Lobelioideae yang memiliki keanekaragaman ekologi (Givnish et al., 2009). Subfamily lobelioideae terdistribusi sangat luas namun tidak ditemukan pada daerah Artik, Timur Tengah dan beberapa daerah di Asia Tengah (Stevens, 2007).

Tanaman kitolod tidak banyak masyarakat yang mengetahui khasiatnya sebagai tanaman obat. Namun beberapa masyarakat memanfaatkan bunganya untuk pengobatan mata (Imelda Marpaung dkk, 2017). Pada bagian daun Kitolod mengandung klorofil yang memiliki sifat antioksidan, antiperadangan dan penyembuh luka. Fungsi klorofil dalam daun tersebut untuk menjaga stabilitas dan mencegah kerusakan DNA dalam tubuh sel, karena klorofil kaya nutrisi dan donor oksigen, maka dapat menetralkan dan mencegah radikal bebas merusak aktivitas sel-sel tersebut (Ann Wigmore, 1985).

2.1.1. Morfologi Daun kitolod (*Isotoma longiflora*)



Gambar 2.1Tanaman Kitolod (**Sumber:** Safitri 2009)

Tumbuhan kitolod merupakan tumbuhan semak yang tingginya sekitar 50 cm yang tumbuh semusim. Batangnya berkayu berbentuk bulat dan berwarna hijau. Memiliki bentuk mahkota bunga bintang bertajuk lima seperti pada gambar 2.1, tangkai bunganya panjang, bunga berwarna putih bersih seperti bunga gambir. Kitolod memiliki buah berbentuk lonceng berwarna hijau, bijinya yang kecil berbentuk bulat telur (Herdianto dkk, 2016).

Daun tersebar, duduk dengan pangkal menyempit, bentuk lanset, melekuk ke dalam, kasar bergerigi hingga berlekuk menyirip 5-17 cm kali 2-3 cm. Pada tangkai bunga panjangnya 5-8 cm, pada pangkalnya dengan 2 daun pelindung kecil. Kelopak 1,5-3 cm tingginya, bentuk lonceng, bentuk tabung, bercangap, dengan tajuk sempit dan tabung berusuk kuat. Mahkota putih panjangnya 7,9-9 cm, terbentuk bulat silindris, taju berbentuk lanset, membentang lebar (Van Steenis, 1975) Kitolod memiliki mahkota bunga berwarna putih dan biji berwarna coklat kemerahan. tinggi batang 9-35 cm, warna daun hijau dengan tepi bergerigi, kira kira ukuran daunnya 7-16 x 1-3,7 cm (Paramita dkk, 2015). Kitolod merupakan tumbuhan semusim, tegak, tinggi sekitar 50 cm, bercabang dari pangkalnya, berambut, bergetah warna putih (Dalimartha, 2004).

2.2.1 Klasifikasi kitolod (*Isotoma longiflora*)

Klasifikasi tanaman kitolod menurut Safitri (2009) adalah :

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Kelas : *Dicotyledoneae*

Anak Kelas : *Sympetale*

Bangsa : *Campanulatae* (*Asterales*, *Synandrae*)

Famili : *Campanulaceae*

Genus : *Isotoma*

Spesies : *Isotoma longiflora*

2.2.2 Khasiat dan kandungan fitokimia tumbuhan kitolod.

Tumbuhan kitolod dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional, diantaranya untuk mengobati penyakit bronchitis, obat mata, anti kanker, analgesic, antineoplastik, radang tenggorokan, hemostasis, anti- inflamasi, asma, dan pengobatan luka (Hariana,2008). Safitri et al, (2009) telah menunjukkan bahwa ekstrak bagian tumbuhan kitolod pada bagian bunga, batang dan daun memiliki aktivitas antimikroba gram positif *Staphylococcus aureus*. Selain itu, ekstrak metanol daun sapu jagad mempunyai efek antimikroba terhadap *Escherichia coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram (Hamidy et al, 2009).

Beberapa penelitian juga menyebutkan adanya khasiat dari tanaman kitolod ,diantaranya biasa digunakan sebagai obat untuk mengatasi mata katarak (Amalia, 2014), mata minus serta mengobati kebutaan akibat glaukoma (siska dan wardani ,2016) sifilis, asma (Koller, 2009), antibakteri (siregar, 2015), dan antivirus (Rothan et al., 2014). Selain itu juga dapat digunakan sebagai antimikroba dalam bakteri *Stapylococcus Hominis* (Ismailova, 2008).

Berdasarkan studi laboratorium yang telah dilakukan, diketahui bahwa kitolod mengandung flavonoid, fenol, terpenoid, steroid, dan alkaloid (Hamidy et al., 2006). Hal tersebut sesuai dengan hasil uji fitomikimia ekstrak kitolod yang dilakukan oleh Safitri et al, (2009) bahwa tanaman ini mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid, sesquiterpenoid, monoterpenoid, polifenolat, tanin, dan kuinon.

Berdasarkan penelitian Kesting et al, (2009) menyatakan kandungan kimia pada bagian daun meliputi polifenol, saponin, alkaloid, dan flavonoid. Hal tersebut sesuai Sunnah, (2021) pada ekstrak etanol kitolod ekstrak nheksan kitolod dan ekstrak etil asetat kitolod, memiliki kandungan senyawa flavonoid, tanin dan saponin, ketiganya merupakan senyawa golongan fenol. Pada penelitian Utami et al., (2013) menyatakan bahwa tanaman kitolod juga mengandung senyawa flavonoid dan saponin yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri.

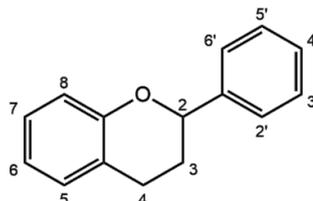
2.2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu jenis komponen yang terkandung dalam tanaman, dan dapat ditemukan pada semua tanaman. Struktur dasar ini terdiri dari dua cincin benzen (A dan B) yang dihubungkan melalui cincin heterosiklik piran atau piron (dengan ikatan ganda) yang disebut cincin "C" dan struktur dasar flavonoid adalah rangkaian cincin karbon C6-C3-C6. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji (Markham, 1988). Flavonoid merupakan komponen fitokimia tertinggi yang terdapat pada daun (Arukwe et al., 2012). Senyawa flavonoid berikatan dengan gula sebagai glikosida, sehingga flavonoid yang bersifat polar dapat larut pada pelarut polar (Gazali dkk, 2019).

Flavonoid diklasifikasikan sebagai flavon, flavanone, kalkon, katekin, flavanol, dan antosianin (Panche dkk., 2016). Pembagian kelompok flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur terutama pada substitusi karbon pada gugus aromatik sentral dengan beragamnya aktivitas farmakologi yang ditimbulkan (Wang dkk, 2018). Flavonoid mempunyai banyak aktivitas farmakologi dengan masing-masing mekanisme aksi terutama sebagai antioksidan dengan mekanisme pemecahan radikal bebas. Dengan dasar struktur flavonoid yang dapat melakukan

donor hidrogen pada radikal bebas menjadikannya potensial sebagai antioksidan dibandingkan aktivitas farmakologi lain (Alfaridz dan Amalia, 2018).

Flavonoid memiliki struktur kimia sebagai berikut :



Gambar 2.2 Struktur umum flavonoid (**Sumber:** Grotewold, 2006)

Pada penentuan kadar flavonoid total yang menggunakan metode kolorimetri $AlCl_3$, memiliki prinsip yaitu pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Khadijah dkk, 2017). Pada penentuan kadar flavonoid kuersetin digunakan sebagai larutan induk karena kuersetin dapat membentuk kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Chang, dkk., 2002). Penambahan aluminium klorida bertujuan untuk membentuk kompleks dengan kuersetin (Indrayani, 2008), sedangkan penambahan kalium asetat pada penelitian ini untuk menstabilkan pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dengan kuersetin (Wahyulianingsih, 2016).

2.3. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray, 2009)

Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron (electron donors). Secara biologis antioksidan merupakan senyawa yang mampu mengatasi dampak negatif oksidan dalam tubuh seperti kerusakan elemen vital sel tubuh. Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan kerja fungsi sistem imunitas tubuh, terutama untuk menjaga integritas dan berfungsinya membran lipid, protein sel, dan asam nukleat, serta mengontrol transduksi signal dan ekspresi gen dalam sel imun (Ariyanti & Aditya, 2016).

Ada dua kelompok sumber antioksidan, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami) (winarsi, 2007). Senyawa antioksidan sintetis untuk saat ini sudah mulai ditinggalkan karena memiliki sifat karsinogenik sedangkan antioksidan yang berasal dari alam mulai memegang peranan penting. Pada antioksidan yang berasal dari alam contohnya kulit buah pada tumbuhan banyak ditemukan Senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan (Cutler et al., 2000). Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid. Flavonoid adalah suatu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman (winarsi 2007).

Telah diketahui bahwa kandungan kadar flavonoid total akan menyebabkan perbedaan aktivitas antioksidan yang diperoleh, yaitu semakin besar kandungan flavonoid maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Konaté *et al.*, 2010). Konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mereduksi aktivitas radikal bebas sebesar 50% dikenal dengan istilah IC₅₀ (Dewi, 2018). Nilai konsentrasi efektif atau IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat 50% oksidasi. Perhitungan nilai konsentrasi efektif atau IC₅₀ menggunakan rumus (1) sebagai berikut:

$$\%Antioksidan = \frac{Ac - A}{Ac} \times 100\%$$

Keterangan :

A_c = Nilai Absorbansi Kontrol

A = Nilai Absorbansi Sampel

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan. (Badarinath, 2010). Sifat antioksidan berdasarkan IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 2.1

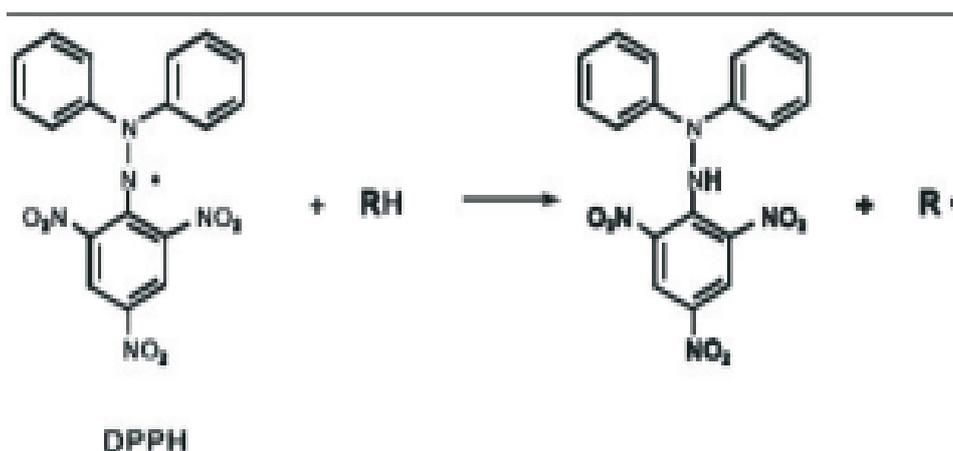
Tabel 2.1 Sifat Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50}	Sifat antioksidan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah

(Sumber: Molyneux, 2004)

2.3.1 *1,1-diphenyl-3-picrylhydrazil* (Dpph)

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm (Marxen *et al*, 2007). Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril. (Prayoga, 2013). Perubahan warna pada DPPH diakibatkan oleh berpasangannya hidrogen dari antioksidan dan elektron tunggal pada DPPH.



Gambar 2.3 Mekanisme reaksi metode DPPH (Sumber: Pasaribu dkk, 2011)

2.4. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Ekstraksi simplisia dapat dilakukan dengan metode ekstraksi menggunakan cara panas dan dingin. Salah satu ekstraksi simplisia yang menggunakan cara dingin yaitu maserasi (Depkes RI, 2000). Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Maserasi merupakan metode sederhana yang secara umum banyak digunakan baik skala kecil maupun skala industri (Setiabudi, 2007). Prinsip metode maserasi adalah cairan penyari akan menembus dinding sel, zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, sehingga larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak ke luar sel (Salamah, 2017). Metode maserasi merupakan cara ekstraksi dingin yang memiliki keuntungan yaitu menggunakan peralatan atau botol maserasi sederhana, pelaksanaannya mudah tanpa perlakuan khusus yaitu dengan merendam sampel dalam pelarut pengestraksi sambil sesekali diaduk (Verawati dkk., 2017).

Kekurangan dari metode ini adalah memakai banyak pelarut, memakan banyak waktu dan bisa jadi beberapa senyawa hilang. Selain itu, ada kemungkinan

beberapa senyawa yang tidak dapat diekstraksi pada suhu kamar. Kelebihan dari ekstraksi maserasi yaitu dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil, cara ini dilakukan dengan merendam serbuk simplisia ke dalam wadah tertutup rapat dengan pelarut yang sesuai pada suhu kamar. Ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan konsentrasi dalam tanaman dan konsentrasi senyawa dalam pelarut, kemudian dilakukan penyaringan setelah proses maserasi selesai (Tetti, 2014).

Pelarut yang digunakan dapat berupa etanol, air, air-etanol, bisa juga pelarut yang lain. Jika pelarut yang digunakan adalah air maka dapat ditambahkan pengawet pada awal penyarian untuk mencegah adanya kapang yang tumbuh. Pada penelitian ini Simplisia dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan pelarut dengan konsentrasi diatas 70% mengakibatkan senyawa flavonoid mengalami penurunan, sehingga tidak disarankan penggunaan pelarut dengan konsentrasi tinggi dikarenakan rendahnya berat molekul flavonoid (Suhendra, 2019).

2.5. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur energi secara relative jika energi itu ditransmisikan direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Prinsip kerja spektrofotometer yaitu apabila cahaya (monokromatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan sebagian diserap dalam medium itu dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena mempunyai hubungan dengan konsentrasi sampel. Spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang *continue*, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Hasibuan, 2015).

Syarat suatu senyawa atau obat dapat diukur dengan alat spektrofotometer adalah senyawa atau zat tersebut harus mempunyai gugus aoksokrom dan gugus kromofor. Spektrofotometri UV-Vis memiliki dua gugus yaitu gugus kromofor dan gugus aoksokrom. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang

mengabsorpsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal, yang terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorpsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi (Hasibuan, 2015).

Alat ini memiliki sinar berasal dari dua lampu yang berbeda yaitu lampu wolfran untuk sinar visible (sinar tampak = 38-780) dan lampu deuterium untuk sinar ultra violet (180-380 nm) pada video lampu yang besar. Sinar ultraviolet (UV) mempunyai rentang panjang gelombang dari 100-400 nm, sedangkan sinar tampak (Vis) 400-750 nm (Hasibuan, 2015). Alasan menggunakan panjang gelombang maksimum yaitu pada panjang gelombang maksimum mempunyai kepekaan yang maksimal sehingga perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar, disekitar panjang gelombang maksimal bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum *Lambert-Beer* terpenuhi dan jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali (Gandjar dan Rohman, 2007).

Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan hendaknya absorban yang terbaca pada spektrofotometer kisaran 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika di baca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik) (Gandjar dan Rohman, 2007). Operating time adalah digunakan pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya yaitu untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu operasional ditentukan dengan absorbansi larutan (Gandjar dan Rohman, 2007).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif. Deskriptif kuantitatif dilakukan untuk mengetahui analisis senyawa flavonoid total menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan nilai IC₅₀ pada uji antioksidan bagian daun dan bunga kitolod.

3.2. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember sampai bulan Januari 2022. bertempat di laboratorium Fisiologi Tumbuhan Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Alat alat yang digunakan pada penelitian ini adalah corong pisah, cawan porselen, oven, spatula plastik, cuvet, mikro (Bio-Rad), pipet tetes, magnetic stirrer (Helth), toples maserasi, aluminium foil, neraca analitik (Kern), kertas saring, gunting desikator, pipet volume (Iwaki pyrex), nampan, labu ukur 10 ml, 25 ml, 50 ml, dan 100 ml (Iwaki pyrex), labu takar, inkubator (Thermo Scientific), erlenmeyer, spatula, tabung reaksi (Iwaki pyrex), bunsen, rak tabung reaksi, ayakan 60 mesh, rotary evaporator dan spektrofotometer UV-VIS (Thermo Scientific).

3.3.2. Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan selama penelitian yaitu Ekstrak Daun dan bunga Kitolod, Alkohol 70%, Kuersetin, AlCl₃, Kalium Acetat (CH₃COOK), DPPH, Etanol 70% dan Trolox.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Persiapan bahan

Bahan yang harus disiapkan adalah daun dan bunga Kitolod yang diperoleh dari tepi sungai Kalimetro jl. Joyosuko Merjosari Malang. Daun dan bunga dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel dengan air yang mengalir. Kemudian dioven pada suhu 40°C selama kurang lebih 4-8 jam. Simplisia yang sudah kering dibuat serbuk dengan cara ditumbuk atau digiling dan diayak menggunakan ayakan ukuran 40 mesh. Pada tahapan ini didapatkan serbuk simplisia yang halus. Hasil disimpan pada tempat gelap agar tidak terjadi dekomposisi kandungan senyawanya. Perhitungan susut pengeringan dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.4.2. Pembuatan ekstrak

Teknik Ekstraksi tanaman Kitolod menggunakan metode maserasi, metode ini disebut juga metode perendaman. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod menggunakan metode maserasi. Serbuk daun dan bunga kitolod 250 gram dimasukkan ke dalam bejana gelap, lalu ditambahkan 1875 mL pelarut etanol 70% dan ditutup rapat serta terhindar dari sinar matahari langsung. Proses perendaman dilakukan selama 3 hari sambil diaduk tiap 8 jam sekali. Setelah 3 hari campuran simplisia dan etanol diserkai sehingga diperoleh maserat (1). Ampas direndam selama 1 hari dengan etanol 70% 625 mL kemudian disaring kembali dan diperoleh maserat (2). Maserat (1) dan (2) diempuk semalam kemudian dipisahkan dari residu dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

3.4.3. Penentuan kadar flavonoid total

a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin (400 ppm)

Larutkan 10 mg kuersetin menggunakan etanol p.a dalam labu takar 25 ml. Cukupkan etanol hingga tanda batas labu takar 25 ml hingga diperoleh konsentrasi larutan kuersetin 400 ppm.

b. Pembuatan Larutan Induk AlCl₃ 10%

AlCl_3 ditimbang sebanyak 500 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a pada labu 5 mL hingga tanda batas

c. Pembuatan Larutan Induk Kalium Asetat 1 M

Larutkan 500 mg kalium asetat dalam 5 ml etanol p.a menggunakan labu takar cukupkan hingga tanda batas 5 ml.

d. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol 70% Daun dan bunga Kitolod.

Ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a menggunakan bantuan *magnetic stirrer* dalam beker glass 50 mL dengan kecepatan 300 rpm sampai terlarut sempurna. Larutan disaring menggunakan kertas saring kedalam labu takar 100 mL dan dilarutkan menggunakan etanol p.a sampai batas labu takar 100 ml.

e. Pembuatan Seri Konsentrasi Kuersetin

Seri konsentrasi dibuat pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm dalam 5 mL etanol p.a. Perlakuan dilakukan replikasi 3 kali. Perhitungan pengambilan seri konsentrasi kuersetin dapat dilihat pada lampiran 2.

f. Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dengan pembanding kuersetin. Sebanyak 1000 μl dari seri konsentrasi 6 ppm ditambahkan AlCl_3 10% 200 μl dan 200 μl CH_3COOK 1M, dibaca absorbnasi pada spektrofotometer *UV-Vis* dari range 400-500 nm. panjang gelombang dilihat pada absorbansi tertinggi.

g. Penentuan *Operating Time* (OT)

Pengukuran *operating time* untuk mengetahui waktu stabil antara pelarut dengan sampel menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan pembanding kuersetin. Sebanyak 1000 μl dari seri konsentrasi 6 ppm ditambahkan AlCl_3 10 % 200 μl dan 200 μl CH_3COOK 1 M, dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimal yang didapat pada penentuan panjang gelombang (λ) maksimum.

h. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Seri konsentrasi kuersetin dipipet sebanyak 1000 µl pada masing-masing konsentrasi (2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm) ditambahkan AlCl₃ 10 % sebanyak 200 µl dan 200 µl CH₃COOK 1M. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal dan pada *operating time* yang didapatkan.

i. Pembacaan Absorbansi Sample Ekstrak Flavonoid Total

Sampel ekstrak etanol 70% daun dan bunga Kitolod dipipet 1000 µl, ditambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 200 µl dan 200 µl CH₃COOK 1 M. Absorbansi dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang telah diperoleh. Kadar flavonoid total dihitung menggunakan rumus:

$$\text{TPC} = \frac{C.V.f_p}{g}$$

Keterangan : c = konsentrasi flavonoid (nilai x)

v = volume ekstrak yang digunakan (ml)

f_p = faktor pengenceran.

g = berat sampel yang digunakan (g)

3.4.4. Uji aktivitas antioksidan

a. Pembuatan Larutan Induk DPPH 0,1 mM

Pembuatan larutan induk DPPH dengan cara melarutkan 10 mg DPPH dengan etanol p.a menggunakan labu takar 250 mL sampai tanda batas 250 ml .

b. Pembuatan Larutan Induk Trolox

Timbang 10 mg Trolox dilarutkan dengan etanol p.a menggunakan labu takar 50 mL cukupkan hingga tanda batas 50 ml .

c. Pembuatan Seri Konsentrasi Trolox

Pada larutan induk Trolox dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 14 ppm ditambahkan etanol p.a dalam labu ukur 5 mL sampai tanda batas 5 ml . Perhitungan pembuatan larutan seri konsentrasi Trolox dapat dilihat pada Lampiran 3.

d. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak

Ekstrak etanol 70 % daun dan bunga kitolod ditimbang 1 g, larutkan dengan etanol p.a 50 mL menggunakan *magnetic stirrer* dalam beaker glass 50 mL dengan kecepatan 300 rpm sampai terlarut sempurna, disaring dalam labu takar 50 mL, dicukupkan dengan etanol p.a hingga tanda batas 100 ml.

e. Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak etanol 70% dibuat seri 20, 40, 60, 80, 100 dan 120 ppm dari sampel induk 500 ppm, masing masing dipipet dan ditambahkan etanol p.a dalam labu ukur 5 ml hingga tanda batas 5 ml (Puspitasari dkk., 2019). Perhitungan pengambilan seri konsentrasi ekstrak menggunakan rumus :

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

Keterangan :

V1 = Larutan induk yang diambil

C1 = Konsentrasi kuersetin

V2 = Volume labu ukur

C2 = Kadar seri konsentrasi

f. Penentuan Panjang Gelombang (λ) Maksimum

Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum dilakukan dengan mencampur 1 mL larutan Trolox konsentrasi 6 ppm, dengan 4 ml DPPH. Kemudian dimasukkan kedalam kuvet dan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 600-800 nm.

g. Penentuan *Operating Time* (OT) Trolox

Pada seri konsentrasi 6 ppm dari Trolox dipipet 1 mL tambahkan DPPH 4 mL Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang (λ) Maksimum. Absorbansi diukur pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 hingga absorbansi stabil (Sami dan Rahimah, 2015).

h. Penentuan aktivitas antioksidan Trolox

Sampel seri konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 dan 120 ppm ekstrak etanol 70% dipipet masing masing 1 mL kemudian ditambahkan DPPH 4 mL, Kemudian didiamkan hingga *operating time* di tempat gelap. Absorbansi tiap seri konsentrasi dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

i. Penentuan aktivitas antioksidan larutan ekstrak

Larutan stok ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod pada masing-masing konsentrasi dipipet 1 ml kemudian ditambahkan DPPH 4 mL, Kemudian didiamkan hingga *operating time* di tempat gelap. Absorbansi tiap seri konsentrasi

dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

3.4.5. Analisis Data

Analisis data hasil uji fitokimia dianalisis secara deskriptif, sedangkan data hasil uji kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Pada Penentuan kadar flavonoid total data yang diperoleh yaitu berupa nilai absorbansi yang kemudian dihitung kadarnya dengan memplotkan nilai absorbansi sampel ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod ke dalam persamaan kurva baku pembanding yaitu kuersetin. Perhitungan kandungan flavonoid total menggunakan rumus yaitu:

$$y = a + bX$$

Keterangan:

y = serapan (absorbansi)

a = intersep (titik potong kurva terhadap sumbu y)

b = kemiringan (slope) kurva linier

X = konsentrasi (ppm)

r = koefisien relasi

Penentuan aktivitas antioksidan data yang diperoleh yaitu berupa nilai absorbansi dari ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod. Nilai konsentrasi sampel ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod, pembanding Trolox dan nilai persen inhibisi diplotkan pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier yang diperoleh dalam bentuk $y = b x + a$ digunakan untuk mencari nilai IC50 (*inhibitor concentration 50 %*). yang dihitung dengan rumus:

$$\%inhibisi = \frac{(Abs. blanko - Abs. sampel)}{Abs. blanko} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs blanko = absorbansi blanko (DPPH)

Abs sampel = absorbansi seri konsentrasi ekstrak etanol 70% daun dan bunga Kitolod.

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil uji kadar flavonoid total

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 70% bagian daun dan bunga kitolod. Penentuan kadar dilakukan melalui beberapa langkah yaitu penentuan panjang gelombang maksimal, *Operating Time*, kurva baku kuersetin, dan kadar flavonoid total. Berdasarkan beberapa tahapan di atas didapatkan persamaan regresi linier yang digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total dari ekstrak 70% bunga dan daun kitolod, yaitu $y = 0,0562x + 0,0915$ (x = konsentrasi sampel dalam ppm dan y = absorbansi) dan nilai koefisien korelasi $r = 0,9912$. Nilai koefisien korelasi yang mendekati 1 ini menunjukkan bahwa kurva tersebut linier sehingga menunjukkan bahwa hukum Lambert-Beer terpenuhi. Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva kalibrasi berupa garis lurus. Pada pembuatan kurva baku ini digunakan persamaan garis yang diperoleh dari metode kuadrat terkecil yaitu $y = bx + a$, Persamaan ini akan menghasilkan koefisien korelasi (r). Nilai koefisien korelasi yang memenuhi persyaratan adalah lebih dari 0,9770 (Tulandi dkk, 2015). Selanjutnya berdasarkan persamaan yang didapatkan kadar flavonoid total seperti tertera pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun dan bunga kitolod.

	Sampel	Kadar flavonoid pada ulangan			Rata-rata kadar flavonoid tiap gram sampel (mgQE/gram)
		1	2	3	
Etanol 70%	Bunga	4,635	4,741	4,848	4,741
	Daun	5,631	6,556	6,669	6,285

Pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa kadar flavonoid total yang diperoleh pada ekstrak etanol 70% daun kitolod yaitu sebesar 6,285 mgQE/gram. Kadar ini lebih tinggi dibandingkan kadar yang didapatkan oleh Ramayani dkk, (2021). Pada penelitian Ramayani dkk, (2021), didapatkan kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% sebesar 2,62 mgQE/gram, dan 4,42 mgQE/gram

pada pelarut metanol 96%. Sedangkan kadar flavonoid total yang diperoleh pada ekstrak etanol 70% bunga kitolod yaitu sebesar 4,741 mgQE/gram. Hasil ini lebih kecil dibandingkan pada bagian daun kitolod. Dilihat dari data yang diperoleh, daun dan bunga kitolod yang diekstrak dengan pelarut etanol 70% memiliki total flavonoid tertinggi dibanding dengan ekstrak metanol dan etanol 96%. Hal ini dikarenakan kemampuan dan sifat pelarut yang melarutkan senyawa flavonoid berbeda-beda, tergantung dari rantai kepolaran pelarut dan senyawa yang diekstrak. Menurut prinsip polarisasi, suatu senyawa akan larut pada pelarut yang memiliki kepolaran yang sama (Harbone, 1987). Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena mengandung sejumlah gula yang terikat, oleh karena itu flavonoid lebih cenderung larut pada pelarut polar (Kemit dkk, 2017).

Berdasarkan hasil terdapat perbedaan kadar flavonoid total pada daun dan bunga tumbuhan kitolod tersebut juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor menurut Zuraida dkk. (2017) diantaranya seperti komposisi tanah, suhu, curah hujan, dan radiasi ultraviolet dapat mempengaruhi konsentrasi komponen fenol termasuk flavonoid. Selain itu, pelarut merupakan faktor penting dalam mengekstraksi komponen fenolik dan flavonoid. Menurut Yuswi (2013), lama waktu ekstraksi dari ekstrak juga mempengaruhi terbentuknya kadar flavonoid. Pada penelitian Riwanti (2020) perbedaan konsentrasi pelarut dapat mempengaruhi konsentrasi kadar flavonoid pada tanaman. Hal tersebut didukung oleh riset Khoddani (2013) bahwa pelarut juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhi produksi kadar flavonoid disetiap tumbuhan. Faktor di atas merupakan faktor eksternal yang mempengaruhi kadar flavonoid yang dihasilkan oleh tanaman, dan terdapat beberapa faktor internal seperti pernyataan Metusalach (2007) yaitu umur, ukuran, dan faktor biologis lainnya. Berdasarkan penelitian Ramachandra (2012) faktor ketebalan dinding sel dapat mempengaruhi konsentrasi komponen fenolik termasuk flavonoid. Menurut Hernani dan Raharjo, (2005) tebal tipisnya lapisan dinding sel dapat mempengaruhi proses penghancuran dinding sel, semakin tebal lapisan dinding sel semakin tidak mudah dalam proses pengeringan dan akan sulit masuknya pelarut untuk mengeluarkan metabolit sekunder dalam bahan. Selain faktor tersebut terdapat faktor lain pada penelitian Nurfitriani, (2016), yaitu faktor

unsur hara yang tersedia, komposisi medium, perbedaan morfologi, jaringan tanaman yang digunakan dan aktivitas biosintesa.

Faktor lingkungan di atas merupakan faktor eksternal yang mempengaruhi kadar flavonoid yang dihasilkan oleh tanaman, dan terdapat beberapa faktor internal seperti pernyataan Metusalach (2007) yaitu umur, ukuran, dan faktor biologis lainnya. Berdasarkan penelitian Ramachandra (2012) faktor ketebalan dinding sel dapat mempengaruhi konsentrasi komponen fenolik termasuk flavonoid. Hal tersebut telah dijelaskan pula pada penelitian Hernani dan Raharjo, (2005) tebal tipisnya lapisan dinding sel dapat mempengaruhi proses penghancuran dinding sel, semakin tebal lapisan dinding sel semakin tidak mudah dalam proses pengeringan dan akan sulit masuknya pelarut untuk mengeluarkan metabolit sekunder dalam bahan. Selain faktor tersebut terdapat faktor lain pada penelitian Nurfitriani, (2016), yaitu faktor unsur hara yang tersedia, komposisi medium, perbedaan morfologi, jaringan tanaman yang digunakan dan aktivitas biosintesa.

Pada penelitian ini daun kitolod lebih tinggi kadar flavonoidnya dibandingkan dengan bunga kitolod. Hal ini dikarenakan fungsi daun sebagai tempat fotosintesis dan penghasil metabolit primer. Flavonoid merupakan metabolit sekunder, dan prekursor untuk menghasilkan metabolit sekunder adalah metabolit primer. Pada saat daun menjadi tempat penghasil metabolit primer maka daun juga menjadi tempat penghasil metabolit sekunder. Hal ini didukung oleh pernyataan Andersen dan Markham, (2006) yang mengemukakan bahwa prekursor senyawa flavonoid dihasilkan dalam daun melalui proses fotosintesis tepatnya melalui jalur Shikimic asam. Oleh karena itu kadar flavonoid pada daun lebih banyak dibandingkan pada organ lainnya. Hal yang sama juga dikemukakan oleh Octavianti Paramita (2010), bahwa fotosintesis dan respirasi merupakan proses yang esensial bagi tumbuhan termasuk dalam menghasilkan metabolit. Metabolit-metabolit tersebut dapat berupa metabolit primer seperti karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral, yang berperan sebagai prekursor untuk fenol, penil propanoid, saponin, terpenoid, alkaloid, tanin, steroid dan flavonoid (Mérillon and Ramawat, 2012; Koche, 2014). Hal ini juga alasan lain kenapa jumlah flavonoid total pada daun lebih tinggi dibandingkan dengan bunga dan organ lainnya.

Faktor tingginya kadar flavonoid pada daun juga disebabkan karena daun merupakan pelindung utama untuk reaksi oksidasi pada tanaman, sebagaimana juga yang diteliti oleh Solikhah dkk, (2019) pada daun singkong. Reaksi oksidasi merupakan reaksi yang terjadi pada beberapa proses metabolisme pada tanaman. Wiraatmaja, (2016) mengemukakan bahwa respirasi bukan hanya sekedar pertukaran gas, akan tetapi juga proses terjadinya reaksi oksidasi dimana senyawa (substrat respirasi) dioksidasi menjadi CO₂, sedangkan O₂ yang diserap direduksi membentuk H₂O. Proses ini juga terjadi di daun sehingga daun berperan penting dalam sejumlah reaksi oksidasi termasuk reaksi dalam pembentukan metabolit sekunder. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa daun memiliki kadar flavonoid tertinggi dibandingkan dengan organ yang lain seperti pada penelitian Setiawan, (2003) dimana daun rumput teki lebih tinggi kadar flavonoidnya dibandingkan dengan umbi. Pada penelitian Ahmad dkk, (2015) menunjukkan bahwa kadar flavonoid total pada buah patikala lebih rendah dibandingkan kadar flavonoid pada daun patikala, hasil kadar flavonoid total untuk buah sebesar 1,7761 mgQE/g sedangkan ekstrak yang berasal dari daun sebesar 5,4523 mgQE/g. Hal yang sama juga diungkapkan oleh marliani dkk (2016), dimana kadar flavonoid total ekstrak etanol daun buah kasturi (*Mangifera casturi*) lebih tinggi dari pada kulit batang dan kulit buah, yaitu pada daun, kulit batang, dan kulit buah berturut turut adalah 9,72 mgQE/, 7,92 mgQE/, dan 2,098 mgQE/.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diatas terbukti bahwa daun menjadi tempat dihasilkannya flavonoid, dan ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh aktivitas fotosintesis mengingat prekursor untuk terbentuknya flavonoid berasal dari metabolit primer yang dihasilkan dalam proses fotosintesis, namun demikian perlu dikonfirmasi terkait hubungan antara keduanya. Oleh karena itu perlu pada penelitian selanjutnya perlu adanya informasi mengenai hubungan antara kadar flavonoid total dengan aktivitas fotosintesis. Apakah ketika laju fotosintesis tinggi maka kadar flavonoid yang dihasilkan tinggi pula, dan sebaliknya ketika laju fotosintesis rendah kadar flavonoid yang dihasilkan akan rendah. Hal tersebut guna untuk mengetahui informasi yang lebih detail dalam melakukan pengamatan uji flavonoid dan penentuan aktivitas antioksidan. Allah SWT berfirman dalam Al quran surat Ar Ra'd ayat 4 yaitu:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٍ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٍ وَغَيْرُ صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفُضِلٌ بَعْضُهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Artinya: “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanaman-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir” (Ar Ra’d[13]4).

Pada Tafsir Al-Muyassar / Kementerian Agama Saudi Arabia: “Dan di bumi terdapat bagian-bagian yang sebagian bersebelahan dengan sebagian yang lain. Sebagian darinya merupakan tanah yang baik yang dapat menumbuhkan tanaman-tanaman yang bermanfaat bagi manusia, dan sebagian (lagi) bergaram lagi asin tidak dapat menumbuhkan apapun. Dan pada bagian tanah yang baik terdapat kebun-kebun anggur, dan menjadikan padanya tanaman-tanaman yang beraneka ragam, pohon kurma yang berkelompok pada satu lokasi tanam, dan ada yang tidak berkelompok pada satu tempat. Semua itu (tumbuh) pada satu tanah yang sama dan menyerap air yang sama, akan tetapi bermacam-macam dalam hasil buah-buahan, bentuk, cita rasa dan aspek lainnya. Ini manis, sedang yang itu masam, sebagian lebih utama daripada sebagian yang lain untuk dikonsumsi. Sesungguhnya pada yang demikian ini terdapat tanda-tanda nyata bagi orang-orang yang memiliki hati yang memahami perintah dan larangan dari Allah”. Menurut Tafsir Al-Mukhtashar / Markaz Tafsir Riyadh, di bawah pengawasan Syaikh Dr. Shalih bin Abdullah bin Humaid (Imam Masjidil Haram): “Di bumi ada bagian-bagian yang berdampingan; di sana ada kebun-kebun anggur, tanaman pokok, pohon-pohon kurma yang bercabang dan pohon-pohon kurma yang tidak bercabang. Kebun-kebun dan tanaman-tanaman pokok tersebut disiram dengan air yang sama namun Kami membedakan sebagiannya dari sebagian lainnya dalam rasa dan faedah-faedah lainnya, padahal semuanya bersebelahan dan disiram dengan air yang sama. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat bukti-bukti dan tanda-tanda bagi kaum yang berakal, karena mereka adalah orang-orang yang mengambil faedah darinya”, sedangkan pada Tafsir Al-Madinah Al-Munawwarah / Markaz Ta'dzhim al-Qur'an di bawah pengawasan Syaikh Prof. Dr. Imad Zuhair Hafidz, professor fakultas al-Qur'an Universitas Islam Madinah: “Dengan penciptaan-Nya yang menakjubkan dan kemurahan-Nya yang besar, Allah menjadikan di bumi bagian-

bagian tanah yang saling berdekatan dan bersambung, namun tekstur, air, dan buah-buahannya berbeda-beda; dan kebun-kebunnya memiliki berbagai macam jenis anggur, biji-bijian, dan kurma. Di antara pohon-pohon kurma itu ada yang tumbuh dengan dua cabang atau lebih dari satu batang, dan ada yang tumbuh hanya dengan satu cabang. Dan berbagai buah-buahan dan tanaman yang memiliki rasa dan warna yang berbeda-beda ini berasal dari siraman air yang sama, sebagiannya lebih baik kualitas, rasa, dan manfaatnya daripada yang lain. Sungguh dalam hal yang agung dari Tuhan ini terdapat bukti-bukti yang jelas dan benar bagi orang yang mau mengikuti kebenaran”.

Pada Tafsir Al-Muyassar / Kementerian Agama Saudi Arabiadikatakan “tanah yang baik yang dapat menumbuhkan tanam-tanaman yang bermanfaat bagi manusia”, selain hal tersebut dikatakan juga “Dan pada bagian tanah yang baik terdapat kebun-kebun anggur, dan menjadikan padanya tanaman-tanaman yang beraneka ragam, pohon kurma yang berkelompok pada satu lokasi tanam, dan ada yang tidak berkelompok pada satu tempat. Semua itu (tumbuh) pada satu tanah yang sama dan menyerap air yang sama, akan tetapi bermacam-macam dalam hasil buah-buahan, bentuk, cita rasa dan aspek lainnya” dimana aspek lain dapat diartikan sebagai komposisi dan kandungannya, pada penelitian bagian daun kadar flavonoid total lebih tinggi dibandingkan dengan bunga kitolod, hal tersebut dikatakan pada kalimat ” *Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu*”, yang bertujuan agar kita (umat-Nya) melihat tanda tanda kebesaran Allah SWT yang dijelaskan pada kalimat “*Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah)*”, dan pada kalimat “*bagi kaum yang berfikir*” yaitu orang orang yang melakukan riset dan mengamati hal tersebut. Imani, (2005) menyatakan bahwa setiap unsur pada tumbuhan ini memiliki khasiat unik dan berbeda bagi tubuh manusia yang dapat diteliti dalam kehidupan kita, dan banyak hal dari unsur unsur ini yang dapat dipelajari untuk memberikan pencerahan dan memberikan pandangan mendalam akan keajaiban yang terkandung di dalam unsur tersebut.

4.2. Hasil uji aktivitas antioksidan

Identifikasi Uji aktivitas antioksidan diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum (λ) untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan oleh larutan trolox mencapai serapan maksimum. Hasil penentuan

panjang gelombang yang diperoleh yaitu 510 nm (lampiran 4.) . Hal tersebut diperkuat oleh penelitian Puspitasari dkk. (2019) dimana panjang gelombang yang diperoleh yaitu 517 nm. Sehingga panjang gelombang yang didapatkan dapat digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod. Selanjutnya yaitu penentuan *operating time* (OT) untuk mengetahui waktu terjadinya reaksi yang stabil antara senyawa DPPH dengan trolox. Hasil penentuan OT yaitu nilai absorbansi stabil pada menit ke 25 dan 30 (lampiran 4.). Hasil penentuan *operating time* ini hampir sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Puspitasari (2019) *operating time* senyawa DPPH dengan trolox didapatkan pada menit ke-30. Semakin lama waktu pengukuran, maka ada kemungkinan senyawa tersebut semakin stabil dengan adanya absorbansi yang tidak berubah. Karena alasan inilah, maka pengukuran senyawa berwarna (hasil suatu reaksi kimia) harus dilakukan pada waktu operasional (Gandjar dan Rohman, 2007).

Penentuan aktivitas antioksidan diawali pada pembandingan trolox, ekstrak etanol 70% bunga kitolod dan ekstrak etanol 70% daun kitolod. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menggunakan nilai IC_{50} (Inhibition Concentration 50%). IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier, yang menyatakan hubungan antara konsentrasi fraksi antioksidan yang dinyatakan sebagai sumbu x dengan % inhibisi yang dinyatakan sebagai sumbu y dari seri replikasi pengukuran. Hasil IC_{50} dapat dilihat pada tabel 4.2 di bawah ini.

Tabel 4.2 Hasil Perbandingan Nilai IC_{50} Trolox dan Ekstrak Etanol 70% Daun dan bunga Kitolod

Larutan Uji	Nilai IC_{50} (ppm)	Tingkat kekuatan antioksidan
Trolox	8,528	Sangat kuat
Ekstrak etanol 70% bunga kitolod	88,167	Kuat
Ekstrak etanol 70% daun kitolod	71,352	Kuat

Pada Tabel 4.2 diperoleh nilai IC_{50} Trolox sebesar 8,528 ppm yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dibandingkan pada ekstrak etanol 70% bunga kitolod dan daun kitolod, hal tersebut dikarenakan trolox atau senyawa 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-asam karboksilat merupakan standard pembandingan dalam berbagai pengujian antioksidan. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% bunga kitolod dan daun kitolod memiliki aktivitas yang kuat dengan nilai IC_{50} masing-masing diperoleh 88,167 ppm dan 71,352 ppm. Hal tersebut sesuai dalam penelitian Susiloningrum & Sari., (2021) tentang penetapan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% rimpang temu mangga yang menunjukkan bahwa semakin besar kadar flavonoid total semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Menurut Yuliani dkk., (2016) tingkat kekuatan antioksidan dikatakan sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat $IC_{50} 51-100$ ppm, sedang $IC_{50} 101-150$ ppm, lemah $IC_{50} > 151$ ppm, dan tidak aktif $IC_{50} > 500$ ppm.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa kadar flavonoid pada daun kitolod lebih tinggi daripada bunga kitolod, berbanding terbalik dengan hasil yang diperoleh dalam uji aktivitas antioksidan, yaitu nilai IC_{50} daun lebih rendah daripada bunga yang artinya aktivitas antioksidan daun lebih kuat dibandingkan bunga. Menurut Purwanto dkk., (2017) perbedaan aktivitas yang diperoleh pada setiap ekstrak tersebut disebabkan adanya perbedaan kandungan dan jumlah senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak, sehingga aktivitas antioksidan yang diperoleh juga berbeda. Demikian aktivitas yang sesuai dengan kadar yang ada semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin kuat daya antioksidannya.

Berdasarkan hasil penelitian nilai IC_{50} bunga kitolod yaitu 88,167 ppm dan daun kitolod yaitu 71,352 ppm yang menurut Yuliani dkk., (2016) tingkat kekuatan antioksidan dari kedua sampel dikatakan kuat. Efektivitas suatu sampel untuk menangkal radikal bebas dari metode DPPH dinamai dengan IC_{50} . Menurut Widayanti dkk., (2016) Pengertian dari IC_{50} adalah konsentrasi yang dapat meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Berdasarkan hasil yang telah didapatkan tingkat kekuatan antioksidan dari kedua sampel dikatakan kuat karena hasil lebih besar dari nilai

pembandingan trolox yaitu 8,528 ppm, semakin besar nominal yang diperoleh semakin berkurang aktivitas antioksidannya.

Jumlah kadar flavonoid didalam tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan berbeda beda, hal tersebut dikarenakan fungsi yang berbeda pula dalamnya, jumlah atau kadar sesuatu yang telah diciptakan Allah bebeda dan diciptakan sesuai porsinya dan tidak kurang atau lebih. Hal tersebut dijelaskan dalam QS. Al-Hijr ayat 19:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْفَيْنَا فِيهَا رُؤْسِيَ وَأُنْبِتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ

Artinya: *"Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran"*(QS. Al-Hijr[15]19).

Menurut afsir Al-Muyassar / Kementerian Agama Saudi Arabia: Dan bumi kami lapangkan dengan luas, dan kami tancapkan padanya gunung-gunung yang akan meneguhkannya, dan kami tumbuhkan padanya segala jenis tanaman yang telah ditakdirkan lagi diketahui termasuk yang dibutuhkan oleh umat manusia. Pada Tafsir Al-Mukhtashar / Markaz Tafsir Riyadh, di bawah pengawasan Syaikh Dr. Shalih bin Abdullah bin Humaid (Imam Masjidil Haram): Kami membentangkan bumi agar manusia tinggal di atasnya. Kami menjadikan padanya gunung-gunung yang kokoh agar manusia bisa hidup stabil di atas bumi. Kami menumbuhkan di bumi berbagai macam tanaman yang telah ditetapkan dan ditentukan sesuai dengan tuntutan hikmah. Menurut Tafsir Al-Madinah Al-Munawwarah / Markaz Ta'dzhim al-Qur'an di bawah pengawasan Syaikh Prof. Dr. Imad Zuhair Hafidz, professor fakultas al-Qur'an Universitas Islam Madinah: Dan Kami hamparkan dan luaskan bumi; dan Kami ciptakan di dalamnya gunung-gunung yang kokoh, Kami tumbuhkan berbagai jenis tumbuhan dengan terukur, teratur, dan detail. Dan Kami ciptakan di dalamnya segala yang kalian butuhkan untuk hidup berupa makanan, minuman, dan makhluk lainnya yang rezekinya bukan kalian yang menanggungnya, namun Allah yang memberi mereka rezeki. Dan tidaklah semua rezeki dan maslahat seluruh makhluk melainkan di sisi Kami perbendaharaannya,

dan Kami tidak menurunkannya melainkan sesuai dengan kebutuhan dan kemaslahatan yang telah terukur.

Berdasarkan ayat di atas dijelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu untuk kelangsungan hidup kita, Allah menciptakan semua kebutuhan makhluk hidupNya sesuai dengan kadar yang dibutuhkan makhlukNya, sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan, dimana berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian yaitu perbedaan kadar dan fungsi dari berbeda bagian tumbuhan. Hal ini karena Allah memberikan apa yang dibutuhkan tumbuhanNya sesuai porsi masing masing, seperti halnya pada bagian bunga dan daun kitolod, apa yang dibutuhkan dan dihasilkan berbeda, dengan demikian diperoleh konsentrasi dan nilai antioksidan yang berbeda dalam menghambat radikal bebas oleh senyawa flavonoid pada organ bunga dan daun pada tanaman kitolod .

Secara implisit segala sesuatu diciptakan oleh Allah berpasang pasangan, elektron proton dalam firman Allah SWT pada surat yasin ayat 36 yang berbunyi :

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَرْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ

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

Pada Tafsir Al-Muyassar / Kementerian Agama Saudi Arabia menyebutkan bahwa “Maha suci Allah yang maha agung yang telah menciptakan berbagai macam makhluk seluruhnya meliputi berbagai macam tanaman di bumi ini, manusia, baik laki-laki maupun perempuan, dan makhluk-makhluk lainnya yang tidak mereka ketahui hanya Allah yang menciptakan sehingga tidak patut ada selainnya yang dipersekutukan denganNya”. Pada Tafsir Al-Mukhtashar / Markaz Tafsir Riyadh, di bawah pengawasan Syaikh Dr. Shalih bin Abdullah bin Humaid (Imam Masjidil Haram) menyebutkan “Maha suci Allah lagi Maha tinggi yang telah menciptakan berbagai jenis tanaman dan buah-buahan, yang telah menciptakan manusia laki-laki dan perempuan dan yang telah menciptakan makhluk-makhluk lainnya yang tidak manusia ketahui di darat, laut dan lainnya”. Sedangkan pada Tafsir Al-Madinah Al-Munawwarah / Markaz Ta'dzhim al-Qur'an di bawah pengawasan Syaikh Prof. Dr. Imad Zuhair Hafidz, professor fakultas al-Qur'an Universitas Islam Madinah: Maha Suci Allah Yang Esa dalam menciptakan

berbagai macam jenis tanaman yang tumbuh di bumi, manusia yang laki-laki dan perempuan, dan makhluk-makhluk lain yang tidak mereka ketahui.

Pada surat tersebut berdasarkan beberapa tafsir telah dijelaskan bahwa Allah telah menciptakan segalanya yang ada di bumi berpasangan, tidak terkecuali radikal bebas. hal tersebut sesuai dengan Kosasih dkk., (2004) Radikal bebas merupakan suatu molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, kondisi tersebut membuat reaktivitas dari radikal bebas semakin tinggi, adanya senyawa antioksidan memiliki peran penting dalam menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapatkan pasangan elektron.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 70% bunga kitolod memiliki kadar flavonoid total yaitu 5,59 mgTAE/g, dan pada Ekstrak etanol 70% daun kitolod yaitu 7,63 mgTAE/g
2. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% bunga dan daun kitolod berdasarkan nilai IC₅₀ berturut turut yaitu sebesar 71,352 ppm dan 88,167 ppm, berdasarkan kedua sampel dapat dikategorikan dalam antioksidan kuat.

5.2. Saran

Saran pada penelitian ini adalah

1. Penelitian selanjutnya dapat mencari kandungan senyawa lain yang terdapat dalam daun dan bunga kitolod yang berpotensi sebagai antioksidan.
2. Penelitian selanjutnya dapat menguji kadar flavonoid total pada bagian lain tumbuhan kitolod.
3. Proses penarikan senyawa dapat dilakukan menggunakan metode dan pelarut lain
4. Penelitian selanjutnya dapat menguji aktivitas antioksidan menggunakan metode lain

DAFTAR PUSTAKA

- A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
- Aditya, M., & Ariyanti, P. R. (2016). Manfaat gambir (*Uncaria gambir* Roxb) sebagai antioksidan. *Jurnal Majority*, 5(3), 129-133.
- Ahmad, A. R., Juwita, J., & Ratulangi, S. A. D. (2015). Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) RM SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1.
- Akowuah, G. A., Ismail, Z., Norhayati, I., & Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, 93(2), 311-317.
- Alfaridz, F. (2018). Review jurnal: Klasifikasi dan aktivitas farmakologi dari senyawa aktif flavonoid. *Farmaka*, 16(3).
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M., & Al-Rawahy, F. (2007). Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food chemistry*, 104(3), 943-947.
- Ali, I. (2006). Khasiat dan manfaat kitolod penakluk gangguan pada mata. Edisi ke-3, Agromedia Pustaka, Jakarta, 1-6.
- Amaliah, A. R. (2014). Pengaruh Infus Daun Kitolod (*Laurentia longiflora*) Terhadap Histopatologi Mata Tikus Wistar Katarak yang Diinduksi Methyl Nitroso Urea. Surabaya. Universitas Katolik Widya Mandala.
- Andersen, Ø. M Enerstvedt, & K. H., Jordheim, M., (2006). Isolation and identification of flavonoids found in *Zostera marina* collected in Norwegian coastal waters. Analysis of polyphenolic content in marine and aquatic angiosperms from Norwegian coastal waters.
- Anggraito Y. U., Susanti. R., Iswari, R. S, Yuniastuti, A., Lisdiana, Nugrahaningsih, W. H., Habibah, N. A., Bintari, S. H. (2018). Metabolit sekunder dari tanaman. Semarang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- Aprilianty, R. A. (2013). Penentuan Aktivitas Antioksidan Minuman Sari Wortel (*Daucus carota* L.) (Doctoral dissertation, Universitas Pendidikan Indonesia).
- Apsari, P. D., & Susanti, H. (2011). Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) secara Spektrofotometri. Yogyakarta: Kerjasama Fakultas Farmasi dan Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Ahmad Dahlan.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29.
- Arukwe, U., Amadi, B. A., Duru, M. K. C., Agomuo, E. N., Adindu, E. A., Odika, P. C., & Anudike, J. (2012). Chemical composition of *Persea americana* leaf, fruit and seed. *Ijrras*, 11(2), 346-349.

- Aziz, I. R., Raharjeng, A. R. P., & Susilo, S. (2018). Peran Etnobotani Sebagai Upaya Konservasi Keanekaragaman Hayati Oleh Berbagai Suku di Indonesia. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* 4(1).
- Badarinath, A. V., Rao, K. M., Chetty, C. M. S., Ramkanth, S. T. V. S. R., Rajan, T. V. S., & Gnanaprakash, K. (2010). A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1276-1285.
- Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Bangun, A. (2012). *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Bandung: IPH.
- Chan, Z. Y., Govindaraju, K., Krishnan, P., Low, Y. Y., Chong, K. W., Yong, K. T., & Lim, K. H. (2019). Diphenethylpiperidine alkaloids with tracheal smooth muscle relaxation activity from *Hippobroma longiflora* (L.) G. Don. *Phytochemistry Letters*, 30, 93-98.
- 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).
- Cutler, S. dan Cutler, H., (2000). *Biologically Active Natural Product. Pharmaceuticals*, CRC Press LLC, Boca Raton, USA: 1-13.
- Dalimartha, Setiawan. (2004). *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Damayanti, R., Riza, D. F. A., Putranto, A. W., & Nainggolan, R. J. (2021, May). *Vernonia Amygdalina Chlorophyll Content Prediction by Feature Texture Analysis of Leaf Color*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 757(1)
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2000), *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan Pertama, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1-11.
- Devy, N. F., Yulianti, Y., & Andrini, A. (2010). Kandungan Flavonoid dan Limonoid pada Berbagai Fase Pertumbuhan Tanaman Jeruk Kalamondin (*Citrus mitis Blanco*) dan Purut (*Citrus hystrix Dc.*). *Jurnal Hortikultura*, 20(1).
- Dewi, S. R., Argo, B. D., & Ulya, N. (2018). Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1-10.
- Djamil, R., & Anelia, T. (2009). Penapisan fitokimia, uji BSLT, dan uji antioksidan ekstrak metanol beberapa spesies *Papilionaceae*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(2), 65-71.
- Djapiala, F. Y., Montolalu, L. A., & Mentang, F. (2013). Kandungan total fenol dalam rumput laut *Caulerpa racemosa* yang berpotensi sebagai antioksidan. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 1(2).
- Egarani, G. R., Kasmiyati, S., & Kristiani, E. B. E. (2020). The Antioxidant Content and Activity of Various Plant Organs of Kitolod (*Isotoma longiflora*). *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12(3), 297-303.
- Fazil, M., Suci, R. N., Allfiah, F., Alam, D. N., Angelia, G., Situmeang B. & Kimia, A. (2017). Analisis senyawa alkaloid dan flavonoid dari ekstrak kitolod (*Isotoma longiflora*) dan uji aktivitasnya terhadap bakteri penyebab karies gigi. *Itekimia*, 2(1), 73-83.

- Fitriana, W. D., Ersam, T., Shimizu, K., & Fatmawati, S. (2016). Antioxidant activity of *Moringa oleifera* extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(3), 297-301.
- Fitriana, W.D., Fatmawati, S., dan Ersam, T., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-Fraksi Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains.
- Fitriani, N & Trinawaty, M. (2016). Pengaruh Pemberian Berbagai Macam Pupuk Daun Terhadap Pertumbuhan Tunas Aksilar Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) Varietas cilembu secara in vitro. *Jurnal Agroekoteknologi*, 8(2).
- Prayoga. G. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* Lour). Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2018). Spektroskopi molekuler untuk analisis farmasi. UGM PRESS.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., (2007), *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta, Pustaka pelajar.
- Gazali, M., Nufus, H., & Nurjanah, Z. (2019). Eksplorasi senyawa bioaktif ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) asal pesisir Aceh Barat sebagai antioksidan. *Jurnal Pengolahan*.
- Givnish, T. J., Millam, K. C., Mast, A. R., Paterson, T. B., Theim, T. J., Hipp, A. L., & Sytsma, K. J. (2009). Origin, adaptive radiation and diversification of the Hawaiian lobeliads (Asterales: Campanulaceae). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1656), 407-416.
- Grotewold, E. (Ed.). (2006). *The science of flavonoids* (pp. 1-274). New York: Springer.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M. (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology & Medicine*. 18(1): 125-126.
- Hamidy, M. Y., Safitri, I., & Syafril, D. (2009). Isolasi dan Uji Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bunga, Batang dan Daun Sapu Jagad (*Isotoma longiflora* (L) Presl.) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *JIK (Jurnal Ilmu Kedokteran)*, 3(1).
- Hamidy, U. U. (2006). *Jagad Melayu dalam lintasan budaya di Riau*. Bilik Kreatif Press.
- Harborne, J. B., (1987), *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi kedua, Hal 5, 69-76, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, ITB Press, Bandung.
- Hariana, H. A. (2008). *Tumbuhan Obat & Khasiatnya 3*. Niaga Swadaya.
- Hasibuan, E. (2015). *Pengenalan Spektrofotometri pada Mahasiswa yang Melakukan Penelitian di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara. Tersedia di repository. usu. ac. id diakses pada, 25.
- Herdianto Febrian Arbyputra, Siti Hazar, Sri Peni Fitrianiingsih, (2016). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak dan Karakterisasi Fitokimia Herba Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) C.Presl) terhadap *Candida albicans*. *Prosiding Farmasi*. 2(2)

- Hernani dan M. Raharjo. 2005. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Jakarta: Penebar Swadya.
- Hidayat, M. A. (2015). Pengembangan Ekstrak Daun dan Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) untuk Obat Herbal Terstandar Diabetes Mellitus.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Imani, A. K. F. 2005. Tafsir Nurul Qur'an. Jakarta: Penerbit Al-Huda.
- Indrayani, S. (2008). Validasi Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Sediaan Krim Secara Kolorimetri dengan Pereaksi $AlCl_3$. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Iskandar, Y. Abdul Rohman (2007). Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ismailova, M. (2008). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Daun Kitolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm.) Terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Pasien Penderita Konjungtivitis.
- Jumiarni, W. O., & Komalasari, O. (2017). Eksplorasi jenis dan pemanfaatan tumbuhan obat pada masyarakat Suku Muna di Permukiman Kota Wuna. *Traditional Medicine Journal*, 22(1), 45-56.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Karadag. A., B, Ozcelik., S. Saner, (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*.
- Karina, S. (2014). Jenis Tumbuhan Berguna Pada Pekarangan Masyarakat Percampuran di Kelurahan Layana Indah Kecamatan Palu Timur Sulawesi Tengah. *Biocelebes*, 8(2).
- Kemit, N., Widarta, I. W. R., & Nocianitri, K. A. (2016). Pengaruh jenis pelarut dan waktu maserasiterhadap kandungan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana* Mill). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (Itepa)*, 5(2), 130-141.
- Kesting, J. R., Tolderlund, I. L., Pedersen, A. F., Witt, M., Jaroszewski, J. W., & Staerk, D. (2009). Piperidine and tetrahydropyridine alkaloids from *Lobelia siphilitica* and *Hippobroma longiflora*. *Journal of natural products*, 72(2), 312-315.
- Khadijah., Jayali, A.M., Umar, S., Sasmita, I., (2017), Penentuan Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Samama Asal Ternate Maluku Utara, *Jurnal Kimia Mulauwarman*, 15(1): 1693-5616.Khoddami,
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
- Koche, D. (2014). Role of secondary metabolites in plants' defense mechanism. MakdeKH. A glimpse of current vistas plant science research, Hislop College Publication Cell, Nagpur, 1-16.
- Koller, E. (2009). Javanese medical plants used in rural communities (Doctoral dissertation, uniwienn).
- Konaté, K., Souza, A., Roland, M., Coulibaly, A., Kiendrebeogo, M., Lamien-Meda, A., Lamidi, M., Millogo-Rasolodimby, J. & Nacoulma, O. G.

- (2010). Polyphenol contents, antioxidant and anti-inflammatory activities of six Malvaceae species traditionally used to treat hepatitis B in Burkina Faso. *European Journal of Scientific Research*, 44.
- Kosasih, E. N., Tony, S., & Hendro, H. (2006). Peran antioksidan pada lanjut usia. Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia. Jakarta.
- KR, Markham (1988). Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15. Penerbit ITB, Bandung.
- Lammers, T. G. (2007). World checklist and bibliography of Campanulaceae. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Lü, J.-M., Lin, P. H., Yao, Q. & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14.
- Maria, B. (2002). Teknik Penelitian Biokimia. *Erlangga Medical Series, Jakarta*.
- Marliani, L., Naimah, A., & Roni, A. (2016, April). Penetapan Kadar Fenolat Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang dan Kulit Buah Kasturi (*Mangifera Casturi*). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences (Vol. 3, pp. 275-281)*.
- Marxen, K., Vanselow, K. H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hansen, U. P. (2007). Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*, 7(10), 2080-2095.
- Mérillon, J. M., Rendeiro, C., Vauzour, D., Rattray, M., Waffo-Téguo, P., Butler, L. T., & Spencer, J. P. (2013). Dietary levels of pure flavonoids improve spatial memory performance and increase hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *PloS one*, 8(5), e63535.
- Metusalach. 2007. Pengaruh Fase Bulan dan Ukuran Tubuh Terhadap Rendemen, Kadar Protein, Air dan Abu Daging Kepiting Rajungan, *Portunus spp.* *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan*.
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A., (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Mol. Basel Switz*
- Miksusanti et, al , (2012). Aktivitas Antioksidan dan Sifat Kestabilan Warna Campuran Ekstrak Etil Esetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*). Sumatera Selatan: Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya. 15(2)
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Journal of Sciences and Technology*. 26(2): 211-219.
- Murray RK, Granner DK, & Rodwell VW. 2009. *Biokimia Harper*, Ed. 27. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. (2003). *Biokimia harper*. EGC.
- Nofiani, R. (2008). Artikel ulas balik: Urgensi dan mekanisme biosintesis metabolit sekunder mikroba laut. *Jurnal Natur Indonesia* 10(2):120-125.
- Nur, N. M., & Al-Jasabi, S. M. (2017). Antioxidant properties of maslinic acid extracted from *Plumeria Rubra* leaves. *IJCRR*, 8.
- Nuraini, D. N. (2014). *Aneka Daun Berkhasiat Untuk Obat cetakan 1*. Yogyakarta: Penerbit GAVA Media. Hal, 106.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., (2016), Flavonoids: an overview, *J.Nutr.Sci*, 5, 47

- Paramita, S., Eryanti, Y., & Teruna, H. Y. (2015). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Tumbuhan Kitolod (*Isotoma longiflora* (Wild.) Presl) Terhadap *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
- Pasaribu, G., & Setyawati, T. (2011). Aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak kulit kayu raru (*Cotylelobium* sp.). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 29(4), 322-330.
- Permatasari, E. (2011). Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif Pada selada air (*Nasturtium officinale* LR Br).
- Prayoga, G. (2013). Fraksinasi, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan identifikasi golongan senyawa kimia dari ekstrak teraktif daun sambang darah (*Excoecaria cochinchinensis* Lour). Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia.
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan berbagai pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 3(1), 24-32.
- Puspitasari, A.D., dan Prayogo, L.S., (2016), Perbandingan Metode Estraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinis*, 13(2): 16-23.
- Puspitasari, D., Pratimasari, D., & Andriani, D. (2019). Penentuan nilai SPF (sun protection factor) Krim Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Secara In Vitro Menggunakan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), 118-125.
- Putra, A., & Rumondor, P. (2020). Sunnah, Sains Dan Peradaban Manusia; Menelaah Kembali Pemikiran Yusuf Al Qardhawi. *EL-BANAT: Jurnal Pemikiran Dan Pendidikan Islam*, 10(1), 1-19.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (Eds.). (2001). *Antioxidants in food: practical applications*. CRC press.
- Rahmat, H. (2009). Identifikasi senyawa flavonoid pada sayuran indigenous Jawa Barat.
- Ramachandra, Y. L. Shruthi, S. D., Rajeshwari, A., Govardhana Raju, K., Pavani, A., Vedamurthy, A. B.(2012). Phytochemical and antioxidant analysis of leaf extracts from *Kirganelia reticulata* Baill. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(3), 608-612.
- Ramayani, S. L., Nugraheni, D. H., & Wicaksono, A. R. E. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Fenolik dan Kadar Total Flavonoid Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.). *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 10(1), 11-16.
- Rahmayani, U., Pringgenies, D., & Djunaedi, A. (2013). Uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar keong bakau (*Telescopium telescopium*) dengan pelarut yang berbeda terhadap metode DPPH (diphenyl picril hidrazil). *Journal of Marine Research*, 2(4), 36-45.
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah, A. (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 (J-PhAM)*, 2(2), 82-95.
- Robinson, T. (1995). Kandungan organik tumbuhan tinggi.

- Rothan, H. A., Bahrani, H., Abd Rahman, N., & Yusof, R. (2014). Identification of natural antimicrobial agents to treat dengue infection: In vitro analysis of laticin peptide activity against dengue virus. *BMC microbiology*, 14(1), 1-10.
- Safitri, I., Hamidy, M. Y., & Syafril, D. (2009). Isolasi dan Uji Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bunga, Batang dan Daun Sapu Jagad (*Isotoma longiflora* (L) Presl.) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *JIK (Jurnal Ilmu Kedokteran)*, 3(1).
- Safrina, D., Susanti, D., Dewi, T. F., & Dita, M. (2020). Kadar Flavonoid Total *Simplisia Tempuyung (Sonchus arvensis L.)* dengan Metode Pengeringan Kombinasi di Dataran Tinggi. In *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS* 4(1)95-102.
- Salamah, N., Widyaningsih, W., IZATI, I., & Susanti, H. (2017). Aktivitas penangkap radikal bebas ekstrak etanol ganggang hijau *Spirogyra sp.* dan *Ulva lactuca* dengan metode DPPH. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), 145-150.
- Sami, F. J., & Rahimah, S. (2015). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga brokoli (*Brassica oleracea l. var. italica*) dengan metode DPPH (2, 2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan metode ABTS (2, 2 azinobis (3-ethylbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 107-110.
- Sanjoyo, R. (2006). *Obat (Biomedik Farmakologi)*. Yogyakarta: D3 Rekam Medis FMIPA UGM.
- Savira Dila, Damayanti Iskandar. (2020). Pemanfaatan Ekstrak Daun Kitolod (*Hippobroma Longiflora (L) G.Don*) Sebagai Bahan Aktif Sediaan Tabir Surya . *Jurnal Kimia Riset*, 5(1)
- Sayuti Kesuma, Rina Yenrina, (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas: Andalas University Press
- Setiabudi, B. Agoes, G., (2007), *Teknologi Bahan Alam*, Penerbit ITB Press, Bandung.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82-89.
- Setiawan, P. Y. B. (2013). *Penerapan Metode Simplex Lattice Design Dalam Penentuan Komposisi Pelarut Etanol-Air Pada Proses Ekstraksi Daun Pepaya (Carica Papaya) Dengan Respon Aktivitas Larvasida Nyamuk Aedes Aegypti (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada)*.
- Setyorini Dwi dan Eriyanto Yusnawan. (2016). *Peningkatan Kandungan Metabolit Sekunder Tanaman Aneka Kacang sebagai Respon Cekaman Biotik*. *Iptek Tanaman Pangan* 11(2)
- Shihab M Q. (2002). *Tafsir Al Misbah: Pesan, Kesan, Kesarian Al – Qur'an (Volume 10)*. Jakarta : Lentera Hati Sulistiyo
- Sholihah, L. M. A, Roosita, K., Dahlianti, R., Amelia, K. R., (2019). *Gizi dan Tanaman Obat untuk Kesehatan Reproduksi Wanita dan Laktasi*. PT Penerbit IPB Press.
- Siregar, R M. (2015), *Antibacterial Activity of Kitolod (Laurentia longiflora (L). Peterm) Leaf and Flower Extact Against Several Conjunctivity Causing Bacteria*. *Bogor Agricultural University*. 1(8)

- Siska, H. S., & Wardani, T. K (2016) . Uji Efek Antiglaukoma Infus Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* (L) C. Presl) Terhadap Tikus Putih Jantan Berdasarkan Tekanan Bola Mata.
- Steenis, V. (2006). Flora Cetakan Kelima.
- Stevens, P. F., Chase, Haston, E., Richardson, J. E., M. W., & Harris, D. J. (2007). A linear sequence of Angiosperm Phylogeny Group II families. *Taxon*, 56(1),7-6.
- Suharyanto, S., & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110-119
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh konsentrasi etanol terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(1), 27-35.
- Sunnah, I., Dianingati, R. S., & Wulandari, A. R. (2021). Optimasi Pelarut Terhadap Parameter Spesifik Ekstrak Kitolod (*Isotoma longiflora*). *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(1)
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. (2021). Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak temu mangga (*Curcuma mangga valetton & zijp*) dengan variasi konsentrasi pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), 117-127.
- Sutarno, S., & Setyawan, A. D. (2015). Genetic diversity of local and exotic cattle and their crossbreeding impact on the quality of Indonesian cattle. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 16(2).
- Syaifudin ahmad, (2019). Pengaruh Ph Terhadap Kadar Flavonoid Pada Gel Ekstrak Daun Kitolod (*Hipobroma Longiflora* (L) G.Don). *Jurnal FARMASINDO*. 3(1)
- Syamsul Eka Siswanto, Yana Yunita Hakim, Henny Nurhasnawati, (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm. F.) Bedd.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 1(1)
- Tandi, J., Melinda, B., Purwantari, A., & Widodo, A. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(1), 74-80.
- Tetti, Mukhriani (2014). Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Tulandi, G. P. (2015). Validasi Metode Analisis untuk Penetapan Kadar Parasetamol dalam Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *PHARMACON*, 4(4).
- Utami, P., Puspaningtyas, D. E., & Gz, S. (2013). The miracle of herbs. *AgroMedia*.
- Van Steenis-Kruseman, M. J. (1975). Dates of publication and bibliographical notes. *Flora Malesiana Bulletin*, 28(1), 2364-2365.
- Vanselow, K. H., Marxen, K., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hansen, U. P. (2007). Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors*, 7(10), 2080-2095.

- Verawati, V., Nofiandi, D., & Petmawati, P. (2017). Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar Fenolat total dan aktivitas antioksidan daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Jurnal Katalisator*, 2(2), 53-60.
- Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. (2016). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 188-193.
- Wang, T., Li, Q., Bi, K., (2018), Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate, *Asian Journal Pharmacist*, 13: 12-23.
- Widyasanti, A., Rohdiana, D., & Ekatama, D. N. (2016). Aktivitas antioksidan ekstrak teh putih (*Camellia sinensis*) dengan metode DPPH (2, 2 difenil-1-pikrilhidrazil). *Journal of Materials Processing Technology*, 1(1), 1-9.
- Wigmore, A. (1985). *The wheatgrass book*. Penguin.
- Wijayakusuma, H. M., S. Dalimartha, dan A.S. Wirian. (1994). *Tanaman berkhasiat obat di Indonesia jilid II*. Jakarta:Pustaka Kartini.
- Winarsih, H. (2007), *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*, Yogyakarta, Kanisius.
- Wiraatmaja, I. W. (2016). *Bahan Ajar Respirasi dan Fotorespirasi*. Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Udayana, Bali.
- Worotikan, D. E. (2011). *Efek Buah Lemon Cui (Citrus microcarpo) Terhadap Kerusakan Lipida Pada Ikan Mas (Cyprinus carpio L) Dan Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis) Mentah*. Skripsi. FMIPA UNSRAT, Manado.
- Yuliani, N. N., Sambara, J. and Mau, M. A. (2016) 'Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etilasetat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)', *Jurnal Info Kesehatan*, 14(1),1092–1110.
- Yuswi NCR, 2013, Ekstraksi antioksidan bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dengan metode ultrasonic bath (kajian jenis pelarut dan lama ekstraksi), *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 5(1), 71-79
- Zirconia, A., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser. *al-Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 2(1), 9-17.
- Zuraida , Sulistiyani, Dondin Sajuthi, & Irma Herawati Suparto. (2017). Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*(L.) R.Br). *jurnal Penelitian Hasil Hutan* .Vol. 35 No. 3
- Zuraida, Z., Sulistiyani, S., Sajuthi, D., & Suparto, I. H. (2017). Fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* R. Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 35(3), 211-219.

LAMPIRAN 1. PERHITUNGAN PENGAMBILAN BAHAN PADA PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL

1. Pembuatan seri konsentrasi larutan induk kuersetin

a. Penimbangan Serbuk Kuersetin

Berat kuersetin = 10mg

b. Pembuatan larutan induk kuersetin 400 ppm sebanyak 25 mL

$$\text{Kuersetin} = \text{berat kuersetin (mg)} = \frac{\text{berat kuersetin (mg)}}{25 \text{ ml}} = \frac{(\text{mcg})}{25\text{ml}} = (\text{ppm})$$

$$\text{kuercetin} = 10\text{mg} = \frac{10\text{mg}}{25\text{ml}} = \frac{10000\text{mcg}}{25\text{ml}} = 400\text{ppm}$$

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 25 mL pada labu takar. Larutan tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi larutan induk kuersetin yaitu 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm (Replikasi 3 kali).

c. Perhitungan Seri Konsentrasi Larutan Induk Kuersetin

$$\text{a. } 2 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1. 400 = 5\text{Mml}. 2\mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{10\mu\text{g/mL}}{400} = 0,025 \sim 25\mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 25 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

$$\text{b. } 4 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1. 400 = 5\text{Mml}. 4\mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{20\mu\text{g/mL}}{400} = 0,05 \sim 50\mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 50 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

$$\text{c. } 6 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1. 400 = 5\text{Mml}. 6\mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{30\mu\text{g/mL}}{400} = 0,075 \sim 75\mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 75 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

$$d. 8 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1. 400 = 5 \text{ Mml}. 8 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{40 \mu\text{g/mL}}{400} = 0,1 \sim 100 \mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 100 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

$$e. 10 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1. 400 = 5 \text{ Mml}. 10 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{50 \mu\text{g/mL}}{400} = 0,125 \sim 125 \mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 125 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

$$f. 12 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1. 400 = 5 \text{ Mml}. 12 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{60 \mu\text{g/mL}}{400} = 0,15 \sim 150 \mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 150 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

LAMPIRAN 2. PERHITUNGAN PENGAMBILAN BAHAN PADA PENENTUAN KADAR AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

1. Pembuatan Seri Konsentrasi larutan induk Trolox

a. Penimbangan Serbuk Trolox

Berat serbuk vit. C = 10mg

b. Pembuatan larutan induk Trolox 200 ppm sebanyak 50 mL

$$\text{Vitamin C} = \text{berat Vit. C (mg)} = \frac{\text{Berat Vit. C}}{50 \text{ ml}} = \frac{(\text{mcg})}{50 \text{ ml}} = (\text{ppm})$$

$$10 \text{ mg} = \frac{10 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} = \frac{10000 \text{ mcg}}{50 \text{ ml}} = 200 \text{ ppm}$$

Serbuk Trolox ditimbang sebanyak 10 mg, kemudianditambahkan etanol p.a hingga 50 mL pada labu takar. Larutan tersebut kemudian dibuat seri

konsentrasi larutan induk Trolox dengan kadar 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm (replikasi 3 kali).

c. Perhitungan Seri Konsentrasi Larutan Induk Trolox

Perhitungan pengambilan seri konsentrasi larutan Trolox menggunakan rumus :

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

Keterangan :

V1 = Larutan induk yang diambil

C1 = Konsentrasi kuersetin

V2 = Volume labu ukur

C2 = Kadar seri konsentrasi

a. $2 \text{ ppm} = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$V1 \cdot 200 = 5 \text{ ml} \cdot 2 \text{ } \mu\text{L/ml}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ } \mu\text{L/ml}}{200} = 0,05 \sim 50 \text{ } \mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 50 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

b. $4 \text{ ppm} = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$V1 \cdot 200 = 5 \text{ ml} \cdot 4 \text{ } \mu\text{L/ml}$$

$$V1 = \frac{20 \text{ } \mu\text{L/ml}}{200} = 0,1 \sim 100 \text{ } \mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 100 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

c. $6 \text{ ppm} = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$V1 \cdot 200 = 5 \text{ ml} \cdot 6 \text{ } \mu\text{L/ml}$$

$$V1 = \frac{30 \text{ } \mu\text{L/ml}}{200} = 0,15 \sim 150 \text{ } \mu\text{L}$$

Larutan stok diambil sebanyak 150 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

d. $8 \text{ ppm} = V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$

$$V1.200 = 5ml.8 \mu L/ml$$

$$V1 = \frac{40\mu L/ml}{200} = 0,2\sim 200 \mu L$$

Larutan stok diambil sebanyak 200 μ l, kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

$$e. 10 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1.200 = 5ml.10 \mu L/ml$$

$$V1 = \frac{50\mu L/ml}{200} = 0,25\sim 250 \mu L$$

Larutan stok diambil sebanyak 250 μ l, kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

$$f. 12 \text{ ppm} = V1. C1 = V2. C2$$

$$V1.200 = 5ml.12 \mu L/ml$$

$$V1 = \frac{60\mu L/ml}{200} = 0,3\sim 300 \mu L$$

Larutan stok diambil sebanyak 300 μ l, kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

Lampiran 4. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Etanol 95% Daun Andong Merah

1. Penimbangan larutan sampel ekstrak daun dan bunga kitolod

Berat serbuk vit. C = 10mg

2. Larutan stok ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod

$$\text{Vitamin C} = \text{berat Vit. C (mg)} = \frac{\text{Berat Vit.C}}{50ml} = \frac{(mcg)}{50ml} = (\text{ppm})$$

$$1000 \text{ mg} = \frac{1000mg}{100ml} = \frac{1000.000 \text{ mcg}}{100ml} = 10.000 \text{ ppm}$$

Ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod 1000 mg dilarutkan dengan etanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas 100 mL. Larutan tersebut kemudian dibuat seri konsentrasi larutan induk Trolox dengan kadar 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm (replikasi 3 kali).

3. Perhitungan Seri Konsentrasi Larutan ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod.

Perhitungan pengambilan seri konsentrasi larutan ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod menggunakan rumus :

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

Keterangan :

V1 = Larutan induk yang diambil

C1 = Konsentrasi kuersetin

V2 = Volume labu ukur

C2 = Kadar seri konsentrasi

a. $20 \text{ ppm} = V1 \times C1 = V2 \times C2$

$$V1 \times 1.000 = 5 \text{ mL} \times 20 \text{ ppm}$$

$$V1 = 0,1\text{mL} \sim 100 \mu\text{l}$$

Larutan stok diambil sebanyak 100 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

b. $40 \text{ ppm} = V1 \times C1 = V2 \times C2$

$$V1 \times 1.000 = 5 \text{ mL} \times 40 \text{ ppm}$$

$$V1 = 0,2 \text{ mL} \sim 200 \mu\text{l}$$

Larutan stok diambil sebanyak 200 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL.

c. $60 \text{ ppm} = V1 \times C1 = V2 \times C2$

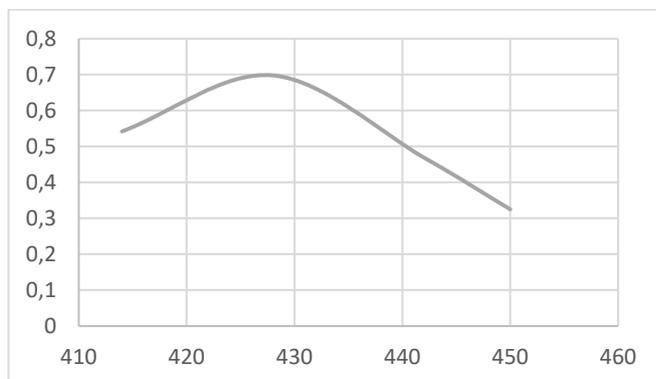
$$V1 \times 1.000 = 5 \text{ mL} \times 60 \text{ ppm}$$

$$V1 = 0,3\text{mL} \sim 300 \mu\text{l}$$

Larutan stok diambil sebanyak 300 μl , kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5 ML.

LAMPIRAN 3. HASIL UJI FLAVONOID

2. Hasil Penentuan panjang gelombang kuersetin dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1 Hasil Pengukuran Panjang Gelombang kuersetin

3. Hasil pengukuran *operating time* dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1 Hasil Penentuan *Operating Time* Kuersetin

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,426
5	0,427
10	0,428
15	0,430
20	0,431
25	0,432
30	0,432
35	0,433
40	0,434
45	0,436
50	0,437
55	0,439
60	0,440

4. Hasil penentuan kurva baku kuersetin dapat dilihat pada Tabel 4.2

Tabel 2 Hasil Persamaan Regresi Linier Kuersetin

Replikasi	Konsentrasi	Absorbansi	Persamaan Regresi Linier
1	2	0,202	$y = 0,0562x + 0,0915$ $R^2 = 0,9912$
	4	0,323	
	6	0,411	
	8	0,541	
	10	0,687	
	12	0,744	
2	2	0,212	$y = 0,0436x + 0,103$ $R^2 = 0,9565$
	4	0,290	
	6	0,352	
	8	0,392	
	10	0,535	
	12	0,667	
3	2	0,206	$y = 0,0285x + 0,1635$ $R^2 = 0,9126$
	4	0,302	
	6	0,358	
	8	0,364	
	10	0,404	
	12	0,542	

5. Hasil perhitungan kadar flavonoid total ekstrak etanol 95% daun andong merah

a. Data absorbansi EDK 70%

Replikasi	Absorbansi	Pengenceran	Volume Total Sampel	Bobot Total Sampel
1	0,408	10 X	100 mL	1000 mg
2	0,460	10 X		

3	0,468	10 X		
---	-------	------	--	--

b. Persamaan kurva baku kuersetin $y = 0,0562x + 0,0915$

Replikasi 1 = $y = 0,0562x + 0,0915$

$$0,408 = 0,0562x + 0,0915$$

$$X = 5,631 \text{ ppm}$$

Kadar Flavonoid = $\frac{\text{kadar x pengenceran x volume sampel}}{\text{bobot penimbangan sampel}}$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{5,631 \text{ ppm} \times 10 \times 100 \text{ mL}}{1000}$$

Kadar Flavonoid = 5,631 mgQE/gram

Replikasi 2 = $Y = 0,0562x + 0,0915$

$$0,460 = 0,0562x + 0,0915$$

$$X = 6,556 \text{ ppm}$$

Kadar Flavonoid = $\frac{\text{kadar x pengenceran x volume sampel}}{\text{bobot penimbangan sampel}}$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{6,665 \text{ ppm} \times 10 \times 100 \text{ mL}}{1000}$$

Kadar Flavonoid = 6,665 mgQE/gram

Replikasi 3 = $Y = 0,0562x + 0,0915$

$$0,468 = 0,0562x + 0,0915$$

$$X = 6,699 \text{ ppm}$$

Kadar Flavonoid = $\frac{\text{kadar x pengenceran x volume sampel}}{\text{bobot penimbangan sampel}}$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{6,699 \text{ ppm} \times 10 \times 100 \text{ mL}}{1000}$$

1000

Kadar Flavonoid = 6,699 mgQE/gram

c. Data absorbansi EBK 70%

Replikasi	Absorbansi	Pengenceran	Volume Total Sampel	Bobot Total Sampel
1	0,352	10 X	100 mL	1000 mg
2	0,358	10 X		
3	0,364	10 X		

d. Persamaan kurva baku kuersetin $y = 0,0562x + 0,0915$ Replikasi 1 = $y = 0,0562x + 0,0915$

$$0,352 = 0,0562x + 0,0915$$

$$X = 4,635 \text{ ppm}$$

Kadar Flavonoid = $\frac{\text{kadar} \times \text{pengenceran} \times \text{volume sampel}}{\text{bobot penimbangan sampel}}$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{4,635 \text{ ppm} \times 10 \times 100 \text{ mL}}{1000}$$

Kadar Flavonoid = 4,635 mgQE/gram

Replikasi 2 = $Y = 0,0562x + 0,0915$

$$0,358 = 0,0562x + 0,0915$$

$$X = 4,741 \text{ ppm}$$

Kadar Flavonoid = $\frac{\text{kadar} \times \text{pengenceran} \times \text{volume sampel}}{\text{bobot penimbangan sampel}}$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{4,741 \text{ ppm} \times 10 \times 100\text{mL}}{1000}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = 4,741 \text{ mgQE/gram}$$

$$\text{Replikasi 3} = Y = 0,0562x + 0,0915$$

$$0,364 = 0,0562x + 0,0915$$

$$X = 4,866 \text{ ppm}$$

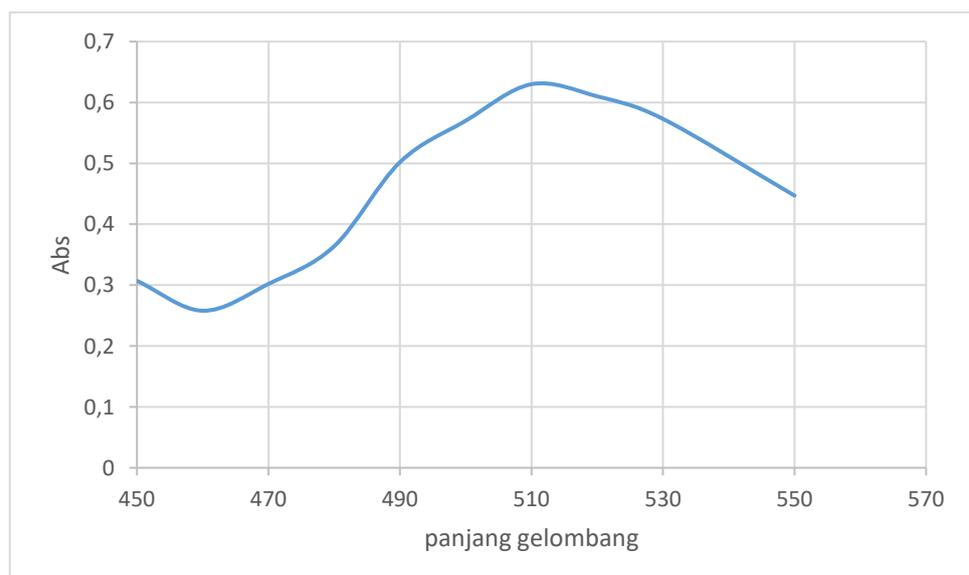
$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{\text{kadar} \times \text{pengenceran} \times \text{volume sampel}}{\text{bobot penimbangan sampel}}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{4,866 \text{ ppm} \times 10 \times 100\text{mL}}{1000}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = 4,866 \text{ mgQE/gram}$$

LAMPIRAN 4. HASIL UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

1. Hasil penentuan panjang gelombang maksimal



Gambar 11. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

2. Hasil penentuan *oprating time* (OT)

Tabel . hasil penentuan operating time.

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,391
5	0,316
10	0,305
15	0,308
20	0,310
25	0,325
30	0,325
35	0,313
40	0,325

Tabel III. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Trolox dengan Metode DPPH

DPPH kontrol	Konsentrasi trolox	Abs	% aktivitas antioksidan	Persamaan regresi linier	Nilai IC ₅₀
0,707	2	0,706	0,141	$y = 6,9264x - 9,0727$ $R^2 = 0,9405$	8,528 ppm
	4	0,606	14,28		
	6	0,412	41,72		
	8	0,332	53,04		
	10	0,285	59,69		
	12	0,229	67,60		

Tabel IV. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% bunga kitolod.

DPPH kontrol	Konsentrasi ekstrak etanol 70% bunga kitolod	Abs	% aktivitas antioksidan	Persamaan regresi linier	Nilai IC ₅₀
0,698	20	0,629	9,88	$y = 0,5708x + 9,272$ $R^2 = 0,8904$	71,352 Ppm
	40	0,436	37,5		
	60	0,357	51,71		
	80	0,292	58,16		
	100	0,225	67,76		
	120	0,207	70,34		

Tabel IV. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Kitolod

DPPH kontrol	Konsentrasi trolox	Abs	% aktivitas antioksidan	Persamaan regresi linier	Nilai IC ₅₀
0,766	20	0,700	8,61	$y = 0,6591x - 8,1113$ $R^2 = 0,9781$	88,167 ppm
	40	0,639	16,57		
	60	0,556	27,41		
	80	0,441	42,42		
	100	0,281	63,31		
	120	0,231	69,84		

Proses preparasi ekstrak etanol 70% daun dan bunga kitolod		
		
Bunga dan daun kitolod	Daun kitolod	Bunga kitolod
		
Serbuk daun kitolod	Serbuk bunga kitolod	Ekstraksi serbuk bunga dan daun kitolod
		
Proses rotary evaporator	Ekstrak daun dan bunga kitolod	

Penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% bunga dan daun kitolod

		
Penimbangan kuercetin	Penimbangan kalium acetat	Penimbangan $AlCl_3$
		
Larutan induk kuercetin	Larutan induk Kalium acetat	Larutan induk $AlCl_3$
		
Deret kurva baku kuersetin		

Penetapan aktivitas antioksidan		
		
Penimbangan DPPH	Penimbangan Vit C	Larutan induk DPPH
		
Deret kurva baku vit c	Deret kurva baku ekstrak daun	Deret kurva baku ekstrak bunga



KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ni'matul Maghfiroh
NIM : 17620127
Program Studi : S1 Biologi
Semester : 10
Pembimbing : Kholifah Holil, M.Sc
Judul Skripsi : Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Dan Bunga Kitolod (*Isotoma Longiflora* (L.) C. Presl.) Metode 1,1-Diphenyl-2- Picrylhydrazil (Dpph)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	12 April 2022	Konsul Bab Iv Subab 1	f
2.	14 April 2022	Konsul Bab Iv Subab 1	f
3.	18 April 2022	Konsul Bab Iv Subab 1	f
4.	20 April 2022	Konsul Bab Iv Subab 1	f
5.	26 April 2022	Konsul Bab Iv Subab 1	f
6.	27 April 2022	Konsul Bab Iv Subab 2	f
7.	10 Mei 2022	Konsul Bab Iv Subab 2	f
8.	11 Mei 2022	Konsul Bab Iv Subab 2	f
9.	12 Mei 2022	Konsul Bab Iv Subab 2	f
10.	13 Mei 2022	Konsul Bab Iv Subab 2	f
11.			
12.			

Pembimbing Skripsi,

KHOLIFAH HOLIL, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002



Malang, 13 Mei 2022
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.19741018200312200



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

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ni;matul Mghfiroh
NIM : 17620127
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2021/2022
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M.Sc.
Judul Skripsi : Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Dan Bunga Kitolod (*Isotoma Longiflora* (L.) C. Presl.) Metode 1,1-Diphenyl-2- Picrylhydrazil (Dpph)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	11/11/2021	Konsultasi hadits dan ayat Alquran	
2.	15/11/2021	Revisi dan penambahan ayat Al-quran	
3.	13/05/2022	Konsultasi Integrasi dan penulisan ayat dalam pembahasan	
4.	13/05/2022	Konsultasi Integrasi dan penulisan ayat dalam naskah skripsi	
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			
10.			

Malang, 13 Mei 2022

Pembimbing Skripsi,

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

Ketua Program Studi,



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



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

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

Form Checklist Plagiasi

Nama : NI'MATUL MAGHFIROH

NIM : 17620126

Judul : PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN DAN BUNGA KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L.) C. Presl.) METODE 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Maharani Retna Duhita, M.Sc.,n PhD.Med.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si	256	
5	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		

Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi


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