

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAN METANOL DAUN
PEGAGAN MERAH (*Centella asiatica* (L.)Urban. var. Manoko)
SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETES SECARA *IN
VITRO***

**ACTIVITY OF ETHANOL AND METHANOL EXTRACTS FROM
RED PEGAGAN LEAVES (*Centella asiatica* (L.)Urban. var Manoko)
AS IN VITRO ANTIOXIDANT AND ANTI DIABETIC**

¹**T. Rachmatiah, ¹F. E. Putri, ²R. T. Dewi**

¹Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN), Jakarta

²Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong

*E-mail: tiahrachmatiah@yahoo.com

ABSTRAK

Pegagan, *Centella asiatica* (L.)Urban, adalah tanaman tropis dan subtropis yang biasa digunakan dalam pengobatan tradisional dan mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetes secara *in vitro* dari varietas pegagan *Centella asiatica* (L.) Urban. var. Manoko yang disebut pegagan merah. Bahan yang digunakan adalah daun pegagan merah yang diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko, Jawa Barat, Indonesia. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi serbuk daun pegagan merah dalam etanol 96%, etanol 70%, dan metanol. Aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak diuji dengan metode peredaman radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan aktivitas antidiabetesnya diuji berdasarkan penghambatan enzim α -glukosidase. Kandungan total fenol masing-masing ekstrak ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu dan dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat (EAG). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96%, etanol 70% etanol dan metanol daun pegagan merah memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH dengan nilai IC₅₀ berturut turut, 81,30; 65,66; 28,71 μ g/ml, aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dengan nilai IC₅₀ 127,42; 104,51; 222,65 μ g / ml, dan total fenol 9,17; 9,06; 7,51 mg/100 mg EAG.

Kata kunci: *antidiabetes, antioksidan, Centella asiatica, in vitro, pegagan merah*

ABSTRACT

Pegagan, *Centella asiatica* (L.) Urban, is a tropical and subtropical plant commonly used in traditional medicine and contains active compounds such as flavonoids, terpenoids and volatile oil. This study was conducted to determine the *in vitro* antioxidant and anti diabetic activities from the variety of *Centella asiatica* (L.) Urban. var. Manoko, called red pegagan. The material was red pegagan leaves obtained from Manoko Experimental Garden, West Java, Indonesia. Extracts were prepared by maceration of red pegagan leaves powdered in 96% ethanol, 70% ethanol, and methanol. The antioxidant activity of each extract was tested by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging method and its anti diabetic activity was tested by inhibition of the α -glucosidase enzyme. The total phenol of each extract was determined by Folin-Ciocalteu method and expressed as equivalent of the gallic acid. The results showed that the 96% ethanol, 70% ethanol and methanol extracts of red pegagan leaves have antioxidant activity to DPPH with IC₅₀ value respectively 81,30; 65,66; 28,71 μ g/ml, inhibition activity against α -glucosidase enzyme with IC₅₀ value 127,42; 104,51; 222.65 μ g /ml, and total phenol of 9.17; 9.06; 7.51 mg /100 mg equivalent of the gallic acid.

Keywords: *antidiabetic, antioxidant, Centella asiatica, in vitro, red pegagan*

PENDAHULUAN

Indonesia menjadi urutan keempat dalam jumlah penderita Diabetes Melitus (DM) terbanyak di dunia. Secara umum, hampir 80% prevalensi diabetes

mellitus adalah DM tipe 2 (Suyono S, 2010). Peningkatan glukosa darah pasca makan atau hiperglikemia *postprandial* juga menjadi penyebab

peningkatan kadar glukosa darah, karena hiperglikemia *postprandial* merupakan salah satu kelainan awal homeostasis glukosa yang berhubungan dengan DM tipe 2. Pengaturan diet merupakan cara yang efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah. Salah satu mekanisme untuk menurunkan kadar gula dalam darah adalah memperlambat atau menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan kerja enzim penghidrolisis karbohidrat seperti α -amilase dan α -glukosidase pada organ pencernaan (Slamet S, 2006). Timbulnya penyakit degeneratif seperti diabetes dapat disebabkan konsumsi makanan dengan kadar lemak tinggi yang akan mengalami oksidasi di dalam tubuh dan menghasilkan senyawa radikal yang dapat merusak membran sel sehingga merubah sistem permeabilitas sel. Di samping itu pengaruh lingkungan yang memicu terbentuknya radikal bebas dapat menyebabkan sistem antioksidan tubuh tidak dapat melindungi tubuh dari pengaruh radikal bebas, sehingga diperlukan antioksidan dari makanan yang dikonsumsi seperti sayuran, buah-buahan, teh, dan lain sebagainya. Namun, bila makanan tidak dapat mencukupi kebutuhan akan antioksidan maka dapat diatasi dengan pemberian suplemen antioksidan atau pemberian obat herbal secara tradisional (Mugiono Y, 1998).

Centella asiatica atau dikenal dengan nama pegagan merupakan tanaman yang telah lama digunakan sebagai tanaman obat di Indonesia dan Asia pada umumnya. Berdasarkan pengalaman dan penelitian, pegagan telah terbukti mempunyai khasiat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit antara lain: untuk menyembuhkan sariawan, obat kulit, penurunan panas, peluruh air seni, hipertensi, anemia, menambah daya ingat, dan lain-lain. Hasil penelitian pada ekstrak pegagan menunjukkan aktivitas antioksidan pada tikus (Kumar, MHV dan Gupta YK, 2003). Jenis pegagan yang banyak dijumpai adalah pegagan hijau dan pegagan merah. Pegagan merah (*Centella asiatica* (L.) Urban. var Manoko) dikenal juga dengan antanan kebun atau antanan batu karena banyak ditemukan di daerah bebatuan, kering dan terbuka sedangkan tempat yang disukai oleh pegagan hijau yaitu tempat agak lembab dan terbuka.

Di Indonesia pegagan merah dapat dijumpai di daerah Lembang-Bandung Barat. Kandungan kimia utama yang penting dan khas pada *C. asiatica* adalah senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu asiaticosida dan madekasosida, serta senyawa golongan triterpen yaitu asam asiatic dan asam madekasat (James JT, Dubery IA, 2009). Selain itu, *C. asiatica* juga merupakan sumber asam amino, flavonoid, essential oil, alkaloida dan senyawa fenolik seperti asam fenolat, dan tanin yang merupakan kontributor utama aktivitas antioksidan dari ekstrak pegagan. Ekstrak etanol dan metanol pegagan hijau juga dilaporkan sebagai antidiabetes karena mampu menekan peningkatan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi alloxan (Chauhan IP, et al, 2010). Penelitian mengenai variasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 96%, etanol 50% dan air daun pegagan hijau liar dari *Sainstech Farma Vol 8 No. 2, Juli 2015*

Bangladesh dengan metode DPPH juga pernah dilakukan (Rahman M, et al, 2013). Jenis pegagan hijau sudah banyak diteliti sedangkan pegagan merah belum banyak diteliti oleh karena itu, dilakukan penelitian aktivitas antioksidan dan antidiabetes pada pegagan merah *Centella asiatica* (L.)Urban. Var. Manoko untuk mengetahui aktivitasnya sebagai antioksidan dan antidiabetes secara *in vitro* dengan variasi pelarut etanol 96%, etanol 70% dan metanol. Aktivitas suatu ekstrak untuk menangkap radikal bebas dipengaruhi oleh senyawa-senyawa yang mengandung gugus hidroksil. Oleh karena itu dilakukan pengujian kandungan fenol total dari ekstrak daun pegagan merah yang ditentukan secara spektrofotometri dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu menggunakan asam galat sebagai pembanding.

METODOLOGI PENELITIAN

WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni sampai September 2014 di Laboratorium Fitokimia, Program Studi Farmasi, FMIPA, ISTN dan Pusat Penelitian Kimia LIPI, Serpong, Tangerang Selatan.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan yang diteliti adalah daun segar pegagan merah (*Centella asiatica* (L.) Urban. var Manoko) yang diperoleh dari Kebun Percobaan Manoko-Lembang, Bandung, Jawa Barat dan kemudian dikeringkan hingga menjadi serbuk.

Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan:

Serbuk daun pegagan merah sebanyak 21,6 gram, 28,1 gram dan 22,5 gram secara berurutan dimaserasi dalam etanol 96%, dalam etanol 70% dan dalam metanol, selama 24 jam, lalu masing-masing difiltrasi dengan kertas saring (Whatman). Filtrat diuapkan menggunakan penguap putar vakum pada suhu 40°C hingga pelarut habis menguap dan diperoleh ekstrak kering

Penapisan Fitokimia:

Pengujian kandungan kimia dilakukan pada serbuk pegagan merah yang meliputi identifikasi alkaloid dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff, identifikasi steroid/triterpenoid dengan cara Liebermann-Buchard, identifikasi saponin dengan pembentukan busa, identifikasi tanin dengan FeCl_3 dan identifikasi flavonoid dengan pembentukan kompleks AlCl_3 -flavonoid.

Aktivitas Antioksidan

Masing-masing ekstrak kering dibuat larutan dalam metanol dengan variasi konsentrasi 200; 100; 50 dan 25 $\mu\text{g/ml}$ dan kuersetin sebagai pembanding dengan konsentrasi 10; 5; 2,5 dan 1 $\mu\text{g/ml}$. Masing-masing larutan direaksikan dengan 500 μl larutan 0,1 M 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang merupakan radikal bebas, dan diinkubasi selama 30 menit diukur

serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 517 nm.

Pengujian Aktivitas Antidiabetes

Pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan secara *in vitro* dengan penghambatan enzim α -glukosidase menggunakan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida, pada suhu 37°C enzim α -glukosidase akan mengkatalisis reaksi pemecahan substrat menjadi D-glukosa dan *p*-nitrofenol yang berwarna kuning yang diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 400 nm. Enzim α -glukosidase yang digunakan berasal dari *Saccharomyces cerevisiae recombinant*.

Penentuan Total Fenol

Total fenol dari ekstrak pegagan merah ditentukan dengan metode Follin-Ciocalteu. Kandungan total fenol dalam ekstrak pegagan merah dinyatakan sebagai mg/g ekuivalen asam galat (EAG). Larutan ekstrak daun pegagan (500 μ l) dan larutan standar asam galat (10, 20, 30 dan 50 μ l) dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3,5 ml aquadest dan 250 μ l Follin-Ciocalteu dan dikocok, kemudian diinkubasi selama 8,5 menit, lalu ditambahkan 750 μ l Na₂CO₃ 20%, kemudian aquadest ditambahkan hingga volume menjadi 5 ml dan dikocok sampai homogen. Campuran kemudian didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm (Waterhouse AL, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penapisan fitokimia pada daun pegagan merah menunjukkan bahwa serbuk daun pegagan merah mengandung steroid, tanin, saponin, dan flavonoid (Tabel 1). Hasil ini diperkuat dengan dilakukannya penentuan kadar total fenol yang menunjukkan kandungan senyawa total fenol pada ekstrak etanol 96%, etanol 70% dan metanol daun pegagan merah secara berturut-turut yaitu $9,17 \pm 0,14$, $9,06 \pm 0,00$ dan $7,51 \pm 1,08$ mg/100 ml EAG (Tabel 2). Senyawa fenolik terutama polifenol bersifat antioksidan karena dapat mengadakan reaksi reduksi-oksidasi yang memungkinkan menjadi agen pereduksi, donor hidrogen, peredam oksigen singlet, dan pengkelat logam. (Rahman M, *et al*, 2013).

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Serbuk Daun Pegagan Merah

Senyawa kimia	Kandungan serbuk daun pegagan
Alkaloida	-
Steroid/triterpenoid	+
Tanin	+
Saponin	+
Flavonoid	+

Tabel 2. Kandungan Total Fenol Ekstrak daun pegagan merah

Ekstrak daun pegagan merah	Kandungan total fenol (mg/100 mg EAG)
Etanol 96%	$9,17 \pm 0,14$
Etanol 70%	$9,06 \pm 0,00$
Metanol	$7,51 \pm 1,08$

Hasil uji aktivitas peredaman radikal bebas dari ekstrak daun pegagan merah memperlihatkan bahwa ekstrak metanol mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% dan ekstrak etanol 70% dengan IC₅₀ 28,17 μ g/ml (Tabel 3). Sedangkan pada konsentrasi 100 μ g/ml dan 200 μ g/ml semua ekstrak tidak menunjukkan perbedaan nyata pada kemampuan untuk menangkap radikal bebas DPPH, pada konsentrasi ini penggunaan pelarut metanol, etanol 70% dan 96% memberikan persen inhibisi hampir sama yaitu 91-96%. Kemampuan peredaman radikal bebas berkorelasi dengan kandungan total fenol dari suatu ekstrak, akan tetapi pada ekstrak metanol daun pegagan merah memperlihatkan aktivitas peredaman DPPH lebih tinggi walaupun kandungan total fenolnya lebih rendah dibandingkan ekstrak etanol 70% dan ekstrak etanol 90%. Hal ini diduga senyawa fenol yang tersari dalam ekstrak metanol merupakan fenol bebas, sedangkan pada ekstrak etanol 70% dan etanol 96% selain fenol bebas tersari juga senyawa fenol dalam bentuk glikosidanya sehingga menurunkan kemampuan peredaman radikal bebas suatu senyawa fenol seperti flavonoid karena salah satu gugus OH tersubstitusi oleh gugus gula. Walaupun begitu ketiga ekstrak yang diuji dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan karena memberikan nilai IC₅₀ kurang dari 100 μ g/ml (28,17-81,30 μ g/ml), namun bila dibandingkan dengan nilai IC₅₀ kuersetin (6,10 μ g/ml) aktivitasnya jauh lebih rendah.

Tabel 3. Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Daun Pegagan Merah Terhadap DPPH

No.	Bahan Uji	Konsentrasi (μ g/ml)	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (μ g/ml)
1.	Ekstrak Etanol 96%	200	$93,54 \pm 0,35$	81,30
		100	$91,06 \pm 0,91$	
		50	$30,60 \pm 7,03$	
		25	$8,63 \pm 1,10$	
2.	Ekstrak Etanol 70%	200	$92,09 \pm 1,07$	65,66
		100	$91,20 \pm 0,72$	
		50	$45,26 \pm 9,02$	
		25	$16,68 \pm 10,55$	
3.	Ekstrak Metanol	200	$97,52 \pm 0,66$	28,17
		100	$96,83 \pm 0,01$	
		50	$57,87 \pm 4,24$	
		25	$35,38 \pm 2,58$	
4.	Kuersetin	10	$72,73 \pm 3,25$	6,10
		5	$57,77 \pm 5,03$	
		2,5	$18,87 \pm 34,86$	
		1	$6,44 \pm 9,11$	

Uji aktivitas penghambatan kerja enzim α -glukosidase dilakukan dengan menggunakan substrat *p*-nitrofenil- α -glukopiranosida. Senyawa yang dapat menghambat kerja enzim tersebut menunjukkan indikasi bahwa senyawa tersebut berpotensi sebagai antidiabetes (Artanti, N., dkk 2002). Substrat *p*-nitrofenil- α -

glukopiranosida pada suhu 37°C akan dikatalisis oleh enzim menjadi *p*-nitrofenol dan glukosa. Apabila ada senyawa yang dapat menghambat kerja enzim tersebut maka pelepasan *p*-nitrofenol dan glukosa akan berkurang. Pada uji ini digunakan suatu pembanding yang telah diketahui mempunyai aktivitas penghambat enzim α -glukosidase yaitu kuersetin. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak daun pegagan merah. memperlihatkan bahwa ekstrak etanol 70% mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% dan ekstrak metanol dengan IC₅₀ 104,51 μ g/ml (Tabel 4).

Tabel 4. Aktivitas Penghambatan Ekstrak Pegagan Merah terhadap Enzim α -glukosidase

No.	Bahan Uji	Konsentrasi (μ g/ml)	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (μ g/ml)
1.	Ekstrak Etanol 96%	200	79,54 \pm 9,64	127,42
		100	38,00 \pm 0,34	
		50	19,39 \pm 1,57	
		25	9,26 \pm 8,32	
2.	Ekstrak Etanol 70%	200	85,27 \pm 16,86	104,51
		100	40,06 \pm 0,20	
		50	31,17 \pm 10,13	
		25	31,17 \pm 10,13	
3.	Ekstrak Metanol	200	42,81 \pm 5,65	222,65
		100	21,49 \pm 8,71	
		50	1,88 \pm 2,65	
		25	0	
4.	Kuersetin	100	87,91 \pm 0,24	54,07
		50	47,62 \pm 2,48	
		25	26,11 \pm 2,12	
		12,5	14,08 \pm 2,59	
		6,25	10,61 \pm 1,53	

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96%, etanol 70% dan metanol daun pegagan merah mempunyai aktivitas peredaman radikal bebas DPPH dengan nilai IC₅₀ 81,30 μ g/ml, 65,66 μ g/ml dan 28,17 μ g/ml. Kandungan total fenol ekstrak etanol 96%, etanol 70% dan metanol dari daun pegagan yaitu 9,17 \pm 0,14 mg/100 mg EAG, 9,06 \pm 0,00 mg/100 mg EAG dan 7,51 \pm 1,08 mg/100 mg EAG. Ekstrak etanol 96%, etanol 70% dan metanol daun pegagan merah ini mempunyai aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dengan nilai IC₅₀ 127,54 μ g/ml, 104,51 μ g/ml dan 222,65 μ g/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Artanti, N., Hanafi, M., Kardono, L.B.S. 2002. Aktivitas Penghambatan Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dan Ekstrak *Taxus sumatrana* (Miquel) Terhadap Enzim α -Glukosidase. Prosiding Seminar Nasional V. Kimia Dalam Pembangunan, Yogyakarta, hal: 484-485.
- Chauhan, I.P., Pandey, Vinod, K., Singh, V. 2010. Anti Diabetic Effect of Ethanolic and Methanolic Extract *Centella asiatica* on Alloxan Induced diabetic rats. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol. 1(2): 233.

- James, J.T., Dubery, I.A. 2009. Pentacyclic Triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.)Urban. *Molecules*. Vol. 14: 3922-3941.
- Kumar, M.H.V., Gupta, Y.K. 2003. Effect of *Centella asiatica* on Cognition and Oxidative Stress in an Intracerebroventricular Streptozotocin Model of Alzheimer's Disease in Rats. *Clin Exp. Pharmacol. Physiol*. Vol. 30(5-60): 336-342.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Science Technology*. Vol. 26(2) : 211-219.
- Rahman, M., Hossain, S., Rahaman, A., Fatima, N., Nahar, T., Uddin, B., Basunia, M.A. 2013. Antioxidant Activity of *Centella asiatica* (Linn.)Urban: Impact of Extraction Solvent Polarity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Vol. 1(6): 27-32.
- Slamet, S. 2006. *Diabetes Melitus di Indonesia. Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam FKUI. hal: 1852 – 53.
- Suyono, S. 2010. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi kelima. Jilid ketiga. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia hal: 23.
- Waterhouse, A.L. 2002. Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Vol. 6: 11.11-11.18.