

Produksi Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) pada Kondisi Cekaman Salinitas dan Kekeringan

*Production of Secondary Metabolite Compounds of Gotu Kola (*Centella asiatica*) Under Salinity and Drought Stress*

Penulis Nur Amallia¹, Zainal Alim Mas'ud², Diah Ratnadewi³

Afiliasi ¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor, Jawa Barat, 16680, Indonesia.
²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor, Jawa Barat, 16680, Indonesia.

Kata Kunci

- ➔ Biomassa
- ➔ Cekaman Abiotik
- ➔ Triterpena

Keywords

- ➔ *biomass*
- ➔ *abiotic stress*
- ➔ *triterpene*

Diterima : 21 Agustus 2019

Direvisi : 6 Juni 2020

Disetujui : 24 Juni 2020

***Penulis Koresponding**

Nur Amallia

email:

amallia.nur@gmail.com

ABSTRAK

Pegagan (*Centella asiatica*) adalah tanaman herbal tradisional yang telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas farmakologis. Senyawa pada pegagan yang berperan terhadap aktivitas farmakologis tersebut adalah senyawa golongan triterpena, yaitu madecasosida (MD), asiaticosida (AS), asam madecasat (AM), dan asam asiatic (AA). Cekaman dapat mempengaruhi produksi biomassa dan senyawa metabolit sekunder pada tanaman. penelitian bertujuan menganalisis pengaruh cekaman salinitas dan kekeringan terhadap biomassa 4 senyawa golongan triterpene pada pegagan. Pemanenan dilakukan ketika tanaman berumur 8 minggu. Hasil panen dianalisis biomasannya kemudian diekstraksi menggunakan pelarut metanol untuk selanjutnya dianalisis kadar metabolit sekundernya menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Biomassa tanaman terendah diperoleh pada perlakuan 50% kapasitas lapang dan kadar garam 3000 ppm. Kadar MD dan AS tertinggi dicapai pada kondisi 100% kapasitas lapang dan kadar garam 1000 ppm. Adapun kapasitas lapang 50 dan 100% serta kadar garam 1000-3000 ppm tidak mempengaruhi kadar AM dan AS.

ABSTRACT

Gotu kola (Centella asiatica) is a traditional herbal plant that has been reported have a variety of pharmacological activities. The compounds of gotu kola that play a role on pharmacological activities are triterpene group compounds, namely madecasoside (MD), asiaticoside (AS), madecassic acid (AM), and asiatic acid (AA). Stress can affect the production of biomass and secondary metabolite compounds in plants. The aims of the study is to analyze the effect of salinity and drought stress on biomass and 4 compounds of triterpene in gotu kola. Harvesting is done when the plant is 8 weeks old. The yield of the biomass was analyzed and then extracted using methanol solvent to be analyzed secondary metabolite levels using the high performance liquid chromatography (HPLC) method. The lowest crop biomass was obtained at 50% of field capacity and 3,000 ppm salt content. The highest levels of MD and AS were established in conditions of 100% field capacity and 1,000 ppm salt content. The 50 and 100% field capacity and 1,000-3,000 ppm salt content did not affect the levels of AM and AA.



PENDAHULUAN

Pegagan merupakan tanaman liar yang mudah ditemukan di sekitar perkebunan, ladang, tepi jalan, dan pematang sawah. Walaupun demikian, ternyata pegagan menyimpan banyak sekali manfaat, baik secara tradisional, maupun modern. Secara tradisional, pegagan sudah sejak zaman dahulu dimanfaatkan sebagai pengobatan kulit, di antaranya untuk menyamakarkan *stretch mark*, mengobati luka bakar dan jerawat, serta mempercepat penyembuhan luka. Pegagan juga telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis sebagai antipenuaan (Malamardi *et al.* 2003), antikanker (Wang *et al.* 2013), antibakteri (Pitinidhipat dan Yasurin 2012, Rattanakom dan Patchaneeyasurin 2015), antioksidan dan antidiabetes (Dewi dan Maryani 2015), mempercepat penyembuhan luka (Yao *et al.* 2015), antijamur (Idris dan Nadzir 2017), antiinflamasi (Saha *et al.* 2013), dan pengobatan Alzheimer (Chiroma *et al.* 2019). Banyaknya manfaat dan aktivitas farmakologis tersebut disebabkan oleh tingginya kandungan metabolit sekunder golongan triterpena dalam pegagan.

Metabolit sekunder adalah produk metabolisme yang sifatnya nonesensial bagi pertumbuhan suatu organisme dan ditemukan berbeda-beda antarspesies. Senyawa metabolit sekunder tidak selalu dihasilkan oleh suatu spesies, tetapi hanya pada fase atau waktu tertentu ketika dibutuhkan. Fungsi senyawa metabolit sekunder pada suatu tanaman meliputi alat pertahanan diri dalam suatu lingkungan tertentu dan alat untuk berinteraksi dengan lingkungannya. Madekasosida, asiatikosida, asam madekasat, dan asam asiatat adalah metabolit sekunder golongan triterpena yang merupakan senyawa penciri pegagan (Hashim *et al.* 2011).

Cekaman adalah kondisi perubahan lingkungan yang tidak menguntungkan dan dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Respons tanaman terhadap keberadaan cekaman dapat berbeda-beda antarspesies, tergantung jenis, waktu, dan tingkat cekaman yang diberikan. Secara umum, cekaman dibagi menjadi cekaman biotik dan abiotik. Menurut Mahajan dan Tuteja (2005), cekaman biotik terdiri atas patogen, serangga, herbivora, dan hewan pengerat; sementara cekaman abiotik terdiri atas suhu, salinitas, air, radiasi, cekaman kimiawi, dan cekaman mekanis. Cekaman salinitas dan kekeringan merupakan cekaman abiotik yang paling memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Umumnya respons tersebut dapat diukur dari biomassa dan kandungan metabolit sekundernya.

Basyuni *et al.* (2019) melaporkan bahwa cekaman salinitas yang diberikan pada bakau spesies *Avicennia officinalis* dapat meningkatkan kandungan poliisoprenoid pada daunnya. Sementara pada bakau spesies *Brugiera cylindrica* dan *Xylocarpus granatum*, cekaman salinitas meningkatkan kadar poliisoprenoid pada akar. Penelitian yang dilaporkan Jimenez-Herrera *et al.* (2019) menyatakan bahwa cekaman kekeringan dapat meningkatkan kandungan triterpena pada buah, daun, dan batang pohon zaitun *Olea europaea*. Cekaman yang sengaja diberikan pada suatu tanaman diharapkan dapat meningkatkan jumlah metabolit sekunder dalam tanaman tersebut sebagai respons pertahanan diri.

Penelitian bertujuan menganalisis pengaruh cekaman salinitas dan kekeringan terhadap biomassa dan kadar senyawa metabolit sekunder golongan triterpena tanaman pegagan (*C. asiatica*).

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2018–Juli 2019 di Laboratorium Kimia Organik, Departemen Kimia, Institut Pertanian Bogor (IPB) dan Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka, IPB.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain bibit pegagan diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor; tanah andosol diperoleh dari Cikabayan, Dramaga, Bogor; kompos merk Aneka Kompos; polibag 20x20 cm; metanol teknis satu kali distilasi; metanol mutu KCKT (Merck, Darmstadt, Jerman); asetonitril mutu KCKT (Merck, Darmstadt, Jerman); akuabides; standar madekasosida, asiatikosida, asam asiatat, dan asam madekasat.

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain peralatan kaca yang lazim terdapat di laboratorium, neraca analitik (Sartorius, Bradford, Jerman), oven, radas distilasi, penguap putar (*Rotavapor R-114 waterbath B-480*, Swiss), mikropipet, membran filter Whatman (ukuran pori 0.45 μm ; PTFE; P/N E252, Buckinghamshire, England), kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan spesifikasi: tipe Hitachi, detector UV-Vis L-2420, oven L-2300, kolom Shim-pack VP-ODS C18 (150 x 4.6 mm).

Penanaman

Bibit tanaman pegagan diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen), Bogor. Penanaman dilakukan di Dramaga, Bogor dengan titik geografis antara 6° 30'–6° 45' LS dan 106° 30'–106° 45'



BT, ketinggian tempat antara 145–400 m dpl, pada suhu udara rata-rata harian 22.6–32.9 °C dan tekanan udara 987.2–991.7 mb. Setelah berumur 3 minggu, bibit ditanam pada media campuran tanah andosol dan kompos dengan perbandingan 1:1 (v/v). (Lampiran 1) . Setiap polybag terdiri atas satu tanaman yang diambil dari anakan dengan jumlah daun 3–4 helai. Perlakuan kapasitas lapang dan garam dimulai pada 1 minggu setelah ditanam di media baru. Perlakuan yang diberikan yaitu kapasitas lapang (KL) 50 dan 100% serta kadar garam (KG) 1 000; 2 000; dan 3 000 ppm sehingga diperoleh 6 perlakuan. penyiraman dilakukan 2 hari sekali dan disesuaikan dengan kondisi tanaman. Kontrol diberikan dalam bentuk 60% KL tanpa cekaman garam.

Pemanenan dan Pengukuran Biomassa Tanaman

Tanaman dipanen pada umur 8 PST. Pengukuran dilakukan terhadap produksi biomassa berupa bobot basah dan kering keseluruhan tanaman.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Sampel dimaserasi dengan metanol sebanyak 200 mL selama 2x10 jam, dipisahkan menggunakan penguap putar, kemudian dihitung rendemennya.

Analisis KCKT

Analisis kadar senyawa triterpena mengacu pada metode yang dikembangkan oleh Rafi *et al.* (2018). Sebanyak 200 mg ekstrak disuspensi dalam 5 mL metanol dan diultrasonikasi selama satu jam pada suhu ruang. Larutan sampel kemudian disaring menggunakan membran filter 0.45 µm dan ditera dalam labu takar 10 mL menggunakan metanol sebelum dianalisis. Larutan standar madekasosida, asiatikosida, asam madekasat, dan asam asiatat yang digunakan adalah 25, 50, 100, 200, dan 250 ppm.

Kondisi alat yang digunakan meliputi instrument KCKT Shimadzu LC-20A, detector diode-array UV-Vis. Fase diam yang dipakai yakni kolom C18 shim-pack Shimadzu VP-ODS 150 x 4.6 mm ukuran partikel 4.6 µm. Sementara fase gerak adalah asetonitril dan air menggunakan program elusi gradien selama 40 menit dengan laju alir 1 mL/menit. Kolom dijaga pada suhu 40°C dan analisis dilakukan pada panjang gelombang 206 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Cekaman Salinitas dan Kekeringan terhadap Biomassa Tanaman

Cekaman kekeringan dan salinitas merupakan cekaman abiotik yang paling memengaruhi produktivitas tanaman dan berdampak pada semua proses dasar tanaman, mulai dari perkecambahan hingga semua aspek fisiologis yang vital (Zhang *et al.* 2011). Tanaman yang tumbuh pada kondisi cekaman kekeringan dan salinitas menghadapi cekaman osmotik dari terganggunya homeostatis dan keseimbangan ion (Guo *et al.* 2015).

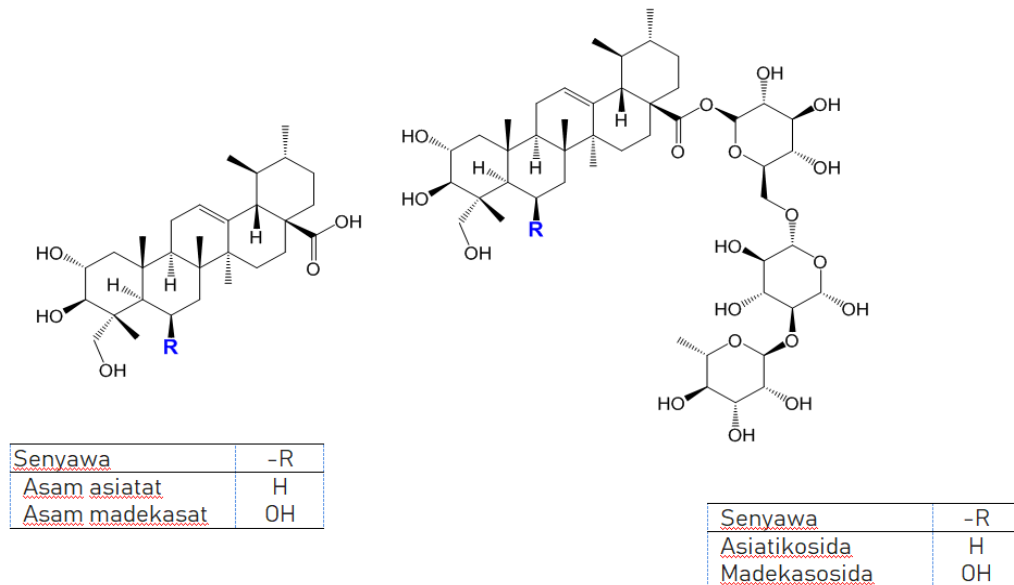
KL menunjukkan jumlah maksimal air yang mampu ditahan oleh tanah terhadap gravitasi. Perlakuan KL yang digunakan yaitu 50 dan 100%. Pemilihan KL didasarkan pada penelitian Rahardjo *et al.* (1999) yang melaporkan bahwa pegagan tidak mampu tumbuh pada kondisi KL 40% dan kurang dari itu. KG 1 000; 2 000; dan 3 000 ppm dipilih berdasarkan Ibrahim *et al.* (2018) yang melaporkan bahwa pegagan dapat bertahan pada KG 0-5 000 ppm selama 12 minggu. Kontrol merupakan perlakuan tanpa cekaman garam dan 60% KL berdasarkan Rahardjo *et al.* (1999) yang melaporkan bahwa asiatikosida, asam asiatat, dan asam madekasat mencapai kadar yang optimum pada kondisi tersebut.

Tabel 1. Biomassa Tanaman dan Rendemen Hasil Ekstraksi

Perlakuan		Bobot (gram)			Rendemen
KL (%)	KG (ppm)	Basah	Kering	Ekstrak	(%)
50	1 000	14.4107	3.7298	0.4706	12.62
50	2 000	11.0491	3.0044	0.3961	13.18
50	3 000	8.1195	1.9804	0.2732	13.80
100	1 000	8.5988	2.4753	0.3370	13.61
100	2 000	11.5050	2.8969	0.3673	12.68
100	3 000	11.7757	2.8160	0.3818	13.56
Blanko		8.5206	2.2063	0.2950	13.37

Keterangan: KL = kapasitas lapang, KG = kadar garam





Gambar 1. Senyawa Penciri Tanaman Pegagan

Biomassa dari keenam perlakuan dan kontrol tersaji pada Tabel 1. Bobot terendah diperoleh pada perlakuan 50% KL dan KG 3 000 ppm. Hal ini terjadi karena tingkat salinitas yang tinggi dan kurangnya pasokan air pada tanaman menyebabkan penurunan serapan hara, menciptakan ketidakseimbangan osmotik, dan gangguan metabolisme yang mengakibatkan gangguan dalam berbagai aktivitas fisiologis dan penurunan pertumbuhan tanaman secara keseluruhan (Meng *et al.* 2016). Untuk mengatasi efek samping ini, tanaman merespons dengan mengurangi pemanfaatan energi untuk pertumbuhan dan perkembangan sehingga energi tersebut dapat digunakan untuk penyesuaian kondisi ekstrem (Parida *et al.* 2018). Tanaman juga merespons kekeringan secara fisik dan fisiologis dengan penutupan stomata untuk mengurangi laju transpirasi. Stomata merupakan organ transpirasi tanaman tempat pengambilan CO₂ dan pelepasan O₂. Penutupan stomata akibat cekaman kekeringan menyebabkan kurangnya pasokan CO₂ dan H₂O sebagai bahan utama proses fotosintesis yang berakibat pada terganggunya proses fotosintesis itu sendiri. Gangguan pada proses fotosintesis inilah yang mengakibatkan penurunan biomassa tanaman. Sementara O₂ yang tidak dilepas dapat berubah menjadi ROS sehingga kadar ROS pada tanaman tersebut menjadi lebih tinggi. Biomassa terbanyak diperoleh pada kondisi 50% KL dan KG 1 000 ppm. Menurut Mittler (2017), tingkat ROS yang tepat dapat menghasilkan pertumbuhan tanaman yang optimal. Maka, perlakuan 50% KL dan KG 1 000 ppm merupakan

perlakuan yang membuahkan tingkat ROS yang tepat sehingga menghasilkan pertumbuhan tanaman yang optimal.

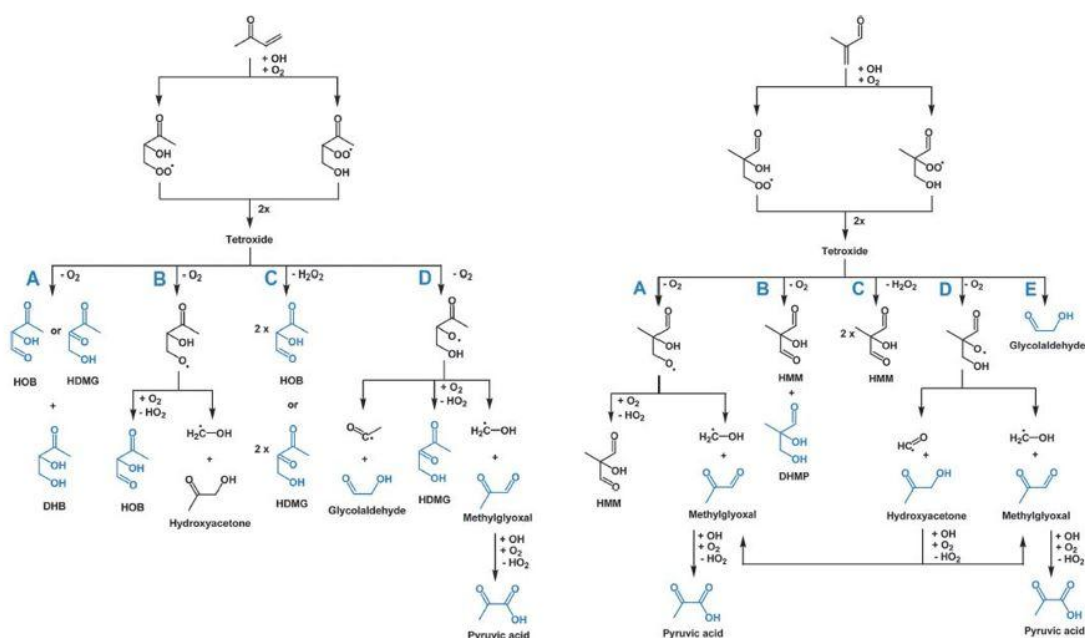
Tanaman yang diukur biomasanya kemudian diekstraksi dengan cara maserasi. Selain maserasi, ekstraksi dapat dilakukan dengan cara refluks, soxhletasi, dan distilasi. Cara maserasi dipilih untuk mencegah terjadinya degradasi termal pada senyawa target. Maserasi dilakukan menggunakan pelarut metanol. Pelarut dipilih berdasarkan penelitian Artanti *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa kandungan triterpena total tertinggi dari pegagan diperoleh dari ekstrak metanol dibandingkan dengan ekstrak etanol. Selain itu, metanol merupakan pelarut yang dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa golongan terpena dan glikosida (He *et al.* 2012). Ekstraksi terhadap seluruh bagian tanaman pegagan menghasilkan rendemen 12.62–13.80%. Persentasi rendemen yang dihasilkan telah memenuhi syarat mutu herba pegagan menurut Depkes RI (2009), yakni rendemen tidak kurang dari 7.20%.



Tabel 2. Kadar Empat Senyawa Triterpena Pegagan

Perlakuan		Kadar (mg g ⁻¹ sampel)			
KL (%)	KG (ppm)	MD	AS	AM	AA
50	1 000	2.21	5.10	1.38	3.61
50	2 000	2.78	5.56	0.90	3.04
50	3 000	2.62	4.90	1.16	2.34
100	1 000	5.56	10.26	1.34	2.68
100	2 000	2.68	5.16	2.04	3.99
100	3 000	2.25	4.20	1.16	2.53
Blanko		2.27	4.30	1.20	2.72

Keterangan: KL = kapasitas lapang, KG = kadar garam, MD = madekasosida, AS = asiaticosida, AM = asam madekasat, AA = asam asiatic

**Gambar 1.** Mekanisme Degradasi Metakrolein (atas) dan Metil Vinil Keton (bawah) (Schone 2014)

Pengaruh Cekaman Salinitas dan Kekeringan terhadap Kadar Metabolit Sekunder

Menurut Hashim *et al.* (2011), madekasosida (MD), asiaticosida (AS), asam madekasat (AM), dan asam asiatic (AA) adalah metabolit sekunder golongan triterpena yang merupakan senyawa penciri pegagan (Gambar 1). Kadar keempat senyawa tersebut ditentukan menggunakan KCKT. Menurut Bahadir-Acikara *et al.* (2018), metode KCKT dapat digunakan untuk analisis kuantitatif senyawa triterpena glikosida pada ekstrak kasar.

MD dan AS merupakan senyawa saponin terpenoid atau triterpena glikosida, yakni triterpena hidrofobik yang mengikat gula hidrofilik. Gula yang terdapat pada

MD dan AS adalah 2 glukosa dan 1 rhamnosa. Sanchez *et al.* (2012) melaporkan bahwa pada kondisi kekurangan air, terjadi peningkatan kadar gula, seperti fruktosa, glukosa, galaktosa, dan maltosa. Peningkatan tersebut terjadi karena gula dapat berperan sebagai osmoprotektan, yakni senyawa hidrofilik yang diproduksi secara alami oleh tanaman untuk melindungi sel dari cekaman kekeringan, baik secara fisik maupun fisiologis (cekaman salinitas). Penggunaan gula sebagai osmoprotektan diduga mengakibatkan rendahnya kadar MD dan AS. Maka, kadar MD dan AS tertinggi diperoleh pada kondisi 100% KL dan KG 1 000 ppm (Tabel 2). Perlakuan tersebut merupakan perlakuan dengan cekaman paling “ringan” dan kondisi



paling optimum tanaman untuk menghasilkan MD dan AS tertinggi. Pada perlakuan lain yang lebih ekstrem, gula digunakan sebagai osmoprotektan sehingga kadar MD dan AS menjadi lebih rendah.

Parida *et al.* (2018) melaporkan bahwa kondisi lingkungan yang ekstrem seperti salinitas dan kekeringan yang tinggi dapat memicu peningkatan produksi ROS dalam kloroplas dan mitokondria. Menurut Mittler (2017), metabolisme tanaman yang normal membutuhkan ROS optimal untuk proliferasi dan diferensiasi seluler yang memungkinkan tanaman mencapai pertumbuhan dan perkembangan maksimal. ROS yang rendah dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sedangkan ROS yang terlalu tinggi mengakibatkan terjadinya stres oksidatif dan kerusakan organel sel yang vital pada tanaman. Pencegahan terhadap kerusakan sel ini dilakukan tanaman dengan memproduksi lebih banyak senyawa antioksidan yang dapat menangkap ROS. Senyawa triterpena terbentuk melalui reaksi penggabungan 6 unit isoprena dari jalur MEP atau 2 unit seskuiterpena yang dihasilkan melalui jalur MVA. Seskuiterpena tersusun dari 3 unit isoprena. Menurut Affek & Yakir (2002) serta Fan & Zhang (2004), isoprena dapat bereaksi dengan ROS menghasilkan metakrolein dan metil vinil keton. Kedua senyawa ini selanjutnya dapat terdegradasi menjadi hidroksi oksobutanal (HOB), hidroksi butanadion (HDMG), dihidroksi butanon (DHB), dihidroksi metilpropanal (DHMP), hidroksi metilmalonaldehida (HMM), asam piruvat, metilglisoksal, hidroksiaseton, dan glikoksaldehida (Schone 2014) (Gambar 2), sehingga dapat memengaruhi kadar triterpena tanaman. Kadar MD dan AS yang tinggi pada perlakuan 100% KL dan KG 1 000 ppm diduga karena perlakuan tersebut menghasilkan cekaman paling "ringan" dan merupakan kondisi paling optimum tanaman untuk menghasilkan MD dan AS. Pada perlakuan cekaman lain, dihasilkan ROS dengan jumlah lebih banyak yang mengakibatkan terdegradasinya isoprena untuk mengurangi efek negatif dari ROS. Selain itu, tanaman memproduksi berbagai antioksidan seperti monoterpena, diterpena, karotenoid (tetraterpena), tokoferol, dan polifenol untuk menangkap ROS sehingga kadar triterpena yang dihasilkan tanaman tersebut berkurang.

Kadar AM dan AA pada semua perlakuan tidak jauh berbeda dan relatif rendah. Hal ini terjadi karena AM dan AA merupakan hasil dari hidrolisis AS dan MD. Suasana air yang hampir sama pada perlakuan yang diberikan mengakibatkan kadar AM dan AA yang dihasilkan tidak berbeda jauh. Selain itu, umur

tanaman ketika dipanen masih relatif muda. Pada tanaman muda, biosintesis metabolit sekunder yang terjadi belum maksimal seperti pada tanaman yang sudah dewasa. Hal ini disebabkan CO₂ dan H₂O yang diperoleh ketika proses fotosintesis lebih banyak digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman daripada untuk mempertahankan diri dari lingkungan. Menurut Nomi (2018), kadar MD, AS, AM, dan AA maksimal diperoleh ketika tanaman dipanen pada umur 4 bulan (sekitar 17 minggu).

SIMPULAN

Biomassa tanaman terendah diperoleh pada perlakuan 50% kapasitas lapang dan kadar garam 3 000 ppm, sedangkan tertinggi pada perlakuan 50% kapasitas lapang dan kadar garam 1 000 ppm. Kadar madekasosida dan asiatikosida tertinggi dicapai pada kondisi 100% kapasitas lapang dan kadar garam 1 000 ppm. Adapun perlakuan yang diberikan tidak memengaruhi kadar asam madekasat dan asam asitat pada pegagan. Cekaman salinitas berupa kadar garam 1 000–3 000 ppm serta cekaman kekeringan berupa kapasitas lapang 50 dan 100% memengaruhi biomassa serta kadar madekasosida dan asiatikosida, tapi tidak memberikan pengaruh yang berarti pada kadar asam madekasat dan asam asiatat tanaman pegagan berumur 8 minggu.

DAFTAR PUSTAKA

- Affek HP, dan Yakir D. 2002. Protection by isoprene against singlet oxygen in leaves. *Plant Physiol.* 129:269-277. doi: 10.1104/pp.010909.
- Artanti N, Dewi RT, Maryanti F. 2014. Pengaruh lokasi dan pelarut pengekstraksi terhadap kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L. Urb). *JKTI.* 16(2):88-92.
- Bahadir-Acikara O, Ozbilgin S, Saltan-Iscan G, Dall'Acqua S, Rjaskova V, Ozgokce F, Suchy V, Smejkal K. 2018. Phytochemical analysis of *Podospermum* and *Scorzonera* n-hexane extracts and the HPLC quantitation of triterpenes. *Molecules.* 23:1-12. doi: 10.3390/molecules23071813.
- Basyuni M, Sagami H, Baba S, Oku H. 2019. Response of polyisoprenoid concentration and profile in three groups of mangrove seedlings of coping with long-term salinity. *Biodiversitas.* 20(1):320-326. doi: 10.13057/biodiv/d200137.
- Chiroma SM, Baharuldin MTH, Taib CMT, Amom Z, Jagadeesan S, Adean MI, Mahdi O, Moklas MAM. 2019. Protective effects of *Centella asiatica* on cognitive deficits induced by D-gal/AICl3 via



- inhibition of oxidative stress and attenuation of acetylcholinesterase level. *Toxics*. 7:1-19. doi: 10.3390/toxics7020019.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia*. Ed ke-1. Jakarta (ID): Depkes RI.
- Dewi RT, Maryani F. 2015. Antioxidant and -glucosidase inhibitory compounds of *Centella asiatica*. 17:147-152. *Procedia Chem*. doi: 10.1016/j.proche.2015.12.130.
- Fan J, Zhang R. 2004. Atmospheric oxidation mechanism of isoprene. *Environ. Chem*. 1:140-149. doi:10.1071/EN04045
- Guo R, Yang Z, Li F, Yan C, Zhong X, Liu Q, Xia X, Li H, Zhao L. 2015. Comparative metabolic responses and adaptative strategies of wheat (*Triticum aestivum*) to salt and alkali stress. *BMC Plant Biologi*. 15:1-13. doi: 10.1186/s12870-015-0546-x.
- Hashim P, Sidek H, Helan MHM, Sabery A, Palanisamy UD, Ilham M. 2011. *Molecules*. 16:1310-1322. doi: 10.3390/molecules16021310.
- He W, Fu Z, Zeng G, Zhang Y, Han H, Yan H, Ji C, Chu H, Tan N. 2012. Terpene and lignan glycosides from the twigs and leaves of an endangered conifer, *Cathaya argyrophylla*. *J Phytochem*. 83:63-69. doi: 10.1016/j.phytochem.2012.07.013.
- Ibrahim MH, Shibli NI, Izad AA, Zain NAM. 2018. Growth, chlorophyll fluorescence, leaf gas exchange and phytochemicals of *Centella asiatica* exposed to salinity stress. *ARRB*. 27(2):1-13. doi: 10.9734/ARRB/2018/41014.
- Idris FN, Nadzir MM. 2017. Antimicrobial activity of *Centella asiatica* on *Aspergillus niger* and *Bacillus subtilis*. *Chem Eng Transactions*. 56:1381-1386. doi: 10.3303/CET1756231.
- Jimenez-Herrera R, Pacheco-Lopez B, Peragon J. 2019. Water stress, irrigation, and concentrations of pentacyclic triterpenes and phenols in *Olea europaea* L. cv. Picual olive trees. *Antioxidants*. 8(294):1-14. doi: 10.3390/antiox8080294.
- Mahajan S, Tuteja N. 2005. Cold, salinity, and drought stresses: an overview. *Arch Biochem and Biophys*. 444:139-158. doi: 10.1016/j.abb.2005.10.018.
- Maramaldi G, Togni S, Franceschi F, Lati E, 2013. Anti-inflammatory and antiglycation activity of a novel botanical ingredient from African biodiversity (Centevita). *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 7:1-9. doi: 10.2147/CCID.S49924.
- Meng F, Luo Q, Wang Q, Zhang X, Qi Z, Xu F. 2016. Physiological and proteomic responses of diploid and tetraploid black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) subjected to salt stress. *Sci Rep*. 14:20299–20325. doi: 10.3390/ijms141020299.
- Mittler R. 2017. ROS are good. *Trends Plant Sci*. 22(1):11-19. doi: 10.1016/j.tplants.2016.08.002.
- Nomi AG. 2018. Pemrofilan metabolit pegagan (*Centella asiatica*) berdasarkan umur tanam menggunakan spektrum infra-merah dan kromatografi cair [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Parida AK, Panda A, Rangani J. 2018. *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*. Ahmad P, Ahanger MA, Singh VP, Tripathi DK, Alam P, Alyemeni MN, editor. Cambridge (GB): Elsevier Inc. hlm 89-131. doi: 10.1016/B978-0-12-812689-9.00005-4.
- Pitinidhipat N, Yasurin P. 2012. Antibacterial activity of *Chrysanthemum indicum*, *Centella asiatica* and *Andrographis paniculate* against *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes* under osmotic stress. *AU J.T*. 15(4):239-245.
- Rafi M, Handayani F, Darusman LK, Rohaeti E, Yudiwanti W, Sulistiyani, Honda K, Putri SP. 2018. A combination of simultaneous quantification of four triterpenes and fingerprint analysis using HPLC for rapid identification of *Centella asiatica* from its related plants and classification based on cultivation ages. *Ind Crop and Prod*. 122(5):93-97. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.05.062.
- Rahardjo M, Rosita SMD, Fathan R, Sudiarto. 1999. Pengaruh cekaman air terhadap mutu simplisia pegagan (*Centella asiatica*). *Jurnal Littri*. 5(3):92-97.
- Rattanakom S, Patchaneeyasurin. 2015. Chemical profiling of *Centella asiatica* under different extraction solvents and its antibacterial activity, antioxidant activity. *Orient J Chem*. 31(4):2453-2459. doi: 10.13005/ojc/310480.
- Saha S, Guria T, Singha T, Maity TK. 2013. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of chloroform and methanol extracts of *Centella asiatica* Linn. *ISRN Pharmacol*. 1-6. doi: 10.1155/2013/789613.
- Sanchez DH, Schwabe F, Erban A, Udvardi MK, Kopka J. 2012. Comparative metabolomics of drought acclimation in model and forage legumes. *Plant Cell Environ*. 35:136-149. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02423.x.
- Schone L, Schindelka J, Szeremeta E, Schaefer T, Hoffmann D, Rudzinski KJ, Szmigielski, Herrmann H. 2014. Atmospheric aqueous phase radical chemistry of the isoprene oxidation products methacrolein, methyl vinyl ketone, methacrylic acid, and acrylic



-
- acid – kinetics and product studies. *Phys Chem Chem Phys.* 16:6257-6272. doi: 10.1039/C3CP54859G.
- Wang L, Xu J, Zhao C, Zhao L, Feng B. 2013. Antiproliferative, cell-cycle dysregulation effects of novel asiatic acid derivatives on human non-small cell lung cancer cells. *Chem Pharm Bull.* 61(10):1015-1023. doi: 10.1248/cpb.c13-00328.
- Yao CH, Yeh JY, Chen YS, Li MH, Huang CH. 2015. Wound-healing effect of electrospun gelatin nanofibers containing *Centella asiatica* extract in a rat model. *J Tissue Eng Regen Med.* 11(3):905-915. doi: 10.1002/term.1992.
- Zhang J, Zhang Y, Du Y, Chen S, Tang H. 2011. Dynamic metabolomic responses of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants to salt stress. *J Proteome Res.* 10(4):1904-1914. doi: 10.1021/pr101140n.

