

## **OPTIMASI PELARUT ETANOL-AIR DALAM PROSES EKSTRAKSI HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* [L.] Urban) PADA SUHU TERUKUR**

Lestari, A B S., Susanti, L U., dan Dwiatmaka, Y.

Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta

E-mail : [a\\_budi@usd.ac.id](mailto:a_budi@usd.ac.id)

### **ABSTRAK**

*Centella asiatica* [L.] Urban sering disebut pegagan atau kaki kuda, adalah salah satu tanaman yang telah banyak diteliti dan terbukti memiliki beragam aktivitas biologis. Dalam pemanfaatannya, biasanya herba pegagan mengalami proses ekstraksi terlebih dahulu untuk mendapatkan zat berkhasiat. Dalam penelitian ini dilakukan optimasi komposisi antara etanol (digunakan etanol murni 96%) dan air sebagai cairan penyari dalam proses ekstraksi herba pegagan pada suhu 40°C dan 50°C. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh perbedaan suhu terhadap kandungan zat aktif yaitu asiaticosid yang terekstrak, dan mengetahui komposisi optimum cairan penyari yang menghasilkan ekstrak dengan kandungan asiaticosid terbesar. Desain percobaan dalam penelitian ini menggunakan *Simplex Lattice Design* (SLD). Analisis kualitatif ekstrak pegagan dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel F<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform-metanol-air (65:25:4) serta deteksi bercak dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Penetapan kadar asiaticosid dilakukan dengan mengukur luas area di bawah kurva (AUC) secara densitometri. Pengaruh suhu terhadap efisiensi ekstraksi dianalisis menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Data kadar asiaticosid yang diperoleh dibuat persamaan SLD dan validitas persamaan SLD diperoleh dengan menggunakan uji statistik F dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil percobaan menunjukkan bahwa perbedaan suhu (40°C dan 50°C) tidak berpengaruh pada kadar asiaticosid yang tersari, dan etanol merupakan cairan penyari optimum untuk mendapatkan kandungan asiaticosid terbesar dalam herba pegagan.

Kata kunci: Optimasi pelarut, ekstraksi, *Centella asiatica* [L.] Urban

## **THE OPTIMIZATION OF ETHANOL-WATER SOLVENT IN EXTRACTION PROCESS OF PEGAGAN HERBS (*Centella asiatica* [L.] Urban) ON SPECIFIC TEMPERATURE**

### **ABSTRACT**

*Centella asiatica* [L.] Urban is one of the plants which is extensively explored and has many biological activity. The extraction process rarely has the key factor that contribute to the successful use of this plan. In this research, it is done the optimization of 96% ethanol and water composition as solvents in the process of extraction of *Centella asiatica* herb in the temperature of 40°C and 50°C. The aims of this research are to find the affect of difference temperature on the concentration of asiaticoside and the optimum composition of solvent which can obtain extract with the most asiaticoside compound. This is a pure experimental research using *Simplex Lattice Design* (SLD). Qualitative analysis of extract is done using TLC with silica gel F<sub>254</sub> and the mobile phase of chloroform-methanol-water (65:25:4) and detection of the spot with Liebermann-Burchard. The determination of asiaticoside concentration is done with measuring the AUC densitometrically. The temperature effect upon the efficiency of extraction is analysed using ANOVA with confidence level of 95%, and validity of SLD equation is obtained by analysis of F statistics with confidence level of 95%. The results show that the difference of temperature do not affect on the concentration of asiaticoside, and the ethanol is the optimum solvent to obtain the most asiaticoside concentration in *Centella asiatica* herb.

Key words: Solvent optimization, extraction, *Centella asiatica* [L.] Urban

## PENDAHULUAN

Dewasa ini pengobatan dengan menggunakan bahan alam kembali menjadi pilihan yang berkembang di 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 bahan alam tersebut, salah satunya adalah pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) yang juga dikenal dengan rumput kaki kuda. Beberapa penelitian yang dilakukan menunjukkan pemberian ekstrak herba pegagan pada dosis tertentu dapat memberikan efek anti-inflamasi. Menurut Bruneton (1999), salah satu kandungan dalam herba pegagan adalah asiatikosid. Asiatikosid merupakan zat aktif saponin triterpen pentasiklis dan diketahui berkhasiat sebagai anti-inflamasi, anti kanker (Huang *et al*, 2004), *wound healing activity*, dan *free radical scavenger* (Guo *et al*, 2004).

Untuk memudahkan penggunaannya, biasanya herba pegagan ini dibuat dalam bentuk ekstrak terlebih dahulu. Pembuatan ekstrak antara lain dapat dilakukan secara infudasi, maserasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan. Dalam proses penyarian ditetapkan bahwa sebagai cairan penyari yang umum digunakan adalah air, etanol, campuran air-etanol, atau eter (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986). Langkah yang dapat dilakukan guna meningkatkan penyarian biasanya digunakan campuran penyari antara etanol dan air.

Berdasarkan penelitian Pramono dan Ajiastuti (2004), etanol merupakan pelarut yang banyak menyari asiatikosid dari herba pegagan melalui cara maserasi, jika dibandingkan dengan air. Baik herba pegagan yang diekstrak dengan air maupun dengan etanol juga telah menunjukkan adanya efek antiinflamasi (Somchit, 2004). Maka dalam penelitian ini dilakukan optimasi komposisi etanol dan air sebagai cairan penyari pada herba pegagan dengan aplikasi *Simplex Lattice Design*. Metode *Simplex Lattice*

*Design* merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendapatkan formula optimum dari suatu campuran. Dalam desainnya, jumlah total bagian komposisi campuran dibuat tetap, yaitu sama dengan satu (Bolton, 1997). Proses ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan suhu 40°C dan 50°C.

Komposisi pelarut yang optimal dapat ditetapkan melalui kadar asiatikosid yang terkandung dalam ekstrak tersebut, dalam penelitian ini menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) densitometri. Diharapkan dengan ditemukannya komposisi optimum cairan penyari untuk mendapatkan ekstrak dengan kandungan asiatikosid terbesar, dihasilkan juga ekstrak herba pegagan yang lebih berkualitas.

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia herba pegagan yang diperoleh dari Merapi Farma Farma, baku asiatikosid berupa TECA (*titrated extracts of Centella asiatica*) dengan komposisi asiatikosid 41,68% dan asam asiatikat-asam madekasat 61,96%, etanol 96% (teknis), aquades, silika gel F<sub>254</sub> *precoated* (E. Merck), pereaksi Liebermann-Burchard, metanol (*p.a.*, E. Merck), kloroform (*p.a.*, E. Merck).

Prosedur penelitian terdiri dari 3 tahap. Tahap pertama yaitu pembuatan serbuk simplisia herba pegagan, tahap kedua adalah pembuatan ekstrak herba pegagan secara maserasi dengan variasi komposisi etanol dan air dan tahap ketiga adalah analisis kualitatif dan kuantitatif ekstrak herba pegagan yang dihasilkan. Tahap pertama diawali dengan penyortiran simplisia herba pegagan dan dilanjutkan dengan pembuatan serbuk herba menggunakan grinder kemudian diayak sampai diperoleh serbuk herba pegagan dengan derajat halus tertentu.

Pada tahap kedua, serbuk herba pegagan diekstraksi dengan metode maserasi dengan perbandingan pelarut seperti tertera dalam Tabel 1.

Tabel 1. Persentase (%) komposisi etanol-air pada proses ekstraksi

Percobaan	Etanol	Air
I	100	0
II	75	25
III	50	50
IV	25	75
V	0	100

Lima gram (satu bagian) serbuk herba pegagan dimasukkan ke dalam maserator, ditambah 10 bagian pelarut, diaduk terus selama 24 jam. Suhu yang digunakan saat maserasi adalah 40°C dan 50°C. Maserat dipisahkan dan proses maserasi diulang 2 kali dengan prosedur yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan penguap vakum hingga diperoleh ekstrak kental. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Pada tahap ketiga, analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan zat aktif asiatikosid dalam ekstrak herba pegagan dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) densitometri. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform-metanol-air (65:25:4). Pelat KLT tersebut kemudian disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard, dipanaskan dalam oven pada temperatur 105°C selama 10 menit. Baku yang digunakan adalah TECA (*titrated extracts of Centella asiatica*). Kadar asiatikosid diketahui dengan memasukkan luas area di bawah kurva bercak yang ditetapkan dengan metode densitometri sebagai nilai Y dalam persamaan kurva baku.

Data kuantitatif kadar asiatikosid herba pegagan yang diperoleh dianalisis menggunakan Anova untuk membandingkan pengaruh suhu terhadap efisiensi ekstraksi, yaitu berdasar respon kadar asiatikosid yang diperoleh dari masing-masing suhu. Selain itu data kadar asiatikosid dari tiap percobaan dianalisis dengan pendekatan *Simplex Lattice Design* untuk menghitung koefisien a, b, ab sehingga didapatkan persamaan  $Y = a(A) + b(B) + ab(A)(B)$ . Berdasarkan persamaan ini kemudian dapat dibuat suatu profil yang menggambarkan jumlah asiatikosid yang

dihasilkan pada berbagai komposisi etanol dan air sebagai pelarut. Hasil profil yang diperoleh berdasarkan rumus digunakan untuk menentukan komposisi cairan penyari yang optimal. Tiap persamaan yang diperoleh dari tiap formula dihitung validitasnya menggunakan metode statistik, yaitu uji F dengan taraf kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Simplisia Herba Pegagan

Berdasarkan surat keterangan determinasi simplisia yang dikeluarkan oleh Merapi Farma Herbal, simplisia yang digunakan sesuai dengan yang dimaksud, yaitu *Centella asiatica*.

### Pembuatan Serbuk Simplisia Herba Pegagan

Simplisia yang telah kering selanjutnya diserbuk dengan menggunakan grinder (mesin penyerbuk) dengan ayakan nomor mesh 50 agar diperoleh serbuk halus. Dengan derajat kehalusan mesh 50 ini diharapkan proses ekstraksi dapat berlangsung optimum, karena dengan ukuran serbuk yang halus maka luas permukaan kontak dengan cairan penyari akan semakin besar. Kemudian serbuk disimpan dalam wadah tertutup rapat agar melindungi isi dari masuknya debu maupun partikel lain.

### Pembuatan Ekstrak Herba Pegagan

#### Secara Maserasi

Salah satu senyawa aktif dalam herba pegagan adalah asiatikosid. Menurut Pramono dan Ajiastuti (2004), kandungan aglikon triterpen dari asiatikosida bersifat nonpolar, sehingga lebih larut dalam etanol. Di sisi lain, Somchit (2004), menyatakan bahwa asiatikosid juga dapat diekstraksi dengan air, karena kandungan glikosida yang bersifat polar. Hal ini mendasari dilakukan penelitian tentang optimasi campuran pelarut etanol-air dengan komposisi tertentu, yang dapat menghasilkan ekstrak herba pegagan dengan kandungan asiatikosid yang paling banyak.

Ekstrak dibuat secara maserasi dengan cara merendam serbuk herba pegagan dalam campuran pelarut etanol 96% dan air dengan perbandingan tertentu dan dilakukan pada suhu 40°C dan 50°C. Pada maserasi ini dilakukan pengadukan untuk meratakan kontak antara serbuk dengan cairan penyari dan mengoptimalkan proses difusi. Kontak yang cukup besar dan merata menghasilkan penarikan zat aktif yang lebih optimal, sehingga asiaticosid dapat tersari secara merata diseluruh bagian pelarut yang digunakan dalam proses maserasi. Setelah dimaserasi selama 24 jam, larutan disaring untuk mendapatkan maserat. Proses maserasi dilakukan dua kali dengan tujuan untuk mengoptimalkan penarikan asiaticosid yang ada di dalam serbuk herba pegagan. Maserat yang dihasilkan selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum vaporator* dan dikeringkan sampai diperoleh bobot konstan.

Berdasarkan hasil ekstraksi ini, ternyata ekstrak herba pegagan yang dihasilkan dari campuran pelarut yang memiliki kandungan air yang lebih besar bersifat lebih liat dan basah jika dibandingkan dengan ekstrak yang dihasilkan dari campuran pelarut dengan kandungan etanolnya lebih besar. Secara

umum, ekstrak yang dihasilkan berwarna coklat kehitaman, bau khas dan rasa agak pahit.

### Analisis Kualitatif Asiatikosid

Analisis kualitatif dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri. Tahap ini dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan mengandung asiaticosid, dengan membandingkan bercak baku asiaticosid (TECA) dengan bercak yang dihasilkan pada ekstrak, melalui nilai  $R_f$ . Hasil tercantum dalam Tabel 2 (Lestari dkk, 2010; Susanti, 2010).

Melalui hasil yang diperoleh dari KLT, diketahui bahwa ekstrak yang diperoleh mengandung asiaticosid. Hal ini ditunjukkan dengan kelima bercak sampel ekstrak yang semuanya memiliki harga  $R_f$  mirip dengan  $R_f$  baku asiaticosid (TECA) yaitu 0,64-0,65 dan intensitas warna bercak yang menyerupai baku.

### Analisis Kuantitatif Asiatikosid

Penetapan kadar asiaticosid dalam ekstrak herba pegagan dilakukan sama seperti pada kurva baku, AUC bercak diukur pada panjang gelombang 243 nm.

Tabel 2. Harga  $R_f$  baku asiaticosid (TECA) dan sampel ekstrak dengan deteksi Liebermann-Burchard

Bercak	Baku						Sampel					
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
$R_f$	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,64	0,64	0,64	0,64	0,65	0,65	0,65
Warna bercak	biru-ungu											

Keterangan :

a	: baku TECA 1 (1 $\mu$ l)	h	: sampel etanol - air = 0 : 100%
b	: baku TECA 2 (2 $\mu$ l)	i	: sampel etanol - air = 25% : 75%
c	: baku TECA 3 (4 $\mu$ l)	j	: sampel etanol - air = 50% : 50%
d	: baku TECA 4 (6 $\mu$ l)	k	: sampel etanol - air = 75% : 25%
e	: baku TECA 5 (8 $\mu$ l)	l	: sampel etanol - air = 100% : 0
f	: baku TECA 6 (10 $\mu$ l)		
g	: baku TECA 7 (12 $\mu$ l)		

Tabel 3. Kadar asiatikosid ( $\mu\text{g}/1 \mu\text{g}$  ekstrak) untuk masing-masing percobaan

Suhu (°C)	Percobaan	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata	SD
40	I	0,184	0,0862	0,1375	0,1359	0,0489
	II	0,1899	0,1719	0,1305	0,1641	0,0304
	III	0,1596	0,0486	0,0781	0,0945	0,0575
	IV	0,0108	0,0104	0,026	0,0157	0,0089
	V	0,0203	0,0379	$8,394 \times 10^{-3}$	0,0222	0,0148
50	I	0,1138	0,1556	0,2157	0,1617	0,0512
	II	0,1346	0,164	0,1427	0,1471	0,0152
	III	0,0887	0,1042	0,096	0,0963	0,0075
	IV	0,0253	0,0244	0,0207	0,0235	0,0024
	V	0,0112	$8,5847 \times 10^{-3}$	0,0114	0,0104	0,0016

Keterangan :

- I : sampel etanol - air = 100% : 0%
- II : sampel etanol - air = 75% : 25%
- III : sampel etanol - air = 50% : 50%
- IV : sampel etanol - air = 25% : 75%
- V : sampel etanol - air = 0% : 100%

Berdasarkan data yang diperoleh pada Tabel 3, pada suhu 40°C kadar asiatikosid terbesar diperoleh melalui proses ekstraksi dengan komposisi pelarut etanol dan air dengan perbandingan 75% : 25% (percobaan II). Pada suhu 50°C, kadar asiatikosid terbesar diperoleh pada proses ekstraksi dengan komposisi pelarut 100% etanol (percobaan I). Data kadar asiatikosid tersebut selanjutnya diolah dengan menggunakan Anova untuk mengetahui apakah perlakuan suhu yang berbeda akan menghasilkan kadar yang berbeda pula. Berdasarkan analisis data dengan SPSS diperoleh bahwa rata-rata kadar asiatikosid pada perlakuan kedua suhu tidak berbeda. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa suhu pada proses maserasi, yaitu suhu 40°C dan 50°C tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada kadar asiatikosid yang tersari. Dengan menggunakan metode *Simplex Lattice Design*, berdasarkan data kadar asiatikosid yang diperoleh (Tabel 3) kemudian dicari persamaannya. Ada pun persamaan yang diperoleh adalah:

Persamaan SLD yang diperoleh (Tabel 4) masih perlu diuji lagi untuk memastikan validitasnya, apakah persamaan SLD tersebut dapat digunakan untuk memperkirakan

kadar asiatikosid jika dilakukan ekstraksi dengan campuran pelarut etanol-air pada perbandingan tertentu. Hasil uji F untuk melihat apakah ada perbedaan bermakna respon kadar antara hasil percobaan dengan hasil yang dihitung dari persamaan SLD tertera pada Tabel 5.

Tabel 4. Persamaan SLD

Suhu	Persamaan SLD
40°C	$Y = 0,1359 (A) + 0,0222 (B) + 0,0616 (A)(B)$
50°C	$Y = 0,1617 (A) + 0,0104 (B) + 0,0408 (A)(B)$

Keterangan:

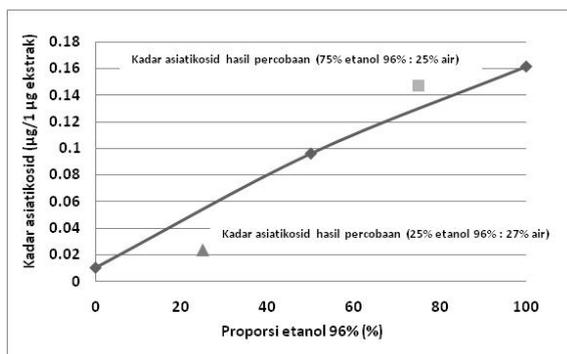
- A: proporsi pelarut air
- B: proporsi pelarut etanol murni

Tabel 5. Perhitungan validitas persamaan SLD

	Suhu 40°C	Suhu 50°C
$F_{hitung}$	3,5824	12,8261
$F_{tabel}$	3,89	3,89
Kesimpulan	tidak valid	valid

Berdasarkan perhitungan  $F_{hitung}$  pada Tabel 5 (Lestari dkk, 2010; Susanti, 2010), didapatkan hasil persamaan SLD untuk kadar asiatikosid dengan maserasi pada suhu 50°C valid, sedangkan untuk suhu 40°C tidak valid. Hal ini menunjukkan bahwa data rata-

rata kadar asiaticosid yang dihasilkan pada proses maserasi dengan suhu 50°C dapat digunakan untuk menemukan komposisi etanol dan air yang optimum. Dengan kata lain, persamaan yang dihasilkan dapat digunakan untuk memprediksi respon kadar asiaticosid tersari. Di sisi lain, persamaan SLD pada suhu 40°C tidak dapat digunakan untuk memprediksi kadar asiaticosid tersari. Gambar 1 menunjukkan profil pengaruh prosentase etanol dalam campuran pelarut terhadap kadar asiaticosid dari ekstrak herba pegagan yang dihasilkan. Terlihat bahwa semakin tinggi komposisi etanol dalam cairan penyari, kadar asiaticosid yang tersari dalam ekstrak juga semakin tinggi pula. Hal ini tidak terlepas dari sifat intrinsik, yaitu polaritas asiaticosid yang cenderung mendekati semi polar.



Gambar 1. Respon proporsi etanol vs kadar asiaticosid hasil maserasi pada suhu 50°C dengan persamaan  $Y = 0,1617 (X_1) + 0,0104 (X_2) + 0,0408 (X_1)(X_2)$

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perbedaan suhu pada proses maserasi herba pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban), yaitu suhu 40°C dan 50°C tidak berpengaruh terhadap kadar asiaticosid yang tersari dalam ekstrak. Komposisi optimum cairan penyari yang dapat digunakan untuk mendapatkan ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) dengan kandungan asiaticosid terbesar adalah 100% etanol.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada DP2M DIKTI atas *grant* penelitian Hibah Bersaing yang berjudul “Optimasi Formula dan Kontrol Kualitas Sediaan Tablet *Effervescent* Ekstrak *Centelae asiaticae Herba* dan *Manihotis Folium*” tahun 2009-2011 yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. Sediaan Galenik. Halaman 16-17. Jakarta.
- Bolton, S. 1997. *Pharmaceutical Statistics, Practical and Clinical Application*, 3<sup>rd</sup> Ed., 590-591, 610-613, New York. Marcel Dekker, Inc.
- Bruneton, J. 1999. *Pharmacognosy: Phytochemistry Medicinal Plants*, 2<sup>nd</sup> Ed. 703-704, Lavoister Publishing. New York.
- Guo J.S., Cheng C.L., and Koo M.W. 2004. Inhibitory effects of *Centella asiatica* water extract and asiaticoside on inducible nitric oxide synthase during gastric ulcer healing in rats. *PlantaMed*, 70:1150-1154.
- Huang Y.H., Zhang S.H., Zhen R.X., Xu X.D., and Zhen Y.S. 2004. Asiaticoside inducing apoptosis of tumor cells and enhancing anti-tumor activity of vincristine. *AiZheng*, 23:1599-1604.
- Lestari, A.B.S., Dwiatmaka, Y., & Kusumastuti, R. 2010. *Optimasi Formula dan Kontrol Kualitas Sediaan Tablet Effervescent Ekstrak Centelae asiaticae Herba dan Manihotis Folium*. Laporan Penelitian. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.

- Pramono, S., D. Ajiastuti. 2004. Standarisasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berdasarkan kadar asiatikosida secara KLT-densitometri. *Majalah Farmasi Indonesia*. 15(1):118-123.
- Somchit. 2004. Antinociceptive and anti inflammatory effects of *Centella asiatica*, <http://medind.nic.in/ibi/t04/i6/ibit04i6p377>. Accessed on 1<sup>st</sup> November 2009.
- Susanti, L.U. 2010. Optimasi Komposisi Etanol dan Air dalam Proses Maserasi Herba Pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) dengan Aplikasi *Simplex Lattice Design*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.