

OPTIMIZATION OF ETHANOL EXTRACT OF *CENTELLA ASIATICA* AND *CRESINTIA CUJETE* COMPOSITION AS NATURAL ANTIOXIDANT SOURCE

¹Mustofa Ahda, ¹Fiqirozi, ¹Gina Noor Habibah, ¹Mas Ulfah Lestari, ¹Tomy Hardianto, ¹Yuni Andriani

¹Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
Jln. Prof. Dr. Supomo Yogyakarta, Telp. (0274) 379418
Email: mustofa_ahda@yahoo.com

ABSTRAK

Pengembangan antioksidan alami dalam pemanfaatan pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*) merupakan potensi yang besar. Penelitian ini telah melakukan optimasi komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*) sebagai sumber antioksidan dengan dilakukan uji aktifitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*) memiliki kandungan total fenol yang ditunjukkan dengan adanya kemampuan mereduksi reagen Folin Ciocalteu menjadi berwarna biru. Hasil optimasi komposisi ekstrak pegagan (*Centella asiatica*): majapahit (*Cresintia kujete*) = 30:70 memiliki aktifitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH yang paling baik dibandingkan ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*). Nilai IC₅₀ untuk komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*): majapahit (*Cresintia kujete*) = 30:70 sebesar 0,103 mg/mL.

Kata Kunci: Aktifitas Antioksidan, pegagan (*Centella asiatica*), majapahit (*Cresintia kujete*), Komposisi Ekstrak

ABSTRACT

The development of natural antioxidants in the Pegagan (*Centella asiatica*) and Majapahit (*Cresintia kujete*) is a great potential. This research has been optimizing the composition of ethanol extract of *Centella asiatica* and *Cresintia kujete* as an antioxidants source using measure the free radicals scavenging activity of DPPH. The results of research showed that both the ethanol extract of *Centella asiatica* and *Cresintia kujete* has a total phenol content. its shown with the ability to reduce reagent Folin Ciocalteu become blue colour. The composition optimization of extract *Centella asiatica*:*Cresintia kujete* = 30:70 has free radical scavenging activity of DPPH most well compared ethanol extract of *Centella asiatica* and *Cresintia kujete*. IC₅₀ values for the composition of ethanol extract of *Centella asiatica*:*Cresintia kujete* = 30:70 is 0,103 mg/mL.

Keywords: Antioxidant activity, *Centella asiatica*, *Cresintia kujete*, Composition Extract

Pendahuluan

Di Indonesia, radikal bebas hasil polusi sangat meningkat tiap tahunnya.

Asap rokok, makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar matahari berlebih, asap kendaraan bermotor, obat-obat

tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas. Senyawa radikal bebas yang berlebihan dapat memberikan dampak yang merugikan bagi kesehatan, seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan kanker. Manusia telah memiliki sistem pertahanan terhadap oksidan yang berasal dari dalam tubuh ataupun dari luar berupa diet. Pertahanan dari dalam tubuh seperti enzim-enzim peroksidase, katalase, glutathion, histidin-peptidin seringkali masih kurang akibat pengaruh lingkungan dan diet yang buruk (Pietta,1999).

Hal ini perlu menjadi perhatian dalam menemukan tanaman sebagai sumber baru untuk antioksidan, terutama yang aman, murah dan mudah untuk diperoleh masyarakat. Beberapa sumber antioksidan yang mudah diperoleh seperti pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*). Senyawa aktif yang terdapat dalam pegagan (*Centella asiatica*) seperti triterpen (Herlina, 2010), asam asiatik dan asitikosid (Kim dkk., 2009), flavonoid, tanin, saponin (Sutrisno dkk., 2014). Sedangkan dalam majapahit (*Cresintia kujete*) memiliki kandungan senyawa aktif yaitu saponins, flavonoid, cardenolides, tannins and phenol (Ejelonu dkk., 2011).

Banyak penelitian yang telah melaporkan tentang manfaat pegagan (*Centella asiatica*). Ekstraks pegagan (*Centella asiatica*) dengan senyawa aktif triterpen dapat meningkatkan fungsi kognitif belajar dan mengingat pada mencit jantan albino (Herlina, 2010). Selain itu, Sutrisno dkk., (2014) juga melaporkan manfaat ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) memiliki kemampuan daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

Sedangkan majapahit (*Cresintia kujete*) menurut Mahbub dkk, (2011) melaporkan bahwa majapahit (*Cresintia kujete*) ini memiliki kemampuan penghambatan zona pada aktivitas antibakteri dari ekstraks etanol majapahit (*Cresintia kujete*) dengan konsentrasi sebesar 8 mg/lubang dan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) sebesar 2500 ug/mL. Kemampuan antibakteri hasil ekstraks alkohol majapahit (*Cresintia kujete*) mampu menghambat *Mycobacterium tuberculosis* (Agarwal dan Chauhan, 2015). Menurut Das dkk., (2014), menyatakan bahwa majapahit (*Cresintia kujete*) ini memiliki aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang sangat baik dengan nilai IC_{50} sebesar 8,78 ug/mL.

Oleh karena itu, Manfaat pegagan (*Centella asiatica*):majapahit (*Cresintia cujete*) yang besar dan dapat digunakan sebagai antioksidan dan antibakteri. Hal ini mendorong penelitian kali ini membahas tentang komposisi antara ekstraks etanol pegagan (*Centella asiatica*):majapahit (*Cresintia cujete*) yang paling optimum dalam melakukan penghambatan radikal bebas DPPH. Optimasi komposisi ekstraks etanol pegagan (*Centella asiatica*):majapahit (*Cresintia cujete*) ini diharapkan mampu menemukan efek sinergis senyawa aktif yang ada pada pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*).

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan melakukan optimasi kombinasi ekstraks etanol pegagan (*Centella asiatica*):majapahit (*Cresintia cujete*) sebagai kandidat obat herbal.

Metode Penelitian

Bahan

Bahan baku yang digunakan adalah pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) (tanaman berasal dari merapi farma), Etanol sebagai pengekstrak. Bahan kimia lainnya adalah metanol, aquadest, Pereaksi Folin Ciocalteu dan Larutan DPPH 0,05 mM.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, labu takar, erlenmeyer, corong, kertas saring, timbangan analitik, *rotary evaporator* vakum, Spektrometer Uv-vis Shimadzu 1700 dan Spektrometer FTIR Shimadzu FTIR 8201 Prestige 21.

Prosedur Penelitian

Proses Ekstraksi Tanaman Obat

Serbuk tanaman obat pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) ditimbang 100 gram dan dimaserasi dengan 400 ml etanol absolut selama 24 jam dengan pengadukan. Setelah perlakuan maserasi selama 24 jam larutan disaring dengan menggunakan vakum dan kertas saring untuk memisahkan ampas dan filtratnya, filtrat kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* vakum untuk menguapkan pelarutnya, sehingga diperoleh ekstrak kental dari tanaman obat dan kemudian dikeringkan agar diperoleh ekstrak kering. Hasil ekstrak kering kemudian dibuat variasi komposisi konsentrasi pegagan (*Centella asiatica*):majapahit (*Cresintia cujete*) sebesar 75%, 50% dan 25%.

Uji Kualitatif Total Fenol dalam Sampel

Penentuan fenol total seperti yang dilakukan Ahda, (2014) dengan menggunakan metode folin Ciocalteu. Sebanyak 100,0 mg ekstrak etanol kulit

pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) dilarutkan sampai volume 25,0 ml kemudian diambil 0,3 mL ditambahkan 1,5 mL reagen folin yaitu folin Ciocalteu (1:10) diaduk sampai homogen. Setelah 5 menit, ditambahkan 1,2 mL sodium karbonat 7,5 % dan diamkan selama 60 menit. Kemudian diamati warna yang terbentuk secara kolorimetri.

Penentuan Aktifitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH

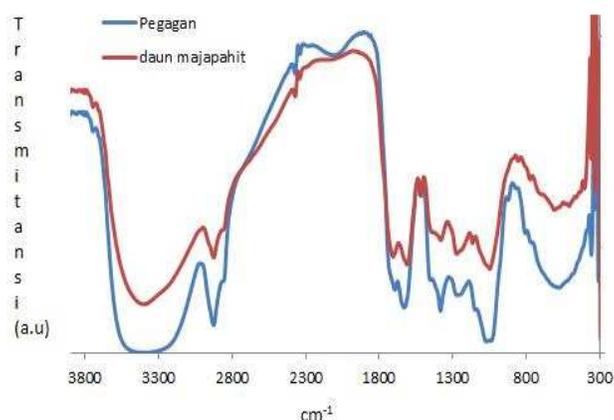
Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara 3 mL larutan DPPH dengan konsentrasi 1 mM dalam etanol ditambah dengan 1 mL ekstrak larutan sampel. Konsentrasi larutan sampel yang dibuat adalah 10, 50, 100, 150, 200 ug/mL. Campuran didiamkan selama 30 menit. Larutan ini kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm.

Pembahasan

Karakterisasi gugus fungsi ekstrak etanol Pegagan dan *Cresintia cujete*

Senyawa aktif dalam ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) dikarakterisasi dengan spektroskopi infrared (IR). Hal ini bertujuan untuk melihat gugus fungsional senyawa aktif yang ada dalam ekstrak tersebut (Gambar 1).

Gambar 1. Menunjukkan bahwa vibrasi gugus fungsional senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) memiliki vibrasi pada bilangan daerah sekitar 3300-3500 cm^{-1} yang merupakan jenis vibrasi berasal dari gugus hidroksil (-OH). Hasil spectrum juga menunjukkan adanya jenis vibrasi C-H alkana pada bilangan gelombang 2800-3000 cm^{-1} , metil pada daerah 1425 cm^{-1} , metilen pada daerah 1350 cm^{-1} dan jenis vibrasi C-H alkena aromatis muncul pada bilangan gelombang pada daerah 1500 cm^{-1} dan 1630 cm^{-1} .

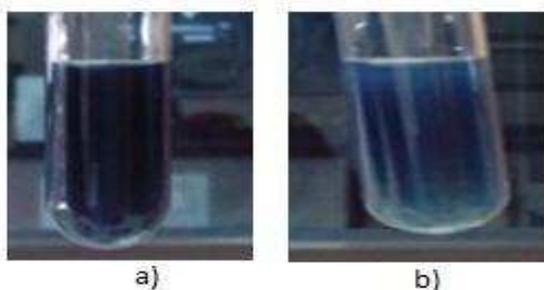


Gambar 1. Hasil Karakterisasi Spektra FTIR Ekstraks pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*)

Uji Kualitatif Fenol Total

Ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) dilakukan uji kualitatif dengan pereaksi folin ciocalteu untuk mendeteksi senyawa aktif fenol total

dalam ekstrak tersebut. Proses uji kualitatif fenol total dalam ekstraks pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*) menggunakan pereaksi Folin Ciocelteau 10%. Hasil menunjukkan adanya perubahan warna menjadi biru (Gambar 2). Warna biru yang terbentuk karena karena adanya proses reaksi oksidasi reduksi. Senyawa yang mengandung gugus fenolik akan mengalami oksidasi sedangkan Folin Ciocalteu akan mengalami reduksi. Proses oksidasi reduksi ini yang mendasar penetapan kadar total fenol dalam ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*). Pereaksi folin ciocalteu akan mengalami proses reduksi dari fosfomolibdattungsten menjadi heteropolimolibdenum biru dengan terbentuknya warna biru (Walker, 2002). Hal ini sesuai seperti yang dilaporkan oleh sugiat, dkk, (2010), yang melakukan penentuan kadar total fenol pada dedak dengan pereaksi Folin Ciocalteu.



Gambar 2. Hasil Reaksi Fenol Total dengan Pereaksi Folin Ciocelteau ; a) Ekstrak Etanol majapahit (*Cresintia kujete*), b) Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica*)

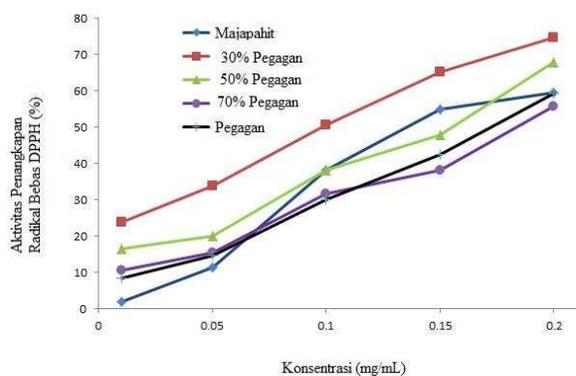
Gambar 2. Menunjukkan adanya perbedaan hasil uji kualitatif pada ekstraks etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*). Ekstrak majapahit (*Cresintia kujete*) menghasilkan warna yang lebih biru dibandingkan ekstraks pegagan (*Centella asiatica*) setelah direaksikan dengan Folin Ciocalteu. Menurut Maurya dan Singh (2010) bahwa reagen Folin Ciocalteu sensitif pada reduksi oleh senyawa seperti polifenol menyebabkan terbentuknya senyawa biru. Hasil de Oliveira dkk., (2012) menyebutkan bahwa reagen Folin Ciocalteu dapat digunakan untuk mendapatkan estimasi kasar jumlah total fenol yang ada dalam ekstrak walaupun tidak spesifik hanya polifenol saja akan tetapi substrat lainnya yang dapat dioksidasi oleh reagen Folin Ciocalteu.

Uji Aktivitas Penghambatan DPPH

Proses optimasi komposisi ekstrak pegagan dan *Cresintia kujete* pada penelitian ini dilakukan dengan melihat komposisi yang memiliki aktifitas penangkapan terhadap radikal bebas DPPH yang paling baik. Nilai yang menunjukkan aktifitas penangkapan radikal bebas DPPH disimbulkan dengan *Inhibition Concentration fifty* (IC_{50}). Menurut Yung-chi dan Prusoff (1973) menyatakan bahwa IC_{50} merupakan nilai yang menyatakan

konsentrasi inhibitor yang dibutuhkan untuk menghasilkan 50 per penghambatan persen dari reaksi enzimatis pada konsentrasi substrat tertentu. Oleh karena itu, aktifitas penangkapan radikal bebas DPPH yang terbaik adalah komposisi ekstrak yang menghasilkan nilai IC_{50} terkecil. Hal ini menandakan bahwa dengan konsentrasi rendah memiliki kemampuan menghambat 50% radikal bebas DPPH.

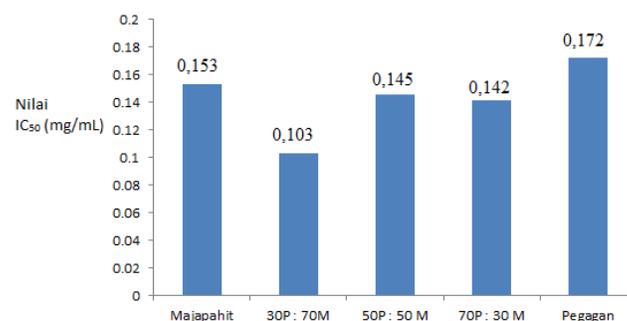
Hasil optimasi komposisi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) menunjukkan bahwa komposisi ekstrak etanol 30% pegagan (*Centella asiatica*) dan 70% majapahit (*Cresintia cujete*) menghasilkan slope paling besar dengan nilai sebesar dibandingkan hasil yang diperoleh dari komposisi ekstrak lainnya (Gambar 3).



Gambar 3. Hubungan Antara Konsentrasi Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica*) dan Majapahit (*Cresintia cujete*)

Gambar 3 menunjukkan bahwa komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella*

asiatica):majapahit (*Cresintia cujete*) = 30:70 memiliki hubungan dengan persamaan garis $y = 277,64x + 21,32$. Persamaan garis ini digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Berdasarkan persamaan garis tersebut, slope yang dihasilkan oleh komposisi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) = 30:70 terbesar dibandingkan komposisi lainnya. Menurut Marxen, dkk., (2007) menyatakan bahwa slope yang dihasilkan dapat digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan. Hal ini menyebabkan komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*) = 30:70 memiliki IC_{50} yang paling kecil (Gambar 4).



Gambar 4. Nilai IC_{50} pada Penangkapan Radikal Bebas DPPH (M: Majapahit (*Cresintia cujete*) dan P: Pegagan)

Gambar 4. Menunjukkan hasil IC_{50} berbagai komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia cujete*). Komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia*

cujete)= 30:70 memiliki IC_{50} sebesar 0,103 mg/mL. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa dengan konsentrasi ekstrak sebesar 0,103 mg/mL mampu menghambat 50% DPPH. Hasil ini juga menunjukkan bahwa komposisi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*) = 30:70 memiliki IC_{50} terkecil dan disimpulkan bahwa komposisi ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*)= 30:70 pegagan memiliki aktivitas terbaik sebagai sumber antioksidan alami.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*) memiliki kandungan total fenol yang ditunjukkan dengan adanya kemampuan mereduksi reagen Folin Ciocalteu menjadi berwarna biru. Hasil optimasi komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*):majapahit (*Cresintia kujete*)= 30:70 memiliki aktifitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH yang paling baik dibandingkan ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*). Nilai IC_{50} untuk komposisi ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) dan majapahit (*Cresintia kujete*)= 30:70 sebesar 0,103 mg/mL.

Pustaka

- Agarwal, M., and Chauhan, S., 2015, Anti-Mycobacterial Potential of *Crescentia kujete* (Bignoniaceae), *International Journal of Advanced Research in Botany (IJARB)*, 1 (1), 1-9
- Ahda, M., 2014., Pengaruh Variasi Konsentrasi Etanol sebagai Pengekstrak Kulit Manggis terhadap Kandungan Fenol Total, *Eksakta*, 14, (2), 61-70
- Das, N., Islam, M.E., Jahan, N., Islam, M.S., Khan, A., Islam, M.R., and Parvin, M.S., 2014, Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia kujete* leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14 (45), 1-9
- de Oliveira, A.M.F., Pinheiro, L.S., Pereira, C.K.S., Matias, W.N., Gomes, R.A., Chaves, O.S., de Souza, M.F.V., de Almeida, R.N., and de Assis, T.S., 2012, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Malvaceae Family Species, *Antioxidants*, 1, 33-43
- Ejelonu BC., Lasisi AA., Olaremu AG., and Ejelonu OC., 2011, The chemical constituents of calabash (*Crescentia kujete*), *African Journal of Biotechnology*, 10 (84), 19631-19636
- Herlina, 2010, Pengaruh Triterpen Total Pegagan (*Centella asiatica*(L)Urban) Terhadap Fungsi Kognitif Belajar dan Mengingat pada Mencit Jantan Albino(*Mus musculus*), *Jurnal Penelitian Sains*, 1006 (06), 20-24
- Kim, W-J., Kim, J., Veriansyah, B., Kim, J-D., Lee, Y-W., Oh, S-G., dan Tjandrawinata, R., 2009. Extraction of bioactive component from *Centella asiatica* using subcritical water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 48:211-216.

- Mahbub, K.R., Hoq, M.M., Ahmed, M.M., Sarker, A., 2011, In Vitro Antibacterial Activity of *Crescentia Cujete* and *Moringa Oleifera*, *Bangladesh Research Publication Journal*, 5 (4), 337-343
- Marxen, K., Vanselow, K.H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., and Hansen, U.P., 2007, Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements, *Sensors*, 7, 2080-2095
- Maurya, S., and Singh, D., 2010, Quantitative Analysis of Total Phenolic Content in *Adhatoda vasica* Nees Extracts, *IJPRIF*, 2, (4), 2403-2406
- Pietta P.G., 1999. Flavonoids antioxidants, *Review, J. Nat. Prod.*, 63, 1035
- Sugiat, D., Hanani, E., Mun'im, A., 2010, Aktifitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Metanol Dedak Beberapa Varietas Padi (*Oryza Sativa* L.), *Majalah Ilmu Kefarmasian*, VII (1), 24-33
- Sutrisno, E., Adnyana, I.K., Sukandar, E.Y., Fidrianny, I. dan Lestari, T., 2014, Kajian Aktivitas Penyembuhan Luka dan Antibakteri Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Serta Kombinasinya terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dari pasien Luka Kaki Diabetes, *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 16, (2), 78 – 82
- Walker, J.M., 2002, *The Protein Protocols Handbook*, 2nd Edition, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey
- Yung-chi, C., and Prusoff, W.H., 1973, Relationship between the inhibition constant (K_I) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of an enzymatic reaction, *Biochemical Pharmacology*, 22, (23), 3099-3108