Peran Air Perasan Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap *Superoxide dismutase* (SOD) pada Tikus

Sholikhatul Alaiya^{1)*}, Nour Athiroh AS.^{2)**}, Hari Santoso³⁾

¹ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Indonesia

^{2&3} Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Pegagan (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) adalah tumbuhan yang berpotensi dalam peningkatan fungsi kognitif dengan kandungan senyawa berupa triterpenoid. Senyawa triterpenoid merupakan salah satu antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan pegagan. Adanya aktivitas sel yang tidak seimbang akan menurunkan fungsi kognitif dan menimbulkan insiden dugaan awal penyakit demensia di Indonesia yang terjadi pada kelompok lanjut usia (lansia). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian air perasan pegagan dapat meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) pada tikus tua dan untuk mengetahui konsentrasi optimum air perasan pegagan dapat meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) pada tikus tua. Metode penelitian adalah eksperimental laboratorium model *post test only control group design*. Analisis data yaitu uji *one way ANOVA* dan *Post Hoc*. Penelitian dilakukan $\pm$ 5 bulan menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan. Terbagi dalam 5 kelompok perlakuan dan masing-masing 5 ulangan yaitu Kontrol (-) tikus usia normal; Kontrol (+) tikus usia tua; K III (tikus tua+2% APP); KIV (tikus tua+4% APP); KV (tikus tua+8% APP). Hasil penelitian menunjukkan bahwa air perasan pegagan¹ (APP) mampu meningkatkan kadar SOD pada tikus tua dalam konsentrasi 2%. Diperoleh nilai optimum konsentrasi APP adalah 4%. Sehingga, peran pemberian APP sangat berpengaruh baik dalam melindungi stabilitas antioksidan dari terbentuknya senyawa radikal bebas pada tikus tua.

Kata kunci: Kadar SOD (*Superoxide dismutase*), Pegagan (*Centella asiatica*) Radikal Bebas, Tikus Tua

ABSTRACT

Gotu kola (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) is one of plants that has potential for increasing the cognitive function with it is Triterpenoid compound. A compound triterpenoid natural antioxidant *Gotu Kola* derived from plants. The cells activities which is imbalance would degrade cognitive function and give rise to an incident alleged early symptom of dementia in Indonesia senior citizens of their age group. Research objectives is to know the influence of the provision of water destillation *Gotu Kola* can increase levels of superoxide dismutase (SOD) in old rats and to know the concentration of optimum water destillation *Gotu Kola*¹ can increase levels of superoxide dismutase (SOD) in old rats. A method of research experimental model test only control grup design. Test data analysis that is One Way ANOVA and Post Hoc. The Research was done $\pm$ 5 months using a rat (*Rattus norvegicus*) any furrow wistar male. Devide into the treatment group with the negative control is young rats; positive control is old rats: KIII (old rats+2% water destillation *Gotu kola*); KIV (old rats+4% water destillation *Gotu kola*) and (old rats+8% water destillation *Gotu kola*). Result showed that the water distillation *Gotu Kola*¹ increased SOD levels in old rats by concentration of 2%. The optimum value is 4% in water distillation *Gotu kola*¹. Therefore, the role of the provision of water distillation *Gotu Kola*¹ have a good effect in protecting antioxidant stability of the establiment a compound of free radical in old rats.

Key word: *Superoxide Dismutase* (SOD) Level, *Gotu Kola*, Free Radical, Old Rats

*) Sholikhatul Alaiya Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang 089632701345. E-mail: likha.alaiya23@gmail.com

**) Dr. Nour Athiroh, S.Si.M.Kes, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang

Tanggal Diterima 13 Agustus 2015 - Tanggal Publikasi 25 Agustus 2015

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, salah satunya adalah jenis tumbuhan. Pegagan (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) merupakan tumbuhan herba tahunan yang dapat tumbuh liar di daerah tropis dan subtropis. Adapun morfologi tumbuhan pegagan adalah bentuk daun menyerupai bangun ginjal, batang herba basah atau lunak. Tumbuhan ini termasuk dalam roset akar, dengan memiliki akar berwarna putih dan rimpang berukuran pendek dilengkapi dengan stolon yang merayap dengan panjang 10-80 cm [1].

Pegagan (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) merupakan tumbuhan yang memiliki banyak potensi dalam masalah kesehatan masyarakat, salah satunya adalah mampu meningkatkan kemampuan berfikir dengan kandungan didalamnya berupa *asiaticosida*, *triterpenoid*, *saponin*, *flavonoid* dan bahan aktif lainnya [2]. Secara garis besar tumbuhan ini mengandung unsur senyawa kimia yaitu *triterpenoid* yang merupakan senyawa penting dalam pembentukan fungsi kognitif karena kandungan utamanya adalah *asam triterpenic pentasiklik dan glikosid* dengan rincian senyawa seperti *asam asiatic*, *asiaticoside*, *asam mandecassic*, *madecassoid*, *brahmoside*, *asam brahmic*, *centalloside*, *flavonoid* dan senyawa asam lainnya [3].

Efek farmakologi tumbuhan pegagan secara tradisional adalah sebagai penyembuh penyakit kulit [4]. Sebagai obat sakit perut, sakit tenggorokan (batuk), disentri [5] manfaat lainnya adalah sebagai penyembuh penyakit demam, antilepra dan dapat menambah selera makan [6]. Penelitian terbaru tentang manfaat tumbuhan pegagan adalah menunjukkan efek perlindungan terhadap penurunan fungsi kognitif yang disebabkan oleh adanya stres oksidatif pada tikus yang sebelumnya telah diinduksi oleh kolkisin, pemberian air perasan pegagan dalam jumlah 150 dan 300 mg/kgBB yang diberikan secara oral selama 25 hari membuktikan mampu menurunkan stres oksidatif sehingga dapat meningkatkan fungsi kognitif memori [7].

Hal ini didukung dalam penelitian Riana [8] menyatakan bahwa, beberapa senyawa yang aktif *asiaticosida* tumbuhan pegagan juga mampu berkhasiat sebagai antioksidan, memperbaiki gangguan saraf serta peredaran darah akibat adanya radikal bebas di dalam tubuh kisaran 1-8%. Gangguan saraf terjadi kebanyakan pada kelompok lansia (lanjut usia) yang disebabkan karena sifat degeneratif sel didalam tubuh.

Badan Komisi Nasional Lansia (BKNL) [9], telah menyatakan bahwa lajunya peningkatan lansia merupakan dampak keberhasilan pembangunan negara dibidang kesehatan. Akan tetapi, peningkatan tersebut akan menjadi tonggak awal timbulnya masalah kesehatan prevalensi penurunan fungsi kognitif pada lansia. Menurut Ghetu [10] menyatakan bahwa, keadaan lansia sudah mengalami suatu proses penuaan dan secara struktur anatomi dan fungsional mengalami penurunan fungsi kognitif. Penurunan fungsi kognitif disebabkan oleh adanya reaksi *Reaktif Oksigen Spesies (ROS)* yang berasal dari rangkaian rantai senyawa radikal bebas secara terus-menerus akan menyebabkan kadar SOD dalam sel (endogen) menurun. *Superoxide dismutase (SOD)* diartikan sebagai enzim antioksidan yang mengkatalis dismutasi anion superoksida menjadi Oksigen yang lebih reaktif dan mengubah senyawa yang tidak reaktif seperti Hidrogen peroksida (H_2O_2), karena enzim antioksidan SOD mampu melindungi sel akibat stres oksidatif dan dapat menjaga keseimbangan dari berbagai radikal bebas. Oleh sebab itu kadar SOD di dalam tubuh akibat radikal bebas dapat diukur berdasarkan indikator pengukuran peningkatan enzim antioksidan SOD di dalam tubuh [11].

Meningkatnya kadar radikal bebas di dalam tubuh dapat diketahui melalui tingkat penurunan Malondialdehide (MDA) dalam plasma hal ini akan memicu juga adanya Peningkatan *Superoxide dismutase (SOD)* sebagai kebalikan dari penurunan kadar MDA di dalam tubuh. Meningkatnya usia

seseorang maka akan meningkatkan pula jumlah sel-sel tubuh yang mengalami degeneratif. Oleh sebab itu tubuh memerlukan antioksidan alami yang mampu menangkap radikal bebas secara stabil dan mampu meredam dampak negatifnya [12]. Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian air perasan daun pegagan terhadap peningkatan fungsi kognitif melalui pengukuran peningkatan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) pada tikus tua.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian air perasan pegagan (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) dapat meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) pada tikus tua dan untuk mengetahui konsentrasi optimum air perasan pegagan (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) dapat meningkatkan kadar *Superoxide dismutase* (SOD) pada tikus tua. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain: memberikan informasi ilmiah atau solusi pengobatan herbal untuk masalah penurunan fungsi kognitif, terutama berkaitan pada gejala awal demensia akibat proses penuaan, sebagai dasar penelitian kaitannya dalam pemanfaatan pegagan sebagai penambah daya ingat akibat adanya penurunan fungsi kognitif dan menimbulkan adanya dugaan awal demensia dan menambah pengetahuan baru dalam pengembangan pemanfaatan tumbuhan pegagan sebagai obat herbal di bidang kesehatan.

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Kandang pemeliharaan tikus, rak peliharaan tikus, Timbangan elektrik, Sendok, Gelas Ukur, erlenmeyer, mortal, botol air minum tikus, skop pembersih kotoran tikus, alat *seccio*, papan bedah, *hanscone*, tissue, pipet tetes, spuit injeksi 5 ml (Terumo), tabung reaksi dan rak, *sentrifuge* kecil, *ependorf* 2000 uL (*Axygen*), mikro tube 15 ml (BD), mikro pipet, spektrofotometer Vis, Vortex, incubator suhu.

Pegagan segar (*Centella asiatica* (Linn.) Urban), tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan umur 9 bulan berdasarkan Surat Keterangan Pemeriksaan Kesehatan Hewan (SKPKH) dengan nomor: **524.3 /086/ 35.73.309 /2014** , tikus usia normal (3-6 bulan), 511-B (pakan), sekam, NBT (KPL) 50-81-18, tissue gulung tessa, *Blue Tips*, *Yellow Tip* (lokal), *Tri Cloro Asetat* (TCA), Na Thio Barbituric, formalin 10%, HCL (Merck), Aquadest SOD, Xantine SOD, Xantine oksidase (sigma), PBS, SOD serum tikus tua.

Metode

Penelitian pengaruh pemberian air perasan pegagan terhadap peningkatan kadar SOD didalam tubuh tikus tua diduga demensia ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan sesuai dengan persetujuan komisi etik penelitian. Metode ini melalui pendekatan secara eksperimental laboratorik dengan model *post test only control group design* dengan 5 kelompok masing-masing 5 kali ulangan, yaitu: Tikus usia Normal (3-6 bulan) sebagai Kontrol Negatif (tanpa diberi air perasan pegagan); Tikus Tua usia (9 bulan) sebagai Kontrol Positif (tanpa diberi air perasan pegagan); Tikus Tua + 2 % air perasan pegagan (KIII); Tikus Tua + 4% air perasan pegagan (KIV); Tikus Tua + 8% air perasan pegagan (KVI); Variabel yang digunakan dalam penelitian ini tersiri dari 3 variabel yaitu : 1) variabel bebas, 2) variabel terikat dan 3) variabel terkendali. Variabel bebas dari penelitian ini adalah air perasan daun pegagan dengan konsentrasi yaitu : 2 %, 4% dan 8%. Variabel terikat adalah peningkatan kadar *Superoxide dismutase* (SOD), sedangkan variabel terkendali adalah

tikus tua diduga demensia yang diberi pakan tikus dengan tambahan air perasan pegagan dengan konsentrasi yang berbeda dan di beri minum air biasa.

Populasi penelitian adalah tikus (*Rattus norvegicus*) wistar yang diperoleh dari perum Oma View No. 33 Kel. Cemorokandang Kecamatan Kedungkandang yang telah mendapatkan surat keterangan pemeriksaan kesehatan hewan (SKKH) Nomor: 524.3 /086/ 35.73.309 / 2014 oleh Kepala Bidang Peternakan dan Kesehatan Hewan Kota Malang.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* Wistar) yang telah memenuhi kriteria sebagai berikut: Galur Wistar, Usia 9 Bulan, dan Sehat, ditandai dengan bulu bersih berwarna putih, mata jernih serta gerakan aktif.

Cara Kerja

Daun dipilih berdasarkan daun pegagan segar, kemudian dicuci bersih untuk menghilangkan tanah, debu ataupun embun yang menempel, dan dikeringkan, kemudian ditimbang daun pegagan segar tersebut yaitu 2, 4, dan 8 gram dan masing-masing ditumbuk menggunakan mortal hingga halus dengan ditambahkan aquades 100 ml, hal ini dilakukan modifikasi pembuatan air perasan pegagan berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Gupta and Khumar (2003), kemudian didapatkan larutan air perasan pegagan dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 2%, 4% dan 8%.

Tikus tua kelompok KIII, KIV dan KVI diberi ransum yang ditambahkan dengan masing-masing air perasan pegagan 2%, 4% dan 8% kemudian ditimbang ransum tersebut sebanyak 100 gr dan pemberian pakan dilakukan 2 kali sehari selama 8 minggu. Kemudian dilakukan pengukuran kadar SOD (*Superoxide dismutase*).

Pengambilan serum dilakukan langkah sesuai dengan SOP pembedahan hewan coba. Adapun langkahnya sebagai berikut : Langkah awal adalah menyiapkan peralatan pembedahan seperti, alat pembedahan (gunting bedah lurus pendek dan bengkok, pinset, papan bedah, pins) botol kecil yang diisi formalin 10% untuk menyimpan organ, botol falcon untuk darah dan sentrifuse diberi label sesuai dengan kelompok perlakuan, *ependorf tube* sebagai serum darah untuk uji SOD diberi label sesuai dengan kelompok perlakuan. Dilakukan pembiusan terhadap tikus menggunakan eter, kemudian diletakkan pada papan bedah, di pins untuk memfiksasi tikus yang dibedah. Dilakukan pengambilan darah pada bagian organ jantung menggunakan syringe dan diletakkan dalam tabung sentrifuse, di masukkan dalam alat sentrifuse untuk mendapatkan serum tikus.

Pengukuran kadar peningkatan SOD dilakukan langkah berdasarkan modifikasi oleh Laboratorium FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yaitu, Serum 100uL + 200uL *buffer* reaksi. (1x) ke Well Blangko + 50uL ke sumur well (standart 0)+50uL Nitrit standart + 59uL *buffer* reaksi (1x) ke semua well sampel standart kemudian dicampur dan digoyang Plate setelah itu dilakukan inkubasi selama 10 menit di suhu ruang, kemudian ditambahkan 59uL reagen Greiss I + Griess II ke setiap well (kecuali well blangko), selanjutnya ditentukan Optical Density (OD) dari tiap wells menggunakan *microplate reader set* secara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm [13].

Analisis data menggunakan *uji one way* ANOVA (Analisa Varian 1 Arah) dan Uji Post Hoc pada software SPSS 21. Sebelum dan sesudah penelitian dilakukan pendataan seperti temuan, kendala selama penelitian yang digunakan sebagai tolak ukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Setelah pemberian air pegagan selama 8 minggu, dilakukan pengamatan terhadap MDA tikus tua diduga demensia seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata Kadar SOD Serum pada Kelompok Perlakuan.

No	Perlakuan	Kadar SOD (u/ml)					Rerata ± SD
		Pengulangan					
		1	2	3	4	5	
1	K (-)	3,12	2,28	2,56	3,51	3,06	2,91 ± 0,48 ^a
2	K (+)	1,28	1,78	1,34	1,90	1,78	1,62 ± 0,28 ^b
3	KIII (2%)	3,90	2,95	2,84	2,51	1,95	2,83 ± 0,71 ^a
4	KIV (4%)	2,95	3,67	2,51	3,06	2,78	3,00 ± 0,61 ^c
5	KV (8%)	4,01	2,84	3,28	3,95	2,67	3,35 ± 0,76 ^c

Data rerata disajikan ± stansart deviasi. ^a kontrol negatif secara signifikan berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif ^b dan perlakuan KIV ^c dan KV ^c. ^a kontrol negatif dengan KIII^a dan perlakuan KIV ^c dan KV ^c secara signifikan tidak berbeda nyata; (p<0,05).

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa, rata-rata kadar SOD pada kelompok kontrol negatif (K-) yaitu kelompok perlakuan tikus usia tua tanpa diberi air perasan pegagan menunjukkan rerata adalah 2,91 u/ml, sedangkan pada perlakuan kontrol positif (K+) merupakan kelompok perlakuan tikus usia normal tanpa diberi pula air perasan pegagan menunjukkan rerata adalah 1,62 u/ml. Pada KIII menunjukkan rerata peningkatan SOD sebesar 2,83 u/ml. Terdapat peningkatan pada KIV yaitu sebesar 3,00 u/ml dan menunjukkan nilai yang secara signifikan berbeda nyata dengan kontrol positif serta menunjukkan nilai yang optimal. Sedangkan pada konsentrasi APP 8% juga menunjukkan nilai yang sama tetapi tidak menunjukkan nilai yang optimum dalam penggunaan APP. Diperoleh nilai rerata sebesar 3,35 u/ml. Secara umum rerata peningkatan SOD tiap perlakuan menggunakan hewan coba dari data tersebut dapat dijelaskan dalam histogram berikut ini. Gambar 1.

Hasil ANOVA pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada kadar MDA terdapat perbedaan yang signifikan antara: K (-) dengan K (+); K (+) dengan Kelompok III, IV dan V; namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara: K (-) dengan Kelompok III; Kelompok IV dan V. Hasil tersebut dapat dijelaskan pada Gambar 1.

Gambar 1. Histogram rerata Kadar SOD (u/mL) terhadap kelompok perlakuan tikus tua. ^a) secara signifikan berbeda nyata bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ^b) secara signifikan berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol negatif dan kelompok perlakuan konsentrasi 2,66%. Secara signifikan KIV^c) dengan KV^c) tidak berbeda nyata (p<0,05).

Hasil analisis berdasarkan Gambar 1. Menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif (K-) mempunyai nilai rata-rata kadar SOD sebesar 2,91 u/ml bila di bandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) rata-rata kadar SOD sebesar 1,62 u/ml mempunyai nilai yang berbeda nyata ($p < 0,05$) yaitu pada nilai $p = 0,001$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada keadaan tikus tua memproduksi radikal bebas di dalam tubuhnya berlebih dan tidak dapat diimbangi oleh antioksidan yang diproduksi secara endogen sedangkan pada keadaan tikus usia normal mempunyai nilai lebih tinggi dibandingkan dengan tikus tua pada K (+).

Pemberian air perasan pegagan mampu meningkatkan kadar SOD, terlihat pada kelompok KIII dengan pemberian konsentrasi 2% air perasan pegagan mempunyai nilai rerata kadar SOD sebesar 2,83 u/ml bila dibandingkan dengan K(+). Pada kelompok KIV yang diberi perlakuan air perasan pegagan dengan konsentrasi 4% bila dibandingkan dengan K(+), mempunyai nilai rerata peningkatan kadar SOD sebesar 3,00u/ml. Hasil tersebut menunjukkan nilai konsentrasi pemberian air perasan pegagan yang optimum. Antioksidan merupakan zat yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi, zat tersebut dapat menghambat proses oksidasi dalam konsentrasi yang rendah [14] [15]. Pada pemberian air perasan pegagan 8% lebih pekat menunjukkan nilai peningkatan kadar SOD sebesar 3,35 u/ml menjadi terus meningkat. Namun, tidak menunjukkan konsentrasi yang optimum, dikarenakan pemberian konsentrasi yang berlebih akan mengakibatkan adanya senyawa toksik yang mampu membentuk radikal bebas baru sehingga mekanisme kerja dari senyawa antioksidan air perasan pegagan tidak bekerja dengan baik dan bersifat toksisitas. Dilaporkan bahwa penelitian tentang uji toksisitas akut pegagan sampai pada batas dengan dosis 2000 mg/kgBB, karena dalam penelitian terlihat bahwa hewan tidak ada yang mati dan tidak ada gejala klinis ketoksikan yang jelas pada masing-masing hewan uji [16].

Mekanisme penangkapan radikal bebas oleh senyawa *triterpenoid* sebagai antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan. Senyawa *triterpenoid* mampu memodulasi enzim SOD endogen, sehingga mampu merubah ikatan senyawa yang disebabkan oleh radikal bebas menjadi ikatan yang lebih stabil. Terlihat dalam Gambar 2.

Gambar 2. Mekanisme enzim SOD dalam Penangkapan Radikal Bebas yang menyebabkan stres oksidatif [17].

Keadaan tubuh normal akan terjadi radikal bebas dalam jumlah yang sedikit, SOD endogen sudah mampu menangkap radikal bebas tersebut. Maka radikal bebas superoksid (O_2^-) akan diubah menjadi Hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh SOD endogen dan akan direduksi menjadi H_2O oleh Glutation Peroksidase (GPx) menggunakan enzim Glutation (GSH), sebagai substrat atau menggunakan katalase (CAT). Namun jika radikal bebas berlebih di dalam tubuh dan SOD endogen tidak mampu menangkapnya maka diperlukan SOD secara eksogen untuk membantu dalam mengkatalis radikal bebas tersebut. Apabila SOD di dalam tubuh tidak bisa mengatasi radikal bebas maka Cu^{2+} dan Fe^{2+} akan mengubah senyawa H_2O_2 menjadi radikal Hidroksil (OH) dengan mengalami reaksi fenton begitupula dalam keadaan ketika nitrogen monoksida (NO) yang dibentuk oleh NO Synthase (NOS), maka O_2^- akan bereaksi dengan NO dan membentuk makromolekul berupa ONOO⁻ dan sangat reaktif dalam merusak sel dan menyebabkan keracunan sel. Sehingga reaksi keduanya tersebut dapat mempengaruhi dan berdampak pada DNA, peroksidasi lipid dan oksidasi protein sehingga dapat membunuh sel yang masih berfungsi [17].

Hal ini diprediksi bahwa kandungan pegagan *triterpenoid* sebagai antioksidan yang mampu cara memodulasi enzim SOD endogen dalam menangkal senyawa radikal bebas dalam tubuh akibat stres oksidatif [18]. *Triterpenoid* merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan pegagan. Senyawa *triterpenoid* dapat larut dalam lemak sehingga dikategorikan dalam mekanisme antioksidan yang kedua yaitu antioksidan sekunder dapat memperlambat reaksi autooksidasi dengan cara mengubah radikal lipida menjadi senyawa lebih stabil seperti vitamin E dan C [19].

Air perasan pegagan diduga mengandung antioksidan berupa *flavonoid* yang merupakan bagian dari *centellacoside* dan mengandung *triterpenoid*, yang mempunyai peran sebagai antioksidan alami. Antioksidan air perasan pegagan mampu merangsang pembentukan kolagen dan regenerasi jaringan, meningkatkan aliran darah dengan memperkuat dinding pembuluh darah [20].

Gambar 3. Struktur *Asiaticosida Centella asiatica* [21].

Berdasarkan Gambar 3 struktur *asiaticosida* yang tergolong dalam senyawa *triterpenoid* akan mampu bereaksi dengan antioksidan primer untuk menyumbangkan atom hidrogen secara cepat pada radikal lipida dan dapat diubah menjadi senyawa yang lebih stabil bila dibandingkan dengan radikal lipida sebelumnya. Pembentukan senyawa yang lebih stabil pada radikal antioksidan dapat terbentuk berdasarkan resonansi pada struktur cincin aromatikanya, sehingga tidak akan terlibat dalam pembentukan reaksi radikal yang lain [22].

Berdasarkan penelitian ini, air perasan pegagan KIII, KIV dan KV mampu membantu SOD dalam menetralkan efek radikal bebas yang disebabkan oleh stres oksidatif tikus tua sehingga didapatkan nilai SOD meningkat. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya Alaiya [23] melaporkan bahwa kandungan senyawa *Triterpenoid* berupa *Asiaticosida* mampu menangkalkan senyawa radikal bebas melalui indikator penurunan kadar MDA dalam tubuh tikus tua akibat terjadinya stres oksidatif. Hasil konsentrasi optimum air perasan pegagan sebesar 4% sebagai konsentrasi optimum diperoleh nilai penurunan kadar MDA sebesar 5,37 u/ml bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sebesar 9,22 u/ml.

Berdasarkan mekanisme penangkapan senyawa radikal bebas diatas maka pada setiap kelompok perlakuan yang telah diberi pakan sesuai prosedur penelitian telah dilakukan penimbangan sisa pakan selama perlakuan untuk mengetahui banyak sedikitnya ransum yang dikonsumsi oleh hewan coba. Disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Hasil Penimbangan Sisa Pakan selama Perlakuan Penelitian di Laboratorium

Perlakuan	Berat Pakan selama penelitian (2 bulan)		
	Berat Ransum awal (gram)	Rerata Ransum yang dimakan (gram) ± Standar Deviasi	Rerata Sisa Δ Ransum (gram) ± Standar Deviasi
K(-)	100	61,11 ± 23,065 [*]	38,89 ± 49,302 ^a
K(+)	100	64,23 ± 5,155 [#]	35,77 ± 28,69 ^a
KIII	100	60,09 ± 21,132 [#]	39,91 ± 50,546 ^b
KIV	100	58,00 ± 54,729 [#]	41,54 ± 61,315 ^c
KV	100	55,09 ± 16,739 [#]	44,91 ± 16,739 ^c

Data rerata disajikan ± stansart deviasi. ^{*} kontrol negatif secara signifikan berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif [#] dan perlakuan KIII[#], KIV[#], KV[#] pada rerata ransum yang dimakan. ^a kontrol negatif dengan kontrol positif ^a secara signifikan tidak berbeda nyata. ^a kontrol negatif dengan kontrol positif ^a dengan KIII^b secara signifikan berbeda nyata dan perlakuan KIV ^c dan KV ^c secara signifikan tidak berbeda nyata; (p<0,05).

Penimbangan sisa pakan dilakukan setiap hari bertujuan untuk mengetahui rerata hasil ransum yang dimakan dan sisa ransum. Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa hampir 50% hewan coba mengkonsumsi ransum yang diberikan setiap harinya. Masing-masing berbeda. Hasil penelitian terlihat bahwa kontrol negatif dengan nilai rerata ransum yang di makan adalah 61,11 gram secara signifikan berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif sebesar 64,23 gram dan perlakuan KIII mempunyai nilai rerata ransum yang dimakan sebesar 60,09 gram, KIV sebesar 58,00 gram, dan KV sebesar 55,09 gram rerata ransum yang dimakan. Sedangkan, sisa ransum pada kelompok kontrol negatif sebesar 38,89 gram bila dibandingkan dengan kontrol positif mempunyai nilai sisa pakan sebesar 35,77 gram secara signifikan tidak berbeda nyata. Sedangkan kelompok keduanya dengan KIII secara signifikan berbeda nyata dan perlakuan KIV mempunyai nilai rerata sisa ransum sebesar 41,54 gram dan KV sebesar 44,91 gram secara signifikan tidak berbeda nyata. Hal ini dapat disajikan dalam Gambar 4.

Gambar 4. Histogram rerata penimbangan Ransum pada Kelompok Perlakuan. * kontrol negatif secara signifikan berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol positif [#] dan perlakuan KIII[#], KIV[#], KV[#] pada rerata ransum yang dimakan. ^a kontrol negatif dengan kontrol positif ^a secara signifikan tidak berbeda nyata. ^a kontrol negatif dengan kontrol positif ^a dengan KIII^b secara signifikan berbeda nyata dan perlakuan KIV^c dan KV^c secara signifikan tidak berbeda nyata; (p<0,05).

Hal ini sesuai dengan pendapat Muchtadi [24] bahwa, tingkat kesukaan hewan coba dalam mengkonsumsi ransum yang diberikan adalah berbeda-beda. Keadaan tersebut dimungkinkan karena beberapa faktor yaitu tingkat kualitas ransum pada masing-masing perlakuan, faktor lingkungan yang tidak baik sehingga, hewan coba menjadi stres dan berpengaruh terhadap nafsu makan. Ransum merupakan salah satu pakan dalam perawatan hewan coba. Salah satu kriteria pemberian ransum pada hewan percobaan adalah mengandung banyak nutrisi seperti protein dan vitamin. kualitas nutrisi yang baik dalam ransum hewan coba akan berpengaruh pada perbaikan jaringan yang rusak akibat adanya serangan senyawa radikal bebas secara terus menerus. Sehingga, tubuh menjadi optimal kembali.

KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini yaitu, Hasil penelitian menunjukkan bahwa Air Perasan Pegagan dapat menaikkan kadar SOD pada tikus tua dengan potensi konsentrasi yaitu 2 % sudah mampu menaikkan kadar SOD. Sehingga dapat dikatakan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi perasan pegagan maka menaikkan kadar SOD pada tikus tua.

Setelah dilakukan penelitian dan perhitungan secara statistik maka, dapat disimpulkan bahwa: Pemberian air perasan pegagan (APP) mampu meningkatkan kadar SOD di dalam tubuh tikus tua melalui penangkapan senyawa radikal bebas. Konsentrasi optimum air perasan pegagan (APP) terhadap peningkatan kadar SOD tikus tua adalah 4% dengan adanya perhitungan konversi konsentrasi yang telah tercampur dalam ransum tikus maka 2,66% merupakan konsentrasi yang mampu meningkatkan kadar SOD.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Tjitrosoepomo, G. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada Press Universitas Gadjah Mada. ISBN 979-420 241-X. Yogyakarta.
- [2] Kumar, Verendra dan Gupta. 2006. *Asiatic Centella*. Provital Group

- [3] Zheng, C.J. and L.P. Qin 2007. Chemical components of *Centella asiatica* and their bioactivities. *J. Chin Integr Med.* 5(3): 348-351.
- [4] De Padua, L.S., N Bunyaprahatsara, R.H.M.J. Lemmens. 1999. Plants Resources of South East Asia. *Medicinal and Poisonous Planst. Prosea.* 12 (1). Bogor Indonesia.
- [5] Shin, K. H. 1995. *Medicinal Herbs Index In Indonesia*. 2nd Editions (Eds.). PT. Eisai Indonesia. Jakarta.
- [6] Januawati, M. M. Y. 2005. *Budidaya Tanaman Pegagan*. Sirkuler. Hal 11.
- [7] Kumar, A., S. Dogra, A. Prakash. 2009. Neuroprotective effects of *Centella asiatica* against intracerebroventricular colchicine induced cognitive impairment and oxidative stress. *Intern. J. Alzheimer's Dis.* 13
- [8] Riana, S. 2006. Khasiat Tanaman Herbal Indonesia. Tanggal Akses 21 Juni 2015. URL: [http://web Spawner.com](http://web.Spawner.com)
- [9] Badan Komisi Nasional Lansia. 2010. Profil Penduduk Lanjut Usia 2009. Komisi Nasional Lansia. Jakarta.
- [10] Ghetu, M.V. *et al.* 2010. Diagnosis And Treatment of Mild Cognitive Impairment. Accessed at: Juni 21, 2015. Retrieve <file:///D:/MCi/Diagnosis-and-Treatment-Mild-Cognitive-Impairment.htm>.
- [11] Paravicini, T.M. dan R.M. Touyz. 2008. NADPH Oxidase, Reactive Oxygen Species, and Hypertention. *Journal Diabetes Care*, 31(2): S170-S180.
- [12] Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius (Anggota IKAPI). Cetakan 01., ISBN: 978-979-21-1612-0. Yogyakarta.
- [13] Laboratorium Faal. 2014. *Pengukuran SOD serum*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
- [14] Halliwell, B., R. Aeschbach, J. Lolinger, O I. Auroma. 1995. Toxicology. "*J Food Chem*" 33: 601.
- [15] Schuler, P. 1990. Natural Antioxidant Exploited Comercially in B.J.F. Husdont (Ed.). Food Antioxidants. Elsevier Applied Science. New York.
- [16] Sulastry, F. 2009. Uji toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Mencit Balb/c. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- [17] Timo, M. B. and Urs T. R.A. Krauskopf . 2004. Role of Superoxide as a Signaling Molecule. *Physiology Published 1 June 2004 Vol. 19 no. 3*, 120-123 DOI: 10.1152/nips. 01514.2003. Retrieve June, 20th 2015. URL:<http://physiologyonline.physiology.org/content/19/3/120.full-text.pdf+html>.
- [18]Kefer, JC., and A. S.E. Agarwal ,2009. ole of antioxidants in the treatment of male infertility. *International Journal of Urology* 16: 449 – 57.
- [19] Brinkhaus, B., M. Lindner, D. Schuppan and EG. Hahn. 2000. Chemical, pharmacological and clinical profile of the east asian medicinal plant *Centella asiatica*. *Phytomedicine* 2000 ; 7(5): 427-448.
- [20] Sushama *et al*, 2011. *Centella asiatica*: A Concise Drug Review With Probable Clinical Uses. *Journal of stress Physiology & Biochemistry*, Vol 7 No 1:38-44 ISSN 1997-0838. Institute of Medical Sciences, Banaras Hindu University, Varanasi-221005.

- [21] Gohil, K.J., J.A. Patel and AK. Gajjar. 2010. Pharmacological Review on *Centella asiatica*: A Potential Herbal Cure-all . *Indian J Pharm Sci*.
- [22] Lee, J., N. Koo and D.B. Min. 2004. Reactive Oxygen Spesies, aging, and Antioxidative nutrecepticals. Compre rev. *In Food Sci. And Food Safety*. 3, 21-33.
- [23] Alaiya, S., Andri dan S Lana A.E. 2014. Inhibisi Radikal Bebas oleh Pegagan (*Centella asiatica*) ala “Pan’s CaKes” (Pegagan sebagai Camilan Kesehatan) melalui Penurunan *Malondialdehyde* (MDA) untuk Alternatif Terapi Penyakit Degeneratif Demensia pada Tikus Tua (*Rattus norvegicus*) diduga Demensia. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang (UNISMA). Malang.
- [24] Muchtadi, D. 1989. *Evaluasi Nilai Gizi Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Bogor.