

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT  
SINGKONG (*Manihot esculenta*) DAGING KUNING DENGAN  
METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

**SKRIPSI**



Oleh:  
**Fatika Elprina Nur Magfiroh**  
**NIM 19040045**

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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT  
SINGKONG (*Manihot esculenta*) DAGING KUNING DENGAN  
METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

**SKRIPSI**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:  
**Fatika Elprina Nur Magfiroh**  
**NIM 19040045**

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

## **LEMBAR PERSETUJUAN**

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti Seminar Hasil pada Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas dr.Soebandi Jember

Jember, 8 Agustus 2023

Pembimbing Utama



Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si

NIDN.0705019003

Pembimbing Anggota



apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes

NIDN. 0729098401

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Nama : Fatika Elprina Nur Magfiroh

NIM : 19040045

Hari, Tanggal : Selasa, 8 Agustus 2023

Program Studi : Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji

Lulut Sasmito, S.Kep., Ns., M.Kes  
NIDN. 4021046801

Penguji II

Mohammad Rofik Usman, S.Si., M.Si  
NIDN.0705019003

Penguji III

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

Mengesahkan

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fatika Elprina Nur Magfiroh

NIM : 19040045

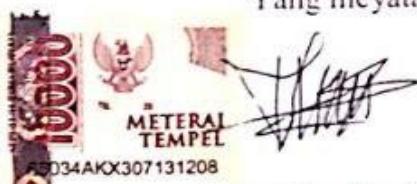
Program Studi : Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

Menyatakan bahwa Skripsi saya yang berjudul "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT SINGKONG (*Manihot esculenta*) DAGING KUNING DENGAN METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy)" adalah karya saya sendiri dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan suatu perguruan tinggi manapun. Selain itu, sumber informasi yang dikutip penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari ditemukan adanya kecurangan dalam penyusunan Skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jember, 8 Agustus 2023

Yang menyatakan,



(Fatika Elprina Nur Magfiroh)

## **PERSEMBAHAN**

Alhamdulillah, dengan rasa syukur yang mendalam sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan Skripsi. Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini.
2. Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun dari jalan kegelapan menuju jalan yang terang benderang.
3. Kedua orang tua (Ibu Aminatul dan Bapak Supriyono) terimakasih karena membiarkan saya mengejar impian saya apapun itu dan selalu mengisi dunia saya dengan begitu banyak kebahagiaan sehingga seumur hidup tidak cukup untuk menikmati semuanya. Serta seluruh keluarga yang memberi dukungan baik secara moril dan materil.
4. Seluruh Dosen Fakultas Kesehatan Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang senantiasa memberikan ilmu serta bimbingan kepada saya untuk bekal dimasa depan..
5. Seluruh laboran Fakultas Kesehatan Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi yang telah membantu dalam seluruh kegiatan di laboratorium.
6. Teman-teman Geng Qosidah yang selalu ada dalam keadaan suka maupun duka, memberikan semangat dan membantu dalam penelitian.
7. Teman-teman angkatan 2019 Universitas dr. Soebandi yang terlibat secara langsung atau tidak langsung.

8. Seseorang yang seharusnya kutulis namanya dilembar ini. Mari sama-sama memperbaiki diri, semoga nanti dipertemukan diwaktu terbaik menurut takdir-Nya.
9. Serta semua pihak yang telah membantu dan memberi dukungan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.
10. Terakhir, untuk diri saya sendiri. Terimakasih telah menyelesaikan apa yang dimulai, berusaha, dan yakin bahwa kamu mampu. Terimakasih untuk bertahan sejauh ini, maaf sudah memaksa untuk terus berjalan meski lelah.

## **MOTTO**

“Sesungguhnya setelah kesulitan ada kemudahan, maka apabila engkau telah selesai dari suatu urusan, tetaplah bekerja keras untuk urusan yang lain. Dan hanya kepada Tuhan-mu lah hendaknya kamu berharap”

**Q.S Al-Insyirah, 6-8**

"Selalu ada harga dalam sebuah proses. Nikmati saja lelah-lelah itu. Lebarkan lagi rasa sabar itu. Semua yang kau investasikan untuk menjadikan dirimu serupa yang kau impikan, mungkin tidak akan selalu berjalan lancar. Tapi gelombang-gelombang itu yang nanti bisa kau ceritakan"

**Boy Chandra**

"Kesuksesan dan kebahagian terletak pada diri sendiri. Tetaplah berbahagia karena kebahagiaanmu dan kamu yang akan membentuk karakter kuat untuk melawan kesulitan"

**Helen Keller**

“Sebab diujung jalan, kamu hanya akan temui dirimu sendiri yang tidak akan meninggalkan apapun itu yang terjadi”

**Edelényi Laura Anna**

## ABSTRAK

Magfiroh, Fatika Elprina Nur\* Usman, Mohammad Rofik\*\* Susanti, Dhina Ayu\*\*\*.2023. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Radikal bebas adalah suatu senyawa yang dapat mencegah reaksi radikal bebas di dalam tubuh. Kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning.

Penelitian ini termasuk laboratorium eksperimental. Simplisia diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*). Ekstrak kental diuji skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dengan pembanding kuersetin yang diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm dengan waktu inkubasi selama 30 menit kemudian dianalisis hasil pengujian untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub>.

Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong daging kuning mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Hasil analisis uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning memiliki nilai IC<sub>50</sub> 63,55 µg/mL yang termasuk kategori antioksidan kuat dan kuersetin sebagai pembanding memiliki nilai IC<sub>50</sub> 21,75 µg/mL yang termasuk kategori antioksidan sangat kuat.

Hasil uji statistik Independent T-tes dengan nilai Sig 0,000 menunjukkan adanya perbedaan signifikan aktivitas antioksidan antara esktrak etanol kulit singkong daging kuning dan kuersetin.

**Kata Kunci:** *Antioksidan, DPPH, IC<sub>50</sub>.Kulit singkong, Manihot esculenta.*

\*Peneliti

\*\*Pembimbing 1

\*\*\*Pembimbing 2

## **ABSTRACT**

Magfiroh, Fatika Elprina Nur\* Usman, Mohammad Rofik\*\* Susanti, Dhina Ayu\*\*\*.2023. **Antioxidant Activity Test of Yellow Flesh Cassava (*Manihot esculenta*) Ethanol Extract With DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)** **Method.** Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi Jember.

Free radicals are compounds that can prevent free radical reactions in the body. Cassava peel (*Manihot esculenta*) yellow flesh is a plant that contains secondary metabolites that can act as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of the ethanol extract of yellow flesh cassava peel (*Manihot esculenta*).

This study includes an experimental laboratory. The simplicia was extracted using the UAE (Ultrasonic Assisted Extraction) method. The condensed extract was tested for phytochemical screening and antioxidant activity tests. Antioxidant activity was determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method with quercetin as reference which was measured using a UV-Vis Spectrophotometer at a wavelength of 516 nm with an incubation time of 30 minutes and then the test results were analyzed to obtain the IC<sub>50</sub> value.

Phytochemical screening showed that the ethanol extract of yellow flesh cassava peel contains alkaloids, flavonoids, tannins and saponins. The results of the analysis of the antioxidant activity test of the ethanol extract of yellow flesh cassava peel had an IC<sub>50</sub> value of 63.55 µg/mL which was included in the strong antioxidant category and quercetin as a comparison had an IC<sub>50</sub> value of 21.75 µg/mL which was included in the very strong antioxidant category.

The results of the Independent T-test statistic with a Sig value of 0.000 showed that there was a significant difference in antioxidant activity between the ethanol extract of yellow flesh cassava peel and quercetin.

**Keywords:** Antioxidant, DPPH, IC<sub>50</sub>. Cassava peel, *Manihot esculenta*.

\*Author

\*\*Advisor 1

\*\*\*Advisor 2

## **KATA PENGANTAR**

Alhamdulillah, segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penyusunan Skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan judul “ Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning Dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)”.

Selama proses penyusunan penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Andi Eka Pranata, S.ST., S.Kep., Ners., M.Kes selaku Rektor Universitas dr. Soebandi Jember
2. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember.
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm.,M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember serta Dosen Pembimbing Anggota.
4. Bapak Muhammad Rofik Usman, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing utama.
5. Bapak Lulut Sasmito, S.Kep., Ners., M.Kes selaku dosen ketua pengaji

Penulis tentu menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih.

Jember, 8 Agustus 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI .....	iii
SKRIPSI.....	v
PERSEMBAHAN .....	vi
MOTTO .....	viii
ABSTRAK .....	ix
<i>ABSTRACT</i> .....	x
KATA PENGANTAR .....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR SINGKATAN .....	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1    Latar Belakang .....	1
1.2    Rumusan Masalah .....	5
1.3    Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1    Tujuan Umum .....	5
1.3.2    Tujuan Khusus .....	5
1.4    Manfaat Penelitian.....	6
1.5    Keaslian Penelitian .....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1    Tanaman Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) .....	8
2.2    Klasifikasi Tanaman Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) .....	9
2.2.1    Kandungan Kimia Kulit Singkong ( <i>Manihot esculent</i> ) .....	10
2.2.2    Manfaat Kulit Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ).....	10
2.3    Simplisia.....	11
2.3.1    Jenis Simplisia.....	11
2.3.2    Pembuatan Simplisia.....	12
2.4    Ekstrak dan Ekstraksi .....	14

2.4.1	Ekstrak.....	14
2.4.2	Ekstraksi.....	14
2.5	Radikal Bebas .....	19
2.5.1	Definisi Radikal Bebas.....	19
2.5.2	Sumber Radikal Bebas .....	19
2.5.3	Mekanisme Radikal Bebas .....	21
2.5.4	Penyakit Yang Ditimbulkan Radikal Bebas.....	23
2.6	Antioksidan .....	23
2.6.1	Definisi Antioksidan .....	23
2.6.2	Manfaat Antioksidan.....	24
2.7	Golongan Antioksidan.....	25
2.8	Sumber Antioksidan .....	26
2.9	Uji Aktivitas Antioksidan.....	27
2.10	Kuersetin .....	28
2.11	Spektrofotometer UV-Vis ( <i>Ultraviolet Visible</i> ) .....	29
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....		35
3.1	Kerangka Konseptual .....	35
3.2	Hipotesis .....	36
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		37
4.1	Desain Penelitian .....	37
4.2	Populasi dan Sampel .....	37
4.2.1	Populasi.....	37
4.2.2	Sampel .....	37
4.3	Variabel Penelitian .....	38
4.3.1	Variabel Bebas .....	38
4.3.2	Variabel Terikat .....	38
4.3.3	Variabel Terkendali.....	38
4.4	Tempat Penelitian.....	38
4.5	Waktu Penelitian .....	38
4.6	Definisi Operasional.....	39
4.7	Teknik Pengumpulan Data .....	40
4.7.1	Alat dan Bahan .....	40

4.7.2	Teknik dan Instrumen Pengolahan Data .....	40
4.7.3	Teknik Pengolahan Data .....	46
4.7.4	Teknik Analisis Data.....	47
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN</b>	.....	<b>48</b>
5.1	Hasil Determinasi Tanaman .....	48
5.2	Pengambilan dan Pengolahan Sampel.....	48
5.3	Ekstraksi .....	48
5.4	Skrining Fitokimia.....	49
5.5	Optimasi Panjang Gelombang Maksimum.....	50
5.6	Optimasi Waktu Ikubasi .....	50
5.7	Nilai Absorbansi, Persentase Hambatan dan Nilai IC <sub>50</sub> .....	51
5.8	Hasil Perhitungan IC <sub>50</sub> Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Kuning Dengan Metode Ekstraksi Sonikasi (UAE).....	52
5.9	Analisis Data Aktivitas Antioksidan .....	53
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>	.....	<b>55</b>
6.1	Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) Daging Kuning .....	55
6.1.1	Ekstraksi Sampel Kulit Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) Daging Kuning .....	55
6.1.2	Skrining Fitokimia .....	57
6.2	Aktivitas Antioksidan Kulit Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) Daging Kuning .....	59
6.3	Analisa Data .....	61
<b>BAB 7 PENUTUP</b>	.....	<b>63</b>
7.1	Kesimpulan.....	63
7.2	Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	.....	<b>64</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 2.1 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH.....	28
Tabel 3.1 Definisi operasional .....	39
Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi Kulit Singkong Daging Kuning .....	49
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia.....	49
Tabel 5.3 Hasil Persentase Inhibisi Larutan Kuersetin .....	51
Tabel 5. 4 Hasil Persentase Inhibisi Larutan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Kuning .....	52
Tabel 5. 5 Hasil Pengukuran IC50 Kuersetin dan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Kuning dengan Metode DPPH.....	52

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1. 1 Tanaman Singkong.....	8
Gambar 2. 1 Struktur Reaksi DPPH dengan Antioksidan.....	28
Gambar 2. 2 Cara Kerja Spektrofotometer UV-Vis.....	32
Gambar 3. 1 Kerangka Konsep .....	35
Gambar 5. 1 Panjang Gelombang Maksimum .....	50

## **DAFTAR SINGKATAN**

BHA	: <i>Butyl Hydroxy Anisol</i>
BHT	: <i>Butyl Hydroxyl Toluene</i>
IC <sub>50</sub>	: <i>Inhibition Concentration 50</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
ABTS	: <i>2,2-Azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
UV-VIS	: <i>Ultra Violet Vissible</i>
UAE	: <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>
HCl	: Hydrogen Chloride
PPM	:Part Per Million

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Perubahan gaya hidup masa kini seringkali berdampak buruk bagi kesehatan masyarakat termasuk diantaranya dikarenakan masyarakat lebih cenderung memilih mengkonsumsi makanan cepat saji (*junk food*) tanpa memikirkan efek yang akan ditimbulkan di kemudian hari, stres yang berlebih, polusi udara, dan merokok akan mengakibatkan terjadnya penumpukan radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas yang kehilangan elektron akan mencari pasangan elektron, kondisi ini akan menjadikan radikal bebas bersifat tidak stabil. Ketika radikal bebas kehilangan elektronnya maka akan menyebabkan fungsi sel menjadi tidak optimal dan dalam jangka panjang akan menimbulkan penyakit degeneratif yang disebabkan oleh radikal bebas. Penyakit degeneratif merupakan penyakit yang susah untuk dapat disembuhkan, ditandai dengan degenerasi (gangguan fungsi) sel dan organ yang dipengaruhi gaya hidup (Anisa *et al.*, 2021).

Radikal bebas memainkan peran penting dalam proses kerusakan jaringan. Jika jumlah radikal bebas yang masuk kedalam tubuh tidak dapat diimbangi oleh antioksidan di dalam tubuh maka akan memicu penyakit degeneratif hal ini dikarenakan tubuh tidak dapat meningkatkan jumlah produksi antioksidan, sehingga jika tubuh terpapar radikal bebas berlebih maka akan memerlukan antioksidan yang berasal dari luar tubuh (eksogen). Antioksidan eksogen yang umum digunakan oleh masyarakat

adalah *Butyl Hydroxy Anisol* (BHA) dan *Butyl Hydroxyl Toluene* (BHT), namun bila digunakan obat ini menimbulkan efek samping seperti kerusakan paru-paru dan hati serta berpotensi kanker (Fitriana *et al.*, 2015). Adanya efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan dari bahan alam menjadi pilihan yang terbaik (Anggorowati *et al.*, 2016).

Indonesia memiliki berbagai jenis sumber daya alam, salah satunya yaitu sumber daya tanaman termasuk tanaman obat. Terdapat sekitar 40.000 spesies tanaman yang memiliki kandungan bahan kimia dengan kemampuan antioksidan, sehingga potensi untuk pengembangan dan penelitian antioksidan dari bahan alam pada spesies tanaman yang berbeda sangat besar (Bulla, 2020). Salah satu tanaman yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat adalah singkong (Gardjito *et al.*, 2013). Singkong merupakan makanan pokok masyarakat Indonesia ketiga setelah beras dan jagung. Menurut data dari pusat statistik, pada tahun 2019 produksi singkong Indonesia mencapai 16,35 juta ton dan kinerja hasil dalam 5 tahun terakhir cenderung terus meningkat yaitu sebesar 2,85%. Setiap ton singkong menghasilkan 80-150 kg kulit singkong (Richana, 2012). Semakin banyak singkong yang produksi maka semakin banyak pula kulit singkong yang dihasilkan. Kulit singkong dianggap limbah yang belum ternilai harganya, karena selama ini hanya dibuang atau sebatas sebagai pakan ternak. Kulit singkong adalah limbah yang diperoleh dari pengolahan singkong pada industri pertanian, seperti industri makanan pokok, industri tepung tapioka dan industri fermentasi.

Komponen kimia dan nutrisi dalam kulit singkong adalah serat kasar 15,2 g; protein 8,11 g; pektin 0,22 g; kalsium 0,63 dan lemak 1,29 g; (Pratiwi, 2013). Menurut penelitian Gagola (2014) ekstrak korteks umbi kayu daging kuning terdapat kandungan fenolik, tanin, dan flavonoid. Dari segi kandungan senyawanya, sayang jika kulit singkong tidak dimanfaatkan. Sejauh ini dapat dikatakan pemanfaatan kulit singkong oleh masyarakat masih sangat sedikit, oleh karena itu perlu adanya penelitian untuk pemanfaatan kulit singkong sebagai antioksidan.

Metode ekstraksi yang umum digunakan yaitu ekstraksi konvensional, sedangkan metode ekstraksi yang lebih efisien waktu yang belum banyak dikembangkan misalnya *Ultrasound-assisted Extraction* (UAE) . Penelitian oleh Hikmawanti *et al* (2021) menggunakan sampel *S. androginus* yang ekstraksi ultrasoniknya menghasilkan hasil rendemen tertinggi diantara ketiga metode ekstraksi maserasi, sokletasi dan ultrasonik yang dilakukan yaitu 36,29% . Oleh karena itu, diperlukan lebih banyak penelitian menggunakan metode ultrasonikasi (Agustin,2022). Ekstraksi dengan cara dingin memiliki keuntungan dapat mengekstraksi senyawa tanpa merusak komponen kimia yang tidak tahan panasatau bersifat termolabil. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% dengan alasan pelarut dapat mempengaruhi total fenolik yang dihasilkan. Menurut penelitian Hardiana (2012) menunjukkan bahwa banyak senyawa yang termasuk golongan fenol terdapat dalam fraksi etanol, serta penggunaan pelarut etanol 96% bersifat lebih mudah menarik senyawa

polar, mudah diuapkan dan mendapatkan ekstrak kental lebih cepat daripada pelarut etanol 70% (Misna, 2016).

Uji aktivitas antioksidan pada umumnya menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dikarenakan metode tersebut memiliki keunggulan antara lain sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen (*Chanda et al.*, 2019), daripada pengujian dengan metode *2,2-Azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic Acid* (ABTS) yaitu radikal yang terbentuk tidak terlalu stabil dan hasilnya tidak dapat direproduksi serta pada pengujian dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) menggunakan waktu yang lebih lama, reagen yang digunakan bersifat kurang stabil sehingga harus dibuat baru dan segera digunakan (Rizkio *et al.*, 2021). Dengan Berdasarkan hal tersebut di atas, dapat dilakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong berdaging kuning (*Manihot esculenta*) dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1) Apakah kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning?.
- 2) Bagaimana aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)?.

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengidentifikasi metabolit sekunder dalam ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning
- 2) Menganalisa aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Ada beberapa manfaat yang diharapkan dapat dicapai melalui penelitian ini. Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1) Manfaat Bagi Peneliti

Dapat mengetahui aktivitas antioksidan dan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dengan metode DPPH

2) Manfaat Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi dan informasi bagi penelitian selanjutnya tentang aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dengan metode DPPH

3) Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi tentang kemajuan kesehatan dan informasi alam tentang potensi aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dengan metode DPPH

## 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

<b>Peneliti</b>	<b>Judul</b>	<b>Persamaan</b>	<b>Perbedaan</b>
Gagola <i>et al.</i> , 2014	Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Ubi Kayu ( <i>Manihot Esculenta</i> ) Daging Putih Dan Daging Kuning Yang Diambil Dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talaud	a) Menggunakan metode DPPH b) Menggunakan sampel kulit singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) daging kuning c) Menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis	a) Menggunakan pelarut etanol 60% b) Menggunakan metode ekstraksi refluks
Sakalaty <i>et al.</i> , 2021	Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Kandungan Serat Pangan Dan Aktivitas Antioksidan Dari Kulit Singkong ( <i>Manihot Esculenta</i> )	a) Menggunakan metode DPPH b) Menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis	a) Menggunakan pelarut etanol 80% b) Menggunakan metode ekstraksi refluk

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Singkong (*Manihot esculenta*)

Singkong (*Manihot esculenta*) adalah tanaman yang mudah tumbuh subur dan dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Selain itu kandungan karbohidrat pada umbi singkong sangat tinggi sehingga bisa digunakan sebagai penghasil karbohidrat pengganti nasi.



Gambar 1. 1 Tanaman Singkong (*Manihot esculenta*)

(Sumber: Laksita *et al.*, 2019)

Daun singkong memiliki warna hijau, dengan tulang daun majemuk berbentuk menjari, ruas antara daun dengan tangkai 3-5 cm. Daun muda atau pucuk berwarna hijau muda atau terdapat warna ungu sedangkan daun dewasa berwarna hijau tua dan memiliki lebar daun kurang dari 5 cm dengan 5-7 jari per daun dengan ujung runcing. Batang singkong berbentuk bulat dengan diameter 2,5 cm sampai 4 cm, berkayu dan panjang. Tingginya bisa mencapai 1 meter hingga 4 meter. Warna batang singkong bervariasi tergantung pada kulit luar, tetapi batang muda biasanya berwarna hijau, berubah menjadi putih, abu-abu, hijau ke abu-abuan, hingga coklat ke abu-

abuan saat dewasa. Batangnya berwarna putih, lunak, dan memiliki struktur seperti gabus yang lunak. Akar singkong berbeda dengan akar tumbuhan lain. Umbi secara anatomis identik dengan akar, tidak memiliki tunas sehingga tidak dapat digunakan sebagai media perbanyakan secara vegetatif. Umbi atau bagian daging singkong merupakan bagian besar yang ditengahnya terdapat sumbu yang menyalurkan makanan hasil fotosintesis dari daun ke akar atau umbi. Kulit singkong terdiri dari tiga lapisan, yaitu kulit luar yang memiliki warna coklat, kulit dalam memiliki warna putih atau kekuningan, dan daging buah berwarna putih atau putih kekuningan tergantung dari jenis umbinya. Di antara kulit dalam dan kulit luar terdapat jaringan kambium yang membuat umbi tumbuh (Jurni, 2020).

## 2.2 Klasifikasi Tanaman Singkong (*Manihot esculenta*)

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan tanaman yang digunakan sebagai pokok masyarakat Indonesia ketiga setelah beras dan jagung bagi masyarakat Indonesia. Singkong memiliki banyak nama daerah antara lain ubi kayu, ketela pohon, pohung. Secara umum klasifikasi singkong sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Euphoriales
Famili	: Euphorbiaceae

Genus : *Manihot*  
 Spesies : *Manihot esculenta crantz*

Singkong (*Manihot esculenta*) adalah salah satu tanaman yang dibudidayakan dan tersebar luas di Indonesia (Gardjito *et al.*, 2013).

### **2.2.1 Kandungan Kimia Kulit Singkong (*Manihot esculent*)**

Pada penelitian Gagola (2014) menjelaskan bahwa senyawa kimia yang terkandung dalam kulit singkong antara lain yaitu, tanin, saponin, fenolik, flavonoid dan asam fenolat. Pada bagian akar, cabang dan daun singkong terdapat zat yang sangat beracun baik dalam senyawa kimia yaitu metilinamarin atau lotaustralin, sianogen pseulonathin, glikosida, linamarin. Tanaman ini juga mempunyai kandungan nutrisi yang cukup lengkap. Komposisi kimia dan gizi singkong terdiri dari protein, karbohidrat, serat, vitamin (B1, C), lipid, mineral (Fe, F, Ca) serta air. (Imam, 2018).

### **2.2.2 Manfaat Kulit Singkong (*Manihot esculenta*)**

Pada penelitian Maulinda (2017) Kulit singkong digunakan sebagai bahan baku produksi karbon aktif yang digunakan untuk penjernihan gas, penjernihan air, dan penjernihan cairan limbah. Kulit singkong juga digunakan sebagai penyembuh luka dari kandungan senyawa yang dimiliki yaitu flavonoid yang bekerja dengan cara meningkatkan proliferasi sel epitel dan kolagen serta tanin berfungsi sebagai anti nyeri (Risnadewi *et al.*, 2019).

## 2.3 Simplisia

Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, simplisia merupakan bahan dari alam yang digunakan sebagai obat yang tidak mengalami perubahan proses, kecuali ditentukan lain biasanya dalam bentuk bahan telah kering.

### 2.3.1 Jenis Simplisia

#### a) Simplisia Nabati

Simplisia tersedia dalam bentuk tumbuhan utuh, bagian dari tumbuhan atau sekresi tumbuhan. Sekresi tumbuhan yaitu komponen seluler yang secara spontan dikeluarkan dari tumbuhan dengan cara tertentu dari sel, atau zat tumbuhan lain yang dipisahkan dari tumbuhan dengan cara tertentu (Erlinda, 2017).

#### b) Simplisia Hewani

Simplisia tersedia dalam bentuk hewan utuh, bagian tubuh hewan atau zat bermanfaat yang dihasilkan hewan contohnya adalah madu (*Mel depuratum*) serta minyak ikan (*Oleum iecoris aselli*) (Erlinda, 2017).

#### c) Simplisia Mineral

Simplisia tersedia dalam bentuk pelikan atau mineral, baik yang belum diolah maupun yang diolah secara sederhana dan tidak murni secara kimia (Erlinda, 2017).

### 2.3.2 Pembuatan Simplisia

#### a) Sortasi Basah

Proses Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan pengotor atau benda asing lainnya dari simplisia yang akan digunakan. Misalnya, simplisia yang berasal dari akar tanaman terdapat pengotor seperti rumput, daun, akar yang rusak, kerikil, batang, dan kotoran lainnya harus di bersihkan. Tanah memiliki berbagai jenis bakteri sehingga membersihkan simplisia dari tanah atau pengotor lain dapat mengurangi jumlah bakteri yang menempel (Erlinda, 2017).

#### b) Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran dari bahan simplisia, pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir.

#### c) Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu dilakukan pemotongan atau penggilingan bahan baku simplisia untuk mencapai proses pengeringan. Semakin halus bahan yang akan dikeringkan makan akan semakin cepat air menguap, sehingga waktu pengeringan semakin cepat pula (Erlinda, 2017).

#### d) Pengeringan

Tujuan dari proses pengeringan adalah untuk mendapatkan Simplisia yang tidak cepat rusak, sehingga lebih tahan lama dalam penyimpanan. Pengeringan dapat membantu mengurangi

kadar air untuk mencegah pembusukan atau kerusakan pada simplisia, karena sisa-sisa air pada simplisia dapat menjadi tempat tumbuhnya jamur dan mikroorganisme lainnya. Selama proses pengeringan, suhu pengeringan, waktu pengeringan dan permukaan bahan harus diperhatikan. Pengeringan dianjurkan pada suhu tidak melebihi 60°C supaya senyawa yang terkandung tidak hilang. Ada dua cara pengeringan, yaitu pengeringan alami dilakukan dengan cara di jemur langsung di bawah sinar matahari atau di angin-anginkan pada ruang terbuka dan pengeringan buatan dengan alat atau instrumen misalnya oven (Erlinda, 2017).

**e) Sortasi Kering**

Penyortiran setelah pengeringan merupakan langkah terakhir dalam pembuatan Simplisia. Tujuannya adalah untuk memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan atau kotoran lain yang masih tertinggal di dalam simplisia yang telah dikeringkan (Erlinda, 2017).

**f) Penyimpanan**

Sebaiknya simpan Simplisia pada wadah tersendiri yang aman agar tidak tercampur dengan simplisia lain. Syarat agar suatu bungkus dapat digunakan sebagai bungkus simplisia adalah harus bersifat inert yaitu tahan terhadap cahaya, oksigen dan uap air. (Erlinda, 2017).

## 2.4 Ekstrak dan Ekstraksi

### 2.4.1 Ekstrak

Ekstrak yaitu sediaan cair, kental atau kering yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan pelarut yang sesuai yang kemudian diuapkan untuk memberikan ekstrak yang diinginkan. Ekstrak dibagi menjadi berbagai jenis diantaranya ekstrak padat, ekstrak kering dan ekstrak cair. Sifat-sifat ekstrak dapat dilihat dari kadar air ekstrak. Ekstrak cair dengan kelembaban >30%. Kadar air ekstrak kental adalah 5-30%. Ekstrak kering mengandung <5% air . (Pambudi *et al.*, 2017).

### 2.4.2 Ekstraksi

Ekstraksi yaitu proses pemisahan suatu zat-zat yang larut terpisah dari bahan yang tidak larut dengan adanya bantuan bahan pelarut (Fajarullah, 2014), pelarut yang akan digunakan untuk ekstraksi harus diperhatikan agar dapat menarik senyawa yang di inginkan karena pelarut dapat melarutkan ekstrak dengan polaritas yang sama (Firdiyani *et al.*, 2015). Terdapat beberapa jenis ekstraksi, antara lain:

#### 1) Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi penarikan suatu senyawa dengan adanya perendaman menggunakan pelarut yang sesuai, ekstraksi dilakukan pada suhu normal ruangan dengan adanya pengadukan sekali-sekali. Umumnya simplisia direndaman dalam

waktu 24 jam, pelarut yang digunakan tidak perlu diganti dengan pelarut baru (AA.Putri, 2022). Prinsip kerja maserasi adalah melarutkan zat aktif sesuai dengan kelarutannya dalam pelarut (semakin larut semakin baik). Bahan aktif diekstraksi dengan cara merendamnya dalam pelarut yang terdapat simplisia didalamnya selama beberapa hari pada suhu kamar dan melindunginya dari cahaya. Pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel yang kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang mengandung bahan aktif jenis pelarut yang digunakan harus dapat mengekstraksi dengan baik dengan kemampuan yang menghasilkan senyawa yang dapat dipisahkan secara maksimal dari senyawa lain dan menghasilkan konsentrasi senyawa yang diinginkan (Ulfa, 2017). Pelarut yang umum digunakan antara lain etanol, metanol, aseton, dan etil asetat. Pelarut biasanya bersifat polar, semi polar, non polar (Maulfia, 2018). Kelebihan dari Metode Maserasi diantaranya yaitu teknik pengrajaan relative sederhana dan mudah dilakukan, dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa tahan panas karena perendaman dilakukan tanpa pemanasan dan pelarut yang digunakan lebih hemat(Majroni, 2016).

## 2) Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang menyusun bahan secara merata dan selalu menggunakan pelarut baru hingga prosesnya selesai, biasanya pada suhu ruang normal. Proses metode ini melibatkan perendaman bahan dalam pelarut dan kemudian terus menerus menambahkan pelarut baru sampai warna pelarut menjadi terang, artinya senyawa tersebut tidak lagi tersedia (Rahayu, 2017).

## 3) Sonikasi

Sonikasi adalah metode ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonikasi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan frekuensi lebih besar dari 16 kHz. Ekstraksi ini menggunakan gelombang ultrasonik memiliki kelebihan antara lain pada kecepatan ekstraksi dibanding dengan ekstraksi termal atau konvensional. Metode ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik lebih aman dan meningkatkan kinerja (Sekarsari *et al.*, 2019). Ekstraksi menggunakan UAE bertujuan untuk mempengaruhi proses dengan prinsip meningkatkan kemampuan partikel menembus dinding sel yang disebabkan oleh pengembangan dan pemecahan gelembung pada pelarut yang kemudian mengakibatkan sel tanaman pecah untuk menghasilkan ekstrak yang larut dalam pelarut (Rosalinda *et al.*, 2021).

Gelombang ultrasonik dipancarkan melalui *probe ultrasound processor* yang kemudian mempengaruhi campuran simplisia dengan pelarut yang digunakan. Gelombang ultrasonik bekerja dengan mentransfer energi secara mekanik . Proses ekstraksi UAE dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain besarnya frekuensi getaran, jumlah pelarut, rasio antara padatan, dan lama waktu ekstraksi(Rosalinda *et al.*, 2021).

#### **4) Refluks**

Ekstraksi refluks adalah metode ekstraksi yang berlangsung pada titik didih pelarut yang digunakan dalam waktu yang lama dan dengan jumlah pelarut tertentu yang dengan adanya pendingin refluks (kondensor). Keuntungan dari proses refluks antara lain dapat memisahkan padatan yang berstruktur kasar dan dapat menahan pemanasan langsung. Kerugian dari metode ini adalah diperlukan pelarut dalam jumlah besar (AA.Putri, 2022).

#### **5) Sokhletasi**

Ekstraksi metode sokhletasi merupakan ekstraksi dengan perlu adanya pelarut yang harus selalu baru, biasanya dilakukan dengan alat khusus sehingga proses ekstraksi dilakukan secara terus-menerus dengan adanya unit pendingin balik (kondensor). Dalam metode ini, padatan disimpan dalam peralatan sokhlet dan di panaskan, sedangkan pelarutnya dipanaskan. Kemudian pelarut di dinginkan dalam kondensor, kemudian padatan dihilangkan.

Kelemahan metode ini adalah dapat merusak zat terlarut dan komponen lain yang tidak tahan panas karena simplisia yang di ekstrak dipanaskan terus menerus (AA.Putri, 2022).

#### **6) Digest**

Digesti merupakan metode ekstraksi menggunakan alat maserasi kinetik yang dilakukan pada suhu  $40^0\text{C}$ - $50^0\text{C}$  (Depkes RI, 2000).

#### **7) Infusa**

Infusa adalah metode ekstraksi dengan menyari simplisia menggunakan pelarut air atau aquadest, metode ini menggunakan alat penangas air, infus direndam dalam bejana penangas air pada suhu  $90^0\text{C}$ - $98^0\text{C}$  selama kurang lebih 15 menit (Natsir, 2022).

#### **8) Dekokta**

Dekokta adalah metode ekstraksi yang dilakukan menyari simplisia dengan pelarut air atau aquadest menggunakan penangas air pada suhu  $90^0\text{C}$ - $98^0\text{C}$ , metode dekokta hampir sama dengan infusa yang membedakan adalah waktu pemanasan yaitu selama kurang lebih 30 menit dan sediaan diserkai dalam keadaan masih panas (Natsir, 2022).

## 2.5 Radikal Bebas

### 2.5.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan kandungan senyawa kimia yang memiliki satu ataupun lebih elektron tak berpasangan di orbital terluarnya, maka dari itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan akan mengambil elektron dari senyawa lain untuk membentuk senyawa baru dengan radikal bebas yang lebih reaktif. Oleh karena itu, senyawa radikal bebas akan berbahaya jika masuk kedalam tubuh manusia karena dikhawatirkan dapat merubah reaksi kimia dalam tubuh seperti metabolisme tubuh dan siklus sel. Radikal bebas dibagi menjadi dua kelompok yaitu *Reactive Nitrogen Species* (RNS) dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). (Pizzino *et al.*, 2017).

### 2.5.2 Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen berasal dari oksidasi enzimatik , autoksidasi, fagositosis pada pernapasan, dan oksidasi ion logam dan transpor elektron dalam mitokondria. Rekonsiliasi radikal bebas eksogen berasal dari luar tubuh, misalnya melalui cahaya ultraviolet selain itu, radikal bebas eksogen dapat berasal dari aktivitas lingkungan (Pratama *et al.*, 2020). Jika jumlah radikal bebas terus meningkat sementara jumlah antioksidan

endogen tetap konstan, kelebihan radikal bebas tidak akan mampu dinetralkan.

### **1. Sumber Endogen**

#### a) Auto Oksidasi

Merupakan produk dari metabolisme aerobik. Jenis molekul asalnya katekolamin, hemoglobin, mioglobin, penurunan sitokrom C dan tiol. Auto oksidasi dari produk tersebut dapat menhasilkan gugus oksigen reaktif.

#### b) Oksidasi Enzimatik

Beberapa enzim yang dapat menghasilkan radikal bebas seperti asam amino oksidase, lipoksigenase, xantin oksidase, aldehida oksidase, dan prostaglandin sintetik.

### **2. Sumber Eksogen**

#### a) Obat-obatan

Obat-obatan memiliki peran meningkatkan produksi radikal bebas, dengan cara meningkatkan tekanan oksigen. Obat ini termasuk antibiotik quinoid dan obat antikanker. Pada penggunaan asam askorbat yang berlebihan dapat mempercepat peroksidasi lipid.

#### b) Radiasi

Penggunaan terapi radiasi dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan jaringan akibat radikal bebas. Radiasi dibagi menjadi dua bagian yaitu radiasi partikel dan radiasi

elektromagnetik. Radiasi elektromagnetik contohnya sinar-X dan sinar gamma, sedangkan radiasi partikel contohnya elektron, foton, neutron, partikel alfa dan beta.

c) Asap Rokok

Setiap asap rokok memiliki kandungan sejumlah besar senyawa pengoksidasi termasuk aldehida, proksi, epoksida, dan radikal bebas reaktif dan destruktif lainnya. Perokok juga memperhatikan peningkatan neurotrofil di saluran pernapasan bagian bawah yang berkontribusi pada pembentukan radikal bebas.

### **2.5.3 Mekanisme Radikal Bebas**

Terdapat 3 tahapan reaksi pembentukan senyawa radikal bebas , yaitu (Kesuma, 2015) :

1. Tahap Inisiasi

Tahap inisiasi mula terbentuknya radikal bebas yang dihasilkan dalam beberapa proses seperti suhu tinggi, proses ekstruksi, tekanan, dll. Misalnya ketika terjadi oksidasi, konsentrasi hiperoksida menjadi tinggi. Pemecahan hiperoksida menjadi sumber utama inisiator radikal bebas. Penyerapan radiasi ultraviolet menghasilkan radikal bebas yang disebabkan oleh senyawa hiperoksida dan karbonil. Sebagian besar degradasi polimer disebabkan oleh radiasi ultraviolet dari radikal oksigen.

Oksidan dapat bereaksi langsung dengan oksigen, terutama pada suhu tinggi, menghasilkan radikal bebas.

## 2. Tahap Propagasi

Tahap propagasi terjadi reaksi dimana radikal bebas berubah menjadi radikal lain. Selama tahap propagasi terjadi oksidasi radikal lemak sehingga terbentuk radikal peroksida. Proses oksidasi berlangsung dengan cepat, energi aktivitas hampir nol sehingga konsentrasi yang terbentuk jauh lebih besar, kemudian radikal peroksida yang telah terbentuk akan beraksi dengan asam lemak lain yang kemudian membentuk hiperoksida dan radikal lemak baru. Reaksi propagasi dapat berlangsung berlang sebelum berakhir dari radikal peroksida menjadi tanpa radikal. Pemecahan isomer hiperoksida dihasilkan oleh reaksi propagasi, sehingga akan meningkatkan laju yang dimulai dengan menghasilkan radikal bebas.

## 3. Tahap Terminasi

Sebagai tahapan dari senyawa radikal bebas yang bereaksi dengan radikal bebas lainnya sehingga berpotensi perambatannya rendah. Konversi radikal peroksida dan alkil menjadi radikal tanpa radikal mengakhiri reaksi propagasi, sehingga mengurangi pemanjangan rantai kinetik. Reaksi terminasi yang signifikan terjadi ketika konsentrasi oksigen sangat rendah. Pada fase akhir radikal bebas akan terbentuk ketika radikal bebas saling bereaksi. Selama waktu ini

hiperoksida akan terurai menjadi produk alkohol, asam keton, dan zat penstabil lainnya.

#### **2.5.4 Penyakit Yang Ditimbulkan Radikal Bebas**

Radikal bebas dalam tubuh berasal dari produk endogen dan metabolitnya, serta dari sumber eksternal seperti polusi udara dan asap rokok. Selama metabolisme sel normal, tubuh menghasilkan spesies oksigen radikal (ROS), yang berperan penting dalam pensinyalan sel dan memengaruhi metabolisme di dalam dan di luar sel (Suryadinata, 2018). Dalam kondisi normal, tubuh menggunakan radikal bebas untuk melawan peradangan dan invasi bakteri. Paparan radikal bebas yang berlebihan dapat disebabkan oleh polusi udara, sinar UV, makanan, asap rokok, dan stres. Kelebihan radikal bebas adalah penyebab degenerasi sel. Hal ini menyebabkan penyakit degeneratif seperti diabetes, stroke, kanker, penyakit jantung koroner, dan banyak lagi (Sutrisna, 2013).

### **2.6 Antioksidan**

#### **2.6.1 Definisi Antioksidan**

Secara kimia, senyawa antioksidan merupakan donor elektron. Secara biologis, istilah antioksidan mengacu pada senyawa yang memiliki kemampuan untuk melawan atau mengurangi efek buruk oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara menyumbangkan satu elektron pada senyawa pengoksidasi sehingga dapat menghambat kerja senyawa pengoksidasi. zat yang digunakan untuk mencegah radikal bebas merusak sel

normal, protein dan lemak. Antioksidan bekerja dengan cara menyetimbangkan radikal bebas dengan mengisi kembali elektron yang hilang yang dimiliki oleh radikal bebas dan menghambat reaksi senyawa pengoksidasi pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif (Ayuningtyas, 2019).

Antioksidan dikelompokkan menjadi enzim antioksidan dan vitamin. Antioksidan enzimatik termasuk superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathione peroksidase (GSH.Prx). vitamin antioksidan lebih umum sebagai antioksidan dari pada enzim. Antioksidan yang termasuk dalam vitamin dan fitokimia disebut flavonoid. Flavonoid termasuk dalam kumpulan senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada buah-buahan dan sayur-sayuran. Senyawa fenolik memiliki beberapa efek biologis. Aktivitas antioksidan melalui mekanisme seperti reduksi, penangkapan radikal bebas, khelasi logam, pembentukan oksigen singlet dan reduksi donor elektron. (Sayuti dan Yenrina,2015).

### **2.6.2 Manfaat Antioksidan**

Antioksidan berperan penting untuk menjaga mutu makanan, kesehatan dan untuk kecantikan. Dalam bidang kesehatan dan kecantikan, peran antioksidan adalah mencegah kanker dan tumor, vasokonstriksi, penuaan dini, dll. Antioksidan juga dapat mencegah reaksi oksidatif dengan cara mengikat radikal bebas serta molekul

yang sangat aktif, mencegah kerusakan sel. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas terjadi terutama pada asam nukleat, polisakarida, protein, dan lipid. (Sayuti dan Yenrina,2015).

## **2.7 Golongan Antioksidan**

### **1. Antioksidan Primer**

Antioksidan primer bekerja dengan cara menangkal terbentuknya senyawa radikal baru atau menjadikan radikal bebas yang terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan memutus reaksi berantai. sehingga dapat dimodifikasi menjadi produk hasil lebih stabil (Sayuti dan Yenrina,2015).

### **2. Antioksidan Sekunder**

Antioksidan sekunder mengikat logam yang bertindak sebagai pro- oksidan, menghilangkan radikal bebas dan mencegah adanya reaksi berantai. Antioksidan sekunder bertindak sebagai pemulung ion logam, penangkap oksigen, memecah peroksida menjadi radikal bebas, menyerap radiasi ultraviolet atau menetralkan oksigen singlet. Contoh antioksidan sekunder adalah isoflavon, betakaroten, vitamin C, albumin, bilirubin dan vitamin E (Sayuti dan Yenrina, 2015).

### 3. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim perbaikan DNA dan reduktase metionin sulfida (Sayuti dan Yenrina,2015).

## 2.8 Sumber Antioksidan

Menurut Parwata (2016) berdasarkan sumber antioksidan yang umumnya digunakan oleh masyarakat dibedakan menjadi 3 kelompok, yaitu:

1. Antioksidan endogen atau enzim antioksidan adalah antioksidan yang diproduksi dalam tubuh manusia dan meliputi *katalase* (CAT), *glutation peroksidase* (GPx) dan *superoksid dismutase* (SOD).
2. Antioksidan dari bahan sintetik seperti *Butyl Hydroxy Toluene* (BHT), *Butyl Hidroxy Anisol* (BHA), *Tert-Butyl Hydroxy Quinone* (TBHQ), dan propil galat banyak digunakan dalam produk pangan. Penggunaan bahan sintetik dapat meningkatkan resiko terkena penyakit kanker. *Butyl Hydroxy Toluene* (BHT) dan *Butyl Hidroxy Anisol* (BHA) dapat menyebabkan efek kesehatan yang merugikan yaitu gangguan fungsi hati, gangguan paru-paru, gangguan mukosa pada usus, dan keracunan. Batas maksimal antioksidan sintetik adalah 0,01-0,1% lemak atau minyak.
3. Antioksidan dari bahan alam senyawa fenolik (flavonoid), kumarin, asam organik, turunan asam sinamat , tokoferol, vitamin A vitamin C

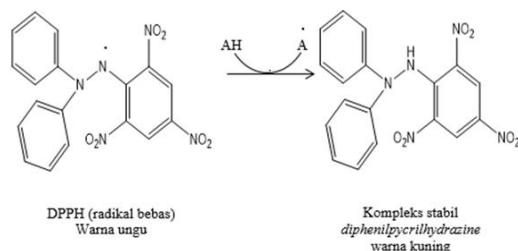
dan vitamin E diperoleh dari bagian tanaman seperti akar, buah, bunga, biji, daun, kayu dan kulit kayu. Antioksidan alami pada umumnya memiliki struktur molekul yang terdiri dari gugus hidroksil. Efek antioksidan yang kuat disebabkan oleh fenol dan flavonoid yang ditemukan di tanaman.

## 2.9 Uji Aktivitas Antioksidan

Terdapat beberapa metode untuk mengukur aktivitas antioksidan secara in-vitro diantaranya dapat menggunakan metode (*Determination Of Ferric Reducing Antioxidant Power*) FRAP, metode *2,2-Azinobis(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulphonic Acid)* ABTS, metode *(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* DPPH (Novioella, 2019).

Metode yang paling umum untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH. DPPH adalah bahan awal yang paling umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan stabilitas suhu ruangan dari ekstrak produk alami. Metode DPPH dipilih karena memberikan penilaian aktivitas antioksidan bahan alami secara cepat, akurat dan mudah serta sensitif terhadap aktivitas antioksidan bahan alami. Metode DPPH memungkinkan evaluasi bahan secara cepat dan menunjukkan sensitivitas yang baik dalam menentukan aktivitas antioksidan sampel. Bila terkena panjang gelombang 400-800 nm, DPPH radikal bebas stabil ungu diserap. Radikal DPPH berubah warna menjadi kuning jika berinteraksi dengan antioksidan yang dapat menghasilkan

radikal hidrogen membentuk DPPH-H (difenilhidrazin). (Prastyo, 2017).



Gambar 2.1 Struktur Reaksi DPPH dengan Antioksidan

(Sumber: Rizkayanti *et al.*, 2017)

Dekolorisasi yang dihasilkan dari Larutan DPPH senyawa antioksidan ini sesuai dengan jumlah elektron yang terperangkap atau jumlah hidrogen yang diserap. Kekuatan aktivitas antioksidan dari senyawa yang diuji dengan metode DPPH dapat diklasifikasikan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Achyadi *et al.*, 2017).

Tabel 2.1 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH  
(Sumber: Agustina *et al.*, 2020)

Intensitas	Nilai IC <sub>50</sub>
Sangat kuat	<50 µg/ml
Kuat	50-100 µg/ml
Sedang	101-150 µg/ml
Lemah	>150 µg/ml

## 2.10 Kuersetin

Kuersetin (*3,3',4',5,7-pentahydroxil-flavone*) merupakan senyawa flavonoid yang banyak terdapat pada buah dan sayuran. Kuersetin memiliki banyak aktivitas farmakologi seperti melebarkan arteri koroner, mengurangi

lemak darah, antiplatelet, antikanker, anti anemia, antioksidan, anafilaksis dan anti inflamasi. Kuersetin dianggap dapat melindungi ginjal dari kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif dan toksitas obat-obatan tertentu. Kuersetin dapat melindungi ginjal dari kerusakan yang disebabkan oleh efek samping obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID), obat nefrotoksik, obat kemoterapi, dan lain-lain. Mekanisme kuersetin sebagai antioksidan sekunder adalah dengan memblokir reaksi berantai oksidasi radikal bebas atau dengan menangkap molekul radikal bebas sehingga efek berbahaya dari reaksi oksidasi tidak terjadi (Salamah dan Widayarsi, 2015). Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena termasuk golongan flavonoid yang banyak ditemukan pada tanaman dan diketahui memiliki aktivitas biologis yang luas, terutama sebagai antioksidan (Handayani *et al.*, 2018).

## 2.11 Spektrofotometer UV-Vis (*Ultraviolet Visible*)

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang dimana digunakan untuk mengukur serapan suatu larutan dengan melewatkannya dengan panjang gelombang tertentu melalui benda kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian cahaya diserap, sebagian lagi menembus. Nilai serapan cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan dalam kuvet. Spektrometer UV-VIS mengukur penyerapan cahaya senyawa dalam rentang ultraviolet (200-350 nm) dan sinar tampak (350-800 nm). Penyerapan sinar UV atau VIS (cahaya tampak) menyebabkan transisi elektron (Jati, 2018).

### 1) Sumber Cahaya

Spektrofotometer UV-Vis mengukur energi cahaya melalui sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet (UV) memiliki panjang gelombang dari 200 nm hingga 400 nm dan cahaya tampak memiliki panjang gelombang dari 400 nm hingga 800 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan spektrofotometer mencangkup sejumlah besar energi elektronik dalam molekul yang di analisis, maka karena itu spektrofotometer UV-Vis sering digunakan untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif.. Spektrofotometer UV-Vis sangat berguna untuk mengukur konsentrasi analit dalam suatu larutan. Hal ini dapat ditentukan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang tertentu menggunakan hukum Lambert-Bee (Jati, 2018).

### 2) Monokromator

Monokromator ialah alat yang mengubah cahaya polikromatik menjadi komponen yang berbeda dengan panjang gelombang tertentu yaitu monokromatik yang terdiospersi (Jati, 2018). Monokromator terdiri dari prisma, kisi difraksi, celah dan filter. Prisma menyebarkan radiasi elektromagnetik untuk menghasilkan radiasi polikromatik beresolusi tinggi. Kisi difraksi digunakan digunakan untuk mendistribusikan hamburan cahaya secara merata. *Slit* atau celah digunakan untuk mengarahkan sinar

monokromatik dari sumber radiasi. Filter aktif untuk menyerap warna tambahan (Suarsa, 2015).

### **3) Detektor**

Peran detektor adalah merespons cahaya pada panjang gelombang berbeda. Detektor mengubah cahaya menjadi sinyal listrik, yang kemudian ditampilkan sebagai meter atau angka oleh penampil data dengan mengukur transmisi larutan sampel, yang konsentrasinya dapat ditentukan oleh hukum Lambert-Beer. Spektrometer UV-Vis: intensitas cahaya yang diteruskan melalui sampel dan membandingkannya dengan intensitas cahaya yang diteruskan melalui sampel dan membandingkannya dengan intensitas cahaya sebelum melewati sampel. Proses ini disebut transmisi serta sering digunakan sebagai presentase (Jati, 2018).

### **4) Mikroprosesor**

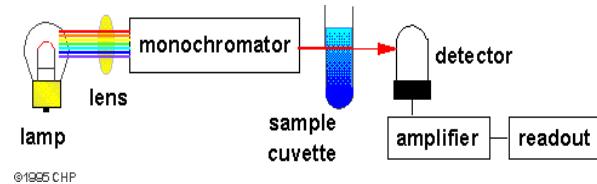
Mikroprosesor dan perangkat lunak kalibrasi dapat disimpan dan konsentrasi sampel yang tidak diketahui dapat dihitung secara otomatis (KEMENKES, 2010).

### **5) Piranti Pembaca**

Alat pembaca berfungsi untuk membaca sinyal listrik dari detektor dimana datanya diuraikan kedalam bentuk yang dapat dimengerti atau ditampilkan pada layar yang dapat dibaca oleh pengujii. (KEMENKES, 2010).

#### **2.11.2 Prinsip Spektrofotometer UV-Vis**

Prinsip kerja dari spektrofotometer UV-Vis ialah menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh bahan yang di uji. Setiap zat mempunyai serapannya masing-masing pada panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang dengan serapan tertinggi digunakan untuk mengukur tingkat reagen. Banyaknya cahaya yang diserap suatu zat berbanding lurus dengan konsentrasi zat tersebut. Untuk menjamin keakuratan pengukuran, level yang akan diukur dibandingkan dengan level standar yang diketahui. Setelah memasuki suatu ruang (KEMENKES, 2010).



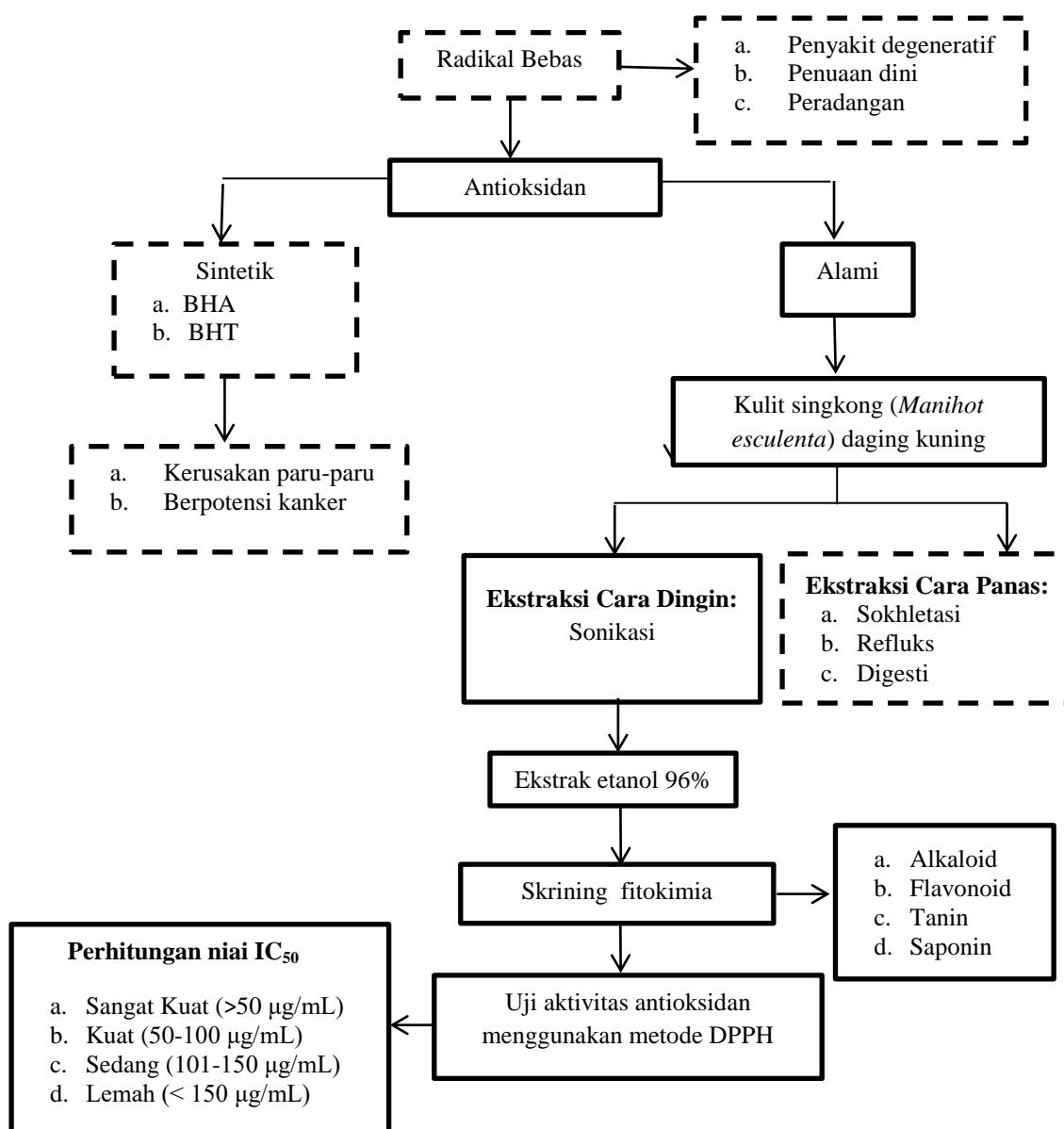
Gambar 2.2 Cara Kerja Spektrofotometer UV-Vis  
(Sumber: Karnakar *et al.*, 2020)

### 2.11.3 Jenis-Jenis Spektrofotometer UV-Vis

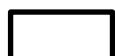
Spektrofotometer UV-Vis memiliki dua tipe yaitu spektrofotometer sinar tunggal dan spektrofotometer sinar ganda. Spektrometer sinar tunggal biasanya digunakan untuk mendekripsi spektrum sinar ultraviolet dan cahaya tampak. Spektrometer sinar ganda dapat digunakan pada daerah ultraviolet, sinar tampak, dan inframerah (Jati, 2018).

## BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

### 3.1 Kerangka Konseptual



**Keterangan :**



: Diteliti



: Tidak diteliti

Gambar 3. 1 Kerangka Konsep

### 3.2 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap suatu permasalahan penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual tersebut hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dengan metode DPPH (2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazyl*).

## **BAB 4 METODE PENELITIAN**

### **4.1 Desain Penelitian**

Desain penelitian pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning merupakan desain penelitian *laboratory experiment* dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil).

### **4.2 Populasi dan Sampel**

#### **4.2.1 Populasi**

Populasi merupakan sekelompok subjek yang akan digunakan pada penelitian (Magfirah, 2018). Populasi pada penelitian ini menggunakan kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning.

#### **4.2.2 Sampel**

Sampel ialah beberapa dari populasi yang telah dipilih untuk digunakan pada suatu penelitian. Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning yang dibuat dengan berbagai macam seri konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm).

### **4.3 Variabel Penelitian**

#### **4.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini ialah konsentrasi ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning.

#### **4.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> berdasarkan persen penghambatan.

#### **4.3.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah cara pembuatan simplisia, pelarut etanol 96% dan cara ekstraksi simplisia.

### **4.4 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Biologi Farmasi, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi Jember.

### **4.5 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dimulai pada bulan Maret-Juni 2023

#### 4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Pengertian	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Ekstrak etanol kulit singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) daging kuning	Ekstrak yang diperoleh menggunakan metode ultrasonikasi dengan pelarut etanol 96%	Menimbang berat ekstrak etanol 96% kulit singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) yang diperoleh	Neraca analitik	Rasio	% rendemen
Skrining fitokimia (metabolit sekunder)	Suatu golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. 1) alkaloid 2) flavonoid 3) tanin 4) saponin	Menambahkan pereaksi yang sesuai	Visual	Nomin al	Warna dan endapan: 1) terbentuk endapan orange/ji ngga 2) terbentuk warna merah 3) terbentuk warna biru kehitaman 4) terbentuk busa
Aktivitas antioksidan	Hasil nilai absorbansi pada sampel etanol kulit singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) daging kuning yang kemudian dihitung radikal bebas dan ditentukan konsentrasi penghambatan 50% (IC <sub>50</sub> )	Dihitung dengan rumus IC <sub>50</sub>	Spektro fotometer Uv-Vis	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sangat kuat jika hasilnya &lt;50 µg/mL</li> <li>• Kuat Jika yang hasilnya 50-100 µg/mL</li> <li>• Sedang jika hasilnya 101-150 µg/mL</li> <li>• Lemah jika hasilnya &gt;150 µg/mL</li> </ul>

## 4.7 Teknik Pengumpulan Data

### 4.7.1 Alat dan Bahan

#### 1) Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (*Ultra Violet-Visible*), ultrasonikasi, mikropipet, blender, stopwatch, *rotary evaporator*, timbangan analitik, *glass ware*, corong kaca.

#### 2) Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kulit singkong daging kuning, etanol 96%, etanol pro analisis , aquadest, Dragendorff, serbuk magnesium,  $\text{FeCl}_3$ , asam sulfat pekat, kuersetin, HCl pekat, dan senyawa DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*).

### 4.7.2 Teknik dan Instrumen Pengolahan Data

#### 1. Determinasi Kulit Singkong Daging Kuning

Determinasi kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning yang dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember dengan membawa tanaman singkong daging kuning bertujuan untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran simplisia.

## **2. Pembuatan Simplisia Dan Serbuk Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning**

Pembuatan simplisia kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dilakukan dengan mengumpulkan kulit singkong daging kuning sebanyak 3 kg lalu disortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan pengotor dari tanaman. Kulit singkong daging kuning dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa kotoran. Kulit singkong daging kuning dipotong kecil untuk mempercepat pengeringan. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari dan simplisia ditutup menggunakan kain berwarna hitam untuk melindungi hilangnya senyawa pada kulit singkong. Kulit singkong daging kuning yang sudah kering ditandai dengan mudah hancurnya simplisia ketika di remas dan terdapat perubahan warna kecoklatan pada kulit singkong daging kuning. Simplisia yang telah kering dibuat serbuk dengan blender kemudian ditimbang beratnya dan disimpan pada wadah plastik yang tertutup rapat (Lidyawati *et al.*, 2021).

## **3. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning**

Pembuatan ekstrak kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning pada penelitian ini menggunakan metode ultrasonikasi dengan pelarut etanol 96% . Serbuk simplisia kulit singkong daging kuning ditimbang sebanyak 500 gram

kemudian ditambahkan dengan pelarut sebanyak 1500 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian tutup menggunakan alumunium foil dan dimasukkan ke dalam ultrasonikator direndam selama 30 menit dengan suhu 45<sup>0</sup>C. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai pelarut menguap seluruhnya sehingga menghasilkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat ditimbang dan disimpan dalam wadah kaca tertutup (*Hasim et al., 2019*). Dihitung rendemen ekstrak menggunakan rumus :

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

#### **4. Skrining Fitokimia**

##### **1) Uji Alkaloid**

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 ml HCl. Setelah dipanaskan dan didinginkan, ditambahkan 1 ml pereaksi Dragendorff. Positif untuk alkaloid bila terbentuk endapan berwarna orange atau jingga (*Muthmainnah, 2017*).

##### **2) Uji Flavonoid**

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan bubuk magnesium dan HCl pekat. Kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 15 menit. Positif untuk flavonoid ketika warna merah dihasilkan (*Muthmainnah, 2017*).

### 3) Uji Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan air panas sebanyak 10 mL dan didihkan selama 5 menit. Setelah itu, filtratnya ditetsi  $\text{FeCl}_3$  sebanyak 3-4 tetes. Positif mengandung tanin apabila warna yang ditunjukkan yaitu biru kehitaman (Muthmainnah, 2017).

### 4) Uji Saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 10ml air panas dan dinginkan. Kemudian diguncang kuat-kuat selama 10 detik (Muthmainnah, 2017). Jika terdapat busa setebal 1-10cm dalam waktu 30 detik dan ditambahkan 1 tetes HCl maka busa tersebut masih ada.

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

### 1) Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Sebanyak 5 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan pelarut etanol p.a hingga 100 mL di dalam labu ukur. Sehingga akan diperoleh konsentrasi sebesar 50 ppm (Suyatmi, 2019).

### 2) Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Dipipet 2ml larutan standar DPPH 50 ppm ke dalam kuvet dan ukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis, kemudian ukur pada panjang gelombang puncak DPPH dari 400 hingga 800 nm. (Farah, 2019).

### **3) Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging kuning**

Ekstrak uji dibuat menjadi larutan induk 1000 ppm dengan cara menimbang 10 mg ekstrak kulit singkong daging kuning (*Manihot esculenta*), kemudian dilarutkan dalam etanol p.a. dan aduk hingga rata dan tambahkan hingga 10 ml supaya ekstrak yang digunakan dapat larut dengan kelarutan ekstrak yang maksimal, hal ini dapat dibantu dengan getaran ultrasonik. Kemudian dibuat larutan serial dengan mengencerkan alkohol induk hingga konsentrasi 50ppm, 100ppm, 150ppm, 200ppm, 250ppm dengan cara memipet larutan hingga volume tertentu dan menambahkan etanol p.a hingga diperoleh konsentrasi larutan uji akhir. untuk setiap ekstraksi. (Nathania *et al*, 2020).

### **4) Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin**

Menimbang sebanyak 2 mg kuersetin kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 20 mL lalu dimasukkan kedalam labu ukur ad tanda batas sehingga memperoleh larutan standar kuersetin 1000 ppm. Kemudian dibuat variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm dengan masing-masing larutan induk standar dipipet 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, 2 mL, dan 2,5

mL kemudian di tambahkan etanol p.a hingga batas labu ukur 10 mL. (Sari *et al*, 2021).

### **5) Optimasi Waktu Inkubasi**

Optimasi waktu inkubasi bertujuan untuk menentukan waktu optimal senyawa uji bereaksi dengan larutan DPPH. Dengan cara memipet masing-masing 0,5 mL larutan uji kuersetin, lalu tambahkan 3,5 mL DPPH dan ukur serapan pada panjang gelombang maksimum, 0 hingga 60 menit dengan interval 10 menit. (Nugroho, 2021).

### **6) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Larutan Uji Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning dan Larutan Kuersetin**

Aktivitas antioksidan diukur dengan mengambil 0,5ml pada setiap seri konsentrasi larutan uji ekstraksi dan larutan kuersetin, kemudian ditambahkan 3,5ml larutan DPPH. Larutan uji dicampur hingga homogen dan diinkubasi pada suhu ruang sesuai optimasi waktu inkubasi, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada puncak panjang gelombang yang telah ditentukan sebanyak 3 kali. Ulangi pembacaan untuk setiap konsentrasi. (Nugroho, 2021).

### 4.7.3 Teknik Pengolahan Data

Perhitungan untuk nilai  $IC_{50}$  dilakukan dengan menggunakan persamaan menurut Lestari *et al*, (2021) sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

- Absorbansi Blanko : Serapan radikal DPPH dalam etanol pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan.
- Absorbansi sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan.

Setelah diperoleh persen hambatan pada setiap seri konsentrasi larutan uji, selanjutnya dilakukan perhitungan regresi linier dengan rumus:

$$y = bx + a$$

Keterangan:

y : Persen Hambatan (50%)

b : Intersep

x : Nilai  $IC_{50}$  (yang dicari)

a : Slope

Dari persamaan regresi linier tersebut dapat dihitung nilai  $IC_{50}$  menggunakan rumus:

$$IC50 = \frac{(50 - a)}{b}$$

Semakin rendah nilai  $IC_{50}$  suatu senyawa yang diuji, maka semakin efektif pula senyawa dalam menangkap radikal bebas (Novioella, 2019).

#### 4.7.4 Teknik Analisis Data

Data IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dan kuersetin yang diperoleh dari penelitian selanjutnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas dilakukan sebagai syarat untuk uji analisis independent T-test. Masing-masing data IC<sub>50</sub> dianalisis dengan uji T-test untuk melihat perbedaan IC<sub>50</sub> antara ekstrak etanol kulit singkong daging kuning dengan kuersetin. Perbedaan tersebut dikatakan signifikan apabila nilai p<0,05 dan tingkat kepercayaan 95% (Maghfiroh, 2020).

## BAB 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk menetapkan keakuratan sampel dalam penelitian sesuai dengan yang diharapkan sehingga kesalahan pengambilan sampel dapat dihindarkan. Dari determinasi yang dilakukan di Politeknik Negeri Jember dinyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan spesies *Manihot esculenta* dengan hasil determinasi pada lampiran 1.

### 5.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada salah satu produsen tape di Desa Temuasri Kecamatan Sempu Kabupaten Banyuwangi. Bagian tanaman yang digunakan adalah kulit singkong daging kuning yang kemudian dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penghalusan simplisia.

### 5.3 Ekstraksi

Simplisia yang digunakan sebanyak 500 gram dengan pelarut sebanyak 1500 mL yang kemudian disonikasi selama 30 menit dengan kecepatan 50 kHz. Hasil ekstraksi kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian ditempatkan dalam penangas air pada suhu 50°C hingga mengental kemudian ditimbang berat ekstrak yang didapatkan. Ekstrak kental dan persentase rendemen yang dihasilkan ditunjukkan pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning, Jember 2023.

Sampel	Berat simplisia	Berat ekstrak	Rendemen (%)
Kulit singkong daging kuing	500 gram	69,5 gram	13,9%

#### 5.4 Skrining Fitokimia

Hasil analisa skrining fitokimia pada penelitian ini dinyatakan bahwasannya ekstrak etanol kulit singkong daging kuning postif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin.

Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning, Jember 2023.

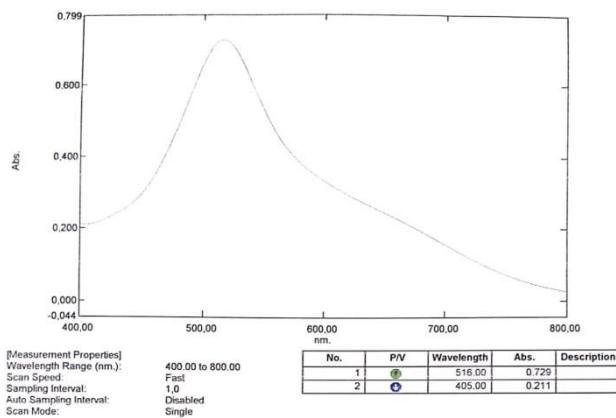
Senyawa Metabolit	Pereaksi	Hasil Literatur	Hasil Penelitian	Kesimpulan
Flavonoid	HCl + Mg	Merah (Muthmainnah, 2017)	Merah	+
Alkaloid	HCl + Dragendorf	Endapan orange (Muthmainnah, 2017)	Endapan orange	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Biru kehitaman (Muthmainnah, 2017)	Biru kehitaman	+
Saponin	Aquades + HCl	Busa setinggi 1-3 cm (Muthmainnah, 2017)	Terdapat busa stabil	+

Keterangan :

- (+) Positif : mengandung senyawa metabolit sekunder
- (-) Negatif : tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

## 5.5 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Pengukuran panjang gelombang larutan DPPH 50 ppm secara spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-800 nm memberikan hasil absorbansi maksimum sebesar 0,729 dimana panjang gelombang maksimum adalah 516 nm.



Gambar 5. 1 Panjang Gelombang Maksimum Senyawa DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)  
(Dokumentasi Pribadi, Jember 2023)

## 5.6 Optimasi Waktu Inkubasi

Optimasi waktu inkubasi dilakukan dengan menggunakan larutan kuersetin sebagai senyawa pembanding dengan senyawa DPPH. Hasil uji optimasi inkubasi memberikan waktu terbaik pada waktu 30 menit dengan persamaan regresi yaitu  $y = 0,2786x + 25,817$  dan nilai  $R^2$  sebesar 0,9947.

## **5.7 Nilai Absorbansi, Persentase Hambatan dan Nilai IC<sub>50</sub> Pembanding Kuersetin dan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Kuning**

Pada penelitian ini uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning dan kuersetin dengan DPPH menggunakan spektrofotomete UV-Vis untuk mengetahui nilai absorbansinya. Nilai absorbansi kemudian dihitung sebagai persentase peredaman radikal bebas untuk mendapatkan persamaan regresi  $y = bx + a$ . Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali dengan waktu inkubasi 30 menit.

**Tabel 5.3 Hasil Perhitungan Persentase Inhibisi Larutan Pembanding Kuersetin, Jember 2023.**

<b>Replikasi</b>	<b>Konsentrasi (Ppm)</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>% Inhibisi</b>	<b>Persamaan Regresi</b>	<b>IC<sub>50</sub> (µg/mL)</b>
1	5	0,454	25,451	$y = 1,261x + 19,309$ $R^2 = 0,9847$	24,33
	10	0,411	32,512		
	15	0,385	36,781		
	20	0,327	46,305		
	25	0,304	50,082		
2	5	0,432	29,064	$y = 1,2974x + 22,605$ $R^2 = 0,9487$	21,11
	10	0,391	35,796		
	15	0,366	39,901		
	20	0,290	52,380		
	25	0,285	53,201		
3	5	0,418	31,362	$y = 1,3236x + 24,61$ $R^2 = 0,9852$	19,18
	10	0,380	37,602		
	15	0,344	43,513		
	20	0,285	53,201		
	25	0,264	56,650		
<b>Blanko:</b>		<b>0,609</b>			

Tabel 5. 4 Hasil Persentase Inhibisi Larutan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning, Jember 2023.

<b>Replikasi</b>	<b>Konsentrasi (Ppm)</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>% Inhibisi</b>	<b>Persamaan Regresi</b>	<b>IC<sub>50</sub> (μg/mL)</b>
1	50	0,325	49,297		
	100	0,308	51,950	$y = 0,0434x + 47,158$	65,48
	150	0,298	53,510	$R^2 = 0,969$	
	200	0,289	54,914		
	250	0,265	58,658		
2	50	0,326	49,141		
	100	0,305	52,418	$y = 0,0434x + 47,314$	61,88
	150	0,296	53,822	$R^2 = 0,9635$	
	200	0,288	55,070		
	250	0,265	58,658		
3	50	0,326	49,141		
	100	0,306	52,262	$y = 0,0434x + 47,252$	63,31
	150	0,297	53,666	$R^2 = 0,9751$	
	200	0,287	55,226		
	250	0,266	58,502		
<b>Blanko:</b>		<b>0,641</b>			

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

### Kuning Dengan Metode Ekstraksi Sonikasi (UAE)

Nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrofotometer UV-Vis. persen hambatan dan nilai IC<sub>50</sub> dihitung menggunakan *software Microsoft Excel 2010*. Berikut data yang dihasilkan pada lampiran 11.

Tabel 5. 5 Hasil Pengukuran IC50 Kuersetin dan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Jember 2023.

<b>Keterangan</b>	<b>IC<sub>50</sub></b>	<b>rerata±SD</b>			<b>Kategori</b>
	<b>Rep 1</b>	<b>Rep 2</b>	<b>Rep 3</b>		
Kuersetin	24,33	21,11	19,18	$21.75 \pm 2,326972$	Sangat Kuat
Ekstrak	65,48	61,88	63,31	$63,55 \pm 1,812632$	Kuat

## 5.9 Analisis Data Aktivitas Antioksidan

Pengolahan data IC<sub>50</sub> ekstrak etanol kulit singkong inti kuning dan kuersetin dengan SPSS untuk diperiksa normalitasnya dengan Shapiro-Wilk dan periksa homogenitasnya, dilanjutkan dengan analisis independen dengan uji T. Sebagai standar, data dikatakan berdistribusi normal karena nilai signifikansi yang diperoleh > 0,05 adalah quercetin sebesar 0,541 dan ekstrak etanol kulit singkong ampas kuning sebesar 0,774. Pada uji homogenitas dikatakan homogen karena nilai signifikan > 0,05 atau 0,553. Selain itu pada uji t independen diperoleh nilai <0,05 atau 0,000 yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan..antara ekstrak etanol kulit singkong berdaging kuning dengan kuerstin.



## **BAB 6 PEMBAHASAN**

### **6.1 Identifikasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning**

#### **6.1.1 Ekstraksi Sampel Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning**

Kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning yang digunakan pada penelitian ini berasal dari salah satu produsen tape di Desa Temuasri Kecamatan Sempu Kabupaten Banyuwangi. Proses pembuatan simplisia meliputi beberapa tahap antara lain sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan tanah dan kotoran lain yang masih menempel pada permukaan luar kulit singkong, perajangan yang bertujuan untuk memperkecil ukuran kulit singkong sehingga mempercepat proses pengeringan, kemudian pencucian kulit singkong daging kuning dicuci dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sampel. proses pengeringan sampel dilakukan selama 2-3 hari dengan cara menjemur kulit singkong daging kuning di atas alas bersih dan ditutupi dengan kain hitam yang bertujuan supaya kandungan fitokimia yang bersifat termolabil ada dalam sampel tidak hilang saat proses pengeringan karena tidak berkontak langsung dengan sinar matahari. Fungsi kain hitam lainnya adalah memberikan pendistribusian panas secara merata selama proses pengeringan agar tidak merusak senyawa kimia dalam sampel.

(Patria dan Soegihardjo, 2013). Hal ini didukung oleh penelitian Wahyuni dan Arrosyid (2016) yang dengan jelas menunjukkan bahwasannya lapisan kain berwarna hitam dapat mencegah penguapan..yang terlalu cepat yang dapat mempengaruhi penurunan kualitas simplisia. Simplisia yang telah mengering kemudian ditimbang, hasil pengeringan didapatkan hasil sebanyak 500 gram yang selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia.

Serbuk simplisia kulit singkong daging kuning diekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). Diketahui bahwa metode ekstraksi sonikasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode maserasi. Gelombang ultrasonik yang dihasilkan oleh mesin sonikator akan menghancurkan jaringan dengan menimbulkan getaran..yang menyebabkan pecahnya dinding sel. Metode ekstraksi gelombang ultrasonik ini lebih singkat dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Sekarsari *et al.*, 2019). Ekstraksi dilakukan dengan menambahkan serbuk simplisia sebanyak 10 gram dan pelarut etanol 96% sebanyak 30mL dengan kecepatan 50 kHz, proses dilakukan berulang sebanyak 50 kali dikarenakan volume alat yang kecil hingga serbuk simplisia 500 gram dan pelarut etanol 96% sebanyak 1500mL habis. Rendemen yang dihasilkan dari proses sonikasi sebanyak 13,9%. Rendemen merupakan perbandingan antara jumlah simplisia kering yang

digunakan dengan jumlah ekstrak bersih yang dihasilkan setelah proses ekstraksi, rendemen dapat dikatakan baik jika nilai tersebut diatas 10% (Wardhaningrum *et al.*, 2019).

### 6.1.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia..dilakukan bertujuan untuk memastikan kebenaran senyawa yang terkandung dalam sampel kulit singkong daging kuning. Didapatkan hasil sampel positif mengandung adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Senyawa polifenol diyakini dapat mencegah kanker dengan bertindak sebagai antioksidan. Kemampuan flavonoid mendonorkan ion hidrogen memiliki efek antioksidan terhadap radikal bebas

Pengujian alkaloid menunjukkan hasil positif (+) ditandai dengan..terbentuknya endapan orange pada ekstrak..yang ditambahkan reagen dragendorf, dimana terbentuknya endapan dikarenakan atom nitrogen..yang mempunyai pasangan elektron bebas..pada alkaloid menggantikan ion pada pereaksi dragendorf melalui..ikatan kovalen (Blum *et al.*, 2020).

Pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terdapatnya perubahan warna menjadi merah bata pada ekstrak yang ditambahkan pereaksi Mg dan HCl, dimana perubahan warna dikarenakan penambahan Mg dan HCl yang menyebabkan terjadi reduksi senyawa flavonoid sehingga

menghasilkan berubahnya warna larutan ekstrak menjadi warna merah bata (Blum *et al.*, 2020).

Pengujian tanin menunjukkan hasil positif apabila ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hitam kebiruan. Perubahan warna tersebut..disebabkan adanya reaksi antara gugus senyawa tanin dengan reagen  $\text{FeCl}_3$ . Gugus hidroksil dari senyawa tanin bereaksi dengan reagen  $\text{FeCl}_3$  sehingga warna ekstrak menjadi biru kehitaman (Blum *et al.*, 2020).

Pengujian saponin menunjukkan hasil positif apabila ditandai dengan adanya busa stabil 1-3 cm. Penambahan HCl pada uji saponin menyebabkan meningkatkan kepolaran senyawa saponin sehingga menyebabkan perubahan letak gugus penyusunnya. Dalam keadaan ini, gugus polar (hidrofilik) menghadap ke luar dan gugus nonpolar (hidrofobik) menghadap ke dalam, membentuk struktur yang disebut struktur misel. Hal ini menyebabkan timbulnya busa yang merupakan tanda adanya senyawa saponin pada ekstrak (Blum *et al.*, 2020). Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 5.4

## **6.2 Aktivitas Antioksidan Kulit Singkong (*Manihot esculenta*) Daging Kuning**

Panjang gelombang teoritis menurut Sinala *et al* (2019) untuk pengukuran..DPPH adalah 515 nm sampai 520 nm. Panjang gelombang maksimum ditentukan dari deteksi hasil serapan tertinggi larutan DPPH. Pengukuran ini dilakukan pada panjang gelombang maksimum larutan DPPH dalam etanol p.a dengan spektrofotometri UV-Vis dalam rentang panjang gelombang dari 400nm sampai 800nm, hasil serapan..maksimum menunjukkan bahwa panjang gelombang yang digunakan dalam penelitian ini adalah 516 nm. Perbedaan setiap pengukuran terjadi dikarenakan beberapa faktor salah satunya dikarenakan perbedaan instrumen yang digunakan (Ramadhan, 2022).

Penelitian lebih lanjut dilakukan dengan mengoptimalkan waktu inkubasi untuk menentukan waktu optimal suatu zat atau sampel bereaksi secara optimal. Sampel kuersetin dibuat pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm pada masing-masing pipet dan ditambahkanlarutan DPPH, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan waktu 0-60 menit. Kemudian, hasil serapan diolah hingga diperoleh persamaan regresi linier antara min 0-min 60. Pemilihan waktu optimum dipilih menggunakan parameter nilai  $R^2$  mendekati 1 (Setiani, 2017). Hair (2011) menyatakan bahwa nilai  $R^2$  sebesar 0,75 hingga 1 termasuk dalam kategori kuat. Dari hasil penentuan optimasi waktu inkubasi menunjukkan hasil bahwa absorbansi stabil pada

menit ke 30 dengan nilai  $R^2$  0,9947. Hasil optimasi waktu inkubasi dapat dilihat pada tabel 5.6

Uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH terhadap kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning menunjukkan adanya perubahan warna dari warna ungu menjadi warna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa quercetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning mempunyai aktivitas antioksidan. DPPH merupakan radikal bebas stabil berwarna ungu tua. Ketika DPPH bereaksi dengan senyawa yang mengandung antioksidan, warna ungu senyawa DPPH berubah menjadi kuning setelah penambahan antioksidan, terutama bila elektron dari DPPH bergabung dengan hidrogen antioksidan (Januarti *et al.*, 2019). Konsentrasi sampel dapat mempengaruhi nilai serapan, apabila semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin rendah nilai serapannya dan apabila semakin kecil sehingga menyebabkan persentase redaman yang lebih tinggi. (Nugroho, 2021). Parameter aktivitas antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang digunakan untuk mengais radikal DPPH hingga 50% yang diperoleh dari regresi linier dari konsentrasi kuersetin dan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning.

Dari hasil penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning menggunakan pembanding kuersetin dengan replikasi sebanyak tiga kali kemudian didapatkan rata-rata nilai IC<sub>50</sub> sampel sebesar 63,55  $\mu\text{g/mL}$  dengan kategori kuat dan pembanding

kuersetin didapatkan rata-rata nilai  $IC_{50}$  sebesar 21,75  $\mu\text{g/mL}$  dengan kategori sangat kuat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Gagola *et al* (2014) tentang uji aktivitas antioksidan pada sampel kulit singkong daging putih dan daging kuning dengan metode refluks memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 89,6  $\mu\text{g/mL}$  dengan artian aktivitas antioksidannya lebih besar dibandingkan dengan penelitian dengan metode sonikasi memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 63,55  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka akan semakin baik aktivitas antioksidannya serta besarnya nilai  $IC_{50}$  disebabkan oleh sedikitnya metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu senyawa yang digunakan sebagai antioksidan dan berdasarkan sifat kepolaran pelarut yang digunakan (Husein *et al.*, 2015). Singkong kuning memiliki kandungan Vitamin C, Vitamin C merupakan antioksidan yang mampu menetralkan *stress* oksidatif melalui proses transfer elektron sehingga dapat menghambat terjadinya kerusakan sel dalam tubuh yang berperan dalam menjaga kesehatan (Wibawa *et al.*, 2020).

### 6.3 Analisa Data

Analisa data dilakukan sesuai dengan langkah-langkah yang diterapkan oleh Maghfiroh pada tahun 2020. Nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol kulit singkong daging kuning yang telah didapatkan dari hasil penelitian kemudian diolah. Uji normalitas dan uji homogenitas sebagai syarat analisis independen uji T. semua data  $IC_{50}$  dianalisis menggunakan independent T-test untuk mengetahui perbedaan  $IC_{50}$  antara sampel

ekstrak etanol kulit singkong daging kuning dengan pembading kuersetin. Dikatakan berdistribusi normal apabila data memiliki nilai  $>0,05$  data yang didapatkan pada uji normalitas yaitu 0,541 untuk kuersetin dan 0,774 untuk ekstrak, kedua data tersebut terdistribusi normal. Pada uji homogenitas dikatakan homogen. karena nilai signifikan  $>0,05$  yaitu 0,553. Hasil uji statistik T-test menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.000 Nilai yang diperoleh kurang dari nilai yang ditentukan yaitu  $< 0,005$  sehingga nilai IC50 quercetin dan nilai IC50 ekstrak etanol daging kuning yang berbeda signifikan terdapat pada kulit singkong

Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dibandingkan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning dikarenakan kuersetin termasuk salah satu flavonol dari kelompok senyawa flavonoid polifenol dan terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Maulana K *et al.*, 2019). Aktivitas antioksidan ekstrak terbilang lebih rendah dikarenakan masih mengandung beberapa jenis senyawa yang aktivitas antioksidan didalamnya belum diketahui secara pasti.

## **BAB 7 PENUTUP**

### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwasannya ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.
- 2) Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 63,55 µg/mL yang termasuk kategori antioksidan kuat.

### **7.2 Saran**

Dari penelitian yang telah dilakukan, diusulkan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

- 1) Perlu dilakukan uji analisis kuantitatif untuk mengetahui penetapan kadar metabolit sekunder hasil skrining pada kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning.
- 2) Ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta*) daging kuning dibuat suatu formulasi sediaan farmasi yang memiliki khasiat sebagai antioksidan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achyadi, N. S. 2019. Pengaruh Bahan Pengekstrak Terhadap Karakteristik Ekstrak Senyawa Fungsional Dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Pasundan Food Technology Journal (Pftj)*, 6(1), 23-30.
- Agustina, E., Andiarna, F., & Hidayati, I. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (*Black garlic*) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(1), 39-50.
- Blum, R., Putri, D. M., & Lubis, S. S. (2020). *Skrining Fitokimia*. 2(3), 120–125.
- Diana, A. 2022. *Skripsi*. Pengaruh Metode Ekstraksi Sonikasi Dan Maserasi Kinetik Terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus Kunth.*) Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Dr. Soebandi Jember.
- Fajrullah, A. 2014. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder Lamun *Thalassodendron ciliatum* Pada Pelarut Berbeda. FIKP UMRAH, Tanjung Pinang.
- Firdiyani, F., Agustini, T.A., dan Ma'ruf, W.F. 2015, Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami Spirulina platensis Segar dengan Pelarut yang Berbeda, *jurnal.ipb.ac.id/index.php/jphpi* 18: 28-37.
- Fitriana, Wiwit Denny, dkk. 2015. Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains. ISBN : 978-602-19655-8-0.
- Gagola, C., E. Suryanto dan D. Wewengkang. 2014. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Ubi Kayu (*Manihot Esculenta*) Daging Putih dan Daging Kuning yang Diambil dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talaud. *J. Ilmu. Farmasi*. 3 (2) : 127-133.
- Gardjito, Murdijati, dkk. 2013. Pangan Nusantara Karakteristik dan Prospek untuk Percepatan Diversifikasi Pangan. Jakarta: Kencana Prenada Media Group.
- Ghozali, Imam. 2018. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program IBM SPSS* 25. Badan Penerbit Universitas Diponegoro: Semarang.
- Hair, Jr., Joseph F., et. al. 2011. Multivariate Data Analysis. Fifth Edition. New Jersey: PrenticeHall, Inc.
- Handayani. R., & Wijayanti. H. T., 2018. Analisis kualitas produk dan kualitas pelayanan dalam meningkatkan loyalitas pelanggan dengan kepuasan pelanggan sebagai variabel intervening (studi pada home industri *frozen food*). Paper presented at Seminar Nasional Edusainstek FMIPA UNIMUS 2018.

- Hikmawanti, Ni P.E., Delly Ramadon, Ibrahim Jantan, and Abdul Mun'im. 2021. *Natural Deep Eutectic Solvents (NADES): Phytochemical Extraction Performance Enhancer for Pharmaceutical and Nutraceutical Product Development*. *Journal Plants* 10, no. 10: 2091.
- Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., & Nisa, Z. (2019). Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2), 60.
- Jati, Anisa Rahma. 2018. skripsi i Perbedaan Kadar Total Protein Berdasarkan Penggunaan Kuvet Dan Tabung Reaksi Baru. Fakultas Ilmu Keperawatan Dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Jurni, 2020. Pengaruh Pemberian Singkong Kukus (*Manihot Esculenta Cratz*) Terhadap Kadar Glukosa Pada Mecit (*Mus Musculus*). Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surabaya.
- Karnakar, N., Ramana, H., Amani, P., Tharun, D. S., Nagaraju, M., & Sharma, S. B. (2020). Analytical Method Development And Validation Of Diclofenac Sodium By UV-Visible Spectroscopy Using AUC Method. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 7(1), 20-24.
- Kemenkes RI. 2010. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI
- Lopez,S.,Talia Wegman-Ostrosky.,Carol Perelman.,Rosalinda Sepulveda.,Paulina A Rebolledo.,Angelica Cuapio., et al. 2021.*More than 50 Long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis* .MedRxiv the preprint server for Health Sciences.
- Maghfiroh, A. N. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) Menggunakan Metode Inhibisi Enzim  $\alpha$ -amilase Secara in Vitro (Doctoral dissertation).
- Marjoni R. Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi. Jakarta: Trans Info Media; 2016.
- Maulana K, A., Naid, T., Dharmawat, D. T., & Pratama, M. (2019). Analisa Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lam*) dengan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Bionature*, 20(1), 27–33.
- Muthmainnah. 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) Dengan Metode Uji Warna. Xiii(2), 1–14.
- Misna Diana, K. 2016. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Antibacterial *Lacticity Extract Of Garlic ( Allium cepa L.) Skin Agains Staphylococcus*

- aureus. Galenika*, 3(March), 84–90.
- Muller *et.al* 2021. Antioxidant Potential Of Extract From Peels And Stems Of Yellow-Fleshed And White Cassava Varieties. *International Journal Of Food Science And Technology*. Vol 56 (1333-1342).
- Natsir, A, Ismartoyo, A. Mujnisa, Rinduwati, Syamsuddin, dan Munir. 2020. Komposisi serat jerami padi yang difermentasi menggunakan biodecomposer yang dikembangkan dari bakteri rumen kerbau. Prosiding Webinar Nasional Sapi Kerbau IV. Padang.
- Novioella, Anna Maeda, 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris mill.*) Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Pambudi, S. 2013. Budidaya dan Khasiat Kedelai Edamame Camilan Sehat dan Multi Manfaat. Pustaka Baru Press. Yogyakarta. 194 hal.
- Parwata, Dr. Drs I Made Oka Adi, M.Si, 2016, Bahan Ajar, Antioksidan, Program Studi Kimia Terapan PascasarjanaUniversitas Udayana.
- Pizzino, G, N. Irrera, M. Cucinotta., et al. 2017 ‘Review Article Oxidative Stress : Harms and Benefits for Human Health.
- Pratama, A., & Busman, H. 2020. Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine Max L*) Terhadap Penangkapan Radikal Bebas. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada, 9(1), 497-504.
- Pratama *et.al* 2022. Identification of antinutritional, antioxidant, and antimicrobial activity of plants that cause livestock poisoning in Bojonegoro Regency, Indonesia. *Veterinary World*. Vol 15. 213-2140.
- Putri, D.D.; D.E. Nurmagustina; dan A.A. Chandra. 2014. Kandungan total fenol dan aktivitas antibakteri kelopak buah rosela merah dan ungu sebagai kandidat feed additivealami pada broiler. Jurnal penelitian pertanian terapan. 14(3):174-180.
- Putri,AA. 2022. Pengaruh Penambahan Pure Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Karakteristik Tahu Walik. Skripsi. Poltekkes Kemenkes Denpasar.
- Rahamwati,: Sinardi,: Iryani, Sry A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Brokoli (*Brassica oleracea L. VarItalica*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Teknik Kimia Universitas Fajar. Makasar. 2017.
- Rahayu, S. 2017. Isolasi Pektin Dari Kulit Pepaya (*Carica papaya L.*) Dengan Metode Refluks Menggunakan Pelarut Hcl Encer. Skripsi. Politeknik Negeri Sriwijaya Palembang.

- Richana, Nur. 2012. Ubi Kayu dan Ubi Jalar. Bandung: Nuansa Cendikiawa.
- Ricki Hardiana,. Rudiansyah, Zaharah. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili *Malvaceae*. J. Kim. Khatulistiwa. 2012. 8-13.
- Risnadewi *et al* 2019. Efektivitas Sediaan Salep Limbah Kulit Singkong Sebagai Penyembuh Luka. Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan. Vol. 5 No.2 pp:133-140.
- Rizkio *et al*, 2021. Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Jurnal surya medika Vol 7 No 1 Agustus 2021, Page 15 –2 4.
- Sayuti, K.; Rina Yenrina: Antioksidan Alami dan Sintetik; Andalas Univesity Press: Padang, 2015.
- Sekarsari *et al*, 2020. Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. Vol. 8, No. 3, 267-277.
- Setiani, 2017. Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa* L.) Dengan Metode Maserasi Dan MAE (*Microwave assisted extraction*). 7(2), 15-22.
- Sinala *et al*, 2019. Penentuan Aktivitas Antioksidan Secara In Vitro Dari Ekstrak Eanol Propolis Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Media Farmasi. Vol 15 No. 1.
- Suarsa, I.Wayan., 2015, Spektroskopi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayanan, Bali.
- Suharti, T. 2013. *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: CV. Anugrah Utama Raharja.
- Suryadinata. 2018. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). *Literature Review* , 317-324.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Determinasi Tanaman

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: 42/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1061/FIKES.UDS/U/III/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Fatika Elprina Nur Magfiroh  
NIM : 19040045  
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, 10 Maret 2023  
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu  
  
Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
NIP. 197106212001121001



**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>

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
 Revisi : 0

Lampiran : 1 Berkas  
 Perihal : Identifikasi Klasifikasi dan Morfologi Ketela Pohon sebagai Kajian Skripsi  
 Nama Peneliti : Fatika Elprina Nur Maghfiroh (Universitas dr. Soebandi)  
 Judul Skripsi : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong (*Manihot esculenta*)  
                  Daging Kuning dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)  
 Pengidentifikasi : Ujang Tri Cahyono, SP.MM

#### **Hasil Identifikasi Klasifikasi Tanaman Ketela Pohon/ Singkong**

Hasifikasi Tanaman Ketela Pohon/ Singkong:  
 Kingdom/Regnum : Plantae  
 Divisio : Spermatophyta  
 Sub Divisio : Magnoliophyta  
 Kelas : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)  
 Ordo : Euphorbiales  
 Famili : Euphorbiaceae  
 Genus : Manihot  
 Spesies : *Manihot esculenta*, Crantz

#### **Kunci Determinasi Tanaman Ketela Pohon/ Singkong**

Kunci Determinasi	Keterangan	
1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15b, 197a, 198b, 200b, 201b, 202b, 203b, 204b, 205b, 206b, 207b, (67) Family: <b>Euphorbiaceae</b> ,	1b	Tumbuh-tumbuhan dengan bunga sejati. Sedikit-dikitnya dengan benang sari dan atau putik. Tumbuh-tumbuhan berbunga.....2
1b, 3a, 4b, 5b, 6b, 7a, 8a (6) genus: <i>Manihot</i> , spesies: <i>Manihot esculenta</i> , Crantz	2b	Tidak ada alat pembelit. Tumbuh-tumbuhan dapat juga memanjang atau membentuk (dengan batang,poros daun atau tangkai daun).....3
	3b	Daun tidak berbentuk jarum atau tidak terdapat dalam berkas tersebut diatas.....4
	4b	Tumbuh-tumbuhan tidak menyerupai bangsa rumput. Daun dan atau bunga berlainan dengan yang diterangkan diatas.....6
	6b	Dengan daun yang jelas.....7

	7b	Bukan tumbuh-tumbuhan bangsa palem atau yang menyerupainya.....9
	9b	Tumbuh-tumbuhan tidak memanjang dan tidak membelit.....10
	10b	Daun tidak tersusun demikian rapat menjadi roset.....11
	11b	Tidak demikian. Ibu tulang daun dapat dibedakan jelas dari jaring urat daun dan dari anak cabang tulang daun yang kesamping dan serong keatas.....12
	12b	Tidak semua daun dalam karangan. Atau tidak ada daun sama sekali.....13
	13b	Tumbuh-tumbuhan berbentuk lain.....14
	14a	Daun tersebar, kadang-kadang sebagaimana berhadapan ...15
	15b	Daun majemuk menjari atau majemuk menyirip atau juga tunggal, kalau demikian tentu berbagi menyirip rangkap sampai bercangap menyirip rangkap (golongan 9) .....197
	197a	Daun terdiri atas 2-3 helai anak daun atau daun majemuk menjari.....198
	198b	Daun kebanyakan terdiri atas lebih dari 2 helai anak daun .....200
	200b	Bunga tidak tertancap di antara 2 kelenjar. Tumbuh-tumbuhan tanpa rambut lendir.....201
	201b	Daun tersusun cara lain.....202
	202b	Bunga beraturan.....203
	203b	Daun tanpa bintik minyak yang transparant.....204
	204b	Tumbuh-tumbuhan lain.....205
	205b	Perdu atau Pohon.....206
	206b	Anak daun 3.....207
	207a	Bunga berkelamin 1, dalam setiap malai bunga jantan jauh lebih banyak dari pada bunga betina. Tumbuh-tumbuhan bergetah putih.....67. <i>Euphorbiaceae</i>
	1b	Bunga tidak dalam cyathia.....3
	3a	Daun majemuk menjari, atau berbagi menjari, atau jelas bertulang daun menjari (kerapkali daun hanya pada pangkalnya yang bertulang daun menjari, selainnya itu bertulang daun menyirip. Juga tanaman semacam ini dimaksudkan di atas)...4
	4b	Daun tidak majemuk.....5
	5b	Tanda bekas tidak bentuk cincin.....6
	6b	Tanaman lain.....7

	7a	Daun bersudut, berlekuk, bercangap atau berbagi.....8
	8a	Daun mahkota tidak ada. Getah ada.....6. <i>Manihot</i>
		spesies: <i>Manihot esculenta</i> , Crantz

#### REFERENSI

- C.G.G.J. Van Steenis, G. Den Hoed, S. Bloembergen, dan P.J. Eyma. 2005. *Flora*. PT. Pradnya Paramita: Jakarta.
- C.G.G.J. Van Steenis. 2010. *Flora Pegunungan Jawa (The Mountain Flora of Java)*. Pusat Penelitian Biologi-LIPI: Bogor.
- Muzayyinah. 2008. *Terminologi Tumbuhan*. LPP UNS dan UNS Press: Surakarta.
- Rosanti, D. 2013. *Morfologi Tumbuhan*. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.



Mengetahui,  
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu  
Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
NIP. 197106212001121001

Jember, 10 Maret 2023  
Dibuat oleh  
Ujang Tri Cahyono, S.P.M.M  
NIP. 198107082006041003

**Lampiran 2. Proses Pembuatan Ekstrak**

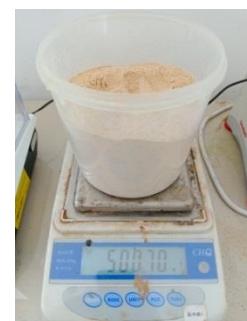
Sortasi Basah



Pengeringan



Serbuk Simplisia



Proses Sonikasi



Waterbath



### Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

- Perhitungan rendemen ekstrak etanol kuit singkong daging kuning

Diketahui:

- Berat simplisia : 500 gram
- Berat ekstrak kental : 69,5 gram

$$\text{Rendemen (\%)}: \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

$$: \frac{69,5 \text{ gram}}{500 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$: 13,9\%$$

**Lampiran 4. Skrining Fitokimia**

<b>Senyawa Metabolit Sekunder</b>	<b>Hasil Skrining Fitokimia</b>
Flavonoid	
Alkaloid	
Saponin	
Tanin	

## Lampiran 5. Perhitungan Larutan Induk DPPH dan Kuersetin

- **Larutan induk DPPH 50 ppm**

$$\text{DPPH } 50 \text{ ppm} : \frac{x}{100 \text{ mL}} \times 1000 = 5 \text{ mg}$$

- **Larutan induk kuersetin 100 ppm**

$$\text{Kuersetin } 100 \text{ ppm} : \frac{x}{20 \text{ mL}} \times 1000 = 2 \text{ mg}$$

- **Pengenceran untuk uji aktivitas antioksidan**

$$\mathbf{M}_1 \times \mathbf{V}_1 = \mathbf{M}_2 \times \mathbf{V}_2$$

$$5 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ppm} = 0,5 \text{ mL}$$

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

$$15 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 15 \text{ ppm} = 1,5 \text{ mL}$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 20 \text{ ppm} = 2 \text{ mL}$$

$$25 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 25 \text{ ppm} = 2,5 \text{ mL}$$

- **Pembuatan Larutan Uji Ekstrak**

Larutan ekstrak 1000 ppm:  $\frac{x}{10 \text{ mL}} \times 1000 = 10 \text{ mg}$

- **Pengenceran larutan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit singkong daging kuning**

$$\mathbf{M_1} \times \mathbf{V_1} = \mathbf{M_2} \times \mathbf{V_2}$$

$$50 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 50 \text{ ppm} = 0,5 \text{ mL}$$

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

$$150 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 150 \text{ ppm} = 1,5 \text{ mL}$$

$$200 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 200 \text{ ppm} = 2 \text{ mL}$$

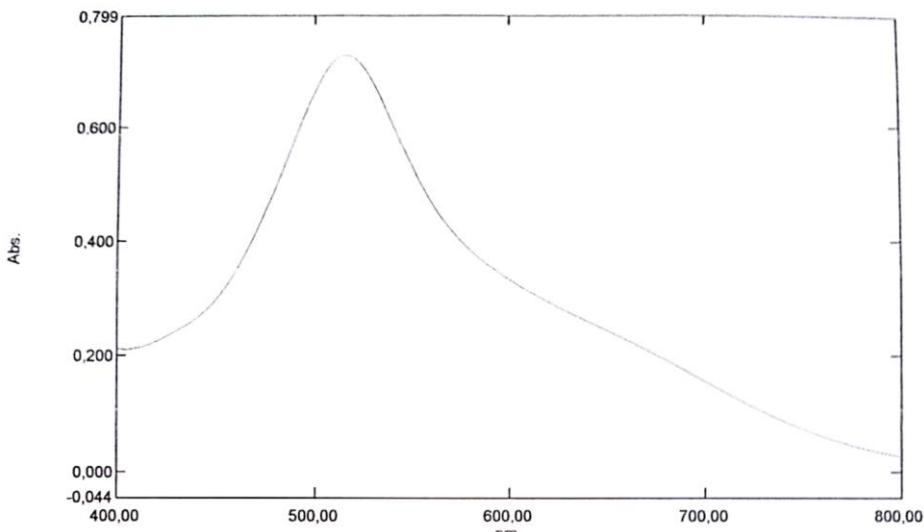
$$250 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} \times 250 \text{ ppm} = 2,5 \text{ mL}$$

## Lampiran 6. Optimasi Panjang Gelombang

### Spectrum Peak Pick Report

29/05/2023 08:44:37

Data Set: panjang gelombang fatika - 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 nm.	Abs.	Description
1	●	516.00	0.729	
2	●	405.00	0.211	

**[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]**

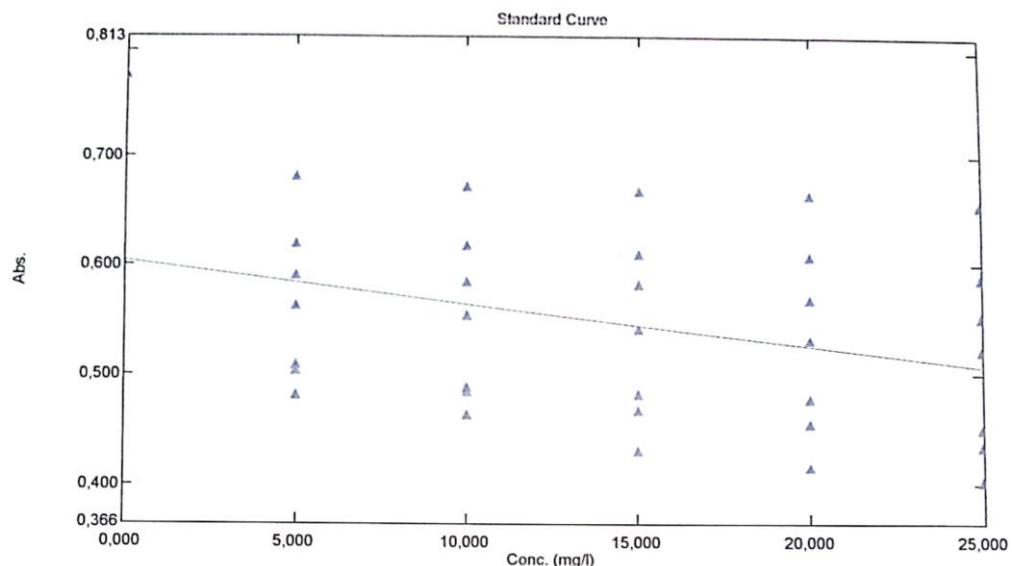
Weight:  
 Volume:  
 Dilution:  
 Path Length:  
 Additional Information:

## Lampiran 7. Optimasi Waktu Inkubasi

### Standard Table Report

08/06/2023 07:31:10

File Name: E:\devi\ekalinkubasi\fatika.pho



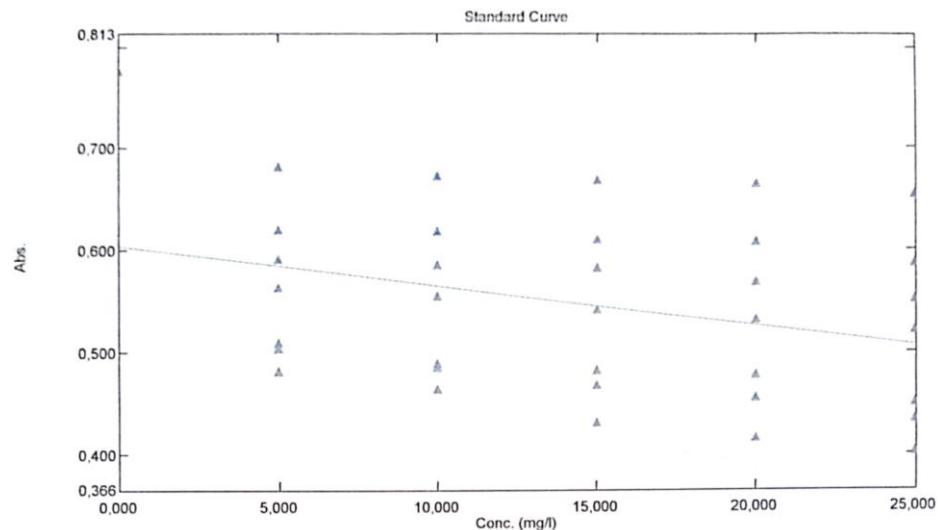
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Wgt.Factor	Comments
1	blanko	Standard		0.000	0.776	1.000	
2	kons1mnt0	Standard		5.000	0.682	1.000	
3	kons2mnt0	Standard		10.000	0.673	1.000	
4	kons3mnt0	Standard		15.000	0.669	1.000	
5	kons4mnt0	Standard		20.000	0.664	1.000	
6	kons5mnt0	Standard		25.000	0.654	1.000	
7	kons1mnt10	Standard		5.000	0.620	1.000	
8	kons2mnt10	Standard		10.000	0.619	1.000	
9	kons3mnt10	Standard		15.000	0.611	1.000	
10	kons4mnt10	Standard		20.000	0.608	1.000	
11	kons5mnt10	Standard		25.000	0.587	1.000	
12	kons1mnt20	Standard		5.000	0.501	1.000	
13	kons2mnt20	Standard		10.000	0.586	1.000	
14	kons3mnt20	Standard		15.000	0.583	1.000	
15	kons4mnt20	Standard		20.000	0.568	1.000	
16	kons5mnt20	Standard		25.000	0.551	1.000	
17	kons1mnt30	Standard		5.000	0.564	1.000	
18	kons2mnt30	Standard		10.000	0.556	1.000	

## Standard Table Report

08/06/2023 07:31:10

File Name: E:\devi\ekavinkubasi\fatika\pho



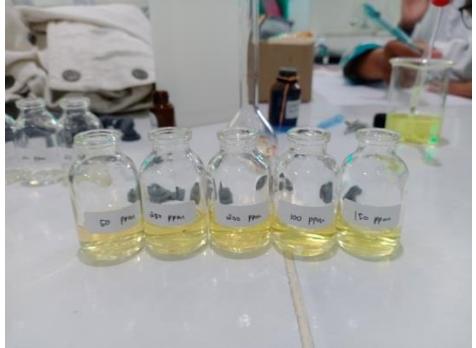
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Wgt.Factor	Comments
19	kons3mnt30	Standard		15.000	0.542	1.000	
20	kons4mnt30	Standard		20.000	0.532	1.000	
21	kons5mnt30	Standard		25.000	0.522	1.000	
22	kons1mnt40	Standard		5.000	0.504	1.000	
23	kons2mnt40	Standard		10.000	0.490	1.000	
24	kons3mnt40	Standard		15.000	0.483	1.000	
25	kons4mnt40	Standard		20.000	0.478	1.000	
26	kons5mnt40	Standard		25.000	0.450	1.000	
27	kons1mnt50	Standard		5.000	0.509	1.000	
28	kons2mnt50	Standard		10.000	0.486	1.000	
29	kons3mnt50	Standard		15.000	0.469	1.000	
30	kons4mnt50	Standard		20.000	0.455	1.000	
31	kons5mnt50	Standard		25.000	0.434	1.000	
32	kons1mnt60	Standard		5.000	0.482	1.000	
33	kons2mnt60	Standard		10.000	0.464	1.000	
34	kons3mnt60	Standard		15.000	0.431	1.000	
35	kons4mnt60	Standard		20.000	0.416	1.000	
36	kons5mnt60	Standard		25.000	0.403	1.000	

### Lampiran 8. Optimasi Waktu Inkubasi

<b>Menit</b>	<b>Konsentrasi</b>	<b>Abs Sampel</b>	<b>%Inhibisi</b>	<b>Persamaan Regresi</b>
0	5	0,682	12,113	
	10	0,673	13,273	$y = 0,1676x + 11,348$
	15	0,669	13,788	$R^2 = 0,9751$
	20	0,664	14,432	
	25	0,654	15,721	
10	5	0,620	20,103	
	10	0,619	20,231	$y = 0,1982x + 18,543$
	15	0,611	21,262	$R^2 = 0,8343$
	20	0,608	21,649	
	25	0,587	24,355	
20	5	0,591	23,840	
	10	0,586	24,484	$y = 0,2524 + 22,01$
	15	0,583	24,871	$R^2 = 0,9036$
	20	0,568	26,804	
	25	0,551	28,994	
30	5	0,564	27,319	
	10	0,556	28,350	$y = 0,2786x + 25,817$
	15	0,542	30,154	$R^2 = 0,9947$
	20	0,532	31,443	
	25	0,522	32,731	
40	5	0,504	35,051	
	10	0,490	36,855	$y = 0,3094x + 33,371$
	15	0,483	37,757	$R^2 = 0,909$
	20	0,478	38,402	
	25	0,450	42,010	
50	5	0,509	34,407	$y = 46,392x + 32371$
	10	0,486	37,371	$R^2 = 0,9918$
	15	0,469	39,561	
	20	0,456	41,237	
	25	0,434	44,072	
60	5	0,482	37,886	
	10	0,464	40,206	$y = 0,531x + 35,431$
	15	0,431	44,458	$R^2 = 0,9727$
	20	0,416	46,391	
	25	0,403	48,067	
<b>Blanko</b>				<b>0,776</b>

**Lampiran 9. Dokumentasi Uji Aktivitas Antioksidan**

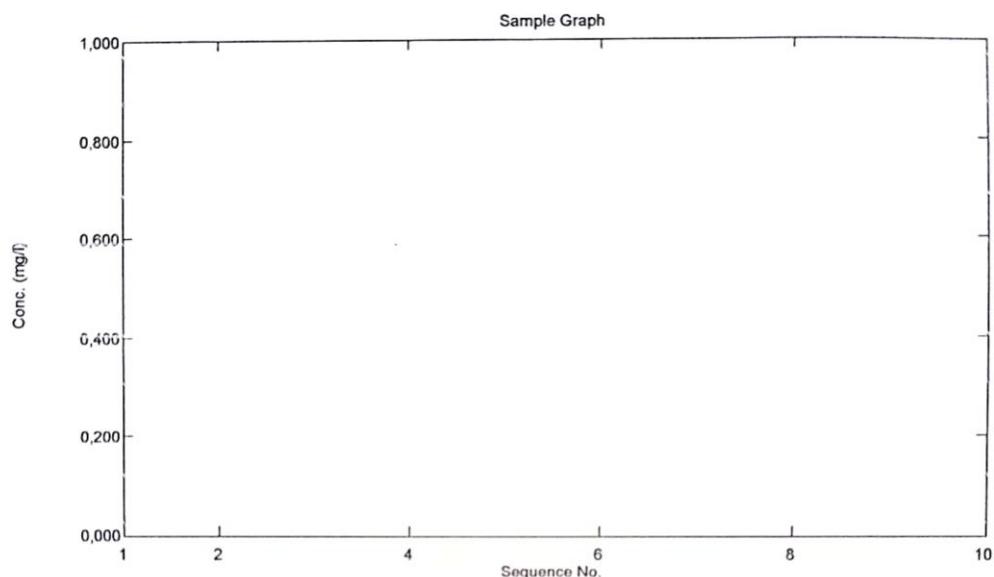
Keterangan	Dokumentasi
DPPH Sebelum dicampur Larutan Pembanding Kuersetin	
DPPH Setelah dicampur Larutan Pembanding Kuersetin	
DPPH Sebelum dicampur Larutan Sampel	
DPPH Setelah dicampur Larutan Sampel	

## Lampiran 10. Standard Table Report Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin

### Sample Table Report

08/06/2023 07.30.01

File Name: E:\devi\ekali\c50 kuersetin\l1t.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.609	
2	sampel1rep1	Unknown		*****	0.454	
3	sampel2rep1	Unknown		*****	0.411	
4	sampel3rep1	Unknown		*****	0.385	
5	sampel4:rep1	Unknown		*****	0.327	
6	sampel5rep1	Unknown		*****	0.304	
7	sampel1rep2	Unknown		*****	0.432	
8	sampel2rep2	Unknown		*****	0.391	
9	sampel3rep2	Unknown		*****	0.366	
10	sampel4rep2	Unknown		*****	0.290	
11	sampel5rep2	Unknown		*****	0.285	
12	sampel1rep3	Unknown		*****	0.418	
13	sampel2rep3	Unknown		*****	0.380	
14	sampel3rep3	Unknown		*****	0.344	
15	sampel4rep3	Unknown		*****	0.285	
16	sampel5rep3	Unknown		*****	0.264	
17						

### Lampiran 11. Perhitungan IC<sub>50</sub> Uji Aktivitas Antioksidan Kuersetin

$$\% \text{ Inhibisi} : \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

Replikasi 1

Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
5	0,454	25,451	
10	0,411	32,512	
15	0,385	36,781	24,33
20	0,327	46,305	
25	0,304	50,082	
<b>Blanko</b>	<b>0,609</b>		

Replikasi 2

Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
5	0,432	29,064	
10	0,391	35,796	
15	0,366	39,901	21,11
20	0,290	52,380	
25	0,285	53,201	
<b>Blanko</b>	<b>0,609</b>		

Replikasi 3

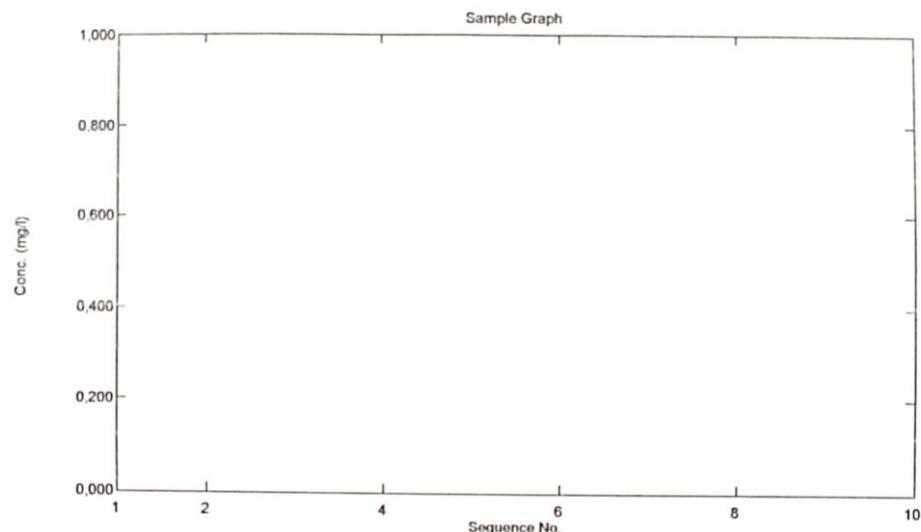
Konsentrasi (Ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
5	0,418	31,362	
10	0,380	37,602	
15	0,344	43,513	19,18
20	0,285	53,201	
25	0,264	56,650	
<b>Blanko</b>	<b>0,609</b>		

**Lampiran 12. Standard Table Report Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Kuning**

**Sample Table Report**

08/06/2023 07:06:48

File Name: C:\Users\ACER\Documents\Fatikahh\sampel fatika.pho



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL516,0	Comments
1	blanko	Unknown		*****	0.641	
2	sampel1rep1	Unknown		*****	0.325	
3	sampel2rep1	Unknown		*****	0.308	
4	sampel3rep1	Unknown		*****	0.298	
5	sampel4rep1	Unknown		*****	0.290	
6	sampel5rep1	Unknown		*****	0.265	
7	sampel1rep2	Unknown		*****	0.326	
8	sampel2rep2	Unknown		*****	0.305	
9	sampel3rep2	Unknown		*****	0.296	
10	sampel4rep2	Unknown		*****	0.288	
11	sampel5rep2	Unknown		*****	0.265	
12	sampel1rep3	Unknown		*****	0.326	
13	sampel2rep3	Unknown		*****	0.306	
14	sampel3rep3	Unknown		*****	0.297	
15	sampel4rep3	Unknown		*****	0.287	
16	sampel5rep3	Unknown		*****	0.266	
17						

**Lampiran 13. Perhitungan IC<sub>50</sub> Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Singkong Daging Kuning**

$$\% \text{ Inhibisi} : \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

Replikasi 1

Konsentrasi (Ppm)	Absoransi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
50	0,325	49,297	
100	0,308	51,950	
150	0,298	53,510	65,48
200	0,289	54,914	
250	0,265	58,658	
<b>Blanko</b>	<b>0,641</b>		

Replikasi 2

Konsentrasi (Ppm)	Absoransi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
50	0,326	49,141	
100	0,305	52,418	
150	0,296	53,822	61,88
200	0,288	55,070	
250	0,265	58,658	
<b>Blanko</b>	<b>0,641</b>		

Replikasi 3

Konsentrasi (Ppm)	Absoransi	% Inhibisi	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
50	0,326	49,141	
100	0,306	52,262	
150	0,297	53,666	63,31
200	0,287	55,226	
250	0,266	58,502	
<b>Blanko</b>	<b>0,641</b>		

## Lampiran 14. Hasil Uji Statistik Sampel dan Pembanding

### 1) Uji Normalitas (*Shapiro wilk*)

**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
nilai ic50 kuersetin	,232	3	.	,980	3	,726
ekstrak	,221	3	.	,986	3	,774

a. Lilliefors Significance Correction

### 2) Uji Homogenitas (*Oneway*)

**Test of Homogeneity of Variances**

nilai ic50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,417	1	4	,553

### 3) Uji Independent T-test

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
nilai ic50	,417	,553	-22,951	4	,000	-42,01667	1,83075	-47,09964	-36,93369	
			-22,951	3,571	,000	-42,01667	1,83075	-47,34956	-36,68378	