

Aktivitas Inhibisi Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* Corn Silk) terhadap Angiotensin-I Converting Enzyme

Dian Laila Purwaningroom¹, Widodo², Sholihatul Maghfirah¹, Muhaimin Rifa'i²

¹Program Studi Keperawatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Ponorogo, Ponorogo

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang

dianlaila@umpo.ac.id

Abstrak

Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE) berperan penting dalam patofisiologi hipertensi. Penghambatan ACE telah terbukti sebagai strategi yang efektif sebagai pencegahan dan terapi hipertensi. Indonesia merupakan negara tropis dengan potensi yang tinggi untuk menyediakan tanaman obat. Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan sebagai obat antihipertensi adalah jagung, digunakan bagian rambutnya. Pada penelitian ini, dipilih rambut jagung (*Zea mays* Corn Silk), RJ, untuk dilihat aktivitasnya dalam menghambat kinerja ACE. Sampel diekstrak menggunakan ethanol 80%. pH diukur menggunakan pH indicator. Ekstrak dari tanaman obat ini kemudian diuji aktivitasnya terhadap penghambatan ACE menggunakan KIT-WST DOJINDO. Dalam penelitian ini ditemukan bahwa *inhibition rate* RJ pada konsentrasi 25ppm; 50 ppm; 100ppm; 200ppm; 400ppm adalah berturut-turut 8,04; 15,55; 23,01; 37,97; 61,15; dengan IC₅₀ 307,65 ppm. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak RJ dapat dijadikan sumber bahan obat ACE-inhibitor namun masih tergolong memiliki aktivitas yang lemah dibandingkan dengan kontrol (captopril).

Kata Kunci: Ekstrak Tanaman Obat, Antihipertensi, Angiotensin-I Converting Enzyme.

PENDAHULUAN

Hipertensi diderita oleh sekitar 40% dari populasi global, dimana tekanan darah penderita melebihi 140/90 mmHg (WHO, 2016). Patofisiologi hipertensi sangat ditentukan oleh aktivitas Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) (Vikrant & Tiwari, 2001). Angiotensin Converting Enzyme merupakan *membrane anchored dipeptidyl peptidase* yang memainkan peran kunci dalam homeostasis tekanan darah dengan menghidrolisis *inactive decapeptide* angiotensin I (DRVYIHPFHL) menjadi *potent vasoconstrictor* angiotensin II (DRVYIHPF) (García-moreno, Espejo-carpio, Guadix, & Guadix, 2015). Selain itu, ACE juga mengkatalis degradasi bradykinin, suatu *vasodilator nonapeptide*, menjadi fragmen inaktif (Quist, Phillips, & Saalia, 2009). Penghambatan/inhibisi kinerja ACE dianggap sebagai terapi utama dalam mengatasi hipertensi (Aleman, Gimenez, Perez-Santin, Gomez-Guillen, & Montero, 2011).

Obat antihipertensi penghambat kerja ACE, ACE-inhibitor, yang ada di pasaran selama ini merupakan pengembangan dari temuan Ferreira pada tahun 1965. Pada waktu

itu Ferreira menemukan adanya aktivitas ACE-inhibitor pada peptida yang berasal dari bisa ular *Bothrops jararaca* (Ferreira, 1965). Temuan Ferreira ini selanjutnya dikembangkan dan diproduksi secara komersial dengan nama captopril pada tahun 1975 (Cushman & Ondetti, 1991). Obat-obat ACE-inhibitor semisal captopril, lisinopril, dan enalapril menunjukkan efektifitas yang baik, namun menimbulkan berbagai efek samping, misalnya batuk kering, *skin rashes*, dan angiodema (Kleekayai et al., 2015). Efek samping yang sangat sering terjadi adalah batuk kering (Brown & Vaughan, 1998).

Indonesia memiliki kekayaan yang luar biasa dalam hal sumberdaya hayati. Masyarakat Indonesia biasa menggunakan berbagai tanaman obat untuk terapi hipertensi. Maka sangat menarik jika dikembangkan obat antihipertensi jenis ACE-i dari tumbuhan yang biasa dipakai oleh masyarakat untuk terapi hipertensi, khususnya RJ. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menemukan ada/tidak adanya aktivitas ACE-inhibitor ekstrak RJ dengan cara mengetahui pH, *inhibition rate* dan IC-50 nya.

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium. Telah dilakukan uji aktivitas inhibisi ekstrak RJ terhadap Angiotensin-I Converting Enzyme. Sampel dalam penelitian ini adalah RJ (*Zea mays* corn silk), tanaman obat yang biasa digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk terapi hipertensi secara tradisional. Variabel dalam penelitian ini meliputi pH, inhibition rate, dan IC50.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain loyang aluminium untuk pengeringan sampel, backer glass 1000 ml untuk proses ekstraksi. Proses pengeringan ekstrak dilakukan menggunakan rotary evaporator (Heidolph, R-200, Germany). Uji aktivitas enzimatis ACE-inhibitor memerlukan plate reader dengan 450 nm filter, 96-well culture plate, 2-20 μ l, 20-200 μ l, 100-1000 μ l dan *multi-channel pipettes*, inkubator 37°C, dan disposable syringe (1 ml), centrifuge tube, timbangan digital, aluminium foil, botol penyemprot alkohol.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain RJ (*Zea mays* corn silk) sebagai sampel, ethanol 80% untuk mengekstraksi sampel. pH indicator untuk mengetahui derajat keasaman sampel, ACE Kit-WST DOJINDO diperlukan untuk uji inhibisi aktivitas enzim ACE, captopril sebagai kontrol, dan *distilled water* untuk pelarutan kit dan pengenceran sampel dan kontrol.

Prosedur

Sampel RJ dikoleksi dan diidentifikasi validitas spesiesnya di Balai Materia Medica Batu. Tanaman sampel RJ dikeringkan secara *air-dried* selama 3-5 hari dan dihaluskan. Sebanyak 50 gram serbuk diekstraksi menggunakan 1 liter ethanol 80% selama 48 jam pada suhu ruang. Ekstrak kemudian dipekatkan pada suhu 68°C menggunakan rotary evaporator untuk mendapatkan residu yang terdiri atas ekstrak kasar (*crude extract*). Ekstrak disimpan dalam wadah tertutup pada suhu 4°C hingga digunakan.

Sampel yang telah diekstrak kemudian dicek pH. Berdasarkan instruksi pada protokol, jika pH sampel <4 maka perlu dilakukan *adjust* pH sehingga meningkat (pH≥4). Setelah pH sampel memenuhi syarat, sampel kemudian diencerkan menggunakan aquades (*distilled water*) dengan konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm. Sedangkan kontrol (Captopril) diencerkan pada konsentrasi 1×10^0 , 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} , 1×10^{-7} , 1×10^{-8} . KIT DOJINDO dibeli dari penyedia di Jepang dan berupa serbuk. KIT ini kemudian diencerkan menggunakan aquades sesuai dengan protokol.

Uji aktivitas ACE-inhibitor dilakukan dengan *me-running* sampel dengan 5 tingkatan konsentrasi yaitu 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, dan 400 ppm dengan langkah sesuai manual pada kit DOJINDO. Uji ini dilakukan secara duplo. Hasil pembacaan *plate reader* kemudian dihitung sesuai rumus yang ada pada protokol, sebagai berikut:

$$\text{ACE inhibitory activity (inhibition rate \%)} = [(A_{\text{blank 1}} - A_{\text{sample}}) / (A_{\text{blank 1}} - A_{\text{blank 2}})] \times 100$$

Analisis Data Aktivitas ACE-inhibitor

Penentuan IC50 dianalisis secara statistik dengan analisis regresi nonlinier dengan rumus sebagai berikut:

$x = (y-b)/a$	Keterangan: x = Variabel independen y = Variabel dependen
---------------	---

HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu jenis penyakit yang banyak diderita oleh dimasyarakat dewasa adalah hipertensi. Banyak masyarakat Indonesia yang mengandalkan berbagai tanaman obat sebagai terapi hipertensi. Hipertensi menjadi permasalahan global dan diderita oleh sekitar

40% dari populasi dewasa, dimana tekanan darah penderita melebihi 140/90 mmHg (WHO, 2016). Patofisiologi hipertensi sangat ditentukan oleh aktivitas Angiotensin-Converting Enzyme (ACE)(Vikrant & Tiwari, 2001). Angiotensin Converting Enzyme merupakan *membrane anchored dipeptidyl peptidase* yang memainkan peran kunci dalam homeostasis tekanan darah dengan menghidrolisis *inactive decapeptide* angiotensin I (DRVYIHPFHL) menjadi *potent vasoconstrictor* angiotensin II (DRVYIHPF) (García-moreno et al., 2015). Selain itu, ACE juga mengkatalis degradasi bradykinin, suatu *vasodilator nonapeptide*, menjadi fragmen inaktif (Quist et al., 2009). Penghambatan/inhibisi kinerja ACE dianggap sebagai terapi utama dalam mengatasi hipertensi (Aleman et al., 2011).

Tabel 1. pH dan *inhibition rate* ekstrak RJ terhadap ACE

pH	Inhibition rate				
	25	50	100	200	400
5	8,04	15,55	23,01	37,97	61,15

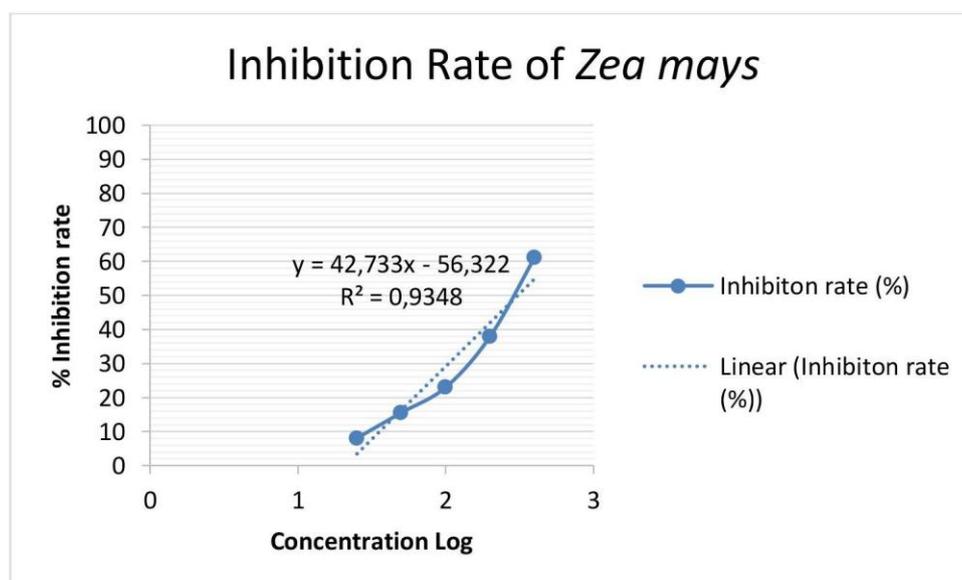
Obat antihipertensi penghambat kerja ACE, ACE-inhibitor, yang ada di pasaran selama ini merupakan pengembangan dari temuan Ferreira pada tahun 1965. Pada waktu itu Ferreira menemukan adanya aktivitas ACE-inhibitor pada peptida yang berasal dari bisa ular *Bothrops jararaca* (Ferreira, 1965). Temuan Ferreira ini selanjutnya dikembangkan dan diproduksi secara komersial dengan nama captopril pada tahun 1975 (Cushman & Ondetti, 1991). Obat-obat ACE-inhibitor semisal captopril, lisinopril, dan enalapril menunjukkan efektifitas yang baik, namun menimbulkan berbagai efek samping, misalnya batuk kering, *skin rashes*, dan angiodema (Kleekayai et al., 2015). Efek samping yang sangat sering terjadi adalah batuk kering (Brown & Vaughan, 1998).

Tabel 2. Log konsentrasi dan *inhibition rate* ekstrak RJ terhadap ACE

Concentration (ppm)	Log Concentration	Inhibiton rate (%)
25	1,398	8,04
50	1,699	15,55
100	2,000	23,00
200	2,301	37,97
400	2,602	61,15

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati terbesar nomor dua di dunia menyusul hutan Amazon (Rintelen, Arida, & Häuser, 2017). Keanekaragaman hayati didefinisikan sebagai variasi atas semua bentuk kehidupan di bumi beserta interaksi antar sesama makhluk hidup maupun diantara makhluk hidup dengan lingkungan fisik. Sebagai negara kepulauan yang terdiri atas ribuan pulau, Indonesia diberkahi dengan keanekaragaman hayati yang unik dan kaya. Indonesia memiliki 143 juta hektar hutan tropis yang menjadi habitat bagi 80% tumbuhan obat dunia. Diperkirakan bahwa di hutan Indonesia terdapat sekitar 28.000 spesies tanaman. Sekitar 40 juta masyarakat Indonesia sangat bergantung kepada keanekaragaman hayati ini dan menggunakan sekitar 6000 spesies tanaman, di antaranya, 1.845 memiliki potensi sebagai obat. Sebanyak 283 spesies tanaman telah terdaftar secara resmi terkait dengan kegunaannya sebagai obat (Elfahmi, 2006).

Di Indonesia sedang banyak dikembangkan pemanfaatan tanaman obat sebagai bahan baku obat, salah satunya adalah obat antihipertensi. Para ahli meyakini bahwa tanaman obat memiliki kelebihan dalam pengobatan hipertensi, bahwa tanaman obat dapat mengobati penyakit penyerta atau komplikasinya. Tanaman jagung merupakan salah satu tanaman obat yang biasa digunakan oleh masyarakat untuk mengobati penyakit hipertensi. Bagian tanaman jagung yang biasa digunakan untuk obat adalah rambut (Rahmayani, 2007), tongkol dan akar (HMH, S, & AS, 1993).



Gambar 1 Grafik *Inhibition Rate* berbanding *log concentration* RJ

Jagung merupakan tanaman asli Indonesia. Produksi jagung dari tahun ke tahun mengalami peningkatan yang tajam. Hal ini mengakibatkan jumlah RJ yang dihasilkan meningkat pula. Sejauh ini belum ada pemanfaatan yang optimal terkait limbah RJ ini. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) telah meneliti bahwa pada RJ terdapat senyawa aktif yaitu saponin, zat samak, flavon, minyak atsiri, minyak lemak, alantoin, dan zat pahit. Selain itu, RJ juga mengandung maysin, beta-karoten, beta-sitosterol, geraniol, hordenin, limonene, mentol, dan viteksin. Beberapa di antara zat senyawa aktif tersebut bermanfaat bagi kesehatan dan dapat berfungsi sebagai zat penurun tekanan darah tinggi ((BPPT), 2005).

RJ dapat digunakan sebagai obat tradisional sebagai peluruh air seni dan penurun tekanan darah tinggi. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Rahmayani (2007), yang menunjukkan adanya kandungan flavonoid dengan gugus -OH pada posisi atom C nomor 5 atau 3, dan 4 yang tersubstitusi (Rahmayani, 2007). Menurut Sofia (2005), juga disebutkan bahwa gugus prenil flavonoid banyak dikembangkan untuk pencegahan atau terapi terhadap penyakit-penyakit yang diasosiasikan dengan adanya radikal bebas, seperti penyakit degeneratif. Flavonoid ini dapat menggantikan sumber vitamin E yang berfungsi untuk tubuh manusia (Sofia, 2005). Selain itu, Budhi (2009), juga menyebutkan bahwa refluks karena hipertensi vena akibat reaksi peradangan, dapat dihambat oleh anti radang fraksi flavonoid (Budhi, 2009).

Tabel 3. Perhitungan IC50 ekstrak RJ terhadap ACE

IC50 (ppm)	
a = 42,733	$x = (50 - (-56,322)) / 42,733$
b = -56,322	$x = 2,49$
y = 50	
$x = (y-b)/a$	IC50 = anti log x = 307,65 ppm

Pada penelitian ini telah diketahui bahwa pH sampel adalah 5, sehingga sampel bisa langsung masuk pada tahap uji aktivitas ACE-i. Dari uji ini diketahui bahwa IC50 dari ekstrak RJ terhadap ACE adalah 307,65 ppm. IC50 dalam penelitian ini merupakan konsentrasi suatu sampel yang dapat menghambat 50% kerja enzim Angiotensin Converting Enzyme. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak RJ dapat dijadikan sumber bahan obat ACE-inhibitor namun masih tergolong memiliki aktivitas yang lemah dibandingkan dengan kontrol (captopril).

SIMPULAN DAN SARAN

Dari uji ini diketahui bahwa IC₅₀ dari ekstrak RJ terhadap ACE adalah 307,65 ppm. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak RJ dapat dijadikan sumber bahan obat ACE-inhibitor namun masih tergolong memiliki aktivitas yang lemah dibandingkan dengan kontrol (captopril). Peneliti menyarankan untuk dilakukan uji fitokimia dan fraksinasi pada ekstrak RJ agar diketahui senyawa aktif dengan kadar mendominasi yang bertindak sebagai ACE-inhibitor.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada Ibu Sapti Puspitarini dan Bapak Bambang yang membantu kami bekerja di laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Universitas Brawijaya, serta Ibu Khusnul yang membantu ekstraksi sampel di Materia Medica Batu, Malang. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah mendukung penelitian ini secara finansial.

DAFTAR PUSTAKA

- (BPPT), B. P. dan P. T. (2005). *Tanaman obat Indonesia*. Retrieved from www.iptek.net.id/ind/pd/tanobat
- Aleman, A., Gimenez, B., Perez-Santin, E., Gomez-Guillen, M. C., & Montero, P. (2011). *Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate*. *Food Chemistry* (Vol. 125). <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.058>
- Brown, N., & Vaughan, D. (1998). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation*, 6(5), 37–38. <http://doi.org/10.1007/s10557-011-6296-6>
- Budhi, S. (2009). Penyakit vena kronis. [*terhubung Berkala*], ([31 Desember 2009]). Retrieved from <http://www.pjnhk.go.id>
- Cushman, D. W., & Ondetti, M. a. (1991). History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Hypertension*, 17(4), 589–592. <http://doi.org/10.1161/01.HYP.17.4.589>
- Elfahmi. (2006). Chapter 2 Jamu : The Indonesian traditional herbal medicine. In *Phytochemical and Biosynthetic Studies of Lignans, with a Focus on Indonesian Medicinal Plants* (pp. 14–34). University of Groningen.
- Ferreira, S. H. (1965). A bradykinin-potentiating factor (bpf) present in the venom of bothrops jararaca. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 24(1), 163–169. <http://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1965.tb02091.x>
- García-moreno, P. J., Espejo-carpio, F. J., Guadix, A., & Guadix, E. M. (2015). Production and identification of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides

- from Mediterranean fish discards. *Journal of Functional Foods*, 18, 95–105.
<http://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.062>
- HMH, W., S, D., & AS, W. (1993). *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia (Jilid II)*. Jakarta: Pustaka Kartini.
- Kleekayai, T., Harnedy, P. A., Keeffe, M. B. O., Poyarkov, A. A., Cunhaneves, A., Suntornsuk, W., & Fitzgerald, R. J. (2015). Extraction of antioxidant and ACE inhibitory peptides from Thai traditional fermented shrimp pastes. *FOOD CHEMISTRY*, 176, 441–447. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.026>
- Masuyer, G., Schwager, S. L. U., Sturrock, E. D., Isaac, R. E., & Acharya, K. R. (2012). Molecular recognition and regulation of human angiotensin-I converting enzyme (ACE) activity by natural inhibitory peptides. *Scientific Reports*, 2, 717. <http://doi.org/10.1038/srep00717>
- Quist, E. E., Phillips, R. D., & Saalia, F. K. (2009). Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of proteolytic digests of peanut (*Arachis hypogaea* L.) flour. *LWT - Food Science and Technology*, 42(3), 694–699. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.008>
- Rahmayani, A. (2007). Telaah Kandungan Kimia Rambut Jagung (*Zea mays* L.). *Skripsi S1 Sains Dan Teknologi Farmasi. ITB*.
- Rintelen, K. Von, Arida, E., & Häuser, C. (2017). A review of biodiversity-related issues and challenges in megadiverse Indonesia and other Southeast Asian countries. *Research Ideas and Outcomes*, 3(e20860), 1–16. <http://doi.org/10.3897/rio.3.e20860>
- Sofia. (2005). Pengobatan penyakit degeneratif perlu pendekatan individu. [*Terhubung Berkala*], ([10 Oktober 2009]). Retrieved from <http://pusdiknakes.or.id>
- Vikrant, S., & Tiwari, S. (2001). Essential Hypertension – Pathogenesis and Pathophysiology. *Indian Academy of Clinical Medicine*, 2, 140–161.
- WHO. (2016). Raised blood pressure.
- Zamora, S. G., & Parodi, R. (2011). Cough and angioedema in patients receiving angiotensin-converting enzyme inhibitors. Are they always attributable to medication? *Revista Argentina de Cardiologia*, 79, 157–163.