

## **Pengaruh Purifikasi *n*-Heksana pada Serbuk Simplisia terhadap Kadar Asiatikosida, Penangkapan Radikal Bebas dan Kadar Fenol Total Ekstrak Etanolik Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)**

### **(The Effect of Simplex Powder *n*-Hexane Purification on Asiaticoside Content, Free Radical Scavenging and Total Phenolic Content of Gotu Kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) Ethanolic Extract )**

AGATHA BUDI SUSIANA LESTARI<sup>1,2</sup>, ACHMAD FUDHOLI<sup>3\*</sup>,  
AKHMAD KHARIS NUGROHO<sup>3</sup>, ERNA PRAWITA SETYOWATI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi S3 Ilmu Farmasi Universitas Gadjah Mada.

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Kampus III, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta.

<sup>3</sup>Bagian Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta.

<sup>4</sup>Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta.

Diterima 9 September 2014, Disetujui 12 Maret 2015

**Abstrak:** Pegagan atau kaki kuda (*Centella asiatica* (L.) Urban) sudah dibuktikan secara *in vitro* memiliki kemampuan antioksidan yang memungkinkan untuk dimanfaatkan dalam upaya pencegahan penyakit degeneratif. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat apakah adanya purifikasi *n*-heksana sebelum proses maserasi akan mempengaruhi kadar asiatikosida yang tersari, kemampuan penangkapan radikal bebas dan kadar fenol total ekstrak etanolik herba pegagan. Ekstrak herba pegagan dihasilkan dari proses maserasi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan proporsi yang berbeda-beda, yaitu 100%:0% (E100), 75%:25% (E75), 50%:50% (E50), 25%:75% (E25), dan 0%:100% (E0). Penetapan kadar asiatikosida dalam ekstrak herba pegagan yang dihasilkan ditentukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri, kemampuan penangkapan radikal bebas ditetapkan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> dengan menggunakan *diphenylpicryl hydrazyl* (DPPH), dan kadar fenol total ditetapkan berdasarkan ekivalensi terhadap asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa adanya perlakuan purifikasi *n*-heksana dapat membantu meningkatkan kadar fenol total secara bermakna ketika herba pegagan dimaserasi menggunakan pelarut campuran etanol-air dengan perbandingan 75%:25% (E75), 50%:50% (E50), dan 25%:75% (E25), namun tidak signifikan dalam menurunkan nilai IC<sub>50</sub>. Secara statistik adanya purifikasi *n*-heksana juga tidak signifikan dalam meningkatkan kadar asiatikosida tersari dalam ekstrak etanolik herba pegagan yang dihasilkan.

**Kata kunci:** Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban), purifikasi *n*-heksana, ekstrak etanolik, asiatikosida, penangkapan radikal bebas, kadar fenol total.

**Abstract:** It has been proven that gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) have an antioxidant activity that make it possible to use in preventing degenerative illness. The aims of this study are to find the effect of *n*-hexane purification before maceration on asiaticoside content, free radical scavenging activity and total phenolic content of gotu kola ethanolic extract. The gotu kola extract was made by maceration process using the mix of ethanol and aquadest as solvents in different proportion, which are 100%:0% (E100), 75%:25% (E75), 50%:50% (E50), 25%:75% (E25), and 0%:100% (E0). The determination of

\* Penulis korespondensi, Hp. 08164220357  
e-mail: fudholiugm@yahoo.com

asiaticoside content in gotu kola ethanolic extract was measured using Thin Layer Chromatography (TLC) Densitometry method, free radical scavenging activity was measured using diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) and defined by parameter of  $IC_{50}$ , and total phenolic content was defined by equivalency of galic acid using Folin-Ciocalteu. The results show that the hexane purification would increasing total phenolic content significantly in ethanolic extract which extracted with solvents in proportion of ethanol:aquades 75%:25% (E75), 50%:50% (E50), and 25%:75% (E25), but not significant in decreasing of  $IC_{50}$ . Statistically, *n*-hexane purification was also not significant to increasing asiaticoside content in gotu kola ethanolic extract.

**Keywords:** Gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban), *n*-hexane purification, ethanolic extract, asiaticoside, free radical scavenging, total phenolic content.

## PENDAHULUAN

*BACK to nature* saat ini menjadi kebiasaan yang kembali menjadi kecenderungan di masyarakat, termasuk dalam bidang kesehatan. Upaya pemeliharaan kesehatan maupun pengobatan dengan menggunakan bahan alam kembali menjadi pilihan masyarakat, karena dipercaya bahwa obat bahan alam memiliki efek samping yang relatif lebih ringan dibandingkan dengan obat sintetik. Hal ini mendorong eksplorasi dan penelitian yang mendalam dari berbagai bahan alam, diantaranya adalah pegagan atau kaki kuda (*Centella asiatica* (L.) Urban). Dalam bidang fitoterapi, pegagan dinyatakan dapat memberikan efek farmakologi, seperti misalnya *wound healing*, *mental disorders*, fungisidal, antibakteri, antioksidan, dan aterosklerosis<sup>(1)</sup>. Ekstrak herba pegagan sudah dibuktikan memiliki banyak manfaat, salah satu diantaranya adalah sebagai antioksidan, dan diantara seluruh bagian tanaman herba pegagan, bagian akar memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi<sup>(2)</sup>. Komponen utama *Centella asiatica* dan sekaligus digunakan sebagai *marker constituent* dalam hal kontrol kualitas adalah triterpen, termasuk didalamnya adalah asiaticosida, yang diduga bertanggung jawab dalam memberikan efek *wound healing*, *brain stimulating*, *venous hypertension* dan mikroangiopati, *gastric ulcer*, dan anti kanker. Pegagan juga memiliki kandungan flavonoid seperti kuersetin, kamferol, katekin, rutin yang diduga berperan terhadap aktivitas antioksidan<sup>(1)</sup>.

Untuk mendapatkan ekstrak herba pegagan yang memenuhi persyaratan kualitas, maka proses ekstraksi dengan pelarut yang sesuai harus diperhatikan. Tidak jarang dalam proses ekstraksi dilakukan tahap purifikasi terlebih dahulu untuk mendapatkan ekstrak dengan kandungan senyawa aktif yang tinggi. Dalam proses penyarian ditetapkan bahwa sebagai cairan penyari yang umum digunakan adalah air, etanol, campuran air-etanol, atau eter<sup>(3)</sup>. Pernah dilaporkan bahwa etanol 70% merupakan pelarut yang paling banyak menyari asiaticosida dari herba pegagan dengan cara maserasi, jika dibandingkan dengan

pelarut air, etanol 30%, dan etanol 50%<sup>(4)</sup>. Suhu yang digunakan pada proses maserasi juga perlu diperhatikan. Dalam suatu penelitian, dilaporkan bahwa suhu maserasi 40 dan 50°C tidak banyak berpengaruh terhadap kandungan asiaticosida yang tersari<sup>(5)</sup>.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat apakah purifikasi *n*-heksana sebelum maserasi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan proporsi berbeda akan mempengaruhi kualitas ekstrak herba pegagan yang dihasilkan. Kontrol kualitas ekstrak yang dihasilkan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan kadar asiaticosida yang tersari, kemampuan penangkapan radikal bebas menggunakan *diphenylpicryl hydrazyl* (DPPH), dan kadar fenol total. Kadar asiaticosida tersari dalam ekstrak ditetapkan berdasarkan acuan monografi<sup>(6)</sup> dengan modifikasi. Untuk mengukur kemampuan penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*), digunakan parameter  $IC_{50}$  (*inhibition concentration 50*) yang menyatakan konsentrasi ekstrak herba pegagan yang dibutuhkan untuk menangkap radikal bebas dari DPPH sebesar 50%<sup>(7)</sup>. Kadar fenol total ditentukan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu, dan dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat<sup>(8)</sup>. Parameter penangkapan radikal bebas dan kadar fenol total digunakan untuk memprediksi potensi antioksidan dari ekstrak herba pegagan.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Simplisia herba pegagan diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, etanol 96% (teknis, Brataco), etanol absolut (*p.a.*, E. Merck), aquades, metanol (*p.a.*, E. Merck), *diphenylpicryl hydrazyl* (DPPH), asam galat, *n*-heksana (*p.a.* Merck), kloroform (*p.a.*, E. Merck), natrium karbonat, standar baku asiaticosida (Sigma Aldrich cat. 43191), pereaksi Liebermann-Burchard, Folin-Ciocalteu, TLC plate silika gel 60 F<sub>254</sub> *precoated* (E. Merck).

**METODE.** Pembuatan Serbuk Simplisia.

Simplisia kering herba pegagan yang diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu diserbuk dengan menggunakan *grinder* (mesin penyerbuk) selanjutnya diayak sehingga diperoleh serbuk simplisia dengan ukuran 12/40. Kemudian serbuk disimpan dalam wadah tertutup rapat agar terlindungi dari masuknya debu maupun partikel lain.

**Ekstraksi Herba Pegagan.** Terdapat dua kelompok ekstrak, yaitu ekstrak yang mengalami purifikasi *n*-heksana terlebih dahulu sebelum maserasi (PH) dan ekstrak tanpa purifikasi *n*-heksana (non PH). Serbuk herba pegagan yang sudah diayak dengan derajat halus 12/40 diekstraksi dengan menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan proporsi berbeda, yaitu 100%:0%, 75%:25%, 50%:50%, 25%:75% dan 0%:100%. Satu bagian serbuk kering herba pegagan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer, ditambahkan 10 bagian pelarut dan maserator dijalankan selama 24 jam dengan kecepatan 175-178 rpm. Maserat dipisahkan dan proses maserasi diulang (remaserasi) dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Untuk serbuk yang dipurifikasi *n*-heksana terlebih dahulu, sebelum diekstraksi dengan pelarut etanol:air, serbuk dikeringkan sampai tidak lagi tercium bau pelarut *n*-heksana. Kemudian dilakukan maserasi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan perbandingan seperti pada Tabel 1. Semua

maserat yang diperoleh dari 2x maserasi dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum (*vacuum rotary evaporator*) hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap.

**Penetapan Kadar Asiatikosida.** Larutan uji ekstrak dibuat dengan menimbang seksama lebih kurang 50 mg ekstrak etanolik yang sudah dikentalkan hingga bobot tetap, dilarutkan dalam 10 mL etanol absolut p.a dalam labu ukur. Larutan standar asiaticosida dibuat dengan konsentrasi 1 mg/mL dalam etanol absolut p.a. Pengukuran dilakukan dengan cara totolkan masing-masing 50  $\mu$ L larutan uji ekstrak dan 1,2,3,4,5,6,7,8  $\mu$ L larutan standar asiaticosida pada lempeng silika gel 60 F<sub>254</sub>, kemudian dikembangkan dalam fase gerak kloroform:metanol:air (65:25:4 v/v/v), disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard LP, dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 10 menit dan segera diukur dengan KLT-densitometri pada  $\lambda$  506 nm.

**Penetapan Kadar Fenol Total.** Tahap ini diawali dengan pembuatan kurva baku asam galat, reagen Folin-Ciocalteu yang telah diencerkan dengan aquades, dan pembuatan larutan stok ekstrak herba pegagan dengan konsentrasi 2 mg/ml dalam pelarut metanol p.a. Kurva baku asam galat dibuat dengan konsentrasi 0,04; 0,06; 0,08; 0,10; dan 0,12 mg/ml dalam pelarut campuran aquades:metanol p.a (1:1).

**Tabel 1. Proporsi (%) komposisi etanol:air pada proses ekstraksi herba pegagan.**

Kelompok Ekstrak	Kode Ekstrak	Perbandingan Pelarut		Keterangan
		Etanol (%)	Air (%)	
Non PH	E100	100	0	Ekstrak tidak mengalami purifikasi heksana, langsung maserasi
	E75	75	25	
	E50	50	50	
	E25	25	75	
	E0	0	100	
PH	E100	100	0	Ekstrak mengalami purifikasi heksana sebelum maserasi
	E75	75	25	
	E50	50	50	
	E25	25	75	
	E0	0	100	

Keterangan: Non PH=ekstrak tanpa purifikasi heksana, PH =ekstrak dengan purifikasi heksana.

Pengukuran diawali dengan penetapan panjang gelombang maksimum dan *operating time*. Kadar fenol total dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak herba pegagan.

**Penetapan Kemampuan Penangkapan Radikal Bebas.** Tahap ini diawali dengan pembuatan larutan DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM dalam pelarut metanol p.a, dan pembuatan larutan stok ekstrak herba pegagan dengan konsentrasi 2 mg/ml dalam pelarut metanol p.a. Larutan stok ini kemudian diencerkan dan dibuat seri pengukuran baku untuk masing-masing kelompok ekstrak (perlu diperhatikan

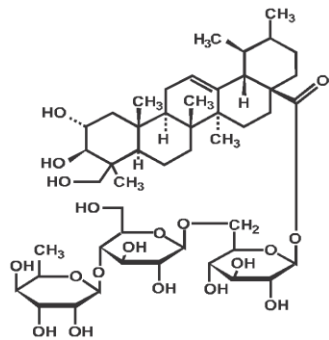
bahwa ekstrak etanolik herba pegagan ini memiliki karakteristik yang berbeda, sehingga seri baku untuk masing-masing ekstrak juga berbeda). Pengukuran diawali dengan penetapan panjang gelombang maksimum dan *operating time*, dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi larutan DPPH sebagai kontrol, kemudian larutan uji ekstrak. Perhitungan kemampuan penangkapan radikal DPPH dinyatakan dengan %IC dihitung dengan persamaan:

$$\frac{\text{Absorbansi larutan kontrol DPPH} - \text{Absorbansi larutan uji ekstrak}}{\text{Absorbansi larutan kontrol DPPH}} \times 100\%$$

Data tersebut dianalisis dan dihitung nilai  $IC_{50}$  menggunakan persamaan regresi linier dengan sumbu x adalah konsentrasi larutan uji, sedangkan sumbu y adalah %IC.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Triterpen merupakan komponen utama dan paling penting dalam pegagan dan sekaligus digunakan sebagai *marker constituent* dalam hal kontrol kualitas. Triterpen pentasiklik yang banyak ditemukan dalam pegagan adalah asiaticosida (Gambar 1), yang merupakan trisakarida yang berikatan dengan aglikon asam asiatic. Dengan adanya struktur glikon dan aglikon membuat asiaticosida memiliki sifat kelarutan tertentu sehingga diharapkan dapat tersari cukup banyak pada saat proses maserasi menggunakan



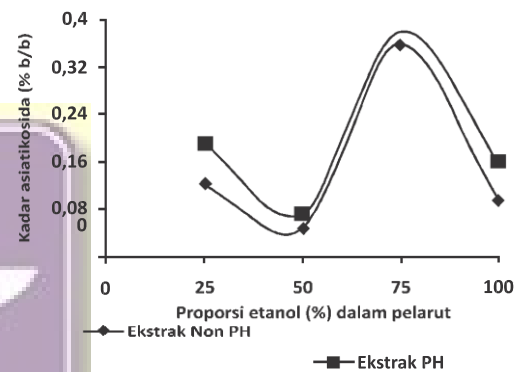
Gambar 1. Struktur asiaticosida<sup>(6)</sup>.

pelarut etanol:air. Campuran pelarut etanol-air dengan presentase tertentu akan menghasilkan polaritas tertentu, sehingga dapat menarik senyawa kimia dalam tanaman yang memiliki kesamaan sifat polaritas dengan pelarut tersebut.

**Penetapan Kadar Asiaticosida.** Teknik KLT dapat digunakan untuk mendeteksi secara kualitatif maupun kuantitatif keberadaan asiaticosida dalam sampel ekstrak. Sebagai fase diam digunakan silika

gel 60 F<sub>254</sub> yang bersifat polar, sedangkan sebagai fase gerak digunakan campuran kloroform:metanol:air (65:25:4 v/v/v) yang bersifat lebih non polar, sehingga dapat melulusi asiaticosida dan memisahkan bercak asiaticosida dengan bercak komponen lainnya.

Data yang tertera pada Tabel 2 menunjukkan kadar asiaticosida untuk masing-masing kelompok ekstrak setelah diekstraksi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan prosentase berbeda, berikut grafiknya seperti tercantum pada Gambar 2. Secara umum terlihat bahwa adanya purifikasi *n*-heksana akan meningkatkan kadar asiaticosida dalam ekstrak herba pegagan yang dihasilkan. Adanya purifikasi *n*-heksana akan membantu menghilangkan kandungan senyawa yang bersifat nonpolar kuat di dalam tanaman, sehingga ketika dimaserasi dengan



Gambar 2. Grafik komposisi pelarut vs kadar asiaticosida ekstrak herba pegagan.

pelarut campuran etanol:air yang cenderung bersifat semi polar, maka dapat menarik lebih banyak zat-zat di dalam herba pegagan yang memiliki polaritas yang sama, dalam hal ini digunakan asiaticosida sebagai *marker constituent*.

Meskipun data menunjukkan adanya peningkatan kadar asiaticosida, namun setelah diolah secara statistik, terlihat bahwa adanya purifikasi *n*-heksana tidak akan berpengaruh secara signifikan terhadap

Tabel 2. Kadar asiaticosida (% b/b) dalam ekstrak kental herba pegagan.

Kode ekstrak	Kadar asiaticosida dalam ekstrak (% b/b)		Hasil uji statistik	Keterangan
	Non PH	PH		
E100	0,094±0,092	0,161±0,095	p = 0,432 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (0,761) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E75	0,360±0,065	0,384±0,087	p = 0,724 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (0,144) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E50	0,047±0,029	0,069±0,030	p = 0,400 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (0,884) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E25	0,122±0,072	0,191±0,083	p = 0,340 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (1,171) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E0	n.a.	n.a.	-	-

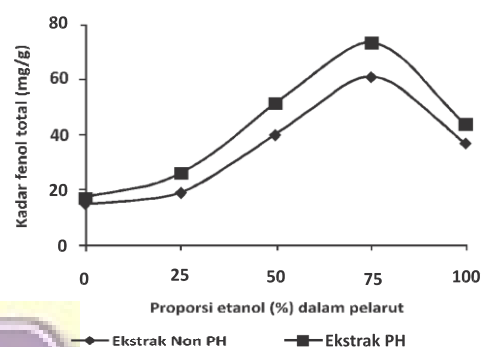
Keterangan: Non PH=ekstrak tanpa purifikasi heksana, PH =ekstrak dengan purifikasi heksana, n.a.=not available.

kadar asiaticosida dari ekstrak herba pegagan yang dihasilkan dari maserasi dengan pelarut etanol:air dengan perbandingan 100%:0% (E100), 75%:25% (E75), 50%:50% (E50), dan 25%:75% (E25). Berdasarkan data di Tabel 2 terdapat kecenderungan yang sama, yaitu ekstrak herba pegagan yang dihasilkan dari maserasi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan perbandingan 75%:25% (E75) memiliki kandungan asiaticosida yang paling besar, di atas 0,35%, jika dibandingkan dengan ekstrak E100, E50, E25. Dilihat dari struktur kimianya, asiaticosida memiliki komponen glikon yang cenderung bersifat polar, dan aglikon yang cenderung bersifat non polar, sehingga ketika dimaserasi dengan pelarut etanol:air dengan perbandingan 100%:0% (E100) hanya dapat menyari asiaticosida kurang lebih 0,1%, karena sistem pelarut yang digunakan cenderung bersifat non polar. Semakin tinggi proporsi etanol dalam sistem pelarut tidak menjamin akan diperoleh asiaticosida yang semakin banyak pula. Di sisi lain, ketika dimaserasi menggunakan pelarut etanol:air dengan perbandingan 25%:75% (E25) dimana komposisi air lebih banyak dibanding etanol, sehingga sistem pelarut bersifat lebih polar, juga tidak dapat menarik asiaticosida dalam jumlah banyak. Tidak tersedia data kadar asiaticosida untuk ekstrak E0, dimungkinkan asiaticosida yang tersari di dalam ekstrak E0 sedemikian kecilnya, sehingga tidak dapat terdeteksi dengan metode penetapan kadar yang digunakan dalam penelitian ini.

**Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Kental Herba Pegagan.** Secara umum, semakin tinggi kandungan fenolik dalam suatu ekstrak tanaman, maka kemungkinan potensi antioksidan yang dimiliki akan semakin besar pula. Hal ini berdasarkan pada kemampuan senyawa fenolik tersebut untuk mereduksi adanya radikal bebas sehingga radikal menjadi stabil. Dalam penelitian ini penetapan kadar fenol total dalam ekstrak herba pegagan dilakukan dengan metode spektrofometri menggunakan reagen

Folin-Ciocalteu. Jika ekstrak mengandung senyawa fenolik, maka dalam medium alkali akan terjadi oksidasi dengan molibdenum dan tungsten fosfat membentuk senyawa kompleks berwarna biru<sup>(9)</sup>.

Data yang tertera pada Tabel 3 menunjukkan kadar fenol total untuk masing-masing kelompok ekstrak setelah diekstraksi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan presentase berbeda, berikut grafiknya seperti tercantum pada Gambar



Gambar 3. Grafik komposisi pelarut vs kadar fenol total ekstrak herba pegagan.

3. Secara umum terlihat bahwa adanya purifikasi *n*-heksana akan meningkatkan kadar fenol total dalam ekstrak herba pegagan yang dihasilkan, dengan demikian potensi antioksidan ekstrak herba pegagan juga akan meningkat. Melalui purifikasi *n*-heksana dapat membantu mengurangi senyawa-senyawa yang bersifat non polar, sehingga ketika diekstraksi menggunakan pelarut etanol-air, dapat menyari lebih banyak senyawa fenolik. Terdapat kecenderungan yang sama, yaitu semakin tinggi proporsi etanol dalam campuran pelarut sampai dengan 75%, maka fenol total yang tersari dalam ekstrak akan semakin tinggi. Ketika proporsi etanol dalam campuran pelarut melebihi 75%, maka tidak akan meningkatkan fenol total yang tersari, sebaliknya malah akan menurunkan. Dalam penelitian ini, ekstrak herba pegagan yang

Tabel 3. Kadar fenol total (mg/g) ekstrak kental herba pegagan.

Kode ekstrak	Kadar fenol total dalam ekstrak (mg/g)		Hasil uji statistik	Keterangan
	Non PH	PH		
E100	36,817±7,657	43,477±2,219	p = 0,221 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (2,093) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E75	60,958±0,797	73,346±2,749	p = 0,002 (<0,05) F <sub>hitung</sub> (56,170) > F <sub>tabel</sub> (7,709)	Berbeda bermakna
E50	39,771±4,636	50,723±3,850	p = 0,035 (<0,05) F <sub>hitung</sub> (9,905) > F <sub>tabel</sub> (7,709)	Berbeda bermakna
E25	19,202±1,135	25,912±2,115	p = 0,008 (<0,05) F <sub>hitung</sub> (23,422) > F <sub>tabel</sub> (7,709)	Berbeda bermakna
E0	14,813±1,225	16,601±0,301	p = 0,070 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (6,022) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna

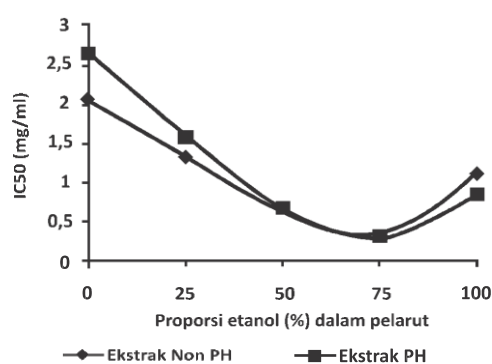
Tabel 4. Nilai IC<sub>50</sub> (mg/mL) ekstrak kental herba pegagan.

Kode ekstrak	IC <sub>50</sub> dalam ekstrak (mg/mL)		Hasil uji statistik	Keterangan
	Non PH	PH		
E100	1,116±0,039	0,842±0,049	p = 0,002 (<0,05) F <sub>hitung</sub> (56,562) > F <sub>tabel</sub> (7,709)	Berbeda bermakna
E75	0,327±0,045	0,293±0,036	p = 0,369 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (1,021) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E50	0,652±0,020	0,661±0,061	p = 0,808 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (0,067) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E25	1,325±0,038	1,574±0,239	p = 0,149 (>0,05) F <sub>hitung</sub> (3,178) < F <sub>tabel</sub> (7,709)	Tidak berbeda bermakna
E0	2,057±0,143	2,636±0,147	p = 0,008 (<0,05) F <sub>hitung</sub> (23,687) > F <sub>tabel</sub> (7,709)	Berbeda bermakna

dihasilkan dari maserasi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan perbandingan 75%:25% (E75) memiliki kadar fenol total yang paling besar dibandingkan dengan ekstrak E100, E50, E25 dan E0.

Secara statistik, terlihat bahwa adanya purifikasi *n*-heksana tidak akan berpengaruh terhadap kadar fenol total ekstrak herba pegagan yang dihasilkan dari maserasi dengan pelarut etanol-air dengan perbandingan 100%:0% (E100) dan 0%:100% (E0). Sebaliknya, purifikasi *n*-heksana akan memberikan perbedaan bermakna terhadap kadar fenol total untuk ekstrak E75, E50 dan E25.

**Penetapan Penangkapan radikal bebas Ekstrak Kental Herba Pegagan.** Data yang tertera pada Tabel 4 menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> untuk masing-masing kelompok ekstrak setelah diekstraksi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan presentase berbeda, berikut grafiknya seperti tercantum pada Gambar 4. Terdapat kecenderungan yang sama, yaitu semakin tinggi proporsi etanol dalam campuran pelarut sampai dengan 75%, maka akan menurunkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak pegagan yang dihasilkan. Ketika proporsi etanol dalam campuran pelarut melebihi 75%, maka tidak akan menurunkan nilai IC<sub>50</sub>, sebaliknya malah akan meningkatkan. Dalam penelitian ini, ekstrak herba pegagan yang dihasilkan dari maserasi



Gambar 4. Grafik Komposisi Pelarut vs Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Herba Pegagan.

menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan perbandingan 75%:25% (E75) memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang paling kecil. Adanya penurunan nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan kemampuan ekstrak herba pegagan dalam penangkapan radikal bebas DPPH akan semakin besar, karena untuk mengurangi radikal DPPH sebanyak 50% dibutuhkan ekstrak herba pegagan yang semakin sedikit. Dengan demikian ekstrak tersebut memiliki potensi antioksidan yang semakin besar.

Secara statistik, terlihat bahwa adanya purifikasi *n*-heksana tidak akan berpengaruh terhadap nilai IC<sub>50</sub> ekstrak herba pegagan yang dihasilkan dari maserasi dengan pelarut etanol-air dengan perbandingan 75%:25% (E75), 50%:50% (E50), dan 25%:75% (E25). Sebaliknya, purifikasi *n*-heksana akan memberikan perbedaan bermakna terhadap nilai IC<sub>50</sub> untuk ekstrak E100 dan E0.

## SIMPULAN

Adanya perlakuan purifikasi *n*-heksana dapat membantu meningkatkan kadar fenol total secara bermakna ketika herba pegagan dimaserasi menggunakan pelarut campuran etanol:air dengan perbandingan 75%:25% (E75), 50%:50% (E50), dan 25%:75% (E25), namun tidak signifikan dalam menurunkan nilai IC<sub>50</sub>. Secara statistik purifikasi *n*-heksana juga tidak signifikan dalam meningkatkan kadar asiatikosida tersari dalam ekstrak etanolik herba pegagan yang dihasilkan. Ekstrak herba pegagan hasil proses maserasi dengan pelarut campuran etanol:air dengan perbandingan 75%:25% (E75) memiliki kandungan asiatikosida, kadar fenol total dan kemampuan menangkap radikal bebas yang paling tinggi, jika dibandingkan dengan ekstrak yang dihasilkan dari maserasi dengan pelarut campuran etanol:air dengan perbandingan 100%:0% (E100), 50%:50% (E50), 25%:75% (E25), and 0%:100% (E0).

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, melalui Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah memberikan bantuan dana pendidikan dan penelitian disertasi studi lanjut S-3 melalui jalur BPPS Tahun 2012 dan jalur Hibah Penelitian Disertasi Doktor Tahun 2015, serta kepada Yayasan Sanata Dharma, yang telah membantu memberikan dukungan dana penelitian disertasi.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Zheng C, Qin L. Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2007. 5(3):348–51.
2. Hamid A, Shah ZM, Muse R, Mohamed S. Characterisation of antioxidative activities of various extracts of *Centella asiatica* (L) Urban. *Food Chem*. 2002. 77(4):465–9.
3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Sediaan Galenik. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1986. 16-7.
4. Pramono S, Ajiastuti D. Standardisasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berdasarkan kadar asiatikosida secara KLT-densitometri. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2004. 15(3):118–23.
5. Lestari A, Susanti L, Dwiatmaka Y. Optimasi pelarut etanol-air dalam proses ekstraksi herba pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) pada suhu terukur. *Bionatura*. 2012. 14:87–93.
6. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope herbal Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008. 109-15.
7. Molyneux P. The use of stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 2004. 26(2):211-9.
8. Sharma GN, Dubey SK, Sati N, Sanadya J. Phytochemical screening and estimation of total phenolic content in *Aegle marmelos* Seeds. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2011. 3(2):27-9.
9. Bajcan D, Harangozo L, Hrabovska D, Boncikova D. Optimizing condition for spectrophotometric determination of total polyphenols in wines using Folin-Ciocalteu reagent. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2013. 2(Special issue 1):1699-708.

