

## Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Zat Anti Kanker dari Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.))

### (Isolation and Identification of Chemical Compounds as Anticancer from Leaves of Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L.)))

MUHAMMAD FITRAH<sup>1,2,\*</sup>, HENDIG WINARNO<sup>2,3</sup>, PARTOMUAN SIMANJUNTAK<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Makassar, Jl. Samata Gowa Makassar

<sup>2</sup>Magister Farmasi Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah Jagakarsa, Jakarta 12640

<sup>3</sup>Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Jl. Lebak Bulus Raya No.49, Jakarta 12440

<sup>4</sup>Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Jl. Raya Bogor 46 Cibinong, Jabar 16911

Diterima 6 Desember 2016, Disetujui 22 Februari 2017

**Abstrak:** Isolasi dan identifikasi senyawa kimia sebagai antikanker dari daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) telah dilakukan. Ekstraksi dilakukan secara berturut-turut dengan *n*-heksan, etilasetat, dan etanol secara maserasi kecuali dengan air dilakukan secara refluks. Fraksinasi ekstrak etilasetat dengan kromatografi kolom (SiO<sub>2</sub>; i). *n*-heksan-etilasetat = 10:1 ~ 1:1; etilasetat, ii). *n*-heksan-etilasetat = 5:1 memberikan satu isolat murni fr. 5-3 yang mempunyai aktivitas daya hambat terhadap sel leukemia L<sub>1210</sub> sebesar 1,515 bpj. Penentuan struktur kimia dilakukan berdasarkan interpretasi data spektra infra merah, RMI 1D (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) dan RMI 2D (H-H COSY, HMQC dan HMBC) dan spektra masa (LC-MS). Isolat fr. 5-3 diduga adalah metil eter naragenin.

**Kata kunci:** daun kopasanda, *Chromolaena odorata* L, antiproliferasi, antioksidan.

**Abstract:** Isolation and identification of chemical compound as anticancer from the leaves of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) had been done. Extraction was conducted successfully with *n*-hexane, ethylacetate and ethanol by maceration, and by reflux for water solvent. Fractionation of ethylacetate extract by column chromatography (SiO<sub>2</sub>). *n*-hexane-ethylacetate = 10:1 ~ 1:1; ethylacetate). *n*-hexane-ethylacetate = 5:1) gave one pure isolated fraction fr. 5-3 with inhibition activity against leukemia cell line L1210 at concentration 1.515 ppm. Chemical structure determination was done based on spectral data interpretation of Infra Red, 1D NMR (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) and 2D NMR (H-H COSY, HMQC and HMBC) and mass spectra (LC-MS). Pure isolated fraction fr. 5-3 was deducted as methyl ether naragenine.

**Keywords:** kopasanda leaves, *Chromolaena odorata* L, antioxidant, antiproliferation.

---

\* Penulis korespondensi, Hp: -  
e-mail: fitrahilyas7@gmail.com

## PENDAHULUAN

PESATNYA perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta berubahnya pola hidup masyarakat berdampak pada munculnya berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit kanker. Kanker adalah suatu proliferasi sel-sel yang tidak teratur di dalam tubuh manusia. Pada berbagai kasus, laju proliferasi sangat tinggi. Hal yang membedakan sel kanker dengan sel normal adalah bahwa sel kanker tidak pernah berhenti membelah<sup>(1)</sup>. Kanker merupakan penyakit yang menempati peringkat kedua penyebab kematian di dunia. Hal ini menyebabkan pengembangan penelitian untuk menemukan obat baru terus berkembang, bahkan dari bahan alam pun kini banyak diteliti untuk pengobatan kanker<sup>(2)</sup>.

Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan masyarakat sebagai bahan obat adalah daun kopasanda atau disebut dengan nama Sunda Kirinyu, dan tumbuhan ini oleh masyarakat wilayah Makassar digunakan sebagai obat luka dan antioksidan. Daun kopasanda (*Chromolaena odorata L.*) merupakan salah satu jenis tumbuhan dari famili *Compositae*. Daunnya mengandung beberapa senyawa utama seperti tannin, fenol, flavonoid, saponin dan steroid. Minyak essensial dari daunnya memiliki kandungan  $\alpha$ -pinene, cadinene, camphora, limonene,  $\beta$ -caryophyllene dan isomer candinol<sup>(3)</sup>. Daun kopasanda juga dikenal dengan nama tekelan atau gulma siam yang mengganggu pertumbuhan tanaman lain dan mengurangi kesuburan tanah. Ekstrak kasar daun kopasanda memiliki efek antioksidan. Efek yang dihasilkan ini disebabkan oleh kandungannya yang tinggi akan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan, yang mampu menghambat proses oksidasi<sup>(4)</sup>. Kopasanda awalnya diketahui berasal dari Amerika Selatan dan Tengah, kemudian menyebar ke daerah tropis Asia, Afrika, Pasifik, dan Indonesia. Gulma ini dicirikan sebagai semak berkayu yang dapat berkembang dengan cepat. Gulma ini merupakan pesaing agresif dan mungkin memiliki efek allelopati. Berdasarkan khasiat tanaman kopasanda tersebut yang berguna bagi kesehatan, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui struktur kimia flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan dan anti kanker dari daun kopasanda (*Chromolaena odorata L.*).

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia daun kopasanda (*Chromolaena odorata L.*), *n*-heksan, etil asetat, etanol, sel leukemia  $L_{1210}$  dalam medium RPMI-1640, L-glutamin,

$\text{NaHCO}_3$ , *calf bovine serum*, *tryphan blue*, metanol, *aquabidest*.

**Alat.** *Multi well plate tissue's*, *haemocytometer neubauer improved*, mikroskop, *cover glass* dan objek gelas, mikropipet.

**Ekstraksi.** Serbuk daun kopasanda (200 g) dimaserasi dengan *n*-heksan selama 24 jam, dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, diuapkan dengan *rotavapor* hingga kering. Residu dilanjutkan dimaserasi dengan pelarut etilasetat, etanol, dan terakhir dengan pelarut air dengan cara refluks. Sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, etilasetat, etanol dan air.

**Uji Aktivitas Antioksidan.** Uji antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas menggunakan reagen DPPH (1,1-Difenil 2-pikrilhidrazil) dilakukan berdasarkan cara Molyneux<sup>(5)</sup>.

**Uji Aktivitas Antikanker terhadap Sel Leukemia  $L_{1210}$ .** Media RPMI-1640 seberat 10,4 g yang mengandung L-glutamin dilarutkan dalam 1 L air steril (A). Kemudian 1,3 g  $\text{NaHCO}_3$  dilarutkan ke dalam 50 mL air steril (larutan B). sebanyak 25 mL larutan B ditambahkan ke dalam 475 mL larutan A, sehingga didapat 500 mL untuk media (C). 15 mL *calfbovine serum* untuk ujinya ditambahkan ke dalam 85 mL larutan C dan semua perlakuan dilakukan di ruang steril. Media yang telah mengandung *calf bovine serum* tadi masukkan *suspense* sel leukemia  $L_{1210}$  sehingga jumlah sel  $2 \times 10^5$  sel/mL<sup>(14)</sup>. Untuk pengujian aktivitas ekstrak pada penelitian ini menggunakan variasi dosis yaitu 5, 10, 20, 40, 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dalam metanol. Media dan zat uji dimasukkan ke dalam *multi well plate tissue's culture* sehingga total volume 1 mL dalam setiap sumuran. Adapun kontrol yang digunakan adalah metanol 10  $\mu\text{L}$  yang telah ditambahkan 990  $\mu\text{L}$  *suspense* sel. Selanjutnya sel yang telah diisi zat uji diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator 5%  $\text{CO}_2$  dan dilakukan pengulangan secara triplo. Perhitungan sel menggunakan *Haemocytometer neubauer improved*. Perhitungan, 90  $\mu\text{L}$  *suspense* dimasukkan ke dalam *sero cluster plate* dan ditambah 10  $\mu\text{L}$  larutan 1% *tryphan blue* lalu dihomogenkan sehingga dapat membedakan sel hidup dengan sel mati. Sebanyak 10  $\mu\text{L}$  larutan dialirkan ke dalam *Haemocytometer neubauer improved* kemudian dihitung sel yang hidup di bawah mikroskop.

Persentase (%) penghambatan dihitung berdasarkan rumus:

$$\frac{(\text{rerata sel kontrol}) - (\text{rerata sel sampel uji})}{(\text{rerata sel kontrol})}$$

Perhitungan untuk nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi zat uji yang dapat menghambat pertumbuhan sel yaitu 50%, dihitung kurva regresi linier antara log konsentrasi zat uji dengan nilai probit aktivitas penghambatan. Menurut Mans, suatu ekstrak tanaman dikatakan aktif atau positif menghambat pertumbuhan sel pada uji proliferasi sebagai zat antikanker bila  $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$ <sup>(6)</sup>. menurut *National Cancer Institute* (NCI) senyawa murni tergolong aktif menghambat perkembangbiakan sel bila nilai  $IC_{50} \leq 4 \mu\text{g/mL}$ <sup>(7)</sup>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun kopasanda yang diekstraksi secara bertahap diperoleh masing-masing ekstrak *n*-heksan sebanyak 3,6 g, ekstrak etil asetat sebanyak 11,7 g, ekstrak etanol sebanyak 8,2 g, dan ekstrak air sebanyak 6,4 g (Tabel 1).

**Tabel 1. Hasil ekstraksi daun kopasanda.**

No	Ekstrak	Bobot (g)	Rendemen (%) <sup>a</sup>
1.	Ekstrak <i>n</i> -heksan	3,6	1,8
2.	Ekstrak etil asetat	11,7	5,85
3.	Ekstrak etanol	8,2	4,1
4.	Ekstrak air	6,4	3,2

**Hasil Uji Antioksidan pada Ekstrak.** Hasil uji antioksidan diperoleh secara visual terbukti adanya perubahan warna larutan DPPH dari semula ungu menjadi kuning pada saat ditambahkan ke dalamnya ekstrak etil asetat dan etanol. Ekstrak *n*-heksan dan air tidak mengalami perubahan warna. Perubahan warna inilah yang menunjukkan bahwa terjadi perendaman radikal bebas dari molekul DPPH oleh senyawa kimia yang ada di dalam larutan ekstrak (Tabel 2).

**Tabel 2. Hasil pengamatan dari uji aktivitas antioksidan ekstrak.**

No	Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	% Hambatan
1	Ekstrak <i>n</i> -heksan	100	53,475
2	Ekstrak etil asetat	100	89,078
3	Ekstrak etanol	100	85,390
4	Ekstrak air	100	55,035

Hasil penentuan persen hambatan dari 4 ekstrak seperti terlihat pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memberikan persen hambat radikal bebas sebesar 89,08%.

### Hasil Uji Inhibitor Sel Leukimia $L_{1210}$ Ekstrak.

Hasil uji aktivitas antiproliferasi sel leukemia  $L_{1210}$  terhadap ekstrak *n*-heksan, etil asetat, etanol, dan air diperoleh bahwa ekstrak etil asetat adalah yang paling aktif, dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 9,30  $\mu\text{g/mL}$ . Oleh karena itu ekstrak etil asetat dipilih untuk dilanjutkan pada kromatografi kolom.

**Tabel 3. Hasil uji aktivitas antiproliferasi sel leukemia  $L_{1210}$  ekstrak**

No	Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Log konsentrasi	% Inhibisi	Probit % inhibisi	Persamaan regresi linier	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	Ekstrak <i>n</i> -heksan	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,774x + 4,109$ $R^2 = 0,99263$	14,1645
		10	1,0000	47,37	4,92		
		20	1,3010	53,68	5,10		
		40	1,6021	62,11	5,31		
2	Ekstrak etil asetat	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,7275x + 4,2955$ $R^2 = 0,992$	9,2982
		10	1,0000	51,58	5,05		
		20	1,3010	61,05	5,28		
		40	1,6021	67,37	5,44		
3	Ekstrak etanol	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,7308x + 4,1712$ $R^2 = 0,98438$	13,6176
		10	1,0000	46,32	4,90		
		20	1,3010	56,84	5,18		
		40	1,6021	61,05	5,28		
4	Ekstrak air	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,6411x + 4,3239$ $R^2 = 0,98003$	11,3397
		10	1,0000	46,32	4,90		
		20	1,3010	56,84	5,18		
		40	1,6021	65,26	5,39		

### Isolasi dan Pemurnian Ekstrak Etilasetat.

Fraksinasi kromatografi kolom terhadap ekstrak etilasetat dengan menggunakan *silica gel* sebagai fasa diam, dan menggunakan pelarut *n*-heksan-etilasetat = 10 : 1 ~ 1 : 1; etilasetat secara *gradient* memberikan 7 fraksi. Kemudian fraksi 5 dilanjutkan pemurnian dengan kromatografi kolom ( $\text{SiO}_2$ : *n*-heksan-etilasetat = 5:1) memberikan isolat murni fr. 5-3 yang berupa serbuk amorf yang berwarna putih (15 mg).

Hasil uji antioksidan terhadap hasil kromatografi kolom.

**Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi kromatografi kolom I.**

No	Fraksi	Konsentrasi	Hambatan (%)
1	1	100	68,630
2	2	100	76,301
3	3	100	76,575
4	4	100	71,918
5	5	100	83,014
6	6	100	93,151
7	7	100	80,548
8	5-3	100	41,870

**Hasil Uji Inhibitor Sel Leukimia  $L_{1210}$  Isolat Murni (fraksi 5-3).** Hasil uji aktivitas antiproliferasi sel leukemia  $L_{1210}$  pada isolat murni (fraksi. 5-3) memberikan  $IC_{50}$  sebesar 1,515 bpj (Tabel 5).

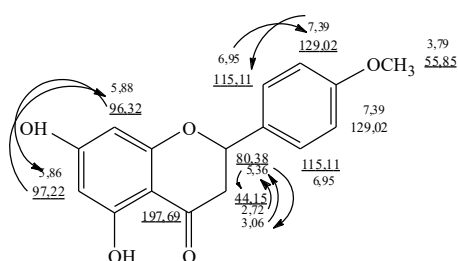
**Tabel 5. Hasil uji aktivitas antiproliferasi sel leukemia  $L_{1210}$  isolat fr. 5-3**

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi	% Inhibisi	Probit % inhibisi	Persamaan regresi linier	$IC_{50}$ (ppm)
0 (kontrol)	-	-	0	-		
1	0	0	40,82	4,77	$y = 0,7873x + 4,858$ $R^2 = 0,9656$	1,515
2	0,301	0,301	57,14	5,18		
4	0,602	0,602	65,31	5,39		
8	0,903	0,903	71,43	5,55		
16	1,2041	1,2041	77,55	5,77		

Penentuan struktur kimia isolat fr. 5-3. Isolat fraksi.5-3 yang diperoleh berbentuk serbuk amorf mempunyai rumus formula  $C_{16}H_{14}O_5$  dengan bobot molekul  $m/z$  286. Hasil analisis spectra infra merah (IR) memberikan pita serapan pada bilangan gelombang  $3749\text{ cm}^{-1}$  (OH);  $2931\text{ cm}^{-1}$  (aromatic) dan  $1774\text{ cm}^{-1}$  (C=O).

Hasil analisis Resonansi Magnetik Proton (RMI) proton memberikan pergeseran kimia pada  $\delta H$  3,79 bpj (s) memberikan informasi adanya gugus metoksi, pada  $\delta H$  2,72 (dd); 3,06 (dd) adalah gugus untuk  $CH_2$  dan  $\delta H$  5,36 (-CH-O-). Sedangkan pada  $\delta H$  5,86; 5,88; 6,95 dan 7,39 ppm memberikan informasi adanya ikatan rangkap dua yaitu -CH= yang berbentuk cincin benzen. Spektra RMI karbon menunjukkan adanya 13 atom karbon yang berdasarkan analisa DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization transfer*) terdiri dari atas 1 gugus  $OCH_3$  yaitu  $\delta C$  55,85bpj, 1 gugus  $CH_2$  pada  $\delta C$  44,15 bpj; 1 gugus CH pada  $\delta C$  80,38 bpj, dan 10 ikatan rangkap yang terdiri dari 4 gugus -CH= yaitu pada  $\delta C$  96,32;  $\delta C$  97,22;  $\delta C$  115,11; dan  $\delta C$  129,02 bpj, serta 6 gugus -C= yaitu pada  $\delta C$  103,44;  $\delta C$  132,46;  $\delta C$  161,55;  $\delta C$  164,91;  $\delta C$  165,59 dan  $\delta C$  197,69 bpj.

Hasil analisis RMI 2 dimensi HMQC menunjukkan adanya korelasi antara proton dengan karbonnya dan



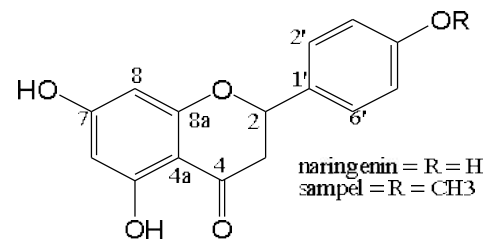
**Gambar 2. Korelasi antara proton dengan karbon HMBC isolat F5-3.**

spectra COSY dan HMBC (Gambar 2) menunjukkan adanya hubungan proton dan karbon yang berjarak lebih dari satu ikatan. pada  $\delta H$  3,79 bpj memberikan hubungan pada dC.

Perkiraan struktur kimia isolat fraksi. 5-3 di atas diperkuat dengan membandingkan pergeseran kimia ( $\delta H$  dan  $\delta C$ ) senyawa naringenin (Tabel 6), maka senyawa isolat fraksi. 5-3 merupakan senyawa metil eter naringenin.

**Tabel 6. Perbandingan pergeseran kimia ( $\delta H$ &  $\delta C$ ) antara naringenin dan isolat F<sub>5-3</sub>.**

No	Naringenin $^{13}C$ -NMR	sampel $^{13}C$ -NMR	naringenin $^1H$ -NMR	Sampel $^1H$ -NMR
2	79,04	80,38	5,40 (dd,J=13,1;3,0)	5,36 (t)
3	42,66	44,15	2,70 (dd,J=17,2;3,0) 3,15 (dd,J=17,2;13,1)	2,72 (dd) 3,06 (dd)
4	196,26	197,69	-	-
4a	102,19	103,44	-	-
5	164,11	165,59	-	-
6	95,00	96,32	5,95 (d,J=2,0)	5,86
7	166,59	165,59	-	-
8	95,80	97,22	5,94 (d,J=2,0)	5,88
8a	163,50	164,91	-	-
1'	129,49	132,46	-	-
2'.6'	128,10	129,02	7,37 (d,J=8,6)	7,39 (d)
3'.5'	115,22	115,11	6,87 (d,J=8,6)	6,95 (d)
4'	157,82	161,55	-	-
OMe	-	55,85	-	3,79 (s)



**Gambar 3. Struktur kimia naringenin**

## SIMPULAN

Hasil isolasi, pemurnian dan identifikasi senyawa kimia dari ekstrak etilasetat daun Kopasanda (*Chromolaena odorata L.*) adalah senyawa metil eter naringenin yang mempunyai aktivitas antiproliferasi sel leukemia  $L_{1210}$  sebesar  $IC_{50}$  1,515 bpj.

## SARAN

Dalam pengujian antikanker disarankan agar dalam penelitian selanjutnya dilakukan pada sel kanker yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kimball, J W. Biologi. Terjemahan oleh Hj. Siti Soetarmi Tjitrosoepomo dan Nawangsari Sugiri. Jakarta: Erlangga; 1983.
2. Anderson, R N. Deaths: Leading causes for national vital statistics reports. 1973.
3. Benjamin, VT. Phytochemical and antibacterial studies on the essential oil of *Eupatorium odoratum*. Pharmaceutical Biology. 2011.
4. Ngozi Igboh M, Jude Ikewuchi C and Catherine, Ikewuchi C. Chemical profile of *Chromolaena odorata* L. (*King and Robinson*) leaves. Pakistan Journal of Nutrition 8. 2009.
5. Molyneux, P. The use of stable free radikal diphenylpicrilhidrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Journal Science of Technology. 2004. 26(2): 211-9.
6. Zachariades C. Biological control of tropical weeds using Arthropods: *Chromolaena odorata* (L.). Cambridge University Press; 2009.130-63.
7. Mans DR Rocha A B, Schwartzmann G. Anticancer drug discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compounds. Oncologist. 2000.185-98.
8. Sumarny R. Karakteristik aktivitas antiproliferasi sel lestari tumor dan aktivitas fagositosis secara *in vivo* dari fraksi bioaktif rimpang temu putih (*Curcuma zedoria* (Christm) Roscoe). Institut Pertanian Bogor., 2006.
9. Akinmoladun, Afolabi C, Ibukun E O, dan Ologe, IA. Phytochemical constituents and antioxidant properties of extracts from the leaves of *Chromolaena odorata*. Scientific Research and Essay. Vol 2. 2007.
10. Prawiradiputra B R, Ki Rinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Robinson): Gulma padang rumput yang merugikan. Bogor: Balai Penelitian Ternak. 2007.
11. Kiaris HU, Understanding carcinogenesis an introduction to the molecular basic of cancer. Wiley-vch Verloeg.
12. Weinheim king SB. Cancer Biologi second edition Pearson Education. Lowlou. 2006.
13. Silverstein R M, Webster F X, Kiemle D J. Spectrometric identification of organic compounds. New York: John Willey and Sons Inc. 7<sup>th</sup> edition; 2005. 78-9, 215-7.
14. Widyastuti N. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, CUPRAC dan FRAP serta kolerasinya dengan fenol dan flavonoid pada enam tanaman. Bogor: Institut Pertanian Bogor-Press; 2010.
15. Sipayung A R D, De Chenon and P S Sudharto. Observations on *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King and H. Robinson in Indonesia. Second International Workshop on the Biological Control and Management of *Chromolaena odorata*. Biotrop. Bogor. 1991.
16. Winarno H dan Katrin E. Aktivitas sitotoksik fraksi ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl) terhadap sel kanker manusia. Majalah Obat Tradisional. 2008:120-7.
17. Simanjuntak P. Aplikasi spektrometri resonansi magnetic inti 2 dimensi untuk analisis tumbuhan obat tradisional Indonesia. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2003:1-7.
18. Jang D S, Cuendet MPawlus A D, Kardono L B S, Kawanishi K, Farnsworth R, Fong H H S, Pezzuto J M and Kinghorn A D. Potential cancer chemopreventive constituents of the leaves of *Macaranga triloba*. Phytochemistry. 2004.65:345-50.
19. Dewick and Paul M. Medical natural product a biosynthetic approach. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: John Wiley and Sons; 2002.
20. Beutler J A, Shoemaker R H, Johnson T and Boyd M R. Cytotoxic geranyl stilbenes from *Macaranga schweinfurthii*. J Nat Prod. 2008.61:1509-12.