

## **Profil *Physalis minima* L. dari Berbagai Etnis di 9 (Sembilan) Provinsi Indonesia Secara HPLC dan Kemometrik**

***Physalis minima* L. Profile from Various Ethnic in 9 (Nine) Provinces Indonesia by HPLC and Chemometric**

**Sukmayati Alegantina\*, Herni Asih Setyorini, Intan Sari Oktoberia, Winarsih, dan Nurul Aini**

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Jln. Percetakan Negara No. 23 Jakarta Pusat

\*Korespondensi Penulis: alegantina@yahoo.com

*Submitted:* 24-08-2020, *Revised:* 07-12-2020, *Accepted:* 14-01-2021

DOI: <https://doi.org/10.22435/mpk.v3i1i1.3709>

### **Abstrak**

Masyarakat Indonesia banyak memanfaatkan tanaman untuk pengobatan maupun perawatan kesehatan. Pada tahun 2017, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Badan Litbangkes) telah melakukan Riset Tanaman Obat dan Jamu (Ristoja) dengan mengumpulkan 30 jenis tanaman obat. *Physalis minima* L. (ciplukan) merupakan salah satu tanaman hasil Ristoja yang telah diteliti di Laboratorium Farmasi, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes. Penelitian bertujuan mengetahui profil kromatogram tanaman untuk mendapatkan kualitas mutu tanaman dan kluster antara tanaman dari asal geografis yang berbeda menggunakan aplikasi kemometrik. Sampel ciplukan yang terkumpul berjumlah 66 buah dari 15 etnis pada 9 provinsi di Indonesia. Analisis dilakukan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan detektor *Photo Diode Array* (PDA) pada panjang gelombang:  $\lambda$  254 nm dan 366 nm. Dari hasil optimasi, eluen HPLC yang digunakan adalah campuran asetonitril dan metanol dengan sistem gradien. Hasil dari HPLC diolah secara kemometrik dengan interpretasi data menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA). Hasil PCA dengan HPLC pada  $\lambda$  254 nm and 366 nm, masing-masing memiliki 2 kluster yang menunjukkan bahwa *Physalis minima* L. hasil Ristoja memiliki 2 profil fitokimia. Puncak yang terdeteksi pada  $\lambda$  366 nm lebih kompleks dibanding  $\lambda$  254 nm.

Kata kunci: profil kromatogram; *Physalis minima* L.; HPLC; kemometrik

### **Abstract**

Many Indonesian people use plants for medicine and health care. In 2017, the Center for Research and Development of Medicinal Plants and Traditional Medicines (B2P2TOOT), the National Institute of Health Research and Development (Badan Litbangkes) conducted a Research on Medicinal Plants and Herbs (Ristoja) by collecting 30 types of medicinal plants. *Physalis minima* L. (ciplukan) is one of the Ristoja plants that has been studied at the Pharmaceutical Laboratory, Center of Health Research and Development of Biomedical and Basic Health Technology, Badan Litbangkes. This study aimed to determine the chromatogram profile of plants to obtain plant quality and clusters between plants from different geographic origins using chemometric applications. There were 66 ciplukan samples collected from 15 ethnic groups in 9 provinces in Indonesia. Analysis was performed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a Photo Diode Array (PDA) detector at a wavelength ( $\lambda$ ) of 254

nm and 366 nm. From the optimization results, the HPLC eluent used was a mixture of acetonitrile and methanol with a gradient system. The results from HPLC were chemometrically processed with data interpretation using Principal Component Analysis (PCA). PCA results of HPLC chromatograms at  $\lambda$  254 nm and 366 nm, showed 2 clusters, which indicated that *Physalis minima* L. Ristoja results had 2 phytochemical profiles. The peak detected at  $\lambda$  366 nm was more complex than at  $\lambda$  254 nm.

**Keywords:** chromatogram profile; *Physalis minima* L., HPLC; chemometrics

## PENDAHULUAN

Genus *Physalis* terdiri dari 120 spesies yang terdistribusi di seluruh dunia, salah satunya adalah *Physalis minima* L. yang dikenal di Indonesia dengan nama ciplukan.<sup>1</sup> Daun ciplukan mengandung senyawa aktif antara lain fenolik (katekin, katekol, asam galat, asam elagik), alkana, aldehyd, alkohol sekunder, asam amino, amina aromatik, dan senyawa halogen glikosida jantung, gula pereduksi, serta steroid sehingga disarankan digunakan sebagai alternatif herbal untuk berbagai penyakit.<sup>2,3</sup> Khasiat dari tanaman ini antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, untuk terapi hipertensi dan diabetes yang dikombinasikan dengan tanaman obat lain.<sup>4,5</sup> Ekstrak etanol daun ciplukan dapat meningkatkan aktivitas immunoglobulin M (IgM), sedangkan ekstrak metanol menunjukkan efek hipoglikemik tanpa mempengaruhi kualitas sperma pada tikus jantan.<sup>5,6</sup> Menurut penelitian Banothu, ekstrak metanol ciplukan memiliki sifat antioksidan tertinggi diikuti ekstrak etil asetat, kloroform dan heksana.<sup>7</sup> Senyawa fenolik pada ekstrak metanol daun ciplukan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat dalam menghambat pertumbuhan sel HeLa dan Hep.<sup>3</sup>

Ciplukan dapat tumbuh di dataran rendah hingga dataran tinggi serta banyak dijumpai di pekarangan rumah. Ciplukan biasa tumbuh di daerah dengan ketinggian antara 1-1550 mdpl. Ciplukan masuk dalam famili Solanaceae dan merupakan tanaman asli Amerika yang kini telah tersebar secara luas di daerah beriklim tropis.<sup>8,9</sup>

Tanaman menghasilkan metabolit sekunder sebagai bentuk adaptasinya terhadap lingkungan sekitar. Metabolit sekunder dapat

dimanfaatkan sebagai antigen pengendali hama yang ramah lingkungan.<sup>10</sup> Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu tanaman antara daerah yang satu dan daerah yang lainnya berbeda-beda walaupun dari jenis tanaman yang sama. Hal ini disebabkan oleh perbedaan lokasi tumbuh diikuti oleh perbedaan unsur-unsur lingkungan (temperatur udara, kelembapan udara relatif, curah hujan, dan jumlah hari hujan) selama masa hidup tanaman. Unsur lingkungan yang memengaruhi produksi metabolit sekunder adalah temperatur udara, kelembapan relatif, curah hujan, dan jumlah hari hujan.<sup>11</sup>

Langkah pertama untuk menilai kualitas tanaman obat adalah dengan memastikan keaslian bahan yang digunakan. Setiap tanaman obat mengandung unsur kimia tertentu. Komposisi kimia masing-masing tanaman obat dapat dianalisis untuk mengidentifikasi tanaman obat dalam menjamin keasliannya.<sup>12</sup> Namun demikian, perlu diperhatikan pada tanaman sering terjadi kontaminasi logam, residu pestisida, mikotoksin, dan *Poly Aromatic Hydrocarbon* (PAH).<sup>13-16</sup>

Kandungan kimia dalam tanaman dapat diketahui secara kualitatif maupun kuantitatif dengan menggunakan berbagai teknik seperti spektrofotometri dan kromatografi. Penentuan profil fitokimia daun ciplukan ini dilakukan menggunakan metode kromatografi. Metode tersebut dapat digunakan untuk mengetahui kandungan dan kadar senyawa kimia berdasarkan pola kromatogram serta dapat mengidentifikasi senyawa kimia pada jenis tanaman obat yang sama dari lokasi berbeda.

Pada penelitian ini, ciplukan diperoleh dari Riset Tumbuhan Obat dan Jamu (Ristoja) tahun

2017 yang dilakukan oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Litbangkes). Riset ini sebelumnya juga pernah dilakukan pada tahun 2012 dan 2015. Pada tahun 2017, B2P2TOOT berhasil mengumpulkan spesimen fitokimia *Physalis minima* L. dari 15 etnis di 9 provinsi di Indonesia. Sebaran sampel tanaman *Physalis minima* L. hasil Ristoja ditampilkan pada Gambar 1. Tanaman ciplukan tersebar di seluruh Indonesia, akan tetapi, pada Ristoja 2017, lokasi sampel hanya difokuskan pada Indonesia bagian timur.

Hasil kromatografi diolah secara matematika dan statistik menggunakan kemometrik untuk mendapatkan informasi yang lebih banyak dari data kromatografi tersebut.<sup>17</sup> Kemometrik merupakan aplikasi metode menggunakan *software Computer Unscrambler* untuk mendapatkan hasil analisis yang tepat.



**Gambar 1. Peta Sebaran Tanaman *Physalis minima* L. Hasil Ristoja 2017 di Indonesia Berdasarkan Etnis yang Menggunakan Ciplukan dalam Ramuan Obat Tradisional**

(Data Ristoja Diolah dengan *Software Garmin*)

*Principal Component Analysis* (PCA) merupakan salah satu teknik kemometrik yang dapat digunakan untuk mengekstrak informasi dari data yang didapatkan sehingga kita dapat melakukan pengenalan pola untuk mengelompokkan tanaman berdasarkan asal daerahnya.<sup>18</sup>

Informasi kandungan dan kadar senyawa kimia pada tanaman dapat diketahui berdasarkan area puncak pada kromatogram. Identifikasi

senyawa kimia dari jenis tanaman yang sama dapat diklasifikasikan berdasarkan tingkat kemiripan dari profil kromatogram yang dihasilkan. Dari analisis PCA, sampel ciplukan dapat dikelompokkan berdasarkan kesamaan profil dari data waktu retensi. Analisis kromatografi dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan analisis menggunakan PCA mampu mengetahui kesamaan profil ciplukan dari berbagai etnis di 9 provinsi di Indonesia hasil Ristoja 2017.

Profil kromatogram dari *Physalis minima* L. yang merupakan sampel dari Ristoja 2017 belum diketahui. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui profil kromatogram dari tanaman tersebut sehingga dapat diketahui kualitas mutu tanaman, penilaian kualitas atau klasifikasi tanaman yang berasal dari geografis yang berbeda. Untuk mengelompokkan sampel berbeda yang berasal dari berbagai lokasi, diperlukan analisis kluster berupa pengukuran kimia secara HPLC menggunakan analisis data kemometrik dengan PCA. Tujuan dari interpretasi data dengan PCA ini adalah untuk mencari kelompok dari objek yang hampir sama atau mencari *outlier* (objek yang tidak mempunyai kesamaan). Teknik ini digunakan untuk menjelaskan secara maksimal keragaman di dalam variabel.<sup>19</sup>

## METODE

Desain penelitian adalah eksperimen laboratorium menggunakan sistem HPLC, dilakukan di Laboratorium Farmasi, Pusat Penelitian dan Pengembangan (Puslitbang) Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kementerian Kesehatan (Kemenkes) pada tahun 2018. Analisis dilakukan dengan teknik kemometrik PCA.

### Analisis data kemometrik menggunakan PCA

Kromatografi sidik jari atau *fingerprint*, yang dikombinasikan dengan kemometrik, digunakan untuk mengevaluasi kualitas tanaman obat dengan mengolah informasi menggunakan metode pengolahan data. Analisis yang dilakukan pada penelitian ini berasal dari data kromatografi

HPLC. Hasil kromatogram dari HPLC dianalisis lebih lanjut menggunakan teknik kemometrik dengan analisis PCA pada waktu retensi 0 menit hingga 60 menit untuk meminimalisir terjadinya kesalahan akibat jumlah data HPLC yang cukup banyak dan bervariasi. Waktu analisis dilakukan sampai 60 menit setelah dipastikan bahwa tidak ada puncak lagi yang keluar.

#### Alat

Seperangkat HPLC (Waters Alliance 2695) yang dilengkapi dengan detektor PDA (Waters), menggunakan kolom Reliant C18 5  $\mu\text{m}$ ; 4,6x150 mm (Waters, India).

#### Bahan

Sampel berupa serbuk halus yang berasal dari daun *Physalis minima* L. Tanaman dikumpulkan saat Penelitian Ristoja tahun 2017. Tanaman berasal dari 9 provinsi (15 etnis), yaitu provinsi Kalimantan Barat (Sambas; Sanggau); Kalimantan Utara (Lepo Tau); Sulawesi Tengah (Dondo, Tialo); Sulawesi Selatan (Padoe); NTB (Blagar); Maluku (Danar); Maluku Utara (Galela, Makian, Sula); Papua Barat (Ayanmru, Wamesa); Papua (Auyu, Kamoro).

Reagen yang digunakan antara lain akuades (IKA), asetonitril HPLC grade (Merck, Jerman), metanol HPLC grade (Merck, Jerman) dan standar andrographolide (Sigma, Jerman).

#### Cara kerja

##### a. Preparasi Sampel

Sampel daun *Physalis minima* L. dibersihkan, dipisahkan dari pengotor, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan dan dipotong-potong kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40-50°C selama 24 jam. Setelah kering sampel dibuat serbuk. Sebanyak 150 mg sampel dimasukkan ke dalam tube berukuran 1,5 ml, ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam Brospec Mini-Beadbeater-16. Alat dijalankan sebanyak 1-2 kali masing-masing selama 30 detik, dengan jeda 60 detik hingga bahan uji menjadi serbuk lembut. *Bead* (gotri) dikeluarkan dan bahan uji disimpan dengan ditutup rapat.

##### b. Penyiapan Larutan Uji

Serbuk bahan uji ditimbang seksama sebanyak 100,0 mg, dimasukkan ke dalam wadah botol bertutup berukuran 25 mL, kemudian ditambahkan 10,0 mL metanol pa secara seksama. Tutup dengan rapat lalu didiamkan semalam pada suhu kamar yang terlindung dari cahaya. Selanjutnya sampel disaring dengan *syringe* filter 0,45  $\mu\text{m}$ . Filtrat dimasukkan ke dalam mikrotube ulir bertutup, disimpan pada suhu kamar yang terlindung dari cahaya dan dilanjutkan pemeriksaan/pengujian HPLC sebelum 24 jam.

##### c. Optimasi dan Uji Performa HPLC

Optimasi HPLC dilakukan terhadap volume injeksi, sistem gradien, laju alir, dan lama waktu elusi.

Uji performa HPLC dilakukan dengan menggunakan standar eksternal andrographolide untuk memastikan bahwa alat HPLC berjalan dengan baik. Pengukuran standar eksternal dilakukan setiap memulai pengujian.

##### d. Pemeriksaan Larutan Uji

Sebelum melakukan injeksi larutan uji, dilakukan injeksi blanko (pelarut metanol). Kromatogram blanko diperhatikan, seharusnya *base line* mengandung sinyal  $< 3 \times \text{noise}$ . Menjelang berakhirnya waktu kerja dilakukan *flush* dengan sistem 100% akuades selama 15 menit dan 100% metanol/asetonitril selama 15 menit. Injeksi blanko (pelarut metanol) dilakukan kembali setiap 10 injeksi larutan uji dan injeksi baku eksternal (andrographolide) dilakukan setiap 10 injeksi larutan uji.

##### e. Analisis Data (Kemometrik)

Data kromatogram hasil pengukuran menggunakan HPLC dari masing-masing sampel diubah ke dalam format ASCCI atau excel (.xls), selanjutnya dilakukan analisis *Principle Component Analysis* (PCA) menggunakan *software Unscrambler 9.7* dengan langkah-langkah sebagai berikut:

kromatogram dari 3–5 individu yang berasal dari satu etnis disatukan. Jika ada kromatogram yang sangat berbeda terhadap kromatogram yang lain, maka dilakukan pencilan (kromatogram yang berbeda dikeluarkan). Kromatogram hasil rata-rata pada masing-masing etnis dianalisis dengan PCA. Selanjutnya dilakukan pengelompokan berdasarkan kecenderungan PC1 dan PC2. Ditentukan puncak atau intensitas mana saja yang menjadi pembeda dari kromatogram tersebut. PCA dilakukan terhadap data-data yang berasal dari luas area puncak dari kromatogram pada 254 nm dan 366 nm, serta intensitas per menit sampai 60 menit dari kromatogram pada 254 nm dan 366 nm.

### Hasil Optimasi

Optimasi kondisi HPLC dilakukan dengan detektor PDA pada panjang gelombang 200-500 nm. Intensitas direkam pada setiap menit selama 60 menit. Kondisi optimum HPLC standar andrographolide diperoleh pada volume injeksi 10,0 µL, fase gerak secara gradien menggunakan kombinasi 2 pelarut akuades dan metanol dengan laju alir 1,0 mL/menit, *operating time* selama 60 menit.

Variasi eluen digunakan secara gradien pada pengukuran andrographolide disajikan dalam Tabel 1.

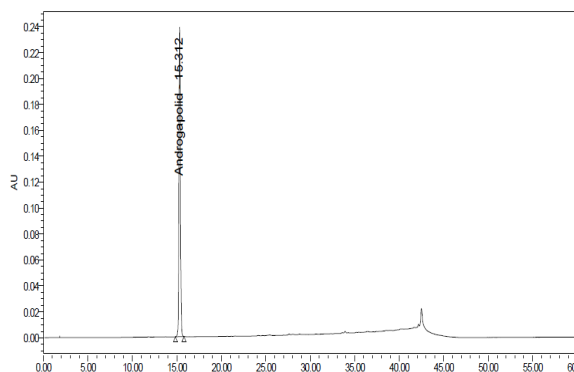
**Tabel 1. Optimasi Fase Gerak (Gradien) Andrographolide menggunakan HPLC**

No.	Waktu (menit)	Eluen Acetonitril (mL)	Eluen Metanol (mL)
1	0	50	50
2	1	50	50
3	30	50	50
4	40	20	80
5	60	20	80

### Uji Performa HPLC

HPLC yang digunakan selama pengukuran memiliki performa yang baik, ditunjukkan

dengan hasil uji performa HPLC menggunakan standar andrographolide. Meskipun standar ini bukan merupakan zat aktif dalam tanaman ciplukan namun pengukuran menggunakan standar andrographolide ini bertujuan untuk memastikan proses pengujian berjalan dengan baik, ditunjukkan dengan stabilnya waktu keluarnya puncak dan intensitas kromatogram dari standar yang digunakan (Gambar 2).



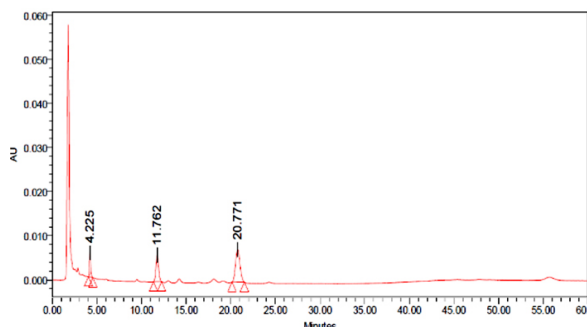
**Gambar 2. Kromatogram Standar Andrographolide secara HPLC**

Setelah diperoleh optimasi dan uji performa standar andrographolide maka dilanjutkan dengan optimasi eluen untuk pengukuran *Physalis minima* L. secara gradien. Variasi eluen yang digunakan secara gradien pada pengukuran *Physalis minima* L. dapat dilihat pada Tabel 2.

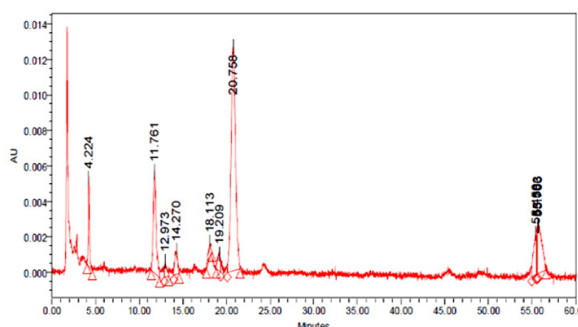
**Tabel 2. Optimasi Fase Gerak (Gradien) *Physalis minima* L. menggunakan HPLC**

No.	Waktu (menit)	Eluen Akuades (mL)	Eluen Metanol (mL)
1	0	80	20
2	2	70	30
3	10	50	50
4	23	30	70
5	40	0	100
6	45	80	20
7	60	80	20

Fase gerak yang didapat berdasarkan Tabel 2 selanjutnya digunakan untuk pengukuran sampel *Physalis minima* L. Contoh kromatogram pengukuran HPLC *Physalis minima* L. pada  $\lambda$  254 nm dan 366 nm dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.



Gambar 3. Profil Kromatogram *Physalis minima* L. pada  $\lambda$  254 nm



Gambar 4. Profil Kromatogram *Physalis minima* L. pada  $\lambda$  366 nm

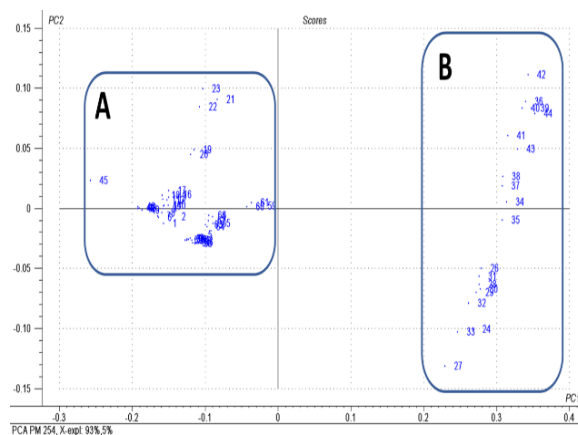
### Klastering Profil HPLC

Hasil kromatogram dianalisis lebih lanjut menggunakan kemometrik dengan PCA pada waktu retensi 0 menit sampai dengan 60 menit, untuk meminimalisir terjadinya kesalahan akibat jumlah data KCKT yang cukup banyak dan bervariasi. Hasil dari analisis PCA berupa *scores* dan *loading* yang ditampilkan pada Gambar 5 dan 6.

#### a. Panjang Gelombang 254 nm

Data intensitas senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman *Physalis minima* L. dari hasil pengukuran diolah secara kemometrik. Analisis dilakukan menggunakan PCA *Unscrambler* yang bertujuan untuk pengelompokan berdasarkan tingkat kemiripan profil senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman tersebut. Pengelompokan *Physalis minima* L. berdasarkan intensitas pada pengukuran panjang gelombang 254 nm menunjukkan tanaman *Physalis minima* L.

mempunyai 2 profil senyawa kimia yang berbeda, kluster A terdiri 46 sampel dan B sebanyak 20 sampel. Hasil analisis PCA tanaman *Physalis minima* L. pada  $\lambda$  254 nm dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Analisis PCA *Physalis minima* L. pada  $\lambda$  254 nm

A : *Physalis minima* L. yang mempunyai kesamaan profil terdiri dari 46 sampel

B : *Physalis minima* L. yang mempunyai kesamaan profil terdiri dari 20 sampel

Adapun asal tanaman *Physalis minima* L. yang berada dalam dalam kluster A dan B dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Asal Sampel *Physalis minima* L. Masing-masing Klaster pada  $\lambda$  254 nm

Klaster	Provinsi	Etnis
Kluster A	Sulawesi Tengah	Tialo, Padoe, Dondo
	Maluku	Danar
	Maluku Utara	Galela, Makian, Sula
	NTB	Blagar
	Kalimantan Barat	Sambas, Sanngau
	Kalimantan Utara	Lepo Tau
Kluster B	Maluku Utara	Sula
	Papua	Komoro
	Papua Barat	Ayammaru

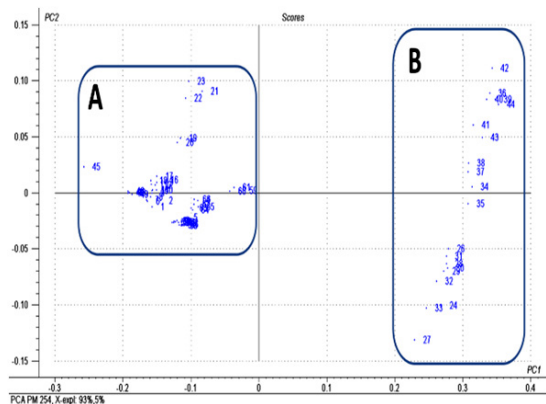
#### b. Panjang Gelombang 366 nm

Asal tanaman *Physalis minima* L. yang mempunyai profil yang berada dalam satu klaster dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4. Asal Sampel *Physalis minima* L. Masing-masing Klaster pada  $\lambda$  366 nm**

Klaster	Provinsi	Etnis
Klaster A	Papua	Auyu, Komoro
Klaster B	Sulawesi Tengah	Tialo, Padoe, Dondo
	Maluku	Tialo, Danar
	Maluku Utara	Galela, Makian, Sula
	Papua Barat	Ayammaru, Wamesa
	NTB	Blagar
	Kalimantan Barat	Sambas, Sanngau
	Kalimantan Utara	Lepo Tau

Hasil analisis PCA *Physalis minima* L.  $\lambda$  366 nm dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6. Analisis PCA *Physalis minima* L. pada  $\lambda$  366 nm**

- A : *Physalis minima* L. yang mempunyai kesamaan profil terdiri dari 60 sampel
- B : *Physalis minima* L. yang mempunyai kesamaan profil terdiri dari 6 sampel

**PEMBAHASAN**

Hasil optimasi dan uji performa HPLC menggunakan standar andrographolide memberikan hasil yang baik, hal ini dapat dilihat dari resolusi senyawa andrographolide yang tidak *tailing*.

Standar andrographolide bukan merupakan zat aktif yang terkandung dalam tanaman ini. Penggunaan standar ini dikarenakan tidak tersedianya zat aktif dari tanaman tersebut. Meskipun andrographolide bukan senyawa

aktif yang terdapat dalam tanaman ciplukan, namun penggunaan standar ini bertujuan untuk memastikan proses pengujian berjalan dengan baik, ditunjukkan dengan stabilnya waktu keluarnya puncak dan intensitas kromatogram dari standar yang digunakan.

a. Panjang Gelombang 254 nm

Hasil analisis PCA *Physalis minima* L. pada dasarnya adalah pengelompokan berdasarkan tingkat kemiripan profil kromatogram dan data intensitas (kromatogram) hasil pengukuran HPLC. Pengelompokan *Physalis minima* L. berdasarkan intensitas HPLC pada panjang gelombang 254 nm menunjukkan bahwa *Physalis minima* L. mempunyai 2 profil kromatogram (Gambar 5). Dapat dilihat bahwa dari 66 sampel tanaman *Physalis minima* L. hasil Ristoja, 46 sampel (Klaster A) mempunyai profil yang serupa dan 20 sampel lainnya memiliki profil yang serupa (Klaster B).

Hasil klastering pada  $\lambda$  254 nm ini tidak terdapat sampel yang *outlier*, berarti sampel tanaman ciplukan ini mempunyai 2 macam profil kromatogram dan dua pertiga dari sampel mempunyai profil yang sama.

Terdapatnya perbedaan profil kromatogram dari tanaman ciplukan ini dapat dipengaruhi oleh lokasi tempat tumbuh baik ketinggian maupun iklim seperti temperatur dan kelembaban. Perbedaan kondisi ini yang memengaruhi pertumbuhan tanaman.<sup>11</sup> Profil senyawa kimia tanaman yang beragam dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya genetik, lingkungan, rekayasa agronomi, dan panen. Oleh karena itu perlu dilakukan proses standarisasi tanaman yang akan digunakan sebagai bahan baku agar kualitas tetap terjamin.<sup>21</sup>

b. Panjang Gelombang 366 nm

Pengelompokan tanaman *Physalis minima* L. dari hasil PCA berdasarkan *profiling fitokimia* pada  $\lambda$  366 nm diperoleh 2 klaster. Dari 66 sampel ciplukan terdapat 6 sampel (Klaster A) yang

mempunyai profil yang serupa dan 60 sampel dengan profil yang serupa (Klaster B). Terdapat 1 sampel yang *outlier*, dimana 1 sampel dari NTB yang berasal dari etnis Blagar tidak mempunyai kesamaan profil dengan tanaman di klaster A maupun B. Hal ini dikarenakan perbedaan waktu retensi dengan sampel yang lainnya yang kemungkinan dikarenakan kurang ketelitian dalam melakukan preparasi sampel.

Analisis klastering juga dilakukan pada  $\lambda$  366 nm menunjukkan profil fitokimia yang hampir sama, kecuali dari provinsi Papua. Berdasarkan kromatogram profil HPLC, *peak* yang dihasilkan pada  $\lambda$  366 nm lebih kompleks dibandingkan  $\lambda$  254 nm, ini menandakan pada  $\lambda$  366 nm lebih banyak senyawa kimia yang terbaca dibandingkan pada 254 nm. Dengan demikian, pembahasan selanjutnya didasarkan hasil analisis *clustering* pada  $\lambda$  366 nm saja, sehingga hanya sampel Papua yang menunjukkan perbedaan profil.

Pada klaster A dan B terdapat etnis Sula dari provinsi Maluku utara. Hal ini kemungkinan terjadi karena adanya mutasi tanaman yang berasal dari Sula sehingga etnis ini terdapat di 2 klaster yang berbeda.

Analisis klastering pada  $\lambda$  366 nm ini menunjukkan profil ciplukan yang hampir sama (59 sampel), dimana hanya terdapat 6 sampel yang berada di klaster B, sehingga hanya ciplukan dari Papua yang menunjukkan perbedaan profil dengan sampel lainnya. Hal ini kemungkinan disebabkan letak alam Papua yang terbentuk dari berbagai ekosistem yang beraneka dan tidak biasa, termasuk gletser, sabana, savana, terumbu karang, dan berbagai jenis hutan.<sup>22</sup> Merujuk hasil penelitian Usaizan dkk., hampir semua aksesi populasi ciplukan yang tumbuh di Malaysia memiliki karakteristik morfologis dengan variasi yang sangat sedikit dan keragaman genetik cukup rendah. Berdasarkan analisis klastering, semua populasi ciplukan hanya dibedakan oleh wilayah geografisnya. Dengan demikian, kondisi geografis yang terbentuk dari berbagai tipe lingkungan di Papua kemungkinan yang menyebabkan perbedaan profil fitokimia ciplukan

dengan sampel yang lainnya.

Pada penelitian ini, pengamatan yang dilakukan setiap detik hingga 60 menit merupakan 1 variabel. Data diolah dan ditampilkan dalam bentuk PC1 dan PC2. Titik pengamatan Ristoja 2017 adalah di wilayah timur Indonesia, sehingga sampel yang ada seakan hanya di wilayah Timur.

Anil melakukan ekstraksi daun ciplukan menggunakan berbagai penyari dari polar hingga non polar. Ekstrak yang diperoleh adalah ekstrak petroleum eter, sikloheksan, aseton, alkohol, dan air. Semua jenis ekstrak daun ciplukan mengandung steroid.<sup>23</sup> Karpagasundari dkk. melaporkan profil HPLC ciplukan mengandung empat senyawa fenolik utama yaitu asam elagik, katekol, asam galat dan katekin.<sup>2</sup> Katekin merupakan kelompok polifenol dan termasuk senyawa yang umumnya dikenal sebagai flavonoid. Lee melaporkan kadar katekin dalam teh hijau dipengaruhi oleh kondisi tempat tumbuh. Daerah dengan suhu dan lama paparan sinar matahari serta total curah hujan yang lebih melakukan pencatatan mengenai kondisi wilayah rendah akan menghasilkan kadar katekin yang lebih tinggi.<sup>24</sup>

Beberapa kelemahan dalam penelitian yang kami lakukan adalah tidak diketahuinya waktu pengambilan sampel dan ketinggian tempat tumbuh tanaman ciplukan. Pengukuran kadar katekin dalam tiap sampel juga tidak dilakukan, sehingga hubungan antara kondisi wilayah dan profil fitokimia maupun kadar katekin belum bisa diketahui.

## KESIMPULAN

Hasil analisis PCA secara kemometrik dari pengukuran HPLC menunjukkan bahwa tanaman *Physalis minima* L. hasil Ristoja 2017 yang berasal dari berbagai etnis pada 9 provinsi di Indonesia terbagi dalam 2 klaster yang artinya mempunyai 2 profil kromatogram dengan kesamaan karakteristik dari daerah yang berbeda.

## SARAN

Penelitian selanjutnya agar dilanjutkan dengan pengambilan tanaman ciplukan di seluruh

provinsi yang belum tersampel pada berbagai etnis di Indonesia agar data yang terkumpul lengkap sehingga didapat gambaran profil fitokimia dari tanaman ini secara menyeluruh.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT), Badan Litbangkes selaku penyandang dana dalam pelaksanaan penelitian ini; Mujahid, M.Sc, Dr. Sari Haryanti, M.Sc Apt, dan Mery Budiarti, S.Si, M.Si yang telah banyak membantu dalam menganalisis data.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Sharma N, Bano A, Dhaliwal HS, Sharma V. Perspectives and possibilities of indian species of genus *Physalis* (L.). *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 2015;2(2):326–53.
2. Karpagasundari C, Kulothungan S. Analysis of bioactive compounds in *Physalis minima* leaves using GC MS, HPLC, UV-VIS and FTIR techniques. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014;3(4):196–201.
3. Kumar HNK, Chauhan JB. Phytochemical screening and anticancer activity of leaf extracts of *Physalis minima*. *Journal of Advances in Natural Science*. 2016;3(2) : 283 - 87.
4. Prakash P. Evaluation of antioxidant activity of *Physalis minima*. *Chemical Science Transactions*. 2014; 3(3) : 1179-85.
5. Daud D, Elias SF, Hassan FSM, Jalil MN, Tawang A. *Physalis minima* Linn methanolic extract reduces blood glucose level without compromising sperm quality in normoglycaemic mice. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016;6(6):8–11.
6. Effendi N, Widiastuti H. Identifikasi aktivitas imunoglobulin M (Ig.M) ekstrak etanolik daun ceplukan (*Physalis minima* Linn.) pada mencit. *Jurnal Kesehatan*. 2014;7(2):353–60.
7. Banothu V, Adepally U, Lingam J. in Vitro total phenolics, flavonoids contents, antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from the medicinal plant *Physalis Minima* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2017;9(3):192.
8. Latifah N, Hidayati AA, Yunas SR, Sulistyorini E. Ciplukan (*Physalis angulata* L) [Internet]. Available from: [https://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=193](https://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=193)
9. Hadiyanti N, Pardono P, Supriyadi S. Distribusi dan variasi morfologi ciplukan (*Physalis* Sp.) di lereng gunung Kelud, Jawa Timur. In: *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS*. Solo: UNS; 2017. p. 361–6.
10. Ergina, Nuryanti S, Pursitasari ID. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. 2014;3(3):165–72.
11. Nurnasari E, Djumadi. Pengaruh kondisi ketinggian tempat terhadap produksi dan mutu tembakau temanggung. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*. 2010;2(2): 6717.
12. Upton R, David B, Gafner S, Glasl S. Botanical ingredient identification and quality assessment: strengths and limitations of analytical techniques. *Phytochemistry Reviews* [Internet]. 2019;0123456789. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09625-z>
13. Harris ESJ, Cao S, Littlefield BA, Craycroft JA, Scholten R, Kaptchuk T et al. Heavy metal and pesticide content in commonly prescribed individual raw chinese herbal medicines. *Sci Total Environ*. 2011;409(20):4297–305.
14. Shaban NS, Abdou KA, Hassan NE-HY. Impact of toxic heavy metals and pesticide residues in herbal products. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* [Internet]. 2016;5(1):102–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjbas.2015.10.001>
15. Wang L, Kong W, Yang M, Han J, Chen S. Safety issues and new rapid detection methods in traditional Chinese medicinal materials. *Acta Pharmaceutica Sinica B* [Internet]. 2015;5(1):38–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsb.2014.12.005>
16. Rahmatullah S, Fikri A. Analisis kualitatif kandungan bahan kimia Obat ( BKO ) dalam jamu asam urat. *The 7 th University Research Colloquium 2018 STIKES PKU Muhammadiyah Surakarta*. 2018;566–75.
17. Lavine B WJ. *Chemometrics. Anallitycal Chemistry*. 2010;82(12) : 4699–711.

18. Warongan MN, Sudewi S, Yudistira A. Analisis fingerprint daun geddi hijau (*Abelmoschus manihot* L) untuk memprediksi aktivitas antioksidan menggunakan kombinasi spektroskopi ir dengan partial least square regression. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi-Unstrat*. 2017;6(4):157–64.
19. Bro R, Smilde AK. Principal component analysis. *analytical methods* [Internet]. 2014;6(9):2812–31. Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2014/ay/c3ay41907j>
20. Laily AN, Suranto, Sugiyarto. Karakterisasi *Carica pubescens* di Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah berdasarkan sifat morfologi, kapasitas antioksidan, dan pola pita protein. *Nusantara Bioscience*. 2012;4:16–21.
21. Ratnani RD, Hartati I, Anas Y, Endah D, Khilyati DDD. Standarisasi spesifik dan non spesifik ekstraksi hidrotropi andrographolid dari sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*. 2015;147–55.
22. Marshall AJ, Andrew J, Beehler BM. *The ecology of Papua. Part one. VI*. Davis, California; 2011.
23. Anila V, Madhu K, Krishna J. Preliminary pharmacognostical and phytochemical evaluation of *Physalis minima* Linn (Ṭankārt). 2019;8(1): 67–71.
24. Lee JE, Lee BJ, Chung JO, Hwang JA, Lee SJ, Lee CH, et al. Geographical and Climatic Dependencies of Green Tea (*Camellia sinensis*) Metabolites: A 1H NMR-Based Metabolomics Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010 Oct;58(19):10582–9.