

## **PENGARUH EKSTRAK KASAR ENZIM PEROKSIDASE DARI KUBIS (*Brassica oleraceae* L.) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK TONGKOL JAGUNG (*Zea mays* L.)**

**Crispa J. Lintjewas<sup>1)</sup>, Edi Suryanto<sup>2)</sup>, Jemmy Abidjulu<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT Manado

<sup>2)</sup>Jurusan Kimia, FMIPA UNSRAT Manado

### **ABSTRACT**

This study was conducted to determine the effect of crude extract containing the enzyme peroxidase from cabbage to the antioxidant activity of the extract of corn cobs. Extraction of corn cobs performed using ethanol 80% with reflux for 2 hours while extracting the enzyme from cabbage with solvent phosphate buffer pH 7. Then the content of secondary metabolites tested before and after the addition of crude extract enzyme peroxidase. Whereas to determine the antioxidant activity was tested by the ability of free-radical scavengers DPPH and hydroxyl radical scavengers Then the total antioxidant extracts was measured with a spectrophotometer. Results of the analysis of the highest content of total phenolic fraction obtained from the enzyme at 124.39 mg / kg, followed by P4 81.53; P1 75.41; P3 67.24 and P2 50.92 mg / kg. Results of the analysis of antioxidant activity was also obtained from the enzyme fraction. The ability of hydroxyl radicals in the highest rat tissue homogenates were also obtained from the enzyme fraction of 90.1%. Results of this study concluded that the addition of crude extract containing the enzyme peroxidase from cabbage provides enhanced phenolic and flavonoid content also increases the antioxidant activity of the extract of corn cobs.

Keyword: Corn cob, cabbage, peroxidase anzyme, antioxidant.

### **ABSTRAK**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak kasar yang mengandung enzim peroksidase dari kubis terhadap aktivitas antioksidan ekstrak tongkol jagung. Ekstraksi tongkol jagung dilakukan menggunakan pelarut etanol 80% dengan metode refluks selama 2 jam sedangkan ekstraksi enzim dari kubis dengan pelarut buffer fosfat pH 7. Kemudian dilakukan pengujian kandungan metabolit sekunder sebelum dan setelah penambahan ekstrak kasar enzim peroksidase. Sedangkan untuk mengetahui aktivitas antioksidan diuji berdasarkan kemampuan penangkal radikal bebas DPPH dan penangkal radikal hidroksil Kemudian total antioksidan ekstrak diukur dengan spektrofotometer. Hasil analisis kandungan total fenolik tertinggi diperoleh dari fraksi enzim sebesar 124,39 mg/kg, diikuti oleh P4 81,53; P1 75,41; P3 67,24 dan P2 50,92 mg/kg. Hasil analisis aktivitas antioksidan juga diperoleh dari fraksi enzim. Kemampuan menangkal radikal hidroksil dalam homogenat jaringan tikus tertinggi juga diperoleh dari fraksi enzim sebesar 90,1%. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa penambahan ekstrak kasar yang mengandung enzim peroksidase dari kubis memberikan peningkatan kandungan fenolik dan flavonoid juga meningkatkan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak tongkol jagung.

Kata Kunci: Tongkol jagung, kubis, enzim peroksidase, antioksidan

## **PENDAHULUAN**

Reaksi oksidasi terjadi setiap saat, ketika manusia bernapas terjadi reaksi oksidasi. Reaksi ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Namun, reaktivitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2007).

Jagung merupakan bahan alam yang banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai tanaman pangan dengan menggunakan biji yang menempel pada tongkolnya sehingga menghasilkan limbah tongkol jagung yang kemudian dibuang atau dibakar. Padahal tongkol jagung merupakan simpanan makanan untuk pertumbuhan biji jagung selama melekat pada tongkol, maka dari itu tongkol jagung diduga memiliki senyawa-senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai antioksidan (Saleh *et al.*, 2012).

Pemanfaatan tongkol jagung masih sangat terbatas. Kebanyakan limbah tongkol jagung hanya digunakan untuk bahan tambahan makanan ternak, atau hanya digunakan sebagai bahan bakar setelah melalui proses pengeringan. Berbagai penelitian tentang tongkol jagung yang telah dilakukan, diantaranya Suryanto *et al.* (2013) mengemukakan bahwa ekstrak

tongkol jagung memiliki potensi sebagai fitokimia dengan adanya fenolik sebagai oksigen singlet dan senyawa aktif tabir surya. Lumempouw *et al.* (2012a, 2012b) dalam penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak tongkol jagung memiliki kandungan fenolik yang sejalan dengan nilai SPF. Selain itu Saleh *et al.* (2012) mengungkapkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tongkol jagung memiliki kemampuan yang baik dalam menangkal radikal bebas yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Wungkana *et al.* (2013) mengemukakan bahwa fraksi fenolik tongkol jagung dapat berperan sebagai antioksidan dan sekaligus sebagai tabir surya.

Kubis merupakan salah satu tanaman sumber dari enzim peroksidase. Enzim peroksidase merupakan salah satu enzim yang termasuk ke dalam kelas enzim oksidoreduktase. Enzim ini mengkatalis transfer atom H, atom O, atau elektron dari satu substrat ke lainnya. Peroksidase dapat mengkatalis reaksi oksidase dari berbagai senyawa organik ataupun senyawa anorganik dengan adanya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai akseptor elektron (Sutrisno, 2012).

Belum ditemukan penelitian terkait penambahan enzim pada tongkol jagung. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan enzim peroksidase dari kubis untuk mempelajari pengaruh ekstrak kasar enzim peroksidase dari kubis terhadap aktivitas antioksidan tongkol jagung..

## **METODE**

### **Material Penelitian**

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain : Alat-alat gelas, neraca analitik, rotari evaporator, vial sampel, kulkas, penangas air, plat KLT, vortex, mortar, penyemprot, alumunium foil, oven, spektrofotometer ultra violet, gunting, plat tetes, chamber dan waterbath.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah tongkol jagung dan kubis. Bahan kimia dan pereaksi yang digunakan etanol, metanol, etil asetat, akuades, buffer fosfat pH 7, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrogen peroksida), petroleum eter, butanol, DPPH (1,1- diphenyl-2-pikrilhidrazil), reagen Folin Ciocalteu, natrium karbonat, TCA (trikloroasetat) dan TBA (asam tiobarbiturat). Tikus galur wistar sebanyak 2 ekor untuk diambil organ hati.

### **Persiapan dan Ekstraksi Sampel**

Sampel tongkol jagung dibersihkan dan dipotong kecil-kecil untuk digiling sampai halus kemudian dikeringanginkan selama 1 bulan, Sebanyak 150 g serbuk tongkol jagung diekstraksi dengan cara direfluks menggunakan pelarut etanol 80% sebanyak 1500 mL, selama 2 jam pada suhu 80-90 °C. Filtrat hasil penyaringan diuapkan dan dikeringkan dalam oven hingga diperoleh ekstrak kental tongkol jagung

Ekstraksi enzim peroksidase dari kubis dilakukan sesuai metode (Thongsook, 2005) dengan sedikit modifikasi. Enzim peroksidase diambil dari kubis segar dan dibuat dalam 4 perbandingan yaitu P1 (1:1) yaitu 250 g kubis segar dengan 250 mL buffer fosfat pH 7, P2 (1:2) yaitu 250 g kubis segar dengan 500 mL buffer fosfat pH 7, P3 (1:3) yaitu 250 g kubis segar dengan 750 mL buffer fosfat pH 7, dan P1 (1:4) yaitu 250 g kubis segar dengan 1000 mL buffer fosfat pH 7. Homogenat yang diperoleh disaring dengan kain katun, filtrat yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1700 rpm selama 10 menit untuk memisahkan enzim kasar dari serpihan-serpihan. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dari endapannya, supernatan ini mengandung ekstrak enzim kasar. Selanjutnya dilakukan pencampuran antara

ekstrak kasar enzim dengan ekstrak tongkol jagung.

Sebanyak 20 mL ekstrak enzim peroksidase dari kol direaksikan dengan 1 g ekstrak tongkol jagung dan ditambahkan 0,5 mL hidrogen peroksida 30% kemudian direaksikan selama 60 menit. Setelah 60 menit ditambahkan 20 mL buffer asetat (pH 3) dan 20 mL metanol 10%, kemudian diekstraksi dengan etil asetat dan dilakukan pengujian fitokimia dan antioksidan.

#### **Penentuan kandungan Total Fenolik**

Kandungan total fenolik ditentukan dengan menggunakan metode Folin Ciocalteu (Conde *et al.*, 1997). Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak 1000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50%. Campuran tersebut divortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat 2%. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya dibaca pada  $\lambda$  750 nm dengan spektrofotometer. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g ekstrak

#### **Penentuan Aktivitas Antioksidan**

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dilakukan menurut Burda dan Olezek (2001) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 0,5 mL masing-masing ekstrak 1000 ppm ditambahkan dengan 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda$  517 nm. Di amati selang waktu 5 menit selama 30 menit. Aktivitas penangkap radikal bebas dihitung sebagai persentasi berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$Inhibisi = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Dalam penelitian ini Tongkol Jagung yang telah dipotong-potong, dihaluskan dengan blender kemudian di ekstraksi dengan pelarut etanol 80% sebagai pelarut yang bersifat polar yang diharapkan mampu menetrasi sel dan menyari semua senyawa yang bersifat polar dalam sel (Silva, 1998) dengan metode refluks selama 2 jam menghasilkan ekstrak yang berbentuk pasta dengan warna coklat tua dengan rendemen sebesar 3,84 dan 4,13%.

Sebagai sumber enzim peroksidase digunakan kubis segar kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7 dengan masing-masing perbandingan 250 g kubis dengan 250 mL pelarut (1:1), 250 g kubis dengan

500 mL pelarut (1:2), 250 g kubis dengan 750 mL pelarut (1:3) dan 250 g kubis dengan 1000 mL pelarut (1:4) kemudian didapatkan homogenat berwarna hijau. Setelah didapatkan homogenat masing-masing perbandingan dilakukan pencampuran dengan ekstrak tongkol jagung.

Ekstrak kasar enzim peroksidase dari kubis direaksikan dengan ekstrak tongkol jagung dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh dalam aktivitas antioksidannya. Kemudian diekstraksi dengan etil asetat setelah itu dievaporasi dan dikeringkan dalam oven sehingga didapatkan rendemen hasil ekstraksi enzim peroksidase dan tongkol jagung yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen hasil ekstraksi enzim dan tongkol jagung dari P1 (250 g : 250 mL), P2 (250 g : 500 mL), P3 (250 g : 750 mL) dan P4 (250 g : 1000 mL)

Ekstrak	Rendemen (%)
P1	0,82
P2	0,76
P3	0,74
P4	0,90

Berdasarkan tabel 2. Dapat diketahui rendemen terbesar didapatkan pada P4 (1:4) yaitu 250 g kubis dengan 1000 mL pelarut (0,90%), diikuti dengan P1 (1:1) yaitu 250 g kubis dengan 250 mL pelarut (0,82%), selanjutnya P2 (1:2) yaitu 250 g kubis dengan 500 mL pelarut (0,76%) dan terkecil dihasilkan oleh P3 (1:3) yaitu 250 g kubis dengan 750 mL pelarut (0,74%).

**Penentuan Kandungan Total Fenolik**

Analisis fitokimia bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Komponen fenolik atau disebut juga

polifenol merupakan hasil dari metabolisme sekunder tanaman dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Oleh karena itu untuk mengetahui potensi senyawa antioksidan dalam sampel yaitu ekstrak tongkol jagung yang telah dicampur dengan ekstrak enzim dari kubis dilakukan pengujian total fenol dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Thang dan Yen, 2002). Metode ini adalah untuk menentukan secara kuantitatif kandungan fenolik dalam ekstrak tanaman. Hasil analisis kandungan total fenolik yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Total Fenolik dan Flavonoid dari Ekstrak Tongkol jagung (ETJ), Perbandingan 1:1 (P1), Perbandingan 1:2 (P2), Perbandingan 1:3 (P3), dan Perbandingan 1:4 (P4).

Sampel	Fenolik
ETJ	48,88
P1	75,41
P2	50,92
P3	67,24
P4	81,53

Berdasarkan data pada Tabel 3. dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan kandungan total fenolik dan flavonoid dari Ekstrak Tongkol Jagung (ETJ) dengan penambahan ekstrak enzim. Kandungan total fenol pada ekstrak P4 yaitu perbandingan (1:4) 250 g

kubis dengan 1000 mL buffer fosfat (81,53 mg/kg) memberikan hasil tertinggi, diikuti ekstrak P1 yaitu perbandingan (1:1) 250 g kubis dengan 250 mL buffer fosfat (75,41 mg/kg), P2 yaitu perbandingan (1:2) 250 g kubis dengan 500 mL buffer fosfat (50,92

mg/kg) dan P3 yaitu perbandingan (1:3) 250 g kubis dengan 750 mL buffer fosfat (67,24 mg/kg).

Kandungan total fenolik dalam sampel ditentukan dengan menggunakan metode Folin Ciocalteu berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam ekstrak bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungkstat dalam reagen Folin-ciocalteu yang berwarna kuning dan akan berubah menjadi warna biru. Semakin tua intensitas warnanya menandakan semakin tinggi kandungan total fenolik dalam ekstrak (Shahidi dan Nack, 1995).

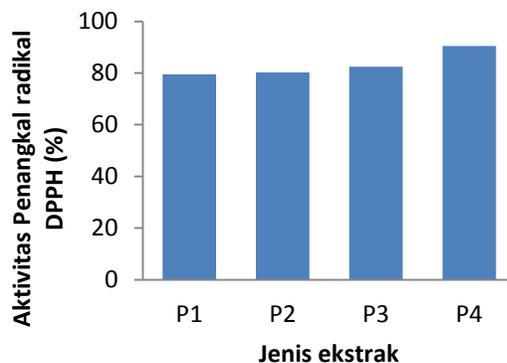
Hasil kandungan total fenolik dapat dipengaruhi oleh proses ekstraksi dengan cara refluks. Menurut Jeong (2004) ekstraksi dengan perlakuan panas dapat membebaskan dan mengaktifkan berat molekul rendah dari subunit molekul polimer yang berberat molekul tinggi

sehingga efektif untuk meningkatkan kandungan fenolik dalam tanaman.

Menurut Hardiana (2012) Selain proses ekstraksi, pelarut juga dapat mempengaruhi total fenolik yang dihasilkan seperti pada fraksi etanol dan kloroform. Hal ini disebabkan senyawa golongan fenol bersifat polar atau semi polar (Hayati, 2010).

### **Aktivitas Penangkal Radikal DPPH**

Metode DPPH telah digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari komponen yang disebabkan prosedurnya sederhana, cepat, sensitive, dan reproduksibel (Fyliano *et al*, 1999). Aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH dari keempat perbandingan ekstrak menggunakan metode Burda dan Olezek (2001) dapat dilihat pada gambar 4



Gambar 4. Aktivitas Penangkal Radikal DPPH dari Ekstrak Tongkol Jagung (ETJ), Perbandingan 1:1 (P1), Perbandingan 1:2 (P2), Perbandingan 1:3 (P3), Perbandingan 1:4 (P4).

Pengukuran absorbansi dilakukan pada konsentrasi 1000 ppm. Dari gambar 4. Terlihat bahwa terjadi peningkatan aktivitas antioksidan dimulai dari P1 (79,5%), P2 (80,3%), P3 (82,5%), P4 (90,5%) dan yang tertinggi FE (95,8%). Hal ini sebanding dengan kandungan total fenolik yakni kandungan terbesar terdapat pada FE. Hal ini dikarenakan menurut Shahidi dan Nack (2004) antioksidan senyawa fenolik dapat berperan sebagai donor hydrogen kepada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal stabil yang berenergi rendah yang berasal dari senyawa fenolik yang kehilangan atom hydrogen, struktur radikal baru ini menjadi dtabil karena terjadinya resonansi pada cincin benzenanya (radikal peroksil).

Metode DPPH didasarkan pada penurunan nilai absorbansi akibat perubahan

warna larutan yang mula-mula berwarna ungu akan berubah menjadi kuning. Perubahan ini terjadi saat radikal DPPH ditangkap oleh antioksidan yang melepas atom H untuk menangkap DPPH-H yang stabil. Nilai yang semakin tinggi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan memang berpotensi sebagai antioksidan (Ridwin, 2008).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak kasar enzim dengan perbandingan 1:4 (P4) memberikan nilai tertinggi diikuti dengan P1, P2 dan P3. Dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak kasar enzim yang diperoleh dari kubis pada ekstrak tongkol jagung memberikan peningkatan

kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan.

#### DAFTAR PUSTAKA

Burda, S., dan W. Oleszek. 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2774-2779.

Conde, E. E., M. C. Cadahia, G. Vallejo, B. F. D. Simon and J. R. G. Adrados. 1997. Low Molecular Weight Polyphenol in Cork of *Quercus Suber*. *J. Agric. Food Chem.* 45 : 2695-2700.

Karyasari. 2002. *Materi Pelatihan Profesional Tanaman Obat*. Kelas Profesional. Penyakit dan Pengobatannya\_ Karyasari, Bogor

Lomempuow, L.I., E. Suryanto., J. Paendong. 2012. Aktivitas Anti UVB Ekstrak Fenolik dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Mipa Online.* 1:1-4.

Lomempuow, L.I., J. Paendong., L.I. Momuat., dan E. Suryanto. 2012. Potensi Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Chem. Prog.* 5:49-56

Miller, J.M. 1975. *Separation Methods in Chemical Analytics*. John Wiley Publisher, New York.

Saleh, L.P., E. Suryanto., A. Yudistira. 2012. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Pharmacon.* 1:20-24.

Shahidi, F., M. Nacz. 1995. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Application..* Technomic pub. Co. Inc. Lancaster-Basel.

Suarni., W. Widiowati. 2007. Potensi Kandungan Senyawa  $\beta$ -caroten Beberapa Komoditi Sebagai Sumber Vitamin A. *Prosiding Seminar Nasional*. Puslitbang Tanaman Pangan, Palu. 563-568.

Sutrisno, W. 2012. Sintesis Senyawa Dimer Isoeugenol Menggunakan Enzim Peroksidase dari Kulit Bawang Bombay. [*Tesis*]. Departemen Kimia FMIPA UI, Depok.

Suryanto, E., L. I. Momuat., A. Yudistira., F. Wehantouw. 2003. The Evaluation Of Singlet Oxygen Quenching and Sunscreen Activity Of Corn cob Extract. *Indonesian J. Pharm.* 4:296-278

Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. CV Putra Media Nusantara, Surabaya.

Thongsook, T., dan Barrett, D.M. 2005. Purification and Characterization of Broccoli (*Brassica oleracea* Var. *italica*) Peroxidases. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 3206-3214

Winarno, F.G. 1989. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia, Jakarta.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. 122-204.

Wungkana, I., E.Suryanto., L. Momuat. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Fraksi Fenolik dari Limbah Tongkol Jagung (*Zea mays* L.) *Pharmacon*. **2**: 149-151.