

## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **II.1. Tanaman pegagan**

Tanaman pegagan merupakan tanaman liar yang memiliki prospek yang cukup baik sebagai tanaman obat (Sutardi, 2017). Pegagan ini tumbuh di perkebunan, tepi jalan ladang, serta pematang sawah. Pegagan berasal dari daerah tropis dan subtropis yang tersebar luas di asia tenggara termasuk Indonesia, India, China, Jepang, Australia dan negara-negara lainnya (Widiyastuti, dkk., 2016). Pegagan ini bisa tumbuh di dataran rendah maupun tinggi, pada dataran tinggi bisa mencapai 2.500 mdpl (BPOM, 2016)

#### **II.1.1. Klasifikasi tanaman**

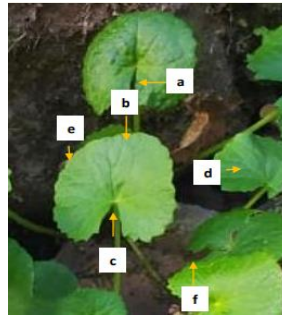
Kingdom : Eukaryota / Plantae  
 Division : Spermatophyta  
 Subdivisi : Angiospermae  
 Class : Dicotyledonae  
 Order : Apiales / umbelliflorae  
 Family : Apiaceae / umbelliferae  
 Subfamily : Mackinlayoideae/Hydrocotyle  
 Genus : Centella  
 Species : *Centella asiatica* (Harun dkk., 2019)

#### **II.1.2. Morfologi tanaman**

##### **II.1.2.1. Morfologi daun**

Daun pegagan berwarna hijau tua, memiliki atas permukaan yang lembut dan bagian bawahnya terdapat rambut halus berwarna putih, yang merupakan modifikasi dari jaringan epidermis yaitu trikoma daun. Daun bertangkai dengan panjang 10-15 cm. setiap tangkai daun pegagan yang tumbuh secara umum sebanyak 5 buah. Tepi daun yang

bergerigi, pangkal daun yang tumpu, ujung daun yang membulat, helaian daun yang oval, daging daun yang perkamen atau perkamenteus dan susunan tulang daun yang menjari.



**Gambar 2. 1 Daun** (Susetyani, dkk., 2020)

Keterangan:

- |                        |  |
|------------------------|--|
| a. Bentuk daun         | : Daun pegagan berbentuk ginjal, lebar dan bundar dengan garis tengah 1 – 7 cm.                                    |
| b. Ujung daun          | : Daun pegagan termasuk daun tunggal dan tersusun dalam roset yang terdiri atas 2 – 10 daun, kadang agak berambut. |
| c. Pangkal Daun        |  |
| d. Susunan tulang daun | : Daun pegagan memiliki pangkal daun yang membulat.  |
| e. Tepi daun           | : Tepi daun pegagan berkarakter memiliki lekukan atau beringgit sampai bergerigi, terutama ke arah pangkal daun.   |
| f. Daging daun         |  |

#### **II.1.2.2. Morfologi periol/tangkai**

Tangkai pegagan memiliki tekstur agak lunak dan sedikit berair serta tidak berkayu, tangkainya memiliki warna merah dan bagian ujung yang mendekati helaian daun berwarna hijau. Pada permukaan tangkai pegagan terdapat tonjolan sehingga jika diamati secara melintang tidak terlihat bulat. Tangkai pegagan memiliki panjang 50 mm (Susetyani, dkk., 2020)



**Gambar 2. 2 Tangkai** (Susetyani, dkk., 2020)

### **II.1.2.3. Morfologi stolon**

Pegagan merupakan ternak menahun tanpa batang, memiliki rimpang yang pendek dengan stolon-stolon yang banyak yang panjangnya sekitar 10-80 cm. tekstur stolon berair dan agak lunak, warna stolon hijau kemerahan (Susetyani, dkk., 2020)



**Gambar 2. 3 Stolon**(Susetyani, dkk., 2020)

### **II.1.2.4. Morfologi akar**

Akar pegagan merupakan akar tunggang. Akar lembaga yang terus tumbuh menjadi akar pokok yang bercabang-cabang menjadi akar-akar yang lebih kecil. Akar pegagan keluar dari setiap bonggol. Pada akar tersebut terdapat akar lembaga, cabang akar, pangkal akar, dan ujung akar.



### Gambar 2. 4 Akar (Dokumentasi pribadi)

#### II.1.2.5. Morfologi bunga

Bunga merupakan suatu bagian tumbuhan yang bertindak sebagai organ reproduksi karena secara umum terdapat benang sari atau kepala putik. Bunga secara langsung terlibat dalam daya tarik serangga penyerbuk, sehingga ciri morfologi dan fungsionalnya memiliki dampak besar terhadap keberhasilan reproduksi tanaman. Bunga pegagan berwarna putih atau merah muda. Bunga berupa payung tunggal atau 3-5 bersama-sama keluar dari ketiak daun. Tangkai bunga memiliki panjang 5-50 mm tidak lebih panjang dari tangkai daun.



**Gambar 2. 5 Bunga** (Susetyani dkk., 2020)

Keterangan:

1. Tangkai Bunga
2. Kelopak Bunga
3. Mahkota Bunga

#### II.1.3. Nama daerah

Pegagan memiliki beberapa nama di setiap daerah :

- |               |  |
|---------------|--|
| Sumatra       | : Pegagan (aceh), daun kaki kuda, daun penggaga, rumput kaki kuda, pegagan, kaki kuda (melayu), pegago, pugago (minangkabau)       |
| Jawa          | : Antanan, antanan gede, antanan gondrong (sunda), gagan-gagan ganggagan, kerok batok, panegowang, paniguwang, pacul gowang (jawa) |
| Madura        | : Gan gagan (madura)   |
| Nusa Tenggara | : Bebele (sasak), palduh   |
| Bali          | : Panggag, taidah (bali)   |

- Maluku : Sarowati, kori-kori (halmahera), kototidi manora (ternate) ;
- Sulawesi : Pegagan, wisu-wisu (makasar), cipubalawa, daun tungke-tungke (bugis), hisu-hisu (salayar)
- Papua : Sandanan, gogauke, dogauke (Widiyastuti, dkk., 2016)

#### **II.1.4. Kandungan senyawa kimia**

Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman pegagan yaitu asiatikosida, madekosida, brahmosida, gula, resin, vitamin B, tanin, garam mineral seperti natrium, kalium, kalsium, besi, magnesium, fosfor, pektin, asam amino dan minyak atsiri. Asiatikosida merupakan kandungan utama yang terdapat di dalam pegagan. Saponin merupakan salah satu kelompok senyawa glikosida dari sterol dan triterpen. Adanya aglikon steroid maupun aglikon triterpenoid serta adanya satu atau lebih gugus gula ini merupakan salah satu karakteristik dari kelompok senyawa saponin. Unsur utama yang ada di dalam saponin triterpen dalam pegagan (*Centella asiatica*) adalah asiatikosida dan madekassosida (Dewi, dkk., 2018).

Asiatikosida merupakan kandungan terbesar yang ada didalam glikosida triterpen. Asiatikosida termasuk kedalam derivat alfa kumarin dengan molekul gula yang terdiri dari 1 rhamnosa dan 2 glukosa. Asiatikosida memiliki peranan sebagai *wound healing* dengan mensintesis kolagen yang dapat mengurangi skin firmness, elastisitas dan memperbaiki skin appearance dengan cara memicu fibroblast. Fibroblast berperan penting dengan membuat luka tertutup, fibroblast akan berproliferasi dan bermigrasi ke jaringan granulosit yang diikuti dengan deposisi bertahap dari komponen spesifik matriks ekstrasel dan remodeling. Faktanya, fibroblast memicu neoangiogenesis, mensekresikan komponen matriks ekstrasel (glikosaminoglikan, proteoglikan, glikoprotein, kolagen) dan memproduksi beberapa sitokin dan faktor pertumbuhan (Febrianti dkk., 2016).

#### **II.1.5. Manfaat Tanaman**

Tanaman pegagan memiliki banyak manfaat seperti tanaman obat, sayur segar, lalapan, bahkan di buat jus. Menurut Penelitian ilmiah yang sudah dilakukan terdapat banyak khasiat dari herba pegagan ini yaitu efek pelindung tukak lambung, penambah nafsu makan, mempercepat penyembuhan luka, menurunkan tekanan dinding pembuluh darah, mengobati gigitan ular, menurunkan demam, menyegarkan badan, mengobati mimisan, mengobati batuk kering, meningkatkan kecerdasan, dan selain itu pegagan dapat mengobati penyakit gula (Tulung, dkk., 2021).

## **II.2. Simplisia**

### **II.2.1. Tahapan pembuatan simplisia**

Tahapan pembuatan simplisia meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan.

#### **II.2.1.1. Sortasi basah**

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran seperti batu, kerikil, rumput, dan bahan-bahan asing lainnya. Tanaman yang dipakai harus dalam keadaan sehat, segar dan tidak berpenyakit. Sehingga tanaman yang didapatkan layak untuk digunakan atau di konsumsi (Safrina and Priyambodo, 2018).

#### **II.2.1.2. Pencucian**

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran seperti debu dan tanah yang masih menempel terutama di bagian akar. Pencucian disarankan menggunakan air yang mengalir dan bersih seperti air sumur, air PAM dan sumber mata air. Namun pencucian juga bisa dilakukan dengan menggunakan sistem bertingkat. Bahan di cuci didalam ember 1, kemudian di pindahkan ke ember 2, dan seterusnya hingga air yang ada di ember pencucian jernih (Safrina and Priyambodo, 2018).

#### **II.2.1.3. Perajangan**

Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan. Pemotongan tanaman harus disamaratakan ukurannya agar hasil pengeringannya merata (Handoyo, 2020).

#### **II.2.1.4. Pengeringan**

Pengeringan adalah proses pemisahan air atau pengurangan air pada tanaman dengan bantuan energi panas. Tujuan dilakukannya pengeringan ini untuk mengurangi kandungan air agar bahan tumbuhan tidak mudah rusak, tidak ada pertumbuhan kapang dan mikroba, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama. Pengurangan air dapat menghentikan proses enzimatik sehingga dapat mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Ada 3 cara pengeringan yaitu : Dengan oven, dengan panas matahari langsung, dan di anginkan (Handoyo, 2020).

### **II.2.1.5. Sortasi Kering**

Sortasi kering dimaksudkan untuk membuang atau memisahkan bahan yang rusak karena terjadi pembusukan, bahan organik lain yang terikat dalam proses pengeringan, bahan an-organik yang mencemari seperti plastik, batu, dan tanah (Wahyuni dkk., 2014).

### **II.2.1.6. Pengepakan dan Penyimpanan**

Untuk menjaga stabilitas produk herbal maka digunakan wadah yang tidak mudah terkena air dan tidak lembab (Jayani, dkk, 2020). Penyimpanan simplisia dapat menjadi parameter yang sangat penting karena menjamin kualitas dari suatu produk herbal. Ada beberapa perubahan yang akan terjadi pada suatu produk herbal dalam masa penyimpanan diantaranya : terbentuknya senyawa rasemat, terjadinya hidrolisis, oksidasi, kenaikan temperatur, polimerasi, isomerasi serta peningkatan kelembapan karena produk dapat menyerap uap air disekitarnya (Lisboa, & Donzeles 2018).

## **II.3. Karakteristik simplisia**

Karakteristik simplisia dilakukan bertujuan untuk mengetahui spesifikasi simplisia yang diteliti. Spesifikasi dilakukan untuk mengetahui kejelasan bahan yang diteliti karena asal lingkungan tumbuh berpengaruh pada kandungan senyawa aktif (Handayani, 2017).

### **II.3.1. Penetapan susut pengeringan**

Susut pengeringan merupakan parameter spesifik yang dirancang untuk memberikan batasan maksimum jumlah senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan. Parameter susut pengeringan pada dasarnya adalah pengukuran zat yang tersisa setelah pengeringan pada suhu 105°C sampai berat sudah konstan yang hasilnya akan dinyatakan sebagai nilai persen (Utami dkk, 2017).

### **II.3.2. Penetapan kadar abu total**

Penetapan kadar abu dilakukan untuk mengetahui sisa zat yang tidak menguap dari suatu simplisia pada pembakaran. Prinsip dari penetapan kadar abu yaitu mengoksidasi semua zat organik pada suhu yang tinggi yakni 400-600°C. Pada penetapan kadar abu total, abu dapat berasal dari bagian jaringan tanaman sendiri atau dari pengotoran lain misalnya pasir atau tanah (Handayani, 2017).

$$kadar\ abu\ total = \frac{berat\ abu\ sisa\ pijar}{berat\ simplisia} \times 100\% \text{ (Mayasari and Laoli, 2018)}$$

### II.3.3. Penetapan kadar abu tidak larut asam

Penetapan Kadar Abu yang tidak larut Asam ditujukan untuk mengetahui jumlah pengotoran yang berasal dari pasir atau tanah silikat (Handayani, 2017).

$$\text{kadar abu tidak larut asam} = \frac{\text{berat abu sisa pijar}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \quad (\text{Mayasari and Laoli, 2018})$$

### II.3.4. Penetapan kadar sari larut etanol

Penetapan kadar sari larut etanol dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar senyawa yang larut dalam etanol dari suatu simplisia (Handayani, 2017).

$$\text{kadar sari larut etanol} = \frac{\text{berat ekstrak} \times 5}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \quad (\text{Mayasari and Laoli, 2018})$$

### II.3.5. Penetapan kadar sari larut air

Penetapan kadar sari yang larut air dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar senyawa yang larut dalam air dari suatu simplisia (Handayani, 2017).

$$\text{kadar sari larut air} = \frac{\text{berat ekstrak} \times 5}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \quad (\text{Mayasari and Laoli, 2018})$$

## II.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode pengujian untuk mengetahui kandungan senyawa kimia terutama kandungan metabolit sekunder didalam tumbuhan (Falabiba, E.N, dkk., 2018). Skrining fitokimia terdiri dari pengujian flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon, dan steroid/ triterpenoid.

### II.4.1. Alkaloid

Uji alkaloid merupakan reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya pergantian ligan pereaksi mayer yang mengandung kalium iodida dan merkuri klorida sehingga dari reaksi tersebut menghasilkan kalium-Alkaloid yang berupa endapan berwarna putih (Nofitarini and Hidayah, 2019).

Alkaloid dinyatakan positif pada penambahan mayer di tandai dengan timbulnya endapan berwarna putih, dan pada penambahan Dragendrof ditandai dengan timbulnya endapan merah (Muthmainnah B, 2017).



#### **II.4.2. Flavonoid**

Senyawa flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang dapat ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat berwarna merah, ungu, biru dan kuning yang ditemukan di dalam tumbuhan. Golongan flavonoid memiliki kerangka karbon yang terdiri atas dua cincin benzena tersubstitusi yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, bunga, buah dan biji. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker. Senyawa flavonoid diduga sangat bermanfaat dalam makanan karena berupa senyawa fenolik, senyawa ini yang bersifat antioksidan kuat (Wahyulianingsih, dkk., 2016). Flavonoid dinyatakan positif jika ditandai timbulnya perubahan warna merah, kuning, jingga, pada lapisan amil (Falabiba, E.N, dkk., 2018).

#### **II.4.3. Saponin**

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang mirip dengan sabun, sifat sabun ini disebabkan karena struktur saponin terdiri dari gula yang berikatan dengan aglikon yang memiliki rantai steroid atau triterpenoid. Saponin merusak membran sel dengan cara mengganggu stabilitas membran sel, hal ini yang mengakibatkan cairan intraseluler keluar dan sel menjadi lisis (Silviani and Nirwana, 2020).

#### **II.4.4. Tanin**

Tanin merupakan metabolit sekunder yang kompleks, sulit dipisahkan, sulit dikristalkan dan dapat mengendap pada protein dari larutannya. Tanin tersusun dari gugus hidroksil dan karboksil dengan berat molekul yang besar. Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan menonaktifkan enzim yang ada pada bakteri. Toksisitas tanin yaitu pembentukan ion logam pada tanin yang dapat merusak membran sel (Silviani and Nirwana, 2020).

#### **II.4.5. Kuinon**

Kuinon merupakan suatu senyawa yang memiliki warna dan mempunyai kromofor yang terdiri dari 2 gugus karbonil yang berkonjugasi dengan 2 ikatan rangkap (Mutrikah dkk., 2018). Kuinon dinyatakan positif jika ditandai dengan adanya filtrat berwarna merah setelah ditambahkan NaOH 1 N (Wijanarko., 2020).

#### **II.4.6. Steroid / triterpenoid**

Steroid dinyatakan positif jika ditandai dengan timbulnya warna biru atau biru hijau sedangkan adanya triterpenoid dinyatakan positif jika ditandai dengan timbulnya warna merah, merah muda atau ungu setelah ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard* (Mayasari and Laoli, 2018).

#### **II.5. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu komponen campuran dengan menggunakan pelarut yang berbeda kelarutan antara zat satu dengan zat lainnya. Pada dasarnya ekstraksi ini memiliki prinsip berpindahannya massa komponen zat ke dalam pelarut, yang mana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka yang kemudian terdifusi masuk ke dalam pelarut. Tujuan dari ekstraksi itu sendiri yaitu untuk menarik senyawa kimia yang ada di dalam tumbuhan. Ekstraksi merupakan salah satu metode yang penting untuk dilakukan karena dapat menghasilkan rendemen yang berfungsi sebagai indikasi keberhasilan pada proses ekstraksi (Apriliana dkk., 2019). Efektivitas ekstraksi bergantung pada kondisi percobaan yang digunakan seperti jenis pelarut, waktu ekstraksi, dan sampel pelarut (Badaring dkk., 2020). Secara garis besar ekstraksi dibedakan menjadi 2 macam yaitu ekstraksi padat-cair (*leaching*) dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair merupakan proses pemisahan solut dari padatan yang tidak dapat larut yang disebut inert (Aji, dkk., 2018).

Ada beberapa metode yang dapat dilakukan dalam ekstraksi, yaitu metode maserasi, metode perkolasi, metode refluks, dan metode soxhlet.

##### **II.5.1. Maserasi**

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang sering dilakukan karena caranya yang sangat mudah hanya dengan melakukan proses perendaman sampel bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil tanpa adanya pemanasan (Chairunnisa, dkk., 2019). Proses maserasi dilakukan selama 3 hari (3x24 jam) dan dilakukan pengadukan atau pengocokan pada setiap harinya (Susanty and Bachmid, 2016). Selama proses maserasi wadah harus tertutup rapat dan tersimpan pada suhu ruang yang tidak terkena cahaya atau harus berada di tempat yang gelap.

Pada saat proses perendaman bahan akan terjadi pemecahan dinding sel antara membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara bagian dalam sel dan luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut pada larutan organik

yang digunakan. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain yaitu suhu, jenis pelarut, waktu, perbandingan bahan dan pelarut, dan ukuran partikel.

Keuntungan metode maserasi yaitu : Terjaminnya zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak/ maserasi dapat juga menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam tanaman yang bersifat termolabil.

Kerugian metode maserasi yaitu : Waktu yang digunakan cukup lama, pelarut yang digunakan harus banyak dan besar kemungkinan beberapa senyawa dapat hilang (Chairunnisa dkk., 2019).

### **II.5.2. Perkolasi**

Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang selalu menggunakan pelarut baru sampai dengan sempurna. Perkolasi dilakukan pada suhu ruang. Proses perkolasi meliputi tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) yang terus menerus sampai di peroleh ekstrak (perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan) (DepKes RI, 2000).

Secara teori cara perkolasi lebih baik dari maserasi, karena dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisa yang telah dibasahi. Maserasi yang dimodifikasi dapat meningkatkan hasil ekstraksi (Handayani dkk., 2016).

### **II.5.3. Refluks**

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

Kelebihan metode refluks yaitu pelarut yang dipakai lebih sedikit sehingga lebih ekonomis namun dapat mengkstrak bahan lebih banyak dan dapat mengekstraksi sampel yang memiliki tekstur kasar serta tahan terhadap panas langsung. Kekurangan metode refluks yaitu butuh volume total pelarut yang besar dan banyak manipulasi operator (Supaya, 2019).

### **II.5.4. Soxhlet**

Soxhletasi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengisolasi minyak lemak. Pelarut cair yang sering digunakan pada metode soxhlet yaitu etanol, alkohol, n-Heksan, dll. Soxhlet merupakan metode ekstraksi padat-cair yang berkesinambungan, karena subtransi yang di ekstrak berada didalam campuran yang berbentuk padat maka metode ini di sebut dengan

ekstraksi padat-cair sedangkan disebut dengan berkesinambungan yaitu karena pelarut yang di pakai berulang-ulang dan sama sampai proses ekstraksi selesai (Triesty and Mahfud, 2017).

Prinsip dari metode soxhletasi yaitu ekstraksi yang dilakukan terus menerus menggunakan pelarut yang relative sedikit, jika ekstraksi sudah selesai maka pelarut akan diuapkan agar memperoleh ekstrak kental. Kelebihan metode soxhlet yaitu : Pelarut yang digunakan lebih sedikit dan dapat menyari zat aktif lebih banyak, kemudian kelemahan metode soxhlet yaitu : Pengerjaan yang cukup rumit, tidak dapat digunakan pada bahan yang memiliki tesktur kasar, dan tidak dapat digunakan pada bahan yang tidak tahan panas (Firyanto dkk., 2020).

## **II.6. Pemantauan ekstrak**

Pemantauan ekstrak merupakan suatu uji yang dilakukan untuk memastikan kebenaran kandungan senyawa aktif yang ada pada ekstrak. Pemantauan ekstrak di lakukan menggunakan pengujian KLT (kromatografi lapis tipis). KLT merupakan analisis kualitatif yang memisahkan komponen senyawa sampel berdasarkan perbedaan kepolarannya. KLT dilakukan untuk mencari fase gerak yang terbaik. Fase gerak yang digunakan yaitu nheksan, kloroform, etil asetat, dan nbutanol kemudian untuk fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF<sub>254</sub>. Bejana kromatografi di jenuhkan terlebih dahulu menggunakan fase geraknya (Dewi dkk., 2017). KLT dilakukan untuk mencari fase gerak yang terbaik. Fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan, kloroform, etil asetat, dan nbutanol kemudian untuk fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF<sub>254</sub>. Bejana kromatografi di jenuhkan terlebih dahulu menggunakan fase geraknya (Falabiba, E.N, dkk., 2018).

## **II.7. Penetapan Kadar**

### **II.7.1. Flavonoid total**

Analisis senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis. Kandungan flavonoid merupakan sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak. Penambahan AlCl<sub>3</sub> dapat membentuk kompleks, maka terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang menghasilkan warna lebih kuning. Tujuan dari penambahan kalium asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah tampak (Aminah dkk., 2017)

Kolorimetri adalah metode perbandingan menggunakan perbedaan warna. Metode kolorimetri mengukur warna suatu zat sebagai perbandingan. Biasanya cahaya putih digunakan sebagai sumber cahaya untuk membandingkan absorpsi cahaya relatif terhadap suatu zat. Salah satu alat yang digunakan untuk mengukur perbandingan warna yang tampak adalah kolorimeter. Kelebihan metode kolorimetri adalah kemudahannya dalam menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Ardiatma and Surito, 2019)

### **II.7.2. Fenolat total**

Senyawa fenolat adalah kelompok senyawa terbesar yang memiliki gugus hidroksil yang memiliki peran sebagai antioksidan alami pada tumbuhan. Senyawa fenolat memiliki satu (fenolik) atau lebih (polifenol) cincin fenolat, yaitu gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Pada umumnya senyawa fenolat alami merupakan polifenol yang membentuk senyawa ester, eter, atau glikosida. Senyawa fenolat memiliki potensi sebagai antioksidan hal itu disebabkan karena pembentukan radikal fenoksi yang stabil pada reaksi oksidasi (Setia Budi, 2018)

Didalam molekul polifenol memiliki banyak gugus fenol serta spektrum yang luas dengan kelarutan yang berbeda-beda. Secara tidak langsung senyawa ini memperlihatkan aktivasi sistem pertahanan endogen beserta proses modulasi signal seluler. Manfaat kesehatan yang dimiliki dari senyawa tersebut yaitu antioksidan, antimikroba dan antikarsinogenik (Diniyah and Lee, 2020)

### **II.7.3. Asiatikosida**

Senyawa penanda utama bagi *Centella asiatica* adalah golongan senyawa triterpenoid dan steroid, karena golongan senyawa tersebut merupakan komponen utama penyusun metabolit sekunder *Centella asiatica*. Beberapa senyawa spesifik yang terdapat dalam *Centella asiatica* dan memegang peran utama dalam aktivitas bioaktifnya, antara lain asam asiatik, asam madekasik dan asiatikosida. Asiatikosida berperan sebagai biomarker atau senyawa penanda utama dalam uji kontrol kualitas herba pegagan sebagai tanaman obat. Asiatikosida termasuk senyawa golongan steroid, sehingga perlu dilakukan penambahan reaksi penampak bercak sebelum tahapan analisis (Maruzy, 2020).

### **II.7.4. Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri UV-Vis merupakan pengukuran serapan cahaya pada molekul yang akan dianalisis. Spektrofotometri banyak digunakan untuk analisis kuantitatif (Eka dkk., 2018).

Prinsip kerja spektrofotometri yaitu cahaya dipancarkan dan diteruskan serta diserap oleh suatu larutan yang diperiksa dalam kuvet (Mahardika, & Tiwow, 2019). Metode spektrofotometri digunakan karena mempunyai banyak keuntungan, yaitu dapat menganalisis suatu zat dalam jumlah yang kecil, biaya murah, pengerjaannya mudah, sederhana, memiliki tingkat kepekaan analisis yang cukup tinggi, serta cukup sensitif dan selektif (Dewi, dkk., 2017). Pelarut yang sering digunakan pada spektrofotometri yaitu air, etanol, metanol dan n-heksana karena pelarut ini dapat menunjukkan transparan pada daerah UV (suhartati, 2017).

Pengukuran konsentrasi tertuju berdasarkan hukum *Lambert-beer* yang menyatakan hubungan antara banyaknya sinar yang diserap sebanding dengan konsentrasi unsur dengan rumus sebagai berikut :

$$A = \log I_0/I \text{ atau } A = a.b.c$$

A = absorbansi

A = koefisien serapan molar

b = tebal media cuplikan yang dilewati sinar

c = konsentrasi unsur dalam larutan cuplikan

$I_0$  = intensitas sinar mula-mula

I = intensitas sinar yang diteruskan (Yanlinastuti dkk., 2011).

#### **II.7.5. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

KCKT merupakan sebuah teknik analisis untuk mengidentifikasi zat /senyawa dan memisahkan serta mengukur jumlahnya dalam suatu larutan campuran. KCKT ini sering digunakan pada laboratorium kimia (*quality control*), makanan, limbah, biologi maupun farmasi. Secara umum KCKT digunakan untuk memisahkan suatu komponen zat didalam obat (Mubarok, 2021)

Prinsip kerja KCKT adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap komponen senyawa yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Dimana jumlah peak menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas peak menyatakan konsentrasi komponen dalam senyawa (Zainal dkk., 2019).

Keunggulan dari KCKT adalah memberikan pemisahan cepat, efisien dan resolusi tinggi. Pesatnya penemuan obat baru, komposisi obat yang semakin kompleks (lebih dari dua komponen zat aktif) (Alatas dkk., 2019)