

PROFIL METABOLIT (FENOL TOTAL DAN SPEKTRUM FT-IR) PEGAGAN (*Centella asiatica*) BERDASARKAN LOKASI TUMBUH BERBEDA

Nurul Nilasari^{a*)}, Mohamad Rafi^{b)}, Ade Heri Mulyati^{c)}

^{a)} Department Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Pakuan University

^{b)} Department Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Pakuan University

^{c)} Department Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, IPB University

^{*)} Corresponding Author: nurulnilasari36@gmail.com

ABSTRAK

Komposisi dan senyawa fitokimia dalam tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah lokasi tumbuh. Perbedaan tersebut dapat dievaluasi dengan menentukan profil metabolitnya seperti kadar fenol total dan analisis sidik jari spektrum FT-IR. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan profil metabolit sekunder (kadar fenol total dan spektrum FTIR) pegagan. Data absorban spektrum FT-IR kemudian dikombinasikan dengan analisis kemometrik yaitu PCA dan CA untuk mengelompokkan pegagan berdasarkan lokasi tumbuh yang berbeda. Penelitian dilakukan menggunakan sampel pegagan dengan daerah tumbuh Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang). Sampel pegagan ditentukan kadar airnya, diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70%, kemudian dilakukan penentuan kadar fenolik total dan pembuatan spektrum FT-IR serta pengelompokannya dengan analisis kemometrik metode PCA dan CA. Kadar fenol total terbesar berasal dari pegagan daerah Lembang (Bandung Barat) sebesar 227,33 GAE/g ekstrak. Spektrum FT-IR pegagan masing-masing daerah memiliki pola yang mirip namun dengan intensitas bilangan gelombang yang berbeda pada setiap sampel. PCA menunjukkan sampel pegagan dari masing-masing daerah dapat dikelompokkan berdasarkan pola sidik jarinya dengan total PC 81%. Hasil CA serupa dengan hasil PCA, dimana pemisahan setiap daerah terpisah dengan baik. Sampel pegagan terpisah menjadi dua cluster didasarkan atas kemiripan spektra di antara dua kelompok.

Keywords: kadar fenol total, spektrum FT-IR, pegagan, kemometrik, PCA, *cluster analysis*.

1. PENGANTAR

Pegagan yang mempunyai nama latin *Centella asiatica* merupakan tanaman yang termasuk kedalam suku Umbelliferae atau Apiaceae (Maruzy, *et al.*, 2020). Tanaman ini tumbuh subur di Indonesia pada lingkungan tanah yang agak lembap dan cukup mendapat sinar matahari, seperti di padang rumput, sawah, pinggir selokan, dan sebagainya (Azis, *et al.*, 2017). Pada beberapa wilayah di Indonesia, masyarakat memanfaatkan daun pegagan sebagai lalapan segar, minuman dan obat tradisional (Rahayu, *et al.*, 2020). Pegagan sudah sejak lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional baik dalam bentuk bahan segar dan kering maupun dalam bentuk ramuan. Tanaman ini memiliki khasiat farmakologis yang dapat dibuktikan dari beberapa penelitian yang telah dilakukan (Rahmaniati,

et al., 2018). Khasiat secara ilmiah dari pegagan telah banyak diteliti pada hewan coba dan menyimpulkan bahwa pegagan dapat digunakan sebagai antioksidan, antigastritis, antitumor, penyembuhan luka, imunomodulator, antiproliferasi, dan sebagainya (Belwal, *et al.*, 2019; Gray, *et al.*, 2016).

Pegagan adalah tanaman herbal yang mengandung banyak senyawa bioaktif seperti triterpenoid, senyawa fenolik, minyak atsiri, pektin, asam amino bebas, vitamin, dan mineral (Idris, *et al.*, 2020; Mohapatra, *et al.*, 2021). Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan sumber antioksidan yang baik karena mengandung banyak senyawa fenolik seperti kuersetin, katekin, luteolin, rutin, kaempferol, mirisetin, naringin, dan naringenin (Tripathy, *et al.*, 2022). Kuersetin memiliki banyak efek

menguntungkan kesehatan, termasuk peningkatan kesehatan jantung dan mengurangi resiko kanker (Kumar, *et al.*, 2017). Katekin memiliki banyak manfaat diantaranya mencegah atau mengurangi kerusakan kulit (Bae, *et al.*, 2020). Luteolin telah dipelajari secara ekstensif untuk sifat farmakologisnya, seperti antiinflamasi, antioksidan, dan pelindung saraf (Ntalouka, *et al.*, 2023). Rutin memiliki efek farmakologis seperti antikanker, antimikroba, dan efek antiinflamasi (Negahdari, *et al.*, 2020).

Komposisi dan kadar senyawa fitokimia pada suatu tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor baik internal maupun eksternal. Faktor internal seperti gen dan faktor eksternal diantaranya seperti cahaya, suhu, kelembapan, pH, kandungan unsur hara di dalam tanah, dan ketinggian tempat (Katuuk, *et al.*, 2019). Salah satu faktor yang mempengaruhi produksi metabolit sekunder adalah suhu dan CO₂, semakin tinggi suhu dan kadar CO₂ maka akan semakin tinggi produksi metabolit sekunder yang dihasilkan (Austen, *et al.*, 2019). Menurut Gbolahan, *et al.*, 2016, dan Sharma, *et al.*, 2017, variasi senyawa bioaktif dalam tanaman disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya perbedaan letak geografis, ketinggian tempat, letak tanaman, perubahan musim, umur panen, faktor fisiologis (seperti genetika, nutrisi tanaman, dan tahap kematangan), bagian tanaman yang digunakan, dan faktor pasca panen (seperti kondisi penyimpanan dan perlakuan pengolahan).

Penelitian yang dilakukan oleh Azmin *et al.* pada tahun 2020 menjelaskan bahwa tanaman pegagan terdeteksi memiliki enam senyawa bioaktif seperti gallic acid, rutin, kaempferol, catechin, quercetin, dan luteolin. Penelitian yang dilakukan oleh Govarthanan *et al.* pada tahun 2015 dengan metode induksi kalus, induksi akar, dan metode DPPH menjelaskan bahwa terdapat perbedaan konsentrasi senyawa bioaktif pada tanaman pegagan yang ditanam pada beberapa lokasi berbeda yaitu bukit, lahan kering dan lahan basah. Penelitian yang dilakukan oleh Artanti, *et al.* tahun 2014 menjelaskan bahwa tanaman pegagan memiliki kadar fenol total tertinggi sebesar 111,46 mg/g yang diperoleh dari simplisia pegagan asal Lembang yang diekstrak dengan etanol 70%.

Penelitian ini dilakukan untuk mengelompokkan pegagan (*Centella asiatica*) berdasarkan perbedaan

lokasi tumbuh (Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang)). Daerah tersebut dipilih karena memiliki ketinggian, curah hujan, dan intensitas matahari yang berbeda (Badan Pusat Statistik, 2021). Data kadar fenolik total dan sidik jari spektrum FTIR serta analisis kemometrik metode principal component analysis (PCA) dan cluster analysis (CA) digunakan sebagai metode yang akan digunakan dalam mengelompokkan pegagan dengan lokasi tumbuh berbeda berdasarkan perbedaan komposisi dan konsentrasi metabolitnya.

2. METODE

Penelitian diawali dengan memanen sampel pegagan dengan lokasi tumbuh berbeda (Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang)) untuk dibuat simplisia. Selanjutnya simplisia dilakukan pengujian kadar air kemudian diekstrak dengan metode maserasi menggunakan satu jenis pelarut yaitu etanol 70% yang dilakukan sebanyak 5 kali ulangan untuk setiap lokasi. Ekstrak pegagan yang didapat dilakukan perhitungan rendemen dan selanjutnya dilakukan penentuan kadar fenolik total dan pembuatan spektrum FTIR. Data hasil uji sidik-jari diolah secara kemometrik dengan metode PCA dan CA.

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat gelas, oven, cawan porselen, desikator, neraca analitik Sartorius BSA224S (Sartorius, Hessen, Jerman), penguap putar, ultrasonikator Branson 1510 (Bronson, Danbury, Amerika Serikat), spektrofotometer FT-IR Tensor 37 (Bruker, Karlsruhe, Jerman), mesin press, freeze dryer, 96-well microplate (Corning, Kennebunk, Amerika Serikat), microplate reader (BMG LABTECH, Ortenberg, Jerman), mikropipet Eppendorf (Merck, Darmstadt, Jerman), software OPUS 4.2 (Bruker, Massachusetts, Amerika Serikat), software Unscrambler X versi 10.1 (Aspentech, Massachusetts, Amerika Serikat), software Origin 2023b (OriginLab, Massachusetts, Amerika Serikat), MetaboAnalyst 5.0 (Xia Lab, Alberta, Kanada), dan software IBM SPSS Statistics 24 (SPSS Inc, Chicago, Amerika Serikat).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pegagan (*Centella asiatica*) dengan lokasi tumbuh berbeda (Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang)), aquades, etanol (Merck, Darmstadt, Jerman), Na₂CO₃ (Merck, Darmstadt, Jerman), reagen fenol *Folin-Ciocalteu* (Merck, Darmstadt, Jerman), standar asam galat (Merck, Darmstadt, Jerman), dan KBr (Merck, Darmstadt, Jerman).

2.2. Sampling dan Preparasi Sampel

Sampel pegagan dengan lokasi tumbuh berbeda dipanen di Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang). Bagian daun dicuci dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Sampel kering dihaluskan dan diayak hingga didapat serbuk ukuran 80 mesh.

2.3. Penentuan Kadar Air

Metode penentuan kadar air mengacu pada AOAC 935.29 (2012). Cawan porselen dikeringkan pada suhu 103-104°C selama 30 menit, lalu ditempatkan di dalam desikator dan ditimbang massa cawan porselen. Setelah itu, sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam cawan porselen. Contoh beserta cawan dimasukkan ke oven pada suhu 103-104°C selama 3 jam. Setelah itu, dimasukkan ke dalam desikator kemudian ditimbang. Prosedur dilakukan berulang kali sampai didapat bobot tetap dengan selisih kurang dari 1 mg. pekerjaan dilakukan 5 kali ulangan.

Kadar air ditentukan dengan persamaan :

$$\text{Kadar air (\%)} = (A-B)/A \times 100\%$$

Keterangan : A = bobot contoh awal (g)

B = bobot contoh kering (g)

2.4. Ekstraksi Pegagan (*Centella asiatica*)

Ekstraksi pegagan mengacu pada metode Farmakope Herbal Indonesia edisi kedua (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam 20 gram dengan 200 ml etanol 70%. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Proses ekstraksi maserasi

di ulang tiga kali dan disaring setiap 24 jam dengan jumlah volume pelarut sebanyak setengah dari jumlah volume pelarut pertama. Semua maserat dikumpulkan, kemudian dipekatkan dengan penguap putar hingga diperoleh ekstrak pekat. Setiap daerah dilakukan pengulangan sebanyak lima kali. Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan ditentukan rendemennya. Rendemen ditentukan dengan persamaan :

$$\% \text{Rendemen} = (\text{Bobot ekstrak}) / (\text{Bobot sampel} \times (1 - \text{kadar air})) \times 100\%$$

2.5. Penentuan Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total pegagan mengacu pada metode Rafi, *et al.*, 2018 dengan modifikasi menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Ekstrak pegagan dari setiap daerah, masing-masing dipipet sebanyak 10 µL kedalam 96 well-plates. Kemudian ditambahkan 160 µL aquades, 10 µL reagen Folin-Ciocalteu, dan 20 µL Na₂CO₃ 7,5% kedalam masing-masing ekstrak di 96 well-plates. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi maksimum campuran diukur pada 750 nm menggunakan *microplate reader*. Kurva kalibrasi disiapkan dengan melarutkan asam galat dalam etanol dengan 7 konsentrasi berbeda yaitu 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000 (mg/L). Kadar fenolik total masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai miligram asam galat setara per gram bubuk kering pegagan (mg GAE/g bubuk kering).

2.5. Pembuatan Spektrum FT-IR

Pengukuran sampel dengan FT-IR mengacu pada metode yang telah dilakukan Rafi, *et al.*, 2021. Ekstrak sampel tumbuhan pegagan ditimbang sebanyak 2 mg dan KBr sebanyak 200 mg. Kemudian ekstrak sampel dan KBr dicampur secara homogen dan ditekan ke dalam disk menggunakan mesin press manual selama 10 menit. Pelet yang terbentuk ditempatkan dalam spektrofotometer FTIR. Pengukuran FTIR dilakukan pada daerah 4000-400 cm⁻¹ dengan resolusi 4 cm⁻¹ dan 32 s/min yang dioperasikan oleh software OPUS 4.2. Spektrum FTIR disimpan sebagai table titik data.

2.6. Analisis Kemometrik

Pengelompokkan sampel pegagan (*Centella asiatica*) berdasarkan lokasi tumbuh berbeda (Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang)) menggunakan metode principal component analysis (PCA) dan cluster analysis (CA). Data absorbansi yang digunakan untuk mengelompokkan ekstrak berada pada daerah sidik jari 1500-400 cm⁻¹. Pengelompokkan ekstrak berdasarkan lokasi tumbuh dilakukan menggunakan PCA dan CA. Digunakan Unscrambler X versi 10.1 untuk menjalankan analisis PCA dan CA.

3. HASIL DAN DISKUSI

3.1. Kadar Air

Kadar air simplisia pegagan ditentukan dengan menggunakan metode gravimetri pada suhu 103-104°C. Penetapan kadar air berfungsi sebagai batas kadar air minimum dalam simplisia (Depkes RI, 2000). Menurut Farmakope Herbal Indonesia tahun 2017, kadar air simplisia tidak boleh lebih melebihi 10%. Kadar air tidak boleh terlalu tinggi untuk mencegah tumbuhnya jamur atau mikroorganisme dan degradasi bahan aktif melalui reaksi enzimatis dan proses hidrolisis akibat kandungan air yang tinggi, agar simplisia yang dihasilkan tidak mudah rusak selama penyimpanan jangka panjang (Diniatik, 2015). Hasil pengukuran kadar air simplisia pegagan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar Air Simplisia Pegagan

Komponen	
Daerah Tumbuh	Hasil % Kadar Air
Kulon Progo	7,64 ± 0,13 ^a
Karanganyar	7,77 ± 0,07 ^b
Tegal	8,17 ± 0,03 ^c
Batu Malang	8,41 ± 0,05 ^d
Cianjur	8,63 ± 0,04 ^e
Bandung Barat	9,49 ± 0,08 ^f

Keterangan : a,b = notasi huruf serupa berarti tidak ada perbedaan nyata pada taraf Uji Duncan memiliki nilai 5%.

Rata-rata kadar air yang diperoleh dari simplisia pegagan dengan daerah tanam yang berbeda yaitu Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi

Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang) memiliki hasil yang berbeda-beda. Simplisia pegagan Kulon Progo memiliki kadar air sebesar 7,64%, pegagan Karanganyar sebesar 7,77%, pegagan Tegal sebesar 8,17%, pegagan Batu Malang sebesar 8,41%, pegagan Cianjur sebesar 8,63%, dan pegagan Bandung Barat sebesar 9,49%. Berdasarkan uji ANOVA dan Duncan, terdapat perbedaan nyata diantara keenam kelompok kadar air simplisia pegagan dengan daerah tanam berbeda. Berdasarkan kadar air yang didapat, simplisia pegagan yang diperoleh memenuhi kriteria persyaratan yaitu kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017).

3.2. Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan tujuan untuk mengetahui jumlah fenol yang terkandung dalam sampel uji. Reagen Folin-Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya (Apsari, *et al.*, 2011). Pada penentuan kadar fenolik total, larutan standar yang digunakan adalah asam galat dengan variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 ppm. Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena merupakan zat yang stabil dan merupakan senyawa yang umum digunakan sebagai standar untuk menentukan kadar senyawa fenolik (Pallawagau, 2019). Pembuatan kurva standar dilakukan untuk menghitung konsentrasi senyawa fenolik dalam ekstrak pegagan. Kurva standar yang dihasilkan dari proses pengukuran menunjukkan adanya hubungan linearitas antara variabel terikat (konsentrasi larutan standar) dan variabel bebas (absorban). Pengujian linearitas menggunakan persamaan garis lurus $y = ax + b$ (a adalah slope dan b adalah intercept). Hasil pengukuran terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan standar maka semakin meningkat pula absorbansi yang dihasilkan. Persamaan kurva regresi linear dari kurva kalibrasi larutan standar asam galat diperoleh koefisien korelasi dengan nilai $R^2 = 0,9912$. Pengukuran larutan standar dengan variasi konsentrasi diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,0006x + 0,0913$. Konsentrasi larutan sampel dapat ditentukan dengan

menggunakan kurva kalibrasi dengan cara mengukur serapan sampel kemudian kadar fenolik total dalam ekstrak pegagan dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear (Marjoni, *et al.*, 2015). Berdasarkan uji ANOVA terdapat perbedaan yang nyata pada kadar fenolik total ekstrak pegagan dari enam daerah tumbuh yang berbeda. Kadar fenolik total tertinggi berasal dari pegagan daerah Bandung Barat dengan konsentrasi rata-rata sebesar 227,33 mg GAE/g ekstrak dan kadar fenolik total terendah berasal dari pegagan daerah Tegal dengan konsentrasi rata-rata sebesar 105,33 mg GAE/g ekstrak.

Tabel 2. Kadar Fenolik Total Ekstrak Pegagan

Komponen	
Daerah Tumbuh	Hasil Kadar Fenolik Total
Tegal	105,33 ± 3,12a
Cianjur	153,67 ± 2,36b
Kulon Progo	166,33 ± 1,82c
Karanganyar	189,89 ± 2,72d
Batu Malang	192,11 ± 3,50d
Bandung Barat	227,33 ± 2,56e

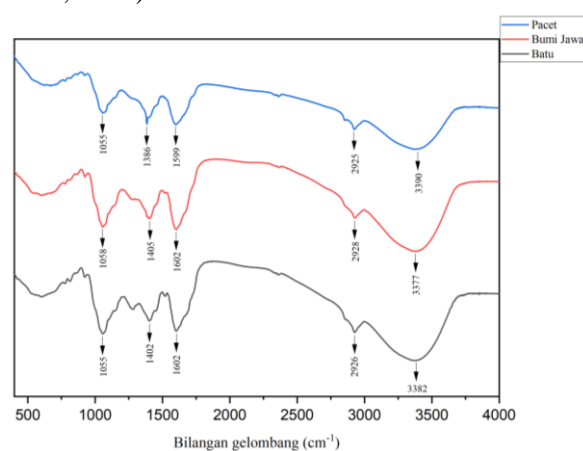
Keterangan : a,b = notasi huruf serupa berarti tidak ada perbedaan nyata pada taraf Uji Duncan memiliki nilai 5%.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Artanti, *et al.*, tahun 2014 yang menyatakan kadar fenol total dari daerah Lembang (Bandung Barat) dengan pelarut pengekstraksi etanol 70% memiliki kadar fenol total tertinggi diantara sampel lainnya yang berasal dari Bandung dan Solo, serta pelarut pengekstraksi metanol dan etanol 96%. Pada penelitian Artanti, *et al.*, didapatkan kadar fenol total daerah Lembang sebesar 111,46 mg GAE/g ekstrak. Beberapa alasan dapat menjelaskan perbedaan konsentrasi senyawa bioaktif, seperti keragaman genetik, kondisi lingkungan, dan unsur hara tanah yang dapat mengubah aktivitas metabolisme tanaman. Selain itu, kondisi iklim dan ketersediaan unsur hara juga dapat mengubah laju pertumbuhan serta aktivitas metabolisme tanaman (Govarthanam, *et al.*, 2015). Tempat atau lingkungan mempengaruhi proses fotosintesis dan konsentrasi fitokimia. Tumbuhan akan menghasilkan metabolit sekunder lebih banyak saat terkena cekaman (Tanamal, *et al.*, 2017). Ada beberapa

perbedaan di antara lokasi tumbuh seperti ketinggian tempat, jenis tanah, suhu, intensitas matahari, dll.

3.3. Spektrum FT-IR Pegagan

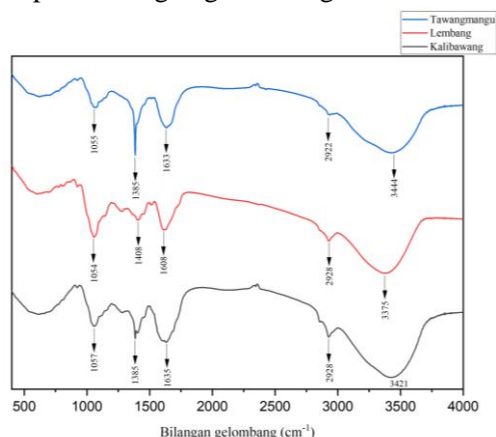
Salah satu tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan profil komponen senyawa herba pegagan dari beberapa daerah tumbuh berdasarkan spektroskopi FT-IR dan kemometrik. Sampel penelitian diambil dari 6 daerah yang berbeda yaitu Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang). Analisis dengan FT-IR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang khas dari suatu senyawa (Sanjiwani, *et al.*, 2020). FT-IR dilakukan pada rentang gelombang inframerah tengah (bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹). Spektrum serapan masing-masing sampel diperiksa dengan analisis FT-IR, dimana data serapan yang terdeteksi pada bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹ dianalisis dengan kemometrik untuk melihat perbedaannya (Puspitasari, *et al.*, 2021).



Gambar 1. Spektra FT-IR pegagan dari daerah Cianjur, Tegal dan Batu Malang

Berdasarkan hasil spektroskopi FT-IR, spektra yang memberikan interpretasi data, yaitu pada bilangan gelombang 1050-1150 cm⁻¹ terdapat serapan dari regangan C-O golongan alkil-tersubstitusi eter. Pada bilangan gelombang 1410-1310 cm⁻¹ terdapat serapan dari bengkokan O-H golongan senyawa fenol. Terdapat regangan C=C-C pada bilangan gelombang 1590-1650 cm⁻¹ yang menandakan adanya cincin aromatik. Pada bilangan gelombang 2853-2962 cm⁻¹ terdapat serapan gugus C-H golongan alkana. Selain itu, pada spektrum

FT-IR juga terdapat regangan gugus O-H gugus hidroksi pada bilangan gelombang 3200-3570 cm⁻¹.



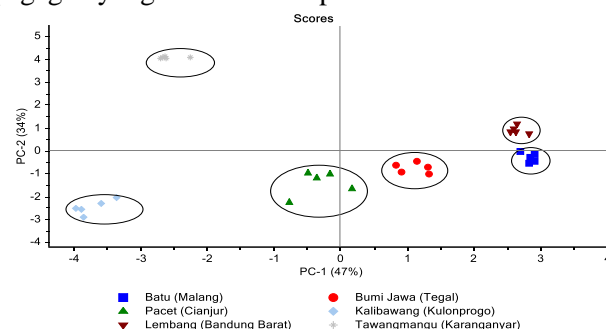
Gambar 2. Spektrogram FT-IR pegagan dari daerah Karanganyar, Bandung Barat dan Kulon Progo

Berdasarkan gambar 2, profil spektrum FT-IR sampel pegagan dari 6 daerah berbeda memberikan pola spektrum yang khas, serta memberikan pola spektrum yang mirip satu sama lain. Perbedaan tersebut dapat dilihat pada nilai absorbansi dan intensitas pembacaan panjang gelombang dari spektrum FT-IR. Hal ini menunjukkan komposisi pada keenam sampel tidak berbeda nyata. Perbedaan pada nilai absorbansi dan intensitas pembacaan panjang gelombang dapat disebabkan oleh adanya perbedaan intensitas yang memberikan transisi energi vibrasi dan molekul yang dapat memberikan informasi mengenai gugus-gugus fungsi dalam sampel (Burhan, *et al.*, 2022). Menurut Dachriyanus (2004), energi yang terlibat pada vibrasi tergantung pada panjang ikatan dan massa atom yang saling berikatan. Ini berarti bahwa setiap ikatan yang berbeda akan bervibrasi dengan cara berbeda dan jumlah energi yang berbeda pula. Intensitas spektra FT-IR tertinggi ditunjukkan pada bilangan gelombang 1410-1310 cm⁻¹ yang merupakan serapan dari bengkokan O-H golongan senyawa fenol atau gugus hidroksi. Gugus fungsi lain yang terdeteksi, membuktikan keberadaan senyawa fenolik pada pegagan seperti C=C-C (cincin aromatik) dan gugus C-O. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Handayani, *et al.*, 2018 yang menyatakan bahwa gugus fungsi yang paling berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan ekstrak pegagan yaitu gugus fungsi C-O dari senyawa fenolik.

3.3. Spektrum FT-IR Pegagan

3.4. Analisis Kemometrik

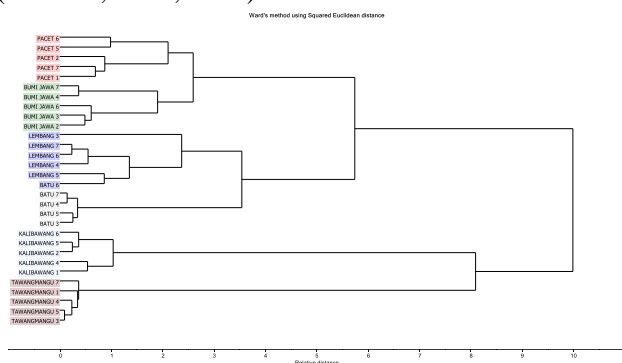
Spektrum FT-IR yang dihasilkan oleh sampel sangat bervariasi sehingga sulit untuk membedakan keenam sampel pegagan dengan hanya menggunakan spektrum FT-IR. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan kemometrik untuk menyederhanakan keseluruhan data dan memudahkan visualisasi dengan mereduksi dimensi dari spektrum FT-IR yang dihasilkan untuk analisis lebih lanjut sehingga terlihat persamaan dan perbedaan dari masing-masing daerah (Rachmawati, *et al.*, 2023). Spektra yang diperoleh dari hasil analisis spektroskopi FT-IR kemudian dianalisis dengan menggunakan teknik principal component analysis (PCA) dan cluster analysis (CA). PCA dilakukan terhadap data yang diperoleh melalui hasil pengukuran FT-IR, yang kemudian direduksi menjadi komponen utama atau principle component (PC) yang dapat mewakili struktur dan varians dari data tersebut (Biancolillo, *et al.*, 2018). Penggunaan PCA bertujuan untuk mendukung dan memvalidasi data yang dihasilkan dari spektra FT-IR dengan mereduksi data multivariat antara variabel objek (sampel) dengan komponen utama yang mempunyai sifat fisikokimia yang hampir sama (Burhan, *et al.*, 2020). Oleh karena itu, PCA dapat digunakan untuk mengelompokkan pegagan yang memiliki tempat tumbuh berbeda.



Gambar 3. Score plot analisa PCA

Data spektrum FT-IR yang akan dibuat model diskriminasinya diberi proses pendahuluan (pre-processing) berupa pemrosesan sinyal, hal ini bertujuan untuk menghilangkan variasi dari data yang tidak bersinggungan dengan informasi analisis seperti koreksi garis dasar dan sinyal kebisingan (noise) dari spektrum yang dihasilkan (Suhandy, *et al.*, 2019). Perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu kombinasi SNV, koreksi garis dasar (baseline), dan normalize dari spektrum FT-IR pada bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹. Hasil dari gambar score

plot menggunakan PCA berupa score plot yang digunakan untuk pengelompokan berdasarkan PC-1 dan PC-2 yang memiliki nilai variabel terbesar sehingga dapat mewakili keseluruhan komponen. Analisis PCA memberikan informasi bahwa PC-1 memiliki keseragaman data yang paling besar diperoleh 47% dan PC-2 34%. Berdasarkan dari kuadran maka daerah Tawangmangu (Karanganyar) berada pada kuadran I, daerah Lembang (Bandung Barat) berada pada kuadran II, daerah Kalibawang (Kulon Progo) dan daerah Pacet (Cianjur) berada pada kuadran III, serta daerah Bumi Jawa (Tegal) dan Batu (Malang) berada pada kuadran IV. Pola pengelompokan dari sampel pegagan menggunakan analisis PCA dapat membedakan antara keenam daerah tumbuh, berdasarkan plot daerah Batu (Malang) dan Lembang (Bandung Barat) serta Pacet (Cianjur) dan Bumi Jawa (Tegal) memiliki karakteristik yang hampir sama yang ditandai dengan kedekatannya jarak antara titik. Semakin dekat jarak antara titik satu dengan yang lain maka semakin besar kemiripan kadar senyawa pada pegagan. Pemisahan yang paling baik dan total variasi yang tinggi dari analisis PCA akan digunakan sebagai model CA. Cluster analysis merupakan teknik analisis data yang bertujuan untuk mengelompokkan individu atau objek menjadi beberapa kelompok dengan karakteristik yang berbeda antar kelompok, sehingga individu atau objek yang terletak di dalam satu kelompok akan mempunyai sifat relatif homogen (Talaku, *et al.*, 2017).



Gambar 4. Hasil dendrogram cluster analysis

Metode yang digunakan dalam cluster analysis adalah metode Ward. Metode Ward adalah suatu metode pengelompokan yang didasari oleh meminimalkan hilangnya informasi akibat penggabungan objek menjadi cluster (Harnanto, *et al.*, 2017). Pada gambar 10, grafik dendrogram objek-objek tersebut

menunjukkan bahwa hasil cluster analysis pegagan dari berbagai lokasi tumbuh dibagi menjadi dua cluster. Cluster pertama yang dikelompokkan adalah sampel yang berasal dari Tawangmangu (Karanganyar) dan Kalibawang (Kulon Progo). Sedangkan cluster kedua yang dikelompokkan adalah sampel yang berasal dari Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Lembang (Bandung Barat), dan Batu (Malang). Hasil CA serupa dengan hasil PCA, dimana pemisahan setiap daerah terpisah dengan baik. Sampel pegagan terpisah menjadi dua cluster didasarkan atas kemiripan spektra di antara dua kelompok.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut.

1. Pegagan dari enam daerah yang berbeda (Lembang (Bandung Barat), Pacet (Cianjur), Bumi Jawa (Tegal), Tawangmangu (Karanganyar), Kalibawang (Kulon Progo), dan Batu (Malang)) memiliki kadar fenolik total berturut-turut sebesar 227,33; 153,67; 105,33; 189,89; 166,33; dan 192,11 mg GAE/g ekstrak.
2. Diperoleh profil sidik jari pegagan dari enam daerah yang berbeda menggunakan FTIR diperoleh hasil spektrum dari enam jenis sampel tersebut, kombinasi dengan PCA menunjukkan score plot nilai PC-1 terhadap PC-2 81% (PC-1 47% dan PC-2 34%). Hasil CA serupa dengan hasil PCA, dimana pemisahan setiap daerah terpisah dengan baik. Sampel pegagan terpisah menjadi dua cluster didasarkan atas kemiripan spektra di antara dua kelompok. Profil sidik jari berdasarkan analisis PCA dan CA menunjukkan perbedaan sampel pegagan dari masing-masing daerah.

DAFTAR PUSTAKA

- Apsari, P.D., dan Susanti, H. 2011. Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*, Linn) Secara Spektrofotometri. *Prosiding Seminar Nasional "Home Care"*. 73-77.
- Artanti, N., Dewi, R.T., dan Maryani, F. 2014. Pengaruh Lokasi dan Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L. Urb). *JKTI*. 16(2) : 88-92.

Austen, N., Walker, H.J., Lake, J.A., dan Phoenix, G.K. 2019. The Regulation of Plant Secondary Metabolism in Response to Abiotic Stress: Interactions Between Heat Shock and Elevated CO₂. *frontiers in Plant Science*. 10(1463) : 1-12.

Azis, H.A., Taher, M., Ahmed, A.S., Sulaiman, W.M.A.W., Susanti, D., Chowdhury, S.R., dan Zakaria, Z.A. 2017. In vitro and In vivo wound healing studies of methanolic fraction of *Centella asiatica* extract. *South African Journal of Botany*. 108 : 163-174.

Azmin, S.N.H.M., dan Nor, M.S.M. 2020. Chemical fingerprint of *Centella asiatica*'s bioactive compounds in the ethanolic and aqueous extracts. *Advances in Biomarker Sciences and Technology*. 2(2020) : 35-44.

Bae, J., Kim, N., Shin, Y., Kim, S., dan Kim, Y. 2020. Activity of catechins and their applications. *Biomedical Dermatology*. 4(8) : 1-10.

Belwal, T., Andola, H.C., Atanassova, M.S., Joshi, B., Suyal, R., dan Thakur, S. 2019. *Gotu Kola (Centella asiatica)*. London : Elsevier Inc.

Biancolillo, A., dan Marini, F. 2018. Chemometric Methods for Spectroscopy-Based Pharmaceutical Analysis. *Front. Chem*. 6(576) : 1-14.

Burhan, A., Megawati., Tumiwa, A.M., Syahrani, R., dan Marwati. 2020. Metabolite Profiling of Temelekar Root (*Coptosapleta tementosa* Valetton ex. K. Heyne) Using Chemometric Methods. 5(1) : 19-23.

Burhan, A., Hikma, N., Khairuddin., Syahrani, R., Marwati., dan Palembangan, M. 2022. Profil Komponen Senyawa Herba Pegagan (*Centella asiatica* L.) dari Beberapa Tempat Tumbuh di Daerah Sulawesi Selatan dengan Analisis Sidik Jari Menggunakan FTIR. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 5(2) : 203-211.

Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang : LPTIK Universitas Andalas.

Gbolahan, B.W., Abiola, A.I., Kamaldin, J., Ahmad, M.A., dan Atanassova, M.S. 2016. Accession in *Centella asiatica*; Current Understanding and Future Knowledge. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 10(4) : 2485-2494.

Govarthanan, M., Rajinikanth, R., Kamala-Kannan, S., dan Selvankumar, T. 2015. A comparative study on

bioactive constituents between wild and in vitro propagated *Centella asiatica*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 13(2015) : 25-29.

Gray, N.E., Harris, C.J., Quinn, J.F., dan Soumyanath, A. 2016. *Centella asiatica* modulates antioxidant and mitochondrial pathways and improves cognitive function in mice. *J Ethnopharmacol*. 8(1) : 17-25.

Handayani, H., Rafi, M., dan Yuliana N.D. 2018. Profil Spektrum FTIR dan Aktivitas Antioksidan Pegagan (*Centella asiatica*) dengan Perlakuan Pengerangan yang Berbeda. *Undergraduate Theses*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.

Harnanto, Y.I., Rusgiyono, A., dan Wuryandari, T. 2017. Penerapan Analisis Klaster Metode Ward Terhadap Kabupaten/Kota di Jawa Tengah Berdasarkan Pengguna Alat Kontrasepsi. *Jurnal Gaussian*. 6(4) : 528-537.

Idris, F.N., Nadzir, M.M., dan Shukor, S.R.A. 2020. Optimization of solvent-free microwave extraction of *Centella asiatica* using Taguchi method. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 8: 1-7.

Katuuk, R.H.H., Wanget, S.A., dan Tumewu, P. 2019. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). *COCOS*. 1(4) : 1-6.

Kumar, R., Vijayalakshmi, S., dan Nadasabapathi, S. 2017. Health Benefits of Quercetin. *Defence Life Science Journal*. 2(2) : 142-151.

Marjoni, M.R., Afrinaldi, dan Novita, A.D. 2015. Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 23(3) : 187-196.

Maruzy, A., Budiarti, M., dan Subositi, D. 2020. Autentikasi *Centella asiatica* (L.) Urb. (Pegagan) dan Adulterannya Berdasarkan Karakter Makroskopis, Mikroskopis, dan Profil Kimia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 10(1) : 19-30.

Mohapatra, P., Ray, A., Jena, S., Nayak, S., dan Mohanty, S. 2021. Influence of Extraction Methods and Solvent System on The Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Centella asiatica* L. Leaves.

Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 33(2021) : 1-6.

Negahdari, R., Bohlouli, S., Sharifi, S., Dizaj, S.M., Saadat, Y.R., Khezri, K., Jafari, S., Ahmadian, E., Jahandizi, N.G., dan Raeesi, S. 2020. Therapeutic benefits of rutin and its nanoformulations. *Phytotherapy Research*. 35(4) : 1-20.

Ntalouka, F., dan Tsirivakou, A. 2023. Luteolin: A promising natural agent in management of pain in chronic conditions. *Front. Pain Res*. 4 : 1-19.

Puspitasari, L., Mareta, S., dan Thalib, A. 2021. Karakterisasi Senyawa Kimia Daun Mint (*Mentha sp.*) dengan Metode FTIR dan Kemometrik. *Sainstech Farma*. 14(1) : 5-11.

Rachmawati, W., Dinata, D.I., dan Sari, N. 2023. Identifikasi dan Analisis Sidik Jari Daun Katuk Dari Lima Daerah di Jawa Barat Menggunakan Spektroskopi FTIR dan Kemometrik. *Pharmacoscript*. 6(1) : 92-102.

Rafi, M., Febriany, S., Wulandari, P., Suparto, I.H., Ridwan, T., Rahayu, S., dan Siswoyo, D.M. 2018. Total Phenolics, Flavonoids, and Anthocyanin Contents of Six *Vireya Rhododendron* from Indonesia and Evaluation of their Antioxidant Activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 8(09) : 49-54.

Rafi, M., Rismayani, W., Sugiarti, R.M., Syafitri, U.D., Wahyuni, W.T., dan Rohaeti, E. 2021. FTIR-based Fingerprinting Combined with Chemometrics for Discrimination of *Sonchus arvensis* leaf Extracts and Correlation with Their Antioxidant Activity. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 32(2) : 132-140.

Rahayu, N.K.T., Permana, I.D.G.M., dan Puspawati, G.K.D. 2020. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *J. Ilmu dan Teknol. Pangan*. 9(4) : 482-489.

Rahmaniati, A.M., Ulfah, M., dan Mulangsari, D.A.K. 2018. Standarisasi Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) di Dua Tempat Tumbuh. *J. Inov. Tek. Kim*. 3(1) : 67-71.

Sanjiwani, N.M.S., Paramitha, D.A.I., Wibawa, A.A.C., Ariawan, I.M.D., Megawati, F., Dewi, N.W.T., Mariati, N.P.A.M., dan Sudiarsa, I.W. 2020. Pembuatan Hair Tonic Berbahan Dasar Lidah Buaya dan Analisis Dengan Fourier Transform Infrared. *Widyadari*. 21(1) : 249-262.

Sharma, C., Sharma, P., Ghosh, S., Bhutia, S., Pal, P., dan Mohanty, J.P. 2017. Impact of Geographical Variation on Medicinal Plant Species. *UJPSR*. 3(1) : 1-7.

Suhandy, D., dan Yulia, M. 2019. *Buku Ajar Tutorial Analisis Data Spektra Menggunakan The Unscrambler Bagian I. Klasifikasi*. Bandar Lampung : Graha Ilmu.

Talakua, M.W., Leleury, Z.A., dan Talluta, A.W. 2017. Analisis Cluster Dengan Menggunakan Metode K-Means Untuk Pengelompokan Kabupaten/Kota di Provinsi Maluku Berdasarkan Indikator Indeks Pembangunan Manusia Tahun 2014. *Barekeng*. 11(2) : 119-128.

Tanamal, M.T., Papilaya, P.M., dan Smith, A. 2017. Analisis Kandungan Senyawa Flavonoid Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat. *Seminar Nasional Biologi & Pembelajaran Biologi*. 140-147.

Tripathy, S., dan Srivastav, P.P. 2023. Encapsulation of *Centella asiatica* leaf extract in liposome: Study on structural stability, degradation kinetics and fate of bioactive compounds during storage. *Food Chemistry Advances*. 2 : 1-9.