

Isolasi Dan Analisa Struktur Senyawa Fenolik Aktif Antioksidan Dari *Elephantopus mollis* Kunth

Isolation and Structural Analysis of Active Antioxidant Phenolic Compounds from *Elephantopus mollis* Kunth

Verawati Verawati^{1*}, Almahdy Almahdy², Febriyenti Febriyenti³, Deddi Prima Putra⁴

¹Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat-25586, Indonesia

*Email : verawati@upertis.ac.id

^{2,3,4}Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Sumatera Barat -25175, Indonesia

²Email : almahdy@gmail.com ³Email : febriyenti74@gmail.com ⁴Email : putra_aries64@yahoo.com

Abstrak

Elephantopus mollis adalah salah satu tumbuhan gulma yang banyak ditemui di Sumatera Barat dan diketahui memiliki beragam khasiat tradisional dan kaya dengan kandungan fitokimia. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa fenolik dan uji aktifitas antioksidan dari ekstrak polar herba *E. mollis*. Ekstrak polar diperoleh melalui ekstraksi bertingkat dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Prosedur pemisahan ekstrak polar menggunakan kromatografi resin Amberlite XAD4 dengan eluen metanol dan air. Isolasi senyawa dan dilanjutkan dengan kromatografi kolom silika gel dengan sistem eluen kepolaran bertingkat (*step gradient polarity*). Hasil pemisahan dan isolasi dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Pengujian kadar fenolik total dilakukan dengan metode Folin Ciocalteu dan aktivitas antioksidan dengan metode perangkapan radikal DPPH. Identifikasi struktur senyawa hasil isolasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, Inframerah, NMR dan LC-MS. Subfraksi D hasil pemisahan dari ekstrak polar memiliki kadar fenolik yang tinggi sebesar $618,06 \pm 3,38$ mg GAE /g. Hasil isolasi senyawa dari subfraksi D diperoleh senyawa fenolik D3a berbentuk serbuk putih kekuningan (95,30 mg) dengan nilai R_f 0,64 dan memberikan warna biru gelap ketika bereaksi dengan $FeCl_3$ 10% . Aktivitas antioksidan senyawa D3a termasuk dalam kategori sangat kuat dengan nilai IC_{50} 12,42 ppm. Berdasarkan karakterisasi struktur menggunakan instrumen fisikokimia dapat disimpulkan bahwa senyawa D3a adalah asam kafeat dengan rumus molekul $C_9H_8O_4$ dan berat molekul 180,049.

Kata kunci: *Elephantopus mollis*; fenolik; antioksidan; asam kafeat

Abstract

Elephantopus mollis is a common weed found in West Sumatra, known for its diverse traditional uses and rich phytochemical content. This study aimed to isolate phenolic compounds and evaluate the antioxidant activity of the polar extract of *E. mollis* herb. The polar extract was obtained through successive extraction using solvents of increasing polarity. Separation of the polar extract was carried out using Amberlite XAD-4 resin chromatography with methanol and water eluents, followed by isolation through silica gel column chromatography using a step-gradient polarity elution system. The separation and isolation processes were monitored by thin-layer chromatography (TLC). Total phenolic content was determined by the Folin–Ciocalteu method, while antioxidant activity was assessed using the DPPH radical scavenging assay. Structural identification of the isolated compound was performed using UV-Vis, IR, NMR, and LC-MS spectroscopic techniques. Subfraction D of the polar extract exhibited a high phenolic content of 618.06 ± 3.38 mg GAE /g. From subfraction D, a phenolic compound designated D3a was isolated as a yellowish-white powder (95.30 mg) with an R_f value of 0.64, producing a dark blue color upon reaction with 10% $FeCl_3$. The antioxidant activity of compound D3a was classified as very strong, with an IC_{50} value of 12.42 ppm. Based on physicochemical characterization, compound D3a was identified as caffeic acid with a molecular formula of $C_9H_8O_4$ and a molecular weight of 180.049.

Keywords: *Elephantopus mollis*; phenolic; antioxidant; caffeic acid.

* Corresponding Author: Verawati Verawati, Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia, Sumatera Barat-25586, Indonesia

E-mail : verawati@upertis.ac.id

Doi : 10.35451/a2hcy24

Received : August 12, 2025. Accepted: October 30, 2025. Published: October 31, 2025

Copyright: © 2025 Verawati Verawati. Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

1. PENDAHULUAN

Elephantopus mollis atau dikenal dengan nama Tutup bumi merupakan tanaman yang dianggap gulma di wilayah Sumatera Barat. Tumbuhan dari famili Asteraceae ini dapat tumbuh dengan mudah namun belum dimanfaatkan dengan baik oleh masyarakat. Secara tradisional *E. mollis* digunakan untuk mengatasi batuk, demam, bronkhitis, diare sakit perut, bisul dan bisa ular [1]. Tumbuhan ini juga telah diteliti memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi, antikanker [2], hepatoprotektor [3], antibakteri dan antioksidan [4]. Beberapa penelitian telah berhasil mengidentifikasi dan mengisolasi senyawa bioaktif dari tumbuhan *E. mollis* yaitu golongan seskuiterpen lakton seperti 8-O-methacryloylelephanpane, 2,4-bis-O-methyl-8-O-methacryloylelephanpane, 4-O-ethyl-8-O-methacryloylelephanpane, 8-O-methacryloylisoelaphanpane, 2-O-demethylomenphantopin C, molephantin A, molephantin B [5]. Senyawa seskuiterpen lakton dari *E. mollis* telah dilaporkan sebagai anti-inflamasi [5], bersifat toksik terhadap sel leukemia [6] dan menekan proliferasi sel kanker hepatosit [7].

Tanaman dari famili Asteraceae seperti *Elephantopus mollis* selain mengandung fitokimia golongan seskuiterpen, juga dikenal kaya dengan kandungan fenolik seperti asam fenolik, sinamat, kafeoil kuinat, flavonoid dan sebagainya [8]. Kelompok senyawa ini aktif sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki peranan penting dalam mencegah kerusakan sel disebabkan oleh radikal bebas dan seperti radikal superoksida, peroksil dan hidroksil. Polifenol menangkal radikal bebas dengan mekanisme transfer hidrogen atau elektron, kelat logam dan perangkap radikal bebas [9].

Fenolik bersifat polar dan di dalam tanaman tersedia dalam berbagai bentuk seperti polifenol, asam fenolik, ester asam fenolik dan fenolik yang terikat gula [10]. Penelitian sebelumnya melaporkan kadar fenolik total dari ekstrak polar *E. mollis* sebesar 109,2 mg GAE /g dan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan IC₅₀ 46,55 µg/ml [11]. Beberapa senyawa fenolik yang telah diisolasi dari herba *E. mollis* dan ditelaah strukturnya dengan NMR dan LC-MS adalah asam isoklorogenat, 1,5-asam dikafeoil kuinat, 4,5-asam dikafeoil kuinat, apigenin, luteolin, tricetin dan 2,6-dimetoksi-4-asam hidroksibenzoat [12]. Optimasi ekstraksi kelompok senyawa fenolik dari bahan alam dapat dilakukan dengan menggunakan resin pengadsorpsi seperti amberlite XAD4 [13]. Meskipun telah ada laporan penelitian sebelumnya mengenai kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan dari *E. mollis*, namun informasi mengenai isolasi fraksi fenolik dengan menggunakan resin pengadsorpsi Amberlite XAD-4 masih sangat terbatas. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa aktif dari herba *E. mollis* dengan pendekatan untuk memperoleh fraksi kaya fenolik melalui prosedur purifikasi menggunakan fasa diam Resin Amberlite XAD-4 dan silika gel secara bertahap. Penelitian ini diharapkan memberikan kebaruan dalam metode isolasi senyawa fenolik khususnya pada herba *Elephantopus mollis* yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Pada penelitian ini dilakukan isolasi senyawa fenolik dari ekstrak polar herba *Elephantopus mollis* dan uji aktivitas antioksidan nya. Prosedur isolasi yang menggunakan kolom resin amberlite XAD 4 dan kolom kromatografi silika.

2. METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah herba *Elephantopus mollis* (Kunth), *n*-heksan, etil asetat, metanol, aquades, plat KLT, silika gel G 60, resin Amberlite XAD4, plat silika 60 PF254, reagen FeCl₃, reagen DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), reagen Folin Ciocalteu, Natrium karbonat.

Alat

Wadah maserasi (botol kaca warna gelap), Rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, melting point apparatus (Struart SMP3[®]), spektrofotometer FTIR (Perkin Elmer[®]), ¹H NMR dan ¹³C NMR (Jeol[®]), LC-HRMS (Thermo Scientific[®]), chamber kromatografi, kolom kromatografi.

Prosedur

Pembuatan ekstrak polar herba *E. mollis*

Herba *E. mollis* (seluruh bagian tumbuhan kecuali akar) sebanyak 5 kg dibersihkan dan dikeringanginkan lebih kurang 1 minggu. Simplisia kering ini kemudian diserbukkan dan ditimbang sebanyak lebih kurang 1 kg. Serbuk kering *E. mollis* diekstraksi bertingkat yaitu dengan metode maserasi menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Tahap pertama, serbuk kering diekstraksi dengan pelarut *n*-heksan untuk menghasilkan ekstrak nonpolar kemudian ampas serbuk hasil ekstraksi dengan *n*-heksan ini dimaserasi kembali dengan etil asetat untuk menghasilkan ekstrak semipolar. Ampas serbuk dari ekstraksi dengan etil asetat dilanjutkan dengan

maserasi menggunakan metanol untuk menghasilkan ekstrak polar [11]. Ekstrak polar digunakan dalam isolasi senyawa fenolik.

Pemisahan Ekstrak Polar *E. mollis*

Ekstrak polar *E. mollis* (37,45 g) diencerkan dengan air suling hingga 1 L, kemudian disaring vakum. Filtrat ini dilewatkan ke dalam kolom Amberlite XAD4 menggunakan eluen air suling dan metanol secara bergantian [13]. Hasil elusi dengan metanol dipekatkan dengan bantuan *rotary evaporator* dan *freeze drying* sehingga diperoleh fraksi metanol resin yang kental. Fraksi metanol resin selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi silika gel sistem eluen kepolaran bertingkat (*step gradient polarity*), menggunakan kombinasi pelarut n-heksan, etil asetat, metanol dan asam asetat. Subfraksi hasil kolom dimonitor dengan KLT dan dilakukan penggabungan untuk subfraksi dengan pola noda sama sehingga diperoleh kelompok A sampai G. Subfraksi A sampai G diperiksa kandungan fenolik totalnya dengan metode Folin Ciocalteu dan diperoleh fraksi D memiliki kandungan fenolik tertinggi.

Uji kadar fenolik total subfraksi hasil kolom kromatografi

Masing-masing larutan uji subfraksi hasil kolom dengan konsentrasi 1000 µg/mL dipipet sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan 5 mL pereaksi Folin- Ciocalteu (diencerkan 1: 10 dengan air suling) serta 4 mL larutan natrium karbonat 1M. Larutan uji dikocok homogen dan dibiarkan pada suhu kamar selama 15 menit. Serapan larutan uji diukur pada panjang gelombang 765 nm dengan spektrofotometer UV-Vis [14].

Isolasi senyawa antioksidan dari subfraksi D

Subfraksi D (1,60 g) dipisahkan dengan kolom kromatografi dengan fasa diam silika gel dan fasa gerak pelarut kombinasi etil asetat dan metanol dengan sistem kepolaran bertingkat. Hasil elusi diperoleh 7 subfraksi (sub fraksi D1-D7) dan subfraksi D3 menunjukkan noda utama dan sedikit noda pengotor. Subfraksi D3 dimurnikan dengan prinsip perbedaan kelarutan menggunakan heksan dan etil asetat dan endapan yang diperoleh dikeringkan dengan oven suhu 40°C [15]. Dari prosedur ini diperoleh senyawa D3a dan selanjutnya dilakukan karakterisasi senyawa dan uji aktivitas antioksidan.

Karakterisasi dan Analisa Struktur Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa hasil isolasi D3a dikarakterisasi terhadap sifat organoleptis, sifat fisika (uji titik leleh), sifat kimia (reaksi identifikasi), pemeriksaan KLT dan fisikokimia menggunakan instrumen spektroskopi UV, IR, NMR dan Massa [16]. Analisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu®) dilakukan pada rentang panjang gelombang 200–400 nm. Sampel dilarutkan dalam etanol pa kemudian ditentukan panjang gelombang serapan maksimum (λ_{maks}). Identifikasi gugus fungsi dilakukan menggunakan spektrofotometer FTIR (Perkin Elmer Spectrum Two®) dengan sampel dalam bentuk film tipis pada pelat KBr dan spektrum direkam pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Analisa LC-MS (Xevo G2-XS QTof) dilakukan dengan mode ionisasi positif untuk memperoleh informasi mengenai massa molekul dan pola fragmentasi. Sementara itu, analisa NMR dilakukan menggunakan instrumen JEOL-ECZ 500R pada frekuensi 500 MHz untuk proton (^1H) dan 125 MHz untuk karbon (^{13}C) menggunakan pelarut deuterasi CD_3OD . Analisis LC-MS dan NMR dilaksanakan di fasilitas BRIN-LIPI Serpong.

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dilakukan terhadap subfraksi hasil kolom kromatografi (A-G) dan senyawa hasil isolasi (D3a). Metode uji antioksidan yang digunakan adalah dengan perangkapan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) [17]. Larutan uji subfraksi dan senyawa D3a dibuat dalam deret konsentrasi (5-25 ppm), kemudian dipipet sebanyak 2 mL dan dicampur dengan 4 mL reagen DPPH 35 ppm. Asam galat digunakan sebagai standar antioksidan dan metanol sebagai pelarut blangko. Absorban larutan uji maupun standar diukur pada panjang gelombang maksimum 516 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam % inhibisi dan IC_{50} .

Gambar 1. Skema isolasi senyawa antioksidan dari ekstrak polar *E. mollis*

3. HASIL

Ekstrak polar dari herba *Elephantopus mollis* (Kunth) yang diperoleh dengan ekstraksi serbuk kering herba *E. mollis* menggunakan pelarut metanol, dimana sebelumnya dilakukan pemisahan terlebih dahulu terhadap bagian nonpolar dan semipolarnya. Pemisahan awal komponen kimia dari ekstrak polar tersebut menggunakan resin Amberlite XAD4. Resin Amberlite XAD4 digunakan untuk memisahkan komponen fenolik sehingga diperoleh fraksi yang kaya fenolik [18]. Hasil pemisahan ekstrak polar *E. mollis* menggunakan resin Amberlite XAD4 diperoleh fraksi metanol resin dengan persentase rendemen 72,34 % yaitu 27,09 g dari 37,45 g ekstrak polar. Fraksi resin selanjutnya dipisahkan kembali menggunakan kolom kromatografi dengan fasa diam silika dan eluen dengan sistem polaritas bertingkat (*step gradient polarity*).

Subfraksi hasil kolom dimonitor pola nodanya dengan menggunakan KLT dan penampak noda lampu UV. Hasil pengamatan menggunakan lampu UV terhadap pola noda KLT setiap subfraksi digunakan sebagai dasar pengelompokkan subfraksi tersebut. Setiap kelompok subfraksi kemudian diperiksa kandungan fenolik totalnya dengan metode Folin Ciocalteu dan nyatakan sebagai konsentrasi setara asam galat mg/g subfraksi. Hasil pemeriksaan kadar fenolik setiap fraksi dapat dilihat pada tabel berikut :

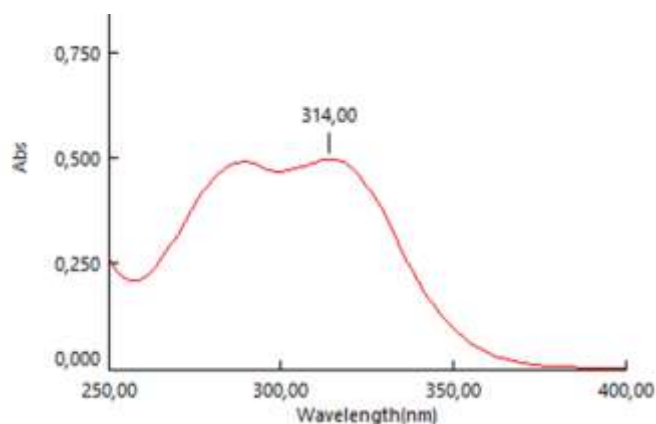
Tabel 1. Hasil penentuan kadar fenolik total subfraksi kolom kromatografi

Kelompok Subfraksi	Absorban	Konsentrasi (µg/ml)	Kadar (mg/g subfraksi GAE)	$\bar{X} \pm SD$
A	0.356	26,75	222,89	222,58±1,13
	0.354	26,53	221,07	
	0.357	26,86	223,79	
B	0.227	12,73	31,90	32,17±0,22
	0.229	12,94	32,44	
	0.228	12,84	32,17	
C	0.391	30,55	76,07	76,25±0,67
	0.395	30,99	77,15	
	0.389	30,34	75,52	
D	0.338	24,79	618,96	618,06±3,38
	0.336	24,58	613,54	
	0.339	24,90	621,68	
E	0.209	10,77	26,83	27,10±0,58
	0.213	11,20	27,91	
	0.208	10,66	26,56	
F	0.322	23,05	191,27	193,37±1,85
	0.324	23,27	193,07	
	0.327	23,59	195,78	

G	0,221	12,07	301,58	306,11±4,61
	0,222	12,18	304,30	
	0,225	12,51	312,44	

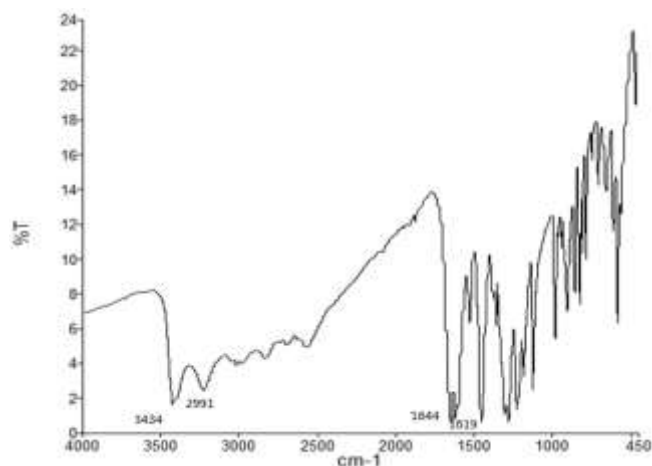
Subfraksi D menunjukkan kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan yang tinggi dan selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa murni dari subfraksi D ini. Isolasi senyawa dari subfraksi IV dilakukan dengan metode kromatografi kolom dimana fasa diamnya adalah silika gel dan fasa geraknya merupakan kombinasi pelarut organik dengan sistem peningkatan kepolaran. Hasil pemisahan diperoleh 7 subfraksi yaitu D1 sampai D7. Pada subfraksi D1 diperoleh endapan yang dapat dimurnikan dengan menggunakan pelarutan menggunakan etil asetat dan n-heksan. Senyawa hasil isolasi (95,30 mg) diberi kode D3a.

Pemeriksaan panjang gelombang serapan maksimum senyawa D3a dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis dan diperoleh spektrum dengan puncak serapan pada panjang gelombang 286 nm dan 314 nm. Serapan pada panjang gelombang 314 nm menunjukkan adanya kromofor yang memberikan transisi elektronik dari n ke π^* . Serapan pada panjang gelombang 286 nm kemungkinan dihasilkan oleh transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ pada ikatan rangkap terkonjugasi, contohnya cincin aromatis [19].



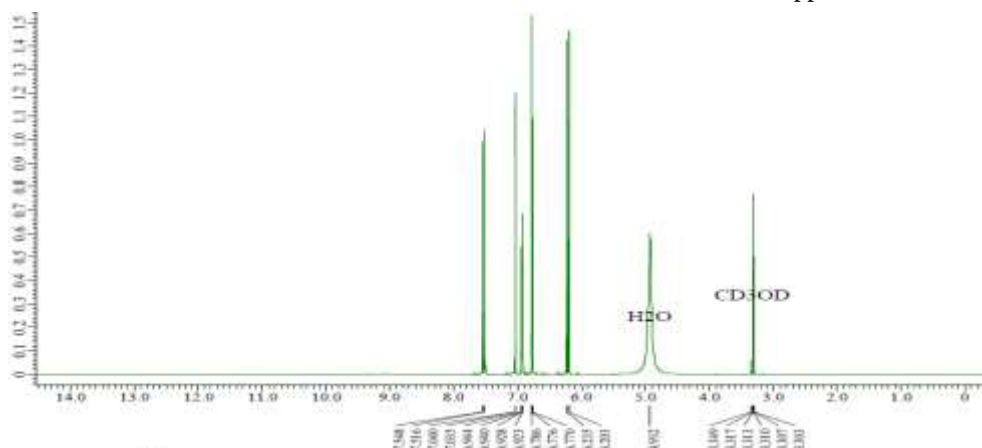
Gambar 2. Spektrum UV Senyawa D3a

Spektrum inframerah senyawa D3a diperiksa dengan menggunakan spektrofotometer FTIR (Fourier Transform Infra-Red). Analisis menggunakan FTIR memiliki keunggulan yaitu pemakaian zat dalam jumlah sedikit, preparasi yang sederhana dan memberikan informasi fingerprint senyawa dengan cepat dan akurat [20]. Senyawa D3a memberikan vibrasi yang jelas pada serapan 3434, 2991, 1644 dan 1619 cm^{-1} , yang secara berurutan diidentifikasi sebagai regangan gugus fungsi OH, CH aromatis, C=O karboksilat dan C=C aromatis [19].

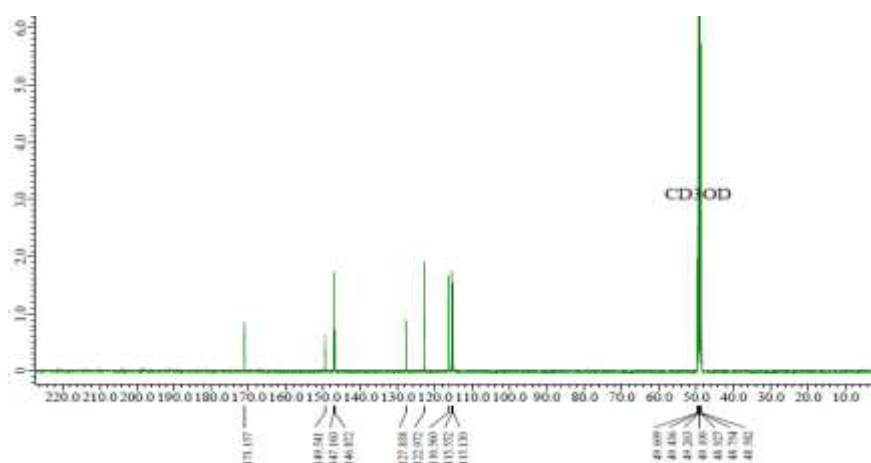


Gambar 3. Spektrum Spektrum Inframerah Senyawa D3a

Analisis fisikokimia senyawa D3a juga dilakukan dengan spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) dan LC-MS. Spektrum ^1H NMR senyawa D3a menunjukkan 5 buah sinyal pada pergeseran δ 7,532; 7,037; 6,934; 6,779; dan 6,219. Spektrum ^{13}C NMR menunjukkan adanya 9 buah atom C yaitu pada δC 115,130; 115,552; 116,560; 122,972; 127,838; 146,872; 147,160; 149,541 dan 134, 171,157 ppm.

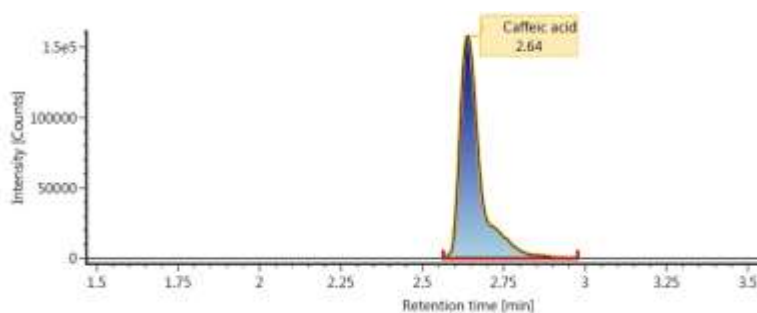


Gambar 3. Spektrum Spektrum H NMR senyawa D3a

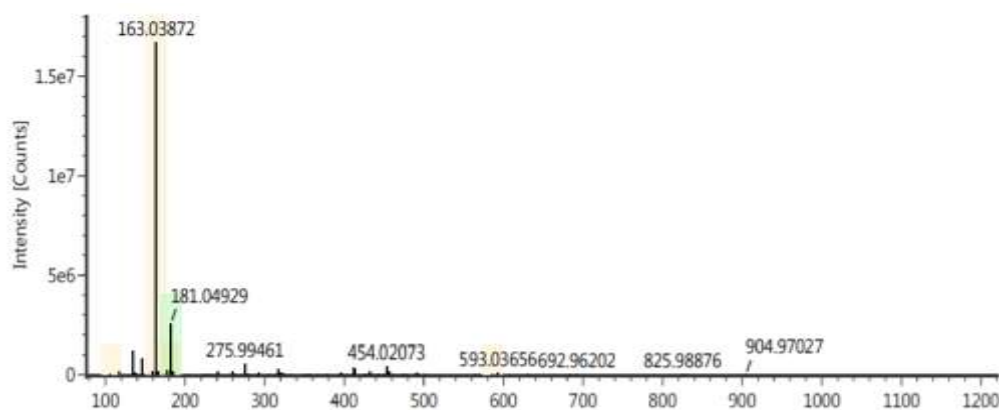


Gambar 4. Spektrum ^{13}C NMR senyawa D3a

Pada pemeriksaan LC-MS, senyawa D3a teridentifikasi sebagai asam kafeat dengan bobot molekul 180,049 dapat dilihat pada gambar 5 dan 6.



Gambar 5. Kromatogram LC-MS Senyawa D3a



Gambar 6. Spektrum massa senyawa D3a

Tabel 3. Data fragmentasi spektrum massa senyawa D3a

No	M/z	Fragmen	Keterangan
1	181,0492	C ₉ H ₈ O ₄	[M+H] ⁺
2	163,0387	C ₉ H ₇ O ₃	[M-18] ⁺
3	145,0280	C ₉ H ₅ O ₂	[M-36] ⁺
4	135,0438	C ₈ H ₇ O ₂	[M-46] ⁺

Selanjutnya senyawa D3a diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Hasil pengujian menunjukkan bahwa D3a memiliki kemampuan perangkapan radikal bebas yang sangat kuat, seperti ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas antioksidan senyawa D3a

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorban	% inhibisi	Persamaan regresi dan IC ₅₀
DPPH	50	0,635	-	-
Senyawa D3a	5	0,425	36,85	y = 2,1449x + 23,354 r = 0.9913 IC ₅₀ = 12,42 ppm
	10	0,365	42,52	
	15	0,294	53,70	
	20	0,218	65,67	
	25	0,134	78,89	
Asam galat	2	0,537	15,43	y = 4,1732 + 6,2913x r = 0.9982 IC ₅₀ = 7,28 ppm
	4	0,445	29,92	
	6	0,361	43,14	
	8	0,282	55,59	
	10	0,219	65,51	

4. PEMBAHASAN

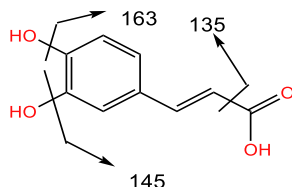
Pemisahan komponen fitokimia menggunakan resin amberlite XAD4 adalah dengan mekanisme adsorpsi yang melibatkan interaksi Van der Waals yang bersifat lemah dan mudah dipatahkan serta sinergi dengan ikatan hidrogen, elektrostatis, π - π dan interaksi hidrofobik [21]. Pada proses adsorpsi, bagian hidrofobik dari molekul adsorbat akan teradsorpsi pada permukaan polistiren dari resin, sementara bagian hidrofilik akan mengarah pada

fasa air. Komponen yang diserap sesungguhnya tidak berpenetrasi ke dalam fase microsphere tapi hanya teradsorpsi di permukaan saja [22]. Oleh karena itu, dengan sistem elusi yang tepat, komponen yang teradsorpsi, dapat dengan cepat dielusi dikarenakan kecepatan difusi yang tinggi dari fasa gerak melalui struktur pori dari setiap *beads* polimer.

Berdasarkan hasil spektrum H-NMR, pergeseran kimia proton senyawa D3a berada pada rentang 6-8 ppm yang merupakan pergeseran dari proton aromatis [23]. Sinyal pada δH 6,934 ppm terpecah menjadi *doublet of doublet* (*dd*) dengan nilai konstanta kopling $J = 2,5$ dan 8. Sinyal ini berasosiasi dengan δH 7,037 ppm (1H, d, $J = 2,5$ Hz) menunjukkan kopling meta pada daerah aromatis dan juga berasosiasi dengan sinyal pada δH 6,779 (1H, t, $J = 8$ Hz) menunjukkan kopling orto pada daerah aromatis (Chassé et al., 2011). Sinyal δH 7,532 (1H, d, $J = 16$ Hz) berasosiasi dengan sinyal δH 6,219 (1H, d, $J = 16$ Hz) dengan nilai konstanta kopling yang sama yaitu 16 Hz, artinya kedua proton ini berada pada posisi trans pada ikatan alkena [24]. Sinyal proton pada gugus hidroksi tidak terlihat pada spektrum 1H NMR karena untuk memunculkan sinyal -OH ini perlu perlakuan teknis dengan menambahkan deuterium oksida (D_2O) ke dalam larutan sampel [25].

Berdasarkan nilai pergeseran atom karbon ini, diduga terdapat karbon aromatis yang berada pada daerah δC 120 -140 ppm dan juga kemungkinan adanya karbon dari gugus alkena pada δC 110 – 140 ppm [26]. Sinyal kimia δC pada 147,160 ppm dan 149,541 ppm merupakan atom karbon aromatis yang mengalami deshielding karena berikatan dengan gugus elektronegatif yaitu hidroksil [27]. Sinyal kimia δC 115,130 ppm dan 116,560 ppm merupakan atom karbon pada cincin aromatis yang berada pada posisi orto terhadap C-OH sehingga mengalami pergeseran kimia lebih kurang -12,7 ppm dari nilai dasarnya. Sinyal δC 127,838 ppm dan 122,972 ppm merupakan karbon aromatis yang berada pada posisi meta terhadap C-OH sehingga tidak terlalu terpengaruh dengan kehadiran gugus elektronegatif (-OH). Sinyal δC 171,157 ppm merupakan sinyal dari atom karbon yang mengalami *deshielding* karena terkonyugasi dengan oksigen (dalam ikatan karboksilat) sehingga mengalami pergeseran kimia ke arah *downfield* [19].

Spektrum massa senyawa D3a dengan metode ESI (Electrospray Ionisation) menunjukkan berat molekul $181[M + H]^+$ dan teridentifikasi sebagai asam kafeat dengan rumus molekul $C_9H_8O_4$. Fragment dengan m/z 163 mengindikasikan lepasnya gugus $C_9H_7O_3$. Fragment m/z 145 mengindikasikan lepasnya gugus $C_9H_5O_2$ dan fragmen 135 mengindikasikan lepasnya gugus $C_8H_7O_2$. Pola fragmentasi dari asam kafeat dapat dilihat pada gambar 3.



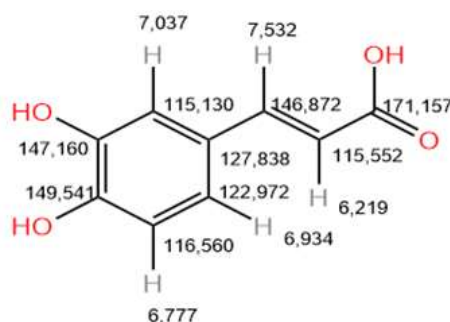
Gambar 7. Pola fragmentasi asam kafeat [28]

Berdasarkan hasil identifikasi dari LC-HRMS menunjukkan bahwa senyawa D3a adalah asam kafeat. Data fisikokimia senyawa hasil isolasi juga dibandingkan dengan asam kafeat dari referensi yang ada yang menunjukkan kesesuaian bahwa senyawa hasil isolasi adalah asam kafeat.

Tabel 3. Data spektrum 1H NMR Senyawa D3a dan dibandingkan dengan referensi

No	δH ppm senyawa D3a	δH ppm asam kafeat [19]
1	-	-
2	7,037 (1H, d, $J = 2,5$)	7,11 (1 H, d, $J = 2,0$ Hz)
3	-	-
4	-	-
5	6,777 (1H, t, $J = 8$)	6,78 (1 H, d, $J = 8,2$)
6	6,934 (1H, dd, $J = 2,5$; 8)	6,84 (1 H, dd, $J = 8.2, 2,0$ Hz)
7	7,532 (1H, d, $J = 16$)	7,55 (1 H, d, $J = 15,9$ Hz)
8	6,219 (1H, d, $J = 16$)	6,14 (1 H, d, $J = 15,9$ Hz)

Posisi atom karbon dan proton dari senyawa D3a berdasarkan referensi dari asam kafeat diperlihatkan pada gambar 8.



Gambar 8. Struktur senyawa D3a

Berdasarkan pengujian antioksidan diketahui bahwa senyawa D3a yang merupakan asam kafeat memiliki aktivitas yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan ini berkaitan erat dengan struktur kimia zat ini yaitu keberadaan gugus orto hidroksil pada cincin aromatis dan adanya delokalisasi elektron yang tidak berpasangan pada rantai samping dengan ikatan rangkap terkonjugasi. Setelah bereaksi dengan radikal bebas, asam kafeat distabilisasi oleh resonansi cincin aromatis dan pembentukan gugus ortokuinon [29].

5. KESIMPULAN

Ekstrak polar herba *E. mollis* yang dipurifikasi dengan kromatografi kolom resin dan silika mengandung fenolik total dengan kadar tinggi sebesar $618,06 \pm 3,38$ mg/g GAE. Analisa spektroskopi terhadap senyawa hasil isolasi D3a menunjukkan karakteristik spektrum UV pada 314 nm, spektrum IR yang mengindikasikan adanya gugus –OH, C-H aromatis, C=O karboksilat, dan C=C aromatis, serta data NMR menunjukkan adanya 5 proton dan 9 karbon. Hasil LC-MS memberikan informasi berat molekul 180,049 yang merujuk kepada asam kafeat. Senyawa D3a memiliki nilai IC_{50} sebesar 12,42 ppm dengan aktivitas antioksidan yang sangat kuat sehingga dapat disimpulkan bahwa asam kafeat merupakan komponen aktif dalam ekstrak polar *E. mollis* yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Yayasan Perintis Padang yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Sukmadani Rusdi and M. Rifqi Efendi, "Pharmacological activity of *Elephantopus mollis* Kunth: A review," *J. Basic Appl. Pharmacol.*, vol. 1, no. 1, pp. 72–87, 2021, [Online]. Available: <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/JBAP>
- [2] T. T. Bich Ngoc, N. T. Hoai Nga, N. T. My Trinh, T. L. Thuoc, and D. T. Phuong Thao, "Elephantopus mollis Kunth extracts induce antiproliferation and apoptosis in human lung cancer and myeloid leukemia cells," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 263, no. February, p. 113222, 2020, doi: 10.1016/j.jep.2020.113222.
- [3] D. T. Phan and P. T. H. Nguyen, "Acute Toxicity and Liver Protective Effects of *Elephantopus mollis* H.B.K.," *Trop. J. Nat. Prod. Res.*, vol. 5, no. 3, pp. 559–563, 2021.
- [4] P. N.T.H., H. P.T., D. P.T., N. N.T.T., and K. D.T., "Acute toxicity, antibacterial and antioxidant abilities of *Elephantopus mollis* H.B.K. and *Elephantopus scaber* L.," *Can Tho Univ. J. Sci.*, vol. Vol.12(2), no. January, p. 9, 2020, doi: 10.22144/ctu.jen.2020.010.
- [5] Z. N. Wu *et al.*, "Sesquiterpene lactones from *Elephantopus mollis* and their anti-inflammatory activities," *Phytochemistry*, vol. 137, pp. 81–86, 2017, doi: 10.1016/j.phytochem.2017.01.020.
- [6] H. Li *et al.*, "EM23, a natural sesquiterpene lactone from *Elephantopus mollis*, induces apoptosis in human myeloid leukemia cells through thioredoxin- and reactive oxygen species-mediated signaling pathways," *Front. Pharmacol.*, vol. 7, no. MAR, pp. 1–15, 2016, doi: 10.3389/fphar.2016.00077.
- [7] J. Yang *et al.*, "EM-2 inhibited autophagy and promoted G2/M phase arrest and apoptosis by activating

- the JNK pathway in hepatocellular carcinoma cells,” *Acta Pharmacol. Sin.*, vol. 42, no. 7, pp. 1139–1149, 2021, doi: 10.1038/s41401-020-00564-6.
- [8] D. N. Olennikov and N. K. Chirikova, “Phenolic Compounds of Six Unexplored Asteraceae Species from Asia: Comparison of Wild and Cultivated Plants,” *Horticulturae*, vol. 10, no. 5, pp. 1–23, 2024, doi: 10.3390/horticulturae10050486.
- [9] A. Zeb, “Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods,” *J. Food Biochem.*, vol. 44, no. 9, pp. 1–22, 2020, doi: 10.1111/jfbc.13394.
- [10] N. Kumar and N. Goel, “Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications,” *Biotechnol. Reports*, vol. 24, p. e00370, 2019, doi: 10.1016/j.btre.2019.e00370.
- [11] V. Vewawati, A. Almahdy, F. Febriyenti, and P. D. Putra, “In Vitro and In Vivo Evaluation of Photoprotective Effect of Elephantopus mollis Extracts,” *Trop J Nat Prod Res*, vol. 6, no. 3, pp. 365–370, 2022, [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Oladipo-Olaniyi/publication/357648838_Tropical_Journal_of_Natural_Product_Research_Original_Research_Article_Enhanced_Production_Purification_and_Characterization_of_Pectinase_from_AspERGillus_flavus/links/61d7fb09e669
- [12] G. T. M. Bitchagno *et al.*, “Lc-tof-esi-ms patterns of hirsutinolide-like sesquiterpenoids present in the elephantopus mollis kunth extract and chemophenetic significance of its chemical constituents,” *Molecules*, vol. 26, no. 16, pp. 1–12, 2021, doi: 10.3390/molecules26164810.
- [13] K. Chen, H. Lyu, S. Hao, G. Luo, S. Zhang, and J. Chen, “Separation of phenolic compounds with modified adsorption resin from aqueous phase products of hydrothermal liquefaction of rice straw,” *Bioresour. Technol.*, vol. 182, pp. 160–168, 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2015.01.124.
- [14] N. Siddiqui, A. Rauf, A. Latif, and Z. Mahmood, “Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa (Nepeta bracteata Benth),” *J. Taibah Univ. Med. Sci.*, vol. 12, no. 4, pp. 360–363, 2017, doi: 10.1016/j.jtumed.2016.11.006.
- [15] C. Wang *et al.*, “Influence of Solvent Selection on the Crystallizability and Polymorphic Selectivity Associated with the Formation of the ‘Disappeared’ Form I Polymorph of Ritonavir,” *Mol. Pharm.*, vol. 21, no. 7, pp. 3525–3539, 2024, doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.4c00234.
- [16] R. Abu Khalaf, A. A. Alhusban, E. Al-Shalabi, I. Al-Sheikh, and D. A. Sabbah, *Isolation and structure elucidation of bioactive polyphenols*, 1st ed., vol. 63. Elsevier Inc., 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-817901-7.00010-1.
- [17] J. Rohmah, “Antioxidant Activities Using DPPH, FIC, FRAP, AND ABTS Methods from Ethanolic Extract of Lempuyang Gajah Rhizome (Zingiber zerumbet (L.) Roscoeex Sm.),” *J. Kim. Ris.*, vol. 7, no. 2, pp. 152–166, 2022, doi: 10.20473/jkr.v7i2.34493.
- [18] L. Campone, R. Celano, S. Rizzo, A. L. Piccinelli, L. Rastrelli, and M. Russo, “Development of an Enriched Polyphenol (Natural Antioxidant) Extract from Orange Juice (Citrus sinensis) by Adsorption on Macroporous Resins,” *J. Food Qual.*, vol. 2020, 2020, doi: 10.1155/2020/1251957.
- [19] J. Tosovic, “Spectroscopic features of caffeic acid: Theoretical study,” *Kragujev. J. Sci.*, vol. 39, no. 39, pp. 99–108, 2017, doi: 10.5937/kgjsci1739099t.
- [20] J. Bell, P. Nel, and B. Stuart, “Non-invasive identification of polymers in cultural heritage collections: evaluation, optimisation and application of portable FTIR (ATR and external reflectance) spectroscopy to three-dimensional polymer-based objects,” *Herit. Sci.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–18, 2019, doi: 10.1186/s40494-019-0336-0.
- [21] V. Raks, H. Al-Suod, and B. Buszewski, “Isolation, Separation, and Preconcentration of Biologically Active Compounds from Plant Matrices by Extraction Techniques,” *Chromatographia*, vol. 81, no. 2, pp. 189–202, 2018, doi: 10.1007/s10337-017-3405-0.
- [22] H. Rho, K. Chon, J. Park, and J. Cho, “Rapid and effective isolation of dissolved organic matter using solid-phase extraction cartridges packed with amberlite XAD 8/4 resins,” *Water (Switzerland)*, vol. 11, no. 1, 2019, doi: 10.3390/w11010067.
- [23] W. Dong, Q. Zhao, J. Zhao, J. Zhang, Y. Wang, and Y. Qiao, “Qualitative analysis of aromatic compounds via 1D TOCSY techniques,” *Magn. Reson. Lett.*, vol. 4, no. 1, p. 100091, 2024, doi: 10.1016/j.mrl.2023.11.003.
- [24] R. Gunawan and A. B. D. Nandiyanto, “How to read and interpret 1h-nmr and 13c-nmr spectrums,” *Indones. J. Sci. Technol.*, vol. 6, no. 2, pp. 267–298, 2021, doi: 10.17509/ijost.v6i2.34189.
- [25] S. Tassoti, M. Walenta, A. Pöcheim, K. Buchberger, O. Kunert, and K. Zangger, “Solvent-independent determination of heteroatom protonation states from NMR spectra by differential deuterium isotope shifts,” *Analyst*, vol. 144, no. 24, pp. 7463–7467, 2019, doi: 10.1039/c9an01364d.
- [26] P. K. Agrawal and G. Blunden, “Methoxy 13C NMR Chemical Shift as a Molecular Descriptor in the

- Structural Analysis of Flavonoids and Other Phenolic Compounds,” *Nat. Prod. Commun.*, vol. 18, no. 6, 2023, doi: 10.1177/1934578X231171002.
- [27] A. Ehnbohm, M. B. Hall, and J. A. Gladysz, “Origin of Shielding and Deshielding Effects in NMR Spectra of Organic Conjugated Polyynes,” *Org. Lett.*, vol. 21, no. 3, pp. 753–757, 2019, doi: 10.1021/acs.orglett.8b03990.
- [28] J. Yuan, Y. Wang, S. Mi, J. Zhang, and Y. Sun, “Rapid screening and characterization of caffeic acid metabolites in rats by UHPLC-Q-TOF mass spectrometry,” *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 20, no. 2, pp. 389–401, 2021, doi: 10.4314/tjpr.v20i2.25.
- [29] F. A. Khan, A. Maalik, and G. Murtaza, “Inhibitory mechanism against oxidative stress of caffeic acid,” *J. Food Drug Anal.*, vol. 24, no. 4, pp. 695–702, 2016, doi: 10.1016/j.jfda.2016.05.003.