

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang, Daun Dan Akar Kopasanda (*Chromolaena odorata L*) dengan Metode ABTS (2,2'- azino - bis (3-etilbenzotiazolin -6- asam sulfonat)

Astuti Amin^{a*}, Soenandar Milian Tomponu Tengker^b, Wahyu Hendrarti

^a Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar, 90241, Indonesia

^b Jurusan Kimia, Universitas Negeri Manado, Indonesia

INFO ARTIKEL

Diterima 23 Juni 2022

Disetujui 29 Oktober 2022

Key word:

Chromolaena odorata L,
Antioxidant, ABTS (Acid 2,2'-
Azinobis,(3,ethylbenzene
tizoline)-6-sulfonate)

Kata kunci:

Chromolaena odorata L,
Antioksidan, ABTS (Asam 2,2'-
Azinobis,(3,etilbenzena tizolin)-
6-sulfonat)

*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 the stems, leaves and roots of kopasanda by looking at the IC50 value. The stems, leaves and roots of Kopasanda were extracted by maceration using 70% ethanol as solvent. The results of the antioxidant activity test using the ABTS method (2,2'- azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6- sulfonic acid) showed a very strong antioxidant activity with an IC50 value of 11.5380 g/ml leaves, 31.161 g/ml stems and 36,860 roots. g/ml with positive control of quercetin obtained IC50 value of 1.698 g/ml. Based on these results, it can be concluded that the stems, leaves and roots of the encounter have very strong antioxidant activity against ABTS free radicals (2,2'- azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline). - 6- sulfonic acid).

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, daun dan akar kopasanda dengan melihat nilai IC50. Batang, daun dan akar kopasanda diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etano 70%. Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS (2,2'- azino - bis (3 - etilbenzotiazolin - 6- asam sulfonat) menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC50 daun 11,5380 µg/ml, batang 31,161 µg/ml dan akar 36,860µg/ml dengan kontrol positif kuarsetin diperoleh nilai IC50 1,698 µg/ml. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa batang, daun dan akar jumpai memiliki aktivitas antiosidan yang sangat kuat terhadap radikal bebas ABTS (2,2'- azino - bis (3 - etilbenzotiazolin - 6- asam sulfonat).

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 seperti penyakit neurodegenerative, diabetes mellitus, penyakit kardiovaskular, dan kanker [1]. Zat yang mampu melindungi sel-sel tubuh dari efek

buruk radikal bebas adalah antioksidan.

Antioksidan merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan mampu menghambat atau mencegah oksidase disebabkan oleh radikal bebas [2]. Antioksidan memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan karena kemampuannya menangkap molekul radikal bebas dan menghambat reaksi oksidatif dalam tubuh yang merupakan penyebab berbagai penyakit [3]. Penggunaan antioksidan buatan cenderung berefek negatif bagi kesehatan [4]. Saat antioksidan endogen (dalam tubuh) tidak mampu melindungi tubuh dari

oksigen reaktif maka diperlukannya zat antioksidan eksogen (luar tubuh) seperti suplemen nutrisi atau produk farmasi, yang mengandung prinsip aktif senyawa antioksidan. Antioksidan alami bisa berasal dari tanaman sedangkan antioksidan buatan dihasilkan dari sintesis suatu reaksi kimia. Antioksidan eksogen yang paling sering di jumpai dari sumber alami seperti vitamin, flavonoid, antosianin dan beberapa senyawa mineral [5].

Salah satu tanaman yang diketahui mengandung antioksidan yaitu tanaman kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) merupakan salah satu jenis tumbuhan dari famili Compositae), dengan bentuk daun oval panjang 6-10 cm dan lebar 3-6 cm, tepi daun bergerigi dan susunan daun berhadapan [6]. Secara empiris daun kopasanda biasanya digunakan oleh masyarakat untuk mengobati luka. Daunnya kaya akan polifenol, tanin, saponin, terpenoid, flavonoid (kalkon, flavon, flavonol dan auron), alkaloid dan glikosida sianogenik [7]. Senyawa polifenol dan flavonoid merupakan antioksidan alami yang banyak terdapat di tumbuhan. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon [8].

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kopasanda dengan menggunakan metode DPPH dengan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC50 kurang dari 50 [9], sehingga kandungan flavonoid yang tinggi memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menghambat proses oksidasi [10] dan diperoleh hasil skrining ekstrak etanol daun kopasanda positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, dan steroid [9] dan ekstrak kasar daun kopasanda memiliki efek antioksidan yang tinggi [11][12]. Efek antioksidan yang tinggi disebabkan oleh kandungan flavanoid yang tinggi sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menghambat proses oksidasi. [13]

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan uji ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat) karena pada uji ABTS merupakan senyawa antioksidan berdasarkan kemampuan senyawa untuk menstabilkan senyawa radikal bebas berupa radikal proton.

Metode

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Aluminium foil, Batang Pengaduk, Cawan

Porselin (*Pyrex*®), Kertas saring, Labu ukur 5 mL, 10 mL, 25 mL, dan 100 mL(*Pyrex*®), Mikro pipet (*Dragonlab micropipette* ®), Pipet tetes, Gelas kimia (*Pyrex*®), Gelas ukur 25 mL, dan 50 mL (*Pyrex*®), Belender (*Cosmos*), Tabung reaksi (*Pyrex*®), Neraca analitik, Spektrofotometer UV-Vis (*Szimidzu*®), dan Vial.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar, daun dan batang kopasanda, Aquadest (H₂O), Asam Klorida (HCL Pekat), Etanol 70%, Etanol p.a, NaOH 10 %, Magnesium(Mg), 2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid (ABTS), dan Kuarsetin.

Pembuatan Ekstrak Batang, Daun dan Akar Koopasanda (*Chromolaena odorata* L.)

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

Skrining fitokimia

Uji flavonoid dilakukan dengan cara tiga tabung reaksi masing-masing dimasukkan 1 mg ekstrak etanol Akar, Batang dan Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L). Tabung 1 ditambahkan larutan NaOH 10% beberapa tetes, terjadinya perubahan warna menunjukkan positif fenol. Tabung 2 ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan 1-2 tetes HCl pekat, terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon. Tabung 3 ditambahkan dengan HCl pekat beberapa tetes, terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid golongan antosianin [9]

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS

Pembuatan Larutan ABTS

Ditimbang serbuk ABTS 7,100 mg dan serbuk kalium persulfat 3,500 mg, kemudian masing-masing dilarutkan dalam 5 mL etanol. Larutan diinkubasi selama 12 jam dalam ruangan gelap. Larutan dicampur kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol sampai 25 mL.

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan Metode ABTS

Prosedur pengujian di buat beberapa larutan sampel Akar, Batang dan Daun Kopasanda

(*Chromolaena odorata* L) dengan konsentrasi (10, 20, 30, 40, dan 50) ppm Larutan baku kuersetin disiapkan dengan konsentrasi (1, 2, 3, 4, dan 5) ppm. Larutan ABTS dan sampel dipipet dengan perbandingan 1:1 kemudian ditambahkan etanol p.a hingga 5,0 mL dan larutan diinkubasi selama 2 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum [14]

Hasil dan Pembahasan

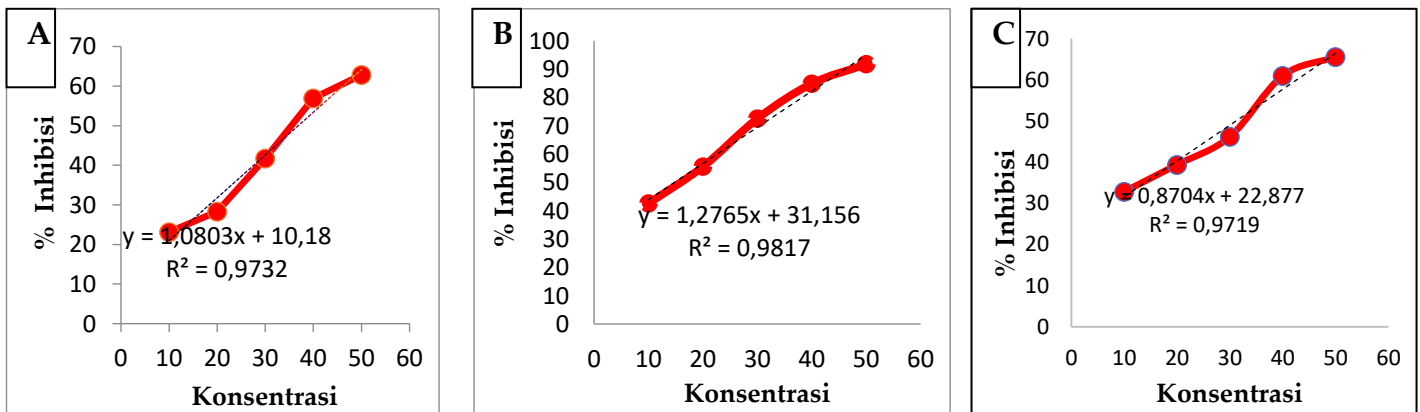
Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak etanol Akar, Batang dan Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan metode ABTS (2,2'- azino - bis (3 - etilbenzotiazolin - 6- asam sulfonat). Tiap konsentrasi yang diperoleh kemudian diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan kuersetin sebagai pembanding (kontrol positif). Aktivitas antiradikal bebas ditunjukkan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Akar, Batang dan Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) 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 ABTS. Selanjutnya, dilakukan skrining senyawa metabolit sekunder flavonoid pada ekstrak etanol akar, daun dan batang kopasanda dengan hasil skrining fitokimia ekstrak etanol akar dan batang dari ekstrak etanol kopasanda positif mengandung Flavonoid berdasarkan pereaksi-pereaksi warna yang digunakan, dapat dilihat pada tabel 1.

Pengujian antioksidan dengan metode ABTS menunjukkan adanya perubahan warna dari biru yang perlahan hilang, ini menandakan terjadinya reaksi antara antioksidan dan radikal ABTS. Kemudian dibuat larutan pada konsentrasi yang sama untuk sampel akar, daun dan batang *Chromolaena odorata* L. dengan masing-masing konsentrasi (10, 20, 30, 40 dan 50) ppm, dan konsentrasi kuersetin (1, 2, 3, 4 dan 5) ppm, kemudian diukur absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 751 nm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat pada gambar 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak etanol akar, batang dan Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata*L.)

| Uji Favanoid | Hasil Uji Ekstra Etanol Akar | Hasil Uji Ekstra Etanol Batang | Hasil Uji Ekstra Etanol Akar |
|--------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| -NaOH 10% | (+) Larutan Merah Jingga | (+) Larutan Merah Jingga | (+) Larutan Merah Jingga |
| -Magnesium + HCl p | (+) Larutan Merah Jingga | (+) Larutan Merah Jingga | (+) Larutan Merah Jingga |
| -HCl Pekat | (+) Larutan Merah Jingga | (+) Larutan Merah Jingga | (+) Larutan Merah Jingga |



Gambar 1. Hubungan Log konsentrasi kstrak etanol Akar (A), Daun (B) dan Batang (C) (*Chromolaena odorata* L.) dengan persen peredaman

Tabel 2. Nilai IC50 Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang, Daun, Akar Chromolaena odorata L. dan Kuarsetin

| Larutan Uji | Konsentrasi (ppm) | Rata-rata serapan | inhibisi (%) | Persamaan garis linear | Nilai IC ₅₀ (ppm) |
|---|-------------------|-------------------|--------------|------------------------|------------------------------|
| Kuarsetin | 1 | 0,691 | 34,502 | $y = 14,309x + 19,185$ | 2,153 |
| | 2 | 0,581 | 44,872 | | |
| | 3 | 0,379 | 64,075 | | |
| | 4 | 0,240 | 77,251 | | |
| | 5 | 0,107 | 89,857 | | |
| Ekstrak Etanol Akar (Chromolaena odorata L.) | 10 | 0,641 | 23,141 | $y = 1,0803x + 10,18$ | 36,860 |
| | 20 | 0,598 | 28,297 | | |
| | 30 | 0,486 | 41,726 | | |
| | 40 | 0,359 | 56,954 | | |
| | 50 | 0,310 | 62,829 | | |
| Ekstrak Etanol Batang (Chromolaena odorata L.) | 10 | 0,544 | 32,839 | $y = 0,8704x + 22,877$ | 31,161 |
| | 20 | 0,491 | 39,382 | | |
| | 30 | 0,436 | 46,172 | | |
| | 40 | 0,316 | 60,987 | | |
| | 50 | 0,279 | 65,555 | | |
| Ekstrak Etanol Daun (Chromolaena odorata L.) | 10 | 0,515 | 42,556 | $y = 2,1964x - 13,273$ | 11,5380 |
| | 20 | 0,398 | 55,570 | | |
| | 30 | 0,2466 | 63,028 | | |
| | 40 | 0,1354 | 79,700 | | |
| | 50 | 0,07433 | 88,856 | | |

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% [15]. Persen inhibisi yang telah didapatkan, 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 1.

Besarnya aktivitas antioksidan berbanding terbalik dengan nilai IC50, artinya semakin besar aktivitas antioksidan maka semakin kecil nilai IC50 yang didapatkan. Berdasarkan data pada Tabel 2, besarnya aktivitas antioksidan sampel secara berurutan dari besar ke kecil yaitu Ekstrak Etanol Daun Chromolaena odorata L. >ekstrak etanol batang Chromolaena odorata L. > Ekstrak Etanol

akar *Chromolaena odorata* L dengan nilai IC50 sebesar 11,5380 µg/ml, 31,161 µg/ml, 36,860µg/ml. Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin kuat daya antioksidannya. Hal ini menunjukkan bahwa daya antioksidan masing-masing ekstrak etanol daun, batang dan akar *Chromolaena odorata* L. memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan tingkat intensitas antioksidan dalam rentang nilai IC50 50-100 µg/mL.

Hal ini di sebabkan karena ekstrak etanol daun, batang dan akar *Chromolaena odorata* L. mengandung Senyawa flavonoid dan senyawa fenolik. Dimana senyawa fenolik 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 [16].

Sehingga dari hasil menunjukkan bahwa daya hambat antioksidan kuarsetin tetap lebih kuat dibandingkan dengan masing-masing ekstrak etanol daun, batang dan akar *Chromolaena odorata* L. dengan nilai IC50 sebesar 2,153 µg/ml Hal ini disebabkan karena kuarsetin merupakan senyawa murni sedangkan ekstrak etanol batang, daun dan akar *Chromolaena odorata* L. masih merupakan ekstrak kasar bukan senyawa murni atau isolat. Sehingga nilai IC50 kuarsetin lebih kuat dibandingkan dengan nilai ekstrak etanol Batang, Daun dan akar kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) .

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak etanol Batang, Daun dan Akar *Chromolaena odorata* L. dapat disimpulkan bahwa ketiga ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai IC50 <50 ppm yaitu : ekstrak akar 36,860µg/ml, ekstrak batang 31,161 µg/ml dan ekstrak daun 11,5380 µg/ml.

Daftar Pustaka

1. Phaniendra, A.; Jestadi, D.B.; Periyasamy, L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian journal of clinical biochemistry* **2015**, *30*, 11–26.
2. Isnindar; Wahyuono, S.; Setyowati, E.P. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros Kaki Thunb .*) Dengan metode dpsh (2 , 2-difenil-1- pikrilhidrazil) Isolation And Identification Of Antioxidant Compound Of Persimmon. *Majalah Obat Tradisional* **2011**, *16*, 157–164.
3. Adawiah, A.; Sukandar, D.; Muawanah, A. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *Jurnal Kimia Valensi* **2015**, *1*, 130–136, doi:10.15408/jkv.v0i0.3155.
4. Rahmi, H. Review: Aktivitas Antioksidan Dari Berbagai Sumber Buah-Buahan Di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia* **2017**, *2*, 34–38, doi:10.33661/jai.v2i1.721.
5. Aloanis, A.A.; Karundeng, M. Total Kandungan Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Beringin (*Ficus Benjamina* Linn.). *Fullerene Journal of Chemistry* **2019**, *4*, 1, doi:10.37033/fjc.v4i1.45.
6. Omokhua, A.G. Phytochemical and Pharmacological Investigations of Invasive. **2015**, 1–30.
7. Rofida, S.; Nurwahdaniati *Chromolaena Odorata* (*Chromolaena*). *BioNET-EAFRINET UVIMA Project* **2011**, *12*, 29–36.
8. Hermiati; Naomi Yemima Manalu; Mersi Suriani Sinaga Ekstrak Daun Sirih Hijau Dan Merah Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU* **2013**, *2*, 37–43, doi:10.32734/jtk.v2i1.1425.
9. Saputra, A.; Gani, A.; Erlidawati, E. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Gulma Siam (*Chromolaena Odorata* L.) Dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil. *Jurnal IPA & Pembelajaran IPA* **2017**, *1*, 131–142, doi:10.24815/jipi.v1i2.9687.
10. Fitrah, M.; Winarno, H.; Simanjuntak, P. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Kimia Zat

- Anti Kanker Dari Daun Kopasanda (Chromolaena Odorata (L.)). *Jurnal Ilmu kefarmasian Indonesia* **2017**, *15*, 77–81.
11. Igboh, M.N.; Ikewuchi, J.C.; Ikewuchi, C.C. Chemical Profile of Chromolaena Odorata L. (King and Robinson) Leaves. *Pakistan Journal of Nutrition* **2009**, *8*, 521–524, doi:10.3923/pjn.2009.521.524.
 12. Kelechi Nkechinyere, M.-O.; Mary Chioma, O.-O. Antibacterial Activities and Phytochemical Analysis of <I>Chromolaena Odorata</I> Leaves on Methicillin Resistant <I>Staphylococcus Aureus</I>. *American Journal of Biomedical and Life Sciences* **2020**, *8*, 33, doi:10.11648/j.ajbls.20200802.12.
 13. Amin, A.; Paluseri, A.; Linggotu, R.P. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang Daun Dan Bunga Jumpai (Glinus Oppositifolius (L.) Aug. DC.). *Fullerene Journal of Chemistry* **2021**, *6*, 14, doi:10.37033/fjc.v6i1.237.
 14. Faisal, H. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (Abelmoschus Esculentus L . Moench) Dengan Metode DPPH (1 , 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Dan Metode ABTS. *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life* **2019**, *2* (1), 1–5.
 15. Hany Anastasia, M.; Rahayu Santi, S.; Manurung, M. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Pada Kulit Batang Tumbuhan Gayam (Inocarpus Fagiferus Fosb.). *Jurnal Kimia* **2016**, 15–22, doi:10.24843/jchem.2016.v10.i01.p03.
 16. Hoque, N.; Imam, M.Z.; Akter, S.; Ahmed, J.; Mazumder, E.H.; Hasan, S.M.R.; Rana, S. Antioxidant and Antihyperglycemic Activities of Methanolic Extract of Glinus Oppositifolius Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* **2011**, *1*, 50–53.