

Inhibisi Ekstrak Etanol *Physalis angulata* L., *Pluchea indica* L., dan *Imperata cylindrica* L. secara *in Vitro* terhadap Enzim Pengonversi Angiotensin (ACE) sebagai Antihipertensi

Trivadila^{*1,2}, Regita Andriani Wiana Putri¹, Dyah Iswantini^{1,2}, Min Rahminiwati²,

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor, Indonesia 16680

²Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, IPB University, Kampus IPB Taman Kencana Jl. Taman Kencana No. 3, Bogor, Indonesia, 16128

trivadila@apps.ipb.ac.id

Abstract. Hipertensi adalah suatu kondisi peningkatan tekanan darah yang tidak normal, baik tekanan darah sistolik maupun diastolik. Hal ini mengakibatkan peningkatan angka kesakitan dan kematian. Hipertensi dapat diobati dengan menggunakan obat-obatan, baik sintetik maupun senyawa kimia hasil isolasi dari tanaman obat, dengan salah satu mekanismenya yaitu penghambatan aktivitas enzim pengonversi angiotensin (ACE). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kelompok senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol 30% (EtOH 30%) herba ciplukan (*Physalis angulata* L.), daun beluntas (*Pluchea indica* L.), dan alang-alang (*Imperata cylindrica* L.) serta menganalisis kemampuan penghambatannya terhadap aktivitas ACE. Herba ciplukan, daun beluntas dan alang-alang diekstraks dengan EtOH 30%, kemudian dilakukan uji kualitatif kandungan metabolit sekundernya dengan uji fitokimia. Terakhir, potensi mereka sebagai antihipertensi dipelajari dengan pengukuran aktivitas penghambatan ACE. Data menunjukkan proses ekstraksi menghasilkan hingga 18,5%; 4,8%; dan 9,5% berturut-turut untuk ekstrak EtOH 30% herba ciplukan, daun beluntas, dan alang-alang. Ketiga ekstrak secara kualitatif memberikan hasil positif untuk uji flavonoid dan saponin. Pada konsentrasi 100 mg/mL, ekstrak air dan ekstrak EtOH 30% menghambat lebih dari 50% aktivitas ACE dengan nilai IC₅₀ sebesar 147 µg/mL, 374 µg/mL, dan 785 µg/mL berturut-turut untuk ekstrak EtOH 30% herba ciplukan, dan beluntas dan alang-alang. Meskipun hasil ini masih jauh dari nilai IC₅₀ kontrol positif *Captopril*®, namun ketiga ekstrak masih memiliki potensi sebagai antihipertensi yang dapat ditingkatkan dengan melakukan fraksinasi lebih lanjut dan juga mengombinasikannya dengan ekstrak tanaman obat lainnya.

Keywords: ACE; antihipertensi; *Imperata cylindrica* L.; *Physalis angulata* L.; *Pluchea indica* L.

1. Pendahuluan

Risiko hipertensi semakin meningkat, baik pada masyarakat di negara maju maupun negara berkembang. Hipertensi merupakan masalah utama dalam kesehatan masyarakat di Indonesia dan di dunia. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), diperkirakan sekitar 29% penduduk dunia akan

terkena hipertensi pada tahun 2025 (Kurniawati dan Estiasih 2015). Prevalensi hipertensi di Indonesia yaitu sebesar 62,4% pada usia 75 tahun (BPPK 2013). Angka prevalensi hipertensi akan meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dan usia.

Hipertensi adalah peningkatan tekanan darah yang tidak normal, baik tekanan darah sistolik maupun diastolik. Tekanan darah di atas 140/90 mmHg merupakan indikasi seseorang menderita hipertensi (Herwati dan Sartika 2013). Perubahan gaya hidup sangat dianjurkan bagi penderita hipertensi untuk meminimalkan risiko kematian akibat hipertensi. Selain itu, hipertensi juga dapat diatasi dengan pengonsumsi obat antihipertensi.

Obat antihipertensi dapat berupa obat sintetik atau senyawa kimia hasil isolasi dari tumbuhan obat. Obat-obatan ini bekerja sebagai penghambat saluran kalsium, reseptor adrenergik, diuretik, serta penghambat kinerja enzim pengonversi angiotensin (ACE) (Siddesha *et al.* 2010). Inhibitor ACE akan menghambat aktivitas ACE sehingga proses perubahan Angiotensin I menjadi Angiotensin II tidak terjadi (Zeng *et al.* 2013).

Pemanfaatan keanekaragaman hayati berupa tumbuhan obat di Indonesia merupakan salah satu alternatif yang dinilai lebih ekonomis, karena sumbernya dapat ditemukan secara lokal. Banyak tumbuhan obat di Indonesia yang sudah dimanfaatkan untuk mengobati bermacam-macam penyakit. Salah satu kontribusi penting kekayaan hayati di Indonesia adalah ketersediaan senyawa bioaktif. Pada praktik pengobatan hipertensi, beberapa orang meminum obat seperti *Captopril*® yang dapat berinteraksi langsung dengan sub-sisi aktif ACE melalui ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, atau mengganggu stabilitas ion Zn^{2+} pada protein ACE sehingga menimbulkan efek samping pada penggunaan dalam jangka waktu yang lama. Beberapa tanaman yang telah diteliti khasiatnya sebagai antihipertensi adalah alpukat (*Persea americana*) (Olaniyan 2014), sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Trilestari *et al.* 2015), pegagan (*Centella asiatica*) (Tiarani 2019), dan tempuyung (*Sonchus arvensis*) (Trivadila *et al.* 2021). Selain itu, beberapa masyarakat setempat menggunakan tanaman lain secara tradisional untuk pengobatan hipertensi seperti ciplukan (*Physalis angulata L.*) dan beluntas (*Pluchea indica L.*). Selain kedua tanaman tersebut, terdapat tumbuhan liar yang memiliki potensi secara ekonomis sebagai antihipertensi, yaitu alang-alang (*Imperata cylindrica L.*). Alang-alang merupakan tumbuhan liar yang sangat mudah tumbuh dan jarang dimanfaatkan sehingga ketersediaan berlimpah.

Tumbuhan obat yang diduga berpotensi sebagai obat antihipertensi ini memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda. *P. angulata L.* mengandung saponin, flavonoid (lutenolin), polifenol, alkaloid, dan steroid (Aldi *et al.* 2014). *P. indica L.* memiliki kandungan senyawa antara lain terpena, fenilpropanoid, bensoid, katekin, fenol hidrokuinon, saponin, tanin, dan alkaloid (Fitriansyah dan Indradi 2018). Ekstrak etanol *I. cylindrica L.* dilaporkan mengandung tanin, saponin, flavonoid, terpenoid, alkaloid, fenol, dan kardiaglikosida (Ayeni dan Yahaya 2010). Namun demikian, belum terdapat data atau penelitian yang melaporkan inhibisi tanaman-tanaman tersebut terhadap aktivitas enzim ACE sebagai obat antihipertensi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak herba *P. angulata L.*, daun *P. indica L.* dan *I. cylindrica L.* serta menganalisis kemampuan penghambatannya terhadap aktivitas ACE untuk melihat potensinya sebagai agen antihipertensi.

2. Metode

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah simplisia herba *P. angulata L.*, daun *P. indica L.*, dan *I. cylindrica L.* dari Bogor, air destilata (akuades), etanol (EtOH) (Merck®), reagen untuk uji fitokimia, natrium klorida (NaCl) (Merck®), kalium dihydrogen fosfat (KH_2PO_4) (Merck®), kalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4) (Merck®), etil asetat (EtOAc) (Brataco), ACE (Sigma Aldrich®), hipuril-histidil-leusina (HHL) (Sigma Aldrich®), dan *Captopril*® (PT Indofarma).

2.2. *Persiapan Contoh*

Herba dan daun dicuci bersih dan dikeringkan pada suhu ruang. Contoh herba dan daun kering digiling untuk mendapatkan serbuk halus dengan ukuran lolos ayakan 100 mesh. Serbuk halus dari herba dan daun ini selanjutnya disebut dengan simplisia.

2.3. *Penentuan Kadar Air*

Botol/wadah kosong dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 30 menit. Setelah itu, botol dikeluarkan dan didinginkan pada desikator selama 30 menit, selanjutnya ditimbang sebagai data bobot wadah kosong. Sebanyak 3 g simplisial dimasukkan ke dalam botol, dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 5 jam. Berikutnya, botol yang mengandung contoh simplisia didinginkan selama 30 menit dan ditimbang bobotnya. Proses pengeringan dilakukan berulang hingga mendapatkan bobot kering yang relative tetap. Kadar air dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

A = bobot contoh sebelum pengeringan (g)

B = bobot contoh setelah pengeringan (g)

2.4. *Ekstraksi*

Simplisia diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut EtOH 30%. Rasio contoh:pelarut adalah 1:9. Campuran didiamkan selama 24 jam sambil sesekali dikocok. Filtrat dipisahkan dengan penyaringan dan proses maserasi diulangi hingga 3 kali dengan rasio contoh-pelarut yang sama. Filtrat dari ketiga proses maserasi dikumpulkan untuk dipekatkan menggunakan penguap putar pada suhu 40 °C hingga mendapatkan ekstrak dalam bentuk pasta pekat. Rendemen ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen: } \frac{A}{B \left(1 - \frac{C}{100}\right)} \times 100 \%$$

A: bobot ekstrak kering (g)

B: bobot simplisia (g)

C: kadar air (%)

2.5. *Uji Fitokimia*

Alkaloid

Sebanyak 2 g sampel (simplisia atau ekstrak) ditambahkan beberapa tetes amonia dan 5 mL kloroform. Campuran disaring ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 1 mL H₂SO₄ 2 N ke dalam filtrat. Filtrat dikocok secara teratur kemudian didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke pelat uji. Campuran ini dianalisis dengan pereaksi Dragendorff, Mayer dan Wanger. Hasil positif ditunjukkan jika terbentuk endapan jingga dengan pereaksi Dragendorff, endapan putih dengan pereaksi Mayer, dan endapan coklat dengan pereaksi Wanger.

Flavonoid

Sebanyak 2 g sampel (simplisia atau ekstrak) diekstraks dengan 5 mL akuades kemudian dipanaskan selama 5 menit dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran disaring, dan filtratnya ditambahkan beberapa tetes HCl pekat, serbuk Mg, dan amil alkohol. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna jingga pada lapisan amil alkohol.

Tanin

Sebanyak 2 g sampel (simplisia atau ekstrak) dihaluskan, ditambahkan akuades dan dipanaskan kemudian disaring. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1% ke dalam filtrat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

Saponin

Sebanyak 2 g sampel (simplisia atau ekstrak) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah akuades hingga semua sampel terendam, kemudian direbus selama 2-3 menit, dan disaring. Filtrat dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil.

Triterpenoid and Steroid

Sebanyak 2 g sampel (simplisia atau ekstrak) dihaluskan, ditambahkan etanol panas kemudian disaring. Filtrat dipanaskan hingga kering kemudian ditambahkan 1 mL dietil eter, didiamkan selama kurang lebih 15 menit kemudian ditambahkan 1 tetes H₂SO₄ pekat dan 1 tetes CH₃COOH anhidrat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, jingga atau ungu, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna hijau atau biru.

2.6. Penentuan Inhibisi Aktivitas ACE

Inhibisi sampel terhadap aktivitas ACE ditentukan berdasarkan metode Chusman dan Cheung (1971) dengan kondisi yang dioptimalkan sebelumnya. Sistem ini terdiri dari 100 µL bufer fosfat 0,1 M pH 6, kemudian 50 µL HHL 15 mM, 50 µL ACE 10 mU/mL dan 50 µL sampel (konsentrasi sampel divariasikan dalam tabung reaksi yang berbeda). Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 40 °C, reaksi dihentikan dengan menambahkan 250 µL HCl 1 N. Produk yang dihasilkan diekstraks dengan menambahkan 1500 µL etil asetat kemudian dihomogenkan selama 1 menit dan dipisahkan dengan sentrifugasi selama 15 menit. Lapisan etil asetat dipisahkan ke dalam vial dan diuapkan pada suhu 70 °C, kemudian ditambahkan 4 mL akuades dan diukur absorbansnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 228 nm. Hasil pengukuran yang diperoleh adalah nilai absorbans asam hipurat yang kemudian diubah menjadi konsentrasi dan dihitung aktivitas penghambatannya berdasarkan kurva standar asam hipurat yang telah dibuat. Kontrol positif dilakukan dengan mengganti sampel ekstrak dengan *Captopril*®.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kadar Air Simplisia Herba *P. angulata* L., Daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L.

Contoh yang digunakan adalah herba *P. angulata* L., daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L. yang dikeringkan dan dihaluskan hingga mendapatkan simplisia dalam bentuk serbuk. Kadar air ditentukan dengan metode gravimetri yang diperoleh dengan menghitung bobot contoh sebelum dan setelah pengeringan pada suhu di atas titik didih air, sehingga seluruh air yang dikandung contoh diharapkan sudah menguap pada suhu tersebut. (Kiswando 2011). Kandungan air pada contoh akan memengaruhi ketahanannya terhadap serangan mikroba sehingga data ini dapat digunakan untuk menentukan penanganan terbaik terkait tempat dan waktu penyimpanan contoh. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air dalam caontoh sehingga contoh tidak mudah rusak, lebih tahan lama, dan tahan terhadap serangan mikroba.

Nilai kadar air digunakan juga sebagai faktor koreksi pada perhitungan rendemen ekstraksi. Penentuan kadar air dilakukan tiga kali ulangan. Kadar air ketiga simplisia ditunjukkan pada Tabel 1. Data kadar air ketiga contoh simplisia di bawah 10%, menunjukkan proses pengeringan dianggap baik. Berdasarkan Departemen Kesehatan Indonesia (1985), nilai kadar air harus di bawah 10% agar umur penyimpanan contoh lebih lama dan dapat menghindari kontaminasi mikroba.

Tabel 1 Kadar air simplisia herba *P. angulata* L., daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L.

| Simplisia | Kadar Air (%) |
|-----------------------------|----------------------|
| Herba <i>P. angulata</i> L. | 7,85± 0,05 |
| Daun <i>P. indica</i> L. | 7,30± 0,08 |
| <i>I. cylindrica</i> L. | 0,77± 0,02 |

3.2. Rendemen Ekstraksi Herba *P. angulata* L., Daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L.

Ekstraksi merupakan proses awal untuk mengisolasi senyawa bioaktif, baik pada biji, daun, akar, maupun batang. Ekstraksi digunakan untuk mendapatkan kandungan zat aktif dari bahan alam yang larut dalam pelarut. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 3x24 jam. Maserasi merupakan metode yang cukup baik untuk mengekstrak senyawa yang berasal dari bahan alam. Selama perendaman terjadi plasmolisis memecah dinding sel akibat adanya perbedaan tekanan di luar dan dalam sel, sehingga material di dalam sitoplasma dapat terekstrak dengan sempurna (Ningsih et al. 2016). Pengadukan secara berkala juga perlu dilakukan agar tidak terjadi agregasi sampel yang mengakibatkan proses ekstraksi tidak efektif.

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa yang dikandung bahan alam ke dalam pelarut tersebut. Pelarut yang digunakan adalah EtOH 30% yang merupakan pelarut yang diperbolehkan untuk digunakan dalam ekstraksi tanaman obat untuk tujuan farmakologi oleh Badan Penagwas Obat dan Makanan RI (BPOM 2010). EtOH 30% digunakan sebagai pelarut ekstraksi cair karena efektif, tidak mudah ditumbuhi jamur dan kuman, dapat bercampur dengan air dalam semua perbandingan, dan membutuhkan sedikit panas dalam proses pemekatan. Etanol dapat melarutkan alkaloid alkali, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, dan klorofil. Pelarut ini sangat efektif dalam menghasilkan jumlah senyawa aktif yang optimal (Sa'adah dan Nurhasnawati 2015).

Seperti ditunjukkan pada Tabel 2, rendemen ekstrak tertinggi didapat pada ekstrak herba *P. angulata* L. sebesar 18,5%. Rendemen ekstrak daun *P. indica* L. dan *I. cylindrica* di bawah 10%. Jenis pelarut yang digunakan dapat mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan. Perbedaan rendemen yang dihasilkan dari masing-masing pelarut dapat disebabkan oleh perbedaan kandungan senyawa dari masing-masing simplisia tumbuhan tersebut yang dapat diekstraksi menggunakan EtOH 30%.

Tabel 2 Rendemen ekstrak EtOH 30% herba *P. angulata* L., daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L.

| Ekstrak | Rendemen (%) |
|-----------------------------|---------------------|
| Herba <i>P. angulata</i> L. | 18,46 |
| Daun <i>P. indica</i> L. | 4,76 |
| <i>I. cylindrica</i> L. | 9,53 |

3.3. Kandungan Metabolit Sekunder Simplisia dan Ekstrak EtOH 30% Herba *P. angulata* L., Daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L.

Uji fitokimia kualitatif dilakukan sebagai uji awal untuk mengetahui adanya senyawa kimia tertentu. Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia dan ekstrak. Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang berukuran lebih kecil dan diproduksi dalam sel tumbuhan dalam jumlah yang sangat terbatas. Terdapat berbagai jenis metabolit sekunder pada tumbuhan dan fungsinya antara lain melindungi tumbuhan dari serangga, bakteri, jamur, dan patogen. Pengujian yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid.

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang ditunjukkan pada Tabel 3-5, untuk pengujian alkaloid digunakan tiga jenis reagen/pereaksi yang digunakan pereaksi Mayer, Dragendroff, dan Wanger dengan hasil positif yaitu endapan putih untuk pereaksi Mayer, endapan jingga untuk pereaksi Dragendroff dan coklat

dalam reagen Wanger. Alkaloid menunjukkan hasil negatif untuk semua sampel, baik dalam bentuk simplisia maupun ekstrak EtOH 30% untuk ketiga contoh tanaman. Uji flavonoid memberikan hasil positif pada semua sampel, perbedaan intensitas warna pada pengujian ini karena gugus flavonoid mudah terekstraksi dalam EtOH 30%. Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa polifenol. Uji tanin dengan penambahan FeCl₃ adalah untuk mengetahui apakah sampel mengandung gugus fenol. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua. Hal ini dimungkinkan karena tanin merupakan kelompok senyawa polifenol (Ergina *et al.* 2015). Hasil positif dapat dilihat dari perubahan warna menjadi coklat kehitaman, namun hanya simplisia dan ekstrak EtOH 30% dari daun *P. indica* L. yang menunjukkan hasil positif. Pengujian saponin pada sampel dilakukan dengan menambahkan akuades yang telah dipanaskan, kemudian disaring. Filtrat dikocok hingga terbentuk lapisan busa yang stabil yang menunjukkan adanya saponin. Semua sampel memberikan hasil positif. Pengujian triterpenoid dan steroid memberikan hasil positif jika terjadi perubahan warna menjadi hijau untuk steroid dan merah atau ungu untuk triterpenoid. Pengujian triterpenoid dilakukan dan tidak ada sampel yang diperoleh hasil positif, sedangkan tes steroid menunjukkan hasil positif hanya pada simplisia herba *P. angulata* L. dan daun *P. indica* L. Steroid adalah golongan senyawa yang larut dalam pelarut non polar. Steroid dapat diekstraks lebih baik menggunakan pelarut polar yang lebih sedikit, seperti petroleum eter dan benzena daripada pelarut yang lebih polar, seperti etanol, metanol, dan air (Snehlata *et al.* 2018).

Tabel 3 Kandungan fitokimia simplisia dan ekstrak EtOH 30% herba *P. angulata* L.

| Komponen Fitokimia | Simplisia | Ekstrak EtOH 30% |
|--------------------|-----------|------------------|
| Alkaloid | | |
| Mayer | - | - |
| Dragendorff | - | - |
| Wagner | - | - |
| Flavonoid | + | +++ |
| Tanin | - | - |
| Saponin | + | +++ |
| Triterpenoid | - | - |
| Steroid | + | - |

Tabel 4 Kandungan fitokimia simplisia dan ekstrak EtOH 30% daun *P. indica* L

| Komponen Fitokimia | Simplisia | Ekstrak EtOH 30% |
|--------------------|-----------|------------------|
| Alkaloid | | |
| Mayer | - | - |
| Dragendorff | - | - |
| Wagner | - | - |
| Flavonoid | + | +++ |
| Tanin | + | +++ |
| Saponin | + | +++ |
| Triterpenoid | - | - |
| Steroid | + | - |

Tabel 5 Kandungan fitokimia simplisia dan ekstrak EtOH 30% *I. cylindrica* L.

| Komponen Fitokimia | Simplisia | Ekstrak EtOH 30% |
|--------------------|-----------|------------------|
| Alkaloid | | |
| Mayer | - | - |
| Dragendorff | - | - |
| Wagner | - | - |
| Flavonoid | + | ++ |
| Tanin | - | - |
| Saponin | + | +++ |
| Triterpenoid | - | - |
| Steroid | - | - |

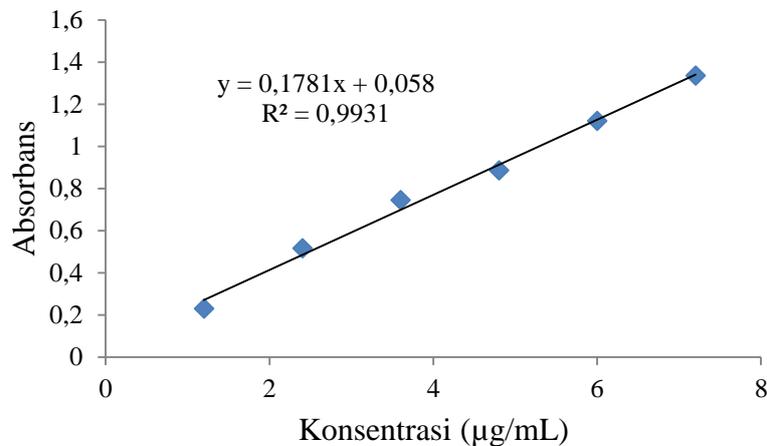
Keterangan: tanda (+) menunjukkan terdeteksi komponen fitokimia
jumlah (+) menunjukkan intensitas warna
(-) menunjukkan tidak terdeteksi komponen fitokimia

3.4. Inhibisi Ekstrak EtOH 30% Herba *P. angulata* L., Daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L. terhadap Aktivitas Enzim ACE

Uji penghambatan ekstrak EtOH 30% daun *G. atroviridis* terhadap aktivitas ACE secara *in vitro* mengikuti metode Chusman dan Cheung (1971) dengan kondisi optimasi. Inhibitor bekerja dengan cara menghambat kinerja ACE dalam pembentukan asam hipurat. Penghambatan aktivitas ACE diukur dengan konsentrasi asam hipurat yang terbentuk sebagai hasil reaksi enzimatik. Semakin besar daya hambat sampel terhadap aktivitas ACE, semakin rendah absorbansi dan konsentrasi asam hipurat yang terukur. Pengukuran daya hambat menggunakan kondisi optimum yang telah dilakukan sebelumnya yaitu dengan konsentrasi substrat 15 mM HHL, pH 6, dan suhu 40 °C.

Aktivitas penghambatan yang ditunjukkan dibandingkan dengan obat sintetik yaitu *Captopril*[®]. *Captopril*[®] dikenal sebagai penghambat ACE yang sangat kuat, sehingga banyak digunakan sebagai obat untuk mengobati hipertensi. *Captopril*[®] memiliki afinitas tinggi terhadap ACE dan bersaing dengan Angiotensin I, sebagai substrat alami, untuk mencegah pembentukan Angiotensin II. Adanya kontrol positif yang mengandung substrat, enzim, dan *Captopril*[®] bertujuan untuk membandingkan potensi semua ekstrak yang diuji dengan *Captopril*[®] dalam menghambat kinerja ACE sehingga dapat diketahui seberapa besar potensi dan efektivitas ekstrak tersebut dalam menghambat ACE. Dengan demikian, setelah mengetahui daya hambat masing-masing ekstrak diharapkan dapat memberikan informasi apakah ekstrak yang diuji dapat menjadi alternatif bentuk pengobatan sebagai antihipertensi.

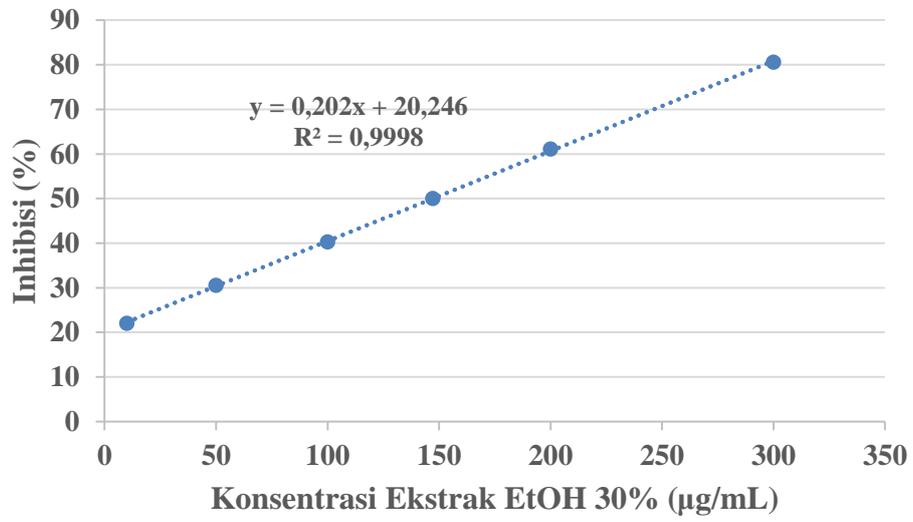
Konsentrasi asam hipurat ditentukan dengan kurva standar asam hipurat (Gambar 1). Konsentrasi yang digunakan untuk menguji daya hambat aktivitas enzim ACE secara *in vitro* adalah 1-10 µg/mL. Penyesuaian konsentrasi ini bertujuan untuk mengetahui penghambatan aktivitas enzim pada kondisi yang diharapkan aman bagi tubuh dan tidak menimbulkan efek toksik.



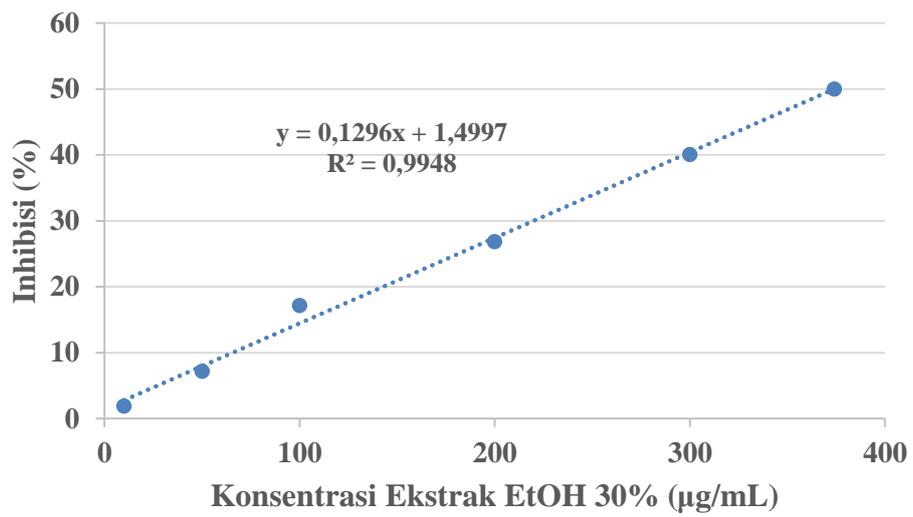
Gambar 1 Kurva standar asam hipurat

Mengacu pada Gambar 2, persentase daya hambat semua sampel terhadap aktivitas ACE menunjukkan respon linear (dosis-respons) dengan meningkatnya konsentrasi dengan nilai R^2 yang berbeda. Ekstrak EtOH 30% yang memiliki daya hambat tertinggi ditunjukkan pada ekstrak EtOH 30% *P. angulata* L. memiliki daya hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 300 µg/mL, yaitu 80,56% dengan nilai R^2 sebesar 0,9998. Ekstrak EtOH 30% daun *P. indica* L. dan *I. cylindrica* memiliki daya hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 300 µg/mL berturut-turut yaitu 40,05% dan 31,32% dengan nilai R^2 sebesar 0,9948 dan 0,9963. *Captopril*[®] memiliki daya hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 10 µg/mL yaitu 86,11% dengan nilai R^2 sebesar 0,9697. Penelitian lain juga melaporkan bahwa daya hambat kaptopril tertinggi diperoleh pada konsentrasi 25 µg/mL yaitu 94,08%. Dikatakan bahwa aktivitas ACE setelah konsentrasi 25 µg/mL terus meningkat, yang ditunjukkan dengan penurunan daya hambat yang terus menerus. Dapat dikatakan bahwa aktivitas ACE dapat dihambat secara maksimal oleh kaptopril pada konsentrasi 25 g/mL (Tiarani 2019).

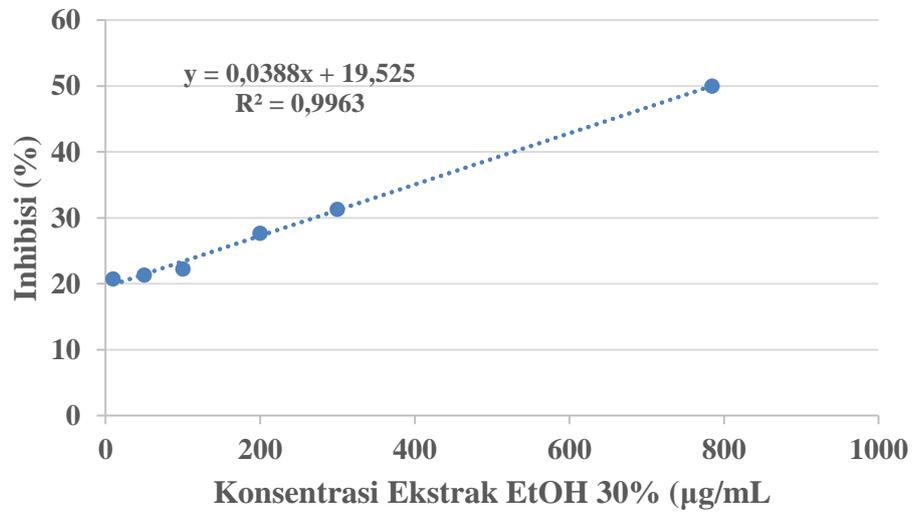
Nilai IC_{50} adalah konsentrasi senyawa uji yang memberikan penghambatan enzim sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar efektivitas penghambatan ekstrak terhadap aktivitas ACE. Nilai IC_{50} dapat dilihat pada Gambar 3 yang menunjukkan bahwa nilai terendah diperoleh oleh *Captopril*[®] sebagai kontrol positif. Ekstrak EtOH 30% memiliki efektivitas penghambatan terbaik dihasilkan oleh herba *P. angulata* L., meskipun masih jauh dibandingkan dengan *Captopril*[®]. Kandungan metabolit yang terdapat pada ekstrak ini yaitu flavonoid dan saponin. Senyawa flavonoid diduga memiliki peran penting dalam menghambat aktivitas ACE (Nansy *et al.* 2015). Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa polifenol. Kemampuan flavonoid sebagai ACE inhibitor dalam mengatur tekanan darah telah dipelajari selama beberapa dekade dan hampir semuanya efektif dalam menekan aksi ACE. Jenis flavonoid yang dapat menjadi ACE inhibitor adalah flavonol, isoflavon, flavon, dan antosianin (Widiasari 2018). Alkaloid umumnya ditemukan dalam pelarut polar. Alkaloid memiliki efek di bidang kesehatan berupa antihipertensi dan antidiabetes melitus (Ergina *et al.* 2015). Selain itu, beberapa senyawa terpenoid dan polifenol termasuk flavonoid, tanin terhidrolisis, xanton, procyanidins, turunan asam kafeoilkuinat ditemukan efektif sebagai inhibitor ACE alami (Balasuriya dan Rupasinghe 2011).



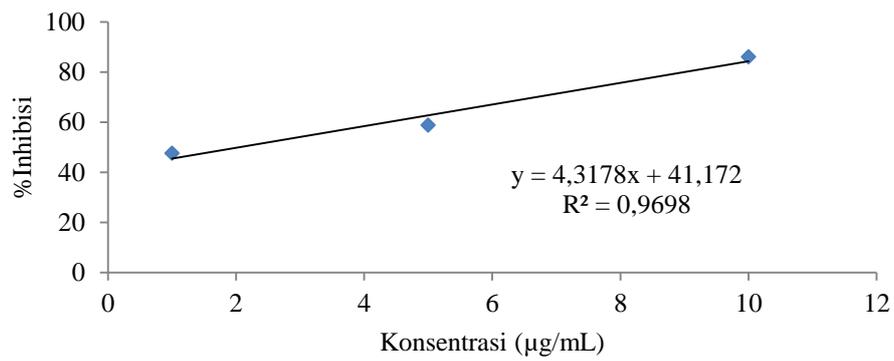
(A)



(B)

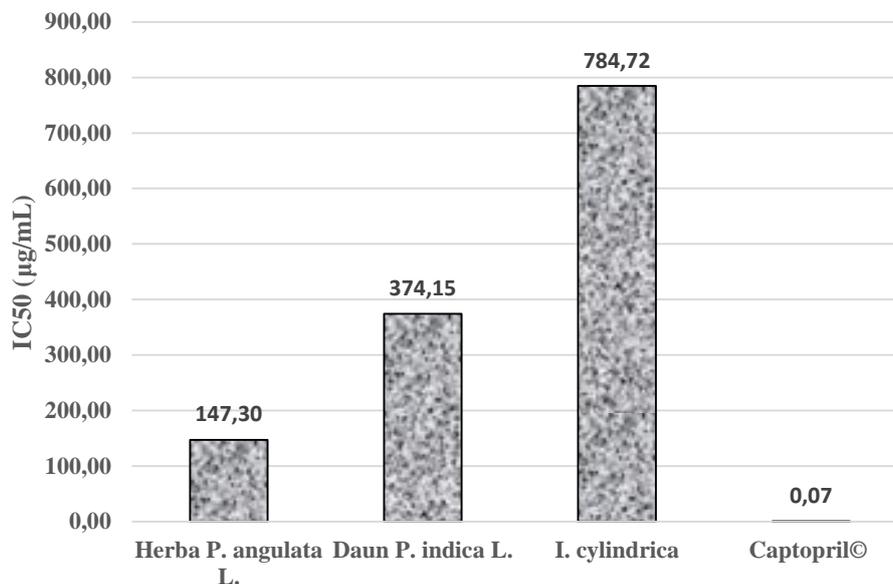


(C)



(D)

Gambar 2 Inhibisi Ekstrak EtOH 30% herba *P. angulata* L. (A), Daun *P. indica* L. (B), dan *I. cylindrica* L. (C), *Captopril*[®] (D)



Gambar 3 Nilai IC₅₀ aktivitas ACE ekstrak EtOH 30% herba *P. angulata* L., daun *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L., Captopril®.

4. Kesimpulan

Ekstrak EtOH 30% herba *P. angulata* L., dan *P. indica* L., dan *I. cylindrica* L. mengandung flavonoid dan saponin. Nilai IC₅₀ terbaik dihasilkan oleh ekstrak EtOH 30% herba *P. angulata* L. sebesar 147,30 µg/mL. Meskipun hasil ini masih lebih tinggi dari nilai IC₅₀ kontrol positif Captopril®, namun ketiga ekstrak masih memiliki potensi sebagai antihipertensi yang dapat ditingkatkan dengan melakukan fraksinasi lebih lanjut dan juga mengombinasikannya dengan ekstrak tanaman obat lainnya.

Daftar Pustaka

- Aldi Y, Aria M, Erman L. 2014. Uji efek imunostimulasi ekstrak etanol herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag pada mencit putih betina. *Scientia*. 4(1): 38-42.
- Ayeni KE, Yahaya SA. 2010. Phytochemical screening of three medicinal plants neem leaf (*Azadirachta indica*), hibiscus leaf (*Hibiscus rosasinensis*) and spear grass leaf (*Imperata cylindrica*). *Continental Journal Pharmaceutical Science*. 4: 47-50. doi: 10.3329/jujbs.v5i1.29748.
- Balasuriya BWN, Rupasinghe HPV. 2011. Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension. *Functional Foods in Health and Disease*. 1(5):172-188. doi: 10.1234/ffhd.v1i5.132.
- [BPPK] Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar Provinsi Jawa Timur*: Badan peneliti dan pengembangan.
- Cushman DW, Cheung HW. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin converting enzyme of the rabbit lung. *Biochem Pharmacol*. 20:1637-1648.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. Cara Pembuatan Simplisia, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta. 10-11.
- Ergina, Nuryanti S, Pursitasari ID. 2014. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akad. Kimia*. 3(3): 165-172. ISSN 2302-6030.
- Herwati, Sartika W. 2013. Terkontrolnya tekanan darah penderita hipertensi berdasarkan pola diet dan kebiasaan olahraga di padang tahun 2011. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 8 (1): 8-14. doi: 10.24893/jkma.v8i1.118.

- Kiswandono AA. 2011. Skrining senyawa kimia dan pengaruh metode maserasi dan refluks pada biji kelor (*Moringa oleifera*, lamk) terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. 1(2): 126- 134. doi: 10.31938/jsn.v1i2.21.
- Kurniawati IR, Estiasih T. 2015. Efek antihipertensi senyawa bioaktif dioscorin pada umbi-umbian keluarga Dioscorea: Kajian pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2): 402-406.
- Muljati RS, Pribadi ER. 2013. Pemanfaatan tanaman untuk pengobatan hipertensi di wilayah suka “sagedepaha” gunung salak, gede, pangrango, dan halimun). *Warta Penelitian dan Pengembangan Industri*. 19(1): 4-7.
- Nansy E, Harwoko, Pramono S, Nugroho AE. 2015. Total flavonoid content and in vivo hypotensive effect of chloroform insoluble fraction of *Centella asiatica* leaf extract. *International Food Research Journal*. 22(5): 2119-2125.
- Ningsih DR, Zufahair, Kartika D. 2016. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri. *Molekul*. 11(1): 101 - 111.
- Olaniyan MF. 2014. Effect of liquid extract of pear avocado leaf (*Persea americana*) on plasma levels of aminotransferases, cholesterol and total bile acids in hypertensive patients. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*. 4(3): 87-91. doi: 10.5923/j.ajmms.20140403.01.
- Sa’adah H, Nurhasnawati H. 2015. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana merr*) menggunakan metode maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2): 149-153.
- Siddesha J, D'souza CJM, Vishwanath BS. 2010. Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) by medicinal plants exhibiting antihypertensive activity. *Recent Progress in Medical Plants*. 29 : 269- 308.
- Snehlata K, Sheel R, Kumar B. 2018. Evaluation of phytochemicals in polar and non polar solvent extracts of leaves of *Aegle marmelos L*. *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*. 4(5): 31–38. doi: 10.9790/264X-0405013138
- Tiarani SI. 2019. Daya inhibisi ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) terhadap aktivitas angiotensin converting enzyme (ACE) sebagai antihipertensi secara *in vitro*. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Trilestari, Nurrochmad A, Ismiyati, Wijayanti A, Nugroho AE. 2015. Antihypertensive activity of ethanolic extract of *Andrographis paniculata* herbs in wistar rats with a non-invasive method. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 7(5): 247-255. ISSN: 0975-5160.
- Trivadila, Iramani LH, Hanif N, Tiarani SI, Rahminiwati M, Iswantini D. 2021. *In vitro* inhibition against Angiotensin Converting Enzyme by *Sonchus arvensis* water extract and fractions as antihypertension. *Advances in Social Science, Education and Humanities Research*. 576:470-475. <https://doi.org/10.2991/assehr.k.210909.100>.
- Widiasari S. 2018. Mekanisme inhibisi angiotensin converting enzyme oleh flavonoid pada hipertensi. *Collaborative Medical Journal (CMJ)*. 1(2): 30-44.
- Zeng Y, Wang N, Qia W. 2013. Production of angiotensin i converting enzyme Inhibitory peptides from peanut meal fermented with lactic acid bacteria and facilitated with protease. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 5(9): 1198-1203. ISSN: 2042-486.