



KADAR TOTAL SENYAWA FENOLIK, FLAVONOID, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR DAN EKSTRAK METANOL DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agr

University

LIA KUSUMA DEWI



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Diliindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul Kadar Total Senyawa Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, September 2014

Lia Kusuma Dewi
NIM G84100035

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



ABSTRAK

LIA KUSUMA DEWI. Kadar Total Senyawa Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz). Dibimbing oleh HASIM dan SYAMSUL FALAH.

Manihot esculenta Crantz atau singkong merupakan tanaman yang telah dikenal masyarakat namun pemanfaatan daunnya masih terbatas sebagai bahan tambahan pakan ternak. Daun singkong diketahui mengandung mineral seperti Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Ca, P, K, S, mengandung protein kasar, β -karoten dan memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid, fenolik, serta mengandung klorofil yang merupakan salah satu antioksidan alami. Tujuan penelitian ini adalah menentukan kadar fenolik total, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dari ekstrak air dan ekstrak metanol simplisia daun singkong dan daun singkong rebus secara *in vitro*. Ekstraksi daun singkong dilakukan dengan metode maserasi untuk memperoleh ekstrak metanol dan metode infundasi untuk memperoleh ekstrak air. Berdasarkan uji fitokimia, daun singkong mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, dan saponin. Kadar fenolik dan flavonoid total tertinggi terdapat pada ekstrak metanol simplisia daun singkong yaitu sebesar 30.57 mg GAE/g dan 881.33 mg RE/g. Ekstrak daun singkong berpotensi sebagai antioksidan dengan penghambatan DPPH tertinggi dihasilkan oleh ekstrak metanol simplisia daun singkong yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 92.10 mg/L dan diikuti ekstrak metanol daun rebus, ekstrak air simplisia, dan ekstrak air daun rebus.

Kata kunci: antioksidan, daun singkong, DPPH, fenolik, flavonoid.

ABSTRACT

LIA KUSUMA DEWI. Total Phenolic Contents, Flavonoid, and Antioxidant Activity of Water Extract and Methanol Extract of Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz). Supervised by HASIM and SYAMSUL FALAH.

Manihot esculenta Crantz or cassava is a plant that has been known, but their leaves utilization is still limited as animal feed additives. Cassava leaves contain mineral such as Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Ca, P, K, S, contain crude protein, β -carotene and have an active compound of flavonoids, phenolic, and contain chlorophyll which is a natural antioxidant. The purpose of this study were to determine the levels of total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of the water extracts and methanol extracts of simplicia and boiled cassava leaves *in vitro*. Cassava leaves extraction was done by maceration method to obtain the methanol extract and infundation method to get the water extract. Based on phytochemical test, cassava leaves contain alkaloids, flavonoids, phenolic, tannins, and saponins. The highest levels of total phenolics and flavonoids contained in the methanol extract of simplicia, 30.57 mg GAE/g and 881.33 mg RE/g. Cassava leaves extract has potential as an antioxidant with the highest inhibition of DPPH radicals produced by the methanol extract of simplicia which have IC_{50} values of 92.10 mg/L and followed by methanol extract of boiled leaves, water extract of simplicia, and water extract of boiled leaves.

Keywords: antioxidant, cassava leaves, DPPH, flavonoids, phenolics.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memunculkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agr

University

KADAR TOTAL SENYAWA FENOLIK, FLAVONOID, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR DAN EKSTRAK METANOL DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)

LIA KUSUMA DEWI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains
pada
Departemen Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Diliindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Tanggal Lulus:

Judul Skripsi : Kadar Total Senyawa Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz)
Nama : Lia Kusuma Dewi
NIM : G84100035

Disetujui oleh

Dr drh Hasim, DEA
Pembimbing I

Dr Syamsul Falah, SHut MSi
Pembimbing II

Diketahui oleh

Dr Ir I Made Artika, MAppSc
Ketua Departemen

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Biokimia mkkppb (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Februari 2014 hingga Mei 2014 ini adalah antioksidan dengan judul Kadar Total Senyawa Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

Terima kasih penulis sampaikan kepada Dr drh Hasim, DEA dan Dr Syamsul Falah, SHut MSi selaku pembimbing. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada ibu, ayah, adik, dan seluruh keluarga atas doa serta semangat yang telah diberikan selama ini. Terima kasih penulis sampaikan juga kepada teman-teman di Laboratorium Biokimia, laboran, Elmita, dan seluruh mahasiswa Biokimia 47 yang turut serta mendukung penelitian ini. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi bidang biokimia dan masyarakat.

Bogor, September 2014

Lia Kusuma Dewi

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
PENDAHULUAN	1
METODE PENELITIAN	2
Bahan	2
Peralatan	2
Prosedur Percobaan	2
HASIL	5
Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Daun Singkong	5
Komponen Fitokimia Ekstrak Daun Singkong	6
Kadar Total Senyawa Fenolik	6
Kadar Total Flavonoid	7
Aktivitas Antioksidan	7
PEMBAHASAN	8
Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Daun Singkong	8
Komponen Fitokimia Ekstrak Daun Singkong	9
Kadar Total Senyawa Fenolik	9
Kadar Total Flavonoid	10
Aktivitas Antioksidan	11
SIMPULAN DAN SARAN	13
Simpulan	13
Saran	14
DAFTAR PUSTAKA	14
LAMPIRAN	17
RIWAYAT HIDUP	26

Hak Cipta Diliindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR TABEL

1	Komponen fitokimia ekstrak daun singkong	6
2	Kadar flavonoid total ekstrak air dan ekstrak metanol daun singkong	7
3	Aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol daun singkong	7

DAFTAR GAMBAR

1	Rendemen daun singkong	6
2	Kadar fenolik total ekstrak daun singkong.	7
3	Reaksi oksidasi senyawa rutin	13
4	Reaksi reduksi DPPH oleh donor atom hidrogen seperti senyawa flavonoid menjadi DPP Hidrazin	13

DAFTAR LAMPIRAN

1	Diagram alir penelitian	18
2	Kadar air daun singkong	19
3	Rendemen daun singkong	19
4	Hasil analisis fitokimia	20
5	Kadar fenolik total	20
6	Kadar flavonoid total	22
7	Perhitungan persen inhibisi dan IC_{50}	23
8	Analisis statistik menggunakan SPSS 17	24

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

PENDAHULUAN

Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman yang tergolong ke dalam famili *Euphorbiaceae* dan umum dijumpai di daerah Asia, termasuk Indonesia. Bagian singkong yang umum dimanfaatkan oleh masyarakat adalah bagian umbi sementara pemanfaatan bagian daun masih terbatas sebagai bahan tambahan pakan ternak. Daun singkong telah banyak digunakan masyarakat untuk mengobati diare, dan sakit kepala (Sastroamidjojo 2001). Daun singkong diketahui mengandung mineral, seperti Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Ca, P, K, S, mengandung protein kasar dan β -karoten (Wobeto *et al.* 2006) serta memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid dan fenolik (Faezah *et al.* 2013). Flavonoid dan fenolik merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman dan memiliki banyak fungsi, salah satunya sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan dalam daun singkong akan membantu menghambat aktivitas radikal bebas dalam tubuh dengan cara memberikan elektron pada molekul radikal bebas sehingga molekul tersebut menjadi stabil.

Daun singkong mengandung klorofil yang merupakan salah satu antioksidan alami. Hasil penelitian Alshendra (2004) menunjukkan daun singkong mengandung klorofil sebanyak 3967.5 $\mu\text{g/g}$ bahan, lebih tinggi dibanding daun katuk, daun kangkung, daun bayam, dan beberapa jenis daun lainnya. Adapun hasil penelitian Sofyaningsih (2003) menunjukkan pemberian tepung daun singkong dapat meningkatkan panjang relatif esophagus-tembolok, persentase bobot rempela, hati, dan pankreas. Daun singkong mengandung zat gizi tinggi dan dapat dijadikan sebagai pakan pokok maupun tambahan terutama untuk ternak ruminansia. Selain itu, daun singkong juga mengandung asam sianida yang bersifat racun. Kandungan asam sianida dalam daun singkong dapat dikurangi melalui proses pengeringan, perendaman dalam air, dan perebusan. Penambahan unsur S dan vitamin B 12 juga dapat menurunkan pengaruh racun asam sianida (Askar 1996).

Daun singkong umumnya diolah dengan cara direbus menggunakan air, pelarut yang umum digunakan untuk mengolah bahan pangan. Oleh karena itu perlu dikaji efektifitas penggunaan air untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dalam daun singkong dibandingkan dengan pelarut metanol yang memiliki kepolaran lebih rendah dibanding air. Penggunaan metanol ini didasarkan pada hasil penelitian Yuslinda *et al.* (2012) yang menunjukkan ekstrak metanol daun singkong memiliki daya inhibisi terhadap radikal bebas DPPH paling tinggi dibandingkan ekstrak etanol (semipolar) dan ekstrak n-heksan (nonpolar).

Menurut Ukieyanna (2012), ekstrak air tumbuhan suruhan diketahui memiliki kandungan flavonoid. Hal tersebut didukung oleh penelitian Sukrasno *et al.* (2005) yang menunjukkan ekstrak metanol:air beberapa sayuran mengandung flavonoid melalui identifikasi dengan kromatografi cair kinerja tinggi. Sementara itu, penelitian Raghavendra (2013) menunjukkan ekstrak metanol *Mentha arvensis* dan *Spinacia oleracea* positif mengandung flavonoid. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diketahui bahwa pelarut metanol dan air dapat mengekstrak kandungan senyawa flavonoid di dalam suatu tanaman.

Penelitian ini bertujuan menentukan kadar fenolik total, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dari ekstrak air dan metanol simplisia daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dan olahan secara *in vitro*. Hipotesis penelitian ini yaitu ekstrak air dan ekstrak metanol simplisia daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) mengandung flavonoid dan fenolik yang lebih tinggi dibanding daun singkong yang telah direbus. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat terhadap institusi dan masyarakat serta dapat memberikan informasi terkait manfaat daun singkong sebagai antioksidan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian, Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, yaitu dari bulan Februari hingga Mei 2014.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz), akuades, kertas saring Whatman 42, metanol, alumunium foil, asam sulfat 2M, pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorf, kloroform, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat, FeCl_3 1%, NaOH, serbuk DPPH, asam askorbat, kalium asetat 1M, AlCl_3 10%, standar rutin, reagen Folin Ciocalteu 10%, NaHCO_3 7.5%, dan standar asam galat.

Peralatan

Alat-alat yang dipakai yaitu oven, pipet Mohr, gelas piala, *shaker*, tabung *rotary evaporator*, rotavapor, pipet tetes, pipet mikro, tabung reaksi, *bulb*, penangas air, neraca analitik, neraca Ohaus, labu Erlenmeyer, labu takar, corong, cawan porselen, desikator, *plate* sampel, Spektrofotometer UV-VIS, kuvet, dan gelas ukur.

Prosedur Percobaan

Pengambilan dan Preparasi sampel

Sampel daun singkong yang akan digunakan diperoleh dari kebun tanaman obat, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro) Bogor. Sampel daun singkong yang digunakan yaitu daun yang terletak pada posisi ke 4 - 7 dari pucuk tanaman yang berumur 6 bulan.

Ekstraksi Daun *Manihot esculenta* Crantz (BPOM 2010)

Ekstraksi daun *Manihot esculenta* Crantz dilakukan dengan metode maserasi dan infundasi sesuai dengan metode BPOM (2010). Sebelum proses ekstraksi dilakukan, sampel diberikan 2 perlakuan yang berbeda. Perlakuan pertama sampel segar dicuci bersih dengan air mengalir lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C . Selanjutnya daun dihancurkan hingga menjadi serbuk (simplisia) dan diayak dengan ukuran 100 mesh. Perlakuan kedua, sampel dicuci

dengan air mengalir kemudian direbus selama 3 menit pada suhu 100°C kemudian dirajang halus.

Pembuatan ekstrak air pada penelitian ini menggunakan metode infundasi. Kedua sampel daun singkong ditimbang sebanyak 50 gram, lalu dimasukkan ke dalam gelas piala 1000 ml. Selanjutnya ke dalam gelas piala ditambahkan air 500 ml (1:10), kemudian dipanaskan dengan penangas air pada suhu 90°C selama 15 menit (terhitung sejak suhu mencapai 90°C) sambil diaduk dengan pengaduk. Hasil ekstraksi yang diperoleh kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat daun singkong hasil penyaringan merupakan ekstrak air yang selanjutnya akan dipekatkan dan dianalisis.

Pembuatan ekstrak metanol daun singkong pada penelitian ini menggunakan metode maserasi, yaitu dilakukan dengan memasukan 150 gram sampel ke dalam gelas Erlenmeyer dan ditambahkan 750 ml pelarut (1:5). Sampel dimaserasi selama 48 jam dengan menggunakan *shaker* pada suhu kamar. Sampel disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat sampel sebagai ekstrak metanol. Ekstrak air dan metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50-60°C hingga diperoleh ekstrak kasar berupa pasta. Selanjutnya rendemen masing-masing ekstrak dihitung dengan membagi bobot ekstrak hasil ekstraksi dengan bobot sampel awal.

Analisis Kadar Air (WHO 1998)

Analisis kadar air dilakukan dengan cara mengeringkan 3 buah cawan porselen dalam oven pada suhu 105°C selama 10 menit. Cawan kemudian diletakkan ke dalam desikator selama 15 menit dan dibiarkan dingin kemudian ditimbang. Cawan tersebut ditimbang kembali hingga beratnya konstan. Sebanyak 2 gram simplisia sampel dimasukkan ke dalam cawan lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam atau hingga beratnya konstan (batas perbedaan bobot tidak lebih dari 5 mg). Cawan kemudian dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang. Kadar air simplisia daun singkong hasil pengukuran selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{bobot sampel awal (g)} - \text{bobot sampel akhir (g)}}{\text{bobot sampel awal (g)}} \times 100\%$$

Analisis Fitokimia Ekstrak Daun (Harbone 1984)

Uji Alkaloid

Sebanyak 0.1 gram ekstrak diasamkan dengan 10 tetes asam sulfat 2M. Selanjutnya fraksi asam sulfat ditambahkan pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, dan pereaksi Dragendorf. Terbentuknya endapan putih oleh pereaksi Meyer, endapan coklat oleh pereaksi Wagner, dan endapan merah oleh pereaksi Dragendorf menunjukkan adanya alkaloid.

Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan mencampurkan 0.05 g ekstrak dengan 2.5 mL metanol. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 50°C selama 5 menit kemudian ditambahkan 5 tetes asam sulfat pekat. Keberadaan senyawa flavonoid di dalam sampel yang dianalisis ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga.

Uji Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambah 2 ml kloroform kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah pada awal reaksi menunjukkan adanya triterpenoid sedangkan perubahan warna merah menjadi biru dan hijau menunjukkan adanya steroid.

Uji Tanin

Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 tetes FeCl_3 1% kemudian dihomogenkan. Terbentuknya warna coklat kehitaman menunjukkan adanya tanin.

Uji Saponin

Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambah 2 ml air hingga seluruh ekstrak terendam air kemudian dipanaskan selama lima menit. Selanjutnya larutan didinginkan lalu dikocok. Buih yang terbentuk selama ± 10 menit menunjukkan keberadaan saponin.

Uji Fenolik

Sebanyak 0.1 g ekstrak ditambahkan dengan 2.5 mL metanol. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 50°C selama 5 menit kemudian ditambahkan 5 tetes NaOH. Keberadaan senyawa fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning.

Penentuan Kadar Fenolik Total (Singleton *et al.* 1999)

Metode yang digunakan untuk mengukur kadar fenolik total yaitu metode *Folin Ciocalteu* dengan mengacu pada metode penelitian Singleton *et al.* (1999). Ekstrak daun singkong sebanyak 0.5 ml dicampurkan dengan 2.5 ml reagen *Folin Ciocalteu* 10% (yang telah dilarutkan dalam akuades) dan 2.5 ml NaHCO_3 7.5%. Campuran tersebut selanjutnya diinkubasi selama 45 menit pada suhu 45°C . Absorban diukur pada panjang gelombang 765 nm masing-masing tiga kali ulangan. Standard yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi adalah standar asam galat. Konsentrasi asam galat yang digunakan adalah 15, 20, 25, 30, dan 35 mg/L. Selanjutnya masing-masing standar diberi perlakuan yang sama dengan sampel ekstrak daun. Kadar fenolik ekstrak dinyatakan dalam mg asam galat/g ekstrak (mg GAE/g ekstrak) dengan rumus:

$$C = c (V/m)$$

Keterangan: C = Fenolik total (mg GAE/g)
c = kadar fenolik total dari kurva standar (mg/L)
V = volume sampel (L)
m = bobot sampel (g)

Penentuan Kadar Flavonoid Total (Chang *et al.* 2002)

Metode yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid total yaitu metode AlCl_3 dengan merujuk pada metode Chang *et al.* (2002). Sebanyak 0.5 ml ekstrak dicampur dengan 1.5 ml metanol, 0.1 ml aluminium klorida 10%, 0.1 ml kalium asetat 1M dan 2.8 ml air destilata. Campuran selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, kemudian absorban sampel diukur pada panjang gelombang 415 nm masing-masing tiga kali ulangan. Standard yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi adalah standar rutin. Sebanyak 10 mg rutin

dilarutkan dalam 10 mL metanol dan kemudian diencerkan menjadi 100, 140, 180, 220, dan 260 µg/mL. Selanjutnya masing-masing standar diberi perlakuan yang sama dengan sampel ekstrak daun. Kadar flavonoid total dinyatakan sebagai milligram (mg) rutin per gram ekstrak (mg RE/g ekstrak daun singkong), yaitu dengan menggunakan rumus:

$$C = c (V/m)$$

Keterangan: C = Flavonoid total (mg RE/g)
c = kadar flavonoid total dari kurva standar (mg/L)
V = volume sampel (L)
m = bobot sampel (g)

Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH (Molyneux 2004)

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Masing-masing sampel dilarutkan dalam metanol dan dibuat dalam konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 mg/L. Selanjutnya sampel dipipet 1 ml dengan pipet mikro, kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0.1 mM dalam metanol. Campuran larutan ini dihomogenkan dan serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm (Molyneux 2004). Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing – masing konsentrasi larutan sampel. Larutan yang digunakan sebagai pembanding adalah asam askorbat dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL.

Aktivitas antioksidan ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH, yaitu dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ selanjutnya dihitung berdasarkan konsentrasi dan persentase inhibisi menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh.

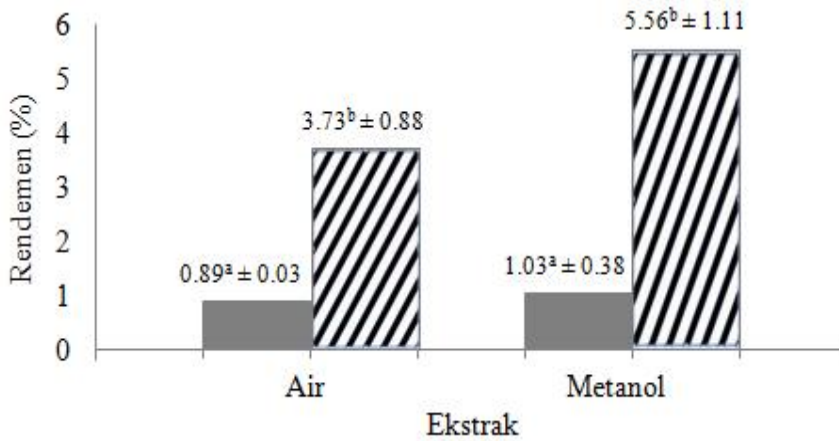
Prosedur Analisis Data

Data penelitian dianalisis secara statistik menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap. Jika terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan yang diberikan, maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan *software* SPSS 17.

HASIL

Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Daun Singkong

Kadar air daun singkong diukur menggunakan metode gravimetri. Pengukuran kadar air simplisia daun singkong dilakukan sebanyak tiga ulangan. Kadar air daun singkong yang diperoleh yaitu sebesar 3.12%. Simplisia daun singkong menghasilkan rendemen lebih tinggi dibandingkan daun rebus, baik pada ekstrak air maupun ekstrak metanol, yaitu 3.73% dan 5.56% (Gambar 1).



Gambar 1 Rendemen daun singkong. ■ daun rebus ▨ simplisia^{a,b} menunjukkan korelasi berbeda atau tidak berbeda nyata antardata

Komponen Fitokimia Ekstrak Daun Singkong

Hasil analisis komponen fitokimia ekstrak daun singkong tertera pada Tabel 1. Senyawa fitokimia yang terdeteksi pada semua ekstrak yaitu alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan fenolik. Hasil positif ini didasarkan pada terbentuknya endapan atau perubahan warna yang terjadi. Senyawa triterpenoid dan steroid tidak terdeteksi baik pada ekstrak air maupun ekstrak metanol.

Tabel 1 Komponen fitokimia ekstrak daun singkong

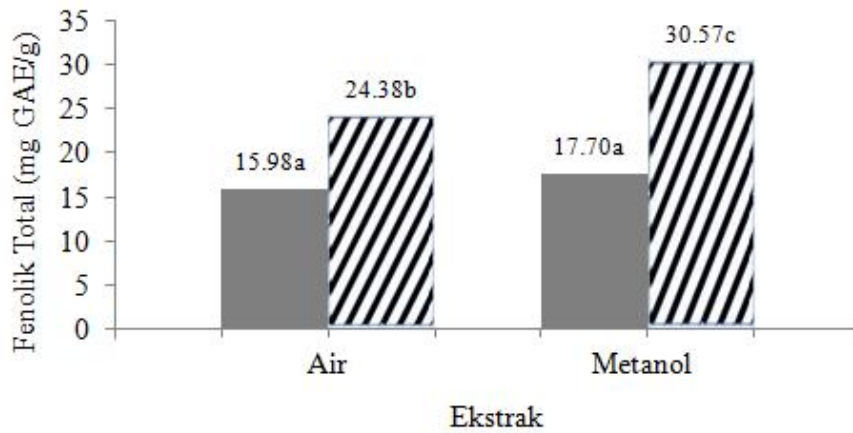
Analisis	Ekstrak Air		Ekstrak Metanol	
	Simplisia	Daun Rebus	Simplisia	Daun Rebus
Alkaloid				
• Meyer	+	+	+	+
• Wagner	+	+	+	+
• Dragendorf	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Triterpenoid	-	-	-	-
Steroid	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+

Keterangan : + : terbentuk warna/endapan
- : tidak terbentuk warna/endapan

Kadar Total Senyawa Fenolik

Kadar fenolik total hasil pengukuran menunjukkan simplisia daun singkong mengandung fenolik yang lebih banyak dibanding daun singkong rebus, baik pada ekstrak air maupun ekstrak metanol. Berdasarkan hasil pengukuran yang tertera pada Gambar 3, ekstrak metanol simplisia mengandung senyawa fenolik paling tinggi yaitu sebesar 30.57 mg GAE/g sedangkan ekstrak air daun singkong rebus mengandung senyawa fenolik terendah yaitu sebesar 15.98 mg GAE/g.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 2 Kadar fenolik total ekstrak daun singkong. ■ daun rebus ▨ simplesia^{a,b} menunjukkan korelasi berbeda atau tidak berbeda nyata antardata

Kadar Total Flavonoid

Hasil pengukuran kadar flavonoid total menunjukkan simplesia daun singkong mengandung flavonoid yang lebih banyak dibanding daun singkong rebus, baik pada ekstrak air maupun ekstrak metanol. Data pada Tabel 2 memperlihatkan kadar flavonoid tertinggi terkandung dalam ekstrak metanol simplesia daun singkong yaitu sebesar 881.33 mg RE/g dan kadar flavonoid terendah terkandung dalam ekstrak air daun rebus yaitu sebesar 5.27 mg RE/g.

Tabel 2 Kadar flavonoid total ekstrak air dan ekstrak metanol daun singkong

Sampel	Kadar flavonoid total (mg RE/g)
Ekstrak air daun singkong rebus	5.27 ^a
Ekstrak air simplesia daun singkong	7.23 ^a
Ekstrak metanol daun singkong rebus	304.17 ^b
Ekstrak metanol simplesia daun singkong	881.33 ^c

^{a,b,c} menunjukkan korelasi berbeda atau tidak berbeda nyata antardata

Keterangan : RE = *Rutin Equivalent*

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak daun singkong dinyatakan dalam IC₅₀. Hasil analisis yang tertera pada Tabel 3 menunjukkan ekstrak metanol simplesia daun singkong memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 92.10 mg/L. Sementara itu, ekstrak air daun singkong rebus memiliki aktivitas antioksidan terendah dengan nilai IC₅₀, sebesar 170.77 mg/L.

Tabel 3 Aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol daun singkong

Sampel	IC ₅₀ (mg/L)
Asam askorbat	69.13 ^a
Ekstrak air daun singkong rebus	170.77 ^b
Ekstrak air simplesia daun singkong	155.76 ^b
Ekstrak metanol daun singkong rebus	144.28 ^b
Ekstrak metanol simplesia daun singkong	92.10 ^a

^{a,b} menunjukkan korelasi berbeda atau tidak berbeda nyata antardata

PEMBAHASAN

Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Daun Singkong

Pengukuran kadar air daun singkong dilakukan dengan metode gravimetri, yaitu melalui proses pengeringan. Pengeringan merupakan proses menghilangkan air suatu bahan sehingga bahan tahan lama dalam penyimpanan. Selain itu, pengeringan akan meminimalkan senyawa kimia yang terurai karena pengaruh enzim. Penentuan kadar air daun singkong ditujukan untuk mengetahui ketahanan atau daya simpan daun singkong dalam selang waktu tertentu. Semakin kecil kadar air suatu bahan maka bahan tersebut dapat disimpan pada jangka waktu yang sangat lama karena kemungkinan kontaminasi jamur dan mikroba ketika penyimpanan sangat rendah. Hal tersebut terkait dengan kandungan air dalam suatu bahan yang merupakan salah satu media tumbuh bagi bermacam-macam mikroorganisme (Winarno 2002).

Kadar air simplisia daun singkong hasil pengukuran yaitu 3.12%. Hasil ini sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh Farmakope Herbal Indonesia (Depkes 2008) yaitu di bawah 10%. Adapun penelitian Almasyhuri *et al.* (1996) menunjukkan kadar air simplisia daun singkong yaitu 5.8%. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya yaitu lamanya proses pengeringan, lokasi pengambilan daun singkong, dan pengaruh lingkungan tempat singkong tumbuh.

Ekstraksi bahan dilakukan dengan dua cara, yaitu maserasi dan infundasi. Maserasi dilakukan untuk memperoleh ekstrak metanol dan infundasi untuk memperoleh ekstrak air. Pemilihan kedua metode ekstraksi ini didasarkan pada prosesnya yang sederhana dan memerlukan peralatan yang tidak terlalu banyak. Siahaan (2010) menyatakan ketika ekstraksi berlangsung, pelarut mengalir ke dalam sel melalui dinding sel dan menyebabkan sel membengkak. Kandungan sel akan larut dan meningkatkan konsentrasi dalam sel sehingga larutan dalam sel akan terdesak keluar. Kedua metode ini menghasilkan rendemen yang berbeda. Rendemen merupakan presentase perbandingan antara jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan jumlah sampel awal yang diekstraksi.

Rendemen ekstrak metanol lebih tinggi (1.03% dan 5.56%) dibanding ekstrak air (0.89% dan 3.73%), artinya senyawa-senyawa aktif dalam daun singkong lebih banyak terekstrak oleh metanol dibanding air. Hal ini dikarenakan kepolaran metanol lebih rendah dari pada air sehingga mempengaruhi banyaknya senyawa yang terlarut di dalamnya termasuk senyawa-senyawa lain yang tidak diharapkan seperti gula dan senyawa lainnya. Hasil penelitian menunjukkan senyawa kimia dalam daun singkong cenderung memiliki sifat kepolaran yang menyerupai metanol sehingga ekstrak metanol menghasilkan rendemen yang lebih tinggi.

Besar kecilnya rendemen dapat disebabkan oleh ketebalan dinding sel, membran sel, dan pengaruh faktor genetik (Nurcholis 2008). Hasil penelitian Bustan *et al.* (2008) menunjukkan jumlah rendemen ekstrak dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, jenis pelarut, perbandingan jumlah pelarut dengan bahan, suhu ekstraksi, dan ukuran partikel sampel.

Komponen Fitokimia Ekstrak Daun Singkong

Analisis fitokimia dimaksudkan untuk mengidentifikasi kandungan kimia dalam ekstrak tumbuhan sebagai langkah awal untuk mengetahui jenis komponen bioaktif yang terkandung sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut. Tumbuhan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi untuk melindungi tumbuhan dari mikroba (fungi dan bakteri) dan infeksi virus, radiasi sinar UV, serta melindungi tumbuhan dari serangan serangga (Aharoni dan Galili 2010).

Hasil uji fitokimia yang tertera pada Tabel 1 menunjukkan semua ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, dan saponin. Sementara itu, triterpenoid dan steroid menunjukkan hasil negatif dan tidak terdeteksi pada ekstrak air maupun ekstrak metanol. Hasil yang diperoleh didasarkan pada perubahan warna atau pembentukan endapan akibat pencampuran sampel dengan pereaksi. Adapun hasil penelitian Ebuehi *et al.* (2005) menunjukkan ekstrak air daun singkong mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, antraquinon, flobatinnin, dan saponin. Perbedaan hasil ini dikarenakan tidak dilakukannya pengujian terhadap kandungan senyawa antraquinon dan flobatinnin pada penelitian ini. Adapun perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder suatu tanaman dapat disebabkan oleh berbedanya kondisi tempat tanaman tersebut tumbuh, seperti perbedaan suhu, pH, kondisi lahan, kelembapan tanah, ketersediaan air dan intensitas cahaya (Vinolina 2014).

Prinsip uji alkaloid adalah adanya reaksi antara nitrogen pada alkaloid dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat(II) dalam pereaksi Meyer membentuk kompleks kalium-alkaloid yang membentuk endapan putih. Adapun pada analisis dengan pereaksi Wagner dan Dragendorff, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Sementara itu pada uji flavonoid, reaksi senyawa flavonoid dengan HCl akan menyebabkan terbentuknya garam flavilium berwarna merah tua (Marliana *et al.* 2005).

Adapun prinsip uji tanin yaitu pereaksi $FeCl_3$ akan bereaksi dengan ion fenolat dalam tanin, yang merupakan senyawa polifenol, membentuk ion kompleks $[Fe(OAr)_6]^{3-}$ dan menghasilkan warna merah tua, coklat, hingga hitam. Sementara itu, buih yang terbentuk pada uji saponin menunjukkan adanya senyawa saponin dalam sampel yang terurainya menjadi glukosa dan aglikon hidrofobik (Okinjogunla *et al.* 2010).

Kadar Total Senyawa Fenolik

Penentuan kadar fenolik total bertujuan mengetahui jumlah keseluruhan senyawa golongan fenolik dalam sampel. Pereaksi yang digunakan pada penentuan kadar fenolik total ini yaitu *Folin Ciocalteu*. Senyawa fenolik dalam sampel dioksidasi oleh reagen *Folin Ciocalteu*. Reagen ini merupakan campuran asam fosfotungstat dan asam fosfomolibdat yang akan mengalami reduksi menghasilkan tungstat dan molibdenum yang berwarna biru dan dapat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Kadar total fenolik hasil penelitian dinyatakan dalam mg asam galat/g ekstrak (mg GAE/g ekstrak). Asam galat merupakan turunan asam hidroksibenzoat dan termasuk golongan asam fenolat sederhana yang sering digunakan sebagai standar karena memiliki substansi yang stabil dan murni serta lebih murah dibanding senyawa standar lainnya (Rahmawati 2009).

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak simplisia daun singkong mengandung fenolik sebesar 30.70 mg GAE/g pada ekstrak metanol dan 24.38 mg GAE/g pada ekstrak air, lebih banyak dibanding ekstrak daun singkong rebus. Hal ini menunjukkan bahwa perebusan menurunkan kandungan senyawa fenolik pada daun singkong. Subekti (1998) menyatakan daun singkong termasuk kelompok sayuran dengan kandungan fenol yang rendah. Hasil penelitiannya menunjukkan perebusan menurunkan total fenolik daun singkong sebanyak 32%. Berdasarkan uji statistik, ekstrak air dan metanol daun singkong rebus tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kadar total fenol daun singkong.

Ditinjau dari jenis pelarut, ekstrak metanol mengandung fenolik total yang lebih tinggi dibanding ekstrak air, yaitu 17.70 mg GAE/g dan 30.57 mg GAE/g. Kadar fenolik ekstrak metanol hasil penelitian lebih rendah dibanding kadar fenolik yang diperoleh Suresh *et al.* (2011) yaitu 64 mg/g. Berbeda dengan kadar fenolik ekstrak metanol, kadar fenolik ekstrak air hasil penelitian yaitu 15.98 mg GAE/g – 24.38 mg GAE/g lebih tinggi dibanding kadar fenolik yang diperoleh Faezah *et al.* (2013) yang berkisar 10.53 – 10.67 mg GAE/g sampel. Perbedaan kadar fenolik ini dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik yang akan menentukan proporsi kandungan senyawa kimia dalam tumbuhan. Kandungan senyawa metabolit sekunder dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat singkong tumbuh. Satu jenis tanaman yang sama bila ditanam di tempat yang berlainan akan memiliki kandungan metabolit sekunder yang berbeda (Yenni 2012).

Kadar Total Flavonoid

Penentuan kadar flavonoid total pada penelitian ini menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$. Prinsip dari metode ini adalah $AlCl_3$ membentuk kompleks asam yang stabil dengan C-4 gugus keto, lalu dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Selain itu $AlCl_3$ juga akan membentuk kompleks asam yang labil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid (Chang *et al.* 2002). Pemilihan metode ini didasarkan pada senyawa flavonoid yang akan dianalisis. Penelitian Tsumbu *et al.* (2011) berhasil mengidentifikasi senyawa rutin dalam daun singkong, yaitu senyawa flavonoid golongan flavonol. Metode $AlCl_3$ merupakan metode yang tepat untuk menentukan kadar flavonoid golongan flavon dan flavonol (Chang *et al.* 2002). Sesuai dengan kandungan senyawa flavonoid di dalam daun singkong, rutin digunakan sebagai standar untuk membuat kurva kalibrasi. Kadar total flavonoid total hasil penelitian dinyatakan dalam mg rutin/g ekstrak (mg RE/g ekstrak).

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak simplisia daun singkong mengandung flavonoid yang lebih banyak dibanding ekstrak daun singkong rebus, baik pada ekstrak metanol maupun ekstrak air. Ekstrak air daun singkong rebus dan simplisia tidak menunjukkan adanya pengaruh yang nyata terhadap kadar flavonoid dalam daun singkong. Sama halnya dengan senyawa fenolik, kadar flavonoid akan berkurang ketika proses perebusan sehingga ekstrak daun rebus mengandung flavonoid lebih rendah. Hasil ini didukung oleh hasil penelitian Sukrasno *et al.* (2005) yang menunjukkan perebusan melepaskan kira-kira 50% kandungan flavonoid daun singkong dalam air rebusan. Sementara menurut Fidrianny *et al.* (2007), flavonoid daun singkong terdistribusi dengan proporsi 65% tertahan dalam ampas dan 35% dalam air rebusannya. Adapun untuk mempertahankan

jumlah flavonoid yang tertahan dalam ampas tetap tinggi, volume air yang digunakan untuk merebus 1 bagian (berat) daun singkong sebaiknya tidak lebih dari 10 bagian.

Jika dikaji dari jenis pelarut, ekstrak metanol mengandung flavonoid total yang lebih tinggi dibanding ekstrak air, yaitu sebesar 304.17 mg RE/g dan 881.33 mg RE/g. Hal ini disebabkan oleh banyaknya gugus hidroksil pada senyawa flavonoid yang cenderung lebih mudah berikatan dengan metanol yang juga memiliki gugus hidroksil. Menurut Oktiani *et al.* (2009) dan Tsumbu *et al.* (2011), senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun singkong yaitu rutin, flavonoid jenis flavonol yang mengandung satu glikosida (monoglikosida). Monoglikosida ini menyebabkan kelarutan senyawa rutin dalam air rendah dan lebih larut dalam metanol. Banyaknya gugus glikosida akan meningkatkan kelarutan suatu senyawa dalam air dan mengurangi kelarutannya dalam pelarut organik (Anwariyah 2011).

Kadar flavonoid ekstrak metanol dan ekstrak air hasil penelitian relatif lebih tinggi dibanding literatur, yaitu 304.17 mg RE/g – 881.33 mg RE/g dan 5.27 mg RE/g – 7.23 mg RE/g. Kadar flavonoid ekstrak metanol daun singkong yang diperoleh Suresh *et al.* (2011) yaitu 124 mg QE/g. Sementara itu, hasil penelitian Faezah *et al.* (2013) menunjukkan kadar flavonoid ekstrak air daun singkong berkisar 2.22 – 2.26 mg CE/g. Sama halnya dengan kadar fenolik total, perbedaan kadar flavonoid total ini dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik yang akan menentukan proporsi kandungan senyawa kimia dalam tumbuhan (Yenni 2012). Perbedaan kadar flavonoid kemungkinan disebabkan oleh jenis standar yang digunakan berbeda. Penelitian ini menggunakan standar rutin dalam pembuatan kurva kalibrasi sehingga kadar flavonoid total dinyatakan dalam mg rutin/g ekstrak (mg RE/g). Adapun penelitian lain menggunakan standar kuersetin dan katekin sehingga kadar flavonoid total masing-masing dinyatakan dalam mg kuersetin/g ekstrak (mg QE/g) dan mg katekin/g ekstrak (mg CE/g).

Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kapasitas senyawa aktif dalam ekstrak untuk menangkal radikal bebas. Aktivitas antioksidan ekstrak daun singkong diukur menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dan tidak membentuk dimer akibat delokalisasi dari elektron bebas pada seluruh molekul. Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini didasarkan pada hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan dalam sampel sehingga menghasilkan senyawa DPP Hidrazin berwarna kuning. Metode ini tidak memerlukan substrat sehingga lebih sederhana dengan waktu analisis yang lebih cepat (Molyneux 2004). Metode DPPH telah banyak digunakan dalam analisis antioksidan seperti pada penelitian Anwariyah (2011) yang mengaji aktivitas antioksidan lamun *Cymodocea rotundata* dengan metode DPPH.

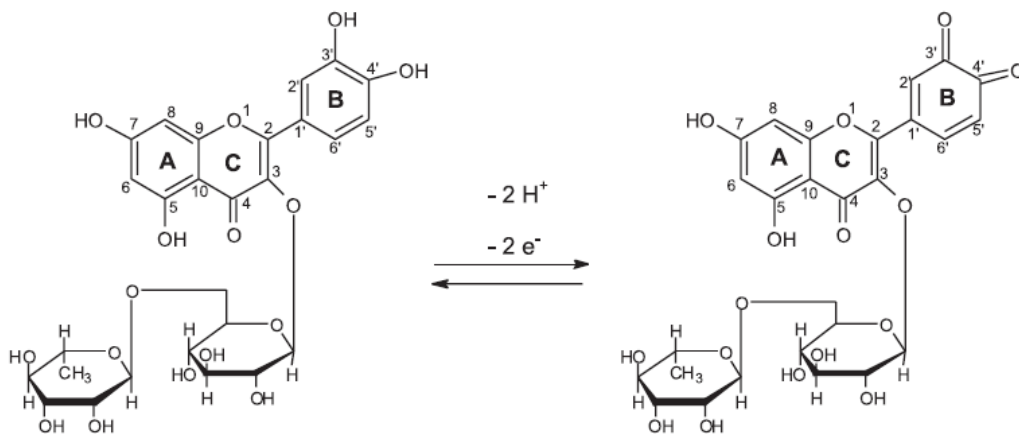
Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol daun singkong pada penelitian ini dibandingkan dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh asam askorbat. Asam askorbat (vitamin C) dikenal sebagai antioksidan yang kuat karena dapat mendonorkan atom hidrogen dan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif stabil seperti anion askorbat yang dapat

menerima atom hidrogen lain dan membentuk asam dehidroaskorbat. Asam askorbat merupakan senyawa larut air yang memiliki cincin lakton tidak jenuh dengan dua gugus hidroksil melekat pada karbon berikatan rangkap. Struktur ini menyebabkan asam askorbat mudah dioksidasi menjadi asam dehidroaskorbat (Hart *et al.* 2003).

Aktivitas antioksidan hasil penelitian dinyatakan dalam IC_{50} , yaitu konsentrasi zat antioksidan yang menghasilkan persen penghambatan DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} diperoleh melalui persamaan linier antara persen inhibisi dengan konsentrasi sampel. Semakin rendah nilai IC_{50} maka daya hambat ekstrak terhadap radikal bebas semakin tinggi. Molyneux (2004) menggolongkan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh, yaitu sangat kuat ($IC_{50} < 50$ ppm), kuat ($50 \text{ ppm} < IC_{50} < 100 \text{ ppm}$), sedang ($100 \text{ ppm} < IC_{50} < 150 \text{ ppm}$), lemah ($150 \text{ ppm} < IC_{50} < 200 \text{ ppm}$), dan sangat lemah ($IC_{50} > 200 \text{ ppm}$).

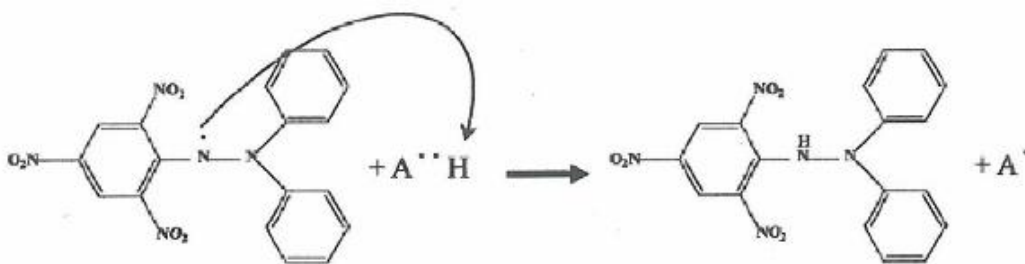
Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh, ekstrak metanol simplisia daun singkong memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 92.10 mg/L dan tergolong antioksidan kuat. Berdasarkan uji statistik, ekstrak metanol simplisia daun singkong dan asam askorbat tidak menunjukkan adanya pengaruh yang nyata terhadap penghambatan aktivitas radikal bebas DPPH. Hal ini ditunjukkan oleh nilai IC_{50} yang tidak terlalu berbeda antara ekstrak metanol simplisia daun singkong dan asam askorbat, yaitu 92.10 mg/L dan 69.13 mg/L. Sementara itu, aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun rebus dan ekstrak air masing-masing tergolong sedang dan lemah dengan hasil analisis statistik tidak menunjukkan perbedaan daya inhibisi yang nyata antara ketiga ekstrak tersebut. Menurut Widyawati *et al.* (2010), perbedaan aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti perbedaan kemampuan dalam mentransfer atom hidrogen ke radikal bebas, struktur kimia senyawa antioksidan, dan pH campuran reaksi. Aktivitas antioksidan juga dipengaruhi oleh jumlah serta posisi gugus hidroksil dan metil pada cincin. Molekul yang lebih banyak memiliki gugus hidroksil akan semakin kuat dalam menangkap radikal bebas karena kemampuannya dalam mendonorkan atom hidrogen semakin besar. Hal ini sesuai dengan Andayani *et al.* (2008) yang menyatakan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan umumnya memiliki gugus hidroksil yang tersubstitusi pada posisi ortho dan para terhadap gugus $-OH$ dan $-OR$.

Aktivitas antioksidan ekstrak daun singkong ini kemungkinan karena kandungan senyawa fenolik dan flavonoid di dalamnya. Hal tersebut dikuatkan oleh hasil analisis komponen fitokimia yang menunjukkan ekstrak air dan ekstrak metanol daun singkong positif mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Berdasarkan hasil penelitian, aktivitas antioksidan dan kadar fenolik serta flavonoid total menunjukkan korelasi positif, semakin tinggi kadar fenolik dan flavonoid maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Hasil ini sesuai dengan penelitian Faedah *et al.* (2013) yang menunjukkan adanya korelasi positif antara total fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan. Tsumbu *et al.* (2011) berhasil mengidentifikasi senyawa rutin dalam daun singkong yang diperkirakan merupakan senyawa yang berperan dalam penghambatan aktivitas radikal bebas. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Zielińska *et al.* (2010) yang menunjukkan senyawa rutin memiliki kontribusi yang besar terhadap aktivitas antioksidan kecambah gandum.



Gambar 3 Reaksi oksidasi senyawa rutin (Dos Santos 2008).

Rutin (*quercetin 3-rutinoside*) merupakan senyawa flavonoid glikosida golongan flavonol dan memiliki gugus gula yang berikatan dengan satu gugus hidroksil. Senyawa rutin dalam daun singkong akan mengalami oksidasi (Gambar 3) dan mentransfer atom hidrogen kepada DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan pada satu atom nitrogen. Elektron bebas pada atom nitrogen ini selanjutnya direduksi oleh atom hidrogen dari senyawa rutin sehingga terbentuk molekul diamagnetik berwarna kuning yang stabil yaitu 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine atau DPP Hidrazin seperti yang tertera pada Gambar 4 (Irianti *et al.* 2011).



Gambar 4 Reaksi reduksi DPPH oleh donor atom hidrogen seperti senyawa flavonoid menjadi DPP Hidrazin (Molyneux 2004).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Analisis komponen fitokimia ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menunjukkan ekstrak air dan ekstrak metanol daun singkong mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, fenolik, dan saponin. Kadar total senyawa fenolik dan flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak metanol simplisia daun singkong yaitu sebesar 30.57 mg GAE/g dan 881.33 mg RE/g. Persen penghambatan radikal bebas DPPH tertinggi dihasilkan oleh ekstrak metanol simplisia daun singkong dengan nilai IC₅₀ sebesar 92.10 mg/L yang tergolong antioksidan kuat.

Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlunya dilakukan pengujian toksisitas daun singkong. Selain itu, mekanisme antioksidan ekstrak daun singkong perlu dikaji lebih dalam melalui uji *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aharoni A, Galili G. 2010. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. *Current Opinion in Biotechnology*. 22: 1-6.
- Almasyhuri, Yuniarti H, Luciasari E, Muhilal. 1996. Potensi daun singkong kering sebagai sumber vitamin untuk anak prasekolah. *Jurnal Penelitian Gizi dan Makanan*. Jilid 19: 114-120.
- Alsuheindra. 2004. Daya anti-aterosklerosis Zn-turunan klorofil dari daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) pada kelinci percobaan. [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Anwarayah S. 2011. Kandungan fenol, komponen fitokimia dan aktivitas antioksidan lamun *Cymodocea rotundata*. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Askar S. 1996. Daun singkong dan pemanfaatannya terutama sebagai pakan tambahan. *Wartazoa*. 5 (1): 21-25.
- BPOM. 2010. *Acuan Sediaan Herbal Volume Kelima Edisi Pertama*. Jakarta (ID): Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Bustan MD, Febriyani R, Pakpahan H. 2008. Pengaruh waktu ekstraksi dan ukuran partikel terhadap berat oleoresin jahe yang diperoleh dalam berbagai jumlah pelarut. *Jurnal Teknik Kimia*. 15: 16-26.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Jurnal of Food and Drug Analysis*. 10 (2): 178-182.
- Depkes RI (Departemen Kesehatan RI). 2008. *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I*. Jakarta (ID): Depkes RI.
- Ebuehi OAT, Babalola O, Ahmed Z. 2005. Phytochemical, nutritive and anti-nutritive composition of cassava (*Manihot esculenta* L) tubers and leaves. *Nigerian Food Journal*. 23: 40-46.
- Faezah N, Aishah SH, Kalsom UY. 2013. Comparative evaluation of organic and inorganic fertilizers on total phenolic, total flavonoid, antioxidant activity and cyanogenic glycosides in cassava (*Manihot esculenta*). *African Journal of Biotechnology*. 12(18): 2414-2421.
- Fidrianny I, Sukrasno, Wirasutisna KR. 2007. Pengaruh perebusan terhadap kandungan flavonoid dalam daun singkong. *Jurnal Obat Bahan Alam*. 6 (2): 55-59.

- Harborne JB. 1984. *Phytochemical Methods*. Ed ke-2. New York (US): Chapman and Hall.
- Hart H, Craine LE, Hart DJ. 2003. *Kimia Organik; Suatu Kuliah Singkat Edisi Kesebelas*. Achmadi SS, penerjemah. Jakarta (ID): Erlangga. Terjemahan dari *Organic Chemistry; A Short Course Eleventh Edition*.
- Irianti T, Puspitasari A, Suryani E. 2011. Aktivitas penangkapan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil oleh ekstrak etanolik batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Miers) dan fraksi-fraksinya. *Majalah Obat Tradisional* 16(3):138-144.
- Marliana SD, Suryanti V, Suryono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi*. 3 (1): 26-30.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26: 211-219.
- Nurcholis W. 2008. Profil senyawa penciri dan bioaktivitas tanaman temulawak pada agrobiotik berbeda. [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Okinjogunla OJ, Yah CS, Eghafona NO, Ogbemudia FO. 2010. Antibacterial activity of leave extracts of *Nymphaea lotus* (Nymphaeaceae) on Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) isolated from clinical samples. *Annals of Biological Research*. 1 (2): 174-184.
- Oktiani R, Aldi Y, Bakhtiar A. 2009. Uji aktivitas bioflavonoid rutin dari daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl) terhadap waktu pembekuan darah dan jumlah sel trombosit. *Artikel Hibah Strategis Nasional*.
- Raghavendra M, Reddy AM, Yadav PR, Raju AS, Kumar LS. 2013. Comparative studies on the *in vitro* antioxidant properties of methanolic leafy extracts from six edible leafy vegetables of India. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 6 (3): 96-99.
- Rahmawati A. 2009. Kandungan fenol total ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). [skripsi]. Jakarta (ID): Universitas Indonesia.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang (ID): Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Sastroamidjojo S. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta (ID): Dian Rakyat.
- Siahaan MA. 2010. Isolasi senyawa diterpenoida dari ekstrak metanol daun tumbuhan merambung (*Vernonia arborea* Buch-Ham). [tesis]. Medan (ID): Universitas Sumatera Utara.
- Singleton V.L, Orthofer R, Lamuela-Raventos R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299: 152-178.

- Sofyaningsih M. 2003. Pengaruh pemberian tepung daun singkong terhadap bobot badan akhir, persentase saluran dalam pencernaan, dan organ dalam itik mandulung (*Mule Duck*). [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Subekti. 1998. Pengaruh cara pemasakan terhadap kandungan antioksidan beberapa macam sayuran serta daya serap dan retensinya pada tikus percobaan. [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sukrasno, Durin SM, Fidrianny I. 2005. Kandungan flavonoid dalam sayuran segar dan hasil olahannya. [skripsi]. Bandung (ID): Institut Teknologi Bandung.
- Suresh R, Saravanakumar M, Suganyadevi P. 2011. Anthocyanins from indian cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its antioxidant properties. *International of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2 (7): 1819-1828.
- Tsumbu CN, Dupont GD, Tits M, Angenot L, Franck T, Serteyn D, Mickalad AM. 2011. Antioksidan dan antiradical activities of *Manihot esculenta* Crantz (*Euphorbiaceae*) leaves and other selected tropical green vegetables investigated on lipoperoxidation and phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) activated monocytes. *Nutrients*. 3: 818-838.
- Ukieyanna E. 2012. Aktivitas antioksidan, kadar fenolik dan flavonoid total tumbuhan suruhan (*Peperomia pellucida* L.Kunth). [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Vinolina NS. 2014. Peningkatan produksi centellosida pada pegagan (*Centella asiatica*) melalui pemberian fosfor dan metil jasmonat dengan umur panen yang berbeda. [disertasi]. Sumatera Utara (ID): Universitas Sumatera Utara.
- WHO. 1998. *Quality Control Method for Medicinal Plant Material*. Geneva (CH): World Health Organization.
- Widyawati PS, Wijaya CH, Harjosworo PS, Sajuthi D. 2010. Pengaruh ekstraksi dan fraksinasi terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ekstrak dan fraksi daun beluntas (*Pluchea indica* Less.). *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. ISSN:1411-4216.
- Winarno FG.2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta(ID):Gramedia Pustaka Utama.
- Wobeto C, Correa AD, Abreu CMP, Santos CD, Abreu JR. 2006. Nutrients in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf meal at three ages of the plant. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas*. 26 (4): 865-869.
- Yenni. 2012. Ameliorasi tanah sulfat masam potensial untuk budidaya tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.). *Jurnal Lahan Suboptimal*. 1 (1): 40-49.
- Yuslinda E, Mukhtar H, Khairunnisa. 2012. Penentuan aktivitas antioksidan dari beberapa ekstrak sayur-sayuran segar dan dikukus dengan metode DPPH. *Scientia*. 2 (1): 1-5.
- Zielin´ska D, Szawara-Nowak D, Zielin´ski H. 2010. Determination of the antioxidant activity of rutin and its contribution to the antioxidant capacity of diversified buckwheat origin material by updated analytical strategies. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 60 (4): 315-321.

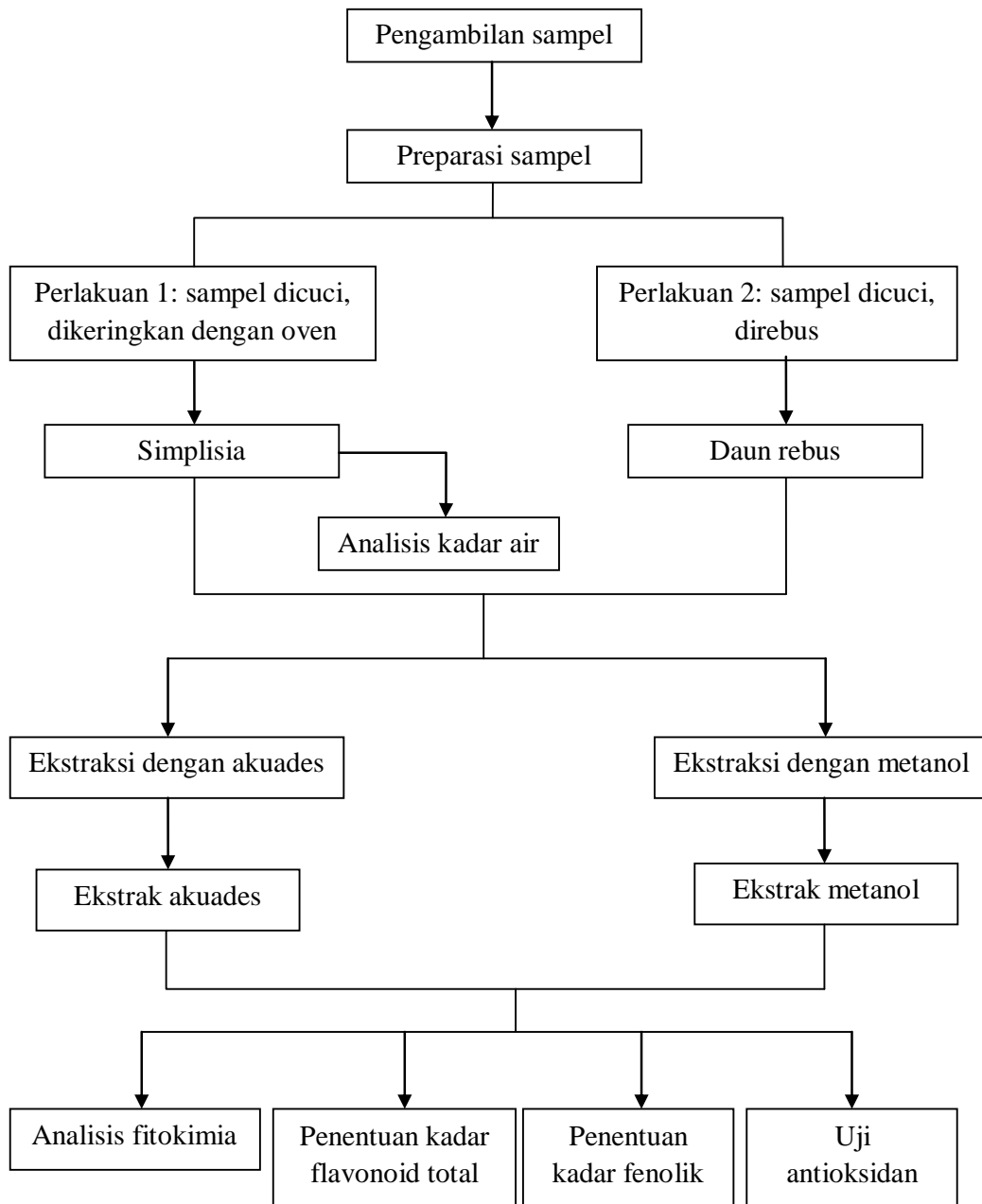


LAMPIRAN

Hak Cipta Diliindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 1 Diagram alir penelitian



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 2 Kadar air daun singkong

Sampel	Ulangan	A (gram)	B (gram)	C (gram)	Kadar air (%)	Rata-rata (%)	SD
Simplisia daun singkong	1	2.03	33.39	35.35	3.4483	3.1247	0.2803
	2	2.02	35.94	37.90	2.9703		
	3	2.03	40.64	42.61	2.9557		

Keterangan : A = Bobot awal sampel (gram)
 B = Bobot cawan kosong (gram)
 C = Bobot cawan+sampel (gram)

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar air} &= \frac{A - (C - B)}{A} \times 100\% \\ &= \frac{2.03 \text{ g} - (35.35 \text{ g} - 33.39 \text{ g})}{2.03 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 3.4483 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata \% kadar air} &= \frac{\text{kadar air ke 1} + \text{ke 2} + \text{ke 3}}{3} \\ &= \frac{3.4483 \% + 2.9703 \% + 2.9557 \%}{3} \\ &= 3.1247 \% \end{aligned}$$

Lampiran 3 Rendemen daun singkong

Jenis Ekstrak	Ulangan	A (gram)	B (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata (%)	SD
Ekstrak air daun rebus	1	539	4.70	0.8720	0.8924	0.0289
	2	539	4.92	0.9128		
Ekstrak air simplisia daun singkong	1	100	3.11	3.1100	3.7300	0.8768
	2	100	4.35	4.3500		
Ekstrak metanol daun rebus	1	700	9.13	1.3043	1.0321	0.3849
	2	700	5.32	0.7600		
Ekstrak metanol simplisia daun singkong	1	75	4.76	6.3467	5.5600	1.1125
	2	75	3.58	4.7733		

Keterangan : A = Bobot awal sampel (gram) B = Bobot akhir sampel (gram)

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot awal sampel}}{\text{bobot akhir sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{4.70 \text{ g}}{539 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0.8720 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata \% rendemen} &= \frac{\text{rendemen1} + \text{rendemen2}}{2} \\ &= \frac{0.8720\% + 0.9128\%}{2} \\ &= 0.8924 \% \end{aligned}$$

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 4 Hasil analisis fitokimia

Analisis	Ekstrak Air		Ekstrak Metanol	
	Simplisia	Daun Rebus	Simplisia	Daun Rebus
Alkaloid Dragendorff Wagner Meyer				
Tanin				
Saponin				
Triterpenoid/ Steroid				
Flavonoid				
Fenolik				

Lampiran 5 Kadar fenolik total

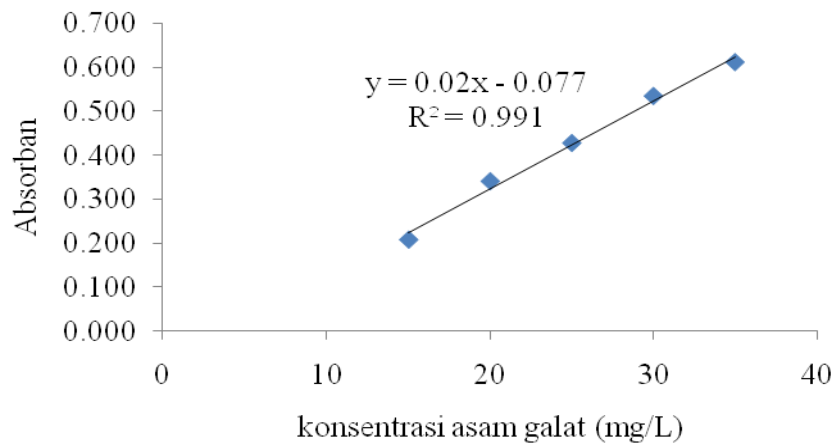
Konsentrasi asam galat (mg/L)	Absorban
15	0.207
20	0.340
25	0.427
30	0.534
35	0.611

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Diarangi mengumpukan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Kurva Asam Galat



Ulangan	Absorbansi sampel			
	Ekstrak air		Ekstrak metanol	
	Daun rebus	Simplisia	Daun rebus	Simplisia
1	0.240	0.430	0.284	0.504
2	0.243	0.380	0.283	0.563
3	0.245	0.422	0.264	0.536
Rata-rata	0.243	0.411	0.277	0.534
Bobot sampel (g)	0.05	0.05	0.05	0.05
Volume sampel (L)	0.05	0.05	0.05	0.05
Faktor Pengenceran	1	1	1	1
Fenolik Total (mg/L)	15.983	24.383	17.700	30.567
Fenolik Total (mg GAE/g)	15.983	24.383	17.700	30.567

Contoh perhitungan:

- Fenolik total
 Persamaan kurva standar asam galat: $y = 0.02x - 0.077$
 Absorbansi rata-rata sampel = $0.02 (\text{fenolik total}) - 0.077$
 $0.243 = 0.02 (\text{fenolik total}) - 0.077$
 $0.243 + 0.077 = 0.02 (\text{fenolik total})$
 Fenolik total = $15.983 \text{ mg/L} \times \text{Faktor Pengenceran}$
 $= 15.983 \text{ mg/L} \times 1$
 $= 15.983 \text{ mg/L}$

- Fenolik total (mg GAE/g)

$$C = c (V/m)$$

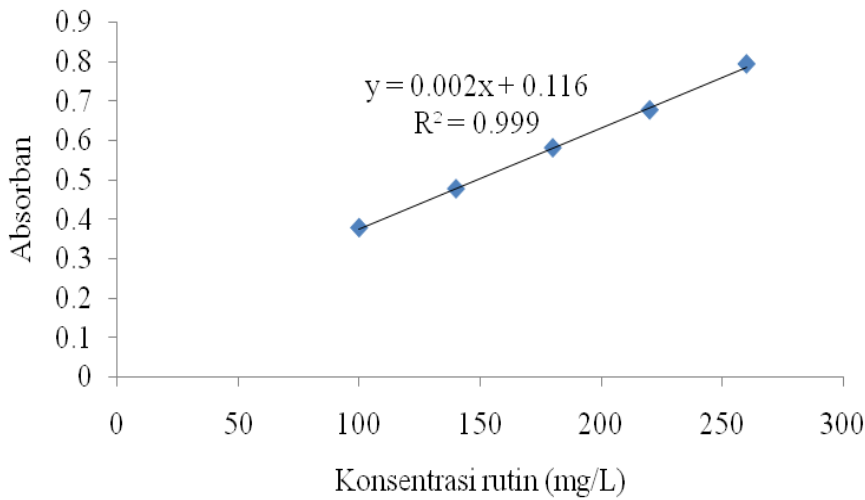
- Keterangan: C = Fenolik total (mg GAE/g)
 c = kadar fenolik total dari kurva standar (mg/L)
 V = volume sampel (L)
 m = bobot sampel (g)

$$\begin{aligned} \text{Fenolik total (mg GAE/g)} &= 15.983 \text{ mg/L} \times (0.05 \text{ L} / 0.05 \text{ g}) \\ &= 15.983 \text{ mg/g} \end{aligned}$$

Lampiran 6 Kadar flavonoid total

Konsentrasi rutin (mg/L)	Absorban
100	0.377
140	0.476
180	0.580
220	0.676
260	0.793

Kurva Standar Rutin



Ulangan	Absorbansi sampel			
	Ekstrak air		Ekstrak metanol	
	Daun rebus	Simplisia	Daun rebus	Simplisia
1	0.379	0.430	0.794	0.573
2	0.378	0.483	0.726	0.566
3	0.382	0.519	0.653	0.531
Rata-rata	0.380	0.477	0.724	0.557
Bobot sampel (g)	0.05	0.05	0.05	0.005
Volume sampel (L)	0.01	0.01	0.05	0.01
Faktor Pengenceran	0.2	0.2	1.0	2.0
Total flavonoid (mg/L)	36.133	26.367	304.167	440.667
Total flavonoid (mg RE/g)	7.227	5.273	304.167	881.333

Contoh perhitungan:

- Flavonoid total
 - Persamaan kurva standar rutin: $y = 0.002x + 0.116$
 - Absorbansi rata-rata sampel = $0.002 (\text{flavonoid total}) + 0.116$
 - $0.380 = 0.002 (\text{flavonoid total}) + 0.116$
 - $0.557 - 0.116 = 0.002 (\text{flavonoid total})$
 - Flavonoid total = $220.333 \text{ mg/L} \times \text{faktor pengenceran}$
 - = $220.333 \text{ mg/L} \times 2$
 - = 440.667 mg/L

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Flavonoid total (mg RE/g)
 $C = c (V/m)$
 Keterangan: C = Flavonoid total (mg RE/g)
 c = kadar flavonoid total dari kurva standar (mg/L)
 V = volume sampel (L)
 m = bobot sampel (g)
 Flavonoid total (mg GAE/g) = $440.667 \text{ mg/L} \times (0.01 \text{ L} / 0.005 \text{ g})$
 = 881.333 mg/g

Lampiran 7 Perhitungan persen inhibisi dan IC₅₀

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Rata-rata % inhibisi	Persamaan garis	Nilai R ²	IC ₅₀ (mg/L)
asam askorbat	2	2.142	$y = 0.708x + 1.059$	0.978	69.126
	4	4.215			
	6	5.673			
	8	6.368			
	10	8.150			
ekstrak air daun rebus	50	14.4967	$y = 0.325x - 5.501$	0.978	170.772
	100	25.6555			
	150	38.9744			
	200	57.1024			
	250	80.0278			
ekstrak air simplisia daun singkong	50	5.668	$y = 0.471x - 23.36$	0.981	155.7593
	100	19.865			
	150	40.582			
	200	74.601			
	250	96.231			
ekstrak metanol daun rebus	50	14.622	$y = 0.407x - 9.285$	0.986	144.282
	100	30.505			
	150	45.746			
	200	72.788			
	250	95.266			
ekstrak metanol simplisia daun singkong	50	31.978	$y = 0.291x + 23.20$	0.939	92.096
	100	54.759			
	150	72.857			
	200	85.795			
	250	89.371			

Contoh perhitungan (ekstrak air simplisia daun singkong):

$$\begin{aligned} \text{Abs. sampel terkoreksi ulangan 1} &= \text{Abs. sampel} - \text{Abs. blanko sampel} \\ &= 0.488 - 0.080 \\ &= 0.408 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{Abs. blanko terkoreksi} - \text{Abs. sampel terkoreksi}}{\text{Abs. blanko terkoreksi}} \times 100\% \\ &= \frac{0.424 - 0.408}{0.424} \times 100\% = 3.774\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi rata-rata} &= \frac{\% \text{ Inhibisi ulangan 1} + 2 + 3}{3} \\ &= \frac{3.774\% + 5.312\% + 7.919\%}{3} \\ &= 5.668\% \end{aligned}$$

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

$$\begin{aligned}
 y &= 0.471x - 23.36 \\
 \% \text{ inhibisi} &= 0.471 (\text{IC}_{50}) - 23.36 \\
 50 &= 0.471 (\text{IC}_{50}) - 23.36 \\
 \text{IC}_{50} &= 155.759 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

Lampiran 8 Analisis statistik menggunakan SPSS 17

1. Analisis Rendemen

Duncan^a

ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
air daun rebus	2	.892400	
metanol daun rebus	2	1.032150	
air daun segar	2		3.730000
metanol daun segar	2		5.560000
Sig.		.858	.067

a. Menggunakan rata-rata nilai harmonik ukuran sampel = 3.000

2. Analisis kadar fenolik total

Duncan^a

ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ekstrak air daun rebus	3	15.98333		
ekstrak metanol daun rebus	3	17.70000		
ekstrak air daun segar	3		24.38333	
ekstrak metanol daun segar	3			30.56667
Sig.		.078	1.000	1.000

a. Menggunakan rata-rata nilai harmonik ukuran sampel = 3.000

3. Analisis flavonoid total

Duncan^a

Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ekstrak air daun rebus	3	5.27333		
ekstrak air daun segar	3	7.22667		
ekstrak metanol daun rebus	3		304.16667	
ekstrak metanol daun segar	3			881.33333
Sig.		.935	1.000	1.000

a. Menggunakan rata-rata nilai harmonik ukuran sampel = 3.000

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



4. Analisis IC_{50}

Duncan^a

Ekstrak	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
asam askorbat	3	69.12600	
ekstrak metanol daun segar	3	92.09600	
ekstrak metanol daun rebus	3		144.28167
ekstrak air daun segar	3		155.75933
ekstrak air daun rebus	3		170.77200
Sig.		.101	.074

a. Menggunakan rata-rata nilai harmonik ukuran sampel = 3.000

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Sukabumi pada tanggal 4 Januari 1993. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Sukandi dan Rukoyah. Penulis memulai jenjang pendidikan formal di SD Mardi Yuana Pelabuhanratu, Sukabumi Jawa Barat (1999-2001) dan SDN Hanjawa 3, Cianjur Jawa Barat (2001-2004). Pendidikan menengah pertama ditempuh penulis di SMPN 1 Cibeber-Cianjur, Jawa Barat (2004-2007) sementara pendidikan menengah atas ditempuh di SMAN 1 Cibeber-Cianjur, Jawa Barat (2007-2010).

Penulis diterima di Institut Pertanian Bogor pada tahun 2010 melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI). Selama masa perkuliahan, penulis aktif dalam berbagai organisasi seperti Koperasi Mahasiswa (KOPMA) sebagai staff personalia periode 2011-2014, Himpunan Profesi Biokimia *Community of Research and Education in Biochemistry* (CREBs) sebagai anggota divisi Human Resource and Development (HRD) (2011-2012) dan anggota pengawas (2012-2013). Penulis juga aktif sebagai asisten mata kuliah Mikrobiologi Dasar, Biokimia Umum, Struktur dan Fungsi Biomolekul, serta Biokimia Klinis.

Penulis melaksanakan Praktik Lapang di Laboratorium Klinik Prodia Bogor pada tahun 2013 dengan laporan yang berjudul Prevalensi Anemia Defisiensi Besi Penduduk Kota Bogor Berdasarkan Pemeriksaan di Laboratorium Klinik Prodia Bogor Periode Juli-Agustus 2013.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.