

IDENTIFIKASI KADAR SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK PEGAGAN (*Centella asiatica*) YANG TUMBUH PADA DATARAN TINGGI SEBAGAI BAHAN FEED ADDITIVE ALAMI

*Identification Secondary Metabolites Compound in Pegagan (*Centella asiatica*) Extract Grown in Highland as a Natural Feed Additive Material*

Muhamad Aripin Ilham¹, Mansyur², dan Rahmad Fani Ramadhan²

¹Mahasiswa Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

²Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran

Jalan Ir. Soekarno KM. 21, Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat
45363. Teknologi Pakan Ternak, Jurusan Peternakan, Politeknik Negeri Lampung
Jl. Soekarno Hatta No.10, Rajabasa Raya, Rajabasa, Kota Bandar Lampung,
Lampung, 35141

KORESPONDENSI

Muhamad Aripin Ilham
Fakultas Peternakan,
Universitas Padjadjaran

email :
aripinm34@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) yang tumbuh pada dataran tinggi. Pegagan memiliki senyawa metabolisme sekunder yang terdiri atas flavonoid, triterpenoid, tanin, saponin, dan senyawa lainnya. Senyawa metabolit ini memiliki manfaat sebagai antioksidan dan antimikroba sehingga dapat digunakan sebagai bahan *feed additive* untuk menggantikan *antibiotic growth promoters* dan antioksidan sintetis. Metode penelitian yang digunakan adalah metode *purposive sampling* dengan mengumpulkan sampel pegagan dari 30 titik di sekitar area Bandung raya, Jawa Barat, Indonesia. Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak sampel. Senyawa metabolit sekunder yang diukur adalah flavonoid, triterpenoid, tanin, dan saponin. Senyawa tersebut diukur dengan metode spektrofotometrik. Hasil penelitian ini menunjukkan kadar flavonoid yang terukur sebesar $132,34 \pm 11,12$ mg EK/g berat kering, triterpenoid $17,83 \pm 2,84$ mg EAU/g berat kering, tanin $64,59 \pm 21,85$ mg EKA/g berat kering, dan saponin $171,77 \pm 74,91$ mg ED/g berat kering. Berdasarkan hasil tersebut, Pegagan memiliki potensi untuk dijadikan sebagai bahan *feed additive* alami untuk menggantikan *antibiotic growth promoters* dan antioksidan sintetis.

Kata Kunci: *antibiotic growth promoters, feed additive, pegagan, metabolit sekunder, antioksidan sintetis*

ABSTRACT

*This research aimed to quantify the levels of secondary metabolite compounds in pegagan (*Centella asiatica*) extract that grow in the highlands. Pegagan contains various secondary metabolites, including flavonoids, triterpenoids, tannins, saponins, and other compounds. These metabolites possess antioxidant and antimicrobial properties, suggesting their potential use as a feed additive to replace antibiotic growth promotore and synthetic antioxidants. Pegagan samples were collected using purposive sampling method from 30 locations across an altitude range of 700-1,800 meters above sea level (masl) around Bandung Raya, West Java, Indonesia. Maceration method was employed for extraction. Secondary metabolite compounds were quantified included flavonoids, triterpenoids, tannins, and saponins. These compounds were measured using spectrophotometric methods. Results of this research showed the flavonoid content of pegagan 132.34 ± 11.12 mg QE/g DW, triterpenoid content 17.83 ± 2.84 mg UAE/g DW, the tannin content 64.59 ± 21.85 mg CE/g DW, and the saponin content was 171.77 ± 74.91 mg DE/g DW. Based on these result, pegagan has the potential to be natural feed additive that replaces antibiotic growth promoters and synthetic antioxidants.*

Keywords: *antibiotic growth promoters, feed additive, pegagan, secondary metabolites, synthetic antioxidants*

PENDAHULUAN

Industri di bidang peternakan terus tumbuh dan berkembang setiap tahunnya. Ternak yang menjadi salah satu sumber protein terbesar di dunia terus dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan pangan. Mulai dari bidang nutrisi, pengendalian penyakit, hingga perbaikan genetik menjadi fokus utama dalam pengembangan industri peternakan. Pelarangan penggunaan *antibiotic growth promoters* (AGP) pada tahun 2006, telah mendorong para peneliti untuk mencari pengganti antibiotik yang dapat memacu pertumbuhan (Olawuwo *et al.*, 2022). Penggunaan antioksidan sintetis seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan *ethoxyquin* (EQ) juga dibatasi dosis penggunaannya karena memiliki efek samping kepada manusia seperti iritasi mata, kulit sensitif dan meninggalkan residu pada ternak di bagian hati dan ginjal (Rychen *et al.*, 2018 ; Bampidis *et al.*, 2022a ; Bampidis *et al.*, 2022b).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mencari pengganti antibiotik dan antioksidan sintetis adalah dengan memanfaatkan senyawa metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh tumbuhan untuk beradaptasi dengan lingkungannya (Ahammed & Yang, 2022). Senyawa metabolit sekunder yang biasanya ditemukan dalam tumbuhan adalah flavonoid, triterpenoid, tanin, dan saponin (Sutardi, 2017). Daerah dataran tinggi memiliki suhu yang rendah dan tinggi akan paparan sinar UV. Untuk beradaptasi dengan lingkungan tersebut, tumbuhan yang tumbuh pada dataran tinggi akan mensintesis lebih banyak senyawa metabolit sekunder untuk beradaptasi (Liu *et al.*, 2023).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antiinflamasi dan antioksidan (Munhoz *et al.*, 2014; Babova *et al.*, 2016). Triterpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antiinflamasi, antibakteri, antijamur, antiparasit, serta

antioksidan (Cho *et al.*, 2020 ; Sabaragamuwa & Perera, 2023). Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang berfungsi untuk melindungi tumbuhan dari serangan herbivora (Ucella-Filho *et al.*, 2022). Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat hipokolesterolemik (Zeng *et al.*, 2022).

Salah satu tumbuhan yang memiliki senyawa metabolit sekunder tersebut adalah Pegagan (Sutardi, 2017). Estimasi biomasa kering dari Pegagan dapat mencapai 142 kg/ha (Priyanka *et al.*, 2022). Pegagan dapat tumbuh dengan mudah di wilayah beriklim tropis dengan ketinggian 200 hingga 1.500 mdpl (Borges *et al.*, 2024). Manfaat dari senyawa metabolit sekunder Pegagan dan ketersediaan biomasanya, bukan hal yang mustahil apabila Pegagan dijadikan *feed additive* pengganti AGP dan antioksidan sintetis. Sebelum digunakan sebagai *feed additive*, penting untuk diketahui kadar senyawa

metabolit sekunder dari ekstrak Pegagan agar dapat diformulasikan dengan bahan pakan lain. Oleh karena itu, penting untuk diketahui kadar senyawa metabolit sekunder dari ekstrak Pegagan sebagai bahan *feed additive*.

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Sampel Pegagan dikumpulkan dengan metode purposive sampling dari perkebunan teh Kertasari Estate and Tea Factory, Desa Tarumajaya, Kecamatan Kertasari, Kabupaten Bandung serta di beberapa wilayah sekitar Bandung Utara, Jawa Barat, Indonesia dengan rentang ketinggian 700-1.800 mdpl sebanyak 30 sampel dari titik ketinggian yang berbeda. Untuk data lokasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Lokasi Pencarian Sampel

No	Ketinggian (mdpl)	Titik Koordinat*
1	756	6°52'44.12"S 107°37'45.06"E
2	760	6°52'52.57"S 107°37'44.25"E
3	768	6°52'36.13"S 107°37'41.90"E
4	969	6°51'29.40"S 107°37'57.29"E
5	1.140	6°51'27.62"S 107°39'30.32"E
6	1.175	6°50'40.88"S 107°39'35.55"E
7	1.189	6°50'45.92"S 107°39'18.25"E
8	1.225	6°50'35.78"S 107°39'43.64"E
9	1.237	6°50'41.84"S 107°39'49.09"E
10	1.276	6°50'51.81"S 107°39'42.95"E
11	1.609	7°12'58.61"S 107°39'55.12"E
12	1.612	7°12'57.5"S 107°39'37.3"E
13	1.617	7°13'10.8"S 107°39'20.8"E
14	1.619	7°13'16.2"S 107°39'52.6"E
15	1.620	7°13'34.41"S 107°39'25.77"E
16	1.625	7°14'23.76"S 107°39'8.57"E
17	1.628	7°14'5.60"S 107°39'28.11"E
18	1.630	7°14'55.78"S 7°14'55.78"E
19	1.632	7°14'28.58"S 107°39'27.50"E
20	1.634	7°13'9.79"S 107°40'13.23"E
21	1.636	7°13'28.16"S 107°40'1.04"E
22	1.647	7°14'44.93"S 107°39'31.65"E
23	1.649	7°14'34.90"S 7°14'34.90"E
24	1.653	7°14'17.16"S 107°39'57.87"E
25	1.659	7°13'48.91"S 107°39'55.40"E
26	1.679	7°13'22.33"S 107°40'37.20"E
27	1.707	7°14'25.59"S 107°40'19.41"E
28	1.736	7°13'39.82"S 107°40'25.60"E
29	1.745	7°14'1.98"S 107°40'38.41"E
30	1.768	7°14'30.65"S 107°40'42.17"E

Keterangan : *Lokasi pencarian sampel pegagan dapat hilang seiring waktu karena alih fungsi lahan dan faktor lain.

Sampel dipanen pada bagian akar, batang dan daun. Setelah dipanen, sampel dibersihkan dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan selama 3 hari. Setelah itu, sampel yang telah kering digiling hingga menjadi tepung. Sampel Pegagan kemudian diekstrak dengan metode maserasi. Sampel ditimbang sebanyak 25 mg kemudian dimasukkan ke dalam botol maserator dan dilarutkan dengan etanol sebanyak 25 mL. Sampel kemudian diaduk dan didiamkan selama 24 jam dengan botol tertutup dan terhindar dari cahaya matahari.

Bahan dan Reagen

Bahan yang digunakan adalah Pegagan, etanol (Norme Assurer), akuades, standar kuersetin (Sigma Aldrich), standar katekin (Sigma Aldrich), standar diosgenin (Sigma Aldrich), sodium nitrit (Merck), aluminium klorida (Merck), natrium hidroksida (Merck), vanillin (Merck), asam asetat (Merck), asam sulfat (Merck), methanol (Merck), dan asam klorida (Merck).

Pengukuran Kadar Flavonoid

Kadar flavonoid diukur dengan metode Ay *et al.*, (2023) dengan sedikit modifikasi, yaitu ekstrak Pegagan dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan etanol 2 mL. Kemudian tambahkan 0,15 mL sodium nitrit 0,5 M, dan 0,15 mL aluminium klorida 0,3 M. Kedua campuran tersebut didiamkan selama 5 menit. Setelah itu, ditambahkan 1 mL natrium hidroksida 1M dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah diinkubasi, sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1.800) dengan panjang gelombang 348 nm. Hasil dinyatakan ekuivalen kuersetin (EK) dengan satuan mg/g berat kering.

Pengukuran Kadar Triterpenoid

Kadar triterpenoid, diukur dengan metode Wei *et al.*, (2015) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak dipipet sebanyak 200 μ L ditambahkan 800 μ L etanol. Kemudian

tambahkan campuran 5% vanillin-asetat (w/v) sebanyak 1 mL dan 1,8 mL asam sulfat 72%, kemudian inkubasi pada suhu 54°C selama 30 menit setelah dingin tambahkan 10 mL asam asetat. Setelah itu, sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1.800) dengan panjang gelombang 573 nm. Hasil dinyatakan ekuivalen asam ursolik (EAU) dengan satuan mg/g berat kering.

Pengukuran Kadar Tanin

Kadar tanin, diukur dengan metode dari Medini *et al.*, (2014) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak Pegagan dipipet sebanyak 50 μ L dan ditambahkan 3 mL vanillin-metanol 4% (w/v) serta asam klorida pekat sebanyak 1,5 mL. Setelah itu, sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1.800) dengan panjang gelombang 500 nm. Hasil dinyatakan ekuivalen katekin (EKa) dengan satuan mg/g berat kering.

Pengukuran Kadar Saponin

Kadar saponin, diukur dengan metode dari Otari *et al.*, (2023) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak pegagan dipipet sebanyak 200 μ L dan ditambahkan 200 μ L vanillin-asetat 8% (w/v), serta asam sulfat 72% sebanyak 1.000 μ L. Kemudian campuran diinkubasi dengan penangas air selama 10 menit dengan suhu 54°C. Setelah itu, sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1.800) dengan panjang gelombang 193 nm. Hasil dinyatakan ekuivalen diosgenin (ED) dengan satuan mg/g berat kering.

Analisis Statistik

Analisis statistik yang digunakan merupakan deskriptif kuantitatif sederhana. Variabel yang diamati merupakan kadar air, total flavonoid, total triterpenoid, total tanin, dan total saponin. Data disajikan dan dianalisis dalam bentuk tabel terkelompok. Rata-rata, standar deviasi, median, modus, nilai maksimum, dan nilai minimum dihitung dan dideskripsikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan kadar tertinggi, kadar terendah, median, serta rata-rata kadar senyawa metabolit sekunder yang terukur dalam pegagan. Dari hasil penelitian ini menunjukkan kadar flavonoid

yang terukur sebesar $132,34 \pm 11,12$ mg EK/g berat kering, triterpenoid $17,83 \pm 2,84$ mg EAU/g berat kering, tanin $64,59 \pm 21,85$ mg EKa/g berat kering, dan saponin $171,77 \pm 74,91$ mg ED/g berat kering. Data ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Kadar Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit Sekunder	Kadar Tertinggi	Kadar Terendah	Median	$\bar{x} \pm \sigma$
Flavonoid (mgEK/g)	166,49	115,67	31,8	$132,6 \pm 11,1$
Triterpenoid (mgEAU/g)	26,81	11,77	17,1	$17,8 \pm 2,8$
Tanin (mgEKa/g)	17,78	11,11	67,8	$64,6 \pm 21,9$
Saponin (mgED/g)	279,63	25,19	164,4	$71,8 \pm 74,9$

Keterangan:

mgEK/g: miligram Ekuivalen Kuersetin per gram

mgEAU/g: miligram Ekuivalen Asam Ursolik per gram

mgEKa/g: miligram Ekuivalen Katekin per gram

mgED/g: milligram Ekuivalen Diosgenin per gram

$\bar{x}$: rata-rata

σ : standar deviasi

Terdapat beberapa faktor lingkungan selain ketinggian yang dapat mempengaruhi kadar senyawa metabolit sekunder di antaranya cahaya, radiasi ultraviolet, kekeringan, salinitas, dan berbagai jenis stres lainnya (Li *et al.*, 2020). Kadar flavonoid tertinggi ditemukan dari pegagan yang tumbuh pada ketinggian 1.140 mdpl ($6^{\circ}51'27.62''S$ $107^{\circ}39'30.32''E$), bukan pada ketinggian 1.768 mdpl ($7^{\circ}14'30.65''S$ $107^{\circ}40'42.17''E$).

Hasil tersebut berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Karagiannis *et al.*, 2020) dan Du *et al.*, (2022) yang menyatakan kadar flavonoid tumbuhan yang tumbuh pada dataran tinggi akan memiliki kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan tumbuhan yang tumbuh pada dataran rendah. Perbedaan tersebut dipengaruhi faktor lingkungan lain yaitu intensitas paparan cahaya matahari. Pada penelitian ini, sampel yang tumbuh pada ketinggian 1.140 mdpl memiliki tingkat paparan cahaya matahari yang lebih tinggi dibandingkan sampel pegagan yang tumbuh pada ketinggian 1.768 mdpl.

Hal ini dipengaruhi oleh kondisi lingkungan sekitar tumbuhan Pegagan

tersebut tumbuh. Kondisi lingkungan Pegagan yang tumbuh pada ketinggian 1.140 mdpl bebas dari pohon yang berukuran besar tidak seperti pegagan yang tumbuh pada ketinggian 1.768 mdpl. Sehingga, tingkat paparan cahaya matahari yang diterima pegagan sangat tinggi. Ketika tumbuhan menerima paparan cahaya matahari yang tinggi maka kadar flavonoid tumbuhan tersebut akan meningkat (Zhou *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2016). Hal tersebut dikarenakan flavonoid memiliki fungsi sebagai fotoprotektor alami pada tumbuhan (Peng *et al.*, 2017).

Kadar triterpenoid tertinggi dalam penelitian ini, terkandung pada pegagan yang tumbuh pada rentang ketinggian 1.659 hingga 1.768 mdpl dengan kadar tertinggi terkandung pada pegagan yang tumbuh pada ketinggian 1.659 mdpl ($7^{\circ}13'48.91''S$ $107^{\circ}39'55.40''E$). Hasil dari penelitian ini tidak berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Kunjumon *et al.* (2022) yang menyatakan kadar komponen triterpenoid dari pegagan lebih besar ditemukan pada rentang ketinggian 1.645 hingga 1.700 mdpl. Tumbuhan yang sedang mengalami fase perkembangan akan memiliki kadar triterpenoid yang tinggi.

Hal ini dikarenakan fungsi dari triterpenoid pada tumbuhan yaitu sebagai pendukung pertumbuhan dan perkembangan (Lu & Xue, 2024). Selain untuk pertumbuhan dan perkembangan, triterpenoid berfungsi melindungi tumbuhan dari serangan patogen (Dong & Qi, 2025).

Kadar tanin tertinggi, terukur dalam pegagan yang tumbuh pada ketinggian 1.625 mdpl ($7^{\circ}14'23.76''S$ $107^{\circ}39'8.57''E$). Kadar tanin pada tumbuhan dapat dipengaruhi oleh umur tumbuhan tersebut. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh (Nobossé *et al.*, 2018) menyatakan bahwa kandungan tanin pada tumbuhan dipengaruhi oleh usia dan waktu panen. Tanin memiliki fungsi yang sama dengan triterpenoid yaitu untuk pertumbuhan dan perkembangan pada tumbuhan (du Toit *et al.*, 2020). Selain itu, tanin memiliki rasa yang pahit berfungsi untuk melindungi tumbuhan dari serangan serangga herbivora. Lokasi pemanenan sampel pada ketinggian 1.609 hingga 1.768 mdpl ditemukan banyak ulat ngengat rawa garam atau disebut juga *Estigmene acrea* yang bisa menjadi predator untuk pegagan. Keberadaan predator ini dapat memodulasi produksi tanin dari pegagan sebagai bentuk pertahanan diri.

Kadar saponin tertinggi ditemukan pada ketinggian 1.628 mdpl ($7^{\circ}14'5.60''S$ $107^{\circ}39'28.11''E$). Saponin dapat ditemukan pada bagian akar, daun, buah, perikarp, bunga, dan biji berfungsi sebagai pendukung pertumbuhan, anti bakteri, antijamur, antiparasit, dan anti serangga (Jolly *et al.*, 2024). Saponin memiliki aktivitas biologis yang luas yaitu sebagai antibakteri, antiinflamasi, hingga antikanker (M. ping Wei *et al.*, 2021 ; Zhao *et al.*, 2020 ; Kavaya *et al.*, 2021 ; Tagousop *et al.*, 2018 ; Silva *et al.*, 2022). Saponin dapat dibagi menjadi triterpenoid saponin yang ditemukan pada tumbuhan kelas dikotil dan steroid saponin yang ditemukan pada tumbuhan kelas monokotil (Mietlińska., 2023). Pegagan memiliki saponin jenis triterpenoid karena pegagan termasuk golongan tumbuhan dikotil.

Penelitian yang dilakukan oleh Khursheed *et al.*, (2024) menunjukkan kadar flavonoid dan triterpenoid total Pegagan lebih besar dibandingkan dengan hasil penelitian. Penelitian Khursheed *et al.*, (2024), Pegagan diekstrak dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)* menggunakan pelarut methanol, hasilnya, kadar flavonoid total sebesar 308.31 ± 7.41 mg KE/g. Kadar triterpenoid utama dari pegagan terdiri atas *madecassoside*, *asiaticoside*, *madecassic acid*, dan *asiatic acid* sebesar $23,85 \pm 0,48$ mg EAU/g berat kering.

Metode ekstraksi hijau seperti *UAE* memiliki efektivitas, selektivitas yang tinggi dibanding metode ekstraksi konvensional, dan membutuhkan waktu yang lebih singkat serta ramah lingkungan (Geow *et al.*, 2021; Picot-Allain *et al.*, 2021). Pada proses ekstraksi dengan metode *UAE*, parameter fisik yang diubah seperti tekanan, suhu, penggunaan gelombang ultrasonik dan gelombang mikro membantu memecah dinding sel secara efektif, sehingga meningkatkan perpindahan massa kandungan bioaktif ke pelarut ekstraksi (Khursheed *et al.*, 2024).

Sebelum dilarang, setiap AGP memiliki dosis penggunaan maksimal. Monensin memiliki dosis maksimal 125 mg/kg untuk ayam broiler (Bampidis *et al.*, 2019), dan narasin memiliki dosis maksimal 70 mg/kg pakan untuk ayam broiler (Bampidis *et al.*, 2018). Meskipun antioksidan sintetis tidak dilarang untuk digunakan, antioksidan sintetis tetap memiliki dosis maksimal penggunaan. Untuk BHA 150 mg/kg pakan (Rychen *et al.*, 2018), BHT 150 mg/kg pakan (Bampidis *et al.*, 2022a), dan EQ 50 mg/kg pakan lengkap (Bampidis *et al.*, 2022b).

Dengan kadar flavonoid 132,34 mgEK/g berat kering, tanin 64,59 mgEKA/g berat kering, dan saponin 171,77 mgED/g berat kering, ekstrak Pegagan memiliki kadar senyawa bioaktif yang tinggi. Ketika dibandingkan dengan dosis maksimum dari BHA, BHT, dan EQ, ekstrak Pegagan dapat

ditambahkan sebanyak 1 g/kg pakan untuk menggantikan antioksidan tersebut. Walaupun dosis maksimum AGP seperti monensin dan narasin masih lebih tinggi dibandingkan dengan kadar triterpenoid yang terukur sebanyak 17,83 mgEAU/g berat kering, potensi Pegagan tidak hanya berasal dari satu senyawa metabolit sekunder. Kombinasi yang sinergis antara triterpenoid, flavonoid, tanin, dan saponin

KESIMPULAN

Senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada Pegagan adalah flavonoid, triterpenoid, tanin, dan saponin. Senyawa tersebut memiliki sifat antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Kadar senyawa metabolit sekunder Pegagan dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan metode ekstraksi. Kadar flavonoid yang terukur pada Pegagan adalah $132,34 \pm 11,12$ mg EK/g berat kering. Kadar triterpenoid sebesar $17,83 \pm 2,84$ mg EAU/g. Kadar tanin sebesar $64,59 \pm 21,85$ mg EK/g. Kadar saponin sebesar $171,77 \pm 74,91$ mg ED/g. Berdasarkan hasil tersebut, Pegagan memiliki potensi untuk dijadikan sebagai bahan *feed additive* alami pengganti AGP dan antioksidan sintetis.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahammed, G. J., & Yang, Y. (2022). Anthocyanin-mediated arsenic tolerance in plants. In *Environmental Pollution* (Vol. 292). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118475>
- Ay, E. B., Açıkgöz, M. A., Kocaman, B., Mesci, S., Kocaman, B., & Yıldırım, T. (2023). Zinc and phosphorus fertilization in *Galanthus elwesii* Hook: Changes in the total alkaloid, flavonoid, and phenolic content, and evaluation of anti-cancer, anti-microbial, and antioxidant activities. *Scientia Horticulturae*, 317. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112034>
- Babova, O., Occhipinti, A., Capuzzo, A., & Maffei, M. E. (2016). Extraction of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) antioxidants using supercritical/subcritical CO₂ and ethanol as co-solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, 107, 358–363. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.029>
- Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Dusemund, B., Fašmon Durjava, M., Kouba, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R. E., Woutersen, R., Finizio, A., Teodorovic, I., Innocenti, M. (2022a). Safety and efficacy of a feed additive consisting of butylated hydroxytoluene (BHT) for all animal species (Kasyon Technologies Limited). *EFSA Journal*, 20(5). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7287>
- Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Dusemund, B., Fašmon Durjava, M., Kouba, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R. E., Woutersen, R., Finizio, A., Teodorovic, I., Innocenti, M. (2022b). Safety and efficacy of a feed additive consisting of ethoxyquin (6-ethoxy-1,2-dihydro-2,2,4-trimethylquinoline) for all animal

- species (FEFANA asbl). *EFSA Journal*, 20(3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7166>
- Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Dusemund, B., Kos Durjava, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R. E., Woutersen, R., Bories, G., Brantom, P., Gropp, J., Kouba, M. (2019). Safety and efficacy of Elancoban® G200 (monensin sodium) for chickens for fattening, chickens reared for laying and turkeys. *EFSA Journal*, 17(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5891>
- Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Dusemund, B., Kouba, M., Durjava, M. K., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R. E., Woutersen, R., Aquilina, G., Bories, G., Gropp, J. (2018). Safety and efficacy of Monteban ® G100 (narasin) for chickens for fattening. *EFSA Journal*, 16(11).
- Borges, C., Lusa, M. G., Baldessar, A., Rodrigues, G. A. G., & Rodrigues, A. C. (2024). Morpho-anatomical adaptations of *Centella asiatica* (Apiaceae) in different coastal sand microenvironments of Restinga and in an urbanized area. *Flora*, 318, 152572.
- Cho, Y. C., Vuong, H. L., Ha, J., Lee, S., Park, J., Wibow, A. E., & Cho, S. (2020). Inhibition of Inflammatory Responses by *Centella asiatica* via Suppression of IRAK1-TAK1 in Mouse Macrophages. *American Journal of Chinese Medicine*, 48(5). <https://doi.org/10.1142/S0192415X20500548>
- Dong, H., & Qi, X. (2025). Biosynthesis of triterpenoids in plants: Pathways, regulation, and biological functions. *Current Opinion in Plant Biology*, 85, 102701.
- du Toit, E. S., Sithole, J., & Vorster, J. (2020). Leaf harvesting severity affects total phenolic and tannin content of fresh and dry leaves of *Moringa oleifera* Lam. trees growing in Gauteng, South Africa. *South African Journal of Botany*, 129. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08035>
- Du, Z., Lin, W., Yu, B., Zhu, J., & Li, J. (2022). Integrated Metabolomic and Transcriptomic Analysis of the Flavonoid Accumulation in the Leaves of *Cyclocarya paliurus* at Different Altitudes. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.794137>
- Geow, C. H., Tan, M. C., Yeap, S. P., & Chin, N. L. (2021). A Review on Extraction Techniques and Its Future Applications in Industry. In *European Journal of Lipid Science and Technology* (Vol. 123, Issue 4). <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000302>
- Jolly, A., Hour, Y., & Lee, Y. C. (2024). An outlook on the versatility of plant saponins: A review. In *Fitoterapia* (Vol. 174). <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.105858>
- Karagiannis, E., Michailidis, M., Tanou, G., Scossa, F., Sarrou, E., Stamatakis, G., Samiotaki, M., Martens, S., Fernie, A. R., & Molassiotis, A. (2020). Decoding altitude-activated regulatory mechanisms occurring during apple peel ripening. *Horticulture Research*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00340-x>
- Kavya, N. M., Adil, L., & Senthilkumar, P. (2021). A Review on Saponin Biosynthesis and its Transcriptomic Resources in Medicinal Plants. In *Plant Molecular Biology Reporter* (Vol. 39, Issue 4). <https://doi.org/10.1007/s11105-021->

- 01293-8
- Khursheed, T., Khalil, A. A., Akhtar, M. N., Khalid, A., Tariq, M. R., Alsulami, T., ... & Nayik, G. A. (2024). Ultrasound-assisted solvent extraction of phenolics, flavonoids, and major triterpenoids from *Centella asiatica* leaves: A comparative study. *Ultrasonics Sonochemistry*, *111*, 107091.
- Kunjumon, R., Johnson, A. J., Remadevi, R. K. S., & Baby, S. (2022). Influence of ecological factors on asiaticoside and madecassoside contents and biomass production in *Centella asiatica* from its natural habitats in south India. *Industrial Crops and Products*, *189*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115809>
- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. In *Plant Physiology and Biochemistry* (Vol. 148). <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
- Liu, Y., Li, Y., Liu, Z., Wang, L., Bi, Z., Sun, C., Yao, P., Zhang, J., Bai, J., & Zeng, Y. (2023). Integrated transcriptomic and metabolomic analysis revealed altitude-related regulatory mechanisms on flavonoid accumulation in potato tubers. *Food Research International*, *170*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112997>
- Lu, J., Yan, S., & Xue, Z. (2024). Biosynthesis and functions of triterpenoids in cereals. *Journal of Advanced Research*.
- Ma, C. H., Chu, J. Z., Shi, X. F., Liu, C. Q., & Yao, X. Q. (2016). Effects of enhanced UV-B radiation on the nutritional and active ingredient contents during the floral development of medicinal chrysanthemum. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *158*. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.02.019>
- Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R., & Abdelly, C. (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science*, *8*(3). <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.01.003>
- Mietlińska, K. (2023). Polyphenols and saponins—properties and application in cosmetics. *Biotechnology and Food Science*, *85*(1), 16-33.
- Munhoz, V. M., Longhini, R., Souza, J. R., Zequi, J. A., Mello, E. V., Lopes, G. C., & Mello, J. C. (2014). Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *24*, 576-583.
- Nobossé, P., Fombang, E. N., & Mbofung, C. M. F. (2018). Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. *Food Science and Nutrition*, *6*(8). <https://doi.org/10.1002/fsn3.783>
- Olawuwo, O. S., Abdalla, M. A., Mühling, K. H., & McGaw, L. J. (2022). Proximate analysis of nutrients and in vitro radical scavenging efficacy in selected medicinal plant powders with potential for use as poultry feed additives. *South African Journal of Botany*, *146*, 103-110.
- Otari, S. S., Devkar, S. P., Patel, S. B., & Ghane, S. G. (2023). Micropropagation and elicited production of triterpenoid saponin glycosides and stigmasterol via precursor and elicitor feeding in *Bacopa floribunda* (R.Br.) Wettst.—A potential nootropic herb. *Frontiers in Plant Science*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1096842>
- Peng, M., Shahzad, R., Gul, A., Subthain,

- H., Shen, S., Lei, L., Zheng, Z., Zhou, J., Lu, D., Wang, S., Nishawy, E., Liu, X., Tohge, T., Fernie, A. R., & Luo, J. (2017). Differentially evolved glucosyltransferases determine natural variation of rice flavone accumulation and UV-tolerance. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02168-x>
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M. F., Ak, G., & Zengin, G. (2021). Conventional versus green extraction techniques — a comparative perspective. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 40). <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.009>
- Priyanka, S. P., Sujatha, S., Smitha, G. R., Suryanarayana, M. A., & Kalaivanan, D. (2022). Biomass accumulation, bioactive compounds and nutrient uptake in *Centella asiatica* (L.) in relation to organic nutrition in open-field and shade. *Industrial Crops and Products*, 176. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114352>
- Rychen, G., Aquilina, G., Azimonti, G., Bampidis, V., Bastos, M. de L., Bories, G., Chesson, A., Cocconcelli, P. S., Flachowsky, G., Kolar, B., Kouba, M., López-Alonso, M., Puente, S. L., Mantovani, A., Mayo, B., Ramos, F., Saarela, M., Villa, R. E., Wallace, R. J., Gropp, J. (2018). Safety and efficacy of butylated hydroxyanisole (BHA) as a feed additive for all animal species. *EFSA Journal*, 16(3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5215>
- Sabaragamuwa, R., & Perera, C. O. (2023). Total Triterpenes, Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Bioactive Phytochemicals of *Centella asiatica* by Different Extraction Techniques. *Foods*, 12(21). <https://doi.org/10.3390/foods12213972>
- Silva, R. M. G., Martins, G. R., Nucci, L. M. B., Granero, F. O., Figueiredo, C. C. M., Santiago, P. S., & Silva, L. P. (2022). Antiglycation, antioxidant, antiacne, and photoprotective activities of crude extracts and triterpene saponin fraction of *Sapindus saponaria* L. fruits: An in vitro study. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 12(9). <https://doi.org/10.4103/2221-1691.354430>
- Sutardi, S. (2017). Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), 121. <https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016.p121-130>
- Tagousop, C. N., Tamokou, J. de D., Kengne, I. C., Ngnokam, D., & Voutquenne-Nazabadioko, L. (2018). Antimicrobial activities of saponins from *Melanthera elliptica* and their synergistic effects with antibiotics against pathogenic phenotypes. *Chemistry Central Journal*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0466-6>
- Ucella-Filho, J. G. M., Freire, A. da S. M., Carréra, J. C., Lucas, F. M. F., Zucolotto, S. M., Dias Júnior, A. F., & Mori, F. A. (2022). Tannin-rich bark extract of plants as a source of antimicrobial bioactive compounds: A bibliometric analysis. *South African Journal of Botany*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.09.018>
- Wei, L., Zhang, W., Yin, L., Yan, F., Xu, Y., & Chen, F. (2015). Extraction optimization of total triterpenoids from *jatropha curcas* leaves using response surface methodology and evaluations of their antimicrobial and antioxidant capacities. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18(2). <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.12.005>
- Wei, M. ping, Qiu, J. dan, Li, L., Xie, Y. fei, Yu, H., Guo, Y. hui, & Yao, W.

- rong. (2021). Saponin fraction from *Sapindus mukorossi* Gaertn as a novel cosmetic additive: Extraction, biological evaluation, analysis of anti-acne mechanism and toxicity prediction. *Journal of Ethnopharmacology*, 268. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113552>
- Zeng, M., Zhang, R., Yang, Q., Guo, L., Zhang, X., Yu, B., Gan, J., Yang, Z., Li, H., Wang, Y., Jiang, X., & Lu, B. (2022). Pharmacological therapy to cerebral ischemia-reperfusion injury: Focus on saponins. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 155). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113696>
- Zhao, Y., Su, R., Zhang, W., Yao, G. L., & Chen, J. (2020). Antibacterial activity of tea saponin from *Camellia oleifera* shell by novel extraction method. *Industrial Crops and Products*, 153. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112604>
- Zhou, R., Su, W. H., Zhang, G. F., Zhang, Y. N., & Guo, X. R. (2016). Relationship between flavonoids and photoprotection in shade-developed *Erigeron breviscapus* transferred to sunlight. *Photosynthetica*, 54(2). <https://doi.org/10.1007/s11099-016-0074-4>