

Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) yang Diekstraksi Dengan Metode MAE

Effect of Solvent Concentration on Antioxidant Activity of Pegagan (Centella asiatica (L) Urban) Extracted by MAE Method

Putu Gita Maya Widyaswari Mahayasih^{1*}, Adellia Eka Sutomo Putry¹, Sri Teguh Rahayu¹
¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu – Ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta Barat

Kata kunci: Antioksidan, *Centella asiatica* (L.) Urban, DPPH, Pegagan, Total Fenol

Keyword: Antioxidant, *Centella asiatica* (L.) Urban, DPPH, Pegagan, Total Phenol

Korespondensi:

Putu Gita Maya Widyaswari Mahayasih
Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta Barat
Putu.gitamaya@esaunggul.ac.id

ABSTRAK

Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) memiliki komponen bahan aktif seperti triterpenoid dan saponin seperti madekasida, asiatikosida, polifenol, tanin, vitamin C dan beta-karoten. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya pengaruh variasi konsentrasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak pegagan (*C.asiatica* (L) Urban) dengan metode DPPH yang diekstraksi dengan metode MAE. Proses pembuatan ekstrak pegagan dilakukan menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Pelarut yang digunakan adalah etanol dengan konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90% dan 96%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa skrining fitokimia ekstrak pegagan memiliki senyawa golongan alkaloid, steroid, saponin, tanin sedangkan untuk senyawa flavonoid ditemukan dalam ekstrak dengan konsentrasi pelarut 96% dengan metode MAE. Nilai aktivitas antioksidan pada pegagan pada konsentrasi 60% sebesar 977,26 µg/mL, konsentrasi 70% sebesar 894,16 µg/mL, konsentrasi 80% sebesar 867,52 µg/mL, konsentrasi 90% sebesar 767,17 µg/mL, dan untuk nilai IC₅₀ terbaik pada konsentrasi 96% sebesar 726,84 µg/mL. Kontrol positif yang digunakan yaitu asam askorbat yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 52,53 µg/mL yang termasuk dalam kategori kuat.

ABSTRACT

Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) has active components such as triterpenoids and saponins such as madeocasoside, asiaticosides, polyphenols, tannins, vitamin C and beta-carotene. This study aims to prove the effect of variations in solvent concentration on the antioxidant activity of gotu kola (*C. asiatica*) extract using the DPPH method extracted using the MAE method. The process of making gotu kola extract was carried out using MAE method. The solvent used was ethanol with concentrations of 60%, 70%, 80%, 90% and 96%. The results showed that phytochemical screening of gotu kola extract had alkaloids, steroids, saponins, tannins, while flavoid compounds were found in the extract with a solvent concentration of 96% using the MAE method. The value of antioxidant activity in gotu kola at 60% concentration is 977.26 µg/mL, 70% concentration is 894.16 µg/mL, 80% concentration is 867.52 µg/mL, 90% concentration is 767.17 µg/mL, and the best IC₅₀ value is at a concentration of 96 % of 726.84 µg/mL. Positive control used, ascorbic acid, which has an IC₅₀ value of 52.53 µg/mL which included in the strong category.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber daya alam yang melimpah dan dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan sebagai obat tradisional. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 246/Menkes/Per/V/1990, tentang Izin Usaha Industri Obat Tradisional dan Pendaftaran Obat Tradisional bahwa obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) (Jatayu et al., 2018). Pegagan adalah tanaman liar yang termasuk dalam keluarga Umbelliferae yang dapat tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia, India, Vietnam dan juga Cina. Pegagan memiliki komponen bahan aktif seperti flavonoid, triterpenoid dan saponin seperti madekasida, asiatikosida, polifenol, tanin, vitamin C dan beta-karoten (Maya et al., 2021). Asiatikosida, flavonoid dan polifenol memiliki aktivitas antioksidan dengan cara menghambat berbagai reaksi oksidasi serta mampu mereduksi radikal bebas (Yahya & Nurrosyidah, 2020). Selain dapat digunakan sebagai tambahan makanan, pegagan dapat digunakan sebagai pelindung serta menstabilkan tubuh terhadap radikal bebas

sehingga dapat berperan sebagai antioksidan dan dapat membantu menyembuhkan penyakit jantung, stroke, diabetes, parkinson, Alzheimer, aterosklerosis, gangguan neurodegeneratif dan kanker.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi sehingga mencegah kerusakan sel. Metode DPPH merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antioksidan secara *in vitro* yang telah banyak digunakan. Metode ini cukup sederhana, akurat, cepat, efisien, mudah dilakukan dan membutuhkan sampel dalam jumlah sedikit (Akar et al., 2017).

Menurut Rachmatiah (2015) pegagan yang diekstraksi menggunakan metode soxhlet dengan pelarut etanol 96% yang diuji menggunakan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} sebesar 78,20 $\mu\text{g/mL}$ yang berarti bahwa pegagan memiliki aktivitas antioksidan tinggi (T. Rachmatiah, F. E. Putri, 2015). Menurut Cardoso-Ugarte (2013) pegagan yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, etanol 70% dan metanol dan diuji dengan metode DPPH memiliki nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 81,30; 65,66; 28,71 $\mu\text{g/mL}$ yang berarti bahwa pegagan memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Cardoso-Ugarte et al., 2013).

Dalam pengembangan suatu obat tradisional, perlu dilakukan proses ekstraksi untuk mendapatkan komponen senyawa metabolit sekunder dalam suatu tumbuhan. Ekstraksi adalah proses penyarian senyawa

kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut menggunakan pelarut yang sesuai. Pada proses ekstraksi, senyawa yang terkandung akan larut oleh pelarut yang sesuai berdasarkan tingkat kepolarannya.

Salah satu metode ekstraksi yang akan digunakan adalah MAE, metode ini sudah digunakan sejak tahun 1986. Gelombang mikro yang digunakan merupakan suatu radiasi yang dapat menghasilkan panas. MAE memiliki beberapa keuntungan seperti waktu ekstraksi yang lebih cepat, ramah lingkungan dan menggunakan pelarut dalam jumlah sedikit, lebih selektif, menggunakan biaya yang lebih rendah, memiliki kinerja yang baik, menghasilkan senyawa bioaktif lebih banyak dibanding dengan metode soxhlet dan pemanasan dapat disesuaikan (Yu et al., 2016). Selain memiliki keuntungan, MAE juga memiliki kekurangan seperti dengan penggunaan suhu yang terlalu tinggi pada proses ekstraksi dapat mengakibatkan rusaknya senyawa bioaktif yang terkandung di dalam pegagan (Hapsari et al., 2017).

Terdapat beberapa hal yang mempengaruhi efektifitas metode MAE seperti waktu ekstraksi, suhu, komposisi pelarut serta rasio pelarut dan bahan yang digunakan (Destandau et al., 2017). Perbedaan konsentrasi pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi kelarutan senyawa bioaktif yang akan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Efek penggunaan berbagai konsentrasi pelarut yang dilakukan akan menunjukkan hasil yang berbeda-beda baik

secara hasil ekstraksi dan aktivitas antioksidannya. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan pegagan dengan metode MAE.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan tanaman

Bahan tanaman yang digunakan berdasarkan hasil determinasi dengan surat No.B- 493/IV/D1.01/4/2021 adalah *Centella asiatica* (L.) Urb

Bahan kimia

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu pegagan (*C. asiatica* (L) Urban), akuades, asam askorbat ($C_6H_8O_6$), asam borat (H_3BO_3), asam oksalat ($C_2H_2O_4$), asam stearat ($C_{18}H_{36}O_2$), aseton (C_3H_6O), CH_3COOH , etanol (C_2H_5OH), eter (C_2H_5)₂O, H_2SO_4 , HCl, kloroform ($CHCl_3$), larutan DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl), larutan $AlCl_3$ 10%, larutan $FeCl_3$ 3%, metanol (CH_3OH), $MgSO_4$, Na_2CO_3 , pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Folin Ciocalteu.

Tahap penelitian

Proses pembuatan simplisia

Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih. Setelah bersih, pegagan dirajang dan diangin-anginkan hingga didapatkan bagian tumbuhan yang kering. Selanjutnya simplisia kering yang didapatkan dihaluskan dengan

grinder hingga menjadi serbuk yang bisa digunakan untuk tahap selanjutnya dan disimpan dalam wadah tertutup rapat untuk menghindari terjadinya kontaminasi dari debu atau partikel yang tidak diinginkan.

Ekstraksi sampel pegagan dengan metode MAE

Sebanyak ± 4 g serbuk herba pegagan dicampur dalam 56 ml etanol dengan konsentrasi pelarut 96% (P-96%), 90% (P-90%), 80% (P-80%), 70% (P-70%) dan 60% (P-60%) dimasukkan di dalam *microwave* selama 15 menit dengan daya 50% watt kemudian disaring untuk memisahkan antara filtrat dan ampasnya. Filtrat yang telah di pisahkan kemudian di pekatkan menggunakan *waterbath* dengan suhu 55°C untuk mendapatkan ekstrak kental.

Ekstraksi sampel pegagan dengan metode maserasi

Sebanyak ± 20 g serbuk herba pegagan dimaserasi dengan 200 ml etanol 96% selama 3 hari kemudian campuran disaring untuk memisahkan antara filtrat dan ampasnya. Filtrat yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan *waterbath* dengan suhu 55°C untuk mendapatkan ekstrak kental.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia mengikuti metode oleh Harborne dengan sedikit modifikasi (Hapsari et al., 2017):

a. Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan 2 mL etanol 96% kemudian ditambah 5 mL HCl 0,5N dan dipanaskan. Keberadaan alkaloid ditandai dengan adanya endapan yang disebabkan karena adanya ikatan antara nitrogen pada alkaloid dengan pereaksi.

b. Uji Flavonoid

Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan 2 ml etanol 96%, MgSO_4 0,5 g dan 3 tetes HCl pekat 0,5N. Jika terbentuk endapan berwarna merah-orange maka ekstrak yang di uji mengandung flavonoid. Warna merah-orange ini terbentuk karena adanya reaksi antara flavonoid dengan magnesium dan asam klorida pekat

c. Uji Steroid

Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan 2 ml etanol 96% kemudian ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml H_2SO_4 . Jika terbentuk cincin merah, maka ekstrak yang diuji mengandung steroid.

d. Uji Saponin

Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan 2 ml etanol 96% dan 20 ml akuades lalu dikocok dan didiamkan selama 15-20 menit, amati. Jika ekstrak yang diuji mengandung saponin, maka akan terbentuk busa yang tidak hilang selama 10 menit dan busa tidak hilang jika ditambahkan dengan 1 tetes HCl 2 N.

e. Uji Tanin

Ekstrak sebanyak $\pm 0,5$ g ditambahkan 2 ml etanol 96% dan 3 tetes FeCl_3 5%. Jika

mengandung tannin maka dapat membentuk warna biru, biru-hijau, hijau atau biru-hijau dan endapan. Warna yang terbentuk disebabkan oleh adanya reaksi antara senyawa hidroksil pada tanin dengan pereaksi yang digunakan.

Uji kadar total fenol

Pengujian total fenol menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan reagen Folin-Ciocalteu. Sampel dipipet sebanyak 20 µL ditambahkan 100 µL Folin-Ciocalteu kemudian digoyangkan selama 1 menit didalam *microplate reader*. Sampel tersebut kemudian didiamkan selama 4 menit lalu ditambahkan 75 µL Na₂CO₃ dan digoyangkan kembali selama 1 menit didalam *microplate reader*. Sampel didiamkan kembali selama 2 jam pada temperature suhu kamar 25°C kemudian diukur pada λ 760 nm. Kurva baku dibuat dengan menggunakan larutan asam galat dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125, dan 150 µg/mL (Ngibad & Lestari, 2020; Susanty & Bachmid, 2016).

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

a. Pengujian Aktivitas Antioksidan Pegagan Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antioksidan. Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 5,0 mg kemudian dilarutkan dalam 5,0 mL metanol p.a. dibuat larutan seri konsentrasi antara 25, 50, 75, 100, 125, dan 150 µg/mL. Larutan uji dipipet sebanyak 20 µL, dimasukan ke

dalam tabung reaksi, ditambahkan 180 µL DPPH 150 mM, digoyangkan hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diukur serapannya pada λ 515 nm (Mahayasih et al., 2018).

b. Perhitungan Nilai IC₅₀ Antioksidan

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{AS - AB}{AB} \times 100\%$$

Keterangan :

AS = Absorbansi sampel

AB = Absorbansi blanko

Setelah didapatkan persentase efektif dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan IC₅₀ melalui persamaan $y = a + bx$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan pegagan yang diekstraksi dengan metode MAE. Tanaman yang digunakan adalah Pegagan (*C. asiatica*) yang berasal dari Bandung, Jawa Barat. Bagian pegagan yang digunakan berupa herba atau seluruh bagian tumbuhan. Hasil rendemen simplisia kering pegagan yang diperoleh dari hasil pengeringan simplisia sebesar 4,70% b/b. Hasil persen rendemen menentukan banyaknya simplisia yang dihasilkan.

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan metode

maserasi. Metode MAE dipilih karena memiliki keuntungan seperti waktu ekstraksi lebih efisien, menggunakan pelarut dalam jumlah sedikit.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak *C. asiatica*

Sampel	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	%Rendemen
P-60 %	4,0005	1,33	33,22 %
P-70 %	4,0003	1,74	43,51 %
P-80 %	4,0003	1,46	36,61 %
P-90 %	4,0009	1,18	29,54 %
P-96 %	4,0003	1,17	29,25 %
Maserasi	20,000	6,16	30,80%

Rendemen hasil ekstraksi pegagan dengan menggunakan metode MAE dengan berbagai konsentrasi pelarut dapat dilihat pada Tabel 1. Kelarutan suatu senyawa pada pelarut didasari dari kesamaan polaritas antara pelarut dengan senyawa yang diekstrak.

Ekstrak yang didapat dilakukan uji organoleptis, uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bentuk, rasa, warna dan bau dari ekstrak yang didapat. Dapat dilihat dari Tabel 2, ekstrak pegagan memiliki warna hijau kehitaman, berbau khas, berasa pahit dan memiliki bentuk semi padat.

Tabel 2. Uji Organoleptis Ekstrak *C. asiatica*

Sampel	Warna	Bau	Bentuk	Rasa
P-60%	Hijau Pekat Kehitaman	Khas	Ekstrak Kental	Pahit
P-70%	Hijau Pekat Kehitaman	Khas	Ekstrak Kental	Pahit
P-80%	Hijau Pekat Kehitaman	Khas	Ekstrak Kental	Pahit
P-90%	Hijau Pekat Kehitaman	Khas	Ekstrak Kental	Pahit
P-96%	Hijau Pekat Kehitaman	Khas	Ekstrak Kental	Pahit
Maserasi	Hijau Pekat Kehitaman	Khas	Ekstrak Kental	Pahit

Uji skrining fitokimia ekstrak juga dilakukan pada penelitian ini. Tujuan dilakukan skrining fitokimia adalah untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu tanaman. Uji skrining fitokimia menggunakan uji tabung yaitu dengan mereaksikan ekstrak dengan larutan dan pereaksi tertentu didalam tabung reaksi. Salah satu indikator terjadinya reaksi adalah dengan adanya perubahan warna dan terbentuknya endapan. Dapat dilihat pada Tabel 3 hasil skrining fitokimia pada ekstrak *C. asiatica* terdapat senyawa alkaloid, steroid, saponin, tanin sedangkan untuk senyawa

flavonoid tidak ditemukan. Tetapi pada ekstraksi baik menggunakan metode MAE maupun metode maserasi yang menggunakan pelarut 96% mengandung flavonoid, hal ini mungkin terjadi karena etanol 96% dapat mengekstraksi senyawa golongan flavonoid dalam jumlah yang lebih banyak jika dibandingkan dengan ekstrak yang menggunakan konsentrasi pelarut 60%; 70%; 80%, dan 90%. Pada sampel yang tidak mengandung flavonoid dapat dimungkinkan karena konsentrasi flavonoid yang dapat terekstrak oleh pelarut terlalu sedikit sehingga tidak dapat terdeteksi.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia *C. asiatica*

Sampel	Hasil Uji					
	Alkaloid		Flavonoid	Steroid	Saponin	Tanin
	Wagener	Mayer				
HCL + Wagener	HCL + mayer	MgSO ₄ + HCL Pekat	Kloroform + H ₂ SO ₄	Aquades	FeCl ₃	
P-60 %	+	+	-	+	+	+
P-70 %	+	+	-	+	+	+
P-80 %	+	+	-	+	+	+
P-90 %	+	+	-	+	+	+
P-96 %	+	+	+	+	+	+
Maserasi	+	+	+	+	+	+

Selanjutnya uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji kadar total fenol. Uji kadar total fenol dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak pegagan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri dengan cara menambahkan pereaksi Folin-Ciocalteu dan larutan natrium karbonat dalam larutan yang akan diuji dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm. Adanya senyawa fenol ditandai dengan adanya perubahan warna kuning menjadi biru. Warna biru terbentuk karena adanya senyawa fenol yang bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu yang digunakan. Semakin tinggi kadar fenol yang terkandung maka semakin tinggi absorbansi yang terbentuk dan semakin pekat perubahan warna yang terbentuk. Senyawa fenol terutama polifenol bersifat antioksidan. Pereaksi Follin-Ciocalteu sensitive terhadap reaksi reduksi oleh senyawa polifenol sehingga menyebabkan terbentuknya warna biru. Mekanisme pengujian dengan reagen Folin-Ciocalteu adalah gugus fenolik pada sampel akan mereduksi asam heteropoli

yang terkandung dalam pereaksi Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molibdenum-tungsten. Larutan Na₂CO₃ akan mengubah pH larutan menjadi basa, sehingga dapat menyebabkan terjadinya perubahan warna larutan menjadi biru. Senyawa fenolik hanya dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat sehingga perlu ditambahkan larutan Na₂CO₃ (Susanty & Bachmid, 2016; Benabdallah et al., 2016).

Kandungan fenolik total pada masing-masing sampel dinyatakan dalam mg atau setara dengan *Gallic Acid Equivalen* (GAE) per gram ekstrak kering. Dapat dilihat pada Tabel 4 dimana ekstrak pegagan memiliki kandungan total fenol konsentrasi 60% sebesar 70,02±14,51 mgGAE/g; 70% 88,99±5,95 mgGAE/g; 80% 90,08±5,95 mgGAE/g; 90% 102,58±8,25 mgGAE/g; 96% 87,18±7,01 mgGAE/g ; dengan metode maserasi ekstrak pegagan memiliki kandungan fenol sebesar 123,94±0,05 mgGAE/g. Hal tersebut menunjukkan pada ekstrak dengan

menggunakan metode maserasi memiliki kadar fenol total paling tinggi yaitu $123,94 \pm 0,05$ mgGAE/g.

Tabel 4. Hasil pengukuran Kadar Total Fenol Ekstrak Pegagan

Sampel	KTF _e ± SD (mgGAE/g)
P-60 %	70,02 ± 14,51
P-70 %	88,99 ± 5,95
P-80 %	90,08 ± 5,95
P-90 %	102,58 ± 8,25
P-96 %	87,18 ± 7,01
Maserasi	123,94 ± 0,05

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Pemilihan metode ini dikarenakan metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, efisien, dan mudah dilakukan. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* dengan detektor UV-Vis. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak pegagan yang diekstraksi dengan metode MAE. Pada pengujian aktivitas antioksidan ini menggunakan kontrol positif asam askorbat. Asam askorbat dipilih karena merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan dapat menangkal radikal bebas

Potensi aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan kemampuan ekstrak dalam meredam radikal bebas sebesar 50% (IC₅₀) dapat dilihat pada Tabel 5. Berdasarkan hasil

pengujian, nilai IC₅₀ dari asam askorbat yaitu 52,53 µg/mL. Nilai ini menunjukkan bahwa asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan dapat menangkal radikal bebas dengan sangat baik sedangkan untuk hasil ekstrak *C. asiatica* dengan berbagai konsentrasi memberikan nilai IC₅₀ yang yang tinggi. P-60% memiliki nilai IC₅₀ sebesar 977,26 µg/mL; P-70% sebesar 894,16 µg/mL; P-80% sebesar 867,52 µg/mL, P-90% sebesar 767,17 µg/mL, dan P-96% sebesar 726,84 µg/mL. Sedangkan, untuk pegagan yang diekstraksi dengan metode maserasi memiliki nilai IC₅₀ sebesar 397,70 µg/mL.

Jika dilihat dari nilai IC₅₀, ekstrak dengan metode maserasi lebih baik dibandingkan dengan ekstrak dengan metode MAE. Hal ini dapat disebabkan karena dengan menggunakan metode maserasi dapat meminimalisir kerusakan kandungan senyawa kimia yang terkandung yang diakibatkan karena pemanasan. Ekstrak pegagan yang diekstraksi dengan metode MAE menggunakan pelarut etanol 60%, 70%, 80%, 90%, dan 96% memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah, dengan nilai IC₅₀ lebih dari 200 µg/ml. Rendahnya nilai IC₅₀ tersebut disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya metode ekstraksi yang digunakan tidak menarik sempurna komponen kimia yang bersifat antioksidan yang dapat mengakibatkan nilai IC₅₀ yang didapatkan rendah.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) menggunakan metode DPPH

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persen Inhibisi (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
P-60%	2000	87,60	977,26
	1500	84,23	
	1000	53,95	
	500	28,76	
	250	16,17	
	125	7,00	
P-70%	2000	88,24	894,16
	1500	88,14	
	1000	58,17	
	500	37,9	
	250	17,92	
	125	10,06	
P-80%	2000	88,54	867,52
	1500	88,63	
	1000	57,14	
	500	42,34	
	250	20,78	
	125	9,91	
P-90%	2000	88,88	767,17
	1500	88,76	
	1000	64,04	
	500	59,08	
	250	21,43	
	125	9,61	
P-96%	2000	88,88	726,84
	1500	88,14	
	1000	82,17	
	500	39,87	
	250	28,26	
	125	14,72	
Maserasi	2000	90,22	397,70
	1500	89,89	
	1000	88,44	
	500	57,40	
	250	33,71	
	125	37,45	

Nilai IC_{50} yang didapat pada ekstrak *C. asiatica* >200 $\mu\text{g/ml}$ yang termasuk dalam kategori sangat lemah, jika dibandingkan dengan asam askorbat yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 52,53 $\mu\text{g/mL}$ dan termasuk dalam kategori kuat. Menurut Benabdallah, A., (2016) (14), suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan jika memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150) dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan dari tanaman yang digunakan. Sedangkan untuk nilai IC_{50} yang didapatkan melebihi 200 $\mu\text{g/mL}$ yang menandakan bahwa ekstrak pegagan yang dihasilkan memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Hal ini dapat dikarenakan jumlah senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yang dapat terekstraksi dengan metode MAE dan pelarut etanol tidak maksimal, sehingga aktivitas antioksidan yang ditunjukkan melalui hasil pengujian cenderung lemah.

Secara umum, kemampuan peredaman radikal bebas berkorelasi dengan kandungan fenol dari suatu ekstrak. Senyawa fenolik terutama polifenol bersifat antioksidan karena dapat mengadakan reaksi reduksi-oksidasi. Pada hasil diatas, dapat dilihat bahwa pada ekstrak yang memiliki kandungan total fenol yang lebih tinggi menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik. Sehingga, tingkat efek antioksidan dari ekstrak dapat dikaitkan dengan komposisi fenoliknya. Mekanisme kerja antioksidan dari suatu ekstrak adalah terjadinya reaksi antara senyawa antioksidan

dalam suatu ekstrak yang mempunyai gugus fenolik dan radikal bebas DPPH. Oleh karena itu, penentuan jumlah senyawa fenolik sangat penting untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak pegagan.

Adapun, bila ditinjau dari konsentrasi pelarut yang digunakan, dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut etanol yang digunakan dalam proses ekstraksi, maka aktivitas antioksidannya semakin meningkat. Dimana aktivitas antioksidan paling baik ditunjukkan oleh ekstrak yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut konsentrasi 96% (IC_{50} 726,85 $\mu\text{g/mL}$).

KESIMPULAN

Perbedaan konsentrasi pelarut dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan Pegagan (*C. asiatica* (L.) Urb yang diekstrak dengan metode MAE. Konsentrasi pelarut yang memberikan aktivitas antioksidan yang baik adalah etanol 96%.

DAFTAR PUSTAKA

- Akar, Z., Küçük, M., & Doğan, H. (2017). A new colorimetric DPPH• scavenging activity method with no need for a spectrophotometer applied on synthetic and natural antioxidants and medicinal herbs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 640–647. <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1284068>
- Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., & Messaoud, C. (2016).

- Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 760–766.
<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.016>
- Cardoso-Ugarte, G. A., Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales, M. E., & López-Malo, A. (2013). Microwave-assisted extraction of essential oils from herbs. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 47(1), 63–72.
<https://doi.org/10.1080/08327823.2013.11689846>
- Destandau, E., Michel, T., & Claire Elfakir. (2017). Microwave-assisted extraction. In M. A. Rostagno & J. M. Prado (Eds.), *Natural Product Extraction: Principles and Applications* (pp. 113–152). RSC Publishing.
<https://doi.org/10.1039/9781849737579-fp001>
- Hapsari, W. S., Rohmayanti, R., Yuliasuti, F., & Pradani, M. P. K. (2017). Skrining fitokimia ekstrak etanol herba pegagan dan analisa rendemen. In *Urecol* (pp. 471–476).
<http://journal.unimma.ac.id/index.php/urecol/article/view/1586>
- Jatayu, D., Nursyam, H., & Maizar Suryanto Hertika, A. (2018). Antioxidant effect of *Centella asiatica* ethanolic extract to superoxide dismutase (SOD) level on *Cyprinus carpio* liver. *Research Journal of Life Science*, 5(3), 163–172.
<https://doi.org/10.21776/ub.rjls.2018.005.03.4>
- Mahayasih, P. G. M. W., Elya, B., & Hanafi, M. (2018). Fractionation and antioxidant activity potency of the extract of *Garcinia lateriflora* Blume var. *javanica* Boerl leaf. *AIP Conference Proceedings*, 1933(February).
<https://doi.org/10.1063/1.5023965>
- Maya, P., Mahayasih, W., Harizal, Herman, & Ahmad, I. (2021). In silico identification of natural products from *Centella asiatica* as severe acute respiratory syndromecoronavirus 2 main protease inhibitor. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 12(3), 261–266.
https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_297_20
- Ngibad, K., & Lestari, L. P. (2020). Aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total daun zodia (*Evodia suaveolens*). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 94.
<https://doi.org/10.20961/alchemy.16.1.35580.94-109>
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Comparison of maceration and reflux extraction methods to phenolic levels of corn cob extract(*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87.
- T. Rachmatiah, F. E. Putri, R. T. D. (2015). Aktivitas ekstrak etanol dan metanol daun vitro activity of ethanol and

methanol extracts from red pegagan leaves (*Centella asiatica* (L .) Urban . var Manoko). *Sainstech Farma*, 8(2), 14–17.

Yahya, M. A., & Nurrosyidah, I. H. (2020). Antioxidant activity ethanol extract of gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) with DPPH method (2,2-Diphenyl-1-Pikrilhidrazil). *Journal of Halal Product and Research*, 3(2), 106. <https://doi.org/10.20473/jhpr.vol.3-issue.2.106-112>

Yu, Q., Duan, W., Liu, B., Duan, Z., & Shang, F. (2016). *Microwave-assisted extraction of bioactive substance from Clinacanthus nutans*. *Icsee 2015*, 748–754. <https://doi.org/10.2991/icsee-15.2016.128>