

Bab VI Hasil dan Pembahasan

VI. 1 Penyiapan Bahan

Penyiapan bahan meliputi pengumpulan bahan, determinasi tanaman dan pengolahan bahan menjadi simplisia. Pertama dilakukan pengumpulan bahan baku berupa batang, buah dan daun ciplukan yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari kebun Kp Pasir Luhur Desa Alamendah Kec Rancabali Kab Bandung. Kebenaran spesies dari tanaman ini telah dibuktikan dengan surat keterangan dari Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati – ITB Bandung. Hasil dari determinasi membenarkan bahwa tanaman yang diteliti adalah ciplukan dengan nama latin (*Physalis peruviana* L). Batang, buah dan daun ciplukan yang diperoleh dilakukan pemisahan dari pengotor dan bahan asing lainnya. Selanjutnya dilakukan pencucian untuk menghilangkan tanah dan pengotor yang menempel pada batang, buah dan daun.

Kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 40°C selama 3 hari pada batang dan daun sedangkan pada buah selama 1 minggu hingga batang, buah dan daun kering, ditandai dengan mudahnya dihancurkan, kemudian di blender hingga menjadi serbuk kering bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga mempermudah pengeluaran senyawa pada saat ekstraksi. Serbuk tanaman ciplukan disimpan pada wadah yang tertutup rapat.

VI. 2 Karakterisasi Simplisia

Karakteristika simplisia dilakukan untuk mengetahui mutu simplisia yang digunakan. Pada pengujian makroskopis dilakukan menggunakan pancaindra terhadap bahan tanaman yang digunakan meliputi pemeriksaan bentuk, ukuran dan warna.

Tabel VI. 1 Makroskopis Batang, Buah dan Daun Ciplukan

Karakteristik	Bagian tanaman		
	Batang	Buah	Daun
Bentuk	Panjang berongga	Bulat telur	Bulat telur ujungnya meruncing
Ukuran	$\pm 5\text{cm}$	Kuning terang	Hijau tua
Warna	Hijau muda	Diameter $\pm 3\text{ cm}$	$\pm 5\text{cm}$

Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal dari simplisia tersebut. Kandungan mineral internal dan eksternal simplisia batang, buah dan daun ciplukan adalah 14,67 % ; 7,33 % ; 12,56 %. Selain kadar abu total, dilakukan juga penetapan kadar abu tidak larut asam yang bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral eksternal dalam bahan. Dari hasil yang didapat kandungan mineral eksternal dalam simplisia batang, buah dan daun ciplukan lebih kecil dibandingkan hasil kadar abu total yaitu 2,89 % ; 1,54% ; 2,13 %. Dimana kadar abu tidak larut asam harus lebih kecil dibandingkan kadar abu total karena menandakan sedikitnya pengotor seperti pasir ataupun silikat dalam bahan.

Penetapan kadar sari bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa dalam simplisia yang tersari dalam pelarut tertentu. Berdasarkan hasil yang didapat, nilai kadar sari larut air pada batang, buah dan daun ciplukan sebesar 29,20 % ; 39,07 % ; 40,44 %. Sedangkan nilai kadar sari larut etanol sebesar 19,10 % ; 49,95 % ; 32,21 %. Hal ini menunjukkan bahwa batang dan daun ciplukan tingginya kandungan senyawa yang terlarut dalam air dibandingkan senyawa yang larut dalam etanol. Sedangkan buah ciplukan tingginya kandungan senyawa yang terlarut dalam etanol dibandingkan senyawa yang larut dalam air.

Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk melihat senyawa-senyawa yang mudah menguap pada suhu pengukuranya yaitu 105°C. Nilai susut pengeringan yang didapatkan batang, buah dan daun adalah 10,29 % ; 8,02 % ; 10,08%. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam batang, buah dan daun ciplukan terdapat senyawa-senyawa yang mudah menguap.

Tabel VI.2 Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia

karakteristik	Bagian tanaman		
	Batang (% ^b / _b)	Buah (% ^b / _b)	Daun (% ^b / _b)
Abu total	14,67	7,33	12,56
Abu tidak larut asam	2,89	1,54	2,13
Sari larut air	29,20	39,07	40,44
Sari larut etanol	19,10	49,95	32,21
Susut pengeringan	10,29	8,02	10,08

VI. 3 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam simplisia. Hasil yang diperoleh dapat digunakan sebagai informasi awal untuk mengetahui senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam batang, buah dan daun ciplukan.

Tabel IV.3 Hasil Penapisan Fitokimia

Parameter	Bagian tanaman		
	Batang	Buah	Daun
Alkaloid	+	+	-
Flavonoid	+	+	+
Kuinon	-	+	+
Tanin	-	-	+
Saponin	+	-	-
Steroid/Triterpenoid	+	+	+

Keterangan (+) : Mengandung senyawa yang diuji

(-) : Tidak mengandung senyawa yang diuji

Hasil penapisan fitokimia ini sesuai dengan hasil pengujian penelitian lain. Menurut Aldi, 2014 batang ciplukan (*Physalis angulata* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid. Menurut Sathyadevi. M, dkk. 2014 buah ciplukan (*Physalis peruviana* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Menurut Alkautsari, 2015 daun ciplukan (*Physalis minima* L.) mengandung senyawa Alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida dan steroid.

VI.4 Ekstraksi

Batang, buah dan daun ciplukan yang telah diserbukkan kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya. Simplisia batang sebanyak 250 g, buah 400 g dan daun 250 g diekstraksi menggunakan 1,5 L n-Heksan, Etil Asetat dan Etanol 96% selama 3 x 24 jam dimana setiap 1 x 24 jam dilakukan penyaringan dan kemudian ditambahkan pelarut yang baru. Metode maserasi digunakan agar senyawa dalam tanaman ciplukan tidak rusak dan proses penyarian senyawa dapat menjadi optimal dikarenakan perendaman simplisia yang cukup lama.

Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya disaring dan dipekatkan dengan alat penguap berputar hampa udara (*Rotary Vaporator*) dengan prinsip menurunkan titik didih pelarut agar pelarut dapat menguap dibawah titik didih pelarutnya serta agar senyawa di dalam ekstrak tidak rusak karena pemanasan berlebihan. Hasil berat dan % rendemen ekstrak batang, buah dan daun ciplukan.

Tabel VI.4 Hasil Rendemen Ekstrak

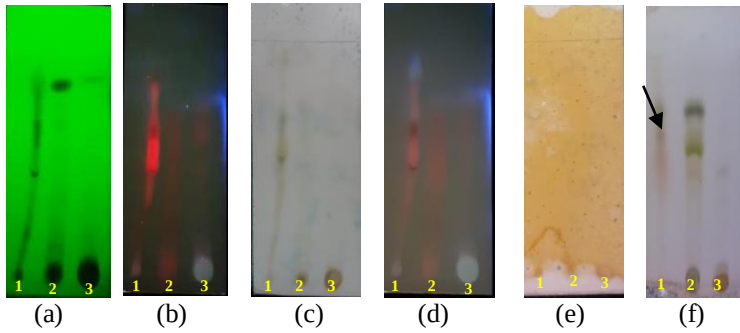
Bagian tanaman	Ekstrak	Ekstrak Pekat (g)	Rendemen Ekstrak (% $\frac{b}{b}$)
Batang	n-heksan	1,97	0,79
	Etil asetat	3,42	1,37
	Etanol 96%	25,29	10,12
Daun	n-heksan	4,44	1,78
	Etil asetat	9,44	3,78
	Etanol 96%	37,02	14,80
Buah	n-heksan	3,01	0,75
	Etil asetat	9,8	2,45
	Etanol 96%	103,41	25,85

Dari rendemen ekstrak diketahui bahwa senyawa terekstraksi paling banyak dipelarat etanol 96%, hal ini menunjukan banyaknya senyawa polar yang terkandung dalam ekstrak.

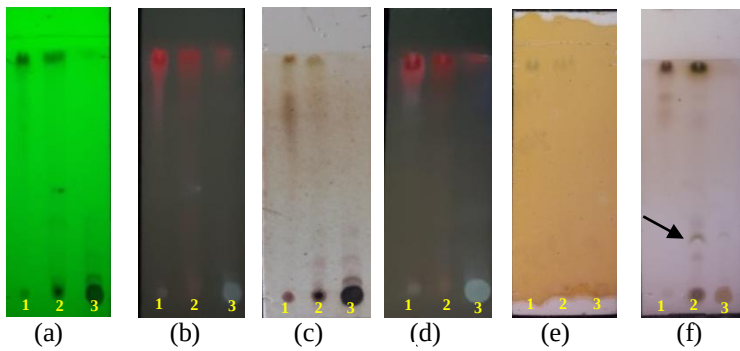
VI.5 Pemantauan Ekstrak

Pemantauan ekstrak bertujuan untuk menganalisis secara kualitatif kandungan senyawa dalam ekstrak yang meliputi fenol, flavonoid dan steroid/triterpenoid.

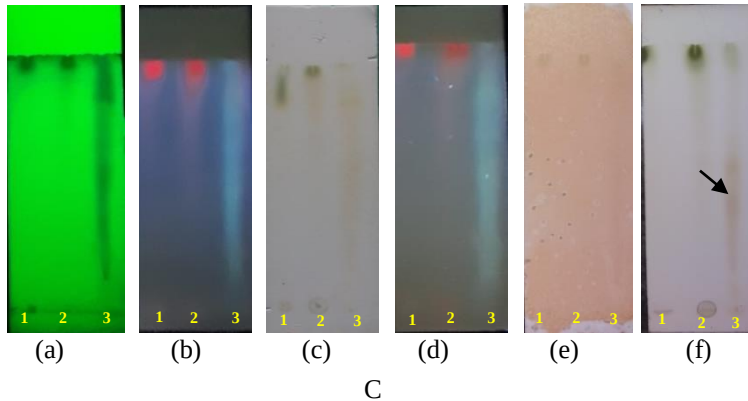
Pemantauan ekstrak batang ciplukan (*Physalis peruviana* L) dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan-etil asetat (7:3), kloroform-etil asetat (6:4) dan n-butanol-asam asetat- air (4:1:5).



A



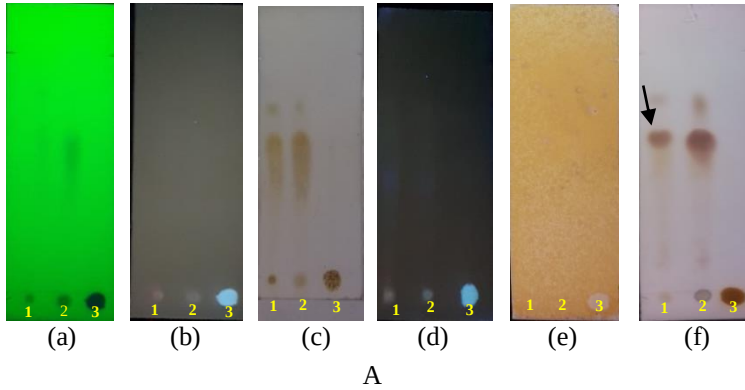
B



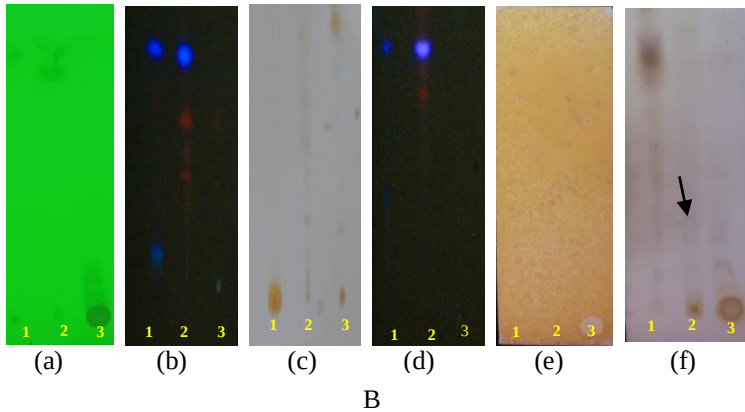
Gambar IV.1 : Kromatogram Lapis Tipis Ekstrak Batang, dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak (A) n-heksana- etil asetat (7:3), (B) klorofoem-etil asetat (6:4), (C) n-butanol-asam asetat-air (4:1:5). (1) Ekstrak n-heksana (2) etil asetat (3) ekstrak etanol. (a) sinar UV λ 254 nm, (b) sinar UV 365 nm, (c) penampak bercak H₂SO₄ 10% dalam metanol, (d) penampak bercak AlCl₃ 5% dibawah sinar UV λ 365 nm, (e) penampak bercak FeCl₃ 10%, (f) penampak bercak Liebermann Bourchard dalam etanol 95%.

Untuk ekstrak batang ciplukan dari ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% mengandung senyawa steroid/triterpenoid dengan adanya bercak berwarna hitam keunguan, setelah disempromot penampak bercak Liebermann Bourchard.

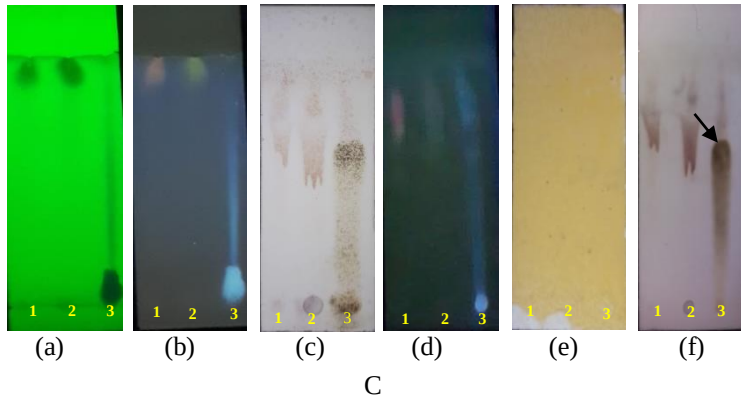
Pemantauan ekstrak buah ciplukan (*Physalis peruviana* L) dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan-etil asetat (10:1), toluen-aseton (6:4) dan kloroform-metanol (2:8).



A



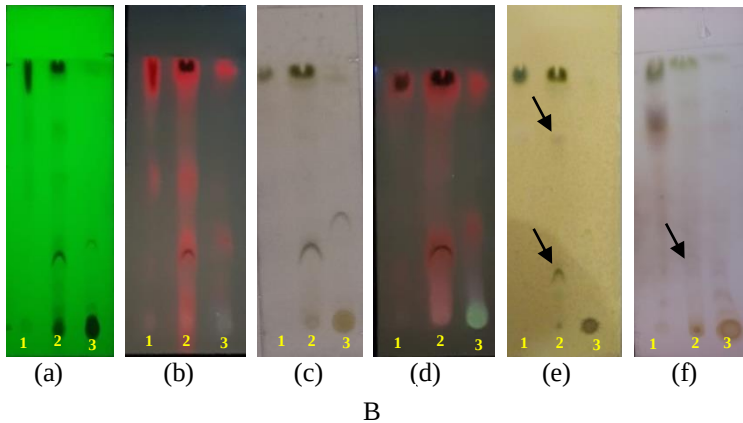
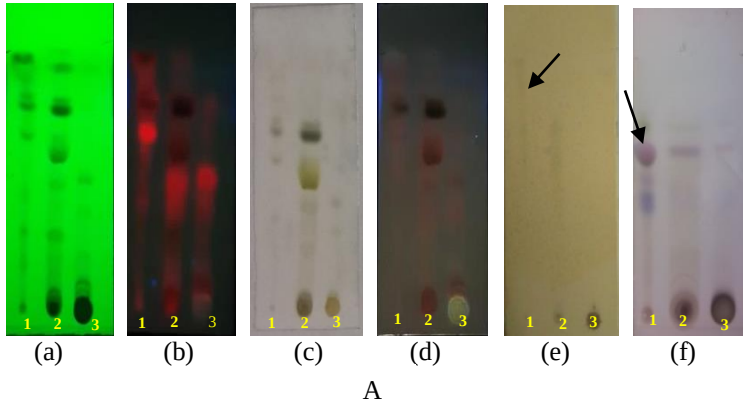
B

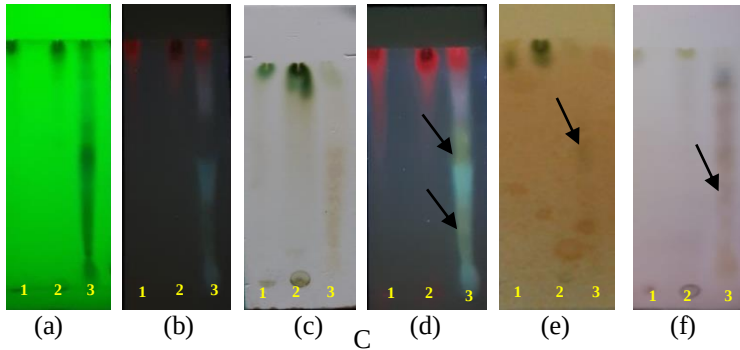


Gambar IV.2 : Kromatogram Lapis Tipis Ekstrak Buah, dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak (A) n-heksan-etil asetat (10:1), (B) toluen-aseton (6:4) dan (C) kloroform-metanol (2:8). (1) Ekstrak n-heksana (2) etil asetat (3) ekstrak etanol 96%. (a) sinar UV λ 254 nm, (b) sinar UV 365 nm, (c) penampak bercak H₂SO₄ 10% dalam metanol, (d) penampak bercak AlCl₃ 5% dibawah sinar UV λ 365 nm, (e) penampak bercak FeCl₃ 10%, (f) penampak bercak Liebermann Bourchard dalam etanol 95%.

Untuk ekstrak buah ciplukan dari ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96% mengandung senyawa steroid/triterpenoid dengan adanya bercak berwarna hitam keunguan, setelah disemprot penampak bercak Liebermann Bourchard.

Pemantauan ekstrak daun ciplukan (*Physalis peruviana* L) dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan-etil asetat (7:3), kloroform-etil asetat (6:4) dan n-butanol-asam asetat- air (4:1:5).





Gambar IV.3 : Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Daun, dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak (A) n-heksan-etil asetat (7:3), (B) kloroform-etil asetat (6:4) dan (C) n-butanol-asam asetat- air (4:1:5). (1) Ekstrak n-heksana (2) etil asetat (3) ekstrak etanol 96%. (a) sinar UV λ 254 nm, (b) sinar UV 365 nm, (c) penampak bercak H₂SO₄ 10% dalam metanol, (d) penampak bercak AlCl₃ 5% dibawah sinar UV λ 365 nm, (e) penampak bercak FeCl₃ 10%, (f) penampak bercak Liebermann Bouchard dalam etanol 95%.

Untuk ekstrak etanol daun ciplukan mengandung senyawa flavonoid dengan adanya bercak yang berfluoresensi kuning kehijauan dibawah sinar UV λ 365 nm setelah disemprot dengan penampak bercak AlCl₃ 5% dan bercak berwarna hitam berlatar kuning dari elusi ekstrak n-heksana dan etil asetat pada plat yang disemprot penampak bercak FeCl₃ 10%, hal ini menunjukkan adanya senyawa fenol. Dan bercak hitam keunguan dari elusi ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol pada plat yang disemprot penampak bercak Liebermann Bouchard, hal ini menunjukkan adanya senyawa steroid/triterpenoid.

VI.6 Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase

Uji aktivitas dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak batang, buah dan daun ciplukan terhadap α -glukosidase dari berbagai konsentrasi ekstrak dengan melihat persen inhibisi serta untuk mengetahui kekuatan penghambatan ekstrak terhadap enzim dengan melihat nilai IC_{50} . Dimana IC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim. Enzim yang digunakan pada pengujian adalah α -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* dan substrat yang digunakan *p-nitrofenil α -D-glukopiranosida*.

VI.6.1 Optimasi Konsentrasi Enzim

Optimasi konsentrasi enzim bertujuan untuk menentukan konsentrasi enzim yang digunakan pada saat reaksi enzimatik, agar enzim bereaksi secara optimal. Pengujian optimasi dilakukan dengan cara memasukan dapar Fosfat pH 6,8 dan memasukan variasi konsentrasi enzim α -glukosidase dengan konsentrasi 0,2 – 0,8 U/mL ke dalam mikrolat kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit, pada tahap pertama inkubasi bertujuan untuk memberikan waktu bagi larutan uji untuk beradaptasi untuk mencapai suhu 37°C. kemudian ditambahkan substrat (pNPG) dengan konsentrasi 15 mM dan dilakukan inkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C, pada tahap kedua inkubasi merupakan waktu untuk reaksi enzimatik. Setelah dilakukan inkubasi tahap yang kedua ditambahkan natrium karbonat yang bertujuan untuk menghentikan reaksi enzim α -glukosidase. Produk yang dihasilkan dari reaksi antara α -glukosidase

dan *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (*p*NPG) diukur absorbansinya pada panjang gelombang 405 nm. Dari hasil variasi konsentrasi enzim didapat konsentrasi 0,4 U/mL yang paling optimum untuk digunakan uji penghambatan.

Tabel VI.5 Hasil Optimasi Konsentrasi Enzim

Konsentrasi enzim U/mL	Absorbansi (λ 405 nm)	kontrol	Absorbansi (uji-kontrol)
0,2	0,271	0,065	0,206
0,3	0,646		0,581
0,4	0,862		0,797
0,5	1,673		1,608
0,6	1,968		1,903
0,7	2,212		2,147
0,8	3,755		3,690

VI.6.2 Pengujian Sampel

Uji aktivitas Penghambatan enzim α -glukosidase pada ekstrak batang, buah dan daun ciplukan dilakukan menggunakan larutan enzim 0,4 U/mL dan larutan substrat (*p*NPG) dengan konsentrasi 15 mM. pengujian ini dilakukan pada beberapa ekstrak diantara lain ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol 96%, serta akarbose sebagai pembanding. Akarbose merupakan agen penghambat enzim α -glukosidase, dengan cara memperlambat absorpsi glukosa dalam usus halus, sehingga memberikan efek menurunkan kadar glukosa darah sesudah makan. Secara umum akarbose digunakan dalam pengobatan diabetes mellitus tipe 2 (Dipiro, 2015).

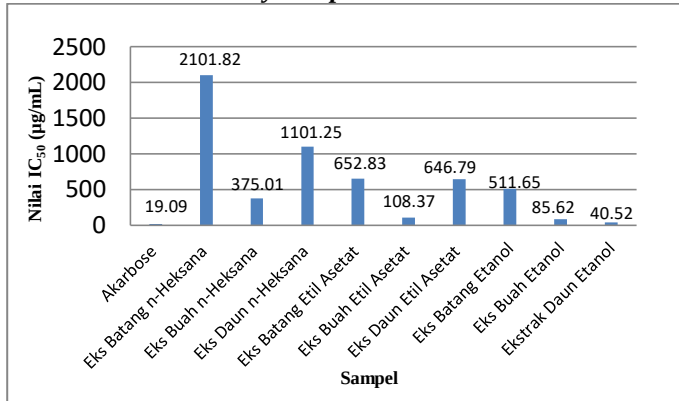
Prinsip reaksi yang terjadi antara enzim dan substrat adalah hidrolisis substrat *p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida* (pNPG) menjadi *P-nitrofenol* dan glukosa, dimana *P-nitrofenol* yang berwarna kuning. Aktivitas inhibisi diukur berdasarkan absorbansi warna kuning *P-nitrofenol* pada panjang gelombang 405 nm (sugiwati, dkk. 2009).

Pengujian ini dilakukan beberapa konsentrasi sampel yang bervariasi untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi sampel terhadap aktivitas penghambatan dan untuk memperoleh nilai % inhibisi. Dimana semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin kecil absorbansi dikarenakan produk yang dihasilkan berkurang yaitu *P-nitrofenol*, hal ini ditandai dengan berkurangnya intensitas warna kuning pada larutan uji dan nilai persen inhibisi semakin tinggi.

Nilai persen inhibisi selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dimana nilai tersebut didapat dari persamaan regresi linear $y=a+bx$, IC_{50} dapat menunjukkan kekuatan penghambatan sampel terhadap enzim α -glukosidase. Menurut Lee tahun 2001 rentang kategori Nilai IC_{50} sebagai antidiabetes sebagai berikut:

Nilai IC_{50}	Kategori
$< 11 \mu\text{g/mL}$	Sangat aktif
$11-100 \mu\text{g/mL}$	Aktif
$> 100 \mu\text{g/mL}$	Tidak aktif

Gambar VI.5 Perbandingan Nilai IC_{50} Akarbose dan Ekstrak *Physalis peruviana* L



Tabel VI.6 Nilai IC_{50} Ekstrak *Physalis peruviana* L dengan Nilai SD Ekstrak *Physalis peruviana* L

Sampel	$IC_{50} \pm SD$
Batang N-Heksana	2101,82±32,5579
Buah N-Heksana	375,01±1,2218
Daun N-Heksana	1011,25±1,8998
Batang Etil Asetat	652,83±0.5605
Buah Etil Asetat	108,37±0,3908
Daun Etil Asetat	646,79±0.2249
Batang Etanol	511,65±3,0512
Buah Etanol	85,62±0,0410
Daun Etanol	40,52±0,087

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah dan daun ciplukan (*Physalis peruviana* L) dapat berpotensi sebagai agen penghambatan enzim α -glukosidase yang aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 40,52 µg/mL dan 85,62 µg/mL, dimana masuk kedalam rentang kategori yang aktif sebagai antidiabetes dengan konsentrasi 11 µg/mL – 100 µg/mL (Lee, 2001).

Senyawa aktif yang berpotensi sebagai agen penghambatan kerja enzim α -glukosidase pada ekstrak etanol buah dan daun kemungkinan bersifat polar karena kedua ekstrak tersebut bersifat polar. Diduga senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antidiabetes menurut Pujari, 2018 adalah steroid, yang bekerja dengan cara menstimulasi keluarnya insulin dari pankreas sehingga dapat menurunkan kadar glukosa. Pada batang, buah dan daun ciplukan positif mengandung senyawa golongan steroid telah dibuktikan pada saat penapisan fitokimia menunjukkan warna merah keunguan dan pemantauan ekstrak dimana terlihat positif setelah disemprot penampak bercak Liebermann Bourchard menunjukan warna hitam keunguan.

Kekuatan ekstrak batang, buah dan daun ciplukan dalam penghambatan aktivitas kerja enzim α -glukosidase ini dibandingkan dengan pembanding akarbose. Dimana nilai IC_{50} akarbose sebesar 19,086 $\mu\text{g/mL}$, nilai IC_{50} akarbose jauh lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC_{50} sampel ekstrak. Sehingga aktivitas penghambatan akarbose jauh lebih tinggi dibandingkan dengan sampel ekstrak batang, buah dan daun ciplukan.