

PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL FRAKSI n-HEKSAN, KLOOROFORM DAN METANOL HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Zahra Sugiani^{1*}, Purgiyanti¹, Kusnadi¹

Received: 09 Maret 2023 | Accepted: 22 April 2023 | Published online: 30 April 2023
UPT Publikasi dan Pengelolaan Jurnal Uniska-Daltonjurnal 2023

Abstrak Pegagan memiliki kandungan kimia diantaranya adalah senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu asiaticosida dan madecosida, saponin alkaloid, tanin dan senyawa golongan fenolik. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbedaan fraksinasi terhadap kadar total fenol herba pegagan. Metode yang digunakan untuk menarik senyawa fenol yang ada pada herba pegagan dengan maserasi dilanjutkan dengan fraksinasi dan menentukan kadar fenol total menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang diukur pada panjang gelombang 740nm. Hasil penelitian kadar fenol total yang terkandung paling tinggi yaitu pada fraksi kloroform yaitu sebesar 6,554 mgGAE/g diikuti fraksi metanol sebesar 4,979 mgGAE/g dan fraksi n-heksan sebesar 0,664 mgGAE/g. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform merupakan fraksi yang memiliki kadar fenol paling besar diantara fraksi yang lain.

Kata Kunci: Herba pegagan, Fraksinasi, Total fenol, Spektrofotometri UV-Vis



This is an open access article under the CC-BY 4.0 License. Copyright © 2023 by authors.

✉ Zahra Sugiani
zahrasugiani02@gmail.com

¹DIII Farmasi, Politeknik Harapan Bersama, Tegal, Indonesia

Abstract *Centella asiatica* has chemical constituents, including triterpene ester glycoside compounds, namely asiaticoside and madecoside, saponins, alkaloids, tannins, and phenolic group compounds. The purpose of this study was to determine the effect of differences in fractionation on the total phenolic content of *Centella asiatica*. The method used to extract the phenolic compounds present in *Centella asiatica* herb was by maceration followed by fractionation and determining the total phenol content using UV-Vis spectrometry measured at a wavelength of 740nm. The results of the study showed that the total phenolic content was highest in the chloroform fraction, which was 6.554% gallic acid equivalent/100 grams, followed by the methanol fraction and the n-hexane fraction. Based on this research, it can be concluded that the chloroform fraction is good and has the most amount of phenolic compounds.

Keywords: *Centella asiatica*, Fractionation, Total Phenol, Spectrophotometry UV-Vis

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang diyakini memiliki keanekaragaman hayati yang tak terbatas jumlah dan jenisnya. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman obat di dunia dan memiliki berbagai jenis tanaman yang berkhasiat sebagai obat tradisional. Adanya gaya hidup *back to nature* yang menjadi tren saat ini membuat masyarakat terinspirasi kembali untuk memanfaatkan bahan alam, termasuk tanaman



yang bisa digunakan sebagai obat herbal. Salah satu tanaman yang bisa digunakan sebagai pengobatan yaitu herba pegagan (Purdiyanti et al., 2019).

Herba merupakan seluruh bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai obat, meliputi daun, batang, bunga, dan akar (Astia, 2018). Pegagan memiliki berbagai khasiat diantaranya yaitu untuk meningkatkan fungsi kognitif, selain itu pegagan juga berkhasiat untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti batu ginjal, peluruh air seni, memar, infeksi usus, disentri, wasir, anti radang, pegal, rematik. Pegagan memiliki kandungan kimia diantaranya adalah senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu asiaticosida dan madecosida, senyawa golongan triterpen dan senyawa golongan fenolik (Wijoyo, 2012).

Senyawa fenol yang terdapat pada herba pegagan dapat ditarik menggunakan metode ekstraksi yang selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi merupakan ekstraksi dengan beberapa

pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda-beda (Septiana & Asnani, 2013). Pada penelitian kali ini dilakukan penetapan kadar fenol total dengan fraksinasi dari beberapa pelarut yaitu non polar dengan pelarut n-heksan, semi polar dengan pelarut kloroform dan polar dengan pelarut metanol. Pelarut tersebut dipilih berdasarkan tingkat kepolaritasannya yang dapat ditunjukkan lebih pasti dengan besarnya nilai konstanta yang dimiliki oleh pelarut, n-heksan sebagai pelarut non polar memiliki nilai indeks polaritas 0,1, pelarut kloroform sebagai pelarut semi polar memiliki nilai indeks polaritas sebesar 4,1 (Sundari et al., 2021) dan metanol sebagai pelarut polar memiliki nilai indeks polaritas sebesar 5,1 (Mangindaan & Lesnussa, 2013) semakin besar nilai konstanta maka pelarut semakin polar (Alfianingsih, 2016).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium farmasi Politeknik Harapan Bersama Kota Tegal pada bulan Agustus-Oktober 2022

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik (*Ohaus*), batang pengaduk, beaker glass 100 ml (*Iwaki pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), gelas ukur 100 ml (*Pyrex*), chamber, cawan porselin 100 ml (*Pyrex*), spatel logam, corong pisah (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), klem, statif, penjepit kayu, bunsen, kaki tiga, pipet volume (*Pyrex*), mikro pipet (*Dragonlab*), corong kaca, kuvet, water bath (*Thermostat water bath*), spektrofotometri uv-vis (*Thermo*).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi herba pegagan (*Centella asiatica*), etanol 96% (*Bratachem*), Aquadest, n-heksan (*Bratachem*), kloroform (*Bratachem*), FeCl_3 (*Bratachem*), H_2SO_3 (*Bratachem*), Asam asetat (*E.Merck*), metanol (*E.Merck*), Asam galat (*Brataco*), Reagen *Folin-ciocalteau* (*E.Merck*).

Pembuatan Serbuk Simplisia

Herba Pegagan dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk selanjutnya dijemur dibawah sinar matahari langsung. Setelah simplisia kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ukuran mesh 60 hingga didapat serbuk simplisia yang halus. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup rapat.

Pembuatan Ekstrak Herba Pegagan

Penelitian ini menggunakan pegagan sebanyak 300g kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Menyiapkan 300g sampel pegagan, tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 900ml, aduk selama 5 menit. Setelah 3 hari maserasi disaring dengan kain flanel, kemudian ekstrak diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu hitung rendemen ekstrak.

Identifikasi Senyawa Fenol

Menyiapkan ekstrak herba pegagan sebanyak 2ml masukan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl_3 sebanyak 5 tetes akan menghasilkan warna biru atau hijau kehitaman.



Fraksinasi

Ekstrak herba pegagan ditimbang 20g. larutkan dengan pelarut air 40ml, kemudian difraksinasi sebanyak 3 kali dengan n-heksan menggunakan corong pisah, fraksi n-heksan yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi n-heksan dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut kloroform masing-masing 40ml, fraksi kloroform yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi kloroform dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut methanol masing-masing 40ml, hasil yang didapat adalah fraksi methanol, kemudian residu diuapkan sampai pekat.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Memipet larutan induk asam galat 1000ppm sebanyak 1ml, kemudian masukan kedalam tabung reaksi tambahkan sebanyak 3,5 ml aquadest. Selanjutnya tambahkan 250 μ l Follin-Ciocalteau kocok hingga homogen dan inkubasi larutan selama 8 menit. Kemudian tambahkan Na₂CO₃ 20% sebanyak 750 μ l kocok hingga homogen, kemudian tambahkan volume akhir dengan aquadest hingga 5 ml dan larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Lakukan pembacaan Panjang gelombang menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang 730-790nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi herba pegagan dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:3 (b/v). pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena selektif tidak beracun, absorbansinya baik dan etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan setiap 24 jam sekali selama \pm 5 menit agar simplisia tersari dengan sempurna. Hasil ekstraksi yang didapat kemudian disaring untuk memisahkan antara maserat dengan residu, kemudian maserat hasil ekstraksi diuapkan diatas waterbath dengan suhu <50°C yang bertujuan

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Ditimbang sebanyak 10mg asam galat kemudian dilarutkan dalam 10ml methanol (1000 μ g/mL), selanjutnya larutan induk asam galat (1000ppm) dipipet sebanyak 20,50,100 dan 200 μ l kedalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung ditambahkan 3,5ml aquadest dan 250 μ l Na₂CO₃ 20% kocok sampai homogen, tambahkan volume akhir menjadi 5ml dengan aquadest. Larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 740nm, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

Penentuan Kandungan Total Fenol

Ditimbang masing-masing 50 mg sampel ekstrak kemudian dilarutkan dalam 50 ml dengan methanol (2000 μ g/mL). dipipet sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak sampel dan ditambahkan 3,5ml aquadest dan 0,25 ml Folin-Ciocalteau dan dikocok. Didiamkan selama 8 menit, kemudian ditambahkan 0,75 ml Na₂CO₃ 20% kocok sampai homogen. Larutan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 740nm. Pengukuran dilakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/100 gram sampel.

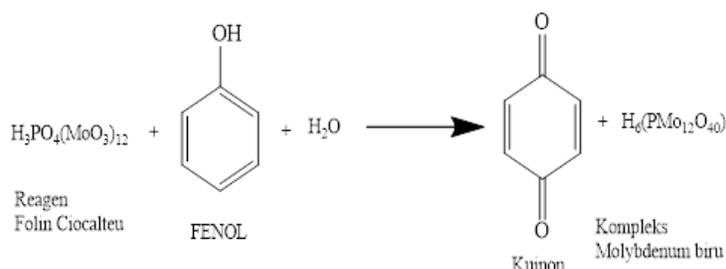
untuk menghilangkan pelarut untuk mendapatkan ekstrak kental. Berdasarkan hasil rendemen ekstrak herba pegagan diperoleh sebesar 23,51%. Setelah didapat ekstrak kental selanjutnya dilakukan uji bebas etanol.

Uji bebas pelarut etanol dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak tidak mengandung etanol. Uji bebas pelarut etanol dilakukan dengan cara mengambil ekstrak sebanyak 2 tetes kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ pekat dan asam asetat, kemudian dipanaskan diatas api bunsen. Ekstrak dikatakan bebas pelarut etanol jika tidak terdapat bau khas etanol atau ester pada ekstrak.



reduksi *Folin-Ciocalteu* oleh gugus hidroksil dari fenolik (Alfian & Susanti, 2012). Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik dalam sampel

maka semakin pekat warna biru yang dihasilkan (Wachidah, 2013).



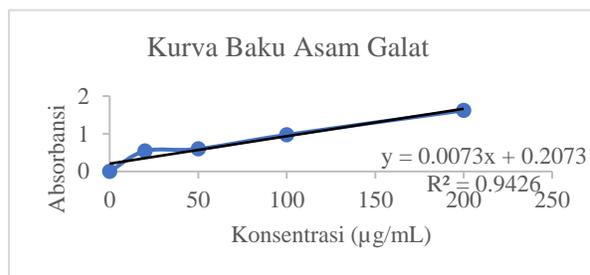
Gambar 2. Reaksi Senyawa fenol dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*

Standar fenolat yang digunakan adalah asam galat, karena asam galat sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Maka diperoleh kurva baku asam galat (tabel 2), Dari data konsentasi dan

absorbansi kurva baku asam galat maka didapati grafik (gambar 3).

Tabel 2. Data Kurva Baku Asam Galat

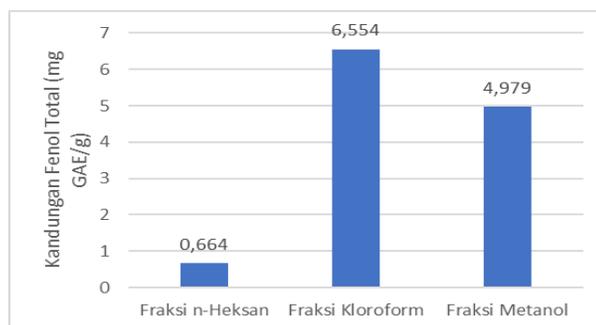
NO	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi rata-rata
1	0	0
2	20	0,542
3	50	0,597
4	100	0,972
5	200	1,621



Gambar 3. Grafik Kurva Baku Asam Galat

Dari hasil pada gambar 3, telah dilakukan pengamatan absorbansi kurva baku asam galat yang dilakukan pada Panjang gelombang 750nm didapat persamaan regresi asam galat adalah $y = 0,0073x + 0,2073$ dengan harga koefisien korelasi (r) adalah 0,9426. Kandungan fenol total

yang terdapat dalam tumbuhan dapat ditentukan dengan spektrofotometri dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dan dinyatakan dalam GAE (*gallic acid equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam 100 gram sampel.



Gambar 4. Kandungan Fenol total Masing-masing Fraksi

Berdasarkan grafik pada gambar 4 diatas hasil penentuan kadar total fenol pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol menunjukan bahwa kandungan senyawa fenol yang terdapat pada fraksi n-heksan sebanyak 0,664 mg GAE/g, fraksi kloroform sebanyak 6,554 mg GAE/g, dan fraksi metanol sebanyak 4,979 mg GAE/g. Kadar fenol total yang paling tinggi yaitu ditunjukkan pada fraksi kloroform sebanyak 6,554 mg GAE/g, artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 6,554 mg asam galat.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap penentuan kadar fenol total fraksi n-heksan, kloroform dan metanol menunjukan semua fraksi mengandung senyawa fenol. Kadar total fenol yang terkandung pada herba pegagan berdasarkan perbedaan fraksinasi secara

Kadar fenol total yang paling banyak tidak selalu terdapat pada pelarut polar, namun tergantung dari struktur senyawa fenol yang dijumpai (Mulyanita et al., 2019). Pada pelarut semi polar (kloroform) mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Jadi, dapat dikatakan bahwa fraksi kloroform mampu mengekstraksi senyawa fenol pada herba pegagan lebih efektif karena memiliki kandungan total fenol yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi metanol.

berurutan dari yang tertinggi yaitu fraksi kloroform sebesar 6,554 mg GAE/g, fraksi methanol sebesar 4,979 mg GAE/g, dan fraksi n-heksan sebesar 0,664 mg GAE/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*hibiscus sabdariffa linn*) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*, 2(1).
- Alfianingsih, S. (2016). Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan, Kloroform dan Etanol Dari Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*nephelium lappaceum*, 1.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 152(3), 28.
- Mangindaan, R. E. P., & Lesnussa, M. S. P. (2013). Aktivitas Sitotoksik Dari Ekstrak Bintang Ular (*Ophiomastix annulosa*) Terhadap Perkembangan Awal Embrio Bulu Babi (*Tripneustes gratilla*). *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 1(3), 18.
- Mulyanita, Djali, M., & Setiasih, I. S. (2019). Total Fenol, Flavonoid dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Limbah Kulit Lidah Buaya (*Aloe chinensis baker*). *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 5(2), 100.
- Purdiyanti, Purba, A. V., & Winarno, H. (2019). Penentuan kadar fenol total dan uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica L. Urban*) dan buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa(Scheff.) Boerl.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(2), 40–45.
- Septiana, A. T., & Asnani, A. (2013). Antioydan activity of *Sargassum duplicatum* seaweed extract. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 14(2), 79–86.
- Sundari, R. S., Rizkuloh, L. R., & Mardianingrum, R. (2021). Pengaruh Perbedaan pelarut Terhadap Kadar Fenol Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Gadung (*Dioscorea Hispida Dennst*). *Jurnal Biopropal Industri*, 12(1), 43–49.
- Wachidah, L. N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kadar Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Pajiroto (*Medinilla speciosa Blume*).
- Wijoyo, Ir. Padmiarso M. (2012). Cara Tuntas Menyembuhkan Diabetes dengan Herbal.



Jakarta : Pusaka Argo Indonesia.

