

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hipertensi merupakan suatu keadaan dimana terjadi kenaikan tekanan darah sistolik di atas 140 mmHg dan tekanan darah diastolik di atas 90 mmHg (Kemenkes RI, 2013). *Renin Angiotensin Aldosterone System* (RAAS) merupakan sistem endogen kompleks dimana RAAS mengatur natrium, kalium, dan volume darah. Oleh karena itu, sistem ini mempengaruhi tonus pembuluh darah serta aktivitas sistem saraf simpatik, dan merupakan kontributor paling berpengaruh terhadap regulasi homeostatis tekanan darah (Hayes et al., 2020).

Pengobatan lini pertama hipertensi yaitu obat golongan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEI) seperti kaptopril, lisinopril dan ramipril. ACEI akan memblokir konversi angiotensin I menjadi angiotensin II. Selain itu, ACEI juga akan memblokir degradasi bradikinin sehingga menyebabkan efek samping batuk kering yang banyak ditemukan pada pasien yang menggunakan obat golongan ACEI (Hayes et al., 2020). Selain itu obat yang digunakan yaitu *Angiotensin Receptor Blocker* (ARB) yang akan memblokir reseptor angiotensin yang memediasi efek angiotensin II. Efek samping dari obat ini yaitu hiperkalemia pada pasien ginjal kronis dan insufisiensi ginjal (Hayes et al., 2020; Wells et al., 2017).

Masyarakat Indonesia umumnya menggunakan tanaman herbal sebagai alternatif obat hipertensi. Salah satu tanaman yang memiliki efek sebagai antihipertensi yaitu *Physalis angulata* L. atau yang dikenal sebagai tanaman ciplukan. Tanaman *P. angulata* merupakan tanaman spesies yang berasal dari keluarga Solanaceae, dapat dimakan dan dapat dijadikan sebagai obat (Vargas-Ponce et al., 2016). Penelitian tahun 2019 menunjukkan bahwa tikus yang diinduksi dengan NaCl diberikan jus tanaman *P. angulata* mengalami presentase penurunan tekanan darah sebesar 42,21%. Penelitian tahun 2023 menunjukkan bahwa ibu hamil dengan hipertensi mengalami penurunan tekanan darah setelah mengonsumsi air rebusan buah *P. angulata* (Pujiati, 2024).

Salah satu jenis ekstraksi modern yaitu ekstraksi bertekanan tinggi atau *High-Pressure Extraction* (HPE). Metode ekstraksi ini memiliki beberapa kelebihan seperti sifatnya yang ekonomis, waktu pengekstraksian yang lebih singkat sehingga menghemat banyak energi, mengurangi penggunaan pelarut yang bersifat toksik serta mengurangi residu dari pelarut yang tertinggal pada hasil ekstrak (Li et al., 2022) dan hasil rendemen yang didapatkan dari metode ekstraksi ini jauh lebih besar



memgunakan metode ekstraksi tradisional (Khan et al, 2019). merupakan suatu metode uji dengan menggunakan sistem komputasi ini dapat mengidentifikasi dan merancang suatu secara farmakologis untuk ditargetkan pada protein yang elihat jumlah nilai pengikatannya (Ali et al., 2023; Dona et al., memiliki kelebihan seperti dapat menghemat biaya dan waktu

selama penelitian karena hasilnya yang cepat (Kinasih dkk. 2023) serta mengurangi penggunaan alat dan bahan yang berlebih selama penelitian (Dona et al., 2019).

Sehingga penelitian ini, akan melihat pengaruh HPE dengan beberapa variasi tekanan terhadap nilai persen rendemen ekstrak dan analisis kandungan senyawa dari tanaman *P. angulata* menggunakan GC-MS serta studi *in silico* dengan menggunakan pendekatan *molecular docking* untuk melihat nilai *binding affinity* dalam potensinya sebagai antihipertensi.

1.2 Teori

1.2.1 Uraian tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Klasifikasi tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) adalah sebagai berikut (USDA, 2024).

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Solanales
Suku	: Solanaceae
Marga	: Physalis
Jenis	: <i>Physalis angulata</i> L.



Gambar 1. Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.)

Tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan herba tahunan, memiliki akar tunggang. Batang tegak, bercabang di sebagian besar ruas, cabang menyebarkan. Tangkai daun 1/3-2/3 bilah; bilah berbentuk bulat telur, bulat telur sempit hingga lanset linier, pangkal membulat hingga menipis, tepi kasar, dalam, berlekuk tak beraturan, gigi menipis. Tangkainya berukuran 7-17 mm, buahnya berukuran 15-30 mm. Kelopak bunganya berukuran 3-5 mm, jarang berbulu atau gundul kecuali pada bagian tepi, mahkota bunganya berwarna kuning, tanpa bercak, kepala sarinya berwarna biru (eFloras, 2024).

Studi fitokimia pada tanaman *P. angulata* menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung flavonoid, alkaloid dan berbagai jenis steroid tanaman (Rengifo-Salgado & Vargas-Arana, 2013). *P. angulata* memiliki beberapa senyawa utama seperti Physalin F, D, G, E, H, I, U dan W. Withangulatin A, B, dan I. Physagulin A, C, D, H, I dan J. Physanolide A, all-*trans*- β -carotene, Myricetin 3-O-neohesperidoside, chrygrine (Elsa Rengifo-Salgado & Gabriel Vargas-Arana, 2013). berhasil mengisolasi senyawa Physalin B dari tanaman *P. angulata* (L., 2016).

Physalis angulata memiliki berbagai manfaat seperti rebusan akarnya menurunkan demam dan diabetes, rebusan seluruh bagian tanaman sebagai obat malaria, gatal-gatal, dan gonore, daunnya dapat



Pengobatan lini pertama hipertensi yaitu obat golongan ACEI seperti kaptopril, lisinopril dan ramipril. ACEI akan memblokir konversi angiotensin I menjadi angiotensin II. Selain itu, ACEI juga akan memblokir degradasi bradikinin sehingga menyebabkan efek samping batuk kering yang banyak ditemukan pada pasien yang menggunakan obat golongan ACEI (DiPiro Joseph T. et al., 2020). Selain itu obat yang digunakan yaitu ARB yang akan memblokir reseptor angiotensin yang memediasi efek angiotensin II. Efek samping dari obat ini yaitu hiperkalemia pada pasien ginjal kronis dan insufisiensi ginjal (DiPiro Joseph T. et al., 2020; Wells et al., 2017).

1.2.3 High-Pressure Extraction (HPE)

Ekstraksi bertekanan tinggi atau yang lebih dikenal dengan *High-Pressure Extraction* (HPE) merupakan teknologi non-termal yang memanfaatkan tekanan tinggi untuk mengekstrak bahan aktif dari tanaman (Huang et al., 2013). Metode HPE berkerja dengan mentransmisikan tekanan ribuan atmosfer (100 – 1000 MPa) menggunakan cairan, umumnya air, sebagai mediana (Hu et al., 2022). Pada proses ekstraksi dengan metode ini, pelarut akan berada di bawah pengaruh tekanan diferensial yang besar, pelarut tersebut akan meresap dengan sangat cepat ke dalam sel melalui membrane yang rusak sehingga meningkatkan proses aliran massa. Mengakibatkan, senyawa dapat diekstraksi dalam waktu yang jauh lebih singkat dan jauh lebih banyak dibandingkan dengan metode lain (Khan et al., 2019). Metode ekstraksi ini memiliki beberapa kelebihan seperti sifatnya yang ekonomis, waktu pengekstraksian yang lebih singkat sehingga menghemat banyak energi, mengurangi penggunaan pelarut yang bersifat toksik serta mengurangi residu dari pelarut yang tertinggal pada hasil ekstrak (Li et al., 2022) dan hasil rendemen yang didapatkan dari metode ekstraksi ini jauh lebih besar dibandingkan dengan menggunakan metode ekstraksi tradisional (Khan et al, 2019).

1.2.4 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan metode gabungan dari dua sistem dengan prinsip yang berbeda namun saling melengkapi. Gabungan dua sistem yang dimaksud adalah kromatografi gas dan spektroskopi massa. Kedua sistem ini bekerja secara kualitatif dan kuantitatif (Putri et al., 2022). Kromatografi gas memiliki fungsi untuk mendeteksi senyawa-senyawa yang bersifat *volatile* atau mudah menguap, selain itu juga dapat menyeleksi molekul gas



can massanya, juga memiliki fungsi untuk memisah berbagai dalam suatu sampel (Hotmian et al., 2021; Putri et al., 2022; langkan spektrometri massa memiliki fungsi untuk mendeteksi yang berhasil dipisahkan oleh kromatografi gas, menentukan t molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan (Nuriah et al., 2). Kelebihan dari GC-MS yaitu metode ini memiliki sensitivitas uk mendeteksi senyawa yang mudah menguap, alatnya yang

mudah untuk dioperasikan, dan dapat menganalisis senyawa dengan konsentrasi rendah (Nuriah et al., 2023; Putri et al., 2022).

1.2.5 *In Silico* Molecular Docking

In silico dalam hal ini yaitu *molecular docking* merupakan suatu metode uji dengan menggunakan sistem komputasi. Metode komputasi ini dapat mengidentifikasi dan merancang suatu senyawa yang aktif secara farmakologis untuk ditargetkan pada protein yang diinginkan dengan melihat jumlah nilai pengikatannya (Ali et al., 2023; Dona et al., 2019). Metode ini merupakan pemodelan bioinformatik untuk memprediksi interaksi antara suatu ligan dan protein (Roman et al., 2023) metode ini melihat nilai *binding affinity* interaksi antara protein dan ligan, juga akan mengetahui residu asam amino yang berinteraksi dengan suatu ligan (Lukitaningsih et al., 2015). Metode ini memiliki kelebihan seperti dapat menghemat biaya dan waktu selama penelitian karena hasilnya yang cepat (Kinasih dkk. 2023) serta mengurangi penggunaan alat dan bahan yang berlebih selama penelitian (Dona et al., 2019).

1.3 Rumusan Masalah

1. Apakah metode ekstraksi bertekanan tinggi menggunakan beberapa tekanan yang berbeda menghasilkan hasil persen rendemen tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang banyak?
2. Apakah metode ekstraksi bertekanan tinggi memengaruhi kandungan senyawa dari tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.)?
3. Apakah kandungan senyawa dari tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang diuji secara *in silico* memiliki potensi sebagai antihipertensi?

1.4 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.4.1 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui tekanan terbaik pada ekstraksi bertekanan tinggi terhadap perolehan persen rendemen tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.).
2. Untuk mengetahui pengaruh ekstraksi bertekanan tinggi terhadap kandungan senyawa dari tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.)
3. Untuk mengetahui efek senyawa dari tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L.) sebagai antihipertensi secara *in silico*.



elitan

diharapkan dapat memberikan informasi serta pengembangan di bidang fitokimia khususnya dalam hal pengekstraksian dan ekstraksi bertekanan tinggi sebagai salah satu metode

ekstraksi yang lebih efisien dan mengetahui potensi tanaman *Physalis angulata* L. sebagai antihipertensi dengan pendekatan *molecular docking*.



Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Universitas Hasanuddin dan PT. Ismut Fitomedika Indonesia pada bulan November 2023 – Mei 2024.

2.2 Bahan dan Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: alat gelas (Pyrex®), cawan porselin, GC-MS Ultra QP 2010 Shimadzu, lampu UV 254 nm dan 366 nm, panci infusa, rotary evaporator (Heidolph®), seperangkat *software* (Chem3D Versi 15.0, Chimera Versi 1.17.3, Pymol Versi 3.0, dan Discovery Studio 2021), timbangan analitik, dan waterbath (Memmer®).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: aseton, asam asetat, baku stigmasterol, kertas saring, *Reserved Osmosis* (RO), tanaman ciplukan (*Physalis angulata* L), toluene, pipa kapiler, protein target yang digunakan yaitu 3D struktur dari Angiotensin Converting Enzyme (ACE) (PDB ID: 3BKK) dan Angiotensin Receptor (AT1) (PDB ID: 4ZUD).

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel tanaman *Physalis angulata* L. sebanyak 1.5 kg diambil dari Pinrang Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel dikumpulkan dan disortasi basah. Selanjutnya sampel *P. angulata* dipotong kecil-kecil dan dikeringkan menggunakan oven simplisia pada suhu 50°C selama 2-3 hari. Kemudian, disortasi kering lalu dilakukan penghalusan sampel menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan nomor 4/18 hingga diperoleh simplisia tanaman *P. angulata*. Simplisia kemudian ditimbang bobotnya.

2.3.2 Metode Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Ekstraksi tanaman *P. angulata* dilakukan dengan ekstraksi bertekanan tinggi. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 50 gram dan direndam ke dalam pelarut *Reserved Osmosis* (RO). Pelarut dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi bertekanan tinggi, kemudian dicukupkan volumenya. Ekstraksi bertekanan tinggi masing-masing



an 200, 400 dan 600 selama 15 menit. Hasil ekstraksi disaring pemisah yang akan melewati membran ultrafiltrasi. Hasil yang masing pelarut diuapkan menggunakan *Rotary Evaporator* dan diukur dengan rumus

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

Tabel 1. Variasi tekanan ekstraksi bertekanan tinggi pada *P. angulata*

No.	Pelarut yang digunakan	Tekanan (MPa)
1	Air RO	200
2	Air RO	400
3	Air RO	600

2.3.3 Metode Ekstraksi Infusa

Ekstraksi tanaman *P. angulata* dilakukan dengan ekstraksi metode infusa. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 50 gram, kemudian dimasukkan ke dalam panic infusa. Ekstraksi dilakukan dengan pada suhu 55°C selama 15 menit. Hasil rebusan disaring dan kemudian diuapkan hingga menjadi ekstrak kental. Dihitung persen rendemennya.

2.3.4 Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak HPE dan infusa, serta baku stigmasterol masing-masing dimasukkan ke dalam vial dan dilarutkan menggunakan aseton. Setelah larut, ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari garis bawah menggunakan pipa kapiler dengan eluen toluen : aseton : asam asetat (5:4:0,5). Bercak senyawa diidentifikasi dengan lampu UV 254 dan UV 366 nm, serta reagen semprot H₂SO₄ 10% kemudian dihitung nilai Rf pada masing-masing bercak.s

2.3.5 Analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

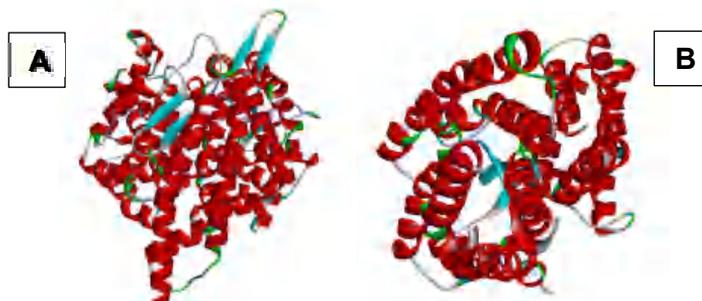
Preparasi sampel dilakukan dengan sebanyak kurang lebih 100 mL sampel ditambahkan methanol:kloroform (1:1) sebanyak 100 mL. Ekstraksi kemudian dilakukan dengan menggunakan *Ultrasonic* pada suhu 55°C selama 30 menit. Sample disentrifugasi. Kemudian, hasil supernatan sebanyak 3 mL dimasukkan ke dalam vial dan dilanjutkan untuk pengujian GC-MS.

Analisis GC-MS dilakukan dengan menggunakan alat GC-MS Ultra QP 2010 Shimadzu yang dilengkapi oleh kolom berjenis SH-Rxi-5Sil MS dengan panjang kolom 30 m dan diameter dalam 0,25 mm. Suhu injektor 250°C dengan mode splitless. tekanan 76,9 kPa, dan laju alir 14 mL/menit. Suhu sumber ion dan interface masing-masing 200°C dan 280°C. Suhu awal kolom 70°C dengan waktu tahan 2 menit, kemudian suhu dinaikkan hingga 200°C dengan laju 100°C/menit, suhu akhir 200°C dengan waktu tahan 9 menit dengan laju 50°C/menit, sehingga total selama 36 menit. Data kromatogram yang diperoleh dibaca n library NIST 17 dan Wiley 9. Senyawa diidentifikasi dengan dan spektra dari hasil analisis GC-MS.



2.3.6 Analisis *In Silico*

1. **Penyiapan target protein dan ligan**
Protein target yang digunakan yaitu 3D struktur dari *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) (PDB ID: 3BKK) (Bare et al., 2019) dan *Angiotensin Receptor* (AT1) (PDB ID: 4ZUD) (Budiarto dkk, 2023) yang didapatkan dari <https://www.rcsb.org/>. Senyawa uji yang digunakan sebagai ligan yaitu hasil data analisis GC-MS ekstrak tanaman *P. angulata*. Struktur 3D senyawa uji didapatkan dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Preparasi protein target 3BKK dan 4ZUD dilakukan dengan menggunakan Chimera (Versi 1.17.3) untuk menghilangkan molekul air, rantai dan ligan alami yang masih terdapat pada protein. Dilakukan validasi menggunakan AutoDock Vina dan Pymol (Versi 3.0) dengan redocking ligan alami dan protein target.



Gambar 2. Protein 3BKK (ACE) (A); Protein 4ZUD (ARB) (B)

2. **Preparasi Protein**
Preparasi protein target 3BKK dan 4ZUD dilakukan dengan menggunakan Chimera (Versi 1.17.3) untuk menghilangkan molekul air, rantai dan ligan alami yang masih terdapat pada protein. Dilakukan validasi menggunakan AutoDock Vina dan Pymol (Versi 3.0) dengan redocking ligan alami dan protein target.
3. **Preparasi Ligan**
Senyawa yang didapatkan dari hasil analisis GC-MS tanaman *P. angulata* digunakan sebagai ligan pada penelitian ini. Captopril dan Valsartan digunakan sebagai ligan pembandingan pada penelitian ini. Senyawa uji yang telah didownload kemudian dikonversi dari format *sdf* menjadi format *pdb* menggunakan Chem3D (Versi 15.0). Kemudian senyawa di minimize

menggunakan Chimera (Versi 1.17.3).

de

ukan dengan melakukan *redocking* antara *native ligand* dan : yang telah dihilangkan *native ligand*-nya. Parameter validasi *Root Mean Square Deviation* (RMSD) di bawah 2 Å (Budiarto et



5. Simulasi Penambatan Molekular Ligan-Protein
Proses penambatan ligan hasil analisis GC-MS dengan protein targetnya menggunakan *software* Chimera (Versi 15.0) dan AutoDock Vina. Ukuran *grid box* untuk protein 3BKK yaitu center_x = 45.88; center_y = 44.29; center_z = 45.38; size_x = 8.00; size_y = 11.82; size_z = 14.46. Dan protein 4ZUD yaitu center_x = -41.37, center_y = 63.11, center_z = 28.59, size_x = 11.86, size_y = 9.83 dan size_z = 10.61.
6. Identifikasi Hasil Simulasi Penambatan Molekular Ligan-Protein. Nilai afinitas pengikatan hasil penambatan ligan-protein dicatat dan struktur hasil docking pada masing-masing ligan divisualisasikan menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio untuk menentukan interaksi antara protein dan ligannya (Muslikh et al., 2022).

