



## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KADAR KLOROFIL KULTIVAR SINGKONG DI DAERAH WONOSOBO

Restanti Solikhah<sup>✉</sup>, Eling Purwantoyo, dan Ely Rudyatmi

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang, Indonesia

### Info Artikel

Diterima: 1 Maret 2019  
Disetujui: 30 Maret 2019  
Dipublikasikan: 25 April 2019

#### Keywords:

Aktivitas Antioksidan, Kadar Klorofil, Kultivar Singkong.

### Abstract

*Cassava leaves are the main barrier for oxidation reactions. This happens because of the chlorophyll content, but chlorophyll levels will increase with age until the leaves develop fully and then chlorophyll levels decrease when the leaves get older. When the leaves are old it is indicated that there are other compounds that act as the main barrier for oxidation reactions, namely flavonoids. Falvonoid is seen from the antioxidant activity of the leaves. The purpose of this study was to determine the levels of chlorophyll, antioxidant activity and the relationship between chlorophyll levels and antioxidant activity. This study uses seven cassava cultivars in Wonosobo. The leaves were extracted using the maceration method then the antioxidant activity was measured using DPPH method besides chlorophyll content was measured using a spectrophotometer using the ARNON method, then from the results of measurements of chlorophyll content and antioxidant activity in the Pearson Correlation method correlation test. Cassava results from Wonosobo cultivars Marsinah had the highest antioxidant activity of 71.13%. Furthermore Martapura (46.27%), Green Handle Vegetables (46.27%), Palengka (46.13%), Rubber (39.64%), Red Handle Vegetables (39.36%) and the lowest one is Kastepe cultivars that is 36.87%. While the highest chlorophyll content of Marsinah cultivars is 32.19 mg / l. Next Rubber (29.44 mg / l), Green Vegetable Handle (28.04 mg / l), Kastepe (27.66 mg / l), Martapura (27.30 mg / l), Palengka (22.82 mg / l) and the lowest is the Red Handle Vegetable cultivar which is 22.01 mg / l. From these results it can be concluded that there is no correlation between chlorophyll levels and antioxidant activity of cassava cultivars in Wonosobo district.*

### Abstrak

Daun singkong merupakan barrier utama untuk reaksi oksidasi. Hal ini terjadi karena adanya kandungan klorofil, akan tetapi kadar klorofil akan meningkat seiring bertambahnya umur sampai daun berkembang penuh dan kemudian kadar klorofil menurun ketika daun semakin tua. Pada saat daun sudah tua diindikasikan bahwa ada senyawa lain yang berperan sebagai barrier utama untuk reaksi oksidasi yaitu flavonoid. Falvonoid dilihat dari aktivitas antioksidan daun. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kadar aklorofil, aktivitas antioksidan dan hubungan antara kadar klorofil dengan aktivitas antioksidan. Penelitian ini menggunakan tujuh kultivar singkong yang ada di wonosobo. Daun diekstraksi menggunakan metode maserasi kemudian diukur aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH selain itu kadar klorofil diukur menggunakan spektrofotometer menggunakan metode ARNON, kemudian dari hasil pengukuran kadar klorofil dan aktivitas antioksidan di uji korelasi metode Pearson Correlation. Hasil menunjukkan Singkong dari Wonosobo kultivar Marsinah memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi yaitu 71,13%. Selanjutnya Martapura (46,27%), Sayur Gagang Hijau (46,27%), Palengka (46,13%), Karet (39,64%), Sayur Gagang Merah (39,36%) dan yang terendah adalah kultivar Kastepe yaitu 36,87%. Sedangkan kadar klorofil yang paling tinggi kultivar Marsinah yaitu 32,19 mg/l. Selanjutnya Karet (29,44 mg/l), Sayur Gagang Hijau (28,04 mg/l), Kastepe (27,66 mg/l), Martapura (27,30 mg/l), Palengka (22,82 mg/l) dan yang terendah adalah kultivar Sayur Gagang Merah yaitu 22,01 mg/l. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat hubungan antara kadar klorofil dengan aktivitas antioksidan kultivar singkong di kabupaten wonosobo.

© 2019 Universitas Negeri Semarang

<sup>✉</sup>Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lt.1 Jl Raya Sekaran Gunugpati, Semarang  
E-mail: restanti.solikhah@gmail.com

p-ISSN 2252-6277

e-ISSN 2528-5009

## PENDAHULUAN

Wonosobo merupakan pegunungan dengan ketinggian berkisar antara 275 meter sampai 2.250 meter di atas permukaan laut. Suhu udara rata-rata berkisar 14,3-26,5°C dengan curah hujan pertahun berkisar antara 1.713-4.255 mm/tahun. Ada tiga jenis tanah yang terdapat di Kabupaten Wonosobo yaitu Tanah Andosol (25%), Tanah Regosol (40%), dan Tanah Podsonik (35%), selain itu kemiringan tanah antara 15-40% meliputi 54.641 ha atau 56,37% tersebar di seluruh kecamatan di Kabupaten Wonosobo (Bappeda, 2015). Dengan letak dan kondisi geografis tersebut, Kabupaten Wonosobo memiliki potensi sumberdaya alam terutama di sektor pertanian.

Kecamatan Wadaslintang merupakan salah satu kecamatan yang ada di kabupaten wonosobo, dengan ketinggian 200-1000 meter diatas permukaan laut, suhu 24-33°C dan dibulan Juli-Agustus dengan suhu 20°C. Curah hujan cukup tinggi dan tanah yang subur menjadikan pertanian sebagai sektor yang dominan di daerah ini. Singkong tumbuh subur dan juga termasuk salah satu produk pertanian unggulan setelah padi, kopi, dan kentang. Kultivar yang banyak dikembangkan adalah Marsinah, Martapura, Kastepe, Klateng, Sayur gagang hijau, Sayur gagang merah, Bogor, Marsinah, Palengka, Gathutkaca, Karet, Mentega, dan Mangi

Daun singkong banyak mengandung senyawa murni dari jenis flavonoid seperti rutin, kersetin, dan sebagainya (Tsumbu *et al.*, 2011). Batangnya mengandung senyawa fenol (Yi *et al.*, 2010). Ekstrak fenolik *cortex* umbi singkong juga memiliki aktivitas antioksidan (Gagola *et al.*, 2014). Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi & Narasimhan, 1985). Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiinflamasi, antialergi, antidiabetes, dan antikanker. Efek antioksidan senyawa ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid (Neldawati *et al.*, 2013).

Daun singkong merupakan barrier utama untuk reaksi oksidasi. Hal ini terjadi karena klorofil yan banyak terkandung dalam daun memiliki kemampuan sebagai anti-oksidan, anti peradangan dan zat yang bersifat menyembuhkan luka (Wigmore, 1985). Menurut penelitian Setiawati (2016) kadar klorofil akan meningkat seiring bertambahnya umur sampai daun berkembang penuh dan kemudian kadar klorofil menurun ketika daun semakin tua. Pada saat daun sudah tua diindikasikan bahwa ada senyawa lain yang berperan sebagai barrier utama untuk reaksi oksidasi yaitu flavonoid. Hal ini sesuai dengan penelitian Devy (2010) yang menyatakan bahwa pada daun muda, kandungan flavonoid masih rendah, kemudian semakin meningkat dengan semakin tua daun, dimana fotosintesis terjadi secara optimal. Berdasarkan beberapa hal diatas, maka penelitian korelasi kadar antioksidan dan kadar klorofil daun dari berbagai kultivar singkong yang ada di Wonosobo perlu dilakukan.

## METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi UNNES dan Laboratorium FTP UNIKA Soegijapranata. Ekstraksi dan Uji aktifitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Biokimi Jurusan

Biologi FMIPA Unnes, Uji kadar klorofil dilakukan di Laboratorium FTP UNIKA Soegijapranata. Penelitian ini menggunakan daun singkong sebanyak 7 kultivar berdasarkan beda struktur morfologi daun dimana masing-masing kultivar diambil 3 bagian sampel yaitu Daun ke-3, ke-5 dan ke-7 dari pucuk tanaman. Penelitian ini merupakan penelitian korelatif. Daun diekstraksi menggunakan metode maserasi. Hasil ekstraksi selanjutnya diuji aktifitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Sedangkan uji klorofil menggunakan metode ARNON.

### **Preparasi Sampel**

Sampel daun singkong yang akan digunakan dari kebun tanaman warga di daerah Wonosobo. Sampel daun singkong yang digunakan yaitu daun singkong posisi 3-7 dari pucuk tanaman yang berumur 6 bulan.

### **Ekstraksi daun singkong**

Daun Singkong segar dicuci bersih dengan air mengalir lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C. Selanjutnya daun dihancurkan dengan blender hingga menjadi serbuk (simplisia) dan diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Kemudian memasukan 150 gram simplisia kedalam gelas erlenmeyer dan ditambahkan 750 ml pelarut metanol (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 dalam vacum rotary evaporator pada suhu 50-60°C hingga diperoleh ekstrak kasar berupa pasta. Selanjutnya rendeman masing masing ekstrak dihitung dengan membagi bobot ekstrak hasil ekstrak dengan botol sampel awal

### **Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH**

DPPH sebanyak 0,0039 gram ditimbangan menggunakan neraca timbang kemudian dimasukkan dalam botol gelap, Menambahkan 10 mL etanol 96%, kemudian mengocok hingga homogen. Kemudian larutan tersebut diukur absorbansi DPPH nya dengan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum untuk larutan DPPH adalah 517 nm. Kemudian Pembuatan Larutan Blanko yaitu dengan menyiapkan 4500  $\mu$ L etanol ditambah 500  $\mu$ L larutan DPPH dan mengocok hingga homogeny. Larutan Uji dibuat dalam konsentrasi 100 ppm yaitu mengambil 50  $\mu$ L dari larutan induk ditambahkan etanol sampai volumenya 4500  $\mu$ L. Tambahkan 500  $\mu$ L larutan DPPH. Semua larutan Blanko, Larutan Uji dan Larutan Pembanding diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dalam keadaan gelap, kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer.

### **Kadar Klorofil**

Daun singkong dipetik dari pohon sesuai tingkat perkembangan daun yaitu daun bagian pucuk (daun ke-3), daun yang masih muda atau dalam tahap perkembangan (daun ke-5) dan daun dewasa (daun ke-7). Helaian daun setiap sampel diambil 0,1 gram dan dirajang (ukuran sekitar 2 mm). Sampel dimasukan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan aseton 20 ml, kocok secukupnya dan diamkan selama 2x24 jam di ruang gelap. Kadar klorofil diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 645 dan 663 nm.

## Analisis Statistik

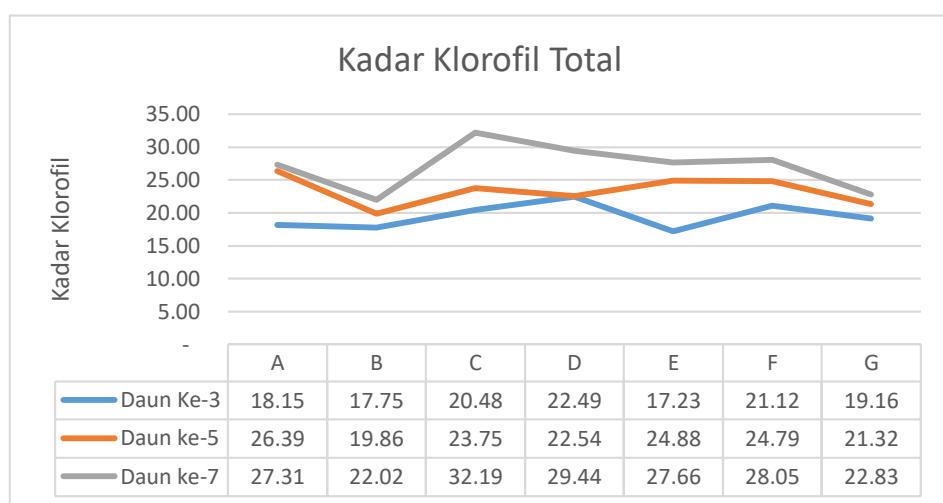
Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Data tersebut adalah korelasi aktivitas antioksidan dan kadar klorofil.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kultivar Singkong

Pada penelitian ini, diketahui bahwa di wonosobo ditemukan tujuh kultivar singkong, yaitu kultivar Singkong Marsinah, Palengka, Sayur Hijau, Martapura, Karet, Sayur Merah dan Kastepe.

### Kadar Klorofil



**Gambar 1.** Kadar Klorofil Kultivar Singkong

Berdasarkan Gambar 1, Daun posisi ke 7 dari setiap kultivar memiliki kadar klorofil tertinggi. Kadar klorofil total teringgi terdapat pada kultivar singkong marsianh yaitu 32,20 mg/1 dan kadar klorofil terendah terdapat pada kultivar singkong sayur merah yaitu 22,01 mg/1. Sedangkan untuk kadar klorofil total dari kultivar martapura dan kastepe hampir sama yaitu 27,30 dan 27,66 mg/1. Kadar klorofil total dari kultivar sayur merah dan palengka juga hampir sam yaitu 22,01 dan 22,82 mg/1. Dan juga kadar klorofil total kultivar karet dan sayur hijau hampir sama yaitu 29,44 dan 28,04 mg/1.

### Aktivitas Antioksidan

Pengujian antioksidan secara kuantitatif dilakukan dengan metode DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa dan ekstrak bahan alam. Panjang gelombang yang dipakai adalah 517 nm yang merupakan panjang maksimum DPPH. Data aktivitas antioksidan dari tujuh kultivar singkong disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Aktivitas Antioksidan

No	Bahan	Absorbansi (nm)	Aktivitas Hambatan (%)
1	S. Marsinah	0,209	71,13
2	S. Sayur merah	0,439	39,36
3	S. Kastepe	0,457	36,87
4	S. Karet	0,437	39,64
5	S. Sayur hijau	0,389	46,27
6	S. Palengka	0,390	46,13
7	S. Martapura	0,389	46,27

Berdasarkan tabel 1, diketahui bahwa aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada kultivar singkong marsinah yaitu 71,13% dan yang terendah terdapat pada kultivar singkong kastepe yaitu 36,87%.

#### **Hubungan antara Aktivitas Antioksidan dan Kadar Klorofil**

Daun singkong merupakan barrier utama untuk reaksi oksidasi. Hal ini disebabkan karena adanya klorofil. Klorofil berfungsi untuk menjaga kestabilan dan menghalangi kemasuhan DNA dalam sel, karena klorofil kaya dengan nutrisi dan menyumbang oksigen yang dapat menetralkan dan menggagalkan aktivitas radikal bebas dalam merusak sel-sel tersebut (Ann Wigmore, 1985). Akan tetapi klorofil. Menurut penelitian Setiawati (2016) kadar klorofil akan meningkat seiring bertambahnya umur sampai daun berkembang penuh dan kemudian kadar klorofil menurun ketika daun semakin tua. Oleh karena itu, pada saat daun sudah tua diindikasikan bahwa ada senyawa lain yang berperan sebagai barrier utama untuk reaksi oksidasi yaitu flavonoid.

**Tabel 2.** Korelasi antara kadar klorofil dan aktivitas antioksidan pada ekstrak daun singkong

		Kadar Klorofil	Aktivitas Antioksidan
Kadar Klorofil	Pearson Correlation	1	.561
	Sig. (2-tailed)		.190
	N	7	7
Aktivitas Antioksidan	Pearson Correlation	.561	1
	Sig. (2-tailed)	.190	
	N	7	7

Daun singkong yang digunakan dalam penelitian ini merupakan daun dari tujuh kultivar singkong yang biasa ditanam oleh masyarakat di wonosobo. Uji determinasi daun yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari wawancara petani yang ada wonosobo, di ketahui bahwa ada tujuh kultivar Manihot esculenta Crantz yaitu Kultivar Singkong Marsinah, Singkong gagang merah, Singkong kastepe, Singkong Karet, Singkong gagang ijo, Singkong Palengka dan Singkong Martapura.

## Determinasi Tanaman

Dari tujuh kultivar singkong yang ada di wonosobo tersebut dikelompokan menjadi dua kelompok yaitu kelompok gagang merah dan gagang hijau. Kultivar singkong gagang merah terdiri dari kultivar marsinah, palengka, karet dan kultivar singkong sayur gagang merah. Sedangkan untuk kelompok kultivar gagang hijau terdiri dari kultivar martapura, kastepe dan kultivar singkong sayur gagang hijau.

Kekerabatan Keragaman genetik populasi ubi kayu dilihat dari genotip yang terdapat di dalam ubi kayu dicirikan oleh warna, ukuran daun, batang maupun ubinya. Jumlah dan ukuran daun dipengaruhi oleh faktor genetik (genotip) dan lingkungan. Pertumbuhan vegetatif, diantaranya pertumbuhan jumlah daun dipengaruhi oleh besarnya hasil fotosintesis (Sitompul dan Guritno, 1995). Jumlah daun akan bertambah pada masa pertumbuhan aktif. Jumlah daun yang lebih banyak memungkinkan terjadinya fotosintesis yang lebih cepat, sehingga menghasilkan fotosintat yang lebih banyak. Fotosintat akan diangkut dari daun ke bagian-bagian lain untuk pertumbuhannya (Khoiriyyah, 1999).

Hal ini didukung Eathington (1997) pengamatan terhadap warna bagian tanaman ubi kayu tergolong karakterisasi kualitatif yang dapat digunakan sebagai penciri, sebab karakter tersebut hanya dikendalikan oleh satu atau sejumlah kecil gen sehingga pengaruh lingkungan sangat kecil dan mudah diwariskan pada keturunannya. Apabila suatu populasi tanaman ditanam pada kondisi lingkungan yang sama, maka keragaman tanaman yang muncul disebabkan perbedaan susunan genetik jika faktor lain bersifat konstan. Keragaman jenis singkong yang ada di wonosobo di pengaruhi beberapa faktor yaitu bahan organik tanah, kelengasan tanah, pH tanah, suhu, intensitas cahaya.

Pengelompokan kekerabatan berdasarkan ciri fenotif yang diwakili oleh karakter morfologi. Ciri morfologi antara kultivar singkong Marsinah dan Palengka relatif berdekatan karena bangun dan warna gagang hampir tidak bisa dibedakan. Pembedanya hanya warna gagangnya yaitu merah darah pada kultivar jenis Marsinah dan warna merah tua pada singkong Palengka.

Singkong merupakan tanaman budi daya sehingga asal tumbuhan tersebut dapat ditelusuri berdasarkan keterangan penduduk yang menanam. Diperkirakan tanaman Ubi Kayu di Wadaslintang diambil atau dibawa dari berbagai daerah karena mobilitas masyarakatnya tinggi. Banyak petani singkong yang membawa bibit dari luar untuk ditanam di daerahnya.

## Kadar Klorofil

Klorofil merupakan pigmen yang berwarna hijau yang terdapat pada kloroplast. Pada tanaman tingkat tinggi ada 2 macam klorofil yaitu yang berwarna hijau tua dan berwarna hijau muda. Klorofil-a dan b paling kuat menyerap cahaya di bagian merah (600-700 nm), sedangkan yang paling sedikit cahaya hijau (500-600nm). Perbedaan klorofil a dan b adalah pada atom C3 terdapat gugusan metil untuk klorofil-a dan aldehid untuk klorofil b. karena itu keduanya mempunyai penyerapan gelombang cahaya yang berbeda. Pengukuran kadar klorofil secara spektrofotometrik didasarkan pada hukum Lamber – Beer. Beberapa metode untuk menghitung kadar klorofil total, klorofil a dan kolrofil b telah dirumuskan.

Diantaranya adalah Metode Arnon (1949), menggunakan palarut acetone 85 % dan mengukur nilai absorbansi larutan klorofil pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) = 663 dan 645 nm.

Berdasarkan hasil pengujian kandungan klorofil a, klorofil b dan total klorofil total Manihot esculenta Cranz, masing-masing kultivar berbeda. Kadar klorofil tertinggi yaitu kultivar singkong Marsinah (32.1936 mg/l) dan kadar klorofil terendah yaitu kultivar singkong Kastepe (22.0177 mg/l). Perbedaan kadar klorofil pada tanaman ini disebabkan karena kadar pigmen lain yang ada pada daun tersebut lebih dominan atau disebabkan oleh adanya faktor adaptasi pada suatu tumbuhan. Hal ini dapat dilihat pada morfologi daun Marsinah yang memiliki warna hijau tua sedangkan daun Kastepe berwarna hijau muda, sehingga kandungan klorofil pada daun Marsinah lebih tinggi dibandingkan daun Kastepe. Hal ini juga dikarenakan daun Marsinah lebih tebal dibandingkan Kastepe. Hal ini sesuai dengan penelitian Dewi (2007), daun kemangi hanya tersusun dari selapis jaringan palisade, Mesofil, khususnya jaringan palisade merupakan jaringan yang kaya akan klorofil.

Kandungan klorofil total pada daun yang berwarna hijau tua 50% lebih tinggi daripada daun yang hijau muda. Hal ini dikarenakan pada daun yang berwarna hijau tua memiliki kandungan klorofil yang lebih dominan daripada daun yang berwarna hijau muda. Pada tingkat perkembangan daun ini terjadi sintesis klorofil b dari klorofil a dengan jumlah yang besar, yang diikuti dengan berkembangnya daun tersebut. Sintesis klorofil b terus berlanjut bersamaan dengan perkembangan daun yang ditandai dengan berubahnya warna daun hijau muda menjadi hijau tua. Kandungan klorofil pada daun warna hijau tua 50% lebih besar daripada daun warna hijau muda. Klorofil a dan b merupakan pigmen utama yang terdapat dalam membran tilakoid. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan klorofil antara lain gen, cahaya, dan unsur N, Mg, Fe sebagai pembentuk dan katalis dalam sintesis klorofil. Semua tanaman hijau mengandung klorofil a dan klorofil b. Klorofil a menyusun 75 % dari total klorofil. Kemampuan daun untuk berfotosintesis juga meningkat sampai daun berkembang penuh, dan kemudian mulai menurun secara perlahan. Daun tua yang hampir mati, menjadi kuning dan tidak mampu berfotosintesis karena rusaknya klorofil dan hilangnya fungsi kloroplas.

Selain itu morfologi daun kultivar singkong Kastepe yang tipis umumnya mudah layu ketika di petik sehingga klorofilnya mudah terdegradasi. Selain itu Biber (2007) menyatakan bahwa umur daun dan tahapan fisiologis suatu tanaman merupakan faktor yang menentukan kandungan klorofil. Tiap spesies dengan umur yang sama memiliki kandungan kimia yang berlainan dengan jumlah genom yang berlainan pula. Hal ini mengekibatkan metabolisme yang terjadi juga berlainan terkait dengan jumlah substrat maupun enzim metabolismenya.

## Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan hasil Tabel 2, ekstrak daun singkong yang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi adalah jenis Singkong Marsinah, perbedaan daya inhibisi yang nyata antara masing-masing kultivar disebabkan oleh banyak faktor. Kultivar singkong marsinah memiliki daya inhibisi lebih tinggi daripada sampel lainnya kemungkinan disebabkan karena kadar karotenoid dan flavonoid lebih tinggi dari sampel lainnya.

Daun singkong (*Manihot esculenta*) juga memiliki kandungan gizi yang tinggi, diantaranya flavonoid dan saponin yang dikenal sebagai sebagai anti inflamasi dan antibakteri. Flavonoid dapat pula mencegah aktivitas radikal bebas yang memperlambat proses inflamasi dengan berbagai mekanisme, antara lain dengan menstabilkan komponen dari radikal bebas tersebut. Reaktivitas yang tinggi dari komponen hidroksil flavonoid mengakibatkan radikal bebas menjadi tidak aktif (Indraswary, 2011).

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. Tsumbu *et al.* (2011) berhasil mengidentifikasi senyawa rutin dalam daun singkong yang diperkirakan merupakan senyawa yang berperan dalam penghambatan aktivitas radikal bebas.

Pengujian antioksidan secara kuantitatif dilakukan dengan metode DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa dan ekstrak bahan alam. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH. Prinsip uji DPPH adalah penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal bebas stabil dengan warna gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk nonradikal oleh antioksidan menjadi warna kuning (Yu, 2008)

### **Hubungan Kadar Klorofil dengan Aktivitas Antioksidan**

Dari hasil uji korelasi Pearson Correlation menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.190 (<0.50). Hal ini menunjukan bahwa tidak terdapat hubungan antara kadar klorofil dengan aktivitas antioksidan. Kadar pigmen, baik klorofil a dan karotenoid, juga tidak menunjukkan nilai yang berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya. Hasil perhitungan menunjukkan kadar pigmen tertinggi terdapat pada ekstrak n-heksan. Hal ini sesuai Biranti *et al.* (2009). Penyebab terjadinya hal ini diduga terdapat zat pengotor berupa komponen lain dalam pigmen yang menghambat kinerja antioksidan misal garam, mineral atau nutrien lainnya (Wikanta *et al.*, 2005).

Tidak adanya korelasi antara kadar fenolik dengan aktivitas antioksidan juga ditemui pada berbagai kelompok tanaman, yaitu buah, sayur, sereal, herba, dan tanaman obat (Kahkonen *et al.*, 1999). Tidak adanya korelasi yang signifikan antara kadar fenolik dengan aktivitas antioksidan juga ditemukan pada tanaman obat, misalnya pada ‘sea buckthorn’ yang kaya akan karotenoid, namun pada tanaman berserat seperti ‘flaxseed’ ditemui korelasi yang signifikan (Velioglu, 1998)

## SIMPULAN

Singkong dari Wonosobo kultivar Marsinah memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi yaitu 71,13%. Berdasarkan persentase hambatan inhibisi, maka urutan aktivitas antioksidan ekstrak daun dari tinggi ke rendah selanjutnya secara berurutan adalah Martapura (46,27%), Sayur Gagang Hijau (46,27%), Palengka (46,13%), Karet (39,64%), Sayur Gagang Merah (39,36%) dan yang terendah adalah kultivar Kastepe yaitu 36,87%. Singkong dari Wonosobo kultivar Marsinah memiliki kadar klorofil yang paling tinggi yaitu 32,19 mg/l. Berdasarkan persentase hambatan inhibisi, maka urutan aktivitas antioksidan ekstrak daun dari tinggi ke rendah selanjutnya secara berurutan adalah Karet (29,44 mg/l), Sayur Gagang Hijau (28,04 mg/l), Kastepe (27,66 mg/l), Martapura (27,30 mg/l), Palengka (22,82 mg/l) dan yang terendah adalah kultivar Sayur Gagang Merah yaitu 22,01 mg/l. Tidak terdapat hubungan antara kadar klorofil dengan aktivitas antioksidan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arbain, D. (2004). Dua Dekade Penelitian Kimia Tumbuhan Sumatera, *Bul. Soc. Nat. Prod. Chem*, 4, 1-12.
- Ayu, C. (2002). Mempelajari Kadar Mineral dan Logam Berat pada Komoditi Sayuran Segar Beberapa Pasar Di Bogor. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Bahrudin. (1990). Pemeriksaan Kadar Rutin Pada Daun Singkong (*Manihot esculenta*) Muda dan Kuning. *Skripsi*. Sekolah Farmasi ITB.
- Biranti, F., Nursid, M., & Cahyono, B. (2009). Analisis Kuantitatif  $\beta$ -Karothen dan Uji Aktivitas Karotenoid dalam Alga Coklat *Turbinaria decurrentis*. *Jurnal Sains dan Matematika (JSM)*, 17(2), 90-96.
- Burda, S., & Oleszek, W. (2001). Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoid. *Jurnal Agrik Food Chemistry*, 49, 2774-2779.
- Campbell, Reece, & Mitchel. (2002). *Biologi Edisi kelima Jilid 1*. Erlangga: Jakarta.
- Eathington, S. R. (1997). Crop Breeding, Genetics and Cytology: Marker Effects Estimated from Testcrosses of Early and Late Generation of Inbreeding in Maize. *Crop Science*, 37, 1679-1685.
- Gagola, C., Suryanto, E., & Wewengkang, D. (2014). Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Ubi Kayu (*Manihot esculenta*) Daging Putih Dan Daging Kepulauan Talaud. *Jurnal Ilmiah Farmasi-Unsrat*.
- Harborne, J. B. (2006). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB: Bandung.
- Hess, D. (2012). *Plant Physiology, Molecular, Biochemical, and Physiological Fundamentals of Metabolism and Development*. Toppan Company (S) Pte Ltd.: Singapore.
- Hsu, C. Y., Chao, P. Y., Hu, S. P. & Yang, C. M. (2013). The Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Chlorophylls and Pheophytins. *Food and Nutrition Science*, 4, 1-8.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, T. S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kochhar, S. & Rossel, J. B. (1990). Detection, Estimation and Evaluation of Antioxidant in Food Systems. In: B.J.F. Hudson (Ed.), *Food Antioxidant*. Elservier Applied Science, London and New York
- Leong, L. P., & Shui, G. (2002). An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruit in Singapore Markets. *Food Chemistry*, 76, 69-76.
- Markham, K. R. (1998). *Cara Mengidentifikasi Flavonoida*. Terjemahan Kosasi Padmawinata. ITB Press: Bandung.
- Marquez, U. M. L., Barros, R. M. C., & Sinnecker, P. (2005). Antioxidant activity of chlorophylls and their derivates. *Food Research International*, 38, 885-891.
- Miller, A. (1996). Antioxidant Flavonoid Structure usage alternative. *Medical review*, 2, 103-111.

- Neldawanti, Ratnawulan & Gusnedi. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dan Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*, 2, 76-83.
- Nugrahaningsih, W. H., Lisdiana & Purwantoyo, E. (2017). Mineral and electrolyte analysis of *Manihot utilisima* and *Carica papaya* leaves a prospect of Anti Hypotension Agent. Proceeding The 2nd International Conference on Herbal and Traditional Medicine. Khan Kaen University: Bangkok.
- Rajalakshmi, D., & Narasimhan, S. (1996). *Food Antioxidant: Source and Methods of Evaluation, In Food Antioxidant*. Central Food Technological Research Intitute: India.
- Rudyyatmi, E. (2015). *Mikroteknik*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang: Semarang.
- Rukmana, R. (1997). *Ubi Kayu Budi Daya dan Pasca Panen*. Kanisius: Yogyakarta.
- Setiawati, T., Saragih, I. A., Nurzaman, M. & Mutaqin, A. Z. (2016). Analisis Kadar Klorofil dan Luas Daun Lampeni (*Ardisia humilis* Thunbergh) Pada Tingkat Perkembangan Yang Berbeda di Cagar Alam Pengandaran. Prosiding Seminar MIPA Peran Penelitian Ilmu Dasar dalam Menunjang Pembangunan Berkelanjutan. Universitas Padjajaran: Jatinangor.
- Sies, H. (1997). Physiology Society Symposium: Impaired endhothelial and smooth mucle cell function in oxidative strest. *Experimental Physiology*, 82, 291-295.
- Steenis, C. G. G. J. (1975). *Flora Untuk Sekolah Indonesia*. PT Pradnya Paramita: Jakarta.
- Syofyan, H., Lucida & Bakhtiar, A. (2008). Peningkatan kelarutan kuersetin melalui pembentukan kompleks inklusi dengan  $\beta$ - siklodekstrin. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13, 8-43.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2015). *Plant Physiology*. (6th Edition). Sinauer Associaited, Inc. Publisher.
- Tjitrosoepomo, G. (2002). *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta) Edisi ke 7*. Gajah Mada Univercity Press: Yogyakarta.
- Tsumbu, C. N., Dupont, G. D., Tist, M., Angenot, L., Franck, T., Serteyn, D., & Mickalad, A. M. (2011). Antioxidant and 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. *Journal of Nutrients*, 3, 818-838.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, dan grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4113-4117.
- Wikanta, T., Januar, H. D., & Nursed, M. (2005). Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Sitoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhodymenia palmata*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11(4), 41-49.
- Yi, B., Hu, L., Mei, W., Zhou, K., Wang, H., Luo, Y., Wei, X., & Dai, H. (2010). Antioxidant Phenolic Compounds of Cassava (*Manihot esculenta*) from Hania. *Journal Molecules*, 16, 10157-10167.