

## Antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) using CUPRAC method

### Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong (*Manihot esculenta* Crantz) menggunakan metode CUPRAC

Putri Indah Sayakti<sup>1\*</sup>, Norma Anisa<sup>1</sup>, Hafiz Ramadhan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

\*Corresponding author: [putriindahsayakti@gmail.com](mailto:putriindahsayakti@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Antioxidants are a group of organic molecules and enzymes that work synergistically to enhance cellular defenses and combat oxidative stress. Antioxidants can come from plants because they contain many groups of phytochemical compounds and vitamins. One of the plants that has compounds with antioxidant activity is cassava.

**Objective:** To measure the antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves using the CUPRAC method.

**Methods:** Cassava leaves were extracted by maceration using methanol as a solvent with the addition of 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Phytochemical screening of flavonoids with Mg and HCl, while phenol with the addition of FeCl<sub>3</sub>. The antioxidant activity based on the reaction of the test solution with CUPRAC reagent. Antioxidant activity can be determined by IC<sub>50</sub> value by using x value as concentration and y value as absorbance.

**Results:** The results of phytochemical screening showed that the methanol extract of cassava leaves contained flavonoids and phenolic groups. The antioxidant capacity of the methanol extract of cassava leaves obtained an IC<sub>50</sub> value of 156.03 ppm, while quercetin has a very strong capacity as an antioxidant with an IC<sub>50</sub> of 9.83 ppm.

**Conclusion:** The methanol extract of cassava leaves has a weak antioxidant capacity in reducing metal ions.

**Keywords:** Cassava leaves, *Manihot esculenta* Crantz, methanol extract, antioxidants, CUPRAC.

#### Intisari

**Pendahuluan:** Antioksidan adalah kelompok molekul organik dan enzim yang bekerja secara sinergis untuk meningkatkan pertahanan seluler dan memerangi stres oksidatif. Antioksidan dapat berasal dari tanaman karena banyak mengandung golongan senyawa fitokimia dan vitamin. Tanaman yang memiliki senyawa dengan aktivitas antioksidan salah satunya adalah singkong.

**Tujuan:** Mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol daun singkong menggunakan metode CUPRAC.

**Metode:** Daun Singkong diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol dengan penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5%. Skrining fitokimia flavonoid dengan Mg dan HCl, sedangkan fenol dengan penambahan FeCl<sub>3</sub>. Kapasitas antioksidan berdasarkan reaksi larutan uji dengan reagen CUPRAC yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

**Hasil:** Uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun singkong mengandung senyawa golongan flavonoid dan fenolik. Kapasitas antioksidan ekstrak tersebut ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 156,03 ppm, sedangkan quersetin memiliki kapasitas yang sangat kuat sebagai antioksidan dengan IC<sub>50</sub> sebesar 9,83 ppm.

**Kesimpulan:** Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong tergolong lemah dalam mereduksi ion logam.

**Kata kunci:** Daun singkong, *Manihot esculenta* Crantz, ekstrak metanol, antioksidan, CUPRAC

---

## 1. Pendahuluan

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam tubuh kita karena tugasnya menghambat molekul radikal bebas. Radikal bebas merupakan senyawa sangat reaktif akibat adanya elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluar sehingga menyebabkan terjadinya reaksi berantai yang terjadi secara terus menerus. Reaksi ini mengambil elektron yang terdapat pada sel normal untuk menstabilkan reaksi berantai dan mengakibatkan kerusakan pada sel normal. Antioksidan dapat menghentikan reaksi ini dengan meredakan terjadinya reaksi berantai (Wahdaningsih *et al.*, 2011). Mekanisme peredaman yang dilakukan oleh antioksidan adalah dengan memberikan elektron kepada radikal bebas sehingga elektron terluarnya menjadi berpasangan dan lebih stabil. Peredaman ini menghambat reaksi berantai sehingga menghentikan dan mencegah kerusakan yang terjadi pada sel normal. Senyawa antioksidan dapat bersumber dari bahan alam, salah satunya adalah simplisia daun singkong (Hasim *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian Hasim *et al.*, (2016) ekstrak metanol daun singkong mengandung saponin, tanin, fenolik, alkaloid, dan flavonoid, dengan nilai total fenolik dan flavonoid yang paling dominan sehingga kedua senyawa inilah yang diduga berpotensi sebagai antioksidan. Kedua senyawa tersebut diketahui mampu memberikan elektron dan diikat pada elektron pada kulit terluar radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi stabil dan tidak lagi mengganggu sel normal (Faedah *et al.*, 2013). Penelitian tersebut juga melakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan sebesar 92,10 mg/L, nilai ini menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak tergolong kuat. Salah satu senyawa flavonoid yang beraktivitas sebagai antioksidan dalam daun singkong adalah rutin (Tsumbu *et al.*, 2011). Selain itu, menurut penelitian lain yang dilakukan oleh Yura *et al.*, (2016) menggunakan ekstrak dan metode yang sama menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi dengan  $IC_{50}$  sebesar 16,06  $\mu$ g/ml.

Salah satu metode pengujian antioksidan adalah metode CUPRAC. Pada metode ini, reagen yang digunakan adalah Cu(II)-neokuproin (Cu(II)-(Nc)<sub>2</sub>) untuk mengoksidasi kromogenik sehingga dapat dilakukan pengukuran reduksi ion Cu(II). Metode ini banyak digunakan karena reagen yang digunakan berupa CUPRAC yang bersifat selektif dengan nilai potensial reduksi yang rendah sehingga mudah untuk dilakukan dan berbiaya rendah (Maryam *et al.*, 2016). Berdasarkan latar belakang nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol daun singkong yang kuat, yaitu 92,10 mg/L dan 16,06  $\mu$ g/mL dengan metode DPPH, maka perlu dilakukan perhitungan antioksidan dengan metode CUPRAC. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode CUPRAC belum dilakukan sebelumnya untuk ekstrak metanol daun singkong. Oleh karenanya, dilakukan uji antioksidan ekstrak metanol daun singkong dengan metode CUPRAC.

## 2. Metode

### 2.1 Alat

Alat pada penelitian adalah alat gelas (*Pyrex*<sup>®</sup>), neraca analitik (*Fujitsu*<sup>®</sup>), mikropipet (*Dragon Lab*<sup>®</sup>), seperangkat alat *rotary evaporator* (*IKFR 10*<sup>®</sup>), seperangkat alat maserasi, *waterbath* (*Memmert*<sup>®</sup>) dan spektrofotometer UV-Vis (*PG Instruments-T60*<sup>®</sup>).

### 2.2 Bahan

Bahan untuk penelitian ini berupa daun singkong, aluminium foil, *aquadest*, ammonium asetat (*Merck*<sup>®</sup>), asam sulfat (*Merck*<sup>®</sup>),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (*Merck*<sup>®</sup>), etanol *p.a* (*Bratachem*<sup>®</sup>),  $\text{FeCl}_3$  (*Merck*<sup>®</sup>), HCl (*Merck*<sup>®</sup>), kuersetin (*Sigma aldrich*<sup>®</sup>), metanol teknis (*Bratachem*<sup>®</sup>), *Neocuproine* (*Merck*<sup>®</sup>) dan serbuk Magnesium (*Merck*<sup>®</sup>).

### 2.3 Pengambilan sampel daun singkong

Sampel dikumpulkan pada bulan Januari 2019 dari kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan dan dideterminasi di Laboratorium Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lambung Mangkurat. Bagian tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun yang matang, yaitu daun yang terdapat pada posisi ke 4 - 7 dari pucuk tanaman dengan usia 6 bulan (Hasim *et al.*, 2016).

### 2.4 Pembuatan simplisia daun singkong

Sampel yang telah dikumpulkan disortasi basah, yaitu dipisahkan dari jenis daun lain ataupun pengotor yang ikut terbawa. Selanjutnya daun dicuci di bawah air mengalir, ditimbang, dirajang dan dikeringkan dengan sinar matahari secara tidak langsung memakai kain hitam. Sortasi kering kemudian dilakukan setelah semua bagian daun telah menjadi kering sempurna dan kemudian dilanjutkan proses penyerbukan. Serbuk yang dihasilkan diayak hingga halus dengan pengayakan mesh 100, lalu serbuk ditimbang, dan dicatat beratnya dilanjutkan dengan penyimpanan di wadah yang tertutup baik (Hasim *et al.*, 2016).

### 2.5 Pembuatan ekstrak metanol daun singkong

Ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut metanol. Awalnya, serbuk simplisia sebanyak 150 gram dimaserasi dalam 750 mL pelarut metanol dengan perbandingan (1:5) dan ditambahkan asam sulfat 5%. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan pengadukan beberapa kali lalu disaring dengan kertas saring dan remaserasi sebanyak 3 kali. Filtrat yang didapatkan selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50-60°C hingga menjadi ekstrak kental (Hasim *et al.*, 2016).

### 2.6 Skrining fitokimia

#### 2.6.1. Identifikasi flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan mencampurkan 0,5 gram ekstrak kental dengan 2 mL metanol kemudian ditambahkan serbuk Mg sebanyak 2 mg dan diberikan 3 tetes HCl pekat lalu dikocok kuat. Warna merah, kuning atau jingga yang terbentuk menunjukkan sampel positif flavonoid (Purwati *et al.*, 2017).

#### 2.6.2. Identifikasi fenol

Identifikasi fenol diawali dengan melarutkan 0,5 gram ekstrak kental pada 2 mL metanol. Larutan kemudian ditambah 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  hingga terbentuk warna hitam hijau kebiruan. Apabila warna tersebut tidak terbentuk maka sampel negatif fenol (Tiwari *et al.*, 2011).

### 2.7 Pengujian antioksidan secara kuantitatif dengan metode CUPRAC

#### 2.7.1. Pembuatan larutan untuk pengujian CUPRAC

Larutan  $\text{CuCl}_2$  dibuat dengan menimbang 0,4262 gram  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  yang kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL. Serbuk kemudian dilarutkan dengan air sampai tanda batas. *Buffer* yang digunakan adalah amonium asetat pH 7 yang dibuat dengan melarutkan 19,27 gram  $\text{NH}_4\text{Ac}$  pada labu ukur 250 mL dan ditambah akuades sampai tanda. Larutan *Neocuproine* (Nc) juga dibuat dengan melarutkan 0,039 gram pada labu ukur ukuran 25 mL Nc dan diencerkan sampai tanda menggunakan etanol *p.a* (Maryam *et al.*, 2016).

#### 2.7.2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan menambahkan larutan 0.01 M  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,0075 M Nc, 1 M bufer amonium asetat, etanol *p.a* masing-masing 1 dan 0,1 mL akuades dalam vial. Larutan kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Haeria, 2013).

#### 2.7.3. Pembuatan dan pembacaan absorbansi larutan blanko

Larutan blanko Larutan 0.01 M  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,0075 M Nc, 1 M bufer amonium asetat, etanol *p.a* masing-masing diambil 1 mL untuk dimasukkan pada vial dan ditambah 0,1 mL akuades. Vial selanjutnya diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Larutan CUPRAC yang sudah jadi ini dituangkan kedalam kuvet dan dibaca serapan maksimumnya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang didapat pada langkah 2.7.2. (Haeria, 2013).

#### 2.7.4. Pembuatan dan pembacaan larutan kurva baku pembanding kuersetin

Larutan stok kuersetin 1000 ppm dibuat dengan menimbang 25 mg kuesertin yang dimasukkan ke labu ukur 25 mL. Etanol *p.a* kemudian ditambahkan sampai tanda batas. Larutan stok ini selanjutnya diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara mengambil larutan stok sebanyak 2,5 mL yang diencerkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas pada labu ukur 25 mL. Larutan kurva baku 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm kemudian dibuat dengan memipet larutan kuersetin 100 ppm sebanyak

0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 mL dan 1,25 mL untuk dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL yang terpisah. Masing-masing labu ukur ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas (Haeria, 2013).

Pembacaan absorbansi dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL setiap seri larutan kuersetin dan dimasukkan ke dalam vial. Semua vial ditambah 1 ml larutan 0.01 M  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 1 mL 0,0075 M Nc, 1 mL 1 M bufer amonium asetat dan 0,1 mL akuades. Vial kemudian diinkubasi di ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, larutan ini dituang ke dalam kuvet dan diukur serapannya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang didapat pada langkah sebelumnya (Haeria, 2013).

#### 2.7.5. Pembuatan larutan uji ekstrak metanol daun singkong

Larutan uji dibuat dengan melarutkan 50 mg ekstrak metanol pada etanol p.a dalam labu ukur 50 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (larutan stok). Larutan induk ini kemudian diambil 1,5; 3; 6; 12; dan 24 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10, 30, 60, 120, dan 180 ppm sebanyak 50 mL (Haeria, 2013). Masing-masing konsentrasi larutan uji sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan kedalam vial dan ditambah 1 mL larutan  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.01 M, 1 mL Nc 0,0075 M, 1 mL *buffer* amonium asetat 1 M dan 0,1 mL akuades. Inkubasi dan pengukuran absorbansi sampel selanjutnya dilakukan dengan cara seperti pada larutan kurva baku kuersetin (Haeria, 2013).

### 3. Hasil dan pembahasan

Determinasi dilakukan sebagai langkah awal pada suatu penelitian untuk mengetahui kebenaran indentitas tanaman yang akan digunakan sehingga tidak terjadi kesalahan penggunaan sampel. Hasil determinasi pada penelitian ini menyebutkan bahwa tanaman benar merupakan tanaman singkong dengan nama latin *Manihot esculenta* Crantz. Ekstrak daun singkong didapatkan dari hasil maserasi serbuk simplisia menggunakan pelarut metanol. Metode maserasi dipilih karena sederhana dan sesuai digunakan untuk simplisia yang tidak keras selain itu juga keuntungan metode maserasi adalah kerusakan pada komponen kimia sangat minimal serta cocok digunakan pada zat yang tahan panas. Maserasi dilakukan dengan dua kali remaserasi bertujuan untuk mengoptimalkan penyarian. Selama proses ekstraksi maserasi terjadi interaksi antara zat terlarut dengan pelarut, hal ini akan mendorong keluarnya zat aktif yang berada dalam sel menuju keluar sel dan terlarut dalam pelarut yang digunakan. Perpindahan ini disebut sebagai difusi yang terjadi akibat perbedaan konsentrasi zat aktif yang terdapat di luar dan di dalam sel, dan akan berulang sampai terjadinya keseimbangan (Wahyulianingsih *et al.*, 2016).

Maserasi dilakukan dengan merendam 150 gram serbuk simplisia daun singkong dalam 750 mL metanol sebagai cairan penyari dengan perbandingan (1:5) dan ditambahkan pelarut asam sulfat

5% sebanyak 0,6 ml setiap 1 kali maserasi. Pelarut metanol digunakan sebagai penyari dikarenakan menurut T s u m b u *et al.*, (2011) senyawa flavonoid pada daun singkong berupa rutin yang mengandung satu glikosida (monoglikosida). Monoglikosida ini mengakibatkan senyawa rutin lebih larut dalam metanol sedangkan pelarut asam sulfat 5% ditambahkan agar mampu menghidrolisis senyawa rutin menjadi kuersetin murni (Karimova *et al.*, 2016). Penelitian Hasim *et al.*, (2016) juga menyatakan bahwa senyawa-senyawa aktif dalam daun singkong lebih banyak terekstrak menggunakan pelarut metanol dengan metode ekstraksi maserasi dibandingkan dengan metode ekstraksi infundasi menggunakan pelarut air yaitu dapat dilihat dari hasil rendemen ekstrak metanol (1,03 dan 5,56 %) dan ekstrak air (0,89 dan 3,73 %).

Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatan menjadi ekstrak kental dengan cara menguapkan pelarut sampai ekstrak menjadi kental menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath*. Proses *rotary evaporator* dan *waterbath* yang dilakukan pada suhu dibawah titik didih metanol 64,7°C. Suhu yang digunakan adalah 50 - 60°C dikarenakan untuk meningkatkan proses penguapan pelarut dan diharapkan tidak merusak senyawa antioksidan pada ekstrak (Hasim *et al.*, 2016). Tujuan pemekatan ekstrak menggunakan alat *rotary evaporator* dan *waterbath* untuk menghilangkan pelarut sehingga didapatkan bobot tetap dan nilai % randemen ekstrak daun singkong seperti pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Randemen Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

Pelarut	Bobot Simplisia Diekstraksi (g)	Bobot Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Metanol	150	39,7615	26,5076

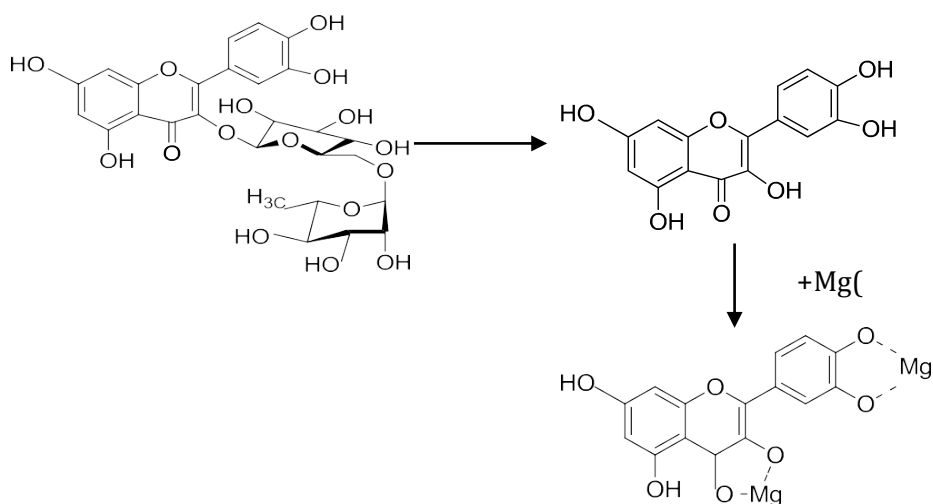
Skrining fitokimia selanjutnya dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan atau komponen yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan. Menurut Faedah *et al.* (2013), tumbuhan yang berpotensi memiliki fungsi antioksidan adalah daun singkong dengan kandungan senyawa utama berupa flavonoid dan fenolik sehingga pada uji skrining yang dilakukan adalah uji flavonoid dan fenol. Hasil uji fitokimia dapat diperlihatkan pada Tabel 3.

Pada hasil pengujian skrining fitokimia yang dilakukan pada uji identifikasi flavonoid dan fenolik, hasil yang diperoleh menunjukkan hasil positif adanya kandungan senyawa flavonoid dan fenolik yang dapat dilihat adanya perubahan warna seperti yang dituliskan oleh Purwati., *et al* (2017). Perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga memperlihatkan adanya flavonoid sedangkan warna hitam hijau kebiruan merupakan indikator adanya senyawa fenol (Tiwari *et al.*, 2011). Hasil identifikasi flavonoid dengan prinsip reaksi oksidasi reduksi ini menunjukan hasil positif. Perubahan warna terjadi karena senyawa flavonoid akan direduksi oleh hasil reaksi HCl dan Mg akan membentuk senyawa kompleks berwarna kuning merah, dan jingga. Skema reaksi rutin

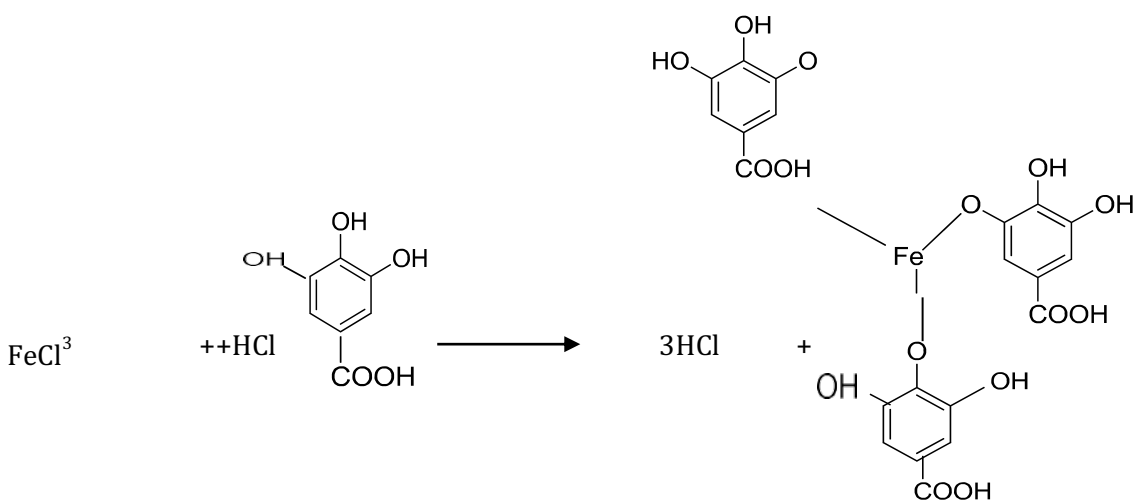
dengan HCl & Mg diperlihatkan pada Gambar 1.

**Tabel.3** Hasil uji skrining fitokimia ekstrak metanol daun singkong (*M. esculenta* Crantz)

Uji	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Flavonoid	metanol + serbuk Mg 2mg + 3 tetes HCl	Perubahan kuning	Positif
Fenol	metanol + 3 tetes FeCl <sub>3</sub>	Terbentuknya warna hitam hijau kebiruan	Positif



**Gambar 1.** Skema reaksi rutin dengan HCl & Mg



**Gambar 2.** Skema reaksi fenolik dengan FeCl<sub>3</sub>

Pada hasil pengujian fenol pada penelitian ini menunjukkan positif, yaitu dengan terbentuknya warna biru kehitaman akibat fenol yang dapat mereduksi Fe<sup>3+</sup> menjadi Fe<sup>2+</sup> (besi(III) heksasianoferrate)(Nugrahani, 2015). Skema reaksi fenolik dengan FeCl<sub>3</sub> diperlihatkan pada Gambar 2. Senyawa fenolik dan juga flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder dengan fungsi

sebagai antioksidan yang terdapat dalam daun singkong. Kedua senyawa ini dapat membantu meredakan atau menghambat aktivitas senyawa radikal bebas yang ditemukan dalam tubuh dengan mekanisme donor elektron sehingga elektron pada orbital terluar pada radikal bebas menjadi stabil (Faezah *et al.*, 2013). Metode CUPRAC dapat digunakan untuk melihat aktivitas antioksidan dan mengukur kemampuan antioksidan pada suatu sampel. Kelebihan metode CUPRAC adalah sederhana, reaksi mengoksidasi antioksidan terjadi dengan cepat, reagen lebih stabil dan dapat mengukur senyawa hidrofilik dan lipofilik (Maryam *et al.*, 2016).

Pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode CUPRAC reagen yang digunakan adalah *neocuproin* (Nc) yang berlaku sebagai agen pengoksidasi kromogenik dan akan membentuk senyawa kelat dengan  $\text{Cu}^{2+}$  menyebabkan terbentuknya reduksi ion  $\text{Cu}^{2+}$  -Nc yang berwarna biru. Aktivitas antioksidan dapat diukur dari kemampuan  $\text{Cu}^{2+}$ -Nc menjadi  $\text{Cu}^{+}$  -Nc yang ditandai terbentuknya warna kuning. Kelat  $\text{Cu}^{+}$  -Nc yang terbentuk ini stabil karena tidak mudah berubah akibat adanya perubahan lingkungan seperti udara, cahaya, ataupun pH. Perubahan warna inilah menyebabkan terjadinya perubahan nilai absorbansi akibat perubahan jumlah cahaya yang dapat diserap ketika diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Maryam *et al.*, 2016).

**Tabel 3.** Hasil uji aktivitas antioksidan kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Abs Blanko	Rata-rata Absorbansi	Rata-rata % Inhibisi	SD	Persamaan regresi	IC <sub>50</sub> (ppm)
1	0,801	0,693	13,44	0,97	y = 4,1615x + 8,9221 R <sup>2</sup> = 0,9969	9,87
2	0,801	0,664	17,35	0,31		
3	0,801	0,633	20,47	0,38		
4	0,801	0,594	26,59	0,90		
5	0,801	0,562	30,58	0,75		

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan digambarkan dengan nilai IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi yang menyebabkan hilangnya konsentrasi awal sebesar 50%. Aktivitas antioksidan yang semakin baik akan ditunjukkan dengan semakin kecilnya nilai IC<sub>50</sub> (Nugraha *et al.*, 2017). Pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan kontrol positif kuersetin dan ekstrak metanol daun singkong. Langkah pertama yang dilakukan adalah mencari panjang gelombang maksimum CUPRAC dan didapatkan nilai sebesar 450 nm. Panjang gelombang ini menunjukkan panjang gelombang yang memberikan serapan paling maksimal dan menunjukkan nilai kepekaan paling besar. Pengujian kuersetin dan ekstrak dilakukan dengan berbagai seri konsentrasi yang telah dilarutkan menggunakan larutan CUPRAC yang kemudian dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai aktivitas antioksidan kuersetin dapat diketahui dari Tabel 3.

Berdasarkan hasil uji antioksidan kuersetin dan ekstrak metanol daun singkong secara kuantitatif diperoleh menggunakan *Microsoft Excel* 2010 untuk menghasilkan nilai persamaan



regresi linier yang dapat digunakan untuk menghitung nilai  $IC_{50}$ . Nilai tersebut adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mendapatkan aktivitas 50%. Perhitungan nilai  $IC_{50}$  dilakukan menggunakan data persen inhibisi yang digunakan untuk mendapatkan persamaan regresi linier  $y = bx + a$  dengan konsentrasi sampel adalah  $x$  dan persen inhibisi sebagai  $y$ . Nilai  $IC_{50}$  dihitung dengan mengganti nilai  $y$  sebesar 50 untuk mendapatkan nilai  $x$ . Semakin rendah nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan maka semakin baik aktivitas antioksidannya (Nugraha *et al.*, 2017). Hasil uji antioksidan ekstrak metanol daun singkong dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong

Konsentrasi (ppm)	Abs Blanko	Rata -rata Absorbansi	Rata - rata % Inhibisi	SD	Persamaan kurva baku	$IC_{50}$ (ppm)
10	0,797	0,761	4,48	2,70	$y = 0,2607x + 9,7097$	154,54
30	0,797	0,620	22,21	0,38		
60	0,797	0,566	29,74	1,15		
120	0,797	0,456	42,74	0,38		
180	0,797	0,369	53,66	0,32		

Pengujian antioksidan pada kuersetin diperoleh hasil sebesar 9,87 ppm dan ekstrak metanol daun singkong sebesar 154,54 ppm. Berdasarkan hasil yang didapatkan kemampuan antioksidan ekstrak metanol daun singkong lebih rendah dibandingkan kuersetin dikarenakan kuersetin merupakan senyawa flavonol (golongan flavonoid terbesar) yang memiliki potensi biologis besar dalam tubuh dalam menangkal radikal bebas sedangkan ekstrak metanol daun singkong merupakan senyawa campuran senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang saling berinteraksi untuk menimbulkan aktivitas tertentu (Faedah *et al.*, 2013). Perbedaan nilai  $IC_{50}$  juga bisa disebabkan karena adanya kemungkinan senyawa lain yang larut dalam cairan penyari yang tidak berkhasiat sebagai antioksidan sehingga dapat mengganggu peredaman radikal bebas CUPRAC. Menurut Borges *et al.*, (2013), beberapa faktor eksternal seperti dapat mempengaruhi komponen senyawa dan konsentrasinya, termasuk komponen fenol dan flavonoid.

#### 4. Kesimpulan

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun singkong terkategori lemah dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 154,54 ppm yang diukur menggunakan metode CUPRAC.

#### Ucapan terimakasih

Terima kasih kepada STIKES Borneo Lestari atas penyediaan fasilitas laboratorium.

**Daftar pustaka**

- Borges, L., Alves, S., Leite Sampaio, B., Conceição, E., Bara, M., & Paula, J. (2013). Environmental Factors Affecting the Concentration of Phenolic Compounds in *Myrcia tomentosa* Leaves. *Brazkilian Journal Of Pharmacognosy*, 23(2), 230-238. doi:10.1590/S0102-695X2013005000019
- Faezah, O. N., Aishah, H. S., & Kalsom, Y. U. (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.
- Haeria, H. (2013). Penetapan Kadar Flavanoid Total dan Uji Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Unggu (*Graftophyllum pictum* L.) Griff. , Alauddin Makasar. Vol.1; No.1. *Jurnal Farmasi FIK Alauddin Makasar*, 1(1). doi:<https://doi.org/10.24252/jurfar.v1i1.2088>
- Hasim, H., Falah, S., & Dewi, L. K. (2016). *Effect of Boiled Cassava Leaves ( Manihot esculenta Crantz) on Total Phenolic, Flavonoid and its Antioxidant Activity*, Institut Pertanian Bogor.
- Karimova, E. R., Baltina, L. A., & Abdullin, M. I. (2016). Production of Quercetin by Acid Hydrolysis of Rutin. *Vestnik Bashkirkosgo Universiteta* 21(1), 78-80.
- Maryam, S. M., Pratama, R. Y., Effendi, N., & Naid, T. (2016). Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha multifidi* L.) dengan Metode Cuprac Ion Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 2(1).
- Nugraha, A. T., Firmansyah, M. S., & Jumaryatno, P. (2017). Profil Senyawa dan Aktifitas Antioksidan Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) dengan Metode DPPH dan Cuprac. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 13(1), 14-20.
- Nugrahani, R. (2015). *Analisis Potensi Serbuk Ekstrak Buncis (Phaseolus vulgaris L.) sebagai Antioksidan*. (Magister). Universitas Mataram,
- Purwati, S., Lumowa, S. V. T., & Samsurianto, S. (2017). *Skrining Fitokimia Daun Saliara (Lantana Camara L) sebagai Peptisida Nabati Penekan Hama dan Insiedensi Penyakit pada Tanaman Hotilkultura di Kalimantan Timur*. Paper presented at the Prosiding Seminar Kimia, FMIPA Unmul.
- Tiwari, P., Kaur, M., & Kaur, H. (2011). Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Journal Internationale Pharmaceutical Sciencia*, 1, 103-104.
- Tsumbu, C. N., Deby-Dupont, G., Tits, M., Angenot, L., Franck, T., Serteyn, D., & Mouithys-Mickalad, A. (2011). Antioxidant and antiradical activities of *Manihot esculenta* Cranz (Euphorbiaceae) Leaves and Other Selected Tropical Gree Vegetables Investigied on Lipopperoxidation and Phorbol-12- Myristate-13-Actate (PMA) Activated Monocytes. *Nutrients*, 3(9), 818-838. doi:10.3390/nu3090818
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E. P., & Wahyuono, S. (2011). Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 156-160.
- Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. (2016). Penetapan kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr dan Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3, 189. doi:<https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.221>
- Yura, S., M.I., S., & Novita, M. (2016). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Fenol Beberapa Jenis Bayam dan Sayuran Lain. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 1(1). doi:<https://doi.org/10.17969/jimfp.v1i1.900>