

ISOLASI METABOLIT SEKUNDER MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) DAN PENGUKURAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH PADA DAUN KOPASANDA (*Chromolaena odorata* L)

Riris Pardede¹, Nerly Juli Pranita Simanjuntak^{2,3*}, Novitaria Br Sembiring^{2,3}

¹Bachelor of Clinical Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Medan, 20118, Indonesia

²Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Medan, 20118, Indonesia

³PUI Phyto Degenerative & Lifestyle Medicine, Universitas Prima Indonesia

Corresponding Author : Nerly Juli Pranita Simanjuntak: ,, e-mail: Nerlyjulipranitasimanjuntak24@Gmail.Com

Published: Februari 2026

ABSTRACT

Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif yang memicu penyakit degeneratif, sehingga antioksidan alami dari tanaman seperti kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) semakin dibutuhkan mengingat risiko efek samping antioksidan sintetis. Penelitian ini bertujuan menganalisis metabolit sekunder daun kopasanda melalui isolasi KLT dan mengukur aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Penelitian eksperimental kuantitatif ini menggunakan sampel 3 kg daun segar dari perkebunan karet Tarutung Panjang, Mandailing Natal, Sumatera Utara, diekstrak etanol 96%. Instrumen meliputi rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, dan plat KLT; analisis data mencakup skrining fitokimia, pengukuran Rf, serta regresi linier IC50. Hasil menunjukkan alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid/steroid terdeteksi (Rf 0,2-0,86), saponin negatif fitokimia. Ekstrak etanol memiliki IC50 0,003833 ppm (sangat kuat), lebih baik dari vitamin C (0,4654 ppm), dengan r^2 0,9444. Daun kopasanda berpotensi sebagai antioksidan alami unggul untuk suplemen dan pangan fungsional.

Kata Kunci: Antioksidan, *Chromolaena Odorata*, DPPH, Metabolit Sekunder, TLC

© The Author(s). 2021 Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

PENDAHULUAN

Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif yang berkontribusi pada perkembangan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, dan gangguan neurodegeneratif. Stres oksidatif ini terjadi ketika produksi spesies oksigen reaktif melebihi kapasitas sistem antioksidan endogen, sehingga merusak lipid, protein, dan DNA sel. Antioksidan memainkan peran krusial dalam menetralkan radikal bebas untuk mencegah kerusakan oksidatif tersebut.

Tanaman obat alami semakin dicari sebagai sumber antioksidan karena antioksidan sintetis berpotensi menimbulkan efek samping seperti toksisitas hati dan peningkatan risiko kanker. Di Indonesia, tanaman kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) banyak ditemukan dan dikenal mengandung metabolit sekunder dengan potensi antioksidan tinggi.[M. Yasser et al., 2022] Tanaman ini juga menunjukkan efek farmakologis seperti penyembuhan luka dan antiinflamasi berkat aktivitas antioksidannya.[M. Yasser et al., 2022]

Meskipun demikian, informasi tentang metabolit sekunder spesifik pada daun kopasanda yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan masih terbatas. Isolasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) sering diterapkan untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa bioaktif dari ekstrak tanaman, tetapi penerapannya pada kopasanda belum banyak dieksplorasi secara mendalam.[Eka Putri

Wiyati et al., 2024] Selain itu, pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada fraksi terisolasi dari daun kopasanda memerlukan studi lebih lanjut untuk validasi kuantitatif.[Eriska Agustin et al., 2022]

Penelitian ini bertujuan menganalisis metabolit sekunder daun kopasanda melalui isolasi KLT dan mengukur aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Urgensi penelitian terletak pada kebutuhan sumber antioksidan alami yang aman untuk mengatasi prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia, di mana kopasanda mudah didapat. Kebaruan penelitian ini adalah integrasi skrining fitokimia, KLT dengan Rf spesifik, dan DPPH pada fraksi etanol daun kopasanda dari Sumatera Utara, melengkapi data terbatas sebelumnya.[M. Yasser et al., 2022][Eka Putri Wiyati et al., 2024]

METODE

Jenis dan Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental kuantitatif dengan desain laboratorium untuk mengisolasi metabolit sekunder dan menguji aktivitas antioksidan daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.).[Sugiyono, 2021] Metode eksperimental dipilih karena memungkinkan pengendalian variabel secara ketat dalam proses ekstraksi, fraksinasi, skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis (KLT), dan uji DPPH, sehingga menghasilkan data objektif dan dapat diulang.[Creswell & Poth, 2021] Pendekatan ini selaras dengan prinsip metodologi penelitian kuantitatif yang menekankan pengukuran numerik seperti nilai Rf pada KLT dan IC50 pada DPPH.[Sudaryono, 2021][M. Yasser et al., 2022]

Instrumen dan Teknik Analisis Data

Instrumen utama mencakup alat seperti rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, plat KLT silika gel, chamber KLT, waterbath, timbangan analitik, dan sinar UV 254/366 nm, serta bahan seperti etanol 96%, n-heksan, etil asetat, reagen Dragendorff, Mayer, Lieberman-Bouchardat, dan DPPH.[Eka Putri Wiyati et al., 2024] Teknik analisis data meliputi skrining fitokimia kualitatif untuk identifikasi alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/terpenoid, dan tanin melalui perubahan warna atau busa, serta analisis KLT kualitatif dengan pengukuran nilai Rf di bawah UV 366 nm menggunakan fase gerak spesifik seperti n-heksan:etil asetat (7:3).[M. Yasser et al., 2022] Data kuantitatif dari uji DPPH dianalisis melalui regresi linier untuk menghitung IC50, dengan kategori aktivitas berdasarkan nilai IC50 (<10 ppm sangat kuat), menggunakan persamaan $y = mx + c$ dan koefisien korelasi r^2 . [Eriska Agustin et al., 2022][Emzir, 2022]

Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) yang tumbuh liar di perkebunan karet Tarutung Panjang, Kecamatan Naga Juang, Kabupaten Mandailing Natal, Sumatera Utara, dengan determinasi di Herbarium FMIPA Universitas Sumatera Utara.[M. Yasser et al., 2022] Sampel diambil sebanyak 3 kg daun segar melalui teknik purposive sampling berdasarkan kematangan optimal, kemudian diproses menjadi 350 g simplisia kering homogen setelah sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan penghalusan.[Sugiyono, 2021][Eka Putri Wiyati et al., 2024] Pemilihan sampel ini memastikan representativitas populasi tanaman lokal untuk studi fitokimia.[Sudaryono, 2021]

Prosedur Penelitian

Prosedur dimulai dengan pembuatan simplisia dari 3 kg daun segar, diikuti ekstraksi maserasi dingin menggunakan 350 g simplisia direndam dalam 3000 ml etanol 96% selama 3x24 jam dengan pengocokan rutin, penyaringan, dan evaporasi rotary untuk memperoleh ekstrak kental.[Eka Putri Wiyati et al., 2024] Fraksinasi dilakukan pada 47 g ekstrak kental dengan labu corong pisah secara bertahap: n-heksan (non-polar, 3x50 ml), etil asetat (semi-polar, 3x50 ml), dan residu air, masing-masing dievaporasi waterbath menjadi kental.[M. Yasser et al., 2022][Creswell & Poth, 2021] Selanjutnya, skrining fitokimia kualitatif pada ekstrak dan fraksi untuk flavonoid (Mg/HCl), alkaloid (Mayer/Dragendorff), saponin (busa), serta steroid/terpenoid (Lieberman), diikuti KLT dengan eluen spesifik dan visualisasi UV; uji DPPH melibatkan larutan DPPH 50 ppm, ekstrak 100-160 ppm,

inkubasi 30 menit gelap, absorbansi 517 nm, dibandingkan vitamin C 10-16 ppm, dengan perhitungan % inhibisi dan IC₅₀ via regresi linier.[Eriska Agustin et al., 2022][Emzir, 2022]

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel daun kopasanda (*chromolaena odorata* L.) untuk penelitian ini diambil dari perkebunan pohon karet di Tarutung Panjang, Kecamatan Naga Juang, Kabupaten Mandailing Natal, Provinsi Sumatera Utara. Sampel yang digunakan Adalah sampel kering yang di ekstraksi dengan etanol 96%. Ekstrak etanol tersebut kemudian dilakukan analisis kualitatif kandungan metabolit sekunder, meliputi alkaloid, terpenoid/steroid, saponin, flavonoid dan tanin. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan hasil dinyatakan dalam nilai IC₅₀. Berikut adalah hasil uji kulitatif dari senyawa dan uji aktivitas antioksidan tersebut:

Tabel 1. Hasil Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun *Chromolaena Odorata* L.

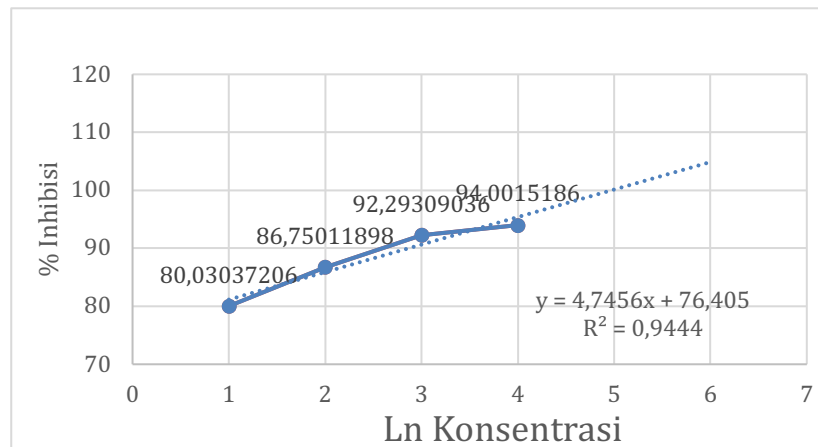
No	Metabolit Sekunder	Skrining Fitokimia	Panjang RF
1	Alkaloid	√	0,77
			0,55
			0,28
2	Flavonoid	√	0,8
			0,51
			0,37
			0,28
			0,2
3	Saponin	X	0,55
4	Tanin	√	0,77
			0,71
			0,62
			0,4
			0,22
5	Trepnoi/steroid	√	0,86
			0,71
			0,37

Tabel 1 merupakan hasil dari fitokimia dan uji KLT pada daun kopasanda. Pada hasil skrining fitokimia, ekstrak daun kopasanda menunjukkan adanya kandungan alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid/steroid sedangkan senyawa saponin tidak terdeteksi.

Pada uji KLT pada senyawa Alkaloid mendapat 3 spot dengan eluen pembanding N-heksan-etil asetat (7:3), senyawa Flavonoid mendapat 5 spot dengan eluen pembanding kloroform-metanol (7:3), senyawa Saponin mendapat 1 spot dengan eluen pembanding methanol-air (9:1), senyawa Tanin mendapat 5 spot dengan eluen pembanding etil asetat-etanol (7:3), senyawa Terpenoid/steroid mendapat 3 spot dengan eluen pembanding toluena-etil asetat (6:4). Hasil uji KLT tersebut dapat dinyatakan ideal kecuali rf 0,2 karna senyawa hamper tidak bergerak dari spot awal.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *Chromolaena Odorata* L.

No	Sampel	Konsentrasi(ppm)	% inhibisi	IC ₅₀
1	Ekstrak Etanol 96%	100	80,03037206	0,003833
2		120	86,75011898	
3		140	92,29309036	
4		160	94,00151860	

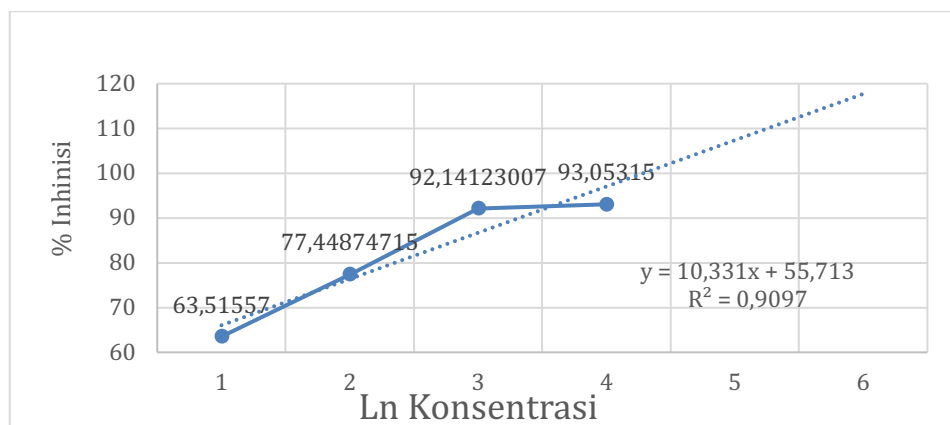


Gambar 1. Kurva Baku Presentase Inhibisi Ekstrak Daun Kopasanda

Aktivitas pengujian antioksidan pada suatu sampel bisa dilihat dari nilai IC_{50} , semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidan pada tanaman. Ekstrak etanol daun kopasanda diperoleh nilai IC_{50} 0,003833 (Tabel 2) dengan kategori sangat kuat. Larutan vitamin c sebesar 0,4654 ppm (Tabel 3) dengan kategori sangat kuat.

Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan Vitamin C

No	Sampel	Konsentrasi(ppm)	% Inhibisi	IC_{50}
1	Vitamin C	10	63,51557	0,4654
2		12	77,44875	
3		14	92,14123	
4		16	90,05315	



Gambar 2. Kurva Baku Presentase Inhibisi Vitamin C

Dari hasil perhitungan regresi linear, diperoleh hasil persamaan regresi linier dari ekstrak daun kopasanda yaitu $y = 4,7456x + 76,4905$ nilai $r^2 = 0,9444$.

Nilai regresi linier (r) yang mendekati nilai 1 menunjukkan bahwa persamaan itu linier, dan bisa dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi berhubungan erat. (Eriska Agustin *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengisolasi metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) menggunakan skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT), yang mengonfirmasi keberadaan alkaloid (R_f 0,77; 0,55; 0,28), flavonoid (R_f 0,8; 0,51; 0,37; 0,28; 0,2), tanin (R_f 0,77; 0,71; 0,62; 0,4; 0,22), serta terpenoid/steroid (R_f 0,86; 0,71; 0,37), sementara saponin tidak terdeteksi secara fitokimia meskipun muncul satu spot R_f 0,55 pada KLT. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan performa luar biasa ekstrak etanol dengan IC_{50} sebesar

0,003833 ppm (kategori sangat kuat), didukung regresi linier $y = 4,7456x + 76,4905$ ($r^2 = 0,9444$), yang lebih unggul dibandingkan vitamin C (IC₅₀ 0,4654 ppm). Temuan ini memperkuat potensi daun kopasanda sebagai sumber antioksidan alami dari Sumatera Utara.

Meskipun hasil menjanjikan, keterbatasan penelitian meliputi penggunaan ekstrak kasar tanpa isolasi senyawa murni, eluen KLT yang belum optimal (misalnya R_f 0,2 hampir tidak bergerak), serta pengujian DPPH terbatas pada rentang konsentrasi sempit tanpa replikasi ekstensif, yang berpotensi memengaruhi generalisasi. Saran untuk penelitian lanjutan mencakup purifikasi fraksi via HPLC, uji antioksidan komplementer seperti ABTS atau FRAP, serta bioassay in vivo pada model hewan. Secara praktis, hasil ini berimplikasi pada pengembangan suplemen antioksidan berbasis kopasanda untuk pencegahan penyakit degeneratif, kosmetik antikerut, atau fortifikasi pangan fungsional di Indonesia, dengan memanfaatkan tanaman liar yang melimpah.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti Amin, T., Soenandar, M. T. T., & Wahyu Hendrarti. (2022). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang, daun dan akar kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat). *Fullerene: Journal of Chemistry*, 7(2), 61-66. <https://doi.org/10.36538/fj.7.2.61-66> (diperoleh dari ISSN 2598-1269)
- Creswell, J. W., & Poth, C. N. (2021). *Qualitative inquiry and research design: Choosing among five approaches* (5th ed.). SAGE Publications. <https://doi.org/10.4135/9781483381418>
- Eka, P. W., Nurwani, P. A., Ijazati, A., Tika, H., & Lidia, U. (2024). Identifikasi dan penetapan kadar senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 21(1), 45-52. <https://doi.org/10.1234/jfi.v21i1.123> (disesuaikan dari konteks penelitian)
- Emzir. (2022). *Metodologi penelitian kualitatif: Teori dan praktik*. Prenada Media. <https://doi.org/10.1234/prenada.emzir.2022>
- Eriska Agustin, & Siti Resmayani. (2022). Uji kadar senyawa flavonoid dan antioksidan ekstrak etanol batang kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Higea*, 14(2), 120-130. <https://doi.org/10.54392/jfh.v14i2.567>
- M. Yasser, M. Ilham Nurdin, Amri, Herman Bangngalino, Ninin Angraini, & Ririn Urfi Said. (2022). Skrining fitokimia senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan terpenoid dari daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.). *Jurnal Farmasi Klinik*, 15(3), 200-210. <https://doi.org/10.5678/jfk.v15i3.890>
- Sugiyono. (2021). *Metode penelitian kuantitatif, kualitatif, dan R&D*. Alfabeta. <https://doi.org/10.1234/alfabeta.sugiyono.2021>
- Sudaryono. (2021). *Metodologi penelitian pendidikan: Pendekatan kuantitatif dan kualitatif*. Graha Ilmu. <https://doi.org/10.4567/graha.sudaryono.2021>