

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

Astuti Amin*

*Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar
E-mail: amin.astuti@gmail.com

Abstract

*Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) is a plant that contains flavonoid compounds that can act as antioxidants. This study aims to determine the antioxidant potential of the ethanol extract of kopasanda stem (*Chromolaena odorata* L.) by looking at the IC50 value. Kopasanda stems (*Chromolaena odorata* L.) were extracted by maceration using 70% ethanol as solvent because ethanol had a significant effect on yield, total phenol, total flavonoid, and free radical inhibitor activity. with the ratio of Kopasanda rods and ethanol solvent 1:10 for 3x24 hours. The extract obtained with a rotary evaporator to obtain an ethanol extract of Batang Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.), then tested for antioxidants using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil). The results of the antioxidant activity test using the DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil) showed a very strong antioxidant activity with an IC50 value of 34,112 g/ml rods with a positive control of quarcetin obtaining an IC50 value of 1,564 g/ml. Based on these results, it can be said that the stem of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) has very strong antioxidant activity against the free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil).*

Keywords: *Chromolaena odorata* L., Antioxidant, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil)

Abstrak

Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) merupakan tanaman yang mengandung senyawa flavanoid yang dapat berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan ekstrak etanol batang kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan melihat nilai IC50. Batang kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% karena pelarut etanol sangat berpengaruh nyata terhadap rendemen, total fenol, total flavonoid dan aktivitas penghambat radikal bebas. dengan perbandingan Batang kopasanda dan pelarut etanol 1:10 selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak etanol Batang Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.), kemudian diuji antioksidan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil). Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil) menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC50 batang 34,112 µg/ml dengan kontrol positif kuarsetin diperoleh nilai IC50 1,564 µg/ml. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa batang Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) memiliki aktivitas antiosidan yang sangat kuat terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil).

Kata kunci: *Chromolaena odorata* L., Antioksidan, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil)

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan atom atau molekul dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan bersifat tidak stabil, dan sangat reaktif untuk penarikan elektron molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang menyebabkan potensi kerusakan pada biomolekul dengan merusak integritas lipid, protein, dan DNA yang mengarah pada peningkatan stres oksidatif (1). Radikal bebas diproduksi dalam tubuh untuk memenuhi fungsi biologis penting seperti memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos, pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh, fagositosis, pertumbuhan sel, dan signal interselular. Namun, apabila dalam jumlah berlebih, maka radikal dengan kereaktifan yang tinggi dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga menimbulkan senyawa yang tidak normal dan dapat mengakibatkan stress oksidatif atau merusak sel-sel penting dalam tubuh mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga ke organ tubuh yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya berbagai penyakit seperti penyakit neurodegeneratif, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, dan kanker (2). Zat yang mampu melindungi sel-sel tubuh dari efek buruk radikal bebas adalah antioksidan (3).

Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan karena kemampuannya menangkap molekul radikal bebas dan menghambat reaksi oksidatif dalam tubuh yang merupakan penyebab berbagai penyakit (4). Antioksidan yang paling sering dijumpai dari sumber alami seperti vitamin, flavonoid, antosianin, beberapa senyawa mineral. Apabila kadar radikal bebas terlalu tinggi karena pengaruh dari luar tubuh seperti polusi udara, asap rokok, dan, aktivitas fisik berat, maka antioksidan dalam tubuh tidak mampu lagi menetralkan sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar tubuh (5). Oleh karena itu diperlukan alternatif lain dalam penggunaan antioksidan yang berasal dari tumbuhan. Salah satunya adalah tanaman kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) atau disebut dengan nama Sunda Kirinyu, dan tumbuhan ini oleh masyarakat wilayah Makassar digunakan sebagai obat luka. Daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) mengandung beberapa senyawa utama seperti tannin, fenol, flavonoid, saponin dan steroid (6). Ekstrak kasar daun kopasanda memiliki efek antioksidan yang disebabkan oleh kandungan flavonoid yang tinggi yang mampu menghambat proses oksidasi (7).

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) sebagai radikal bebas yang stabil. Berdasarkan uraian tersebut dilakukan penelitian untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol batang kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

METODE

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan antara lain aluminium foil, bejana maserasi, cawan porselen, kertas saring, rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, water bath, dan gelas

piala, labu ukur 10 ml, 25 ml, 50 ml dan 100 ml, beaker gelas, erlenmeyer, vial, pipet mikro, pipet volume, pipet tetes, neraca analitik, sendok tanduk, dan batang pengaduk.

Bahan yang digunakan antara lain: ekstrak etanol batang Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.), etanol 70%, methanol p.a, air suling, aluminium klorida (Merck, Germany), asam galat (Merck, Germany), asam sitrat (Merck, Germany), DPPH (Sigma-Aldrich), etanol p.a (Merck, Germany), etanol 70%, etil asetat (Merck, Germany), FeCl₃ (Sigma-Aldrich), HCl pekat (Merck, Germany), Kuarsetin (Sigma-Aldrich), n-Heksan (Merck, Germany), Na₂CO₃ 7,5% (Merck, Germany), natrium klorida (Sigma-Aldrich), serbuk Mg (Sigma-Aldrich), reagen Folin-Ciocalteu (Merck, Germany) dan TPTZ (Sigma-Aldrich).

Preparasi Sampel

Batang kopasanda (*Chromoleana Odorata* L) disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya dikeringkan dengan selama ± 3 hari lalu disortasi kering.

Pembuatan Ekstrak Batang kopasanda (*Chromoleana Odorata* L.)

Simplisia yang sudah kering ditimbang dan dimasukkan ke dalam tempat maserasi kemudian dimasukkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan (1:10). Maserasi dilakukan 3 kali selama 24 jam sambil diaduk, kemudian disimpan ditempat yang tidak terkena sinar matahari langsung. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

Pembuatan Sediaan Uji Ekstrak Batang kopasanda (*Chromoleana Odorata*L.)

Pembuatan larutan sediaan uji ekstrak Batang kopasanda (*Chromoleana Odorata* L.) dilarutkan dengan etanol p.a. dengan konsentrasi 1 1000 ppm dalam 100 ml pelarut 100 mg ekstrak. Kemudian 1 mL dipipet, diencerkan dengan etanol p.a. dengan menggunakan labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm sebagai larutan stock. Pembuatan berbagai seri konsentrasi dari larutan stock ekstrak etanol batang (*Chromoleana Odorata* L.) dibuat seri konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm lalu diencerkan dengan etanol p.a. pada masing-masing pada labu ukur 5 mL.

Pembuatan larutan DPPH

Ditimbang DPPH 0,01577 g, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a. dalam labu ukur 100 mL.

Pembuatan larutan Standar Kuarsetin

Kuarsetin di timbang 10 mg ke dalam labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas sehingga di peroleh 1000 ppm. Setelah itu, dipipet 1 mL larutan stok kemudian di cukupkan dengan etanol p.a 10 mL sehingga diperoleh 100 ppm. Dipipet 50; 100; 150;

200; dan 250 μL kemudian ditambahkan etanol p.a sampai 5 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan standar kuersetin sebesar 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm (8).

Pengukuran serapan larutan blanko DPPH

Larutan DPPH dipipet sebanyak 1 mL kedalam labu ukur 5 mL, ditambahkan etanol p.a. kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis.

Pengukuran aktivitas radikal bebas DPPH ekstrak Batang kopasanda (*Chromoleana Odorata*L)

Ekstrak batang kopasanda (*Chromoleana Odorata* L.) masing-masing konsentrasi ekstrak batang, dipipet sebanyak 1 ml larutan pereaksi DPPH dan dicukupkan volumenya sampai 5 mL dengan etanol p.a. dalam masing-masing labu ukur. Larutan dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur pada panjang gelombang 516 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis.

Pengukuran aktivitas pengikatan DPPH dengan Kuarsetin

Dipipet masing-masing konsentrasi kuersetin, ditambahkan 1 mL larutan DPPH kemudian ditambahkan etanol p.a sampai volumenya 5 ml dalam labu ukur. serapan diukur pada panjang gelombang 516 nm dengan spektrofotometer UV-Vis (Amin et al., 2021).

Pengolahan Data

Data hasil analisis antioksidan ekstrak batang kopasanda (*Chromoleana Odorata* L.) dengan besar persentase pengikatan radikal bebas DPPH dihitung berdasarkan persamaan 1 (9).

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{Abs.Blanko} - \text{Abs.Sampel}}{\text{Abs.Blank}} \times 100\% \quad (1)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang, kopasanda (*Chromoleana Odorata* L.) dilakukan dengan metode DPPH karena Senyawa antioksidan dapat bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hydrogen dan menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 515-520 nm. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang kopasanda (*Chromoleana Odorata* L.) dan kuersetin dengan metode DPPH. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah batang kopasanda yang di ekstraksi dengan metode maserasi. Pada metode maserasi sampel dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan terlebih dahulu sehingga didapatkan luas permukaan sampel yang besar. Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 70% karena konsentrasi pelarut etanol sangat berpengaruh nyata terhadap rendemen, total fenol, total flavonoid dan aktivitas penghambat radikal DPPH (10).

Dengan menggunakan pelarut etanol 70% bisa mengikat senyawa polar sehingga bisa menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif (11). Selanjutnya, dilakukan skrining senyawa metabolit sekunder flavonoid pada ekstrak etanol batang kopasanda dengan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol batang dari ekstrak etanol kopasanda positif mengandung Flavonoid berdasarkan pereaksi-pereaksi warna yang digunakan.

Ekstrak etanol batang kopasanda dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Larutan stok DPPH yang telah dibuat, dilakukan pengujian, kemudian dibuat larutan pada seri konsentrasi sampel batang kopasanda dengan masing-masing konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm Sedangkan untuk konsentrasi kuarsetin (kontrol positif) yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm kemudian menambahkan 1 ml larutan stok DPPH dan ditambahkan etanol p.a. dalam labu terukur 5 ml. Diinkubasi selama 30 menit kemudian diukur absorbansi menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 516 nm dengan kuarsetin sebagai kontrol positif. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1. Pada proses pengerjaan atau pencampuran dilakukan diruangan gelap dengan menggunakan bahan kaca dilapisi dengan Aluminium Foil untuk mencegah kontak dengan cahaya, dikarenakan DPPH sangat sensitif terhadap cahaya (12).

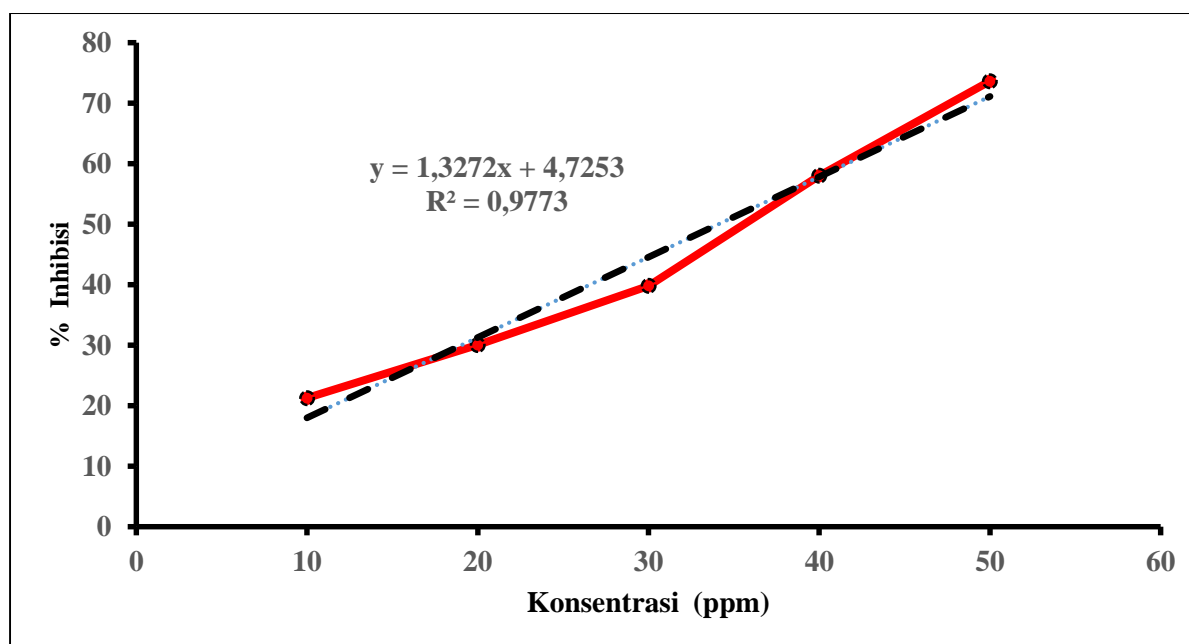


Gambar 1. Uji aktivitas antioksidan etanol Batang Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode DPPH

Berdasarkan analisis data, besarnya kemampuan peredaman radikal bebas oleh suatu sampel dinyatakan dalam persen inhibisi. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan disebut Inhibitor concentration (IC₅₀). IC₅₀ merupakan nilai yang menggambarkan konsentrasi sampel paling efektif meredam radikal bebas 50% (13). Persen inhibisi yang telah didapatkan, dimana digunakan untuk membuat kurva persamaan linear ($Y = ax \pm b$) dengan cara diplot konsentrasi sebagai absis (sumbu X) dan persen inhibisi sebagai ordinat (sumbu Y). Kurva hubungan konsentrasi dengan persen inhibisi dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC₅₀ Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang ekstrak etanol batang, kopasanda (*Chromolaena Odorata L*) dan Kuarsetin

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata serapan	inhibisi (%)	Persamaan garis linear	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Kuarsetin	1	0,487	41,183	$y = 12,911x + 29,795$	1,564
	2	0,358	56,763		
	3	0,253	69,444		
	4	0,147	82,246		
	5	0,058	92,995		
Ekstrak Etanol Batang (<i>Chromolaena odorata L.</i>)	10	0,752	8,180	$y = 1,3272x + 4,7253$	34,112
	20	0,611	25,396		
	30	0,529	35,409		
	40	0,431	47,374		
	50	0,309	62,271		



Gambar 2. Hubungan Log konsentrasi ekstrak etanol Batang Kopasanda (*Chromolaena odorata L.*) dengan persen peredaman

Tabel 1 dan Gambar 2 menunjukkan pada pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH bahwa kuarsetin diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 1,564 ppm dengan tingkat antioksidan sangat kuat yang diperoleh dari persamaan regresi $y = 12,911x + 29,795$ dengan $R^2 = 0,9958$. Sampel batang kopasanda nilai IC₅₀ sebesar 34,112 ppm dengan tingkat kekuatan antioksidan sangat kuat yang diperoleh dari persamaan regresi $y = 1,3272x + 4,7253$ dengan $R^2 = 0,9773$. Nilai IC₅₀ merupakan

nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas. Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin kuat daya antioksidannya. Hal ini menunjukkan bahwa daya antioksidan masing-masing ekstrak etanol batang kopasanda memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan tingkat intensitas antioksidan dalam rentang nilai IC50 50-100 µg/mL, disebabkan karena ekstrak etanol batang kopasanda memiliki senyawa flavonoid dan senyawa fenolik. Senyawa fenolik tersebut memiliki aktivitas antioksidan karena sifat reduksinya. Flavonoid dapat beraksi sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas melalui pemberian atom hidrogen pada radikal tersebut. Secara umum, kemampuan flavonoid dalam menangkap radikal tergantung dari substitusi gugus hidroksi dan kemampuan stabilisasi dari radikal fenolik melalui ikatan hidrogen atau melalui delokalisasi elektron. Selanjutnya radikal fenoksi flavonoid tersebut distabilkan oleh delokalisasi elektron yang tidak berpasangan di sekitar cincin aromatik. Stabilitas radikal fenoksi flavonoid (*reactive oxygen*) akan mengurangi kecepatan perambatan (propagasi) autooksidasi reaksi berantai (14), (15). Hasil pengujian menunjukkan bahwa daya hambat antioksidan kuarsetin tetap lebih kuat dibandingkan dengan masing-masing ekstrak etanol batang kopasanda. Hal ini disebabkan karena kuarsetin merupakan senyawa murni sedangkan ekstrak etanol batang kopasanda masih merupakan ekstrak kasar bukan senyawa murni atau isolat. Sehingga nilai IC50 kuarsetin lebih kuat dibandingkan dengan nilai ekstrak etanol batang kopasanda (*Chromoleana Odorata L.*).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak etanol batang kopasanda (*Chromoleana Odorata L.*) dapat disimpulkan ekstrak kopasanda (*Chromoleana Odorata L.*) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai IC50 <50 ppm yaitu 34,112 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015;30(1):11–26.
2. Badarinath A V, Rao KM, Madhu C, Chetty S, Ramkanth S, Rajan TVS, et al. A Review On In-Vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *Int J PharmTech Res* [Internet]. 2010;2(2):1276–85. Available from: <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?ID=383951>
3. Amin A, Wunas J, Anin YM. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KLIKA FALOAK (*Sterculia quadrifida R.Br*) DENGAN METODE DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *J Fitofarmaka Indones.* 2016;2(2):111–4.
4. Adawiah A, Sukandar D, Muawanah A. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *J Kim Val.* 2015;1(November):130–6.
5. Sholekah FF. Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Flavonoid Dan Beta Karoten Buah Karika (*Carica pubescens*) Daerah Dieng Wonosobo. *Pros Semin Nas Pendidik Biol dan Biol.* 2017;75–82.
6. Vijayaraghavan K, Rajkumar J, Seyed MA. Efficacy of *Chromolaena odorata* leaf extracts for the healing of rat excision wounds. *Vet Med (Praha).* 2017;62(10):565–78.
7. Igboh MN, Ikewuchi JC, Ikewuchi CC. Chemical profile of *Chromolaena odorata L.* (King and Robinson) leaves. *Pakistan J Nutr.* 2009;8(5):521–4.

8. Sambada DLE. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Air Ekstrak Etanolik Daun Selasih (*Ocimum sanctum* L.). Skripsi. 2011;10(1):129.
9. Aloanis AA, Karundeng M. Total kandungan antioksidan ekstrak etanol buah beringin (*Ficus benjamina* Linn.). Fuller J Chem. 2019;4(1):1.
10. Suhendra CP, Widarta IWR, Wiadnyani AAIS. PENGARUH KONSENTRASI ETANOL TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RIMPANG ILALANG (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) PADA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN GELOMBANG ULTRASONIK. J Ilmu dan Teknol Pangan. 2019;8(1):27.
11. Amin A, Riski R, Sutamanggala NR. Antioxidant Activity of Mesocarp Extract of Watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun & Nakai) Using ABTS Method. J Pharm Med Sci 2021. 2021;6(1):1–5.
12. Nahat M.T, Putri Maharani, Tuty Putri Sri Muljati dan Nurcholis. (2017). Kandungan Asam Sianida dan Aktivitas Antioksidan Pada Kluwak (*Pangium edule* Reinw.) setelah proses perebusan. 2(6), 495–500.
13. Hany Anastasia M, Rahayu Santi S, Manurung M. UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SENYAWA FLAVONOID PADA KULIT BATANG TUMBUHAN GAYAM (*Inocarpus fagiferus* Fosb.). J Kim. 2016;15–22.
14. Amin A, Paluseri A, Linggotu RP. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang Daun dan Bunga Jumpai (*Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC.). Fuller J Chem. 2021;6(1):14.
15. Hoque N, Imam MZ, Akter S, Ahmed J, Mazumder EH, Hasan SMR, et al. Antioxidant and antihyperglycemic activities of methanolic extract of *Glinus oppositifolius* leaves. J Appl Pharm Sci. 2011;1(7):50–3.