

Uji Antioksidan Pada Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Dengan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil)

Antioxidant Assay on Cassava Leaf Extract (Manihot esculenta Crantz) Using the DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil) Method

^{1*}Luh Gede Anggi Kusuma Wardani Pinatih, Putu Yudhistira Budhi Setiawan

Program Studi Farmasi Klinis, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Bali Internasional, Bali

^{*)}Email: anggikusuma1403@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antioksidan ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) sebagai respon terhadap meningkatnya kebutuhan akan senyawa antioksidan dalam menghadapi gaya hidup modern yang penuh tantangan. Antioksidan diperlukan untuk menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit kronis. Daun singkong, yang kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid, diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Aktivitas antioksidan ekstrak diukur menggunakan metode DPPH. Hasil menunjukkan parameter spesifik dan non-spesifik simplisia daun singkong memenuhi syarat, dengan kadar abu total $5,8415 \pm 0,1219\%$ dan kadar susut pengeringan $10,0254 \pm 0,996\%$. Ekstrak daun singkong memiliki kadar rendemen 12,424%, kadar flavonoid total $0,741 \pm 0,006\%$, dan kadar fenol total $2,144 \pm 0,240\%$. Nilai IC_{50} ekstrak daun singkong rata-rata adalah 260,807 ppm, menunjukkan aktivitas antioksidan sangat lemah. Penelitian ini memberikan gambaran awal mengenai potensi antioksidan daun singkong. Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan metode ekstraksi, mengidentifikasi senyawa aktif utama, dan mengevaluasi potensi sinergis dengan antioksidan lain. Temuan ini dapat menjadi dasar pengembangan produk alami berbasis daun singkong dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi.

Kata Kunci: Antioksidan, Daun singkong, DPPH, Fenol, Flavonoid.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the antioxidant potential of cassava leaf extract (Manihot esculenta Crantz) in response to the increasing need for antioxidant compounds to cope with the challenges of modern lifestyles. Antioxidants are necessary to counteract free radicals that can cause various chronic diseases. Cassava leaves, rich in phenolic and flavonoid compounds, were extracted using the maceration method with 96% ethanol as the solvent. The antioxidant activity of the extract was measured using the DPPH method. The results showed that the specific and non-specific parameters of the cassava leaf simplisia met the requirements, with a total ash content of $5.8415 \pm 0.1219\%$ and a moisture content of $10.0254 \pm 0.996\%$. The cassava leaf extract had a yield of 12.424%, total flavonoid content of $0.741 \pm 0.006\%$, and total phenol content of $2.144 \pm 0.240\%$. The average IC_{50} value of the cassava leaf extract was 260.807 ppm, indicating very weak antioxidant activity. This study provides an initial overview of the antioxidant potential of cassava leaves. However, further research is needed to optimize the extraction method, identify the main active compounds, and evaluate the synergistic potential with other antioxidants. These findings can serve as a basis for developing natural products based on cassava leaves with higher antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, Cassava leaves, DPPH, Phenol, Flavonoid.

PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan di era modern telah mengubah pola hidup masyarakat, yang sering kali berdampak negatif terhadap kesehatan. Perubahan ini, seperti konsumsi makanan tidak seimbang, kurangnya olahraga, kebiasaan merokok, dan minum alkohol, diperburuk oleh polusi lingkungan, yang semuanya dapat mengurangi produksi senyawa pelindung tubuh. Salah satu dampak dari perubahan ini adalah meningkatnya radikal bebas, yang dapat merusak sel-sel tubuh. Radikal bebas ini dapat ditanggulangi oleh antioksidan, senyawa yang dapat menghambat oksidasi dan menangkal radikal bebas, melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif (Haerani et al., 2018).

Antioksidan dapat berasal dari sumber alami dan sintetik. Namun, antioksidan sintesis seperti BHT, BHA, dan TBHQ dibatasi penggunaannya karena dapat bersifat karsinogenik jika digunakan berlebihan (Wicaksono & Ulfah, 2017). Oleh karena itu, sumber antioksidan alami lebih disukai, terutama yang berasal dari senyawa fenolik. Banyak tanaman yang mengandung karotenoid dan polifenol, termasuk flavonoid, yang memiliki aktivitas antioksidan. Salah satu tanaman yang kaya akan flavonoid dan memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) (Falah, 2016).

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, dengan nilai IC₅₀ yang rendah menunjukkan potensi antioksidan yang tinggi (Malik et al., 2020). Berbagai metode ekstraksi seperti maserasi, refluks, sokletasi, dan sonikasi dapat digunakan untuk mengisolasi flavonoid dari tanaman. Maserasi adalah metode yang paling sederhana, murah, dan efektif, meskipun membutuhkan waktu lama dan banyak pelarut. Dalam penelitian ini, ekstraksi flavonoid dari daun singkong dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut polar. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH, yang sederhana, cepat, dan membutuhkan sampel dalam jumlah kecil (Ridho, 2013).

Berdasarkan penjabaran tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas

antioksidan terhadap ekstrak etanol 96% daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) yang penulis ambil dari lahan perkebunan di Desa Angseri, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan serta untuk mengetahui nilai IC₅₀ (*inhibition concentration*) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan berbagai alat untuk berbagai tahap pengujian. Alat utama yang digunakan termasuk spektrofotometer UV-Vis yang berfungsi untuk mengukur absorbansi sampel pada panjang gelombang tertentu. Ekstraksi simplisia dilakukan menggunakan blender merek Philips, dengan tambahan peralatan seperti batang pengaduk, bejana maserasi, dan corong kaca. Waterbath dan kompor listrik digunakan untuk proses pemanasan, sementara termometer memantau suhu. Gelas ukur dan beaker glass dari Pyrex digunakan untuk pengukuran volume, dengan spesifikasi 10 mL, 50 mL, 500 mL, dan 1000 mL. Alat lain meliputi cawan porselen, toples kaca berukuran 5L, dan ayakan no 60.

Standarisasi ekstrak dilakukan dengan tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, dan gelas beaker 500 mL dari Pyrex. Untuk uji kadar flavonoid dan fenol total, digunakan labu erlenmeyer, gelas ukur, pengaduk magnetic, dan saringan. Uji kromatografi lapis tipis melibatkan plat KLT, labu erlenmeyer, dan gelas ukur. Uji antioksidan memanfaatkan flakon kaca 10 mL, mikropipet 1 mL, botol kaca gelap, dan aluminium foil.

Bahan utama untuk ekstraksi adalah daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz), yang diperoleh dari kebun di Desa Angseri, serta etanol 96% teknis sebanyak 1000 mL. Untuk standarisasi ekstrak, digunakan aquadest, serbuk magnesium (Mg), asam klorida (HCl), besi (III) klorida (FeCl₃), dan berbagai reagen seperti Mayer, Dragendorf, quercetin, asam galat, asam asetat, aquadest, dan tersier butanol.

Uji kadar flavonoid total menggunakan ekstrak daun singkong dan etanol P, sedangkan uji kadar fenol total melibatkan ekstrak daun singkong dan metanol P. Uji

kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak BAW dengan perbandingan 4:5:5 dan fase diam silica gel GF254. Untuk uji antioksidan, bahan yang digunakan adalah ekstrak daun singkong, serbuk DPPH dari Sigma Aldrich, metanol PA 96% dari Merck, dan quercetin dari Sigma.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental laboratorium. Simplisia dan ekstrak singkong dianalisis parameter kualitasnya. Dengan beberapa faktor yang dapat mempengaruhinya yaitu suhu pengeringan, cahaya matahari yang digunakan, waktu dalam memproses dari simplisia menjadi ekstrak, serta jenis metode yang digunakan. Ekstrak yang dibuat dengan proses maserasi dan diuji parameter standarnya yang nantinya ekstrak tersebut digunakan menguji aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH dengan mendapatkan nilai IC_{50} .

Analisis Data

Data antioksidan pada radikal DPPH (% Inhibisi) ekstrak daun singkong dalam pelarut metanol dianalisis dan dihitung nilai IC_{50} nya. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan Microsoft Excel untuk mendapatkan persamaan regresi linear dimana persamaan ini lah yang digunakan untuk analisis data. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan semakin kuat. Kemudian hasil IC_{50} akan dicocokkan dengan klasifikasi menurut Blois (Khairunnisa, 2017).

Tabel 1. Rentang nilai IC_{50}

Nilai IC_{50}	Hasil Persentase %
$(IC_{50} < 50 \text{ ppm})$	Sangat Kuat
$(50 \text{ ppm} < IC_{50})$	Kuat
$(100 \text{ ppm} < IC_{50})$	Sedang
$(150 \text{ ppm} < IC_{50})$	Lemah
$(IC_{50} > 200 \text{ ppm})$	Sangat Lemah

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Simplisia

Pengamatan identitas simplisia atau determinasi tanaman dilakukan oleh Departemen Biologi Farmasi Universitas Gajah Mada yang dimaksudkan untuk memastikan identitas simplisia secara objektif

yang meliputi nama tumbuhan dan bagian tumbuhan yang dipakai. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel di bawah.

Tabel 2. Data determinasi daun singkong

Parameter	Hasil Pengamatan
Nama latin	<i>Manihot esculenta</i> Crantz
Nama simplisia	<i>Manihot Folium</i> <i>esculenta</i> Crantz
Bagian yang digunakan	Folium (Daun)
Nama Indonesia tumbuhan	Daun Singkong

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa bahan yang digunakan pada penelitian ini benar merupakan daun dari tanaman singkong (*Manihot esculenta* Crantz).

Standarisasi Simplisia

1. Makroskopis

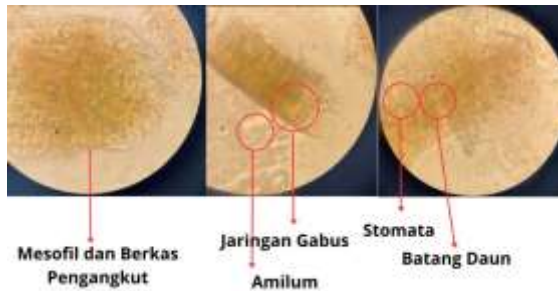


Gambar 1. Daun singkong

Hasil pemeriksaan makroskopik daun singkong meliputi pemeriksaan visual dan organoleptis. Dimana daun singkong memiliki panjang daun per helainya kisaran 10 – 15 cm, daun berwarna hijau terang dengan bentuk daun runcing menjari, serta tulang daun disetiap helainya.

2. Mikroskopis

Pemeriksaan pengamatan mikroskopis terhadap serbuk simplisia daun singkong. Pengujian mikroskopik bertujuan untuk menentukan fragmen pengenal yang terdapat pada daun singkong, sehingga dapat mencegah 52 pemalsuan simplisia dengan di lihat menggunakan mikroskop pada pembesaran 10x. Serbuk simplisia daun singkong menunjukkan fragmen seperti pada gambar dibawah ini.



Gambar 2. Uji Mikroskopis daun singkong dengan pembesaran 10x

Berdasarkan pengamatan mikroskopis dengan referensi Farmakope Herbal Indonesia tahun 2017, simplisia daun singkong menunjukkan karakteristik khas seperti mesofil, berkas pengangkut, amilum, jaringan gabus, stomata, dan batang daun. Temuan ini konsisten dengan deskripsi umum daun singkong dari pustaka lain, meskipun detail mikroskopis spesifik belum ditemukan dalam referensi tersebut. Perbedaan hasil pengamatan mungkin disebabkan oleh faktor varietas, kondisi pertumbuhan, atau metode preparasi sampel. Temuan ini dapat menjadi acuan awal untuk penelitian lebih lanjut tentang karakteristik mikroskopis daun singkong dari berbagai varietas atau daerah.

3. Kadar abu

Simplisia dan ekstrak masing-masing sebanyak 2-3g ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, pijarkan perlahan-lahan hingga suhu yang menyebabkan senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja yaitu pada suhu $800 \pm 25^{\circ}\text{C}$, kemudian didinginkan pada suhu ruang kurang lebih selama 30 menit setelah dingin lalu ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b.

Tabel 3. Hasil perhitungan kadar abu simplisia

Replikasi	% Kadar abu
1	5,868
2	5,709
3	5,948
Rata-rata \pm SD	5,842 \pm 0,122

Berdasarkan parameter standar Kementrian Kesehatan Republik Indonesia

(2017), kadar abu total dalam simplisia seharusnya tidak melebihi 16,6%. Hasil analisis menunjukkan kadar abu total simplisia daun singkong yang diteliti adalah 5,84%, jauh di bawah ambang batas tersebut. Meskipun belum ada standar khusus dari Materia Medika Indonesia untuk daun singkong, kadar abu yang lebih tinggi umumnya menunjukkan kandungan mineral yang lebih banyak, termasuk garam organik, garam anorganik, atau senyawa kompleks organik yang mengandung mineral.

4. Susut Pengerinan

Susut pengeringan merupakan salah satu parameter non spesifik yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Parameter susut pengeringan pada dasarnya adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen. Massa yang dapat hilang karena pemanasan ini meliputi molekul air, minyak atsiri dan pelarut etanol.

Tabel 4. Hasil perhitungan susut pengeringan simplisia

Replikasi	% Susut Pengerinan
1	10,076
2	9,911
3	10,090
Rata-rata \pm SD	10,025 \pm 0,996

Penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar air pada semua sampel adalah 10,026%, yang dimana berada di bawah batas maksimum susut pengeringan yang ditetapkan dalam Farmakope Herbal, yaitu 11%. Hasil ini menunjukkan bahwa metode pengeringan yang digunakan efektif dalam menurunkan kadar air simplisia daun singkong tanpa merusak kandungan senyawa aktifnya. Susut pengeringan merupakan parameter penting karena kadar air yang tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme dan mengurangi stabilitas produk. 62 Dengan demikian, hasil yang diperoleh mengindikasikan bahwa sampel yang diteliti memiliki kualitas yang baik dan memenuhi syarat sebagai bahan baku sediaan (Kemenkes RI, 2017).

Standarisasi Ekstrak

Sebanyak 350 g serbuk daun singkong yang telah diayak diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode ini memanfaatkan perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel, sehingga zat aktif akan terlarut ke dalam pelarut (Parfati, 2018). Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, karena etanol bersifat polar dan efektif dalam mengekstraksi metabolit sekunder polar seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin dari daun singkong (Qonitah et al., 2022). Proses maserasi dilakukan sebanyak tiga kali untuk mengoptimalkan pengambilan senyawa kimia, dengan pengadukan setiap 24 jam untuk homogenisasi larutan. Setelah maserasi, hasil disaring menggunakan kain mori untuk menghilangkan sisa maserat tebal, kemudian disaring lagi dengan kertas saring untuk menghilangkan partikel kecil. Ekstrak cair yang dihasilkan diuapkan menggunakan waterbath pada suhu 70°C untuk menghilangkan pelarut, menghasilkan ekstrak dengan tekstur pasta kental.

1. Uji organoleptis simplisia dan ekstrak daun singkong

Tabel 5. Hasil pengamatan uji organoleptis

Parameter	Hasil Pengamatan	
	Simplisia	Ekstrak
Bentuk	Serbuk Halus	Ekstrak Kental
Warna	Hijau Daun	Hijau Kehitaman
Bau	Khas	Khas

Pengamatan organoleptis dilakukan dengan pemeriksaan bentuk, warna dan bau simplisia serta ekstrak menggunakan mata telanjang. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan, simplisia daun singkong memiliki bentuk serbuk yang halus dengan warna daun hijau serta bau yang khas. Sedangkan ekstrak daun singkong memiliki bentuk ekstrak kental,

memiliki warna hijau kehitaman serta memiliki bau yang khas.

2. Rendemen ekstrak daun singkong

Tabel 6. Hasil uji rendemen

Jenis Sampel	Bobot Serbuk Simplisia (g)	Bobot Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Ekstrak Daun Singkong	300	37,273	12,424

Rendemen ekstrak merupakan indikator efisiensi proses ekstraksi, yaitu perbandingan antara jumlah metabolit yang diperoleh dengan berat sampel awal. Penelitian sebelumnya oleh Sari & Meitisa (2017) melaporkan rendemen ekstrak daun singkong sebesar 0,8875%. Pada penelitian ini, dengan menggunakan pelarut etanol 96%, diperoleh rendemen ekstrak sebesar 12,424%. Perbedaan rendemen ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk jenis dan konsentrasi pelarut, serta metode ekstraksi yang digunakan. Rendemen di atas 10% umumnya dianggap baik, menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan telah efektif

3. Profil KLT

Pengujian profil kromatografi lapis tipis merupakan suatu analisis sederhana yang dapat digunakan untuk melakukan penegasan terhadap senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan. Nilai R_f dan warna noda yang diperoleh pada KLT dapat memberikan identitas senyawa yang terkandung. Pada pengujian kali ini menggunakan ekstrak daun singkong, guna untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung pada ekstrak daun singkong. Hasil identifikasi senyawa menggunakan uji profil KLT dapat dilihat pada tabel di bawah.

Tabel 8. Profil KLT ekstrak daun singkong

Sampel	hRf	Sebelum disemprot		Prediksi Senyawa				Keterangan
		UV 256	UV 366	AlCl ₃	FeCl ₃	Dragendorff	Liebermann burchard	
Ekstrak	0	+	+	-	-	-	Coklat	Steroid
Daun	18,75	+	+	-	-	Jingga	Hijau	Alkaloid
Singkong	28,75	+	+	Hijau Kuningan	Hijau Kuningan	-	-	Flavonoid
	31,25	+	+	Hijau muda	Hijau muda	-	Hijau	Flavonoid
	42,5	+	+	-	-	-	Jingga	Alkaloid
	43,75				-	Abu-Abu	Biru Hitam	Fenolik
	52,5	+	+	Biru hitam	Biru hitam		Biru Hitam	Fenol
	57,5	+	+	-	-	Abu-Abu	Biru Hitam	Fenolik
	62,5			Coklat	Coklat	-	-	Steroid
	65	+	+	Hijau kuning	Hijau kuning	-	Biru	Fenolik
	75	+	+	-	-	-	Coklat	Steroid

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode kualitatif untuk menganalisis senyawa dengan cara pemisahan menggunakan fase diam padat dan fase gerak cair. Metode ini lebih sederhana dan murah dibandingkan kromatografi kolom. KLT memerlukan fase gerak dengan kemurnian tinggi, daya elusi yang terkontrol (Rf antara 0,2 – 0,8), dan viskositas rendah. Peralatan KLT terdiri dari bejana tertutup, lempeng, dan pelarut. Pada pengujian ekstrak daun singkong, KLT mengidentifikasi senyawa fitokimia seperti steroid (warna jingga), flavonoid (hijau hingga hijau kekuningan), fenol (biru kehitaman), dan alkaloid (coklat), menunjukkan keberadaan berbagai senyawa bioaktif.

4. Kadar flavonoid total

Pembuatan standar asam galat dibuat dengan cara mengencerkan standar quercetin 100 ppm menjadi deret standar konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Pengukuran standar asam galat yang telah diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan standar panjang gelombang 431 nm. Kemudian dilanjutkan dengan pengukuran massa ekstrak daun singkong. Masing-masing pengukuran dilakukan 3 kali pengulangan dengan pengenceran ekstrak sebanyak 10x. Setelah diperoleh nilai persen penghambatan sampel, ditentukan dan dihitung persamaan regresi dari

konsentrasi sampel terhadap persen penghambatan menggunakan Microsoft Excel. Berdasarkan kurva hubungan antara konsentrasi sampel dengan presentase peredaman diatas, didapat persamaan regresi linier. Dari persamaan tersebut dilakukan perhitungan nilai % kadar Flavonoid total.

Tabel 9. Persentase hasil flavonoid total pada daun singkong

% Kadar Flavonoid Daun Singkong			
R 1	R 2	R3	Rata-rata ± SD
0,738	0,735	0,750	0,741± 0,008

Penetapan kadar flavonoid dilakukan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃. Metode ini berprinsip pada pembentukan kompleks stabil antara AlCl₃ dengan gugus C-4 keto, C-3, atau C-5 hidroksil pada flavonoid, terutama flavon dan flavonol. AlCl₃ juga membentuk kompleks asam stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin A atau B flavonoid. Dalam prosedur ini, methanol digunakan untuk meningkatkan konsentrasi flavonoid, sedangkan AlCl₃ 10% berfungsi memberikan efek batokromik dengan menggeser panjang gelombang larutan ke rentang UV-Vis 400-800 nm, menghasilkan warna kuning. Setelah penambahan natrium asetat 1 M sebagai penstabil dan aquadest,

larutan didiamkan selama 30 menit untuk memastikan reaksi lengkap. Panjang gelombang maksimum pada konsentrasi 100 ppm ditentukan pada 431 nm dengan absorbansi rata-rata 0,988. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan larutan standar pada konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm, menghasilkan persamaan regresi linier $y = 0,01x - 0,0192$ dengan koefisien (r) = 0,9976. Nilai r mendekati satu menunjukkan hubungan kuat antara variabel. Hasil penelitian menunjukkan kadar flavonoid rutin pada daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) sebesar 4,987%, sesuai dengan penelitian Azizah et al. (2020), meski terdapat variasi yang dapat dipengaruhi oleh faktor seperti tempat tumbuh dan usia daun.

5. Kadar fenol total

Pembuatan standar asam galat dibuat dengan cara mengencerkan standar asam galat 100 ppm menjadi deret standar konsentrasi 15, 30, 50, 70, 100, 150, dan 200 ppm. Pengukuran standar asam galat yang telah diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan standar panjang gelombang 720 nm. Kemudian dilanjutkan dengan pengukuran massa ekstrak daun singkong. Masing-masing pengukuran dilakukan 3 kali pengulangan dengan pengenceran ekstrak sebanyak 10x. Setelah diperoleh nilai persen penghambatan sampel, ditentukan dan dihitung persamaan regresi dari konsentrasi sampel terhadap persen penghambatan menggunakan Microsoft Excel.

Tabel 10. Persentase hasil fenol total pada daun singkong

% Kadar flavonoid daun singkong			
R 1	R 2	R 3	Rata-rata \pm SD
1,998	2,011	2,421	2,144 \pm 0,240

Berdasarkan kurva hubungan antara konsentrasi sampel dengan presentase peredaman diatas, didapat persamaan regresi linier. Dari persamaan tersebut dilakukan perhitungan nilai % kadar fenol total. Penentuan kandungan total fenol pada daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menggunakan metode Folin-Ciocalteu melibatkan pengukuran absorbansi pada 720 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Asam

galat digunakan sebagai standar karena kemurniannya; reaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning dan pembentukan kompleks biru setelah penambahan Na_2CO_3 . Larutan standar asam galat dibuat pada konsentrasi 30 hingga 200 ppm, dan analisis memberikan persamaan regresi linier $y = 0,0116x - 0,0715$ dengan koefisien korelasi 0,999. Untuk ekstrak daun singkong, 200 mg serbuk daun dilarutkan dalam metanol dan diencerkan, kemudian diuji dengan reagen Folin-Ciocalteu, menghasilkan rata-rata absorbansi $2,144 \pm 0,240$ dari tiga pengulangan.

Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH

Tabel 11. Hasil perhitungan nilai IC_{50} pada ekstrak daun singkong

Sampel	Nilai IC_{50}	Keterangan
Replikasi 1	272,902	Sangat Lemah
Replikasi 2	268,515	Sangat Lemah
Replikasi 3	241,006	Lemah
Retata \pm SD	260,807 \pm 17,289 mg/L	

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun singkong dari Desa Angseri, Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan. Hasim et al (2016) melaporkan nilai IC_{50} untuk ekstrak air daun singkong sebesar 170,77 mg/L dan ekstrak metanol sebesar 92,10 mg/L, menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Sebagai perbandingan, penelitian ini menghasilkan nilai IC_{50} rata-rata 260,81 mg/L dari tiga replikasi, lebih tinggi dibandingkan hasil Hasim. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh faktor eksternal seperti lokasi tumbuh dan faktor internal seperti bibit tanaman, serta kandungan fenol dan flavonoid yang lebih rendah dalam penelitian ini dibandingkan Azizah et al (2020) yang melaporkan kadar flavonoid sebesar 4,987%. Faktor-faktor seperti konsentrasi, suhu, waktu, dan metode ekstraksi berperan penting, dengan metode Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) yang terbukti efektif dalam meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif (Hakim & Saputri, 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Simplisia daun singkong memenuhi syarat dengan parameter spesifik kadar abu total rata-rata $5,8415 \pm 0,1219$ dan kadar susut pengeringan $10,0254 \pm 0,996$. Karakter organoleptis, makroskopis, dan mikroskopis sesuai dengan pustaka, termasuk bentuk serbuk halus, warna hijau daun, bau khas, serta adanya stomata, mesofil, jaringan gabus, dan amilum.
 2. Ekstrak daun singkong juga memenuhi syarat dengan kadar rendemen ekstrak 12,424%. Parameter spesifik meliputi kadar flavonoid total $0,741 \pm 0,006$, kadar fenol total $2,144 \pm 0,240$, serta profil KLT yang menunjukkan adanya fenolik, fenol, steroid, dan alkaloid.
 3. Nilai IC_{50} ekstrak daun singkong dengan pelarut etanol 96% rata-rata 260,807 ppm, tergolong sangat lemah dalam kategori aktivitas antioksidan menurut kriteria Blois.
- 6. Daftar Pustaka**
- Azizah, Z., Elvis, F., Zulharmita, Z., Misfadhila, S., Chandra, B., & Yetti, R. D. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Rutin Pada Daun Singkong (*Manihot Esculenta* Crantz) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1).
- Dwiyanto. (2017). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Singkong Gajah (*Manihot Utilissima* Pohl Var. Gajah) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Untuk Pengayaan Materi Pada Praktikum Mata Kuliah Mikrobiologi.
- Falah, S. (2016). Current Biochemistry Current Biochemistry Effect Of Boiled Cassava Leaves (*Manihot Esculenta* Crantz) On Total Phenolic, Flavonoid And Its Antioxidant Activity. 3, 116–127.
- Haerani, A., Chaerunisa, A., Yohana, & Subarnas, A. (2018). Artikel Tinjauan: Antioksidan Untuk Kulit. , 16(2), Farmaka, Universitas Padjadjaran, 16(2), 135–151.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid Dan Fenolik: Narrative Review: Optimization Of Ethanol As A Solvent For Flavonoids And Phenolic Compounds. *Jurnal Surya Medika (Jsm)*, 6(1), 177–180.
- Hasim, Falah, S., & Dewi, L. K. (2016). Current Biochemistry Current Biochemistry Effect Of Boiled Cassava Leaves (*Manihot Esculenta* Crantz) On Total Phenolic, Flavonoid And Its Antioxidant Activity. *Current Biochemistry*, 3(3).
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (2nd ed.). Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khairunnisa, N. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daun Zaitun (*Olea europaea* L.) Menggunakan Pelarut Air Dengan Metode DPPH.
- Malik, F., Suryani, Ihsan, S., Meilany, E., & Hamsidi, R. (2020). Formulation Of Cream Body Scrub from Ethanol Extract Of Cassava Leaves (*Manihot Esculenta*) as Antioxidant. *Journal of Vocational Health Studies*, 4, 21–28.
- Parfati, N. D. (2018). Modul Penyiapan Simplisia Kelor (Aspek Produksi, Sanitasi, Dan Hygiene).
- Qonitah, F., Ariastuti, R., Ahwan, Maharani, P., & Wuri, N. A. (2022). Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Dari Kabupaten Klaten. *GEMA*, 34(1), 47–51.
- Ridho, E. Al. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia Trifolia*) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).
- Sari, E. R., & Meitisa. (2017). Standarisasi Mutu Ekstrak Daun Singkong (*Manihot Esculenta* Crantz). *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 2(1).
- Wicaksono, I. B., & Ulfah, M. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Dan Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 2(1), 44–48.

