

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT  
SINGKONG (*Manihot esculenta Cranz*) DAGING PUTIH  
DENGAN METODE DPPH (*1,1-DIPHENYL-2-  
PICRYLHIDRAZYL*)**

**SKRIPSI**



**Oleh:  
Malinda Husna Khafifah  
NIM. 19040076**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT  
SINGKONG (*Manihot esculenta Cranz*) DAGING PUTIH  
DENGAN METODE DPPH (*1,1-DIPHENYL-2-  
PICRYLHIDRAZYL*)**

**SKRIPSI**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:  
**Malinda Husna Khafifah**  
NIM. 19040076

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2023**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Penelitian ini ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui  
untuk mengikuti seminar hasil Program Studi Sarjana Farmasi  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Jember, 8 Agustus 2023

Pembimbing Utama



Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm.  
NIDN. 0001028102

Pembimbing Anggota



apt. Dhina Ayu Susanti, M. Kes.  
NIDN. 0729098401

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot Esculenta Cranz*) Daging Putih Dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2 Picrylhidrazyl*)” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 9 Agustus 2023

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji

Gumiarti S.ST, M.PH  
NIDN. 4005076201

Penguji II

Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm.  
NIDN. 0001028102

Penguji III

apt. Dhina Ayu Susanti, M. Kes.  
NIDN. 0729098401

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,

Universitas dr. Soebandi

apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm.  
NIDN. 0703068903

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Malinda Husna Khafifah

NIM : 19040076

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi/laporan tugas akhir yang Saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya Saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi/laporan tugas akhir ini, maka Saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini Saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 8 Agustus 2023

Yang menyatakan,



(Malinda Husna Khafifah)

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT  
SINGKONG (*Manihot esculenta Cranz*) DAGING PUTIH  
DENGAN METODE DPPH (*1,1-DIPHENYL-2-  
PICRYLHIDRAZYL*)**

Oleh:

Malinda Husna Khafifah

NIM. 19040076

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dhina Ayu Susanti, M. Kes

## **PERSEMBAHAN**

1. Allah SWT. Yang tak hentinya memberikan rahmat serta menjadi tempat memohon sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
2. Mama (Siti Haesiah) dan Bapak (Jupriadi), terimakasih banyak atas segala support dan doa yang diberikan. Terimakasih juga tidak lelah atas segala keluh kesah yang disampaikan pada saat mengerjakan skripsi ini. Tidak lupa juga terimakasih kepada Adek (Alfariz Will Go Hidayat) yang senantiasa membantu dan mendoakan.
3. Seluruh dosen Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember, terimakasih atas ilmu dan segala bimbingannya yang diberikan dalam kurun waktu 4 tahun ini.
4. Ibu Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm. selaku pembimbing utama, Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, M. Kes. selaku pembimbing anggota, dan Ibu Gumiarti S.ST, M.PH selaku ketua penguji, terimakasih atas kesabaran dan ilmu yang diberikan dalam membimbing selama proses mengerjakan skripsi ini.
5. Nadha Nofa Diana dan Jihan Lorenza yang senantiasa menjadi teman berkeluh kesah mulai dari awal perkuliahan, terimakasih sudah menjadi tempat sandaran di saat susah maupun senang.
6. Mega Cahya Utami yang menjadi teman tempat berbagi cerita cowo Kpop, terimakasih banyak ya untuk waktunya.

7. *My bestfriend and soulmate Khairunnisa Afifah A.Q. (Ipeh), selalu banyak terimakasih yang tidak dapat dihitung, thank you for always stay by my side walaupun kita jauh.*
8. *Seventeen (Seungcheol, Jeonghan, Joshua, Jun, Hoshi, Wonwoo, Woozi, Eisa, Deokyeom, Mingyu, Seungkwan, Bonon, Dino) thank you for coming to my life, even if it's too late, I'm so thankful, really.*
9. *Once again, for my Mom and Dad thank you for your unconditional love. I can't imagine how I would live in this world without you two. I know my love can't return what you have given to me, but I really love you two so much. Terimakasih atas cinta yang diberikan tanpa syarat dan pamrih. And for my brother Paris, you were the first living thing that I wanted to take care of and keep under my wings always, I love you too.*

## **MOTTO**

*“Wanting to be perfect is the same as wanting to make yourself unhappy. Even if you’re not good at one thing, you may not be good at something else. You can’t be good at everything, but that doesn’t mean you can’t do anything.”* (**Jeon Wonwoo**)

## ABSTRAK

Khafifah, Malinda Husna\* Puspaningtyas, Ayik Rosita\*\* Susanti, Dhina Ayu\*\*\*. 2023. **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT SINGKONG (*MANIHOT ESCULENTA CRANZT*) DAGING PUTIH DENGAN METODE DPPH (*1,1-DIPHENYL-2 PICRYLHIDRAZYL*)**. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember.

**Latar Belakang:** Indonesia adalah negara penghasil singkong (*Manihot esculenta Cranzt*) kelima terbesar di dunia. Singkong banyak diolah menjadi bahan makanan. Namun, untuk kulit singkong tidak dimanfaatkan dan dibuang begitu saja. Kulit singkong memiliki kandungan berupa pektin, lemak, protein, serat kasar, dan kalsium. Kandungan senyawa dari ekstrak etanol kulit singkong daging putih (EEKSDP) yaitu berupa flavonoid dan tanin. Flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan metode DPPH.

**Metode:** Desain penelitian menggunakan penelitian deskriptif dengan populasi yaitu singkong daging putih, sampel yang digunakan adalah kulit singkong daging putih, metode ekstraksi ultrasonik yang kemudian dilakukan skrining fitokimia. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan pembanding kuersetin diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm di waktu inkubasi selama 30 menit.

**Hasil Penelitian:** Hasil skrining fitokimia ekstrak kulit singkong daging putih yaitu terdapat metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging putih menunjukkan nilai  $IC_{50}$  dengan rata-rata  $95,57 \pm 0,241 \mu\text{g/mL}$  dan untuk pembanding kuersetin memberikan nilai  $IC_{50}$  rata-rata  $5,17 \pm 0,043 \mu\text{g/mL}$ .

**Kesimpulan:** Ekstrak etanol kulit singkong daging putih memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Namun masih lebih rendah dibandingkan dengan kuersetin yang sebagai kontrol positif atau pembanding.

**Kata Kunci:** DPPH, etanol 96%,  $IC_{50}$ , kuersetin, kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranzt*), dan ultrasonik.

\*Peneliti

\*\*Pembimbing 1

\*\*\*Pembimbing 2

## ABSTRACT

Khafifah, Malinda Husna\* Puspaningtyas, Ayik Rosita\*\* Susanti, Dhina Ayu\*\*\*. 2023. **TEST OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CASSAVA PEEL ETHANOL EXTRACT (MANIHOT ESCULENTA CRANZT) WHITE FLESH BY DPPH METHOD (1,1-DIPHENYL-2 PICRYLHIDRAZYL)**. Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, Faculty of Health Sciences, dr. Soebandi Jember University.

---

**Background:** Indonesia is the fifth largest cassava producing country (*Manihot esculenta* Cranzt) in the world. Cassava is widely processed into foodstuffs. However, cassava peel is not used and thrown away. Cassava peel contains pectin, fat, protein, crude fiber, and calcium. The compound content of white flesh cassava peel ethanol extract is in the form of flavonoids and tannins. Flavonoids have potential as antioxidants due to the presence of hydroxyl groups attached to aromatic rings. The purpose of this study was to determine the secondary metabolites and antioxidant activity of white flesh cassava peel ethanol extract by DPPH method.

**Method:** The research designed used descriptive research with a population of white flash cassava, the sample was used white flash cassava peel, using ultrasonic extraction method which was then phytochemical screening. Antioxidant activity testing using DPPH method with quercetin comparison was measured using UV-Vis Spectrophotometer at a wavelength 517 nm and incubation time of 30 minutes.

**Results:** The results of phytochemical screening of white flesh cassava peel extract are secondary metabolites in the form of alkaloids, flavonoids, and terpenoids. The results of testing the antioxidant activity of cassava peel ethanol extract showed an  $IC_{50}$  with an average of  $95.57 \pm 0.241$   $\mu\text{g/mL}$  and for comparison quercetin showed  $IC_{50}$  with an average  $5.17 \pm 0.043$   $\mu\text{g/mL}$ .

**Conclusions:** White flesh cassava peel ethanol extract has strong antioxidant activity. However, it is still lower than quercetin as a control positive or comparison.

**Keywords:** DPPH, ethanol 96%,  $IC_{50}$ , quercetin, white flesh cassava peel (*Manihot esculenta* Cranzt), and ultrasonic.

\*Author

\*\*Advisor 1

\*\*\*Advisor 2

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Swt. yang telah memberikan limpahan rahmat, kenikmatan, petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot Esculenta Cranzt*) Daging Putih Dengan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil*)”.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Andi Eka Pranata, S.St., S.Kep., Ns., M.Kes. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dan Ibu Gumiarti S.ST, M.PH selaku ketua penguji.
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dan pembimbing anggota
4. Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M. Farm. selaku pembimbing utama

Penyusunan skripsi ini penulis menyadari masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember, 8 Agustus 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL DALAM</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI</b> .....	<b>v</b>
<b>LEMBAR BIMBINGAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>x</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.4.1 Secara Teoritis.....	4
1.4.2 Secara Praktis .....	5
1.5 Keaslian Penelitian.....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>7</b>
2.1 Kulit Singkong Daging Putih ( <i>Manihot esculenta Cranz</i> ).....	7
2.1.1 Morfologi Tanaman .....	7
2.1.2 Klasifikasi Tanaman.....	9
2.1.3 Kandungan Kimia .....	10
2.1.4 Penelitian Kulit Singkong Daging Putih ( <i>Manihot esculenta Cranz</i> )....	10
2.1.5 Manfaat Kulit Singkong Daging Putih ( <i>Manihot esculenta Cranz</i> ) Untuk Kesehatan .....	11
2.2 Radikal Bebas.....	11
2.2.1 Definisi Radikal Bebas.....	13
2.2.2 Sumber Radikal Bebas .....	13
2.2.3 Mekanisme Radikal Bebas .....	13
2.2.4 Efek Radikal Bebas .....	14
2.3 Antioksidan .....	17
2.3.1 Definisi Antioksidan .....	17
2.3.2 Golongan Antioksidan .....	17

2.4 Penangkapan Radikal Bebas dengan Metode DPPH ( <i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl</i> ) .....	20
2.4.1 DPPH ( <i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl</i> ) .....	20
2.4.2 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH .....	23
2.5 Metode Ekstraksi .....	24
2.5.1 Definisi Ekstraksi .....	24
2.5.2 Macam-Macam Ekstraksi .....	25
2.6 Pelarut yang Digunakan dalam Ekstraksi .....	29
2.6.1 Etanol .....	29
2.6.2 N-Heksan .....	30
2.7 Spektrofotometer UV-Vis .....	31
2.7.1 Tipe-Tipe Spektrofotometer UV-Vis .....	32
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL .....</b>	<b>34</b>
3.1 Kerangka Konseptual .....	34
3.2 Hipotesis .....	35
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>36</b>
4.1 Jenis Penelitian .....	36
4.2 Populasi .....	36
4.3 Sampel Penelitian .....	36
4.4 <b>Variabel Penelitian</b> .....	<b>37</b>
4.4.1 Variabel Bebas .....	37
4.4.2 Variabel Terika .....	37
4.4.3 Variabel Terkendali .....	37
4.5 Tempat dan Waktu Penelitian .....	38
4.6 Definisi Operasional .....	38
4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data .....	39
4.7.1 Alat dan Bahan .....	39
4.7.2 Teknik Pengambilan Data .....	39
4.8 Analisis Data .....	44
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>45</b>
5.1 Determinasi Tanaman .....	45
5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel .....	45
5.3 Mengidentifikasi Metabolit Sekunder .....	45
5.3.1 Ekstraksi .....	45
5.3.2 Skrining Fitokimia .....	46
5.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan .....	47
5.4.1 Penentuan Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum .....	47
5.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum .....	47
5.4.3 Pengukuran Absorbansi serta Persen Inhibisi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih .....	48
5.4.4 Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> Kuesetin dan Ekstrak Eatnol Kulit Singkong Daging Putih .....	50
5.5 Hasil Analisis Data .....	50
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>52</b>
6.1 Mengidentifikasi Metabolit Sekunder .....	52
6.1.1 Ekstraksi Kulit Singkong Daging Putih ( <i>Manihot esculenta Crantz</i> ) .....	52

6.1.2 Skrining Fitokimia .....	53
6.2 Aktivitas Antioksidan .....	54
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>60</b>
7.1 Kesimpulan .....	60
7.2 Saran.....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>62</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2.1 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH .....	24
Tabel 4.1 Definisi Operasional .....	38
Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Persen Rendemen .....	46
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia.....	46
Tabel 5.3 Persamaan Regresi Linier dan nilai $R^2$ Kuersetin Menit ke 0 hingga 60	48
Tabel 5.4 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Kuersetin .....	49
Tabel 5.5 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih.....	50
Tabel 5.6 Nilai $IC_{50}$ Kuersetin .....	50
Tabel 5.7 Nilai $IC_{50}$ Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih .....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi .....	9
Gambar 2.2 Kulit Singkong .....	9
Gambar 2.3 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan .....	22
Gambar 2.4 Reduksi DPPH dari Senyawa Peredam Radikal Bebas.....	22
Gambar 2.5 Diagram Alat Spektrometer UV-Vis ( <i>single beam</i> ).....	32
Gambar 2.6 Skema Spektrofotometer UV-Vis ( <i>double beam</i> ) .....	33
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual .....	34
Gambar 5.1 Hasil Absorbansi Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	47

## DAFTAR SINGKATAN

- DPPH : *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*
- DNA : *Deoxyribo Nucleic Acid*
- SOD : *Superoksida Dismutase*
- GPx : *Glutation Peroksidase*
- UV : Ultra Violet
- EDTA : *Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid*
- BHA : *Butylated Hidroxyanisol*
- BHT : *Butylated Hidroxytoluene*
- TBHQ : *Tert-Butylated Hidroxyquinon*
- PG : *Gallate Propil*
- Vis : *Visible*
- IC<sub>50</sub> : *Inhibition Concentration 50%*
- KSDP : Kulit Singkong Daging Putih
- EEKSDP: Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih
- HCl : Asam Klorida
- FeCl<sub>3</sub> : Besi
- Etanol *p.a*: Etanol Pro Analisis

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Radikal bebas adalah atom atau molekul reaktif dengan elektron tidak berpasang pada kulit terluarnya. Elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sangat tidak stabil. Kondisi pada elektron yang tidak stabil memiliki kecenderungan untuk mencari pasangan elektron dengan cara mengambil partikel molekul lain yang menghasilkan senyawa baru tidak normal. Hal ini dapat menyebabkan jaringan-jaringan yang diambil partikelnya akan mengalami kerusakan dan menimbulkan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker (Yuslianti, 2018). Radikal bebas dalam tubuh memiliki manfaat bagi kesehatan yaitu untuk melawa radang, membunuh bakteri, dan mengatur tonus otot polos yang berada di dalam pembuluh darah maupun organ. Akan tetapi, jika hal ini berlangsung secara terus-menerus akan menyebabkan kerusakan jaringan. Untuk itu, dibutuhkan antioksidan sebagai salah satu solusi dalam mengatasi radikal bebas (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

Antioksidan merupakan senyawa yang melindungi tubuh dari radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa oksidan atau radikal bebas agar aktivitas dari senyawa tersebut dapat dicegah. Sumber dari antioksidan yaitu berasal dari dalam tubuh (endogen) dan luar tubuh (eksogen). Jika antioksidan dari dalam tubuh tidak mampu memberikan perlindungan terhadap radikal bebas, maka dibutuhkan antioksidan yang bersal

dari luar tubuh (eksogen). Antioksidan eksogen dapat berupa sintetis dan alami. Sintetis contohnya *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), dan *Tert-Butylated Hydroxyquinone* (TBHQ). Akan tetapi, antioksidan sintetis bersifat karsinogenik dan penggunaan dalam jangka waktu yang panjang akan menyebabkan racun bagi tubuh, maka dari itu dibutuhkan antioksidan alami yang lebih aman (Syaifuddin, 2015). Antioksidan alami dapat ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan yang memiliki kandungan vitamin A, vitamin C, vitamin E, antosianin, selenium, dan flavonoid (Kesuma, 2015). Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai antioksidan adalah kulit singkong daging putih (KSDP).

Indonesia adalah negara penghasil singkong (*Manihot esculenta* Crantz) kelima terbesar di dunia. Produksi singkong Indonesia dilaporkan yaitu 18,3 juta pada tahun 2020 (Federation and Agriculture Organization, 2020). Singkong banyak diolah menjadi bahan makanan yaitu tepung tapioka, makanan ringan seperti gapek, getuk, tape, keripik, dan daunnya banyak digunakan sebagai bahan pangan berupa sayuran (Yunianto *et al*, 2021). Namun, untuk kulit singkong tidak dimanfaatkan dan dibuang begitu saja. Menurut Fitri Dian N.S and Rara Astili (2018), kulit singkong memiliki kandungan berupa pektin, lemak, protein, serat kasar, dan kalsium. Penelitian yang dilakukan oleh Gagola *et al*. (2014) membuktikan bahwa kandungan senyawa dari ekstrak etanol kulit singkong daging putih (EEKSDP) yaitu berupa flavonoid dan tanin. Flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas dan selanjutnya

flavonoid mendonorkan elektronnya untuk menstabilkan radikal bebas (Ni Wayan Oktariani A.C. Dewi *et al*, 2014).

Metode penelitian yang paling sering digunakan dalam menguji aktivitas antioksidan melalui penangkapan radikal bebas yaitu DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode ini dipilih karena cepat, mudah, akurat, dan murah. Sementara itu, hasil dari pengujian antioksidan dengan metode DPPH dapat dinyatakan dalam  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration 50%*).  $IC_{50}$  adalah konsentrasi senyawa uji yang diperlukan untuk mereduksi radikal DPPH sebesar 50% (Sari, 2019).

Penelitian terdahulu terkait aktivitas antioksidan kulit singkong daging putih menggunakan metode ekstraksi refluks dan maserasi dengan menghasilkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging putih yang kuat. Sementara itu, untuk metode ekstraksi yang lainnya belum digunakan. Maka dari itu dilakukan penelitian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan metode ekstraksi ultrasonikasi. Ekstraksi ultrasonikasi memiliki beberapa keunggulan berupa kecepatan ekstraksinya yang lebih cepat dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya, lebih aman, dan rendemen kasar yang dihasilkan meningkat (Sekarsari *et al*, 2019). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 96% dengan metode DPPH dan instrumen Spektrofotometer UV-Vis (*Ultra Violet-Visible*).

## **1.2 Rumusan Masalah**

- 1) Metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta Cranz*) daging putih?
- 2) Berapakah nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan metode DPPH?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta Cranz*) daging putih dengan metode DPPH.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- 1) Mengidentifikasi metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit singkong daging putih.
- 2) Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan metode DPPH yang dibuat dalam seri konsentrasi 25, 50, 100, 250, dan 500 ppm.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Secara Teoritis**

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan terkait aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta Cranz*) daging putih.

### 1.4.2 Secara Praktik

#### 1) Bagi Peneliti

Menambah ilmu pengetahuan tentang aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta Cranz*) daging putih sebagai antioksidan. Selain itu, menguji serta meningkatkan kemampuan peneliti dalam menerapkan dan menggunakan pengetahuan yang sudah didapatkan.

#### 2) Bagi Instansi Farmasi

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut guna mengembangkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta Cranz*) daging putih sebagai antioksidan.

#### 3) Bagi Mahasiswa

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dasar untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta Cranz*) daging putih sebagai antioksidan.

### 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

	<b>Judul</b>	<b>Peneliti</b>	<b>Persamaan</b>	<b>Perbedaan</b>
1.	Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Ubi Kayu ( <i>Manihot esculenta Cranz</i> ) Daging Putih dan Daging Kuning yang	Gagola, Suryanto, and Wewengkang (2014)	a) Sampel kulit umbi ubi kayu daging putih b) Metode DPPH ( <i>1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl</i> )	a) Sampel diambil dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talanud b) Metode ekstraksi refluks c) Pelarut etanol 60% d) Tidak menggunakan pembandingan

---

<p>Diambil dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talanud</p>			
<p>2. Pemanfaatan Ekstrak Kulit Singkong (<i>Manihot esculenta Cranzt</i>) dalam Sediaan <i>Hand and Body Lotion</i> sebagai Antioksidan</p>	<p>Marta Ade Ratna, St. Rahmatullah, and Siti Rofiqoh (2020)</p>	<p>a) Sampel berupa kulit singkong daging putih b) DPPH c) Pelarut etanol 96%</p>	<p>a) Membandingkan aktivitas antioksidan kulit singkong daging putih dengan sediaan <i>hand and body lotion</i> kulit singkong daging putih b) Metode ekstraksi maserasi c) Pembanding vitamin C d) Tidak ada skrining fitokimia pada sampel</p>

---

## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Kulit Singkong Daging Putih (*Manihot esculenta Cranz*)**

#### **2.1.1 Morfologi Tanaman**

Singkong merupakan tanaman yang ditemukan atau berasal dari Amerika tropis, Venezuela, dan Amerika Tengah. Sementara itu, Amerika Selatan merupakan tempat ditemukannya singkong jenis *Manihot esculenta Cranz*, di mana dikembangkan di Brazil dan Paraguay pada saat masa pra sejarah. Umbi pada tanaman singkong dikenal sangat luas untuk menjadi makanan pokok yang memiliki banyak karbohidrat (Lilik Nur S, 2020).

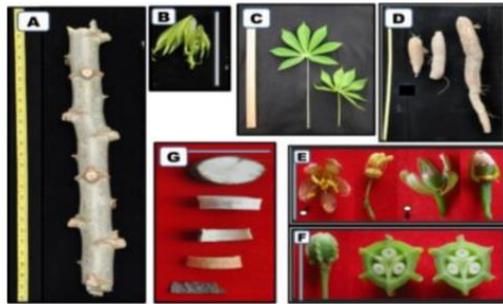
Singkong mempunyai bentuk batang yang lurus dan memiliki tinggi 1,5 meter-4 meter. Batang singkong memiliki diameter 2,5 cm-4 cm dengan tekstur yang berkayu dan bergabus. Warna dari batang singkong adalah coklat atau ungu serta mempunyai kemampuan untuk bercabang lebih dari satu dan bahkan bisa sampai tiga. Warna dari batang singkong sendiri memiliki variasi yaitu saat muda berwarna kehijauan dan saat tua akan menjadi putih, kelabu atau hijau kelabu. Batang dari singkong sendiri yaitu berlubang yang berisi empulur dengan warna putih, lunak, dan struktur bergabus (Kesuma S. and Rina Y., 2020).

Daun yang terdapat pada tumbuhan singkong dikategorikan sebagai daun majemuk yang memiliki anak daun *elips* dan ujungnya runcing. Warna dari daun singkong sendiri bervariasi yaitu hijau muda, hijau kekuningan atau bahkan sampai hijau keunguan. Untuk tangkai daun sendiri yaitu panjang dan memiliki

warna hijau, merah, kuning atau kombinasi dari ketiganya (Kesuma S. *and* Rina Y.,2020).

Bunga adalah salah satu bagian tanaman yang berfungsi sebagai alat perkembangbiakan. Bunga pada tanaman singkong sendiri muncul atau terlihat pada bagian ketiak cabang singkong. Bunga betina akan berkembang terlebih dahulu dan matang ketika berusia 3 sampai 4 bulan. Jika bunga tidak dibuahi selama 24 jam, bunga akan layu dan gugur. Sementara itu, bunga jantan akan matang dalam kurun waktu sebulan setelahnya, jadi penyerbukan terjadi secara menyilang (Kesuma S. *and* Rina Y., 2020).

Akar dari tumbuhan singkong memiliki kedalaman 0,5 m - 0,6 m menembus tanah. Akar singkong sebagian berfungsi sebagai tempat penyimpanan karbohidrat. Oleh karena itu, singkong bisa disebut sebagai umbi batang dengan kemampuan menyimpan cadangan makanan dalam jumlah besar dan bisa mengalahkan ukuran akar lainnya. Istilah umbi singkong juga diambil dari akar umbinya yang besar ini. Umbi singkong memiliki warna coklat atau kelabu di mana kulit dalamnya dapat berwarna kuning kemerahan sedikit putih dengan warna daging kuning atau putih. Struktur dari akar sendiri yaitu terdiri dari rambut akar, batang akar, ujung akar, serta tudung akar. Akar dibedakan menjadi dua yaitu akar primer dan serabut. Akar primer sendiri berasal dari ujung embrio yang terbatas dan untuk akar serabut, berasal dari akar dewasa atau bisa dari bagian tumbuhan yang lain seperti daun atau batang (Kesuma S. *and* Rina Y., 2020).



Gambar 2.1 Morfologi batang (A), daun muda (pucuk) (B), daun (C), umbi (D) dan irisan melintang (G), bunga jantan dan betina (E), buah dan irisan melintang (F) (Kesuma S. and Rina Y., 2020).

Kulit singkong merupakan *coat* atau pelapis dari tanaman singkong. Kulit singkong sendiri memiliki warna agak kemerahan serta putih. Kulit singkong ini sebagian besar dianggap limbah dan hanya dibuang begitu saja tanpa dimanfaatkan. Presentase dari kulit singkong sendiri yaitu 20%, maka dari itu setiap 1 kg singkong menghasilkan kulit singkong sebesar 0,2 kg (Kesuma S. and Rina Y., 2020).



Gambar 2.2 Kulit Singkong (Kesuma S. and Rina Y., 2020).

### 2.1.2 Klasifikasi Tanaman

Menurut *Intergrated Taxonomic Information System* (ITIS), klasifikasi dari tanaman singkong sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Subkingdom	:	Viridiplantae
Infrakingdom	:	Streptophyta
Superdivision	:	Embryophyta
Division	:	Tracheophyta
Subdivision	:	Spermatophyta
Class	:	Magnoliopsida
Superorder	:	Rosanae
Order	:	Malphigiales
Family	:	Euphorbiaceae
Genus	:	Manihot Mill.
Species	:	<i>Manihot esculenta</i> <i>Cranzt</i>

### **2.1.3 Kandungan Kimia**

Kulit singkong (*Manihot esculenta Cranzt*) daging putih memiliki kandungan senyawa aktif berupa fenolik, tanin, dan flavonoid berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gagola *et al.* (2014). Penelitian ini menyatakan bahwa total kandungan fenolik yang terdapat dalam kulit singkong daging putih yaitu sebanyak 48,87 mg/kg, total tanin yaitu 14,13 mg/kg, dan untuk jumlah flavonoid sebesar 1,66 mg/kg (Gagola *et al.*, 2014).

### **2.1.4 Penelitian Kulit Singkong Daging Putih (*Manihot esculenta Cranzt*)**

Penelitian tentang kulit singkong daging putih telah dilakukan oleh Gagola *et al.* (2014) yang berjudul “Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Fenolik *Cortex* Umbi Ubi Kayu (*Manihot esculenta Cranzt*) Daging Putih dan Daging Kuning yang Diambil dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talanud”

membuktikan bahwa kulit singkong daging putih memiliki aktivitas antioksidan sebesar 85,6%. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Marta (2020) yang berjudul “Pemanfaatan Ekstrak Kulit Singkong dalam Sediaan *Hand and Body Lotion* sebagai Antioksidan” membuktikan bahwa ekstrak kulit singkong memiliki aktivitas antioksidan sebesar  $51,90 \pm 11,45 \mu\text{g/ml}$ .

### **2.1.5 Manfaat Kulit Singkong Daging Putih (*Manihot esculenta* Cranz)** **Untuk Kesehatan**

Kulit singkong daging putih memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan sendiri adalah zat yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas yang jika dibiarkan saja akan menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel ini akan menimbulkan berbagai macam penyakit degeneratif, contohnya kanker. Untuk itu, manfaat kulit singkong daging putih yaitu sebagai antioksidan atau menangkal radikal bebas (Yuslianti, 2018).

## **2.2 Radikal Bebas**

### **2.2.1 Definisi Radikal Bebas**

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul atau atom yang tidak stabil dan sangat reaktif. Hal ini disebabkan oleh kandungan dari radikal bebas yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak memiliki pasangan pada orbit paling luarnya. Kemampuan yang dilakukan supaya memiliki pasangan elektron, radikal bebas akan memiliki kecenderungan untuk mencari pasangan atom dengan cara bereaksi bersama atom di sekitarnya. Sementara itu, radikal bebas memiliki

muatan kation (positif), anion (negatif) atau netral (tidak bermuatan) (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

Radikal bebas berfungsi untuk kesehatan, tetapi radikal bebas memiliki kecenderungan untuk merusak. Di dalam tubuh manusia sendiri memiliki molekul yang stabil dan tidak stabil. Di mana molekul stabil sangat berperan dalam menjaga kehidupan sel. Radikal bebas memiliki fungsi pada tubuh manusia yaitu untuk melawan radang, membunuh bakteri, dan mengatur tonus otot polos yang berada di dalam pembuluh darah maupun di dalam organ. Seperti yang sudah dijelaskan di atas yaitu jika reaksi ini berlangsung secara terus-menerus akan mengakibatkan kerusakan jaringan yang akan menimbulkan berbagai macam penyakit kanker, jantung, penuaan dini, dan penurunan system imun pada tubuh (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

Radikal bebas sendiri menyerang tubuh atau menyebabkan kerusakan sel dengan cara, yaitu peroksidasi dengan komponen lipid dari membran sitosol, kerusakan DNA, dan modifikasi protein karena *cross linking* protein. Turunan dari atom C dan N merupakan sumber dari radikal bebas, tetapi radikal yang paling banyak ditemui yaitu radikal oksigen. Pembentukan radikal bebas biasanya terbentuk ketika komponen dari makanan mengalami proses metabolisme. Proses metabolisme ini akan menghasilkan energi dan sering terjadi kebocoran elektron. Hal ini akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

### 2.2.2 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas bersumber dari eksogen atau dikenal dengan luar tubuh dan endogen atau disebut dengan dalam tubuh. Jika dilihat secara endogen, tubuh memiliki respon normal terhadap rantai peristiwa biokimia. Akibat dari terbentuknya radikal bebas ini, akan mempengaruhi ekstrasel dan intrasel. Radikal endogen sendiri dapat terbentuk dari sisa proses metabolisme protein, karbohidrat dan lemak pada mitokondria, proses peradangan atau inflamasi, reaksi antara besi logam dan transisi dalam tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom maupun pada kondisi iskemia. Sementara itu, untuk radikal bebas eksogen atau yang berasal dari luar tubuh dapat bersumber dari asap rokok, polusi, radiasi, sinar UV, obat, peptisida, limbah industri, dan ozon (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

### 2.2.3 Mekanisme Radikal Bebas

Pembentukan dari radikal bebas melalui tiga tahap yaitu sebagai berikut:

#### 1) Tahap Inisiasi

Tahap ini merupakan awal pembentukan dari radikal bebas yang melewati beberapa proses. Suhu tinggi merupakan hal yang sangat penting dalam proses ini di mana pembentukan radikal alkil disebabkan oleh adanya proses ekstrusi yang dilanjutkan dengan pemotongan polimer. Proses oksidasi telah dimulai dan meningkatnya konsentrasi hidroperoksida yang selanjutnya akan terjadi dekomposisi hidroperoksida. Hasil dari dekomposisi hidroperoksida ini akan menjadi bahan utama dari inisiator radikal bebas (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

#### 2) Tahap Propagasi

Tahap propagasi merupakan awal dari pemanjangan rantai radikal yang akan diubah menjadi radikal bebas yang lainnya. Pada tahap ini terjadi oksigenasi lemak yang menjadi pencetus terbentuknya radikal peroksida. Proses ini berlangsung dengan sangat cepat bahkan aktivitas energinya mendekati nol. Pada keadaan ini menyebabkan pembentukan radikal peroksida akan menjadi lebih banyak. Reaksi propagasi ini juga bisa terjadi beberapa kali sebelum pemutusan oleh radikal menjadi non radikal (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

### 3) Tahap Terminasi

Propagasi akan rendah pada saat senyawa radikal bereaksi dengan senyawa radikal lainnya. Pada saat perubahan atau pemutusan radikal peroksi dan alkil ke non radikal, maka dapat dinyatakan bahwa proses propagasi selesai. Oleh karena itu, perpanjangan dari rantai kinetik dapat dikecilkan jumlahnya. Konsentrasi oksigen yang sangat rendah merupakan awal dari proses terminasi. Produk non radikal akan terbentuk pada tahap ini di karenakan radikal bebas akan bereaksi satu sama lain. Sementara itu, hidroperoksida akan diubah menjadi alkohol, asam keton, dan substrat lainnya yang lebih stabil (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

## 2.2.4 Efek Radikal Bebas

### 1) Efek Negatif Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa atau molekul yang bersifat destruktif atau merusak. Selain itu, radikal bebas sangat reaktif yang menyebabkan dapat bereaksi dengan makromolekul sel seperti protein, lipid, dan DNA.

Reaksi yang terjadi antara radikal bebas dengan sel-sel yang normal akan menimbulkan beberapa penyakit seperti:

(1) Kerusakan DNA pada inti sel

Efek dari radikal bebas yaitu dapat memunculkan perubahan pada DNA, seperti hidrosilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, dan pemutusan rantai fosfodiester DNA. Kerusakan masih dapat diperbaiki oleh *DNA repair system*, jika tidak terlalu parah. Akan tetapi, jika kerusakan yang terjadi sudah parah contohnya rantai DNA yang terputus-putus di berbagai tempat. Hal ini akan menyebabkan kerusakan yang terjadi tidak dapat diperbaiki yang menyebabkan replikasi sel lain akan terganggu. Perbaikan yang dilakukan oleh *DNA repair system* akan menimbulkan masalah baru yaitu mutasi di karenakan pada proses perbaikan, DNA akan cenderung membuat kesalahan. Jika dalam proses ini menyinggung gen-gen tertentu atau bisa disebut gen onkogen, akibat dari proses ini akan menimbulkan kanker (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

(2) Kerusakan Protein

Reaksi dengan asam-asam amino yang dilakukan oleh oksidan akan menimbulkan kerusakan pada protein di mana asam-asam amino merupakan salah satu komponen atau penyusun dari protein. Salah satu yang paling rawan mengalami kerusakan di antara asam-asam amino yang menyusun protein adalah sistein. Sistein sendiri mengandung gugus sulfidril (SH) di mana gugus inilah yang paling

memiliki tingkat kepekaan yang sangat besar terhadap radikal bebas. Reaksi yang terjadi akan memunculkan ikatan intra atau antar molekul protein yang menyebabkan protein akan kehilangan fungsi biologinya (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

### (3) Kerusakan Lipid Peroksida

Kerusakan pada ikatan lemak tak jenuh yang terdapat pada membran fosfolipid dapat terjadi karena radikal bebas. Peroksidasi lipid ini akan menghilangkan fungsi dari organel sel dengan cara merusak struktur dari membran. Komponen yang terkandung dalam membran sel adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol. Fosfolipid dan glikolipid merupakan asam lemak tak jenuh yang memiliki tingkat kerawanan yang sangat tinggi terhadap serangan radikal bebas (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

## 2) Efek Positif Radikal Bebas

Oksidan mungkin banyak menimbulkan efek yang merugikan, tetapi dari efek ini juga bisa dimanfaatkan oleh tubuh guna melawan serangan dari patogen. Upaya dalam menghadapi serangan dari luar ini, Tuhan telah menciptakan atau menyediakan sel-sel khusus yang disebut dengan sel-sel radang atau *inflammatory cells*. Berikut beberapa efek positif dari radikal bebas:

(1) Senyawa oksigen reaktif akan berperan dalam proses bakterisidal dan bakteriolisis normal.

- (2) Sifat dari radikal anion superoksida yaitu vasokonstriktor pada otot halus atau dalam fibroblast
- (3) Senyawa oksigen reaktif akan memiliki peran dalam kapasitas spermatozoid yang menyebabkan keberadaannya dapat berperan dalam fertilisasi
- (4) Berperan dalam aktivitas spermatozoa
- (5) Secara *in vitro* bersifat mitogenik yang dapat terjadi pada berbagai sel (Tanti T. Irianti *et al*, 2017).

## **2.3 Antioksidan**

### **2.3.1 Definisi Antioksidan**

Senyawa antioksidan secara kimia dapat dinyatakan sebagai senyawa pendonor elektron. Sementara itu, secara biologis, senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat mentamengi atau meredam dampak yang tidak baik ditimbulkan oleh oksidan. Cara kerja antioksidan sendiri yaitu dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa oksidan agar aktivitas dari senyawa oksidan tersebut dapat dicegah. Antioksidan sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk menangkal radikal bebas, di mana antioksidan dalam kadar atau jumlah tertentu dapat memperlambat kerusakan yang diakibatkan oleh oksidan (Kesuma, 2015).

### **2.3.2 Golongan Antioksidan**

Berbagai sumber dari antioksidan dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu:

- 1) Antioksidan Enzimatis dan Non Enzimatis

### (1) Antioksidan Enzimatis

Antioksidan enzimatis dapat berupa enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase.

### (2) Antioksidan Non Enzimatis

Antioksidan ini dikelompokkan lagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan larut lemak di antaranya tokoferol, karotenoid, flavonoid, quionon, dan bilirubin. Sementara itu, antioksidan larut air yaitu asam askorbat dan protein pengikat logam. Akibat yang ditimbulkan oleh radikal bebas pada hakikatnya dapat diatasi oleh antioksidan yang berasal dari dalam tubuh atau endogen. Contoh dari antioksidan endogen yaitu enzim katalase, glutathion peroksidase, superoksida dismutase, dan glutathion S-transferase. Akan tetapi, jika radikal bebas yang ditangani melebihi dari kapasitas antioksidan endogen, maka diperlukan antioksidan eksogen atau yang berasal dari luar tubuh seperti antioksidan yang berasal dari sayur-sayuran, buah-buahan, dan lain-lain (Kesuma, 2015).

## 2) Antioksidan Berdasarkan Fungsi dan Mekanisme Kerjanya

### (1) Antioksidan Primer

Antioksidan primer didefinisikan sebagai antioksidan yang memiliki sifat pemutus reaksi berantai. Di mana reaksi-reaksi berantai ini akan dapat bereaksi dengan radikal lipid kemudian mengubahnya menjadi produk yang stabil. Antioksidan primer sendiri memiliki mekanisme kerja dengan cara mencegah terjadinya pembentukan

senyawa radikal baru dengan cara mengubah molekul radikal bebas menjadi molekul yang memiliki dampak negatif lebih sedikit sebelum senyawa radikal bebas tersebut bereaksi. Contoh dari antioksidan primer yaitu SOD, GPx, katalase, dan protein pengikat logam (Kesuma, 2015).

## (2) Antioksidan Sekunder

Mengkelat logam yang memiliki peran sebagai pro-oksidan akan menangkap radikal dan reaksi berantai dapat dicegah. Ini merupakan mekanisme kerja dari antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder memiliki fungsi sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidropersida menjadi senyawa non radikal, menyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen. Senyawa pengkelat logam yaitu asam sitrat, EDTA, dan turunan dari asam fosfat. Pengkelat logam yang lemah merupakan contoh dari asam sitrat yang paling banyak digunakan dalam produk pangan, tetapi senyawa ini memiliki kereaktifan yang tinggi dalam mencegah kerusakan oksidatif yang berasal dari lipida dalam bentuk pangan dan pada umumnya ditambahkan kedalam minyak nabati. Selain itu, senyawa pengkelat disebut juga sinergis karena memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas dari antioksidan fenolik. Antioksidan sekunder antara lain vitamin E, vitamin C, beta karoten, isoflavon, bilirubin, dan albumin (Kesuma, 2015).

## (3) Antioksidan Tersier

Cara kerja antioksidan tersier yaitu memperbaiki kerusakan dari biomolekul di karenakan oleh radikal bebas. Antioksidan tersier antara lain adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida (Kesuma, 2015).

### 3) Antioksidan Alami dan Sintetik

Antioksidan alami didapatkan dari vitamin A, karotenoid, vitamin C, vitamin E, antosianin, dan selenium. Sementara itu, untuk antioksidan sintetik dapat diperoleh dari BHA, BHT, dan TBHQ (Kesuma, 2015).

## **2.4 Penangkapan Radikal Bebas dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)**

### **2.4.1 DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)**

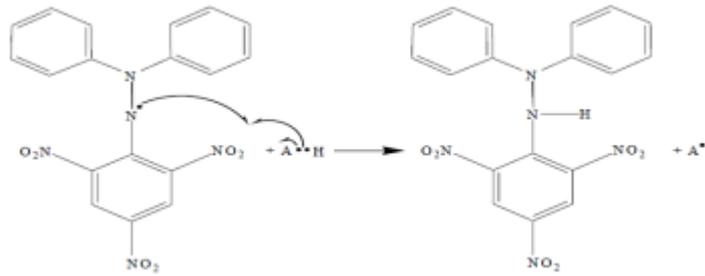
DPPH merupakan metode yang paling banyak dipakai guna menguji aktivitas antioksidan. Alasan dari banyak yang menggunakan metode ini adalah tidak mengeluarkan banyak biaya, cepat, dan sederhana. Sementara itu, hasil akhir dari pengukuran menggunakan DPPH, menghasilkan antioksidan secara umum dan tidak spesifik radikal bebas mana yang dihambat. Jika dilihat metode lain, memerlukan lebih banyak reagen, waktu analisis yang membutuhkan waktu lama, mahalnya biaya yang dikeluarkan, serta metode lain belum tentu bisa direaksikan pada semua sampel. DPPH berperan sebagai radikal bebas dalam metode ini. DPPH sendiri akan bereaksi dengan senyawa antioksidan yang menyebabkan DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* yang akan bersifat non radikal. Perubahan dari warna ungu tua berubah menjadi warna merah muda

atau kuning pucat merupakan tanda dari penambahan banyaknya *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazne*. Untuk melihat reaksi dari penangkapan senyawa radikal ini, dapat dilihat menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Kesuma, 2015).

DPPH merupakan pemberi informasi terhadap reaktivitas dari senyawa yang diuji terhadap radikal yang konsisten atau stabil. Jika dilihat berdasarkan panjang gelombang, DPPH memberikan absorbansi yang kuat dengan panjang gelombang 517 nm dan warna violet yang gelap. Akibat dari penangkapan radikal ini, elektron akan memiliki pasangan yang selanjutnya terjadi penghilangan warna yang setara dengan elektron yang dicuri. Aktiivtas dari antioksidan ditunjukkan dengan rumus % inhibisi, yaitu dengan rumus:

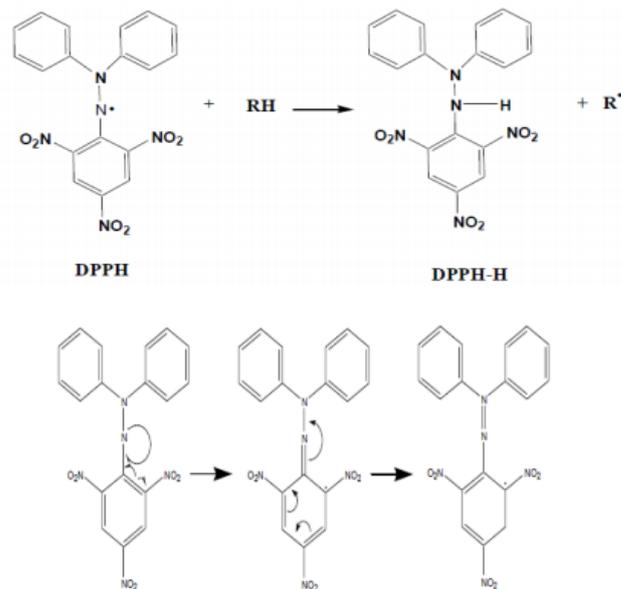
$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nitrogen yang tidak konsisten atau stabil merupakan kandungan dari senyawa organik radikal DPPH. Di mana absorbansi yang kuat terjadi pada panjang gelombang 517 nm serta berwarna ungu atau violet gelap. DPPH akan berwarna kuning setelah selesai bereaksi dengan senyawa antioksidan. Penyebab dari penurunan intensitas warna terjadi karena ikatan rangkap yang terkonjugasi pada DPPH berkurang. Peristiwa ini dapat terjadi jika terdapat penangkapan satu elektron yang dilakukan oleh zat antioksidan, sehingga tidak ada kesempatan yang dimiliki oleh elektron tersebut untuk beresonansi DPPH (Kesuma, 2015).



Gambar 2.3 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Kesuma, 2015)

Peredaman terhadap warna DPPH dapat ditimbulkan oleh adanya senyawa yang dapat menyumbangkan radikal hidrogen kepada radikal DPPH yang menyebabkan terjadinya reduksi menjadi DPPH-H. Berikut adalah reaksi reduksi dari DPPH:



Gambar 2.4 Reduksi DPPH dari Senyawa Peredam Radikal Bebas (Kesuma, 2015)

Adanya donor Hidrogen dari senyawa hidroksil merupakan penyebab terjadinya reduksi DPPH menjadi DPPH-H. Kromatografi kolom akan menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil merupakan akibat terbaginya senyawa-senyawa hidroksil di dalam ekstrak etanol. Akibat dari terbaginya senyawa-senyawa etanol ini, menyebabkan berkurangnya jumlah hidrogen yang disumbangkan dari

fraksi J ke DPPH. Jika dilihat pada kuarsetin, peredaman warna memiliki efektivitas yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol. Peristiwa ini terjadi karena terdapatnya lima gugus hidroksil yang ada pada molekul kuarsetin di mana jumlah ini termasuk banyak dalam mereduksi DPPH. Jadi, dapat diprediksi bahwa di dalam fraksi J atau ekstrak etanol terdapat senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu flavonoid yang memiliki jumlah gugus hidroksil sedikit. Jika semakin banyak gugus hidroksil bebas yang dapat mendonorkan hidrogennya, maka akan semakin banyak juga reduksi yang dapat dikerjakan terhadap DPPH (Kesuma, 2015).

#### **2.4.2 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH**

Angka dari  $IC_{50}$  adalah jumlah yang memperlihatkan bahwa konsentrasi dari sampel uji ( $\mu\text{g/ml}$ ) memberikan peredaman DPPH dengan nilai 50%, artinya dapat memberikan peredaman terhadap proses oksidasi DPPH sebanyak 50%. Angka 0% menunjukkan bahwa tidak terdapatnya aktivitas antioksidan dan nilai 100% menunjukkan bahwa peredaman total dan pengujian dibutuhkan lebih lanjut untuk menganalisis batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil dari dimasukkan ke dalam persamaan regresi  $y = ax + b$ , di mana konsentrasi ekstrak yaitu ppm sebagai sumbu x dan nilai % inhibisi (antioksidan) sebagai sumbu y. Persamaan ini digunakan untuk mencari nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing bahan uji, di mana nilai y adalah 50 dan nilai x yang diperoleh dari  $IC_{50}$  (Putri A. and Ridwanti B., 2013).

Dalam perhitungan nilai  $IC_{50}$ , dinyatakan bahwa semakin kecil  $IC_{50}$  maka aktivitas dari antioksidannya akan semakin besar. Sebaliknya, jika semakin besar

nilai  $IC_{50}$ , maka semakin kecil aktivitas antioksidan dalam suatu sampel uji. Untuk itu, berikut ini adalah tabel dari tingkat kekuatan antioksidan menggunakan metode DPPH:

Tabel 2.1 Tingkat kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

<b>Intensitas Antioksidan</b>	<b>Nilai <math>IC_{50}</math></b>
Sangat kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	101-150 ppm
Lemah	151-200 ppm
Sangat lemah	>200 ppm

(Aprilia *et al*, 2015)

## 2.5 Metode Ekstraksi

Metode untuk mengetahui manfaat kandungan dari bahan alam yaitu dengan cara kandungan bahan aktif dalam suatu tanaman maupun hewan tersebut harus dipisahkan. Metode ekstraksi merupakan cara yang paling umum digunakan untuk memisahkan kandungan senyawa aktif dari suatu tanaman ataupun hewan. Maserasi, perkolasi, infudasi atau infusa, dan sokhletasi adalah metode ekstraksi yang sering digunakan (Tri Puji L. *and* Fernanda, 2019).

### 2.5.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi didefinisikan sebagai pemisahan dari zat yang diinginkan dengan zat yang tidak memiliki manfaat. Metode yang digunakan yaitu berdasarkan perbedaan dari distribusi atau penyebaran suatu zat terlarut di mana saling bercampur antara dua pelarut atau lebih. Ekstraksi dari zat terlarut memiliki sifat tidak larut atau sedikit larut di dalam suatu pelarut, tetapi dapat mudah larut dalam pelarut lain. Ekstraksi juga disebut sebagai proses di mana bertujuan untuk mendapatkan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan

menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi harus dihentikan saat kesetimbangan sudah tercapai yang meliputi konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam suatu simplisia selanjutnya residu yang padat dan pelarut dipisahkan dengan cara disaring (Tri Puji L. and Fernanda, 2019).

### **2.5.2 Macam-Macam Ekstraksi**

Ada atau tidak adanya proses pemanasan merupakan cara membedakan macam-macam dari proses ekstraksi di mana pemanasan juga bisa berpengaruh terhadap senyawa target yang akan diekstraksi dan keefektivitasan dari ekstraksi itu sendiri. Macam-macam ekstraksi adalah sebagai berikut:

#### 1) Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi dengan cara dingin menyatakan bahwa dalam proses ekstraksi ini tidak adanya sangkut paut pemanasan dengan tujuan agar tidak adanya kerusakan terhadap senyawa target yang akan diekstraksi.

Ekstraksi dingin meliputi:

##### (1) Maserasi

Maserasi adalah proses yang sangat sederhana, di mana caranya yaitu merendam serbuk simplisia yang akan diekstraksi ke dalam pelarut atau cairan penyari. Mekanismenya yaitu penembusan sel yang dilakukan oleh penyari atau pelarut, kemudian masuk ke dalam rongga sel berisi zat aktif. Zat aktif sendiri akan terlarut yang disebabkan adanya perbedaan konsentrasi pada larutan zat aktif yang ada di dalam dengan di luar sel dan kemudian memaksa larutan yang paling pekat keluar dari sel. Hal ini akan terus berlanjut dan berulang sampai

terjadinya kesetimbangan konsentrasi (Tri Puji L. *and* Fernanda, 2019).

### (2) *Ultrasonic Extraction*

Ekstraksi dengan cara ini merupakan modifikasi dari ekstraksi dengan maserasi. Ekstraksi ini menggunakan bantuan dari *ultrasound* atau disebut sinyal dengan frekuensi yang tinggi. Cara ekstraksi *ultrasonic* yaitu serbuk sampel dimasukkan ke dalam wadah *ultrasonic* sehingga akan menghasilkan tekanan mekanik pada sel dan menghasilkan rongga sel. Sel akan mengalami kerusakan dan menimbulkan kelarutan senyawa meningkat serta hasil ekstraksi juga akan meningkat (Mukhriani, 2014).

### (3) Perkolasi

Perkolasi menggunakan alat yang dinamakan perkolator. Cara kerjanya yaitu penyarian dari simplisia dengan jalannya dilewati pelarut yang sesuai dengan lambat. Hal ini bertujuan agar semua zat yang terkandung di dalam suatu simplisia akan ikut tertarik secara keseluruhan serta ekstraksi jenis ini bisa digunakan kepada tanaman atau simplisia yang tahan atau tidak tahan dengan pemansan. Pelarut atau cairan penyari akan dialirkan melalui perkolator dari atas menuju ke bawah dan melewati serbuk atau simplisia. Di mana zat aktif dari sel-sel akan dilarutkan oleh penyari atau pelarut. Penyebab gerakan kebawah yang dilalui oleh penyari atau pelarut yaitu adanya tekanan dari gaya berat pelarut dan sampel atau simplisia yang selanjutnya

dikurangi oleh daya kapiler yang memiliki kecendrungan untuk menahan. Pada perkolasi adanya daya kekuatan atau tekanan dipengaruhi oleh gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosis, adesi, daya kapiler, dan daya geseran (Tri Puji L. *and* Fernanda, 2019).

## 2) Ekstraksi Cara Panas

Ekstraksi dengan cara panas ini sudah pasti menggunakan panas dalam proses ekstraksinya. Hal ini juga dapat menjadi poin unggul dari ekstraksi cara panas yaitu tidak memakan waktu yang lama dibandingkan ekstraksi dengan cara dingin. Ekstraksi cara panas adalah sebagai berikut:

### (1) Refluks

Ekstraksi refluks digunakan jika pelarut yang digunakan bersifat volatil atau mudah menguap. Jika dalam proses ini digunakan panas biasa, maka ditakutkan bahwa pelarut yang digunakan akan cepat menguap sebelum prosesnya selesai. Refluks sendiri mempunyai prinsip di mana pelarut yang mudah menguap atau volatil akan menguap pada suhu tinggi, tetapi dengan adanya kondensor maka uap dari pelarut yang bervolatil ini akan didinginkan dan menyebabkan pelarut yang berbentuk uap tersebut turun ke dalam tempat reaksi. Oleh karena itu, pelarut akan tetap dapat digunakan dan masih tetap ada. Sementara itu, gas nitrogen tetap dialirkan yang bertujuan untuk mencegah tidak adanya uap air atau gas oksigen yang memsuki tempat reaksi dan terpenting senyawa yang organologam yang berfungsi

sebagai sintesis senyawa anorganik di karenakan sifatnya yang reaktif (Tri Puji L. *and* Fernanda, 2019).

## (2) Sokhletasi

Terisolasinya semua komponen yang diinginkan adalah tujuan dari ekstraksi sokhletasi. Jika didefinisikan, sokhletasi adalah proses penyaringan atau pemisahan zat yang diinginkan dengan pelarut tertentu secara terus menerus atau berulang. Pada saat proses, uap yang muncul setelah dingin akan membasahi sampel secara berkelanjutan. Setelah itu, pelarut yang dihasilkan kemudian dimasukkan kembali secara teratur. Pelarut tersebut akan membawa senyawa kimia yang terisolasi. *Rotary evaporator* digunakan untuk menguapkan pelarut yang sudah membawa senyawa kimia atau zat aktif yang diinginkan dengan cara menguapkannya pada labu distilasi. Jadi, pelarut akan mudah dipisahkan lagi jika tercampur dengan campuran organik yang berwujud padat atau cair dan dapat diekstrak dengan pelarut yang diharapkan (Tri Puji L. *and* Fernanda, 2019).

## (3) Infusa

Air adalah pelarut yang digunakan pada ekstraksi infusa ini. Suhu yang digunakan pada ekstraksi ini adalah 90°C dengan waktu selama 15 menit. Perbandingan air dengan bahan yang akan diinfusa yaitu 1:10, misal berat sampel yaitu 10 gr maka air yang dibutuhkan yaitu 100 mL. Proses ekstraksi infusa yaitu dengan cara memasukkan bahan ke dalam gelas aluminium yang selanjutnya dilakukan pemanasan di

dalam panci selama 15 menit dengan syarat terhitung saat suhu mencapai 90°C dan diaduk sesekali. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan kain bersih dan ditambahkan air secukupnya hingga volume atau batas tanda yang diharapkan. Jika pada bahan terdapat kandungan minyak atsiri, maka penyaringan dapat dilakukan setelah hasil dari infusa dingin (Tri Puji L. *and* Fernanda, 2019).

## **2.6 Pelarut yang Digunakan dalam Ekstraksi**

Dalam melakukan ekstraksi, pelarut menjadi salah satu faktor penting dan untuk pemilihannya menjadi hal yang sangat penting. Pemilihan pelarut mempunyai dua penilaian yang harus diperhatikan, yaitu memiliki kemampuan untuk larut yang tinggi serta pelarut harus tidak beracun atau tidak berbahaya. Pada saat proses ekstraksi, pelarut yang dipakai harus bisa melarutkan ekstrak yang diharapkan saja, memiliki kelarutan dalam angka besar, bagian atau komponen ekstrak tidak terganggu dan tidak menyebabkan perubahan secara kimia, serta antara pelarut dan ekstrak tidak boleh memiliki titik didih yang berdekatan (Arsa *and* Achmad, 2020).

### **2.6.1 Etanol**

Alkohol merupakan sebutan lain dari etanol di mana pemerian dari alkohol sendiri yaitu cairan yang bening atau transparan, tidak memiliki warna, mudah terbakar, mudah menguap, bisa bercampur dengan air, eter, kloroform yang bisa didapat dari etil alcohol atau disebut dengan fermentasi karbohidrat yang berasal dari ragi. Etanol adalah bagian dari hidroksil yang menyumbangkan polaritas

terhadap molekul serta menyebabkan terjadinya peningkatan ikatan hidrogen secara intermolekular. Sifat dari etanol sendiri yaitu inert jadi tidak bereaksi dengan komponen yang lain. Etanol dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar, untuk itu etanol bersifat semipolar. Terdapat beberapa *grade* etanol karena pemanfaatannya yang beragam. Untuk pemanfaatan di industri, *grade* yang digunakan yaitu 90-96,5%. *Grade* 96-99,5% bisa digunakan untuk industri farmasi dan campuran bahan bakar kendaraan digunakan *grade* 99,5-100% (Arsa and Achmad, 2020).

### **2.6.2 N-Heksan**

N-Heksan bersifat nonpolar karena jika dilihat dari isomernya yaitu tidak reaktif dan dimanfaatkan sebagai pelarut inert dalam reaksi organik. N-Heksan merupakan hidrokarbon alkana rantai lurus dengan 6 atom karbon dan memiliki rumus molekul  $C_6H_{14}$ . Fraksi dengan titik didih pada suhu 65-70°C dengan penyulingan minyak mentah merupakan asal dari n-heksan. Pengekstrakan minyak dan lemak dapat menggunakan pelarut n-heksan karena memiliki polaritas yang sama dan n-heksan sendiri merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat nonpolar. Jika dilihat dari pemerianannya, n-heksan merupakan cairan yang tidak berwarna serta tidak dapat larut di dalam air (Arsa and Achmad, 2020).

## 2.7 Spektrofotometer UV-Vis

Penentuan struktur molekul senyawa organik, interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dapat digunakan. Dalam melihat hal ini, elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron non ikatan (elektron bebas) merupakan aspek dari molekul yang cepat bereaksi. Energi berasal dari sinar ultralembayung dan sinar tampak, jika menyentuh elektron-elektron tersebut, elektron akan terangsang dari keadaan rendah ke tahap yang lebih meningkat. Dalam keadaan terangsang atau tereksitasi, elektron-elektron akan direkam dalam wujud spektrum dinyatakan sebagai panjang gelombang dan penyerapan berdasarkan jenis-jenis elektron yang diperoleh dalam molekul yang diteliti. Keadaan ini saling mempengaruhi satu sama lain di mana semakin gampang elektron-elektron tereksitasi, maka semakin besar pula panjang gelombang yang diserap. Oleh karena itu, jika elektron yang bereksitasi semakin banyak, menyebabkan semakin tinggi serapannya (Tati Suhartati, 2017).

Spektrofotometri UV-Vis memiliki istilah-istilah berkaitan dengan molekul, seperti kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Molekul yang menyerap sinar dengan sangat kuat di bagian UV-Vis adalah kromofor. Contohnya yaitu aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbon monoksida, dan gas nitrogen. Sementara itu, pasangan dari elektron bebas yang berikatan kovalen tunggal adalah kandungan dari gugus fungsi yang disebut dengan auksokrom. Pasangan elektron bebas ini akan terikat di kromofor yang memperhebat serapan dari sinar UV-Vis terhadap kromofor tersebut, baik itu

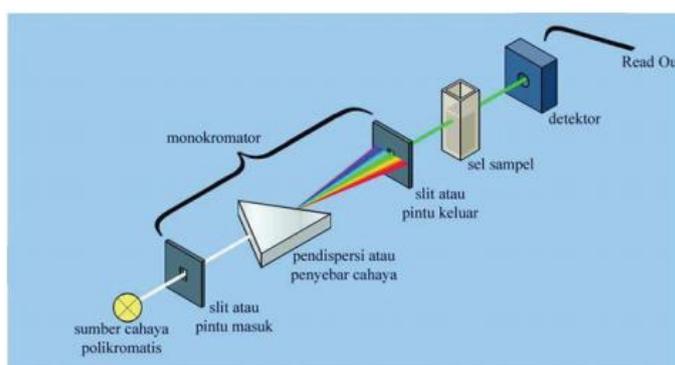
panjang gelombang ataupun intensitas atau kekuatannya, contohnya gugus hidroksi, amina, halide, dan alkoksi (Tati Suhartati, 2017).

### 2.7.1 Tipe-Tipe Spektrofotometer UV-Vis

Instrumen dari Spektrofotometer Uv-Vis memiliki dua tipe yaitu *single beam* dan *double beam*.

#### 1) *Single beam*

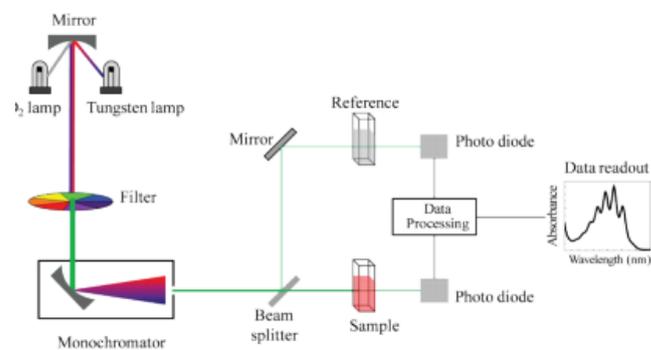
*Single beam* merupakan tipe Spektrofotometer UV-Vis yang dapat digunakan secara kuantitatif guna mengukur penyerapan atau absorbansi panjang gelombang *single* atau tunggal. Keuntungan dari menggunakan *single beam* ini adalah selain sederhana, harga dari instrumen ini tidak mahal dan bisa menghemat biaya. Ada beberapa instrumen *single beam* menghasilkan pengukuran sinar violet dan sinar tampak, di mana panjang gelombang yang terbaca termasuk rendah yaitu 190-210 nm, sedangkan yang paling tinggi yaitu 800-1000 nm (Tati Suhartati, 2017).



Gambar 2.5 Diagram Alat Spektrometer UV-Vis (*single beam*) (Tati Suhartati, 2017).

## 2) *Double beam*

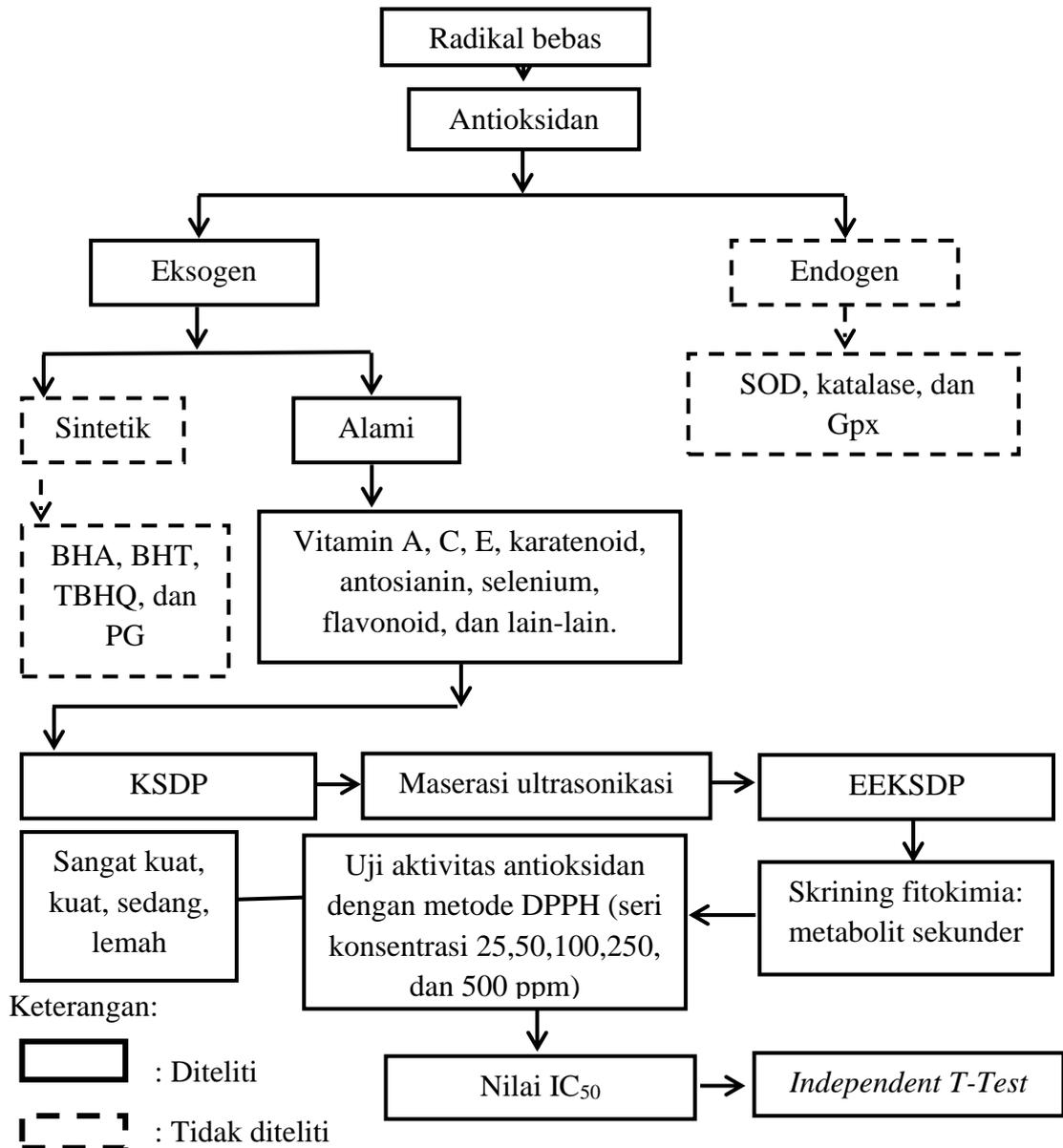
Pemecah sinar yang dibentuk oleh potongan cermin berbentuk V merupakan bagian dari dua sinar double-beam instrument. Di mana sumber dari sinar polikromatis untuk sinar UV yaitu lampu deuterium. Sementara itu, sinar *visible* atau sinar tampak berasal dari lampu wolfram. Lensa prisma dan filter optik difungsikan untuk monokromator yang terdapat pada spektrofotometer UV-Vis. Sel sampel berwujud kuvet dibuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang beragam. Selanjutnya, detektor berwujud foto atau detektor panas atau bisa juga detektor diode foto. Fungsinya yaitu mengambil cahaya yang diteruskan dari sampel, selanjutnya diubah menjadi arus listrik (Tati Suhartati, 2017).



Gambar 2.6 Skema spektrofotometer UV-Vis (*double beam*) (Tati Suhartati, 2017)

## BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

### 3.1. Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

KSDP: Kulit Singkong Daging Putih

EEKSDP: Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

### 3.2. Hipotesis

Hipotesis merupakan suatu dugaan atau anggapan secara teoritis. Hipotesis bersal dari *hypo* yang artinya kurang dari dan *theses* yang artinya pendapat. Maka dari itu, hipotesis adalah sesuatu yang masih kurang dari sebuah kesimpulan pendapat. Akan tetapi, kesimpulan tersebut belum selesai dan harus diuji kebenarannya (Dian Kusuma Wardani, 2020).

Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat perbedaan hasil aktivitas antioksidan antara kuersetin dengan kulit singkong daging putih (*Manihot Esculenta Cranzt*).

## **BAB 4 METODE PENELITIAN**

### **4.1 Desain Penelitian**

Penelitian deskriptif merupakan penelitian yang mempunyai prosedur pemecahan masalah yang diteliti dengan menggambarkan atau menyatakan keadaan dari subjek maupun objek yang diteliti menggunakan fakta yang ada meliputi interpretasi data dan analisis data (Eko Sudarmanto *et al*, 2021).

Pada Penelitian ini menggunakan penelitian deskriptif laboratorium secara kualitatif dan kuantitatif.

### **4.2 Populasi**

Populasi adalah semua bagian dari objek ataupun individu yang akan diteliti yang memiliki karakteristik tertentu, jelas, dan lengkap (Johar Arifin, 2017). Populasi pada penelitian ini yaitu singkong daging putih yang didapat dari daerah Jember, Jawa Timur.

### **4.3 Sampel Penelitian**

Sampel merupakan bagian dari populasi yang dipilih dengan cara tertentu mewakili karakteristik tertentu, jelas, dan Lengkap (Johar Arifin, 2017). Sampel pada penelitian ini adalah kulit singkong daging putih.

## **4.4 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian merupakan suatu nilai atau sifat dari objek, orang, ataupun kegiatan yang memiliki beragam atau variasi tertentu ditetapkan oleh peneliti yang bertujuan untuk dipelajari dan selanjutnya ditarik kesimpulan (Sugiyono *and* Mitha Erlisya P., 2020).

### **4.4.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau sebab dari munculnya variable terikat (Sugiyono *and* Mitha Erlisya P., 2020). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit singkong daging putih dan ekstrak etanol kulit singkong daging putih yang dibuat dalam seri konsentrasi 25, 50, 100, 250, dan 500 ppm.

### **4.4.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat merupakan variabel hasil dari pengaruh dari variabel bebas (Sugiyono *and* Mitha Erlisya P., 2020). Variabel terikat pada penelitian ini yaitu hasil skrining ekstrak etanol kulit singkong dan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan  $IC_{50}$ .

### **4.4.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkendali merupakan variabel yang dapat dikendalikan atau dibuat konstan, sehingga pengaruh dari variabel bebas terhadap variabel terikat tidak terpengaruh oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono *and* Mitha Erlisya P., 2020). Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu metode penentuan aktivitas antioksidan.

#### 4.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Biologi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Prodi Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember Mei-Juli 2023.

#### 4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Indikator	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Skrining fitokimia	Suatu pemeriksaan yang digunakan untuk menentukan metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam suatu simplisia	Pemeriksaan dilakukan dengan merekasikan ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan reagen yang digunakan dalam skrining fitokimia	Tabung rekasi	Nominal	Positif Negatif
Seri konsentrasi ekstrak etanol kulit singkong daging putih	Proses mendapatkan seri konsentrasi larutan uji dengan satuan ppm	V1.M1= V2.M2 (Perbandingan larutan ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan pelarut etanol p.a)	-	Rasio	Larutan uji ekstrak etanol kulit singkong daging putih konsentrasi 25, 50, 100, 250, dan 500 ppm
Aktivitas antioksidan	Pengukuran hasil absorbansi sampel kulit singkong daging putih dihitung konsentrasi IC <sub>50</sub> atau penghambatan 50%	Pengukuran aktivitas antioksidan dengan memipet larutan sampel atau uji dengan konsentrasi 25, 50, 100, 250, dan 500 ppm yang selanjutnya ditambahkan larutan DPPH sampai	Spektrofotometer UV-Vis	Ordinal	Penghambatan 50% atau IC <sub>50</sub> dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC <sub>50</sub> <50 ppm, kuat 50-100 ppm, sedang 101-150 ppm, 151-200 ppm lemah, dan >200 ppm

---

<p>homogen. Setelah itu, campuran diinkubasi pada suhu ruang sampai optimasi waktu dan serapan diukur pada panjang gelombang maksimum.</p>	<p>sangat lemah (Aprilia et al., 2015).</p>
--	---

---

## 4.7 Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

### 4.7.1 Alat dan Bahan

#### 1) Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi spektrofotometer UV-Vis, alat maserasi ultrasonik, *rotary evaporator*, blender, timbangan analitik, alat-alat gelas, corong *Buchner*, aluminum foil, vial, kuvet *disposable*, mikropipet, saringan, cawan, dan *stopwatch*.

#### 2) Bahan

Pada penelitian ini menggunakan bahan kulit singkong daging putih yang diperoleh dari daerah Jember Jawa Timur, DPPH, etanol 96%, aquadest, kuersetin, etanol *p.a.*, HCl, FeCl<sub>3</sub>, *dragendroff*, etil asetat, dan serbuk magnesium.

### 4.7.2 Teknik Pengambilan Data

#### 1) Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman kulit singkong dilakukan di laboratorium tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa semua bagian

tanaman untuk memastikan bahwa tanaman tersebut merupakan spesies tanaman kulit singkong.

## 2) Pembuatan Simplisia Kulit Singkong Daging Putih

Kulit singkong daging putih yang sudah dikeringkan menggunakan sinar matahari selama 7 hari setelah itu diblender hingga halus dan membentuk serbuk.

## 3) Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

Serbuk simplisia dari kulit singkong daging putih sebanyak 200 gram ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 1000 mL. Selanjutnya diultrasonik dengan suhu ruang selama 20 menit dan dipisahkan filtrat dari residunya menggunakan kertas saring, selanjutnya dikentalkan menggunakan *rotary evaporator*.

## 4) Skrining Fitokimia

### (1) Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang selanjutnya ditetesi HCl sebanyak 3 mL. Setelah itu dipanaskan dan didinginkan, ditambahkan pereaksi *Dragendorff* sebanyak 1 mL. Positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan berwarna *orange* atau jingga (Muthmainnah, 2017).

### (2) Uji Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang selanjutnya ditambahkan serbuk magnesium dan HCl pekat. Setelah itu dipanaskan selama 15 menit diatas penangas air.

Positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna merah atau kuning (Muthmainnah, 2017).

(3) Uji Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan air panas sebanyak 10 mL. Setelah itu ditetesi  $\text{FeCl}_3$  sebanyak 3-4 tetes. Positif mengandung tanin apabila warna yang ditunjukkan yaitu biru kehitaman (Muthmainnah, 2017).

(4) Uji Saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan air panas sebanyak 10 mL, didinginkan. Setelah itu dikocok secara kuat selama 10 detik. Apabila terdapat buih setinggi 1-10 cm tidak kurang dalam waktu 10 menit dan jika ditambahkan HCl sebanyak 1 tetes, buih masih tetap ada, maka positif mengandung saponin (Muthmainnah, 2017).

(5) Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditetesi asam asetat anhidrat sebanyak 2 tetes dan 1 tetes asam sulfat pekat. Positif mengandung terpenoid jika terbentuk warna merah kecokelatan dan positif mengandung steroid jika terbentuk warna hijau (Muthmainnah, 2017).

5) Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

(1) Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 2,5 mg serbuk DPPH dilarutkan dalam 25 mL etanol p.a dan didapat larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm (Suyatmi *et al*, 2019).

(2) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Sebanyak 50 mg ekstrak etanol kulit singkong daging putih ditimbang dan selanjutnya dilarutkan menggunakan etanol p.a sebanyak 50 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk yaitu 1000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk menjadi seri konsentrasi 25, 50, 100, 250, dan 500 ppm (Sayakti *et al*, 2022).

(3) Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Kuersetin sebanyak 5 mg ditimbang dan dilarutkan menggunakan etanol 50 mL, sehingga diperoleh larutan induk kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian diencerkan menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm (Suyatmi *et al*, 2019).

(4) Optimasi Panjang Gelombang Maksimal

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 100 ppm dipipet dan ditambahkan 3 mL etanol. Kemudian diinkubasi dalam waktu 30 menit. Setelah itu, diukur panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 400-800 nm (Suyatmi *et al*, 2019).

#### (5) Optimasi Waktu Inkubasi

Dipipet sebanyak 3 mL masing-masing dari larutan pembanding yaitu kuersetin (2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm). Selanjutnya ditambahkan larutan DPPH sebanyak 1 mL pada masing-masing larutan dan pembanding sampel dan dimasukkan ke dalam botol vial kemudian ditutupi seluruh bagiannya dengan aluminium foil. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum setiap 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit dan ditentukan waktu optimumnya. Waktu optimum adalah waktu inkubasi yang dapat memberikan serapan cukup stabil (Suyatmi *et al*, 2019).

#### (6) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih dan Larutan Kuersetin

Sebanyak 3 mL masing-masing larutan uji dan pembanding dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan juga masing-masing 1 mL larutan DPPH dan dihomogenkan. Setelah itu, diinkubasi pada tempat yang terlindung dari cahaya selama waktu yang dihasilkan oleh penentuan waktu inkubasi optimum. Terakhir dicari absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang dihasilkan oleh penentuan panjang gelombang maksimum (Suyatmi *et al*, 2019).

#### (7) Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan persamaan % inhibisi:

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

Hasil dari perhitungan % inhibisi dimasukkan ke dalam persamaan regresi  $y = ax + b$ , di mana konsentrasi ekstrak yaitu ppm sebagai sumbu x dan nilai % inhibisi sebagai sumbu y, sehingga didapat nilai IC<sub>50</sub> dengan rumus:

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

#### 4.8 Analisis Data

Analisis data menggunakan *Independent T-Test* yang merupakan uji untuk mengetahui perbedaan rata-rata antara dua kelompok yang independent. Data yang diperoleh yaitu berupa IC<sub>50</sub> dari kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranzt*) dimasukkan kedalam SPSS yang selanjutnya dilakukan *Independent T-Test*. Perbedaan dianggap signifikan jika nilai  $p < 0,05$  (Linda Rosalina *et al*, 2021).

## **BAB 5 HASIL PENELITIAN**

### **5.1 Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan di UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa kulit singkong daging putih yang digunakan untuk penelitian dapat dipastikan adalah spesies *Manihot esculenta Crantz* yang berasal dari famili Euphorbiaceae. Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1.

### **5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan secara acak di Kabupaten Jember Jawa Timur dan bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu berupa kulit singkong daging putih. Selanjutnya dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan sortasi kering sehingga didapatkan serbuk simplisia dengan berat 500 gram.

### **5.3 Mengidentifikasi Metabolit Sekunder**

#### **5.3.1 Ekstraksi**

Ekstraksi kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) dilakukan menggunakan metode ultrasonik dengan cara menimbang serbuk simplisia sebanyak 200 gram dengan 1000 mL pelarut etanol 96%. Ultrasonik dilakukan selama 20 menit. Satu kali ultrasonik hanya dapat menampung sampel dan pelarut kurang dari 50 mL, jadi ultrasonik dilakukan selama 3 hari dengan memasukkan

simplisia sebanyak 5 gram dan pelarut etanol 96% sebanyak 25 mL. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas saring dan dihasilkan filtrat dari kulit singkong daging putih dengan pelarut etanol 96%. Tahap selanjutnya yaitu filtrat yang sudah didapatkan, dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan terakhir diuapkan kembali menggunakan *waterbath* agar didapatkan ekstrak yang lebih kental. Proses pembuatan simplisia dapat dilihat pada Lampiran 2 dan hasil perhitungan persen rendemen dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil perhitungan persen rendemen

<b>Simplisia</b>	<b>Ekstrak Kental</b>	<b>Rendemen</b>
200 gram	21,3 gram	10,65%

### 5.3.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*). Hasil dari skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil skrining fitokimia

<b>No.</b>	<b>Senyawa</b>	<b>Hasil</b>	<b>Keterangan</b>
1	Alkaloid	+	Terbentuk endapan berwarna <i>orange</i> atau jingga
2	Flavonid	+	Terdapat warna merah
3	Tanin	-	Tidak terdapat warna biru kehitaman
4	Saponin	-	Buih yang terbentuk tidak mencapai 1 cm
5	Terpenoid dan Steroid	+(terpenoid)	Terdapat warna merah kecokelatan

Keterangan:

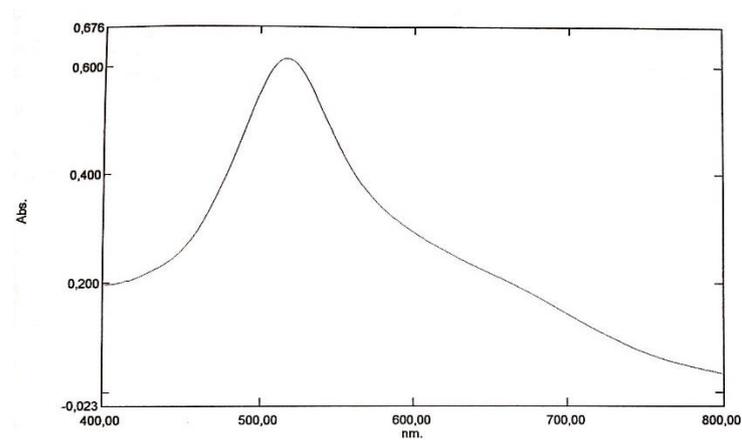
(+) Positif: Mengandung golongan senyawa

(-) Negatif: Tidak mengandung golongan senyawa

## 5.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan

### 5.4.1 Penentuan Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan absorbansi Panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara 3 mL larutan DPPH 100 ppm dipipet dan ditambahkan 1 mL etanol p.a. Kemudian diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya, diukur serapan pada panjang gelombang 400-8000 nm. Hasil absorbansi DPPH pada penelitian ini menghasilkan serapan pada panjang gelombang 517 nm dengan absorbansi 0,618. Data hasil pengukuran absorbansi DPPH dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Hasil absorbansi Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

### 5.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

Penentuan waktu inkubasi optimum dilakukan untuk mengetahui waktu yang paling optimum untuk zat atau sampel dapat bereaksi dengan maksimal. Pada penentuan waktu inkubasi optimum ini digunakan sampel kuersetin dengan konsentrasi yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dan dilakukan pada menit ke 0 sampai 60 dengan selang waktu 10 menit.

Hasil yang diperoleh selanjutnya diolah yang kemudian didapatkan persamaan regresi linier dari menit ke 0 hingga menit ke 60 dengan selang waktu 10 menit. Data yang diperoleh menunjukkan nilai  $R^2$  yang paling baik yaitu pada menit ke 30 dengan persamaan regresi yaitu  $y = 1,0275x + 44,579$  dengan nilai  $IC_{50}$  yaitu  $5,27 \mu\text{g/mL}$ . Untuk itu digunakan waktu inkubasi selama 30 menit.

Tabel 5.3 Persamaan regresi linier dan nilai  $R^2$  kuersetin menit ke 0 hingga 60

Menit ke	Persamaan Regresi	$R^2$	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
0	$y = 1,7476x + 34,725$	0,9539	8,74
10	$y = 0,6796x + 46,084$	0,9587	5,76
20	$y = 1,0761x + 43,673$	0,99	5,88
30	$y = 1,0275x + 44,579$	0,9912	5,27
40	$y = 0,9628x + 43,382$	0,9925	6,87
50	$y = 0,8495x + 43,706$	0,9103	7,40
60	$y = 1,0275x + 40,146$	0,8423	9,59

#### 5.4.3 Pengukuran Absorbansi serta Persen Inhibisi Kuersetin dan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

Penentuan absorbansi serta persen inhibisi kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging putih yaitu dengan cara menginkubasi baik kuersetin maupun ekstrak etanol kulit singkong daging putih selama 30 menit dan diukur penyerapannya pada panjang gelombang 517 sesuai dengan hasil optimasi yang telah dilakukan. Absorbansi yang didapatkan digunakan untuk menentukan persen inhibisi pada setiap replikasi untuk mengetahui persamaan regresi yaitu  $y = bx + a$ . Cara menentukan persamaan regresi adalah dengan memasukkan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan persen inhibisi sebagai ordinat (sumbu Y). Hasil absorbansi dan persen inhibisi dapat dilihat pada tabel 5.4 untuk kuersetin serta tabel 5.5 untuk sampel ekstrak etanol kulit singkong daging putih.

Tabel 5.4 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Kuersetin

Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi	R <sup>2</sup>
1	2	0,326	47,25	$y = 0,9547x + 45,113$	0,9664
	4	0,314	49,19		
	6	0,307	50,32		
	8	0,296	52,10		
	10	0,276	55,34		
2	2	0,328	46,92	$y = 1,0518x + 44,531$	0,9878
	4	0,317	48,70		
	6	0,306	50,48		
	8	0,293	52,59		
3	10	0,275	55,50	$y = 1,0922x + 44,32$	0,975
	2	0,33	46,60		
	4	0,314	49,19		
	6	0,309	50		
	8	0,291	52,91		
	10	0,274	55,66		
Blanko		0,618			

Tabel 5.5 Hasil Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

Replikasi	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan Regresi	R <sup>2</sup>
1	25	0,335	42,54	$y = 0,0895x + 41,245$	0,9947
	50	0,305	47,68		
	100	0,298	48,88		
	250	0,21	63,98		
	500	0,082	85,93		
2	25	0,333	42,88	$y = 0,0895x + 41,422$	0,9954
	50	0,305	47,68		
	100	0,297	49,06		
	250	0,209	64,15		
3	500	0,081	86,11	$y = 0,0898x + 41,423$	0,9945
	25	0,333	42,88		
	50	0,304	47,85		
	100	0,298	48,88		
	250	0,208	64,32		
	500	0,08	86,28		
Blanko		0,583			

#### 5.4.4 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> Kuersetin dan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> ditentukan dengan mensubsitusikan nilai persamaan regresi linier  $y = bx + a$  yang didapat setiap replikasi baik kuersetin maupun ekstrak etanol kulit singkong daging putih. Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dapat dilihat pada tabel 5.6 dan tabel 5.7 untuk ekstrak etanol kulit singkong daging putih.

Tabel 5.6 Nilai IC<sub>50</sub> Kuersetin

Replikasi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	$\bar{x} \pm SD$	Kategori
1	5,12	5,17±0,043	Sangat kuat
2	5,19		
3	5,20		

Tabel 5.7 Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

Replikasi	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	$\bar{x} \pm SD$	Kategori
1	95,37	95,57±0,241	Kuat
2	95,84		
3	95,51		

#### 5.5 Hasil Analisis Data

Pengolahan data IC<sub>50</sub> dari kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) menggunakan SPSS dengan *Independent T-Test*. Hasil yang didapatkan yaitu nilai  $p < 0,05$  yang menandakan bahwa terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara nilai IC<sub>50</sub> kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) (Linda Rosalina *et al*, 2021). Hasil lengkap dapat dilihat pada lampiran 12.

		<b>Independent Samples Test</b>				
		Levene's Test for Equality of Variances				
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Hasil Nilai IC50	Equal variances assumed	5.660	.076	-638.539	4	.000
	Equal variances not assumed			-638.539	2.130	.000

Gambar 5.6 Hasil Uji *Independent T-Test*

## **BAB 6 PEMBAHASAN**

### **6.1 Mengidentifikasi Metabolit Sekunder**

#### **6.1.1 Ekstraksi Kulit Singkong Daging Putih (*Manihot esculenta Cranz*)**

Penelitian yang telah dilakukan mendapatkan hasil yaitu berat ekstrak kental 21,3 gram dengan persen rendemen sebesar 10,65%. Ekstrak kental didapatkan dari serbuk siplisia kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranz*) sebanyak 200 gram yang kemudian dilarutkan menggunakan etanol 96% bervolume 1000 mL. Ekstraksi adalah proses yang bertujuan untuk memisahkan zat yang diinginkan dengan zat yang tidak memiliki manfaat dari jaringan tumbuhan ataupun hewan menggunakan pelarut yang sesuai (Tri Puji L. and Fernanda, 2019). Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranz*) menggunakan pelarut etanol 96% dan metode ekstraksi ultrasonik.

Ekstraksi ultrasonik termasuk ke dalam ekstraksi secara dingin di mana ekstraksi ini merupakan modifikasi dari ekstraksi maserasi. Ekstraksi ultrasonik menggunakan bantuan dari ultrasound yaitu sinyal dengan frekuensi yang tinggi sehingga dapat menyebabkan tekanan mekanik yang menghasilkan rongga pada sel. Sel akan mengalami kerusakan dan akan menyebabkan kelarutan senyawa yang meningkat dan akan mempengaruhi hasil ekstraksi yang meningkat pula. Ekstraksi ultrasonik ini memiliki beberapa keuntungan yaitu waktu yang lebih cepat dibanding dengan metode lainnya, lebih aman, dan rendemen kasar yang

dihasilkan meningkat (Mukhriani, 2014). Hasil dari persen rendemen pada penelitian ini sesuai dengan persyaratan dari Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (2017) yang menyatakan bahwa persyaratan dari persen rendemen ekstrak yaitu tidak kurang dari 10%.

### **6.1.2 Skrining Fitokimia**

Penelitian yang telah dilakukan terhadap skrining fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid/steroid mendapatkan hasil yaitu ekstrak etanol kulit singkong daging putih mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Saponin tidak terdapat dalam ekstrak etanol kulit singkong daging putih ini di mana busa yang dihasilkan tidak mencapai 1 cm. Selain itu, tanin juga tidak terdapat dalam sampel ini, ditandai dengan tidak adanya perubahan warna biru kehitaman setelah ditetesi oleh  $\text{FeCl}_3$ .

Skrining fitokimia adalah cara untuk mengetahui metabolit sekunder yang terdapat di dalam tumbuhan. Metabolit sekunder ini dapat dimanfaatkan untuk pertahanan diri bagi tumbuhan terhadap ekosistem, penyakit, dan serangan dari predator. Skrining fitokimia ialah tahapan pertama dalam menggambarkan kandungan senyawa kimia apa saja yang terdapat dalam bahan yang akan dilakukan penelitian (Sri Purwati *et al*, 2017). Hasil dari skrining fitokimia yang dilakukan oleh Gagola *et al* (2014) menghasilkan bahwa kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) mengandung senyawa kimia berupa flavonoid dan tanin. Sampel kulit singkong diambil dari Melonguane dan menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 60% sebagai pelarutnya.

Sementara itu, skrining fitokimia daun singkong yang dilakukan dengan ekstraksi maserasi dan pelarut metanol mendapatkan hasil berupa flavonoid dan fenolik (Sayakti *et al*, 2022). Skrining fitokimia terhadap daun singkong juga dilakukan oleh Hasim *et al* (2016) dan hasil yang didapatkan yaitu daun singkong memiliki senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Pelarut yang digunakan juga sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Sayakti *et al* (2022) yaitu metanol dengan metode ekstraksi maserasi. Hal yang memicu terjadinya perbedaan hasil skrining fitokimia ini dengan penelitian sebelumnya yaitu dapat berupa metode ekstraksi yang digunakan, pelarut, serta tempat di mana sampel penelitian diambil yang dapat dipengaruhi oleh suhu lingkungan dan tanah yang digunakan untuk menanam sampel (Debi Masthura P. and Syafrina Sari L., 2020).

Penelitian ini memiliki hasil yang berbeda dengan penelitian sebelumnya. Hal yang dapat menyebabkan terjadinya perbedaan pada hasil yang didapatkan yaitu berupa reagen yang digunakan, waktu ekstraksi ekstrak, suhu dalam ruangan yang mempengaruhi sampel, dan metode yang digunakan dalam mengekstraksi sampel. Hasil lengkap dapat dilihat pada lampiran 4.

## **6.2 Aktivitas Antioksidan**

Pengujian aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Metode ini digunakan karena sangat sederhana, mudah, cepat, serta membutuhkan sampel yang tidak terlalu banyak. DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) akan berperan sebagai radikal bebas yang

tidak memiliki pasangan elektron dalam pengujian ini. DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) pada penelitian ini akan diujikan dengan sampel ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) untuk mengetahui seberapa kuat antioksidan yang dimiliki oleh sampel. DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) akan bereaksi dengan sampel sehingga menyebabkan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine* yang memiliki sifat non radikal. Perubahan fisik yang dapat diamati yaitu berubahnya warna DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dari ungu menjadi kuning pucat yang menandakan bahwa elektron sudah memiliki pasangan. Perubahan warna ini juga akan mempengaruhi absorbansi dari panjang gelombang maksimum DPPH yang dibaca melalui Spektrofotometer UV-Vis dan selanjutnya akan diketahui nilai peredaman terhadap radikal bebas, dinyatakan dalam nilai  $IC_{50}$  (Kesuma, 2015).  $IC_{50}$  merupakan jumlah yang memperlihatkan bahwa konsentrasi dari sampel uji yang digunakan memberikan peredaman DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dengan nilai 50%. Hasil dari perhitungan  $IC_{50}$  menunjukkan bahwa semakin kecil nilainya, maka peredaman atau aktivitas antioksidannya akan semakin bagus dan besar. Sebaliknya jika nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh memiliki jumlah yang besar, maka nilai aktivitas antioksidannya tergolong kecil (Aprilia *et al*, 2015).

Pembacaan absorbansi ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) dengan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan dilakukan pembacaan panjang gelombang maksimum dari DPPH terlebih dahulu. Panjang gelombang

maksimum yang didapatkan yaitu sebesar 517 nm dengan absorbansi 0,618. Panjang gelombang maksimum menunjukkan bahwa DPPH memberikan serapan paling maksimum. Hasil yang didapat ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Gagola *et al* (2014), Hasim *et al* (2016), dan Restanti *et al* (2019) membuktikan panjang gelombang maksimum yaitu pada 517 nm. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Marta Ade R. *et al* (2020) menunjukkan hasil Panjang gelombang maksimum sebesar 516,5 nm. Hasil dari penentuan panjang gelombang maksimum yang berbeda-beda ini dapat dipengaruhi oleh faktor sensitifnya senyawa DPPH terhadap basa Lewis, jenis pelarut, dan oksigen. Larutan awalnya akan berwarna ungu violet yang kemudian berubah menjadi kuning pucat. Perubahan warna ini menunjukkan adanya reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan tereduksi menjadi DPPH-H yang stabil (Rizkayanti *et al*, 2017).

Optimasi waktu inkubasi adalah hal yang bertujuan untuk mengetahui berapa lama waktu yang dibutuhkan untuk sampel dan DPPH bereaksi secara sempurna sebelum dilakukan pembacaan absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis (Nina Salamah *and* Erlinda W, 2015). Pengukuran optimasi ini dilakukan selama 60 menit dalam selang waktu 10 menit mulai menit ke 0 hingga 60. Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini yaitu didapatkan optimasi waktu inkubasi yang paling bagus pada menit ke 30 dengan nilai  $R^2 = 0,9912$ . Hal-hal yang diperhatikan dalam penentuan optimasi ini yaitu dilihat dari nilai  $R^2$  yang mendekati 1 dan hasil dari  $IC_{50}$  yang paling kecil. Selain itu, hasil yang didapatkan juga sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Tri Saptari H. *et al*

(2019) menggunakan pembanding vitamin C yang menyatakan bahwa optimasi waktu inkubasi yaitu pada menit ke-30.

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan membuat lima konsentrasi larutan uji baik pembanding maupun ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranz*t). Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan senyawa yang mengandung flavonoid dan sudah teruji memiliki aktivitas antioksidan. Hasil dari pengukuran absorbansi didapatkan dari mereaksikan DPPH dengan kuersetin maupun ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranz*t) pada panjang gelombang maksimum yang dihasilkan. Nilai dari serapan akan dihitung sebagai % inhibisi dan selanjutnya akan dilakukan perhitungan nilai  $IC_{50}$ .

Perhitungan hasil analisis dari % inhibisi dapat dilihat pada tabel 5.4 dan 5.6 di mana menunjukkan semakin tinggi konsentrasi dari larutan yang digunakan baik kuersetin maupun ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranz*t), maka semakin tinggi pula % inhibisi yang dihasilkan. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi konsentrasi maka jumlah atom hidrogen yang berpasangan dengan elektron dari radikal bebas DPPH akan semakin banyak dan menyebabkan serapan atau absorbansi semakin menurun (Rizkayanti *et al*, 2017). Sementara itu, hasil dari  $IC_{50}$  diperoleh dari grafik persamaan linier yang didapatkan dengan memasukkan konsentrasi larutan uji dan % inhibisi. Konsentrasi larutan uji ( $\mu\text{g/mL}$ ) sebagai absis atau nilai x dan % inhibisi sebagai ordinat atau nilai y. Nilai R yang didapatkan baik kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan replikasi sebanyak tiga kali menunjukkan hasil yang

mendekati satu dan menunjukkan korelasi yang baik antara konsentrasi dan % inhibisi (Sri Fitri W., 2018).

Perhitungan  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) sebanyak tiga kali replikasi yaitu didapat rata-rata sebesar  $95,57 \pm 0,241 \mu\text{g/mL}$ , sedangkan pembanding kuersetin memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $5,17 \pm 0,043 \mu\text{g/mL}$ . Hasil dari  $IC_{50}$  dari kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) tergolong kedalam aktivitas antioksidan yang kuat. Berdasarkan penelitian Marta Ade R. *et al* (2020) menggunakan metode maserasi dengan pelarut yang sama, menunjukkan hasil  $IC_{50}$  ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta Crantz*) daging putih sebesar  $51,90 \pm 11,45 \mu\text{g/mL}$  dan termasuk ke dalam aktivitas antioksidan yang kuat. Selain itu, penelitian aktivitas antioksidan daun singkong yang dilakukan oleh Hasim *et al* (2016) menggunakan metode maserasi dan pelarut metanol menunjukkan hasil  $IC_{50}$   $92,10 \mu\text{g/mL}$  yang termasuk ke dalam kategori antioksidan kuat.

Perolehan dari  $IC_{50}$  ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) yaitu  $95,57 \pm 0,241 \mu\text{g/mL}$  masuk ke dalam rentang konsentrasi yang digunakan dengan rentang 25, 50, 100, 250, dan 500 ppm. Hal ini juga berlaku pada pembanding kuersetin dengan rentang 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm menghasilkan  $IC_{50}$  sebesar  $5,17 \pm 0,043 \mu\text{g/mL}$  yang tergolong ke dalam aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Dari hasil  $IC_{50}$  ekstrak etanol kulit singkong daging putih dan kuersetin ini, dilakukan uji *Independent T-Test* yang menghasilkan nilai  $P < 0,05$  menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil  $IC_{50}$  yang sangat signifikan

antara ekstrak etanol kulit singkong daging putih dengan kuersetin. Kuersetin memiliki nilai  $IC_{50}$  lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Cranzl*). Hal ini dapat terjadi karena kuersetin merupakan senyawa murni yang hanya terdiri dari satu kelompok metabolit sekunder yaitu flavonoid dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Tamia Elinda *et al*, 2019).

## **BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **7.1 Kesimpulan**

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

1. Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) adalah alkaloid, flavonoid, dan terpenoid.
2. Nilai aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol kulit singkong daging putih (*Manihot esculenta Crantz*) dengan metode DPPH adalah 95,57±0,241 µg/mL termasuk kategori kuat, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan kuersetin sebagai kontrol positif atau pembanding.

### **7.2 Saran**

1. Penelitian selanjutnya diharapkan dapat melakukan pengujian aktivitas antioksidan kulit singkong daging putih dengan proses ekstraksi metode yang berbeda selain ultrasonik.
2. Pelarut dalam ekstraksi yang digunakan diharapkan juga menggunakan pelarut yang berbeda karena tiap pelarut memiliki kepolaran yang berbeda-beda.
3. Formulasi atau seri konsentrasi baik pembanding maupun larutan uji yang digunakan diharapkan juga melakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan formulasi atau seri konsentrasi yang berbeda dengan penelitian ini.

4. Pada penelitian selanjutnya, diharapkan juga untuk melakukan uji kadar flavonoid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aprilia, A., Putri, S., & Hidajati, D. N. (2015) 'Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*)', *UNESA Journal of Chemistry*, 4(1), 37–42.
- Arsa, A. K., & Achmad, Z. (2020) 'Ekstraksi Minyak Atsiri dari Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Rox) dengan Pelarut Etanol dan N-heksana', *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 13(1), 83–94.
- Debi Masthura Putri1, Syafrina Sari Lubis. (2020) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum)', *Jurnal AMINA* 2(3).
- Dian Kusuma Wardani (2020) *Pengujian Hipotesis (Deskriptif, Komparatif dan Asosiatif)*. N.p.: LPPM Universitas KH. A. Wahab Hasbullah.
- Eko Sudarmanto, Ardhariksa Zukhruf K., Erika Revida R.F., Marisi Butarbutar (2021) *Desain Penelitian Bisnis: Pendekatan Kuantitatif*. (n.p.): Yayasan Kita Menulis.
- Federation and Agriculture Organization (2020) *Top 10 Country Production of Cassava, fresh*. [https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries\\_by\\_commodity](https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity)
- Fitri Dian Nila Sari, Rara Astili. (2018) 'Kandungan Asam Sianida Dendeng Dari Limbah Kulit Singkong', *Jurnal Dunia Gizi, Vol. 1, No. 1, Juni 2018*:20-29.
- Gagola, C., Suryanto, E., & Wewengkang, D. (2014) 'Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Ubi Kayu (*Manihot esculenta*) Daging Putih Dan Daging Kuning yang Diambil Dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talanud', *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2), 127–133.
- Hasim, Syamsul Falah, Lia Kusuma Dewi. (2016) 'Pengaruh Perebusan Daun Singkong (*Manihot esculenta* crantz) terhadap Kadar Total Fenol, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidannya', *Jurnal Current Biochemistry Volume 3 (3)*: 116 – 127.
- Johar Arifin. (2017) *SPSS 24 untuk Penelitian dan Skripsi*. N.p., Elex Media Komputindo.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2017) *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta Publish.
- Kesuma Sayuti, Rina Yenrina (2020) *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Asosiasi

Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia (APPTI). Padang.

- Lilik Nur S (2020) *Mengenal Tanaman Makanan Pokok*. ALPRIN. Jawa Tengah
- Linda Rosalina, Rahmi Oktarina, Rahmiati, Indra Saputra (2021) *Buku Ajar STASTIKA*. CV. Muharika Rumah Ilmiah. Padang.
- Marta Ade Ratna, St. Rahmatullah, Siti Rofiqoh, W. (2020) 'Pemanfaatan Ekstrak Kulit Singkong', *Naskah Publikasi Farmasi*.
- Mukhriani. (2014) 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif', *Jurnal Kesehat.*, VII(2), 361. <https://doi.org/10.1007/s11293-018-9601-y>
- Muthmainnah. (2017) 'Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) dengan Metode Uji Warna', *Media Farmasi Vol.. XIII(2)*, 1–14.
- Nina Salamah and Erlinda Widyasari (2015) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria Longan (L) Steud.*) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1 Pikrilhidrazil', *Pharmaciaana, Vol. 5, No. 1, 2015: 25-34*.
- Ni Wayan Oktarini A.C. Dewi, Ni Made Puspawati, I Made Dira Swantara, I.A.R. Astiti Asih, Wiwik Susana Rita. (2014) 'Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum Betaceum, Syn*) Dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar', *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry) Volume 2, Nomor 1, Mei 2014*.
- Putri Andaria Nasutiona, Ridwanti Batubarab, S. (2013) 'Tingkat Kekuatan Antioksidan dan Kesukaan Masyarakat Terhadap The Daun Gaharu (*Aquilariamalaccensis Lamk*) Berdasarkan Pohon Indukasi dan Non Induksi', *Journal Kehutanan 1–12*.
- Restanti Solikhah, Eling Purwantoyo, dan Ely Rudyatmi. (2019) 'Aktivitas Antioksidan dan Kadar Klorofil Kultivar Singkong di Daerah Wonosobo', *Jurnal Life Science 8 (1)*.
- Rizkayanti, Anang Wahid. M. Diah, dan Minarni Rama Jura. (2017) 'Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera LAM*)', *Jurnal Akademika Kimia 6(2): 125-131 ISSN 2302-6030 (p), 2477-5185 (e)*.
- Sari, L. M (2019) *Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksisitas Biji Pinang pada Karsinoma Sel Skuamosa Mulut*. Syiah Kuala University Press.
- Sayakti, P. Indah, Anisa, N., & Ramadhan, H. (2022) 'Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Singkong (*Manihot esculenta Crantz*)

- menggunakan Metode CUPRAC’, *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy) Special Edition*, 2022, 97–106. <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
- Sekarsari, S., Widarta, I. W. R., & Jambe, A. A. G. N. A. (2019) ‘Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi dengan Gelombang Ultrasonik terhadap Aaktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)’, *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(3), 267. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i03.p05>
- Solihah, I., & Wijaya, D. P (2020) *Pati Umbi-Umbian dan Resisten Starch Sebagai Prebiotik Untuk Kesehatan*. PT Nasa Expanding Management. Jawa Tengah.
- Sri Fitri Wahyuni. (2018) ‘Pengaruh Corporate Social Responsibility Terhadap Nilai Perusahaan dengan Profitabilitas Sebagai Variabel Moderating’, *Jurnal Ilmiah Magister Manajemen Vol. 1, No. 1, September 2018*, 109-117 ISSN 2623-2634.
- Sri Purwati<sup>1</sup>, Sonja V. T. Lumowa<sup>1</sup>, Samsurianto. (2017) ‘Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana Camara* L) sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura’, *Jurnal Kimia FMIPA UNMUL*.
- Sugiyono and Mitha Erlisya P (2020) *Metode Penelitian Kesehatan (Kuantitatif, Kualitatif, Kombinasi, R&D)*. Penerbit Alfabet Bandung.
- Suyatmi, Saleh, C., & Ryn Pratiwi, D. (2019) ‘Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH) dari Daun Rambai (*Baccaurea motleyana* Mull. Arg.)’, *Jurnal Atomik*, 4(2), 96–99.
- Syaifuddin. (2015) ‘Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera Amoena* Voss.) Segar dan Rebus Dengan Metode DPPH (1,1 –Diphenyl-2-Picylhydrazyl)’, *Skripsi*.
- Tamia Elinda, Wulan Tri Wahyuni, Eti Rohaeti. (2019) ‘Deteksi Simultan Kuersetin dan Rutin Menggunakan *Screen-Printed Carbon Electrode Termodifikasi Grafena*’, *Jurnal Kimia Valensi*, Vol 5(1), Mei 2019, 97-107.
- Tanti T. Irianti, Sugiyanto, Sindu Nuranto, K (2017) Antioksidant. In *Paper Knowledge. Toward a Media History of Documents*.
- Tati Suhartati (2017) *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis dan Spektrofotometri Massa Untuk Penetapan Struktur Senyawa Organik*. In AURA CV. Anugrah Utama Raharja (Vol. 4, Issue 1). Lampung.
- Tri Puji Lestari Sudarwati & Fernanda, M. A. H. F (2019) *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (*Carica Papaya*) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes Aegypti**. In Graniti (Vol. 4, Issue 1). Jawa Timur.

- Tri Saptari H., Triastinurmiatiningsih, Bina Lohita S., Indah Nur Sayyidah. (2019) 'Kadar Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rumput Laut Coklat (*Padina australis*)', *Jurnal Fitofarmaka*, Vol. 9, No.1, ISSN:2087-9164.
- Yunianto, A. E., Lusiana, S. A., Haya, M., Sari, C. R., Yuliantini, E., Faridi, A., Syafii, F., Rasmaniar, R., Budiastutik, I., Dana, Y. A., & others (2021) *Ekologi Pangan dan Gizi*. Yayasan Kita Menulis.
- Yuslianti, E. R (2018) *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Determinasi Tumbuhan

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
Revisi : 0



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET DAN TEKNOLOGI  
POLITEKNIK NEGERI JEMBER  
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU  
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531  
E-mail : [Polije@polije.ac.id](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

#### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 85/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 2193/FIKES.UDS/U/V/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Malinda Husna Khafifah  
NIM : 19040076  
Jur/Fak/PT : Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:  
*Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Euphorbiales; Famili: Euphorbiaceae; Genus: Manihot; Spesies: Manihot esculenta, Crantz*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 16 Mei 2023  
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu  
  
If. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
NIP. 197106212001121001

## Lampiran 2. Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

Pengeringan kulit singkong daging putih



Penghalusan kulit singkong daging putih



Hasil simplisia kulit singkong daging putih



Penimbangan simplisia kulit singkong daging putih



Metode ultrasonik ekstrak etanol kulit singkong daging putih



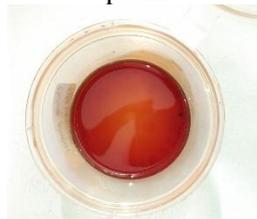
Penyaringan ekstrak etanol kulit singkong daging putih



Rotary evaporator ekstrak etanol kulit singkong daging putih



Hasil ekstrak etanol kulit singkong daging putih

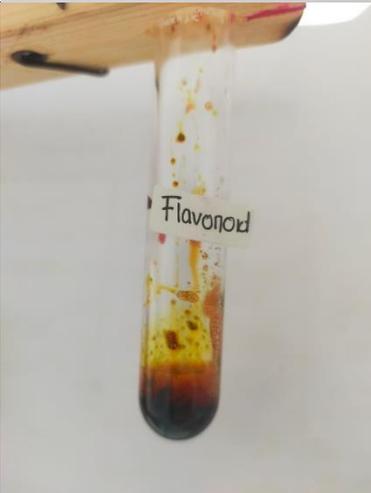


**Lampiran 3. Perhitungan Persen Rendemen**

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak (gr)}}{\text{Berat Simplisia (gr)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{21,3}{200} \times 100\% = 10,65\%$$

**Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih**

No.	Senyawa	Dokumentasi	Hasil
1	Alkaloid		+
2	Flavonoid		+
3	Tanin		-

4	Saponin		-
5	Terpenoid dan Steroid		+ terpenoid

**Lampiran 5. Pembuatan dan Dokumentasi Larutan DPPH 100 ppm**

$\frac{x \text{ (berat bahan yang ditimbang mg)}}{\text{mL (volume yang dibutuhkan)}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$  (konsentrasi yang diinginkan)

$$\frac{x \text{ (mg)}}{25 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mg)} = \frac{100 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mg)} = 2,5 = 0,0025 \text{ gr}$$

Penimbangan serbuk DPPH



DPPH setelah dilarutkan ke dalam 25 mL etanol p.a



## Lampiran 6. Pembuatan serta Dokumentasi Larutan Induk Kuersetin 100 ppm dan Pengenceran

### a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin 100 ppm

$$\frac{x \text{ (berat bahan yang ditimbang mg)}}{\text{mL (volume yang dibutuhkan)}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm (konsentrasi yang diinginkan)}$$

$$\frac{x \text{ (mg)}}{50 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mg)} = \frac{100 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mg)} = 5 = 0,0050 \text{ gr}$$

### b. Pengenceran Larutan Induk Kuersetin 100 ppm (2, 4, 6, 8, dan 10 ppm)

$$\frac{x \text{ (volume yang dipipet mL)}}{\text{mL (volume yang dibutuhkan)}} \times 100 \text{ ppm} = \text{ppm (konsentrasi yang diinginkan)}$$

#### 1. Pengenceran 2 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ ppm} = 2 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{2 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 0,2 = 200 \mu\text{L}$$

#### 2. Pengenceran 4 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ ppm} = 4 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{4 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 0,4 = 400 \mu\text{L}$$

#### 3. Pengenceran 6 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ ppm} = 6 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{6 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 0,6 = 600 \mu\text{L}$$

#### 4. Pengenceran 8 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{25 \text{ mL}} \times 100 \text{ ppm} = 8 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{8 \text{ ppm} \times 25 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 2$$

#### 5. Pengenceran 10 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ ppm}$$

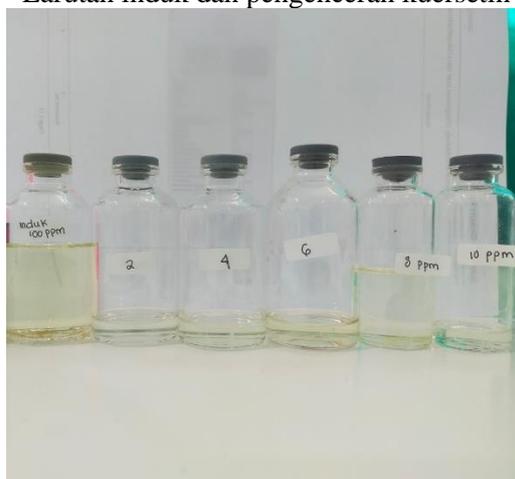
$$x \text{ (mL)} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 1$$

Penimbangan serbuk kuersetin



Larutan induk dan pengenceran kuersetin



## Lampiran 7. Pembuatan serta Dokumentasi Larutan Induk Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih 1000 ppm dan pengenceran

### a. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih 1000 ppm

$$\frac{x \text{ (berat bahan yang ditimbang mg)}}{\text{mL (volume yang dibutuhkan)}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm (konsentrasi yang diinginkan)}$$

$$\frac{x \text{ (mg)}}{50 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mg)} = \frac{1000 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mg)} = 50 = 0,05 \text{ gr}$$

### b. Pengenceran Larutan Induk Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih 1000 ppm (25, 50, 100, 250, dan 500 ppm)

$$\frac{x \text{ (volume yang dipipet mL)}}{\text{mL (volume yang dibutuhkan)}} \times 1000 \text{ ppm} = \text{ppm (konsentrasi yang diinginkan)}$$

#### 1. Pengenceran 25 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 25 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 0,25 = 250 \mu\text{L}$$

#### 2. Pengenceran 50 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 50 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 0,5$$

#### 3. Pengenceran 100 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 1$$

#### 4. Pengenceran 250 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 250 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 2,5$$

#### 5. Pengenceran 500 ppm

$$\frac{x \text{ (mL)}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ ppm} = 500 \text{ ppm}$$

$$x \text{ (mL)} = \frac{500 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$x \text{ (mL)} = 5$$

---

Penimbangan ekstrak etanol kulit singkong daging putih



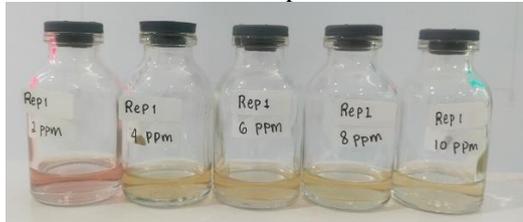
Larutan induk dan pengenceran ekstrak etanol kulit singkong daging putih

---

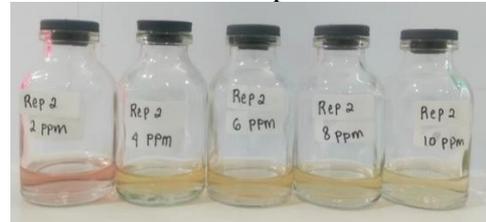


## Lampiran 8. Dokumentasi Replikasi Kuersetin dan Ekstrak Etanol kulit Singkong Daging Putih

Kuersetin replikasi 1



Kuersetin replikasi 2



Kuersetin replikasi 3



Ekstrak etanol kulit singkong daging putih replikasi 1



Ekstrak etanol kulit singkong daging putih replikasi 2



Ekstrak etanol kulit singkong daging putih replikasi 3

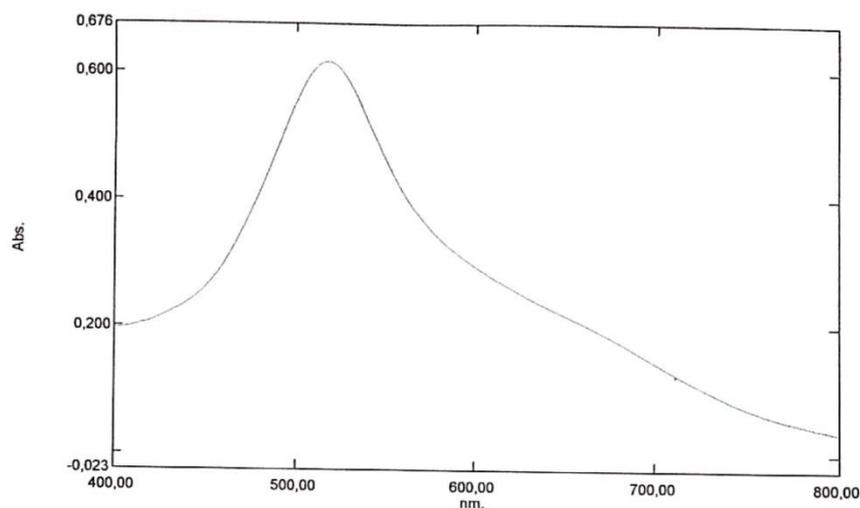


## Lampiran 9. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

### Spectrum Peak Pick Report

26/06/2023 09:32:14

Data Set: File\_230626\_082614 - RawData



[Measurement Properties]  
Wavelength Range (nm.): 400.00 to 800.00  
Scan Speed: Fast  
Sampling Interval: 1,0  
Auto Sampling Interval: Disabled  
Scan Mode: Single

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1	⊕	517.00	0.618	

[Instrument Properties]  
Instrument Type: UV-1900 Series  
Measuring Mode: Absorbance  
Slit Width: 1,0 nm  
Light Source Change Wavelength: 340,8 nm  
S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]  
Attachment: None

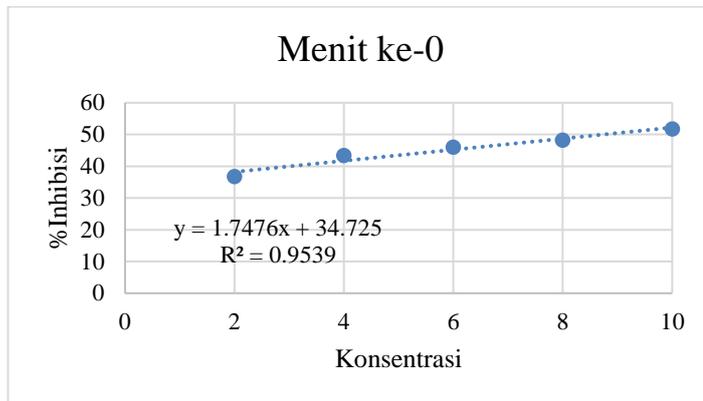
[Operation]  
Threshold: 0,0010000  
Points: 4  
InterPolate: Disabled  
Average: Disabled

[Sample Preparation Properties]  
Weight:  
Volume:  
Dilution:  
Path Length:  
Additional Information:

**Lampiran 10. Hasil Spektro Waktu Inkubasi Optimum, %Inhibisi, dan Perhitungan IC<sub>50</sub> Kuersetin**

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

Menit ke-	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC <sub>50</sub>	R <sup>2</sup>
0	2	0,391	36,73	8,74	0,9539
	4	0,35	43,36		
	6	0,334	45,95		
	8	0,32	48,22		
	10	0,298	51,78		
10	2	0,327	47,09	5,76	0,9587
	4	0,313	49,35		
	6	0,31	49,84		
	8	0,297	51,94		
	10	0,293	52,59		
20	2	0,335	45,79	5,88	0,99
	4	0,319	48,38		
	6	0,311	49,68		
	8	0,296	52,10		
	10	0,28	54,69		
30	2	0,329	46,76	5,27	0,9912
	4	0,316	48,87		
	6	0,307	50,32		
	8	0,293	52,59		
	10	0,277	55,18		
40	2	0,339	45,14	6,87	0,9925
	4	0,325	47,41		
	6	0,315	49,03		
	8	0,3	51,46		
	10	0,292	52,75		
50	2	0,333	46,12	7,40	0,9103
	4	0,329	46,76		
	6	0,319	48,38		
	8	0,312	49,51		
	10	0,289	53,24		
60	2	0,355	42,56	9,59	0,8423
	4	0,34	44,98		
	6	0,337	45,47		
	8	0,331	46,44		
	10	0,296	52,10		
Blanko		0,618			

**Perhitungan IC<sub>50</sub>**

$$y = 50$$

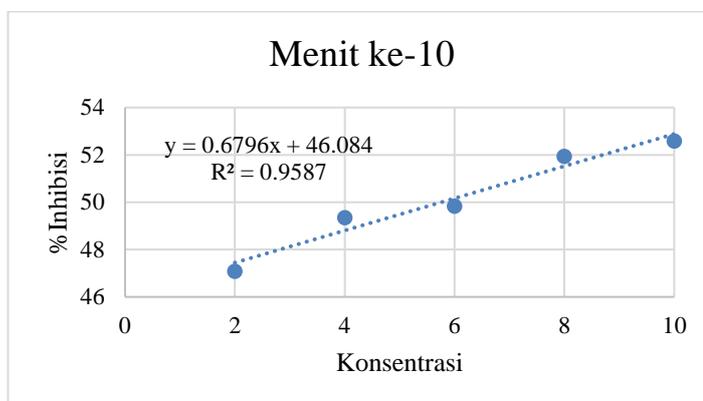
$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 34,725}{1,7476}$$

$$x = 8,74$$

$$IC_{50} = 8,74 \mu\text{g/mL}$$

**Perhitungan IC<sub>50</sub>**

$$y = 50$$

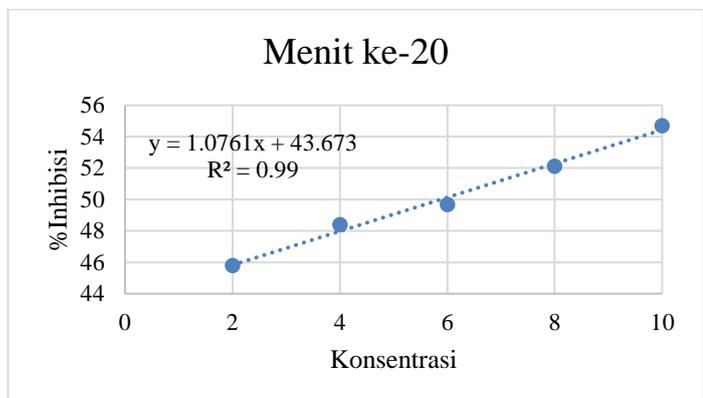
$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 46,048}{0,6796}$$

$$x = 5,76$$

$$IC_{50} = 5,76 \mu\text{g/mL}$$

**Perhitungan IC<sub>50</sub>**

$$y = 50$$

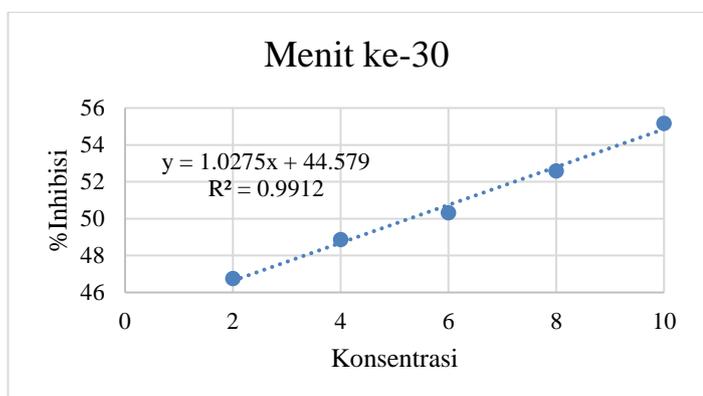
$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 43,673}{1,0761}$$

$$x = 5,88$$

$$IC_{50} = 5,88 \mu\text{g/mL}$$

**Perhitungan IC<sub>50</sub>**

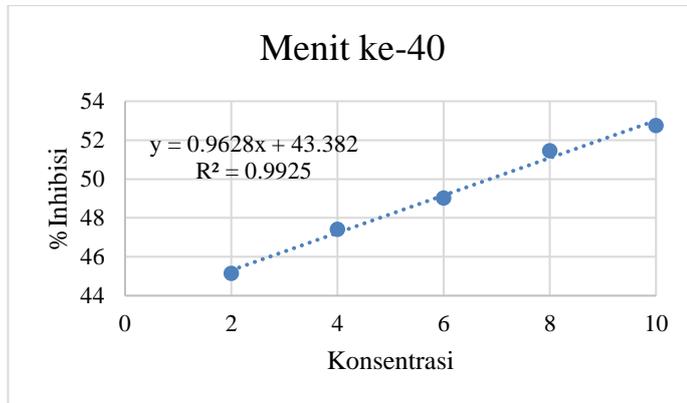
$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 44,579}{1,0275}$$

$$x = 5,27$$



$$IC_{50} = 5,27 \mu\text{g/mL}$$

**Perhitungan  $IC_{50}$**

$$y = 50$$

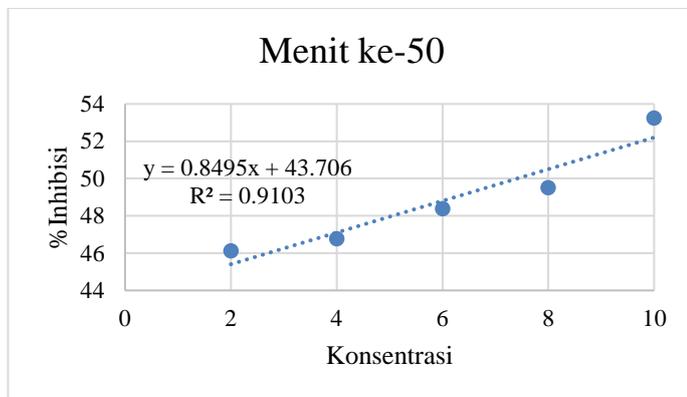
$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 43,382}{0,9628}$$

$$x = 6,87$$

$$IC_{50} = 6,87 \mu\text{g/mL}$$



**Perhitungan  $IC_{50}$**

$$y = 50$$

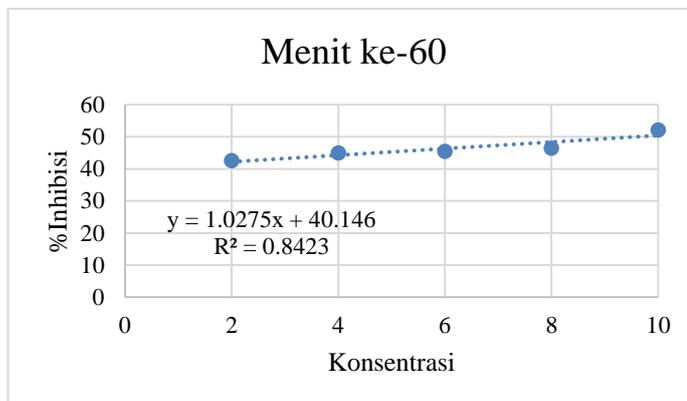
$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 43,706}{0,8495}$$

$$x = 7,40$$

$$IC_{50} = 7,40 \mu\text{g/mL}$$



**Perhitungan  $IC_{50}$**

$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 40,146}{1,0275}$$

$$x = 9,59$$

$$IC_{50} = 9,59 \mu\text{g/mL}$$

**Lampiran 11. Hasil Spektro Replikasi Kuersetin dan Ekstrak Etanol kulit Singkong Daging Putih, %Inhibisi, serta Perhitungan IC<sub>50</sub>**

**a. Hasil Spektro Kuersetin, %Inhibisi, serta Perhitungan IC<sub>50</sub>**

**Replikasi 1**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC <sub>50</sub>
2	0,326	47,25	
4	0,314	49,19	
6	0,307	50,32	5,12
8	0,296	52,10	
10	0,276	55,34	
Blanko	0,618		

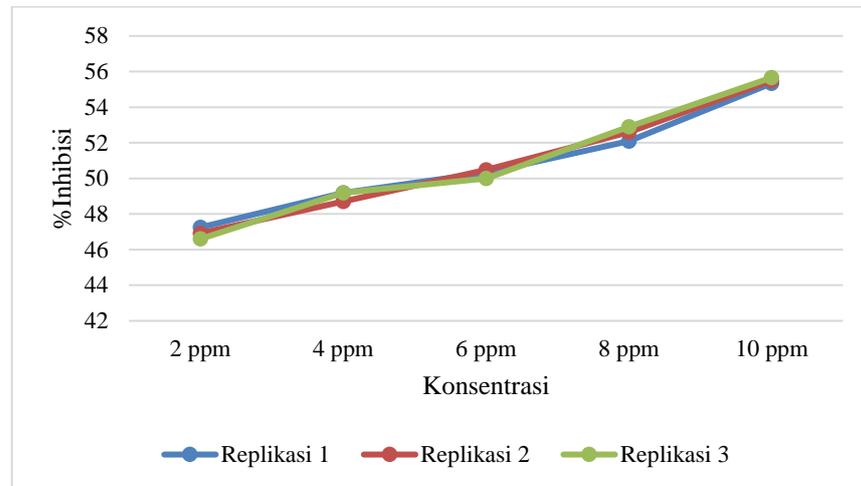
**Replikasi 2**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC <sub>50</sub>
2	0,328	46,92	
4	0,317	48,70	
6	0,306	50,48	5,19
8	0,293	52,59	
10	0,275	55,50	
Blanko	0,618		

**Replikasi 3**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC <sub>50</sub>
2	0,33	46,60	
4	0,314	49,19	
6	0,309	50	5,20
8	0,291	52,91	
10	0,274	55,66	
Blanko	0,618		

Replikasi	Persamaan Regresi	R <sup>2</sup>
1	$y = 0,9547x + 45,113$	0,9664
2	$y = 1,0518x + 44,531$	0,9878
3	$y = 1,0922x + 44,32$	0,975



Kurva peredaman kuersetin

### Perhitungan IC<sub>50</sub> Kuersetin

#### Replikasi 1

$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 45,113}{0,9547}$$

$$x = 5,12$$

$$IC_{50} = 5,12 \mu\text{g/mL}$$

#### Replikasi 2

$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 44,531}{1,0518}$$

$$x = 5,19$$

$$IC_{50} = 5,19 \mu\text{g/mL}$$

#### Replikasi 3

$$y = 50$$

$$y = bx + a$$

$$x = \frac{50 - a}{b}$$

$$x = \frac{50 - 44,32}{1,0922}$$

$$x = 5,20$$

$$IC_{50} = 5,20 \mu\text{g/mL}$$

**b. Hasil Spektro Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih,  
%Inhibisi, serta Perhitungan IC<sub>50</sub>**

**Replikasi 1**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC <sub>50</sub>
25	0,335	42.54	
50	0,305	47.68	
100	0,298	48.88	95,37
250	0,21	63.98	
500	0,082	85.93	
Blanko	0,583		

**Replikasi 2**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC <sub>50</sub>
25	0,333	42,88	
50	0,305	47,68	
100	0,297	49,06	95,84
250	0,209	64,15	
500	0,081	86,11	
Blanko	0,583		

**Replikasi 3**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi	IC <sub>50</sub>
25	0,333	42,88	
50	0,304	47,85	
100	0,298	48,88	95,51
250	0,208	64,32	
500	0,08	86,28	
Blanko	0,583		

Replikasi	Persamaan Regresi	R <sup>2</sup>
1	$y = 0,0895x + 41,245$	0,9947
2	$y = 0,0895x + 41,422$	0,9954
3	$y = 0,0898x + 41,423$	0,9945

## Perhitungan IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih

### Replikasi 1

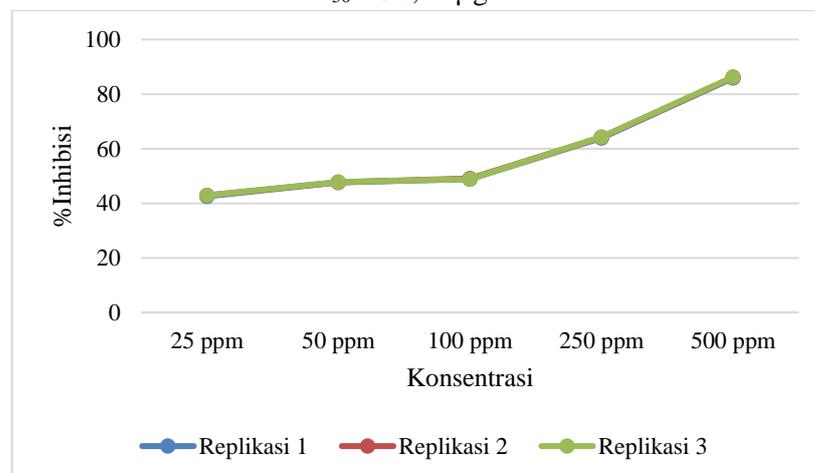
$$\begin{aligned}
 y &= 50 \\
 y &= bx + a \\
 x &= \frac{50 - a}{b} \\
 x &= \frac{50 - 41,245}{0,0895} \\
 x &= 95,84 \\
 \text{IC}_{50} &= 95,37 \text{ } \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

### Replikasi 2

$$\begin{aligned}
 y &= 50 \\
 y &= bx + a \\
 x &= \frac{50 - a}{b} \\
 x &= \frac{50 - 41,422}{0,0895} \\
 x &= 95,84 \\
 \text{IC}_{50} &= 95,84 \text{ } \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$

### Replikasi 3

$$\begin{aligned}
 y &= 50 \\
 y &= bx + a \\
 x &= \frac{50 - a}{b} \\
 x &= \frac{50 - 41,423}{0,0898} \\
 x &= 95,51 \\
 \text{IC}_{50} &= 95,51 \text{ } \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$



Kurva peredaman ekstrak etanol kulit singkong daging putih

## Lampiran 12. Hasil Analisis Data Menggunakan SPSS

### *Independent T-Test*

#### Group Statistics

Sampel		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Hasil Nilai IC50	Kuersetin	3	5.1700	.04359	.02517
	Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Putih	3	95.5733	.24132	.13932

#### Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t	df	Sig. (2-tailed)
		F	Sig.			
Hasil Nilai IC50	Equal variances assumed	5.660	.076	-638.539	4	.000
	Equal variances not assumed			-638.539	2.130	.000

#### t-test for Equality of Means

Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		Lower	Upper
-90.40333	.14158	-90.79642	-90.01025
-90.40333	.14158	-90.97813	-89.82854

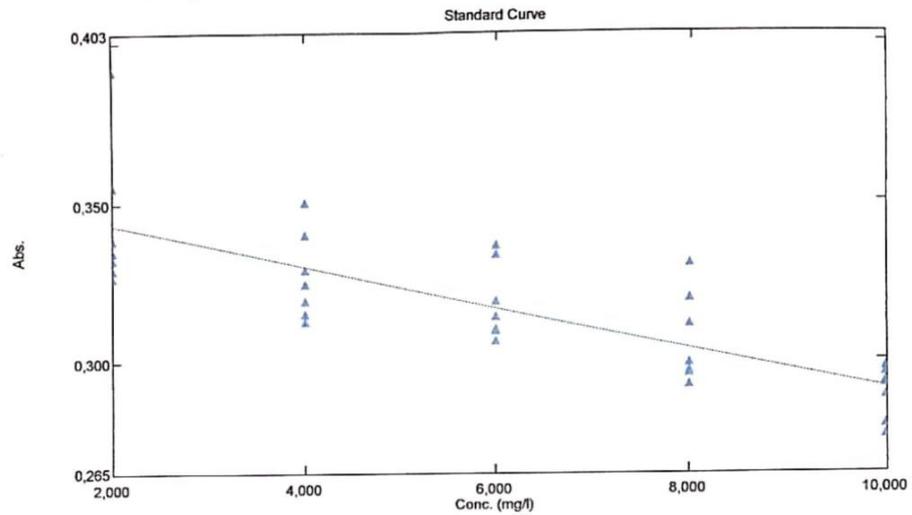
Activate Windows

### Lampiran 13. Hasil Spektrofotometri UV-Vis

#### Standard Table Report

26/06/2023 09:31:08

File Name: C:\Users\ACER\Documents\Malinda 19\optimasi kuer baruu banget\optimasi kuer mnt0-60.pho



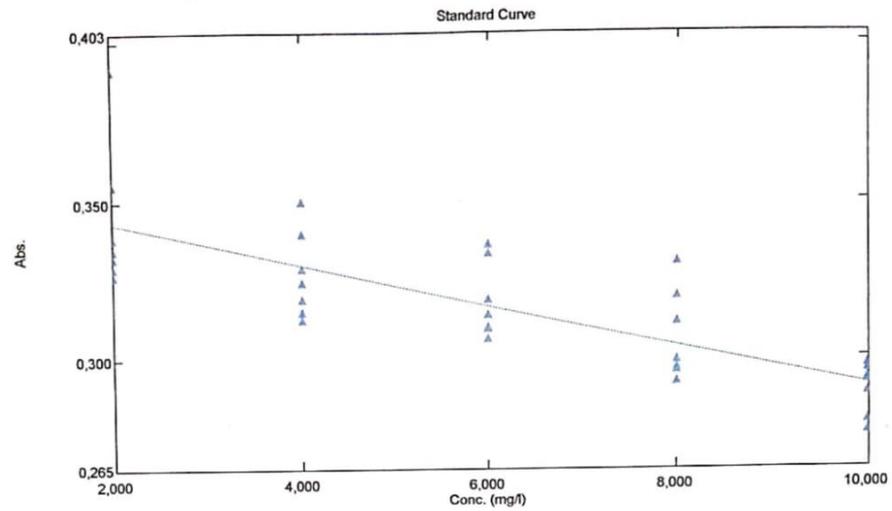
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Wgt.Factor	Comments
1	kuer1mnt0	Standard		2.000	0.391	1.000	
2	kuer2mnt0	Standard		4.000	0.350	1.000	
3	kuer3mnt0	Standard		6.000	0.334	1.000	
4	kuer4mnt0	Standard		8.000	0.320	1.000	
5	kuer5mnt0	Standard		10.000	0.298	1.000	
6	kuer1mnt10	Standard		2.000	0.327	1.000	
7	kuer2mnt10	Standard		4.000	0.313	1.000	
8	kuer3mnt10	Standard		6.000	0.310	1.000	
9	kuer4mnt10	Standard		8.000	0.297	1.000	
10	kuer5mnt10	Standard		10.000	0.293	1.000	
11	kuer1mnt20	Standard		2.000	0.335	1.000	
12	kuer2mnt20	Standard		4.000	0.319	1.000	
13	kuer3mnt20	Standard		6.000	0.311	1.000	
14	kuer4mnt20	Standard		8.000	0.296	1.000	
15	kuer5mnt20	Standard		10.000	0.280	1.000	
16	keur1mnt30	Standard		2.000	0.329	1.000	
17	kuer2mnt30	Standard		4.000	0.316	1.000	
18	kuer3mnt30	Standard		6.000	0.307	1.000	

## standard Table Report

26/06/2023 09:31:08

File Name: C:\Users\ACER\Documents\Malinda 19\loptimasi kuer baruu banget\optimasi kuer mnt0-60.pho



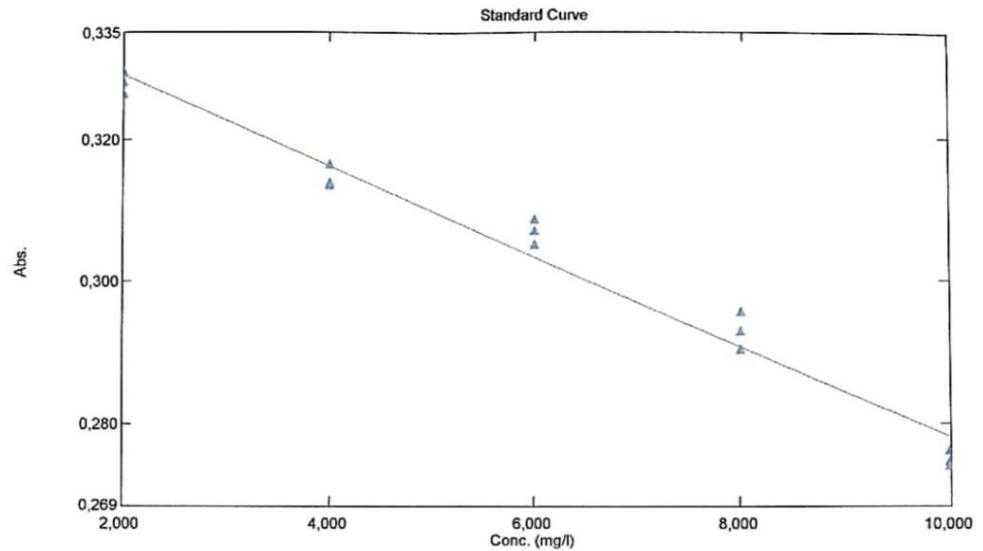
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL.517,0	Wgt.Factor	Comments
19	kuer4mnt30	Standard		8.000	0.293	1.000	
20	kuer5mnt30	Standard		10.000	0.277	1.000	
21	kuer1mnt40	Standard		2.000	0.339	1.000	
22	kuer2mnt40	Standard		4.000	0.325	1.000	
23	kuer3mnt40	Standard		6.000	0.315	1.000	
24	kuer4mnt40	Standard		8.000	0.300	1.000	
25	kuer5mnt40	Standard		10.000	0.292	1.000	
26	kuer1mnt50	Standard		2.000	0.333	1.000	
27	kuer2mnt50	Standard		4.000	0.329	1.000	
28	kuer3mnt50	Standard		6.000	0.319	1.000	
29	kuer4mnt50	Standard		8.000	0.312	1.000	
30	kuer5mnt50	Standard		10.000	0.289	1.000	
31	kuer1mnt60	Standard		2.000	0.355	1.000	
32	kuer2mnt60	Standard		4.000	0.340	1.000	
33	kuer3mnt60	Standard		6.000	0.337	1.000	
34	kuer4mnt60	Standard		8.000	0.331	1.000	
35	kuer5mnt60	Standard		10.000	0.296	1.000	

## standard Table Report

26/06/2023 12:17:25

File Name: C:\Users\ACER\Documents\jihan 19b\optimasi kuer baru banget\replikasi kuer baru.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL517,0	Wgt.Factor	Comments
1	kuer1rep1	Standard		2.000	0.326	1.000	
2	kuer1rep2	Standard		2.000	0.328	1.000	
3	kuer1rep3	Standard		2.000	0.330	1.000	
4	kuer2rep1	Standard		4.000	0.314	1.000	
5	kuer2rep2	Standard		4.000	0.317	1.000	
6	kuer2rep3	Standard		4.000	0.314	1.000	
7	kuer3rep1	Standard		6.000	0.307	1.000	
8	kuer3rep2	Standard		6.000	0.306	1.000	
9	kuer3rep3	Standard		6.000	0.309	1.000	
10	kuer4rep1	Standard		8.000	0.296	1.000	
11	kuer4rep2	Standard		8.000	0.293	1.000	
12	kuer4rep3	Standard		8.000	0.291	1.000	
13	kuer5rep1	Standard		10.000	0.276	1.000	
14	kuer5rep2	Standard		10.000	0.275	1.000	
15	kuer5rep3	Standard		10.000	0.274	1.000	
16							

