

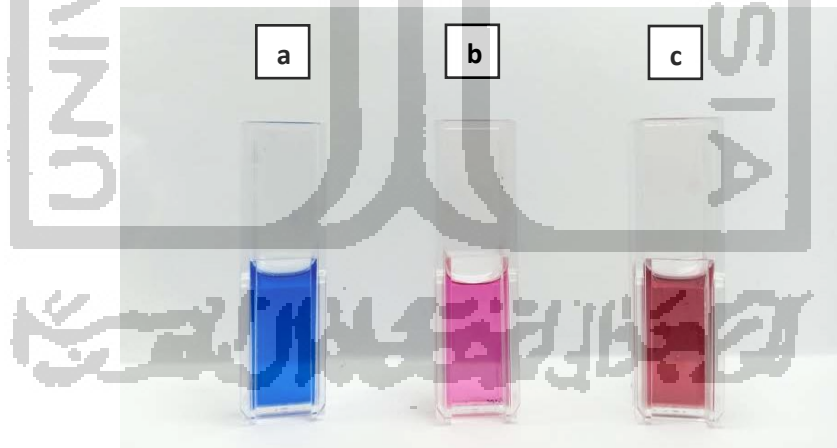
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1. Identifikasi Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L)

Kembang Telang yang diperoleh dari daerah Prambanan, Yogyakarta diidentifikasi dengan tujuan untuk menjamin kebenaran dari jenis atau spesiesnya. Identifikasi dilakukan dengan determinasi yang dilakukan di Laboratorium Anatomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan sesuai yaitu Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L.) (**Lampiran 1**). Maka dapat disimpulkan bahwa bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L.).

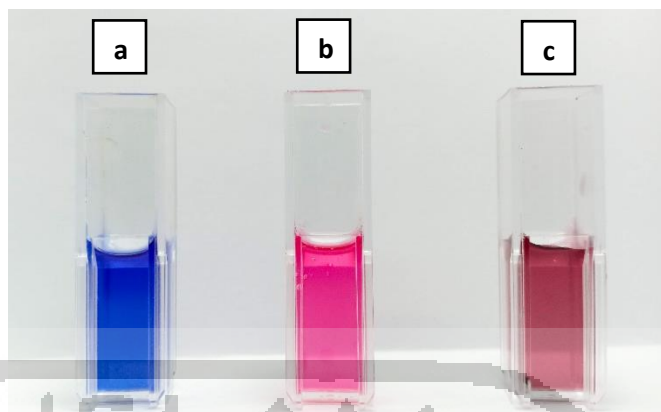
1.2. Analisis Kualitatif Senyawa Flavonoid Ekstrak Kelopak Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L)

Hasil yang didapatkan dari analisis kualitatif pada ekstrak kelopak Kembang Telang yang direaksikan dengan logam Mg dan HCl menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah jambu serta pada ekstrak kelopak Kembang Telang yang ditetesi dengan pereaksi FeCl_3 menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah magenta (**Gambar 4.1. dan Gambar 4.2.**)



Gambar 4.1. Hasil uji kualitatif senyawa flavonoid ekstrak etanol Kembang Telang

Keterangan : a) Ekstrak etanol Kembang Telang 2,85% sebelum penambahan reagen; b) Hasil uji penambahan logam Mg + HCl; c) Hasil uji penambahan FeCl_3



Gambar 4.2. Hasil uji kualitatif senyawa flavonoid ekstrak air Kembang Telang

Keterangan : a) Ekstrak air Kembang Telang 5,8% sebelum penambahan reagen; b) Hasil uji penambahan logam Mg + HCl; c) Hasil uji penambahan FeCl_3

Penambahan logam Mg dan HCl pada pengujian ini adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid. Reaksi reduksi oksidasi Mg dan HCl yang menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks yang berwarna merah hingga jingga menunjukkan bahwa ekstrak mengandung flavonoid (Hasan dan Ainun Nikmati Laily, 2014). Ekstrak etanol maupun ekstrak air Kembang Telang yang direaksikan dengan logam Mg dan kemudian ditetesi dengan HCl pekat berubah warna menjadi merah jambu. Hal tersebut menunjukkan bahwa kedua ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid.

Uji fitokimia dengan penambahan larutan FeCl_3 pada ekstrak dapat menunjukkan adanya gugus fenol. FeCl_3 yang bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis akan membentuk warna merah, ungu, biru atau hitam yang pekat (Habibi et al., 2018). Ekstrak etanol dan ekstrak air Kembang Telang yang ditetesi dengan larutan FeCl_3 berubah warna menjadi merah magenta. Hal tersebut menunjukkan bahwa kedua ekstrak positif mengandung gugus fenol.

1.3. Analisis Kuantitatif Antosianin Ekstrak Kelopak Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L)

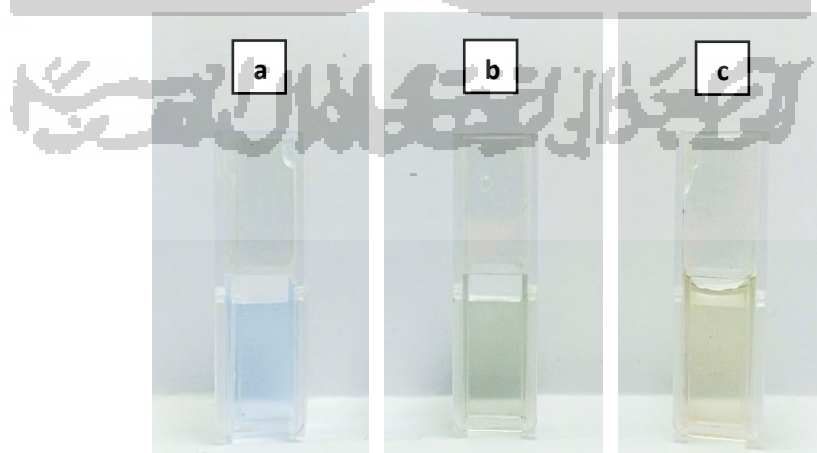
Analisis kuantitatif ekstrak air kelopak Kembang Telang dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, UII. Pengujian kuantitatif dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Uji total antosianin menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol kelopak Kembang Telang mengandung kadar antosianin ekuivalen sianidin sebesar $5139,78 \pm 12,67$ mg/kg (**Lampiran 2**). Uji total

antosianin menunjukkan hasil bahwa pada ekstrak air kelopak Kembang Telang mengandung kadar antosianin ekuivalen sianidin sebesar $5120,93 \pm 17,66$ mg/kg (Lampiran 3).

1.4. Pengamatan Visual Nanopartikel Perak Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L)

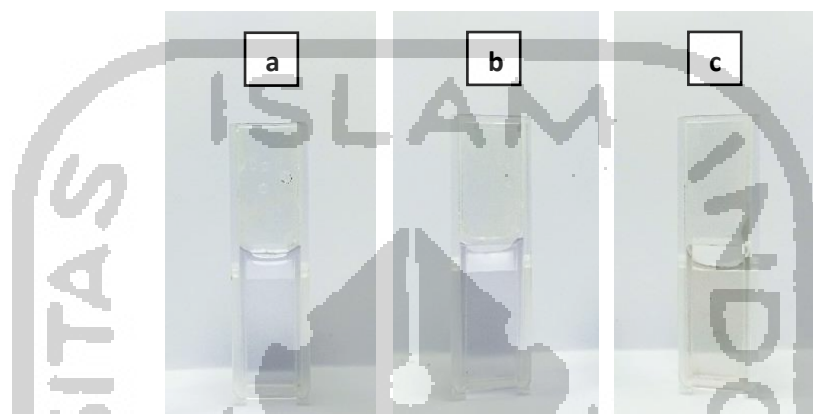
Pengamatan visual nanopartikel silver ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak Kembang Telang dilakukan dengan mengamati perubahan warna pada jam ke-0, jam ke-24 serta jam ke-48. Pengamatan visual nanopartikel bertujuan untuk mengetahui pembentukan nanopartikel perak secara kualitatif dengan melihat adanya perubahan warna. Nanopartikel perak yang terbentuk akan ditandai dengan perubahan warna sampel. Warna larutan sampel akan berubah dari warna bening menjadi warna kuning yang menunjukkan dari pembentukan nanopartikel perak (Tapa et al., 2016). Pada pembuatan nanopartikel perak ekstrak air kelopak Kembang Telang memerlukan waktu ± 48 jam hingga terjadi perubahan warna, sedangkan pada pembuatan nanopartikel perak ekstrak etanol kelopak Kembang Telang memerlukan waktu ± 24 jam hingga terjadi perubahan warna.

Pada jam ke-0 setelah dilakukan pencampuran ekstrak air 5,8 % kelopak Kembang Telang dengan AgNO_3 masih berwarna biru. Pada jam ke-24 ekstrak air kelopak Kembang Telang mulai berubah warna menjadi biru kehijauan. Terlihat pada jam ke-48 mulai berubah warna menjadi hijau kekuningan **Gambar 4.3.** menandakan nanopartikel perak sudah terbentuk.



Gambar 4.3. Hasil pengamatan visual nanopartikel perak ekstrak air
Keterangan : (a) jam ke-0; (b) jam ke-24; (c) jam ke-48

Pada jam ke-0 setelah dilakukan pencampuran ekstrak etanol 2,85 % kelopak Kembang Telang dengan AgNO_3 masih berwarna biru. Pada jam ke-12 ekstrak air kelopak Kembang Telang masih berwarna biru yang mulai memudar. Terlihat pada jam ke-24 mulai berubah warna menjadi kuning **Gambar 4.4.** menandakan nanopartikel perak sudah terbentuk.



Gambar 4.4. Hasil pengamatan visual nanopartikel perak ekstrak etanol
Keterangan : (a) jam ke-0; (b) jam ke-12; (c) jam ke-24

Perubahan warna menjadi kuning menunjukkan adanya proses reduksi ion Ag^+ menjadi Ag^0 yang menandakan terbentuknya nanopartikel perak (Tapa et al., 2016). Berdasarkan hasil pengamatan secara visual, perubahan warna pada ekstrak etanol kelopak Kembang Telang membutuhkan waktu lebih cepat yaitu 24 jam dibandingkan dengan ekstrak air kelopak Kembang Telang yang membutuhkan waktu 48 jam. Perbedaan tersebut bisa dikarenakan perbedaan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi, perbedaan konsentrasi ekstrak, serta jumlah volume ekstrak yang digunakan.

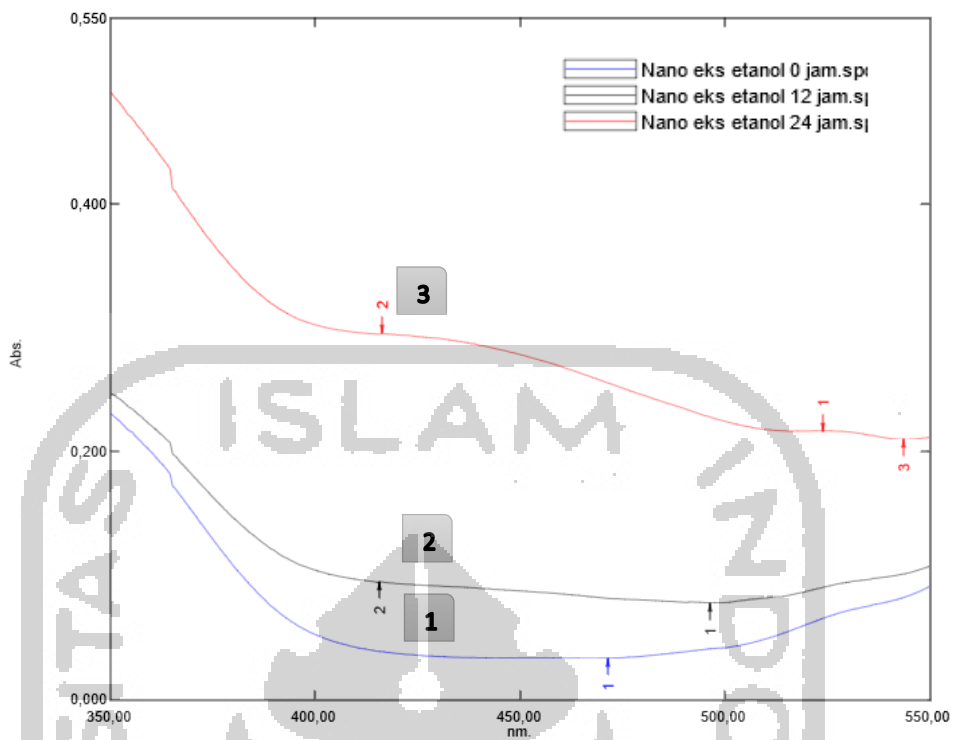
1.5. Pembentukan Nanopartikel Perak Dianalisis dengan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-vis merupakan teknik yang biasa digunakan untuk mengetahui karakteristik dari nanopartikel yang terbentuk berdasarkan spektrum puncak absorbansinya (Tapa et al., 2016). Spektrofotometer UV-vis juga dapat digunakan untuk menganalisis fenomena resonansi permukaan plasma / *Surface Plasmon Resonance* (SPR) (Shekhawat et al., 2013). Nanopartikel logam (terutama tembaga, perak, dan emas) disebut partikel plasmonik yang mengandung ion positif

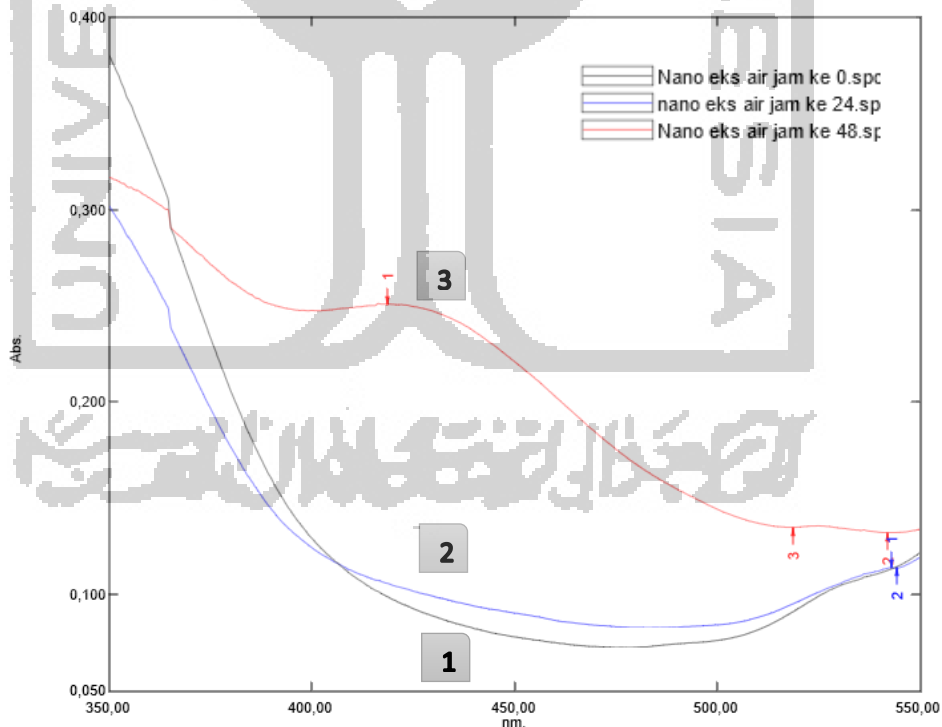
dan elektron bebas, yang digerakan oleh listrik dibawah iradiasi gelombang elektromagnetik ini yang disebut dengan plasmon. Kemudian, plasmon dapat berinteraksi dalam kondisi tertentu dengan cahaya tampak dalam fenomena yang disebut resonansi permukaan plasmon (Amal dan Azzah, 2015). Resonansi permukaan plasmon memiliki peran dalam penentuan spektra serapan optik nanopartikel logam, yang bergeser ke panjang gelombang yang lebih panjang seiring dengan peningkatan ukuran partikel. (Shekhawat et al., 2013). Hal inilah yang menyebabkan nanopartikel perak dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Resonansi yang dapat dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada nanopartikel perak yang terbentuk yaitu pada rentang panjang gelombang 400-450 nm (Mittal et al., 2013). Selain panjang gelombang juga dapat dilihat dari absorbansi sampel yaitu pada rentang 0,2 – 0,8.

Pada nanopartikel perak ekstrak etanol kelopak Kembang Telang yang terbentuk pada jam ke-24 memiliki panjang gelombang 416,40 nm dengan absorbansi sebesar 0,217. Kemudian, pada nanopartikel perak ekstrak air kelopak Kembang Telang yang terbentuk pada jam ke-48 memiliki panjang gelombang 418,80 nm dengan absorbansi sebesar 0,251. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa hasil yang didapat sudah baik karena memasuki rentang panjang gelombang maksimal dan absorbansi untuk nanopartikel perak. Hasil pengamatan dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada **Gambar 4.5.** dan **Gambar 4.6.**



Gambar 4.5. Overlay Hasil Spektrofotometer UV-Vis Pembentukan Nanopartikel Ekstrak Etanol Kembang Telang
Keterangan : 1) jam ke-0, 2) jam ke-12, dan 3) jam ke-24



Gambar 4.6. Overlay Hasil Spektrofotometer UV-Vis Pembentukan Nanopartikel Ekstrak Air Kembang Telang
Keterangan : 1) jam ke-0, 2) jam ke-24, dan 3) jam ke-48

1.6. Analisis Ukuran Partikel dengan *Particle Size Analyzer*

Pengukuran partikel nanopartikel perak kelopak Kembang Telang dilakukan menggunakan instrument *Particle Size Analyzer (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100)*. Pada nanopartikel perak ekstrak etanol kelopak Kembang Telang menunjukkan ukuran partikel sebesar 73,9 nm dan indeks polidispersitas sebesar 0,163. Pada nanopartikel perak ekstrak air kelopak Kembang Telang menunjukkan ukuran partikel sebesar 67,1 nm dan indeks polidispersitas sebesar 0,328. Nilai ukuran partikel dan indeks polidispersitas dapat dilihat pada **Tabel 4.1**. Dari kedua hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa hasil yang didapat bagus karena sudah sesuai yaitu memasuki rentang 2 – 100 nm untuk ukuran partikel (Mittal et al., 2013) dan memasuki rentang 0,05 – 0,7 untuk indeks polidispersitas (Abdassah, 2017; Munawiroh et al., 2018).

Tabel 4.1. Data hasil nilai ukuran partikel dan nilai indeks polidispersitas

No	Parameter	Kriteria	Hasil	Hasil
			Nanopartikel ekstrak etanol	Nanopartikel ekstrak air
1	Ukuran Partikel (nm)	2 – 100 ^a	73,9	67,1
2	Indeks polidispersitas(Đ)	0,05 – 0,7 ^b	0,328	0,163

Keterangan : a) Kriteria diambil dari sumber referensi berdasarkan (Mittal et al., 2013)

b) Kriteria diambil dari sumber referensi berdasarkan (Abdassah, 2017; Munawiroh et al., 2018)

1.7. Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Enzim yang digunakan adalah enzim α -glukosidase. Enzim α -glukosidase adalah enzim yang tersebar luas didalam mikroorganisme, tanaman, dan hewan (Ojima, 2013). Enzim ini bertanggung jawab atas pemecahan oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida yang kemudian akan diabsorpsi (Balan et al., 2016). Penghambatan enzim α -glukosidase digunakan untuk kontrol glikemik pada diabetes tipe 2 khususnya pada hiperglikemi postprandial. Substrat yang digunakan pada penelitian ini adalah *p*-NPG. Substrat *p*-NPG adalah substrat yang umum digunakan dalam uji penghambatan enzim α -glukosidase. Selain *p*-NPG, yang dapat digunakan sebagai substrat enzim α -glukosidase yaitu maltosa dan sukrosa (Ojima, 2013).

Penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan menurut metode Anam *et al* dan Kim *et al* yang telah dimodifikasi. Pada penelitian ini terdapat larutan blanko (tanpa penambahan enzim dan sampel), kontrol normal (tanpa penambahan sampel), kontrol positif (penambahan akarbosa), dan sampel yang digunakan dalam penghambatan enzim yaitu nanopartikel perak ekstrak etanol Kembang Telang, nanopartikel perak ekstrak air Kembang Telang, ekstrak etanol Kembang Telang, ekstrak etanol Kembang Telang, campuran pelarut etanol dan AgNO_3 , serta campuran pelarut air dan AgNO_3 .

Hasil penghambatan enzim α -glukosidase berupa nilai absorbansi *p*-nitrophenol menggunakan spektrofotometer UV-Vis dari hasil scan λ maksimal yaitu 403 nm (**Lampiran 4**). Nilai absorbansi yang diperoleh berdasarkan reaksi enzimatik yaitu terjadinya hidrolisis substrat *p*-NPG oleh enzim α -glukosidase menghasilkan glukosa dan *p*-nitrophenol berwarna kuning yang dapat dibaca pada spektrofotometer UV-Vis (Holidah *et al.*, 2018). Dengan adanya inhibitor enzim α -glukosidase maka warna kuning yang dihasilkan memiliki intensitas warna yang beragam sesuai daya penghambatannya. Nilai tersebut berbanding terbalik dengan daya hambat terhadap aktivitas enzim α -glukosidase. Semakin rendah nilai absorbansi dan semakin rendah intensitas warna kuning yang dihasilkan, maka semakin tinggi daya hambat terhadap enzim α -glukosidase (Ariani *et al.*, 2017).

Hasil dari perhitungan persen inhibis diuji statistik menggunakan *oneway* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95 %. Hasil dapat dikatakan berbeda secara signifikan jika $p < 0,05$.

Tabel 4.2. Data hasil persen inhibisi penghambatan enzim α -glukosidase

Sampel	Persen Inhibisi (%) Rata-rata \pm SD (N=6)
Akarbosa	54,17 \pm 0,933 ^{b,c,d,e,f,g}
Nanopartikel perak ekstrak etanol Kembang Telang	70,44 \pm 1,335 ^{a,d,e,f,g}
Nanopartikel perak ekstrak etanol Kembang Telang	69,37 \pm 1,068 ^{a,d,e,f,g}
Pelarut etanol + AgNO ₃	45,51 \pm 1,529 ^{a,b,c,d,e,g}
Pelarut air + AgNO ₃	49,03 \pm 0,791 ^{a,b,c,d,e,f}
Ekstrak etanol Kembang Telang	15,74 \pm 2,277 ^{a,b,c,f,g}
Ekstrak air Kembang Telang	13,56 \pm 1,864 ^{a,b,c,f,g}

Keterangan :

- a) Berbeda signifikan dengan akarbosa
- b) Berbeda signifikan dengan nanopartikel perak ekstrak etanol
- c) Berbeda signifikan dengan nanopartikel perak ekstrak air
- d) Berbeda signifikan dengan ekstrak etanol
- e) Berbeda signifikan dengan ekstrak air
- f) Berbeda signifikan dengan pelarut etanol+AgNO₃
- g) Berbeda signifikan dengan ekstrak air+AgNO₃

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel yang diuji menghambat enzim α -glukosidase. Berdasarkan **Tabel 4.2.**, dapat terlihat bahwa nanopartikel perak ekstrak etanol dan nanopartikel perak ekstrak air Kembang Telang memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang paling tinggi dibandingkan dengan sampel lain yaitu dengan nilai persen inhibisi sebesar 70,44% dan 69,37 %. Nanopartikel perak ekstrak etanol dan nanopartikel ekstrak air Kembang Telang juga lebih poten dalam aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dibanding dengan obat oral antidiabetes yang telah digunakan untuk obat diabetes melitus tipe 2 sebagai kontrol positif yaitu akarbosa (Glukobay) yang memiliki persen inhibisi sebesar 54,17 %. Ekstrak etanol dan ekstrak air kembang Telang memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase paling rendah dibandingkan dengan pelarut yang terdiri dari etanol dan AgNO₃ serta air dan AgNO₃ yang memiliki persen inhibisi sebesar 45,51 % dan 49,03 %. Pada ekstrak etanol dan ekstrak air Kembang Telang memiliki persen inhibisi sebesar 15,74 % dan 13,56 %.

Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa sediaan dalam bentuk nanopartikel perak yang memiliki karakteristik ukuran 2 – 100 nm memiliki aktivitas yang lebih baik dalam menghambat enzim α -glukosidase. Nanopartikel perak sendiri sudah terbukti secara efektif menghambat enzim α -glukosidase (Senthilkumar et al., 2016). Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa pemberian oral nanopartikel perak pada tikus albino jantan yang diabetes secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah (Thota and Crans, 2018). Pada penelitian sebelumnya yang diujikan pada bakteri, nanopartikel perak adalah pembawa yang efektif untuk mengirimkan Ag^+ ke bakteri. Ag^+ adalah salah satu kation logam beracun terhadap bakteri, sebagian dikarenakan afinitas yang kuat terhadap protein dan asam nukleat. Ag^+ telah banyak dilaporkan dapat memutus rantai pernafasan dari fosforilasi oksidatif, dapat menghambat enzim tipe dehidrogenase seperti glukosa oksidase yaitu dengan membentuk kompleks yang tidak aktif untuk mencegah reoksidasi (Holt and Bard, 2005; Kang et al., 2014).

Ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak Kembang Telang juga sudah terbukti memiliki aktivitas sebagai antidiabetes (Daisy et al., 2009 ; Verma et al., 2013). Ekstrak etanol dan ekstrak air Kembang Telang mengandung senyawa flavonoid khususnya senyawa antosianin. Golongan flavonoid adalah metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase. Flavonoid bertindak sebagai inhibitor enzim α -glukosidase melalui interaksi dari gugus OH pada C3' dan C4' pada cincin B dengan sisi aktif enzim α -glukosidase (Ariani et al., 2017). Selain itu, gugus hidroksil (-OH) yang terdapat pada posisi 3 pada cincin C flavonoid akan berinteraksi dengan enzim α -glukosidase sehingga aktivitas enzim tersebut menjadi terhambat (Holidah et al., 2018). Selain flavonoid, senyawa yang dapat menghambat enzim α -glukosidase termasuk dalam senyawa metabolit sekunder, diantaranya yaitu alkaloid, fenolik, dan terpenoid (Kumar et al., 2011). Kemungkinan bahwa penghambatan enzim α -glukosidase melalui interaksi dari H^+ pada senyawa metabolit sekunder dengan lone pair pada enzim (protein). Ekstrak etanol Kembang Telang memiliki persen inhibisi yang lebih tinggi daripada ekstrak air Kembang Telang karena pada ekstrak etanol Kembang Telang terkandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki H^+ , lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak air. Ekstrak etanol Kembang Telang mengandung

senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid, terpenoid, alkaloid, fenolik dan steroid, sedangkan pada ekstrak air mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan saponin (Andriani and Murtisiwi, 2018; Zakaria et al., 2018).

Dari hasil optimasi terhadap inhibisi enzim α -glukosidase, nanopartikel perak ekstrak etanol maupun nanopartikel perak ekstrak air Kembang Telang dapat menghambat enzim α -glukosidase setelah enzim dan substrat dicampurkan. Hal tersebut kemungkinan bahwa nanopartikel perak menghambat enzim α -glukosidase pada sisi transisi enzim.

Dari hasil analisis menggunakan *oneway* ANOVA didapatkan hasil bahwa pada nanopartikel perak ekstrak etanol Kembang Telang dalam menghambat enzim α -glukosidase menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) dengan nanopartikel perak ekstrak air Kembang Telang. Hal tersebut juga terjadi pada ekstrak etanol dengan ekstrak air Kembang Telang yang menunjukkan tidak ada perbedaan secara signifikan dalam menghambat enzim α -glukosidase. Perbedaan pelarut antara etanol dan air yang digunakan dalam ekstraksi maupun dalam sintesis nanopartikel Kembang Telang memiliki perbedaan dalam inhibisi enzim α -glukosidase, namun tidak bermakna.

Pada nanopartikel perak ekstrak etanol maupun nanopartikel perak ekstrak air dibandingkan dengan akarbosa menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dalam menghambat enzim α -glukosidase dan memiliki persen inhibisi paling baik dibandingkan dengan ekstraknya saja. Pada nanopartikel perak yang memiliki aktivitas antidiabetes serta ekstrak Kembang Telang yang mengandung flavonoid juga memiliki aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase, menunjukkan nanopartikel perak yang disintesis dengan ekstrak Kembang Telang dapat meningkatkan aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase sebagai antidiabetes tipe 2 khususnya pada diabetes postprandial. Nanopartikel perak dalam menghambat enzim α -glukosidase memiliki aktivitas 4 kali lebih baik daripada ekstraknya saja.