

Autentikasi *Centella asiatica* (L.) Urb. (Pegagan) dan Adulterannya Berdasarkan Karakter Makroskopis, Mikroskopis, dan Profil Kimia

Authentication of *Centella asiatica* (L.) Urb. (Pegagan) and Its Adulterant Based on Macroscopic, Microscopic, and Chemical Profiling

Anshary Maruzy,^{*} Mery Budiarti, Dyah Subositi

Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional,
Badan Litbang Kesehatan, Kemenkes RI, Tawangmangu, Indonesia

*E-mail: un_sorry03@yahoo.com

Diterima: 21 Mei 2019

Direvisi: 25 September 2019

Disetujui: 24 Januari 2020

Abstrak

Pegagan atau *Centella asiatica* (L.) Urb. secara empiris digunakan sebagai tanaman obat dan secara ilmiah dapat digunakan sebagai antihipertensi berdasarkan hasil Sainifikasi Jamu. Pemanfaatan dan permintaan simplisia *C. asiatica* sebagai bahan baku jamu tanpa diikuti dengan upaya budidaya dapat membuka peluang pemalsuan atau penggunaan jenis tumbuhan yang salah. *Hydrocotyle verticillata* dan *Merremia emarginata* termasuk alternatif tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pemalsu simplisia *C. asiatica*. Fokus penelitian ini adalah studi perbandingan karakter makroskopis, mikroskopis dan profil senyawa kimia dari *C. asiatica*, *H. verticillata*, dan *M. emarginata*. Tahapan kegiatan pada penelitian ini meliputi pemilihan sampel secara purposive sampling, yaitu dari wilayah Jawa Barat (Bogor), Jawa Tengah (Tawangmangu) dan Jawa Timur (Malang), pengumpulan data karakter makroskopis dan mikroskopis, dilanjutkan dengan penentuan profil senyawa kimia dengan metode kromatografi lapis tipis serta kuantifikasi kandungan senyawa asiatikosida yang merupakan senyawa penanda spesies *C. asiatica*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakter pembeda yang unik dan mudah secara makroskopis antara *Centella asiatica* dengan spesies potensi adulteran *Hydrocotyle verticillata* adalah bentuk daun, sedangkan *C. asiatica* dengan *Merremia emarginata* adalah karakter tipe munculnya daun. Karakter bentuk daun simplisia antara *C. asiatica* dan *H. verticillata* dapat dijadikan pembeda yang jelas. Karakter anatomi dan fragmen serbuk yang dapat dijadikan pembeda antara *C. asiatica* dan *H. verticillata* adalah keberadaan empulur pada tangkai dan stolon, tipe stomata, dan adanya trikoma. Sedangkan profil senyawa kimia dan kuantitas senyawa asiatikosida dari ketiga spesies tersebut berbeda secara signifikan. Ketiga spesies tumbuhan tersebut dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) memiliki jumlah spot yang berbeda dan senyawa asiatikosida hanya dapat dideteksi dari simplisia *C. asiatica*.

Kata kunci: Autentikasi; Pegagan; Adulteran

Abstract

Pegagan or *Centella asiatica* (L.) Urb. empirically used as medicinal plant and scientifically can be used as antihypertension based on the results of the Jamu Sainification. Raw materials from *C. asiatica* have the potential to occur adulteration or incorrect use of plants species. There are two species of plants that have the potential to become adulterants of *C. asiatica*, namely *Hydrocotyle verticillata* and *Merremia emarginata*. Thus, the purpose of this study is to authenticate from Pegagan by comparing the macroscopic, microscopic, and chemical profiles of *C. asiatica*, *H. verticillata*, and *M. emarginata*. The method of data collection is done by purposive sampling using form instruments to record macroscopic and microscopic characters, while the chemical profiles are tested using thin layer chromatography methods to determine the content of asiaticosides in both potential adulterants species. The research was conducted at three sampling points: Central Java (Tawangmangu), West Java (Bogor), and East Java (Malang), while for laboratory research activities carried out at B2P2TOOT, Tawangmangu. The results showed macroscopically unique and easy distinguishing characters between *C. asiatica* and potential adulterant species *H. verticillata* is a leaf shape, whereas *C. asiatica* with *M. emarginata* are leaf-type appearance characters. The character of the simplicia leaf shape between *C. asiatica* and *H. verticillata* can be a distinct differentiator characters. Anatomical characters and powder fragments that can be used as a differentiator characters between *C. asiatica* and *H. verticillata* are the presence of pith on the stalk and stolon, the type of stomata, and the presence of trichomes. Authentication of simplicia powder of *H. verticillata* as an adulterant potential of *C. asiatica* with TLC, can be easily known by the absence of asiaticosides in these simplicia so that *H. verticillata* cannot be a substitute species for *C. asiatica*.

Key words: Authentication; *Centella asiatica*; Adulterant

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi dan termasuk ke dalam wilayah Malesia. Wilayah Malesia (Indonesia, Malaysia, Filipina, dan New Guinea) memiliki 10 % dari keseluruhan jumlah jenis tumbuhan berbunga di dunia.¹ Indonesia merupakan negara dengan jumlah sekitar 80% tumbuhan obat dari jumlah total tumbuhan obat di dunia.²

Indonesia memiliki lebih dari 45.000 jenis tumbuhan tingkat tinggi termasuk paku-pakuan, atau sekitar 25.000 hingga 30.000 jenis tumbuhan berbunga di Indonesia.^{2,3} Selain itu, Pulau Jawa memiliki sekitar 4.600 jenis tumbuhan berbunga.¹ Pulau Jawa memiliki jumlah suku tumbuhan sebanyak 238 suku tumbuhan. Salah satu suku tersebut adalah Apiaceae.

Centella asiatica (L.) Urb. atau pegagan merupakan tanaman yang termasuk ke dalam suku Umbelliferae atau Apiaceae.⁴ *C. asiatica* terdistribusi di Asia Tenggara dan sebagian kawasan subtropis.⁵ Secara empiris telah banyak digunakan sebagai salah satu tanaman untuk bahan obat tradisional dalam kehidupan masyarakat di Indonesia.⁶⁻⁸ Selain itu, telah banyak produk-produk obat yang mengandung bahan dari *C. asiatica* di Indonesia.

Khasiat secara ilmiah dari *C. asiatica* telah banyak diteliti pada hewan coba dan menyimpulkan bahwa *C. asiatica* dapat digunakan sebagai antioksidan, antigastritis, antitumor, penyembuhan luka, imunomodulator, antiproliferasi, dan sebagainya.⁹⁻¹⁶ Selain itu, dalam hasil Sainifikasi Jamu disimpulkan bahwa *C. asiatica* merupakan salah satu komponen ramuan antihipertensi.^{17,18} Dalam usaha Sainifikasi Jamu dan menjaga kualitas bahan baku tumbuhan obat yang mengandung *C. asiatica*, ada beberapa tahapan yang harus dilakukan, salah satu yang terpenting adalah autentikasi dari bahan baku tumbuhan obat, secara makroskopis, mikroskopis, dan profil kimia.

Bahan baku dari *C. asiatica* berpotensi terjadi pemalsuan atau salah dalam

penggunaan jenis tumbuhan. Potensi pemalsuan dan salah penggunaan tumbuhan obat dapat terjadi akibat dari persamaan nama daerah dan kesamaan morfologi vegetatif.¹⁹ di Indonesia, tumbuhan *Hydrocotyle verticillata* merupakan tumbuhan yang sering diidentifikasi sebagai pegagan atau *C. asiatica*. Selain itu juga, *Merremia emarginata* merupakan tumbuhan lain yang berpotensi menjadi tumbuhan pemalsu dari *C. asiatica*. Berdasarkan penelitian Mansur nama daerah dari *M. emarginata* adalah pegagan utan dan memiliki morfologi yang sama dengan *C. asiatica*.²⁰

Dampak dari salah penggunaan tanaman obat atau pemalsuan adalah pengaruh yang berbeda terhadap penyakit yang dituju atau bahkan tidak ada pengaruh, atau dapat saling melengkapi.¹⁹ Oleh karena itu untuk mendapatkan bahan baku *C. asiatica* yang standard, maka perlu adanya data autentikasi makroskopis, mikroskopis, dan profil kimia dari jenis-jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai adulteran dari *C. asiatica*, yaitu *H. verticillata* dan *M. emarginata*.

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan autentikasi dan membandingkan karakter makroskopis, mikroskopis, dan profil kimia dari *C. asiatica*, *H. verticillata*, dan *M. emarginata*. Selain itu, dilakukan juga penetapan kadar asiatikosida yang merupakan senyawa penanda *C. asiatica*.

METODE

Penelitian ini dilakukan di dua tempat, yaitu di lapangan dan di laboratorium, untuk di lapangan dilakukan secara eksploratif-kualitatif sedangkan di laboratorium dilakukan pengamatan (observasi) secara kualitatif dan kuantitatif.

Pengambilan sampel penelitian dilakukan pada tiga lokasi, yaitu Bogor (Jawa Barat, Tawangmangu (Jawa Tengah, dan Malang (Jawa Timur). Ketiga lokasi tersebut merupakan area budidaya dari ketiga jenis tanaman. Pelaksanaan pengamatan dilakukan di laboratorium Sistematika Tumbuhan, Galenika, dan

Instrumentasi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu selama 8 bulan dari bulan Februari-September 2017.

Alat dan bahan

Peralatan dalam pengamatan karakter mikroskopis menggunakan *slide glass*, *cover glass*, gelas ukur, gelas petri, pipet tetes, botol fiksasi, mikroskop, *hotplate*, mikrotom, *Munsell Color Charts*. Profil senyawa kimia dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis densitometer Linomat 5, scanner dan visualizer CAMAG.

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain spesimen tanaman *C. asiatica*, *H. verticillata*, dan *M. emarginata* berupa, simplisia, serbuk, dan tanaman hidup yang telah dideterminasi di B2P2TOOT, Tawangmangu. Pada pengamatan makroskopis dan mikroskopis sampel yang digunakan berasal dari 3 lokasi (Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur), sedangkan sampel untuk profil kimia hanya berasal dari 1 lokasi (Jawa Tengah). Spesimen herbarium telah teridentifikasi oleh Peneliti B2P2TOOT dan tersimpan di Herbarium Tawangmanguense, B2P2TOOT. Selain itu, bahan adalah metanol pa, etanol pa, dan kloroform pa dari Merck, serta akuabides (Ikaphamapindo) dan reagen Liebermann-Burchard.

Prosedur kerja

Cara pengumpulan data

Pengumpulan data karakter makroskopis dilakukan di lapangan dengan menggunakan instrumen berupa form isian pengamatan karakter makroskopis, dan di laboratorium menggunakan form pencatatan pengamatan karakter mikroskopis. Untuk pengumpulan data profil kimia menggunakan instrumen TLC *visualizer*.

Penentuan profil senyawa kimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Profil senyawa kimia dilakukan menggunakan metode KLT pada plat silika GF₂₅₄. Masing-masing sampel ditimbang

sebanyak 100 mg, dilarutkan dengan etanol 10 mL, dan dikocok dengan sonikator. Filtrat dipisahkan dengan menggunakan *sentrifuge*. Masing-masing filtrat sampel ditotolkan sebanyak 2 µL dengan alat Linomat 5 pada plat silika GF₂₅₄, dilanjutkan dengan elusi menggunakan kloroform: metanol:air (65:25:4) hingga batas. Selanjutnya hasil elusi disemprot dengan reagen penampak bercak seperti reagen Liebermann-Burchard dan dianalisis lebih lanjut, difoto dengan visualizer pada sinar tampak dan UV 366 nm.

Penetapan kadar senyawa asiatikosida

Prosedur penetapan kadar asiatikosida merujuk pada penelitian Pramono (2004) dengan sedikit modifikasi. Larutan baku asiatikosida dengan kadar 0,15 µg/µL dalam etanol, ditotolkan menggunakan *syringe* dengan volume 1, 2, 3, 4 dan 5 µL pada plat silika gel GF₂₅₄. Kemudian dilanjutkan dengan penotolan larutan sampel pengujian masing-masing sebanyak 15 µL.²¹

Sampel pengujian dipersiapkan dengan menimbang 100 mg serbuk dan ditempatkan pada botol laboratorium yang berbeda, kemudian ditambahkan 10 mL etanol pa. Selanjutnya, dilakukan homogenasi menggunakan ultrasonikator selama 15 menit tanpa perubahan suhu dan diapakan semalam. Sampel yang sudah terenap diambil sebanyak 2 mL kemudian diuapkan di oven pada suhu 40°C hingga pelarut menguap. Setelah kering, berikutnya ekstrak yang dihasilkan dilarutkan dalam 4 mL metanol pa, kemudian dilakukan homogenasi kembali selama 15 menit menggunakan ultrasonikator tanpa perubahan suhu. Sampel pengujian siap untuk digunakan.

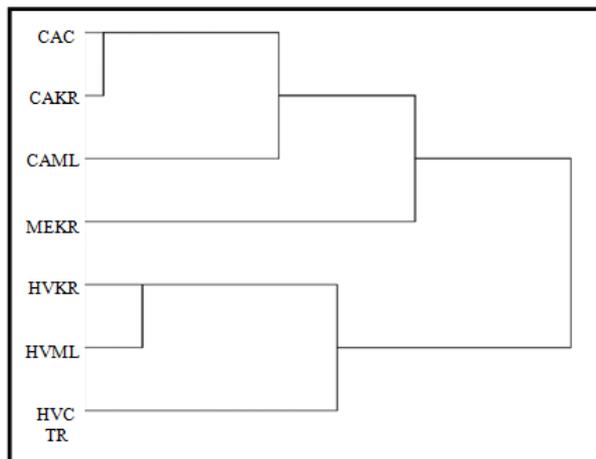
Pengembangan sampel sama dengan penentuan profil senyawa kimia yaitu dilakukan dalam campuran fase gerak kloroform : metanol : air (65:5:4) hingga 0,5 cm dari batas akhir. Selanjutnya, dilakukan penyemprotan menggunakan reaksi penampak bercak Liebermann-Burchard, dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Luas area dan nilai R_f masing-

masing bercak ditentukan pada panjang gelombang optimum asiaticosida, yaitu 510 nm menggunakan *scanner*. Bercak asiaticosida standar dianalisis lineritasnya, sehingga selanjutnya kadar asiaticosida sampel dapat ditetapkan melalui persamaan yang diperoleh. Plat didokumentasikan dengan visualizer pada sinar tampak dan UV 366 nm agar dapat diperoleh kromatogramnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan makroskopis

Hasil pengelompokkan dengan menggunakan IBM SPSS Ver. 22 (Gambar 1), terlihat jelas secara morfologi kelompok *C. asiatica* berada satu *cluster* utama dengan *M. emarginata*, sedangkan kelompok *H. verticillata* berada pada *cluster* lainnya. Hal tersebut didukung bahwa secara morfologi bentuk daun *cluster C. asiatica-M. emarginata* berbentuk ginjal, sedangkan bentuk daun *cluster H. verticillata* berbentuk *orbicular* atau bundar (Gambar 2).



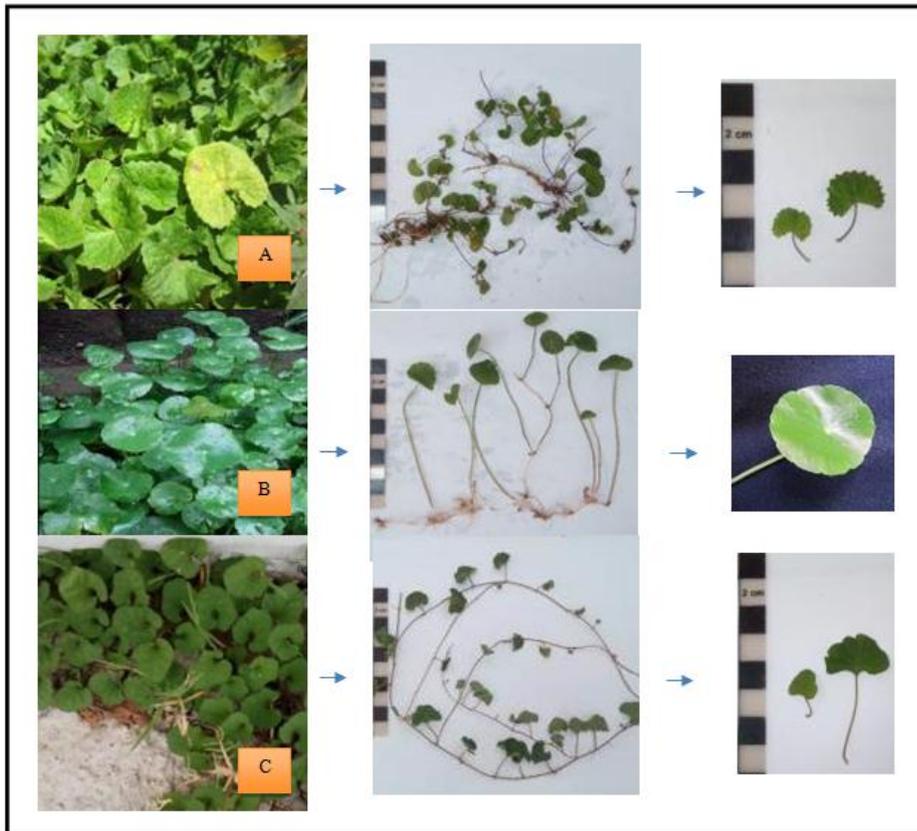
Gambar 1. Clustering spesies berdasarkan kemiripan karakter (keterangan: CACTR: *C. asiatica* Citeureup, CAKRA: *C. asiatica* Karanganyar, CAMLG: *C. asiatica* Malang, MEKRA: *M. emarginata* Citeureup, HVKRA: *H. verticillata* Karanganyar, HVMLG: *H. verticillata* Malang, HVCTR: *H. verticillata* Citeureup)

Secara kualitatif, karakter bentuk daun dapat dijadikan pembeda sangat jelas antara *H. verticillata* dengan *cluster C. asiatica-M. emarginata*. Di lain hal, terlihat jelas dalam *cluster* utama *C. asiatica-M. emarginata*,

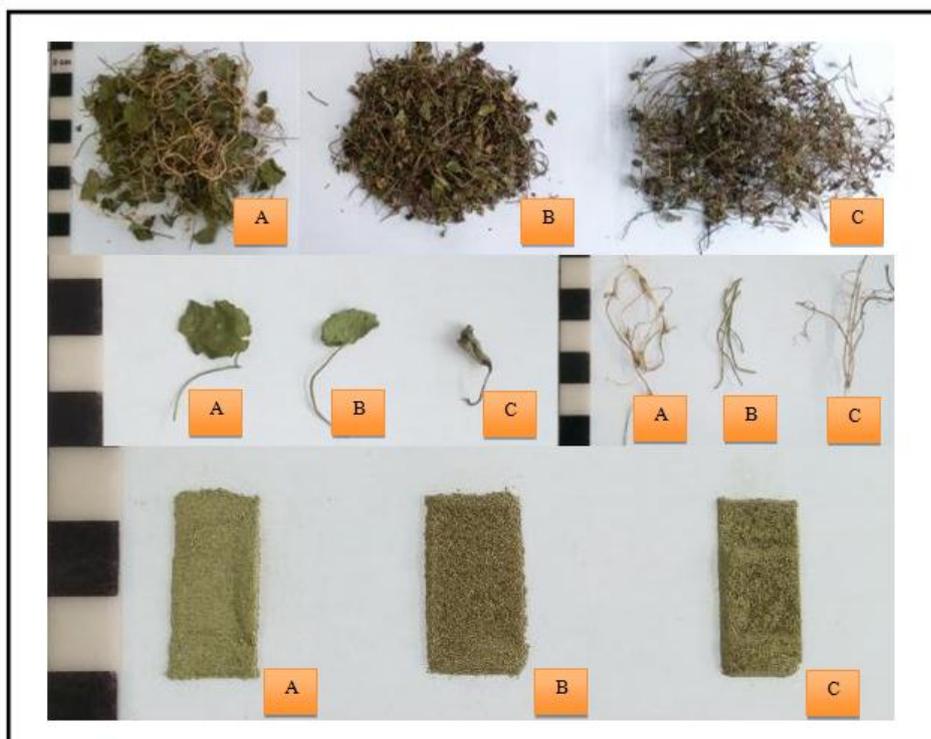
terdapat pemisahan cluster antara kelompok *C. asiatica* (dari 3 daerah) tersendiri dengan *M. emarginata*. Hal tersebut didukung dengan adanya perbedaan pada bentuk ujung daun, tepi daun, warna daun, warna stolon, panjang stolon, panjang tangkai daun, serta ukuran helaian daun (Gambar 2). Dengan demikian secara kualitatif bentuk ujung daun dan tepi daun jelas dapat dijadikan sebagai karakter pembeda yang kuat.

Hasil pengamatan karakter kualitatif menunjukkan bentuk morfologi yang berbeda antara *C. asiatica* dengan dua jenis potensi adulterannya, yaitu *H. verticillata* dan *M. emarginata*. Bentuk daun *C. asiatica* merupakan bentuk ginjal, sedangkan *H. verticillata* berbentuk *orbicular*. Selain itu, *M. emarginata* berbentuk ginjal namun berbeda pada bentuk ujung daun yang seringkali membelah (*emarginate*) yang tidak ditemui pada *C. asiatica* (Gambar 2).

Hasil pengamatan secara kualitatif terhadap simplisia ketiga jenis tumbuhan subjek penelitian menunjukkan bahwa simplisia *C. asiatica* lebih padat dibandingkan simplisia *H. verticillata* dan *M. emarginata*. Selain itu, terlihat jelas daun *C. asiatica* masih berbentuk bergerigi, berbentuk seperti ginjal, tetapi sering kali terlipat atau mengerut, warna daun hijau kekuningan, tekstur daun kasar serta agak tebal, memiliki bau yang tidak terlalu tajam, dan warna stolon coklat gelap. Di lain hal, simplisia *H. verticillata* memiliki daun berbentuk seperti perisai (*peltate*), tepi daun bulat beringgit, warna daun hijau, tekstur daun halus dan tipis, memiliki bau yang sedikit tajam, serta warna stolon putih. *M. emarginata* memiliki daun yang menggulung dan mengerut, berwarna coklat, tekstur daun kasar, memiliki bau yang tidak terlalu tajam, dan warna stolon coklat muda. Warna serbuk dari ketiga jenis tersebut masing-masing adalah *C. asiatica* berwarna kuning kecoklatan (5Y.5/4), *H. verticillata* berwarna hijau kekuningan (5GY.7/2), dan *M. emarginata* berwarna hijau kekuningan (2.5GY.5/2) (Gambar 3).

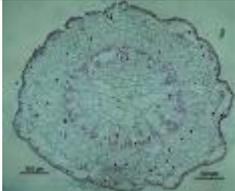
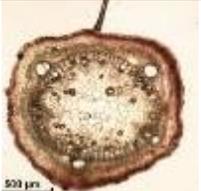
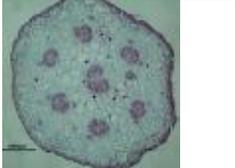
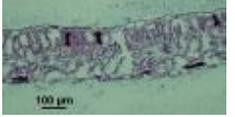
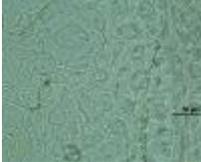
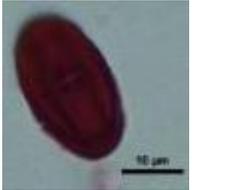


Gambar 2. Perbandingan karakter tiga spesies tumbuhan berdasarkan habitus tumbuhan dan morfologi daun (keterangan: A: *Centella asiatica*, B: *Hydrocotyle verticillata*, dan C: *Merremia emarginata*)



Gambar 3. Perbandingan karakter simplisia dan serbuk tiga spesies tumbuhan (keterangan: A: *Hydrocotyle verticillata*, B: *Centella asiatica*, dan C: *Merremia emarginata*).

Tabel 1. Perbandingan karakter mikroskopik, simplisia, dan serbuk *Centella asiatica*, *Hydrocotyle verticillata*, dan *Merremia emarginata* berdasarkan dokumentasi fotografi.

No.	Karakter	<i>C. asiatica</i>	<i>H. verticillata</i>	<i>M. emarginata</i>
1	Stolon			
2	Tangkai daun			
3	Daun			
4.	Stomata			
5.	Polen	Tipe Anisositik 	Tipe Parasitik 	Tipe Parasitik 

Pengamatan mikroskopis

Berdasarkan Tabel 1. secara kualitatif morfologi penampang melintang stolon dari tiga jenis tumbuhan yang berpotensi menjadi adulteran sangat berbeda. Perbedaan yang sangat mencolok adalah pada *M. emarginata* meskipun memiliki bentuk penampang yang hampir sama dengan *C. asiatica*, namun dapat terlihat bahwa pada *M. emarginata* tidak memiliki berkas pembuluh yang tersusun teratur seperti *C. asiatica* dan *H. verticillata* membentuk berkas, tetapi letak sel xylem pada penampang *M. emarginata* berada mengelilingi membentuk lingkaran dan sel floem terdiri atas 1-2 sel besar berada di atas sel xylem. Selain itu, pada *M. emarginata* terlihat memiliki trikoma uniseluler pada bagian stolon. Di lain hal, perbedaan anatomi melintang stolon *C. asiatica* dan *H. verticillata* terlihat dengan

perbedaan bentuk penampang stolon *C. asiatica* yang berbentuk lingkaran, sedangkan pada *H. verticillata* berbentuk lingkaran yang tepinya bergelombang. Namun, hal tersebut tidak konsisten pada bentuk stolon *C. asiatica* perwakilan dari daerah Malang, yaitu berbentuk lingkaran dengan lekukan yang cukup jelas dan mirip dengan bentuk penampang melintang tangkai daun *H. verticillata* perwakilan dari Karanganyar, tetapi kedua penampang tersebut dapat dibedakan dengan letak xylem dan floem pada berkas pembuluh, yaitu pada stolon *C. asiatica* letak sel xylem terpisah jelas dengan sel floem, sedangkan pada stolon *H. verticillata* letak xylem dikelilingi oleh sel floem.

Perbedaan karakter *C. asiatica* dengan dua jenis potensi adulteran lainnya adalah jelas terlihat adanya lubang di tengah

penampang melintang tangkai daun *C. asiatica*, sedangkan pada tangkai daun *H. verticillata* dan *M. emarginata* masih terdapat sel parenkim bahkan berkas pembuluh pada *M. emarginata*. Dari keseluruhan sampel perwakilan dari Citeureup, Malang, dan Karanganyar, tidak terlihat perbedaan karakter bentuk dari *C. asiatica*, sedangkan pada *H. verticillata* perwakilan dari Citeureup terdapat perbedaan adanya berkas pembuluh di tengah penampang melintang dibandingkan dengan *H. verticillata* perwakilan dari dua daerah lainnya. Selain itu, dari karakter adanya trikoma, hanya *H. verticillata* yang tidak memiliki trikoma pada penampang melintang tangkai daun, sedangkan pada *C. asiatica* terdapat trikoma yang tersusun dari dua sel (biseluler) yang berbeda dengan trikoma tangkai daun *M. emarginata* yang tersusun atas satu sel (uniseluler).

Perbedaan karakter lain *C. asiatica* dengan dua jenis potensi adulteran lainnya adalah pada bentuk penampang melintang tulang daun, yaitu bentuk irisan melintang tangkai daun *C. asiatica* jelas memiliki bagian melebar pada bagian permukaan bawah daun yang dominan diisi oleh sel parenkim berbeda dengan bentuk irisan melintang tulang daun *H. verticillata* yang rata pada kedua sisi permukaan. Di lain hal, perbedaan karakter antara *C. asiatica* dan *M. emarginata* adalah bentuk berkas pembuluh *C. asiatica* berbentuk lingkaran dan xylem terletak pada bagian atas dan floem dibawah, sedangkan berkas pembuluh *M. emarginata* berbentuk memanjang dan xylem terletak dikelilingi oleh sel floem. Selain itu, pada bagian atas permukaan daun *M. emarginata* terdapat 3 lapisan sel kolenkim yang menonjol, sedangkan pada *C. asiatica* sel kolenkim berjumlah 2 lapisan dan tidak menonjol ke permukaan.

Centella asiatica memiliki tipe stomata anisosit. Tipe anisosit sel penutup dikelilingi oleh tiga sel tetangga yang tidak sama ukurannya.²² Stomata yang dimiliki *H. verticillata* Thunb. dan *M. emarginata* merupakan tipe parasitik, yaitu tipe sel penutup yang didampingi oleh satu sel

tetangga atau lebih dengan sumbu panjang sel tetangga sejajar dengan sumbu sel penutup serta celah.²² Di lain hal, tipe dari *C. asiatica* dan *H. verticillata* adalah monad, namun dari tipe aperture kedua jenis tersebut terdapat perbedaan, yaitu tipe aperture colpate pada *C. asiatica*, dan tipe aperture colporate pada *H. verticillata*.

Penentuan profil senyawa kimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Penentuan profil senyawa kimia dilakukan dengan metode KLT, karena KLT diketahui merupakan salah satu metode yang efektif diaplikasikan dalam kontrol kualitas tanaman obat, termasuk *profiling* atau penyidik jari komponen kimia dari suatu ekstrak serta analisis kuantitatif senyawa penanda dalam herbal. Salah satu kelebihan dari metode KLT adalah sederhana, terjangkau, mudah diadaptasikan ke berbagai prosedur pemisahan dan digunakan hampir diseluruh laboratorium didunia sehingga dapat distandarisasi.²³ Sidik jari berbasis kromatografi atau *profiling* dapat menunjukkan perbedaan ataupun kesamaan diantara sampel yang beragam, autentikasi dan identifikasi herbal atau tanaman obat tradisional.

Profil senyawa kimia dilakukan dengan penambahan reagen penampak bercak Lieberman-burchadad, yaitu jenis reagen yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa terpenoid. Reaksi positif warna merah menunjukkan keberadaan senyawa triterpenoid, sedangkan warna biru kehijauan sebagai senyawa steroid.²⁴ Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa senyawa bioaktif yang utama yang terkandung dalam *C. asiatica* merupakan golongan senyawa triterpenoid, seperti asam asiatik, asam madekasik, asiaticosida dan madekosida. Triterpenoid juga telah umum difungsikan sebagai komponen biomarker dari *C. Asiatica*.^{25,26} Oleh karena itu, senyawa triterpenoid dipilih sebagai parameter penetapan profil senyawa kimia dari ketiga sampel tersebut.

Kromatogram hasil penetapan profil

senyawa kimia yang diamati pada UV 366 nm menunjukkan terdapat perbedaan jumlah senyawa dalam *C. asiatica*, *H. verticillata* dan *M. emarginata*. Tabel 2 menunjukkan bahwa komponen senyawa dalam *C. asiatica* jauh lebih banyak dibandingkan kedua sampel lainnya, yaitu terdeteksi terdapat 15 spot senyawa. Disamping itu, kromatogram tersebut menginfokan bahwa *C. asiatica* lebih banyak mengandung senyawa steroid dibandingkan *H. verticillata* dan *M. emarginata*. Hal ini ditunjukkan oleh lebih banyaknya jumlah spot dengan fluoresensi berwarna biru-kehijauan pada UV 366 nm

setelah penambahan pereaksi Libermann burchard. Fluoresensi warna merah pada sampel *H. verticillata* dan *M. emarginata* menunjukkan keberadaan senyawa triterpenoid.

Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa ketiga sampel tersebut merupakan tiga spesies sampel yang berbeda, karena profil kromatogram yang dihasilkan oleh ketiga spesies sampel tersebut memiliki perbedaan yang bermakna. Spesies tumbuhan yang berbeda tentu akan memiliki profil senyawa kimia yang berbeda, hal ini terkait dengan faktor genetik dari masing-masing spesies.

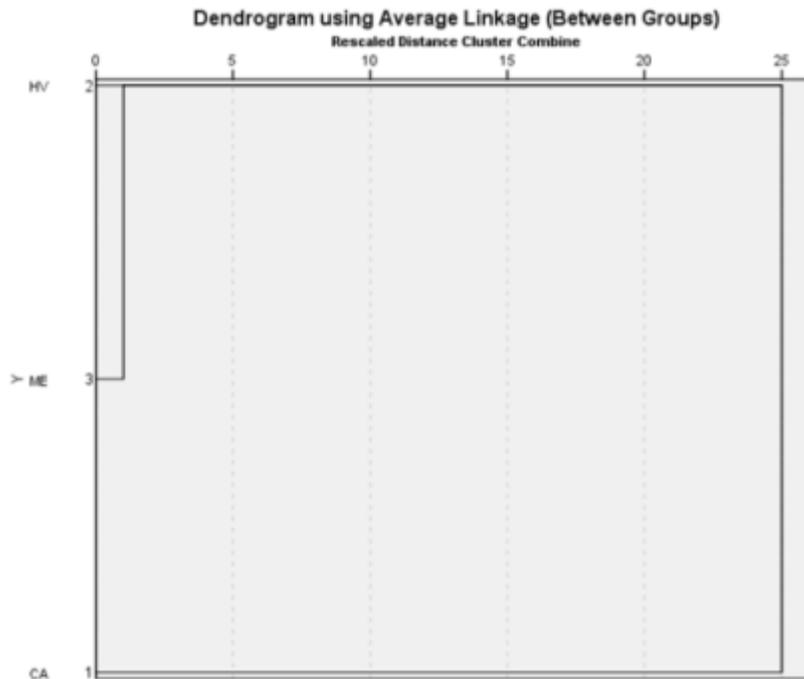
Tabel 2. Nilai Rf setelah penambahan pereaksi Lieberman-burchad pada UV 366 nm

Nilai Rf	<i>C. asiatica</i>	<i>H. verticillata</i>	<i>M. emarginata</i>
0,03	v	-	-
0,08	v	v	v
0,12	v	v	v
0,17	v	v	v
0,22	v	-	-
0,28	-	v	-
0,32	v	-	-
0,35	-	-	v
0,42	-	v	-
0,52	v	v	v
0,60	v	v	-
0,65	v	-	-
0,69	v	v	v
0,74	v	-	-
0,77	v	-	-
0,78	v	-	-
0,83	v	v	v
0,90	v	v	v
Total bercak	15	10	8

Keterangan

v : Terdeteksi

- : Tidak terdeteksi



Gambar 5. Analisis cluster hasil profiling senyawa triterpenoid dan steroid

Faktor genetik suatu spesies berpengaruh pada proses biosintesis yang terjadi didalam sel, dimana salah satu produk dari biosintesis tersebut adalah senyawa metabolit sekunder.²⁷⁻²⁹

Berikutnya data Rf yang diperoleh pada penentuan profil senyawa kimia dilakukan analisis *cluster* menggunakan *software* SPSS (Gambar 4). Dendrogram tersebut menunjukkan tingkat kemiripan antara spesies *C. asiatica* dengan kedua spesies lain, *H. verticillata* dan *M. Emarginata* sangat kecil. Hal ini tampak pada besarnya skala perbedaan antara *C. asiatica* dengan kedua spesies lainnya. Akan tetapi, spesies *H. verticillata* dan *M. Emarginata* diketahui memiliki tingkat kemiripan yang cukup tinggi, sehingga dalam dendrogram kedua spesies tersebut dikelompokkan menjadi satu cluster dengan skala perbedaan yang kecil.

Berdasarkan hasil penelitian ini ditunjukkan bahwa metode KLT merupakan metode yang efektif dan efisien untuk mengidentifikasi perbedaan antara *C. asiatica*, *H. verticillata* dan *M. Emarginata*. Hal ini sesuai dengan pendapat Renato²³ bahwa sidik jari kimia atau profil secara kromatografi dapat digunakan untuk

menunjukkan persamaan ataupun perbedaan diantara variasi sampel, selanjutnya dapat mendeteksi autentifikasi dan identitas dari sampel bahan baku obat termasuk tumbuhan.

Penetapan kadar Asiatikosida

Biomarker atau senyawa penanda utama bagi *C. asiatica* adalah golongan senyawa triterpenoid dan steroid, karena golongan senyawa tersebut merupakan komponen utama penyusun metabolit sekunder *C. asiatica*. Beberapa senyawa spesifik yang terdapat dalam *C. asiatica* dan memegang peran utama dalam aktivitas bioaktifnya, antara lain asam asiatik, asam madekasik dan asiatikosida.^{25,30} Farmakope Herbal Indonesia th 2008, menyatakan senyawa asiatikosida pada *C. asiatica* berperan sebagai biomarker atau senyawa penanda utama dalam uji kontrol kualitas herba pegagan sebagai tanaman obat.³¹ Asiatikosida termasuk senyawa golongan steroid, sehingga perlu dilakukan penambahan reaksi penampak bercak sebelum tahapan analisis. Pereaksi penampak bercak yang digunakan adalah Liebermann-Burchard. Oleh karena itu,

pada penelitian ini dilakukan penentuan kadar asiatikosida sebagai pembeda spesifik antara *C. asiatica* dan kedua sampel lainnya.

Hasil analisa kromatogram tersebut diperoleh kadar asiatikosida di ketiga jenis sampel seperti tercantum pada Tabel 3. Rerata kadar asiatikosida dalam sampel *C. asiatica* yang berasal dari daerah Jawa Tengah adalah sebesar 0,49%, sedangkan pada *H. verticillata* dan *M. emarginata* tidak terdeteksi adanya kandungan asiatikosida. Asiatikosida merupakan komponen bioaktif utama dan biomarker pada *C. asiatica*. Berdasarkan hasil penetapan kadar asiatikosida tersebut dapat disimpulkan bahwa secara kimiawi *H. verticillata* dan *M. emarginata* adalah spesies yang berbeda dengan *C. asiatica*.

Kromatogram yang dihasilkan pada penetapan kadar senyawa asiatikosida (Gambar 6) menunjukkan terdapat spot dengan nilai Rf asiatikosida (0,32), yaitu Rf

0,28 pada *H. verticillata* dan Rf 0,35 pada *M. emarginata*. Apabila dibandingkan dengan standar asiatikosida, kedua komponen pada Rf tersebut tidak terdeteksi besaran luas areanya sehingga kadar asiatikosidanya pun tidak dapat terdeteksi. Sehingga dapat dipastikan bahwa kedua senyawa tersebut bukan asiatikosida, namun memiliki tingkat kepolaran yang hampir sama dengan asiatikosida. Disamping itu, senyawa yang diduga memiliki tingkat kepolaran yang hampir sama dengan asiatikosida tersebut, juga terdeteksi sebagai golongan senyawa steroid. Hal ini ditunjukkan oleh hasil positif berwarna biru kehijauan saat dikenakan reagen Liebermann-Burchard. Akan tetapi, untuk hasil yang lebih pasti perlu dilakukan analisis lain, khususnya terhadap kedua komponen tersebut sehingga dapat dipastikan bahwa kedua komponen tersebut bukan senyawa asiatikosida.

Tabel 3. Kadar asiatikosida *C. asiatica*, *H. verticillata*, dan *M. emarginata*

No	Sampel	Rf	Rerata luas area (AU)	Rerata kadar asiatikosida (%)
1	<i>Centella asiatica</i>	0,32	184,64	0,49
2	<i>Hydrocotyle verticillata</i>	-	0	0
3	<i>Merremia emarginata</i>	-	0	0



Gambar 6. Profil KLT sebelum dan setelah pereaksi penampak bercak pada UV 366 nm

KESIMPULAN

Karakter pembeda yang unik dan mudah secara makroskopis antara *Centella asiatica* dengan spesies potensi adulteran *Hydrocotyle verticillata* adalah bentuk daun, sedangkan *C. asiatica* dengan *Merremia emarginata* adalah karakter tepi daun dan bentuk ujung daun. Selain itu, karakter bentuk daun simplisia antara *C. asiatica* dan *H. verticillata* dapat dijadikan pembeda yang jelas. Karakter pembeda untuk simplisia berupa daun dan simplisia berupa serbuk dapat dilakukan secara makroskopis dengan melihat perbedaan dari bentuk daun kering dan warna serbuk. Selain itu, karakter anatomi dan fragmen serbuk yang dapat dijadikan pembeda antara *C. asiatica* dan *H. verticillata* adalah keberadaan empulur pada tangkai dan stolon, tipe stomata, dan adanya trikome. Begitu pula dengan profil senyawa kimia *C. asiatica* memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan *H. verticillata* dan *M. emarginata*. Oleh karena itu, berdasarkan analisis cluster *C. asiatica* berada pada cluster yang terpisah dari kedua sampel lainnya. Rerata kadar senyawa asiatikosida dalam sampel *C. asiatica* yang berasal dari Jawa Tengah adalah 0,49%, sedangkan pada *H. verticillata* dan *M. emarginata* tidak dapat terdeteksi kadar asiatikosida. Dapat disimpulkan bahwa senyawa asiatikosida merupakan biomarker spesifik untuk identifikasi *C. asiatica*.

SARAN

Senyawa biomarker yang spesifik untuk *C. asiatica* adalah senyawa asiatikosida, sehingga untuk memastikan kebenaran tanaman *C. asiatica* melalui penentuan keberadaan baik secara kualitatif ataupun kuantitatif menggunakan LCMS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sekretariat Badan Litbangkes atas pendanaan penelitian, Drs. Slamet Wahyono, M.Sc., Apt. dan Dr. Ir. Yuli Widiyastuti, MP atas bimbingan teknis dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Goltenboth F, Timotius K, Po Milan P, Margraf J, editors. Ecology of insular Southeast Asia: The Indonesian Archipelago. Amsterdam: Elsevier; 2006.
2. Elfahmi, Woerdenbag HJ, Kayser O. Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. Journal of Herbal Medicine. 2014 June;2(4):51-73.
3. Suhendang E. Pengantar ilmu kehutanan. Bogor: IPB Press; 2002.
4. Backer, C. A. and Brink VB. Flora of Java (Spermatophyte only): vol.II. Groningen: N.V.P. Noordhoff; 1963.
5. Hargono D, Lastari P, Astuti Y, Van den Bergh MH. *Centella asiatica* (L.) Urb. [Internet]. PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation. 1999; 190-4 [dikutip 10 November 2016]. Tersedia pada: http://proseanet.org/prosea/eprosea_detail.php?frt=&id=68
6. Kriswiyanti E, Junitha IK, Sri Kentjonowati E, Darsini N, Setyawati I. Inventarisasi bahan obat tradisional di Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Bali. Seminar Nasional HUT Kebun Raya Cibodas Ke-159. 2011; 108-12.
7. Due R. Etnobotani tumbuhan obat Suku Dayak Pesaguan dan implementasinya dalam pembuatan flash card biodiversitas. Universitas Tanjungpura; 2013;7-10.
8. Wulandari RA, Azrianingsih R. Etnobotani jamu gendong berdasarkan persepsi produsen jamu gendong di Desa Karangrejo, Kecamatan Kromengan, Kabupaten Malang. Biotropika. 2014;2(4):198-202.
9. Belwal T, Andola HC, Atanassova MS, Joshi B, Suyal R, Thakur S, et al. Gotu Kola (*Centella asiatica*). In: Nabavi SM, Silva AS, editor. Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements. London: Elsevier Inc.; 2019;p. 265-75.
10. Omar N, Lokanathan Y, Mohd Razi ZR, Bt Haji Idrus R. The effects of *Centella asiatica* (L.) Urban on neural differentiation of human mesenchymal stem cells in vitro. BMC Complementary Alternative Medicine. 2019;19(1):1-15.
11. Wannasarit S, Puttarak P, Kaewkroek K, Wiwattanapatapee R. Strategies for improving healing of the gastric epithelium using oral solid dispersions loaded with

- pentacyclic triterpene-rich *Centella* extract. *AAPS Pharmaceutical Science Technology*. 2019;20(7):277.
12. Camacho-Alonso F, Torralba-Ruiz MR, García-Carrillo N, Lacal-Luján J, Martínez-Díaz F, Sánchez-Siles M. Effects of topical applications of porcine acellular urinary bladder matrix and *Centella asiatica* extract on oral wound healing in a rat model. *Clinical Oral Investigations*. 2019;23(5):2083–95.
 13. Harun NH, Septama AW, Wan Ahmad WAN, Suppian R. The potential of *Centella asiatica* (Linn.) Urban as an anti-microbial and immunomodulator agent: A Review . *Natural Product Sciences*. 2019;25(2):92.
 14. Jin SG, Kim KS, Yousaf AM, Kim DW, Jang SW, Son MW, et al. Mechanical properties and in vivo healing evaluation of a novel *Centella asiatica*-loaded hydrocolloid wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;490(1-2):240-7.
 15. Mariska E, Sitorus TD, Rachman JA. Effect of *Centella asiatica* leaves on gastric ulcer in rats. *Althea Medical Journal*. 2015;2(1):114-8.
 16. Gray NE, Harris CJ, Quinn JF, Soumyanath A. *Centella asiatica* modulates antioxidant and mitochondrial pathways and improves cognitive function in mice. *J Ethnopharmacol*. 2016;180:78-86.
 17. Triyono A, Zulkarnain Z, Mana TA. Studi klinis ramuan jamu antihipertensi pada pasien hipertensi derajat I. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2018;8(1):17-25.
 18. Triyono A, Ridha P, Ardianto D. Uji klinik khasiat sediaan rebusan ramuan jamu hipertensi dibanding seduhan jamu hipertensi (Clinical trial the efficacy of boiled hypertension herbs compared with steeped hypertension herbs). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2018;16(1):78-85.
 19. Upton R, Graff A, Jolliffe G, Länger R, Williamson E, editors *American herbal pharmacopoeia: Botanical pharmacognosy. microscopic characterization of botanical medicines*. Boca Raton: CRC Press;2011.
 20. Mansur M. *Merremia emarginata* (Burm.f.) Hallier f. [Internet]. PROSEA (Plant Resources of South-East Asia) Foundation. 2001 [dikutip 10 November 2016]. Tersedia pada: http://proseanet.org/prosea/e-prosea_detail.php?frt=&id=1191
 21. Pramono S dan D. Ajiastuti. Standardisasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berdasarkan kadar asiaticosida secara KLT-densitometri densitometric method. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2004;15(3):118-23.
 22. Mulyani S. *Anatomi tumbuhan*. Yogyakarta: Kanisius; 2006.
 23. Braz R, Wolf LG, Lopes GC, De JCP. Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian market. *Brazilian Journal of Pharmacognocny*. 2012;22(5):1111-8.
 24. Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2005;4(7):685-88.
 25. Hashim P, Sidek H, Helan MHM, Sabery A, Palanisamy UD, Ilham M. Triterpene composition and bioactivities of *Centella asiatica*. *Molecules*. 2011;16(2):1310-22.
 26. Bandara MS, Lee EL, Thomas JE. Gotu Kola (*Centella asiatica* L.); An under-utilized herb. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*. 2011;5(2):20-31.
 27. Kopka J, Fernie A, Weckwerth W, Gibon Y, Stitt M. Metabolite profiling in plant biology: Platforms and destinations. *Genome Biology*. 2004;5(6):109.
 28. Kessler A, Kalske A. Plant Secondary Metabolite diversity and species interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2018;49(1):115-38.
 29. Fang C, Fernie AR, Luo J. Exploring the diversity of plant metabolism. *trends in plant Science*. 2019;24(1):83-98
 30. Tdck D, Am A, Salim N, Ug C. Evaluation of *Centella asiatica* morphotypes for high yields of asiaticoside. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2016;5(6):451–4.
 31. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008.