

METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN

APLIKASI DAN PRODUKSI



PENULIS

Y. Ulung Anggraito

R. Susanti

Retno Sri Iswari

Ari Yuniastuti

Lisdiana

Nugrahaningsih WH

Noor Aini Habibah

Siti Harnina Bintari



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

**METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN:
APLIKASI DAN PRODUKSI**

Yustinus Ulung Anggraito

R. Susanti

Retno Sri Iswari

Ari Yuniastuti

Lisdiana

Nugrahaningsih WH

Noor Aini Habibah

Siti Harnina Bintari

Diterbitkan oleh:
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Semarang
2018



METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN: APLIKASI DAN PRODUKSI

Penulis : Yustinus Ulung Anggraito
R. Susanti
Retno Sri Iswari
Ari Yuniastuti
Lisdiana
Nugrahaningsih WH
Noor Aini Habibah *et al*
Siti Harnina Bintari

Desain Sampul dan tata letak : Ahmad Faris

ISBN: 978-602-5728-05-1

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak
sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa ijin tertulis dari penulis.

PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke Hadirat Allah SWT, atas segala nikmat, rahmat, dan inayah-Nya sehingga terwujud buku ilmiah dalam bentuk *Book Chapter*. Buku tersebut merupakan salah satu Program Fakultas MIPA dalam memfasilitasi para dosen untuk mengembangkan kemampuan dalam penyusunan buku. *Book Chapter* dengan judul *Metabolit Sekunder pada Tanaman*, merupakan hasil kolaborasi dari beberapa penulis dalam bidang Sains khususnya tentang aplikasi dan produksi zat bioaktif yang terkandung dalam sayuran dan buah-buahan. Pertama dan terutama, saya ucapkan selamat dan terima kasih kepada para penulis yang dengan tekad, semangat dan keseriusannya dalam berkontribusi mewujudkan *Book Chapter* yang membahas zat bioaktif yang terkandung dalam tanaman. Buku ilmiah tentang metabolit sekunder dari tanaman ini, praktis, mudah dipahami, sistematis dan berbasis hasil penelitian yang berwawasan konservasi. Pemahaman dalam menggunakan zat bioaktif terutama yang terkandung dalam buah dan sayur bagi masyarakat Indonesia masih sangat kurang. Salah satu penyebabnya masih kurangnya buku tentang zat bioaktif dalam bahasa Indonesia. Keberadaan buku ilmiah ini sangat berguna untuk dibaca oleh siapapun.

Sebagai pengajar, sudah seharusnya perlu transfer ilmu hasil penelitian terkait baik dalam bentuk pengabdian maupun dalam bentuk tulisan yang informatif, edukatif dan mudah dipahami. Semoga buku ini dapat dijadikan dasar studi yang lebih terperinci atau khusus dan digunakan untuk pengembangan di bidang pangan, kesehatan, dan bidang-bidang lain yang terkait.

Sebagai penutup, besar harapan saya, ilmu yang telah ditulis di dalam buku ini berguna untuk mencegah dan mengobati beberapa macam penyakit. Melalui buku ini saya berharap dapat mendorong anggota masyarakat untuk menyadari mudahnya melakukan gaya hidup sehat

alami dengan zat bioaktif yang mudah didapat. Semoga buku ini berguna dan lebih mendorong semangat kita mengembangkan ilmu pengetahuan untuk kemajuan FMIPA Unnes dan Indonesia yang kita cintai bersama.

Dekan FMIPA UNNES

Prof. Dr. Zaenuri M, S.E., M.Si.Akt.

PENGANTAR

Buku “Metabolit Sekunder Dari Tanaman” cukup menarik dan sangat bermanfaat, dapat menambah wawasan bagi para pembaca terkait metabolik sekunder tanaman yang ternyata mempunyai manfaat bagi tanaman itu sendiri dan juga dapat kita gunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit. Potensial pengembangan metabolit sekunder sebagai bahan pencegahan dan pengobatan penyakit baik bagi tanaman maupun hewan termasuk manusia sangat tinggi karena jenis metabolit sekunder sangat beragam dengan variasi struktur yang besar sehingga proses biokimiawi yang dipengaruhi juga sangat luas. Selain itu, Indonesia merupakan negara yang memiliki jenis tanaman yang sangat banyak variasinya dan tanaman yang berbeda akan menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda pula. Metabolit sekunder yang berbeda dapat mempunyai manfaat yang sama atau manfaat yang berbeda tergantung proses biokimiawi yang dipengaruhi. Hal ini semakin memberi peluang bagi kita untuk menggali manfaat lebih dalam dari metabolit sekunder tersebut.

Dalam buku ini dikemukakan bukti-bukti manfaat metabolit sekunder hasil beberapa penelitian. Beberapa senyawa yang mempunyai manfaat sebagai antioksidan seperti likopen dalam buah tomat, flavonoid rambutan, isoflavon kedelai, dan produksi antioksidan secara kultur juga diuraikan secara jelas dalam buku ini. Selain senyawa yang bersifat antioksidan tersebut juga dikemukakan senyawa antiinflamasi andrograponin serta glukomanan yang sangat bermanfaat dalam pengendalian kadar kolesterol dan glukosa dalam darah sehingga dikatakan sebagai antihiperkolesterolemia dan antidiabetik.

Segala sesuatu pasti ada kelebihan dan kekurangannya termasuk dalam pembuatan buku ini, akan tetapi kekurangan dalam buku ini menurut saya sifatnya hanya teknis saja sehingga saya yakin kekurangan tersebut tidak akan mengurangi makna atau esensi informasi terkait metabolit

sekunder yang akan disampaikan kepada para pembaca. Semoga para pembaca buku ini dapat memanfaatkan informasi dalam buku ini untuk kesehatan dan kesejahteraan masyarakat.

Yogyakarta, 3 April 2018

Dr.Sunarti, M.Kes
Ketua Departemen Biokimia
Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan (FKKMK),
Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta

PRAKATA

Metabolit sekunder (MS) adalah molekul organik yang tidak memiliki peran secara langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan. Metabolit sekunder pada tumbuhan berfungsi spesifik namun tidak bersifat esensial. Metabolit sekunder dapat disintesis oleh organ-organ tertentu tumbuhan, seperti akar, daun, bunga, buah, dan biji. Bagi tumbuhan penghasilnya, MS berfungsi sebagai pertahanan terhadap organisme lain, sebagai atraktan untuk polinator dan hewan penyebar biji, sebagai perlindungan terhadap sinar UV dan sebagai penyimpanan-N.

Sebagai produsen, tanaman dimanfaatkan untuk kesejahteraan manusia, baik sebagai bahan pangan, obat, bahan bangunan, bahan bakar, dan komponen lingkungan bersih dan sehat. Begitu pula metabolit sekunder, banyak dimanfaatkan manusia di berbagai bidang, terutama bidang pangan, kesehatan, lingkungan dan pertanian. Dengan kemajuan teknologi, produksi metabolit sekunder tidak hanya dilakukan secara konvensional tetapi juga melibatkan rekayasa genetika dan kultur jaringan.

Kultur jaringan adalah mengkultivasi jaringan tumbuhan secara *in vitro*. Kultur jaringan tumbuhan dapat dilakukan karena sifat totipotensi sel tumbuhan, yaitu setiap sel tumbuhan mampu tumbuh dan berkembang menjadi tumbuhan baru secara utuh. Pada lingkungan yang sesuai, tanaman hasil kultur dapat distimulasi untuk membentuk senyawa metabolit primer dan sekunder melebihi tanaman induknya. Penambahan sukrosa 25 g/L pada kultur kalus buah kepel (*Uvaria burahol* Blume.) secara signifikan meningkatkan kadar flavonoid. Kalus eksplan mesokarp memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibanding kalus eksplan biji dan daun. Pada kultur kalus kepel (*Uvaria burahol* Blume), flavonoid yang terdeteksi adalah naringenin, suatu flavonoid awal pada jalur biosintesis flavonoid.

Flavonoid merupakan salah satu MS yang berperan sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas yang bersifat toksik. Radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS), merupakan senyawa yang dihasilkan oleh reaksi oksidatif. Antioksidan intrasel (endogen) seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GPX), secara normal terdapat dalam tubuh manusia. Peran antioksidan endogen sangat menentukan pertahanan sel terhadap radikal bebas. Pada kondisi tubuh dengan reaksi oksidatif yang tinggi, diperlukan antioksidan eksogen supaya sel tidak mengalami kerusakan. Antioksidan eksogen dapat diperoleh secara alami pada berbagai jenis tanaman, seperti buah cabai kulit buah rambutan, dan kedelai.

Buah cabai yang banyak digunakan sebagai bumbu masak, mempunyai aktivitas antioksidan 55,96-81,31%. Aktivitas antioksidan paling tinggi terdapat pada paprika merah (81,31%) dan paling rendah pada cabai besar merah (55,96%). Cabai masih muda (berwarna hijau) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan yang tua/matang (berwarna merah/orange), untuk jenis cabai yang sama. Pada saat proses pemasakan buah cabai, metabolisme difokuskan pada sintesis pigmen karotenoid seperti *capsanthin*, *capsorubin*, dan *cryptocapsin*. Aktivitas antioksidan cabai paprika merah (81,31%) lebih tinggi dibanding paprika kuning (77,392%) dan hijau (70,621%).

Kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, antiproliferasi, anti herpes, dan antihiperlikemik. Senyawa antioksidan yang terkandung pada kulit buah rambutan adalah alkaloid, fenolik, steroid, terpenoid, tanin, saponin dan asam askorbat. Efek antioksidan flavonoid pada ekstrak kulit rambutan mampu melindungi kerusakan sel alveolus paru yang dipapar asap rokok, dengan dosis efektif 45 mg/kgBB.

Buah tomat (*Lycopersicon esculentum*) mengandung senyawa MS yang juga berperan sebagai antioksidan, yaitu likopen. Likopen dapat

mengurangi oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) dan membantu menurunkan kadar kolesterol darah. Tingginya aktivitas antioksidan likopen, dikarenakan banyaknya jumlah ikatan rangkap yang terkonyugasi, sehingga kemampuan menangkap oksigen tunggal lebih tinggi dibandingkan β -karoten atau α -tokoferol. Likopen mempunyai efek anti-aterogenik baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Andrografolid adalah metabolit sekunder utama dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*), yang berpotensi sebagai antikanker. Andrografolid adalah diterpenoid dengan rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$. Potensi andrografolid sebagai antikanker melalui mekanisme penghambatan proliferasi sel dan angiogenesis, peningkatan apoptosis dan aktivasi imun terhadap sel kanker.

Isoflavon pada kedelai (*Glicine max* (L) Merr) dan produk olahannya merupakan fitoestrogen sehingga berpotensi menghambat kanker payudara. Isoflavon pada kedelai berbentuk glikosida. Sementara pada hasil olahan kedelai, seperti tempe, isoflavon berbentuk aglikon. Potensi isoflavon aglikon sebagai antikanker lebih tinggi dibanding bentuk glikon. Aktivitas antikanker dari isoflavon terjadi melalui mekanisme antiproliferatif, apoptogenik dan anti-angiogenik.

Glukomanan merupakan polisakarida dari golongan mannan yang terdiri dari monomer β -1,4 α -monnose dan α -glukosa. Glukomanan dari lidah buaya (*Aloe vera*) bersifat antihiperkolesterolemia, karena dapat menurunkan kadar kolesterol darah melalui mekanisme konjugasi glukomanan dengan kolesterol. Di dalam intestinal, glukomanan juga akan mengikat asam lemak sehingga tidak dapat diserap dan sintesis kolesterol dapat terhambat.

Pada buku ini secara lengkap diuraikan konsep dasar tentang metabolit sekunder, peran metabolit sekunder sebagai antioksidan, antiaterogenik dan antikanker, serta berbagai jenis tanaman penghasil metabolit sekunder dan perannya untuk kesejahteraan manusia. Aktivitas

metabolit sekunder sebagai antioksidan, antikanker dan anti-aterogenik sangat ditentukan pada cara penyimpanan, cara pengolahan, dan dosis yang dikonsumsi.

R. Susanti

DAFTAR ISI

	Halaman
PENGANTAR	iii
PENGANTAR	v
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB1 METABOLIT SEKUNDER PADA TUMBUHAN	
1.1. Definisi dan Fungsi Metabolit Sekunder	1
1.2. Macam-macam dan Struktur Metabolit Sekunder	2
1.3. Biosintesis Metabolit Sekunder	6
1.4. Pemanfaatan Metabolit Sekunder dalam Bioteknologi	20
1.5. Simpulan	22
Daftar Pustaka	23
BAB 2 SENYAWA ANTIOKSIDAN ALAMI PADA TANAMAN	
2.1. Pendahuluan	24
2.2. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif	25
2.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan	27
2.4. Aktivitas Antioksidan pada Berbagai Jenis Cabai dan Tanaman	29
2.5. Mekanisme Kerja Antioksidan	34
2.6. Simpulan	37
Daftar Pustaka	38
BAB 3 LIKOPEN SEBAGAI ANTI-ATHEROGENIK	
3.1. Pendahuluan	45
3.2. Senyawa Bioaktif Likopen.....	46
3.3. Bioavaibilitas Likopen	50
3.4. Likopen sebagai Anti-Atherogenik dan Penyakit Kardiovaskuler	58
3.5. Simpulan	63
Daftar Pustaka	64
BAB 4 POTENSI GLUKOMANAN LIDAH BUAYA SEBAGAI ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA	
4.1. Pendahuluan	71
4.2. Senyawa Bioaktif Glukomanan	74

4.3. Bioavailabilitas Glukomanan	78
4.4. Glukomanan sebagai Antihiperkolesterolemi dan Antidiabetik	80
4.5. Simpulan	84
Daftar Pustaka	85
BAB 5 POTENSI FLAVONOID KULIT BUAH RAMBUTAN SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI	
5.1. Pendahuluan	89
5.2. Flavonoid pada Kulit Rambutan	92
5.3. Struktur Kimia Flavonoid	93
5.4. Bioavailabilitas Flavonoid	95
5.5. Flavonoid Kulit Rambutan sebagai Antioksidan	100
5.6. Simpulan	104
Daftar Pustaka	105
BAB 6 POTENSI ANDROGRAFOLID DARI SAMBILOTO (<i>Andrographis paniculata</i>) SEBAGAI ANTIKANKER	
6.1. Pendahuluan	109
6.2. Struktur dan Keamanan Andrografolid	111
6.3. Bioavailabilitas Andrografolid	112
6.4. Andrografolid sebagai Antikanker	119
6.5. Simpulan	122
Daftar Pustaka	123
BAB 7 PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI KULTUR KALUS <i>Stelechocarpus burahol</i>	
7.1. Pendahuluan	125
7.2. Induksi Kultur Kalus	126
7.3. Jenis Flavonoid pada Kultur Kalus <i>S. burahol</i> yang Berpotensi sebagai Antioksidan	133
7.4. Produksi Antioksidan	134
7.5. Simpulan	142
Daftar Pustaka	142
BAB 8 POTENSI ISOFLAVON PADA KEDELAI SEBAGAI ANTI KANKER	
8.1. Pendahuluan	147
8.2. Tempe sebagai Sumber Isoflavon	149
8.3. Bioavailabilitas Isoflavon	152
8.4. Isoflavon Tempe sebagai Anti Kanker	154
8.5. Simpulan	156
Daftar Pustaka	157

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.1. Jumlah metabolit sekunder yang sudah diketahui pada tumbuhan tingkat tinggi	3
1.2. Kelas-kelas utama metabolit sekunder berdasarkan struktur kimia, contoh, dan strukturnya	4
1.3. Pengaruh penggantian cincin terhadap warna antosianidin.	15
2.1. Aktivitas antioksidan pada berbagai tanaman	32
2.2. Aktivitas antioksidan pada berbagai jenis cabai	33
4.1. Perbandingan kandungan glukomanan pada umbi konjak, biji guar gum, dan karagenan	79
6.1. Penelitian andrografolid dan ekstrak sambiloto terhadap sel kanker	113
7.1. Hasil perhitungan DMRT pada perlakuan 2,4-D untuk waktu terbentuknya kalus	129
7.2. Pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap peningkatan aktivitas antioksidan	136

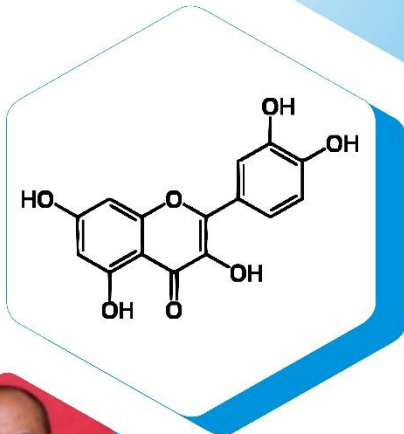
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1.1. Fungsi metabolit sekunder pada tumbuhan	2
1.2. Ringkasan jalur-jalur utama biosintesis metabolit sekunder dan hubungannya dengan metabolisme primer	6
1.3. Monoterpena utama yang mengandung minyak esensial. A. limonen dalam lemon; B. mentol dalam minyak <i>peppermint</i>	9
1.4. Gambaran skematik biosintesis terpena pada sel-sel tumbuhan tingkat tinggi, melalui jalur asam mevalonate dan metileritrito fosfat	11
1.5. Senyawa fenolik yang sering ditemukan pada tumbuhan dengan cincin aromatik dan penggantian satu atau lebih gugus hidroksil, dari molekul yang sederhana hingga sangat kompleks	12
1.6. Kelas-kelas utama senyawa polifenol	13
1.7. Senyawa fenolik tumbuhan disintesis melalui beberapa jalur	14
1.8. Contoh-contoh alkaloid, satu kelompok lain dari metabolit sekunder yang mengandung nitrogen	18
1.9. Biosintesis nikotin diawali dengan sintesis asam nikotinat (niasin) dari aspartate dan gliseraldehid-3-fosfat	20
1.10. Pemanfaatan metabolit sekunder (MS) dalam bioteknologi	21
1.11. Strategi-strategi untuk memproduksi metabolit sekunder	22
2.1. Jenis-jenis cabai	34
3.1. Struktur likopen	49
4.1. Susunan glukomanan dengan unit (GGMM)	75
5.1. <i>Nephelium lappaceum</i> L	92
5.2. Struktur kimia flavonoid	94
5.3. Skema metabolisme flavonoid dalam tubuh	99
6.1. Struktur andrografolid	111

6.2.	Ekspresi Ki67 nampak sebagai sel dengan sitoplasma berwarna coklat (tanda panah) pada jaringan kanker adenokarsinoma mamma	116
6.3.	Dengan metode TUNEL sel adenokarsinoma mamma yang mengalami apoptosis tampak berwarna coklat	120
7.1.	Perbandingan warna dan tekstur kepel pada perlakuan yang berbeda	132
7.2.	Struktur kimia <i>3,7,3',4'-tetrahydroxy-5-methyl-flavone</i>	134
8.1.	Lintasan intraseluler hormon steroid	148

METABOLIT SEKUNDER PADA TUMBUHAN

BAB 1



Yustinus Ulung Anggraito

METABOLIT SEKUNDER PADA TUMBUHAN

Penlis Yustinus Ulung Anggraito

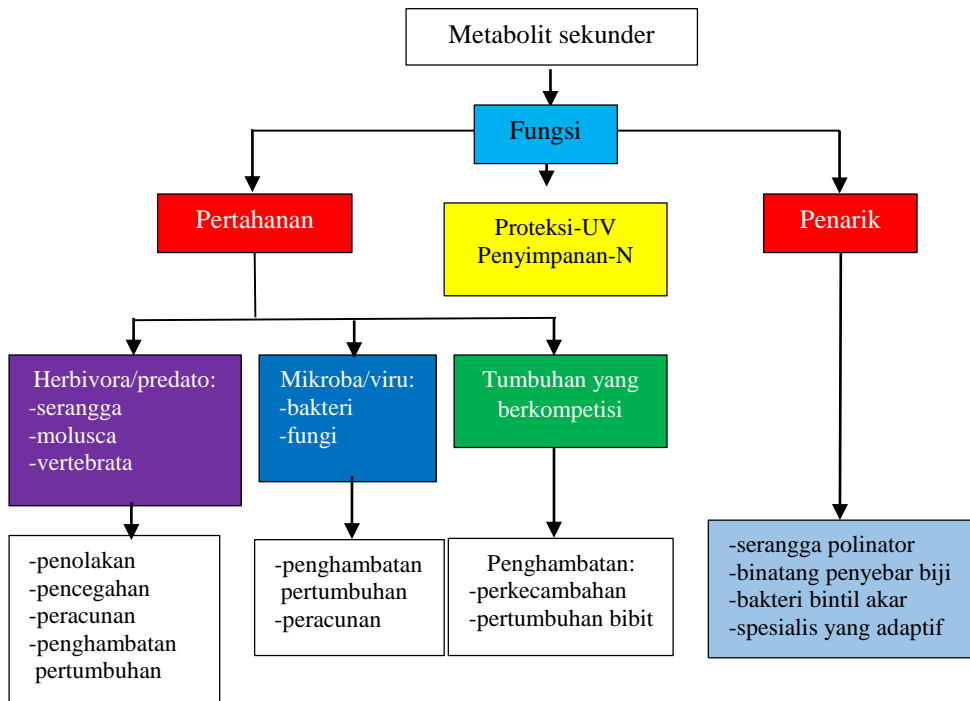
1.1. Definisi dan Fungsi Metabolit Sekunder

Metabolisme merupakan keseluruhan reaksi kimia yang terjadi di dalam suatu organisme. Sebagian besar karbon, nitrogen, dan energi digunakan untuk menyusun molekul-molekul utama: karbohidrat, lemak, protein, dan asam nukleat, yang disebut *metabolit primer*. Sebagian kecil karbon, nitrogen, dan energi juga digunakan untuk mensintesis molekul organik yang tidak memiliki peran secara langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan, dinamakan *metabolit sekunder* (Croteau *et al.*, 2015).

Metabolit sekunder (MS) pada tumbuhan umumnya bersifat sangat spesifik dalam hal fungsi dan tidak terlalu penting karena jika tidak diproduksi, dalam jangka pendek tidak menyebabkan kematian. Biosintesis MS dapat terjadi pada semua organ tumbuhan, termasuk di akar, pucuk, daun bunga, buah, dan biji (Gutzeit & Ludwig-Muller, 2014). Beberapa metabolit disimpan dalam kompartemen khusus, bisa pada organ atau tipe sel yang terspesialisasi. Dalam kompartemen tersebut konsentrasi MS toksik bisa sangat tinggi, sehingga menjadi pertahanan yang efisien terhadap herbivora.

Metabolit sekunder pada tumbuhan memiliki beberapa fungsi: 1) pertahanan terhadap virus, bakteri, dan fungi; tumbuhan yang berkompetisi; dan yang terpenting adalah terhadap herbivora, 2) atraktan (bau, warna, rasa) untuk polinator dan hewan penyebar biji, 3) perlindungan dari sinar UV dan penyimpanan-N (Gambar 1.1). Karena

fungsi-fungsinya ini maka MS seringkali disebut memiliki fungsi ekologis. Senyawa-senyawa yang berperan sebagai pelindung dapat meningkatkan kebugaran reproduktif tumbuhan dengan menangkal fungi, bakteri, dan herbivora.



Gambar 1.1 Fungsi metabolit sekunder pada tumbuhan (Wink, 2010)

1.2. Macam-macam dan Struktur Metabolit Sekunder

Dengan semakin berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, MS banyak dimanfaatkan manusia pada berbagai bidang kehidupan, mulai dari kesehatan, pertanian, pangan, dsb. Hingga kini

sudah puluhan ribu MS sudah diisolasi dan dikarakterisasi (Tabel 1.1), bahkan banyak yang sudah diperdagangkan.

Tabel 1.1 Jumlah metabolit sekunder yang sudah diketahui pada tumbuhan tingkat tinggi

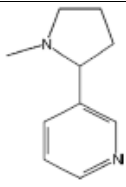
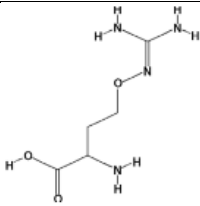
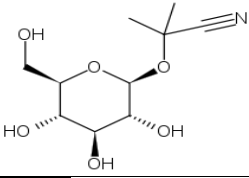
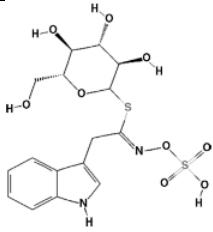
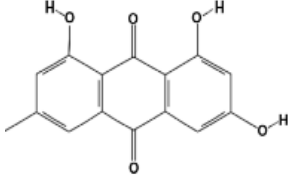
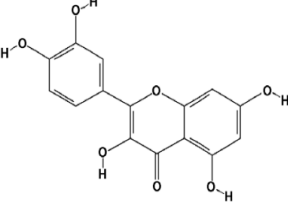
Tipe metabolit sekunder	Jumlah^a
<i>Mengandung Nitrogen</i>	
Alkaloid	21.000
Non-protein amino acid (NPAA)	700
Amina	100
Glikosida sianogenik	60
Glukosinolat	100
Alkamida	150
Lektin, peptida, polipeptida	2000
<i>Tanpa Nitrogen</i>	
Monoterpena (C10) ^b	2500
Seskuiterpena (C15) ^b	5000
Diterpene (C20) ^b	2500
Triterpena, steroid, saponin (C30, C27) ^b	5000
Tetraterpene (C40) ^b	500
Flavonoid, tanin	5000
Fenilpropanoid, lignin, koumarin, lignin	2000
Polisasetilen, asam-asam lemak, lilin	1500
Poliketida	750
Karbohidrat, asam-asam organik	200

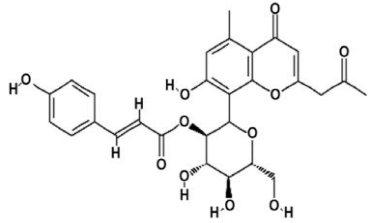
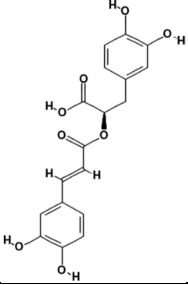
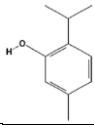
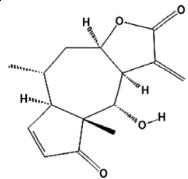
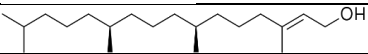
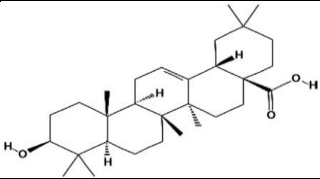
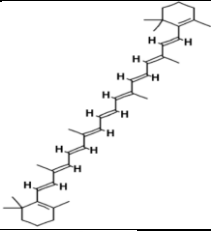
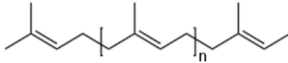
^aPerkiraan jumlah yang diketahui strukturnya

^bTerpenoid total sekarang melebihi 22.000 (Wink, 2010)

Klasifikasi metabolit sekunder secara sederhana terdiri dari tiga kelompok utama: 1) terpena (misalnya volatil, glikosida kardiak, karotenoid, dan sterol; 2) fenolik (misalnya asam fenolat, koumarin, lignan, stilbena, flavonoid, tanin dan lignin); dan 3) senyawa yang mengandung nitrogen (misalnya alkaloid dan glukosinolat) (Agostini *et al.*, 2012). Tabel 1.2 menunjukkan beberapa contoh kelas utama MS dan struktur molekulnya.

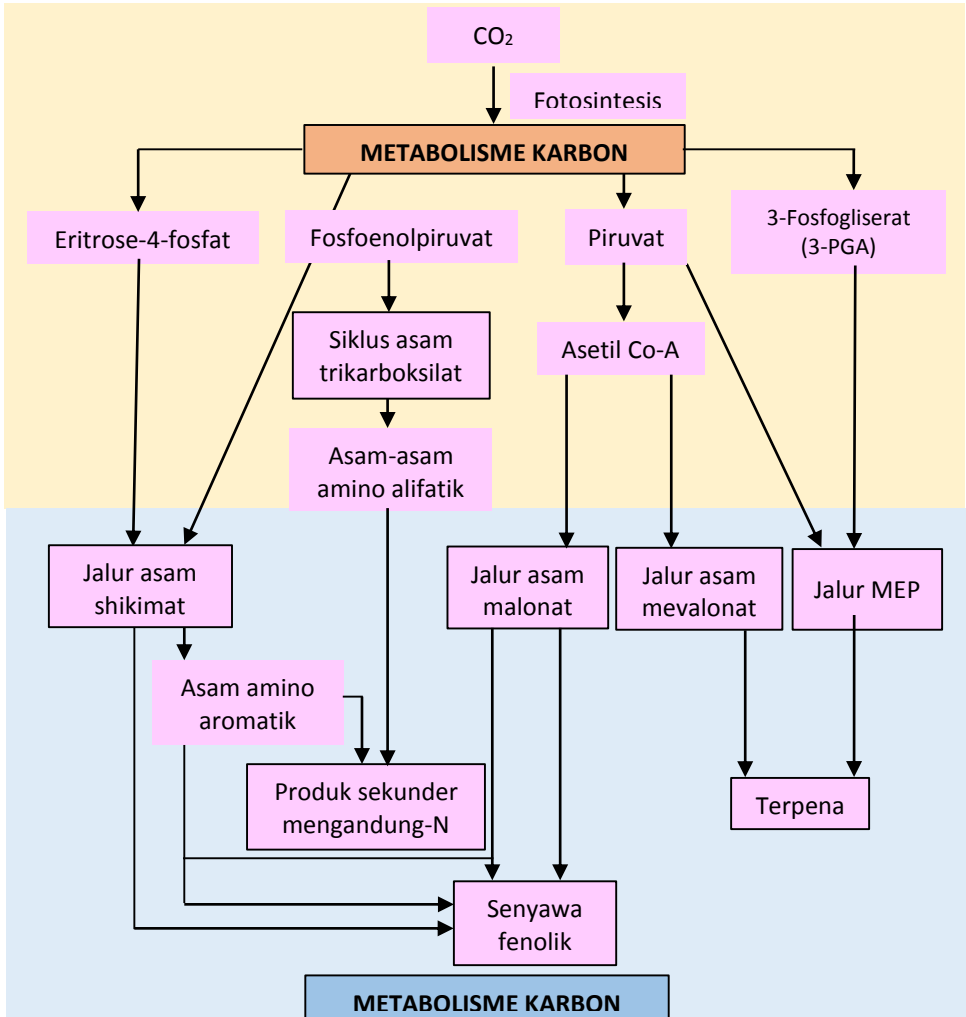
Tabel 1.2 Kelas-kelas utama metabolit sekunder berdasarkan struktur kimia, contoh, dan strukturnya

Kelas senyawa	Contoh	Struktur
Alkaloid yang mengandung N	Nikotin	
Asam amino nonproteinogenik	Kanavanin	
Glikosida sianogenik	Linamarin	
Glikosinolat mengandung N dan S	Glukobrasisin	
Antrakuinon tanpa-N	Emodin	
Flavonoid	Kuersetin	

Kelas senyawa	Contoh	Struktur
Poliketida	Aloresin	
Fenilpropanoid	Asam rosmarinat	
Monoterpena	Thymol	
Seskuiterpena	Helenalin	
Diterpena	Phytol	
Triterpena	Asam oleanolat	
Tetraterpena	β -karoten	
Politerpena	Karet	

1.3. Biosintesis Metabolit Sekunder

Ada tiga jalur utama biosintesis MS, yaitu melalui jalur asam shikimat, jalur asam mevalonat dan jalur *methylerythritol phosphate* (MEP), serta jalur malonate (Gambar 1.2).



Gambar 1.2 Ringkasan jalur-jalur utama biosintesis metabolit sekunder dan hubungannya dengan metabolisme primer (Taiz & Zeiger, 2013).

Jalur biosintetik MS berasal dari berbagai prekursor metabolisme primer. Prekursor adalah molekul yang digunakan oleh enzim biosintetik sebagai substrat dan dikonversi menjadi suatu produk. Produknya bisa berupa intermediet, jadi digunakan sebagai prekursor enzim biosintetik berikutnya, atau sebagai produk akhir dari reaksi tertentu. Dalam suatu skema reaksi yang kompleks, dengan banyak simpangan, suatu intermediet secara simultan juga merupakan prekursor untuk bagian lain dari jalur reaksi. Sebagai contoh, asam sikimat bisa menjadi intermediet untuk metabolisme asam amino dan juga sebagai prekursor untuk biosintesis MS aromatik.

1.3.1. Terpena atau Terpenoida

Terpena atau terpenoida, merupakan kelas MS terbesar dengan ciri pada umumnya tidak larut air. Terpena disintesis dari asetil-CoA atau intermediet glikolisis dan dibentuk oleh penggabungan unit-unit isoprena berkarbon lima. Kelompok terpen disintesis melalui jalur asam mevalonat (MVA) dan jalur *methylerythritol phosphate* (MEP) (Gambar 1.2). Semua terpena berasal dari gabungan elemen berkarbon lima yang memiliki tulang punggung karbon bercabang dari isopentana. Elemen struktur dasar dari terpena disebut juga unit-unit isoprena karena terpena dapat terdekomposisi pada suhu tinggi untuk menghasilkan isoprena, sehingga kadang-kadang disebut sebagai isoprenoida (Croteau *et al.*, 2012).

Terpena diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit penyusunnya yang berkarbon lima, meskipun modifikasi yang ekstensif kadangkala membuatnya sukar untuk memilah residu-residu berkarbon lima

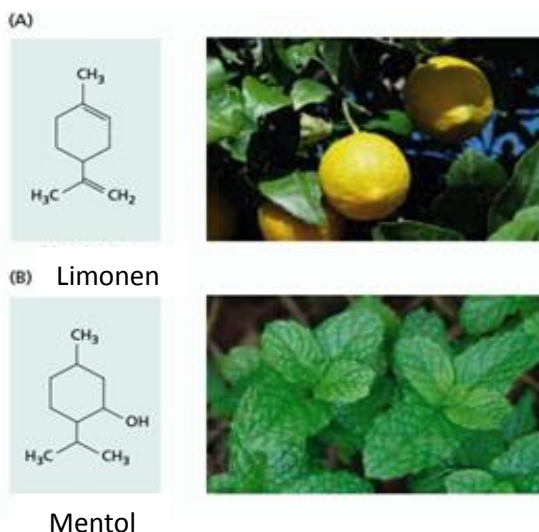
aslinya. Struktur khas terpena adalah mengandung kerangka karbon $(C_5)_n$, dan diklasifikasi sebagai hemiterpena (C_5), monoterpena (C_{10}), seskuiterpena (C_{15}), diterpena (C_{20}), sesterterpena (C_{25}), triterpena (C_{30}), dan tetraterpena (C_{40}) (Wick, 2010).

Senyawa-senyawa terpenoid memiliki sifat antimikroba, antijamur, antivirus, antiparasit, antihiperqlikemik, antialergenik, antiradang, antipasmodik, imunomodulator, dan kemoterapetik, bermacam-macam tergantung pada jenisnya. Terpena merupakan racun dan pencegah makan terhadap sejumlah serangga dan mamalia herbivor; jadi berperan penting dalam pertahanan kingdom tumbuhan. Sebagai contoh, ester monoterpena yang disebut pyrethroida, ditemukan di daun dan bunga spesies *Chrysanthemum*, menunjukkan aktivitas insektisidal. Pyrethroid merupakan neurotoksin yang mengganggu pengiriman pesan sepanjang syaraf dengan menjaga kanal Na dalam kondisi terbuka sehingga *influx* syaraf berulang atau depolarisasi, akibatnya muncul gejala-gejala seperti tremor, pergerakan tidak terkontrol, dan peningkatan produksi air liur pada binatang (EPA, 2014). Pyrethroida merupakan bahan utama insektisida komersial karena sifat persistensinya yang rendah di lingkungan dan toksisitasnya terhadap mamalia dapat diabaikan. Pada konifera seperti pinus dan cemara, monoterpena terakumulasi dalam saluran resin di daun, ranting, dan batang. Senyawa-senyawa tersebut toksik terhadap berbagai serangga, termasuk kumbang kayu, yang merupakan hama utama spesies konifer.

Sejumlah tumbuhan mengandung campuran monoterpena volatil dan seskuiterpena, yang disebut dengan minyak atsiri (*essential oils*),

dengan karakteristik aroma pada daunnya. Pepermin, lemon, kemangi, dan sage merupakan contoh tumbuhan yang mengandung minyak atsiri. Wibaldus *et al.* (2016) mendapatkan rendemen minyak atsiri pada kulit jeruk nipis sebesar 0,23% (b/b). Hasil identifikasi GC-MS menunjukkan bahwa minyak atsiri jeruk nipis mengandung lima senyawa utama yaitu limonen (26,04%), β -citral (10,40%), β -pinen (18,84%), citral (13,09%), dan β -phellandren (6,29%). Pada tanaman *Mentha arvensa*, menthol merupakan komponen utama minyak atsiri dengan persentase tertinggi pada minyak dari bagian pucuk batang (78,16%) dan terendah pada minyak dari bagian stolon (43,7%) (Thawkar *et al.*, 2016).

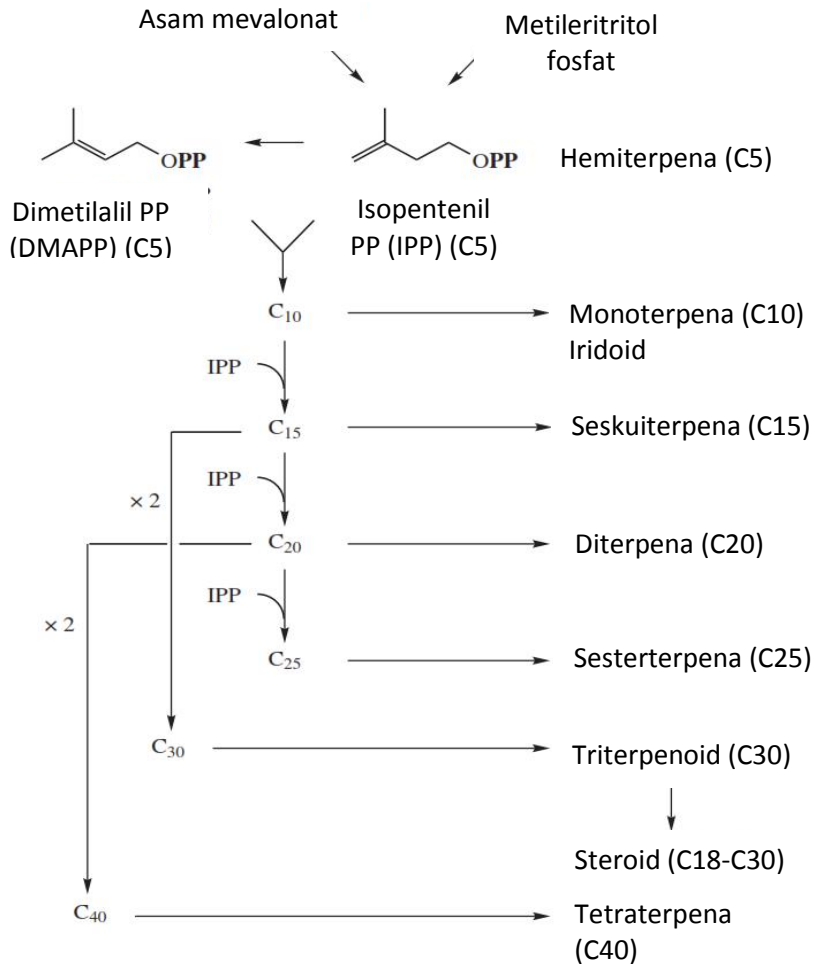
Monoterpena utama yang terkandung dalam minyak lemon adalah limonen; sedangkan dalam minyak pepermin berupa mentol (Gambar 1.3).



Gambar 1.3 Monoterpena utama yang mengandung minyak esensial. A. limonen dalam lemon; B. mentol dalam minyak *peppermint* (Taiz & Zeiger, 2013)

Minyak atsiri memiliki sifat penolak serangga. Senyawa ini sering ditemukan dalam kelenjar minyak yang dikeluarkan dari epidermis, bersifat toksik, sehingga menghindarkan dari serangan herbivora. Triterpena yang melindungi tumbuhan terhadap herbivora vertebrata di antaranya adalah kardenolida dan saponin. Kardenolida merupakan glikosida (senyawa mengandung gula) yang menyebabkan rasa lebih pahit dan sangat toksik terhadap hewan tingkat tinggi. Saponin merupakan steroid dan triterpena glikosida, dinamakan demikian karena sifatnya yang menyerupai sabun. Adanya unsur larut lemak (steroid atau triterpena) dan larut air (sugar) pada satu molekul menyebabkan saponin memiliki sifat seperti deterjen.

Biosintesis terpena pada sel-sel tumbuhan tingkat tinggi ditunjukkan pada Gambar 1.4. Meskipun ada banyak perbedaan struktural di antara terpena, semuanya berasal dari kerangka C isoprene yang sama. Tulang punggung terpena disintesis dari dua prekursor: *isopentenyl pyrophosphate* (IPP) dan *dimethylallyl pyrophosphate* (DMAPP) melalui jumlah ulangan yang berbeda, penyusunan ulang, dan siklisasi. Ada dua jalur yang digunakan, yaitu jalur asam mevalonat (MVA), yang terjadi pada mitokondria dan jalur *methylerythritol phosphate* (MEP) yang terjadi di kloroplas dan plastida lainnya.



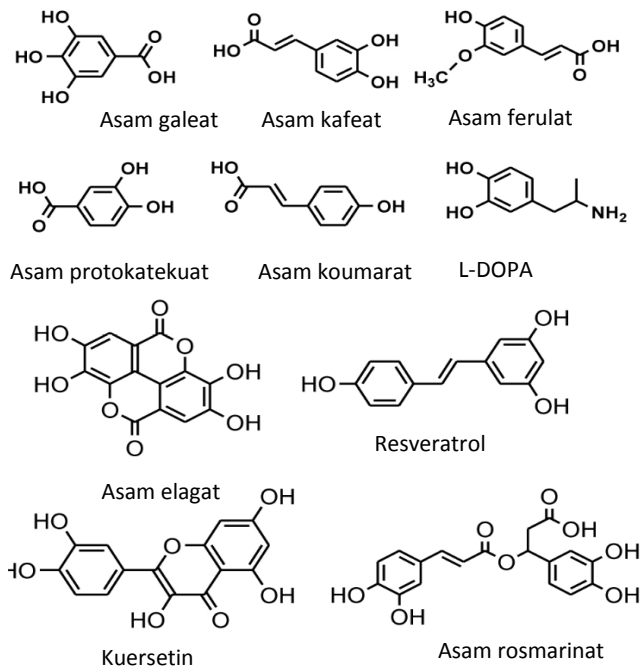
Gambar 1.4 Gambaran skematik biosintesis terpena pada sel-sel tumbuhan tingkat tinggi, melalui jalur asam mevalonate dan metileritrito fosfat (Wick, 2009)

1.3.2. Senyawa Fenolik

Tumbuhan memproduksi berbagai jenis MS yang mengandung gugus fenol: suatu hidroksil fungsional pada suatu cincin aromatik. Senyawa ini diklasifikasikan sebagai senyawa fenolik atau fenolik. Fenolik tumbuhan merupakan kelompok yang secara kimiawi

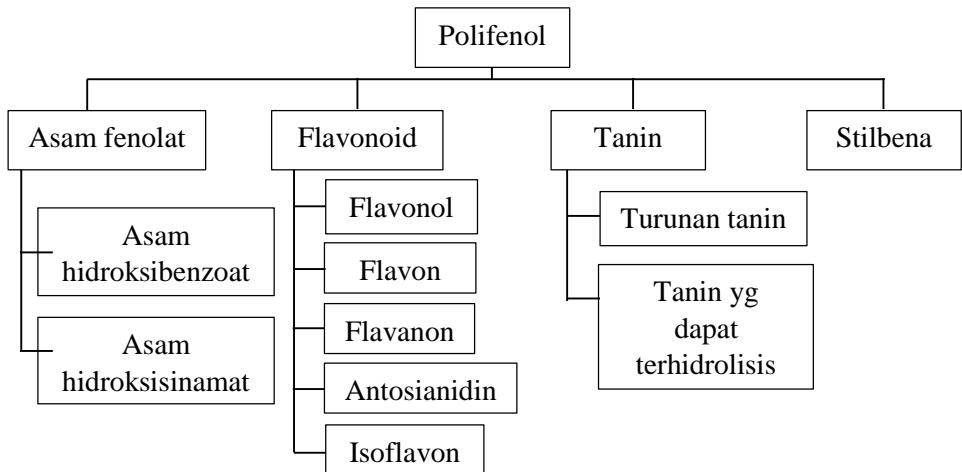
heterogen, hampir 10.000 berupa senyawa tunggal: ada yang hanya larut di pelarut organik, ada yang berupa asam-asam karbositat dan glikosida yang larut air, yang lain merupakan polimer tak larut berukuran besar. Senyawa fenolik terdiri dari berbagai kelompok: flavonoid sederhana, asam-asam fenolat, flavonoid kompleks, dan antosianin.

Senyawa fenolik biasanya dikaitkan dengan respon pertahanan pada tumbuhan. Meskipun demikian senyawa fenolik juga berperan penting dalam proses-proses lain, misalnya atraktan zat untuk mempercepat polinasi, warna untuk kamuflase dan pertahanan terhadap herbivora, dan aktivitas antibakteri dan antifungi (Alasalvar *et al.*, 2001; Acamovic *et al.*, 2005; Edreva *et al.*, 2008).



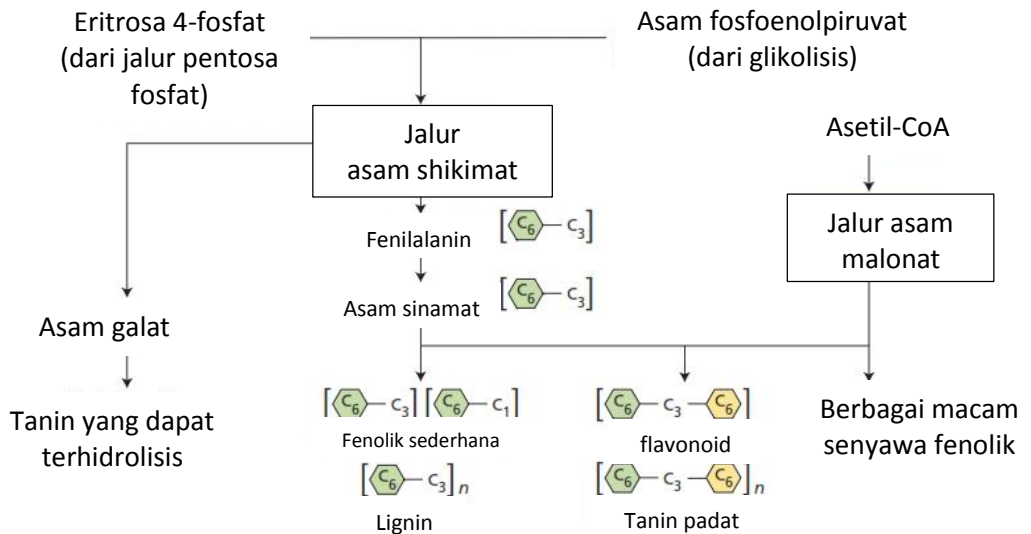
Gambar 1.5 Senyawa fenolik yang sering ditemukan pada tumbuhan dengan cincin aromatik dan penggantian satu atau lebih gugus hidroksil, dari molekul yang sederhana hingga sangat kompleks (Lin *et al.*, 2016)

Senyawa fenolik secara sederhana dapat dikategori menjadi beberapa kelas seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.6.



Gambar 1.6 Kelas-kelas utama senyawa polifenol (Ozcan *et al.*, 2014)

Biosintesis senyawa fenolik dapat melalui dua jalur, yaitu jalur asam shikimat dan jalur asam malonat (Gambar 1.7). Jalur asam shikimat digunakan dalam sintesis kelompok tanin yang dapat terhidrolisis dan senyawa-senyawa berbasis asam amino fenilalanin, misalnya lignin. Jalur asam malonat memanfaatkan asetil-coA sebagai bahan utama. Meskipun bukan merupakan jalur utama, namun intermediet dibutuhkan dalam sintesis berbagai MS dengan penggabungan produk intermediet dari jalur asam shikimat, misalnya dalam pembentukan kelompok flavonoid atau tanin yang tidak mudah terhidrolisis.



Gambar 1.7 Senyawa fenolik tumbuhan disintesis melalui beberapa jalur. Pada tumbuhan tingkat tinggi, sebagian besar fenolik merupakan turunan fenilalanin, suatu produk jalur asam shikimate. Formula dalam kurung mengindikasikan susunan dasar kerangka karbon: C₆ menunjukkan cincin benzene, dan C₃ merupakan rantai tiga karbon. (Taiz & Zeiger, 2013).

Pigmen berwarna dari tumbuhan memberikan isyarat visual yang membantu dalam menarik polinator dan penyebar buah. Pigmen-pigmen yang penting misalnya karotenoid dan flavonoid. Karotenoid bisa berupa senyawa terpenoid kuning, oranye, dan merah yang juga berperan sebagai pigmen asesori dalam fotosintesis. Flavonoid juga termasuk substansi berbagai warna. Antosianin merupakan kelompok flavonoid berwarna yang paling tersebar, bertanggungjawab untuk sebagian besar warna merah, merah muda, ungu, dan biru pada bunga dan buah. Dua kelompok lain flavonoid yang ditemukan pada bunga adalah flavon dan flavonol. Flavonoid kelompok ini biasanya menyerap

cahaya bergelombang lebih pendek dibandingkan antosianin, sehingga tidak terlihat oleh mata manusia. Namun, serangga misalnya lebah, yang dapat melihat lebih jauh ke spektrum kisaran ultraviolet dibandingkan manusia, mampu merespon flavon dan flavonol sebagai isyarat atraktan visual.

Flavonoid berpigmen yang paling melimpah adalah antosianin, yang bertanggungjawab terhadap warna merah, merah muda, ungu, dan biru pada bunga dan buah (Tabel 1.3).

Tabel 1.3 Pengaruh penggantian cincin terhadap warna antosianidin

Antosianidin	Penggantian	Warna
Pelargonidin	4'-OH	Oranye-merah
Sianidin	3'-OH, 4'-OH	Merah keunguan
Delfinidin	3'-OH, 4'-OH, 5'-OH	Ungu kebiruan
Peonidin	3'-OCH ₃ , 4'-OH	Merah mawar
Petunidin	3'-OCH ₃ , 4'-OH, 5'-OCH ₃	Ungu

(Taiz & Zeiger, 2013)

Isoflavonoids sebagian besar ditemukan pada legume, memiliki aktivitas biologis yang berbeda, misalnya rotenon, dapat digunakan secara efektif sebagai insektisida, pestisida (misalnya sebagai racun tikus), dan piscisida (racun ikan). Isoflavon lainnya memiliki efek anti-estrogenik; contohnya, jika domba memakan daun semanggi yang banyak mengandung isoflavonoid dapat mengalami infertilitas. Sistem cincin isoflavon memiliki struktur tiga dimensi sehingga memungkinkan zat-zat tersebut berikatan dengan reseptor estrogen. Isoflavon juga dapat digunakan sebagai antikanker yang diperoleh dari makanan berbahan kedelai.

Kategori kedua dari polimer fenolik tumbuhan yang memiliki sifat pertahanan, selain lignin adalah tanin. Senyawa ini merupakan toksin umum yang dapat mereduksi pertumbuhan dan kehidupan herbivora jika dimakan. Selain itu, tanin berperan sebagai penolak berbagai jenis hewan. Mamalia, misalnya sapi, rusa, dan kera secara khusus menghindari tumbuhan atau bagian tumbuhan yang memiliki kandungan tanin tinggi. Buah yang belum matang, misalnya, seringkali memiliki tanin kadar tinggi, yang mencegah hewan memakan buah tersebut sampai bijinya cukup matang untuk disebarkan. Herbivora yang biasanya makan tumbuhan bertanin tinggi tampaknya memiliki beberapa adaptasi untuk mengilangkan tanin dari sistem pencernaan mereka. Tanin tumbuhan juga berperan sebagai pertahanan terhadap mikroorganisme.

Dari daun, akar, dan seresah, tumbuhan melepaskan berbagai metabolit primer dan sekunder ke lingkungan. Pelepasan senyawa sekunder oleh tumbuhan berakibat negatif pada tumbuhan lain di dekatnya disebut sebagai **alelopati**. Senyawa ini dapat mereduksi pertumbuhan tumbuhan di dekatnya dengan melepaskan bahan kimia ke dalam tanah, sehingga dapat meningkat pada akses terhadap cahaya, air, dan hara. Penurunan hasil tanaman yang disebabkan oleh gulma atau residu dari pertanaman sebelumnya dapat disebabkan hasil dari alelopati.

1.3.3. Persenyawaan yang mengandung nitrogen

Metabolit sekunder yang memiliki nitrogen sebagai bagian dari strukturnya, jumlahnya sangat melimpah. Termasuk kategori ini adalah

yang kita kenal sebagai pertahanan antiherbivora seperti alkaloid dan glikosida sianogenik. Hal yang sangat menarik adalah MS bernitrogen disintesis dari asam-asam amino yang umum.

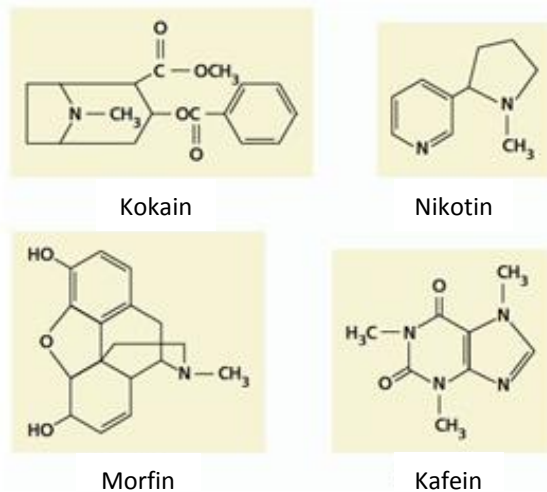
Alkaloid merupakan famili besar, terdiri dari >15.000 MS yang mengandung nitrogen. Persenyawaan ini ditemukan pada hampir 20% spesies tumbuhan berpembuluh. Alkaloid paling dikenal karena efek farmakologisnya yang langsung terhadap vertebrata. Alkaloid biasanya disintesis dari salah satu asam amino tertentu, yaitu lisin, tirosin, atau triptofan. Meskipun demikian, tulang punggung karbon dari sejumlah alkaloid mengandung komponen yang berasal dari jalur terpen. Sebagian besar alkaloid bersifat alkalin. Pada pH 7,2 seperti dalam sitosol atau pada pH 5-6 seperti dalam vakuola, atom nitrogen terprotonasi sehingga alkaloid bermuatan positif dan larut air.

Asam nikotinat vitamin B (niasin) merupakan suatu prekursor piridin (beranggota-enam) cincin dari alkaloid ini. Alkaloid dulu diduga limbah nitrogen, senyawa penyimpanan nitrogen, atau pengatur tumbuh, namun masih sedikit bukti yang mendukung fungsi-fungsi tersebut. Sebagian besar alkaloid sekarang dipercaya berfungsi sebagai pertahanan terhadap herbivora, khususnya mamalia, karena toksisitasnya dan kemampuan pencegahan.

Berbagai senyawa pelindung bernitrogen selain alkaloid ditemukan pada tumbuhan, misalnya glikosida sianogenik dan glukosinolat. Hossain *et al.* (2014), menemukan ada 1102 μg steroidal alkaloid/g kulit kentang kering dan 710.51 μg glikoalkaloid/g kulit kentang kering, serta mengandung α -solanin, α -khakonin, solanidin, dan demisidin. Glikosida sianogenik dan glukosinolat tidak langsung

meracuni, tetapi siap dipecah menghasilkan racun, beberapa di antaranya mudah menguap, ketika tumbuhan digerus. Glikosida sianogenik melepaskan gas hidrogen sianida beracun (HCN) sehingga menghindarkan tumbuhan dimakan oleh serangga dan herbivora lainnya, misalnya siput dan keong. Namun, sejumlah herbivora telah beradaptasi untuk makan tumbuhan sianogenik dan mentolerir dosis tinggi HCN.

Beberapa tipe alkaloid yang berbeda, termasuk nikotin dan kerabatnya (Gambar 1.8), berasal dari ornitin, suatu intermediet biosintesis arginin.



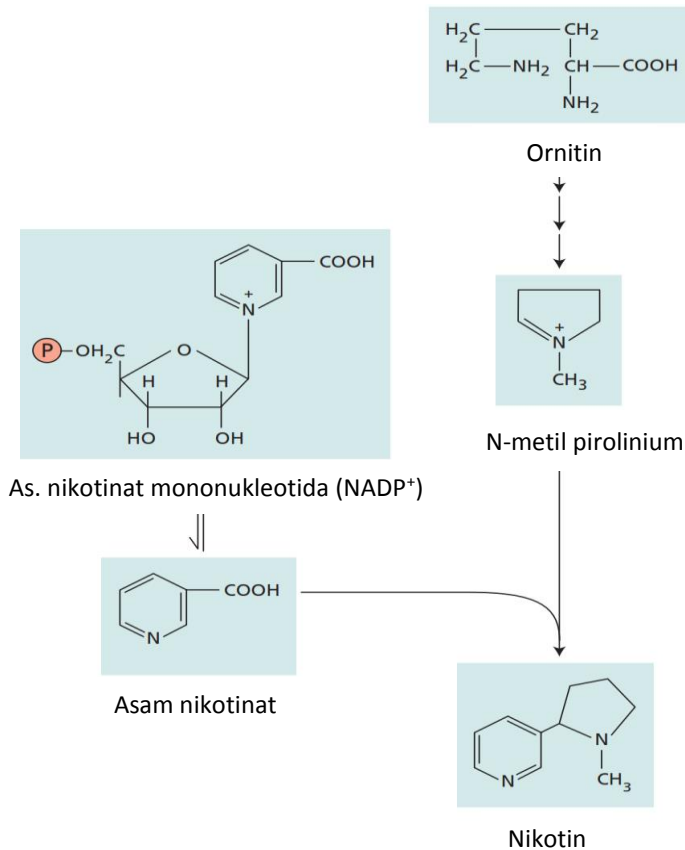
Gambar 1.8 Contoh-contoh alkaloid, satu kelompok lain dari metabolit sekunder yang mengandung nitrogen (Taiz & Zeiger, 2013)

Kelas kedua glikosida tumbuhan, disebut glukosinolat atau glikosida minyak mustard, berfungsi sebagai senyawa pertahanan, banyak ditemukan pada kelompok tumbuhan Brassicaceae dan famili yang

berdekatan. Glukosinolat dipecah, menghasilkan senyawa yang bertanggungjawab terhadap bau dan rasa sayuran misalnya pada kubis, brokoli, dan lobak. Pemecahan glukosinolat dikatalisis oleh enzim hidrolitik, yang disebut tioglukosidase atau mirosinase, yang memecah glukosa dari ikatannya dengan atom sulfur. Produk-produk pertahanan tersebut berfungsi sebagai toksin dan penolak herbivora. Glukosinolat disimpan dalam tumbuhan utuh terpisah dari enzim-enzim yang menghidrolisisnya, dan muncul ketika tumbuhan tersebut hancur.

Tumbuhan dan hewan menggunakan 20 asam amino yang sama dalam proteinnya. Namun, banyak tumbuhan juga mengandung asam amino khas, yang disebut asam-asam amino nonprotein, karena tidak digabungkan dalam protein. Bahkan, asam-asam amino tersebut ada dalam bentuk bebas dan berperan sebagai senyawa pertahanan. Banyak asam-asam amino nonprotein yang sangat mirip dengan asam-asam amino protein umum. Asam-asam amino nonprotein menggunakan toksisitasnya dengan berbagai cara. Beberapa menghambat sintesis atau pengambilan asam-asam amino protein, tetapi tumbuhan tersebut tidak sensitif terhadap toksisitas senyawa ini.

Mengingat begitu banyaknya anggota dari kelompok ini, maka biosintesis MS yang mengandung nitrogen diwakili oleh biosintesis nikotin (Gambar 1.9).

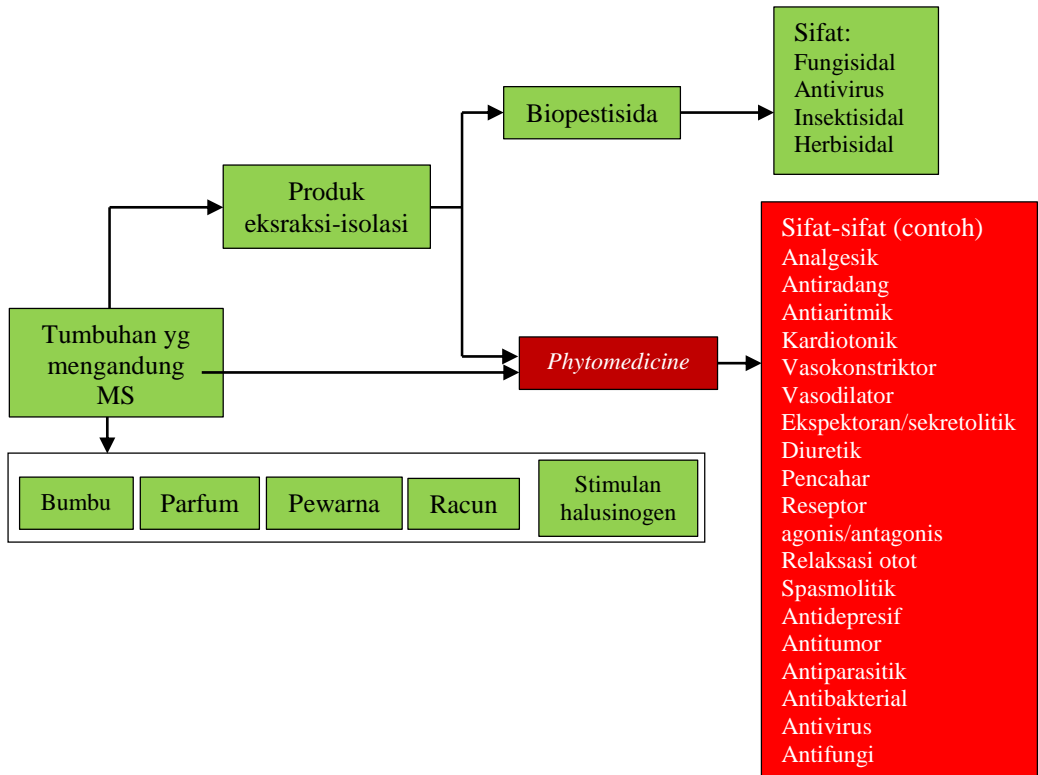


Gambar 1.9. Biosintesis nikotin diawali dengan sintesis asam nikotinat (niasin) dari aspartate dan gliseraldehid-3-fosfat. Asam nikotinat juga merupakan komponen dari NAD⁺ dan NADP⁺, berperan penting dalam reaksi oksidasi-reduksi. Nicotin bercincin lima anggota berasal dari ornitin, suatu intermediet biosintesis arginin (Taiz & Ziger, 2013).

1.4. Pemanfaatan Metabolit Sekunder dalam Bioteknologi

Metabolit sekunder telah berevolusi menjadi senyawa pertahanan hidup tumbuhan dengan mengganggu target-target farmakologis, semakin berkembang karena manusia tertarik melihat potensinya untuk kepentingan manusia melalui bioteknologi. Bidang utamanya adalah *phytomedicine*, dan ribuan tumbuhan sudah dimanfaatkan di seluruh

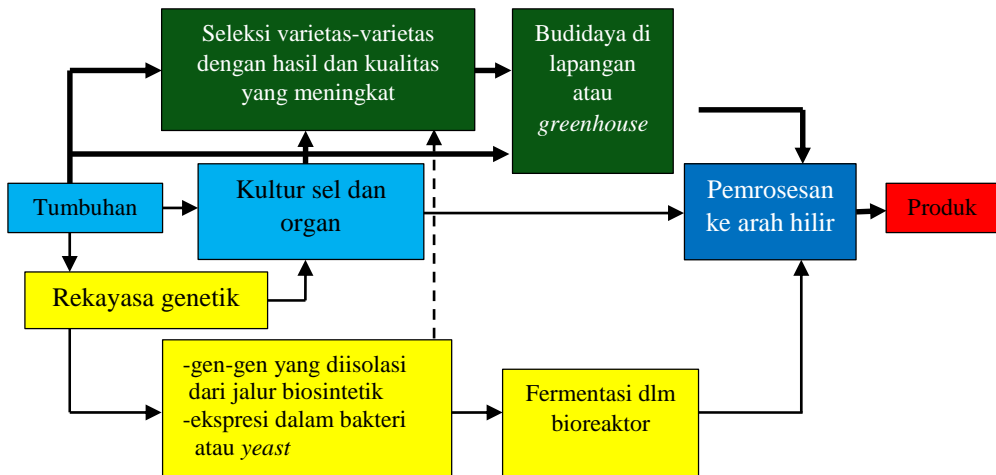
dunia untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Selain itu potensinya semakin meluas dengan dimanfaatkan sebagai antihama, pewarna, parfum, bahkan racun serangga (Gambar 1.10).



Gambar 1.10. Pemanfaatan metabolit sekunder (MS) dalam bioteknologi (Wink, 2010)

Metabolit sekunder pada awalnya diproduksi secara konvensional dengan cara mengekstraksi dan mengisolasi dari tumbuhan yang ada di alam. Dengan semakin berkembangnya pengetahuan dan teknik, produksi MS skala besar dipacu dengan berbagai strategi melalui seleksi tumbuhan dengan sifat unggul, kultur sel dan organ, dan melalui rekayasa genetik (Gambar 1.11). Melalui strategi-strategi tersebut

diharapkan MS dapat diproduksi dalam jumlah besar namun tetap memiliki kualitas yang tinggi sehingga efektif dan efisien.



---> penerapan di masa depan; —> potensi penerapan; —> praktik saat ini

Gambar 1.11. Strategi-strategi untuk memproduksi metabolit sekunder (Sumber: Wink, 2010)

1.5. Simpulan

Metabolit sekunder tumbuhan memiliki fungsi utama sebagai sistem pertahanan. Meskipun tidak berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan, namun MS berperan dalam kelulushidupan suatu organisme, baik dari serangan hama dan penyakit, maupun untuk keberhasilan reproduksi dan penyebarannya. Secara sederhana MS dikelompokkan menjadi tiga, yaitu terpene, fenolik, dan senyawa yang mengandung nitrogen. Dengan pengetahuan dan teknologi yang semakin berkembang, MS banyak dimanfaatkan untuk kepentingan hidup manusia, misalnya di bidang pangan (pewarna, perisa, pengawet, dsb.), kesehatan (antioksidan, antikanker,

antimalaria), lingkungan (antinyamuk, antigulma, dsb.), pertanian (alelopati, atraktan, dsb.). Ada pergeseran dari produksi metabolit sekunder, pada awalnya mengandalkan pada hasil panen, kemudian berkembang menjadi lebih maju dengan memanfaatkan strategi seleksi tanaman unggul, rekayasa genetika, dan teknik kultur jaringan tumbuhan melalui kultur organ dan sel. Dengan kemajuan bioteknologi, MS juga semakin mendukung kehidupan manusia dalam bentuk barang dan jasa yang akan meningkatkan kesehatan dan kesejahteraan manusia.

Daftar Pustaka

- Agostini-Costa TS, Vieira RF, Bizzo HR, Silveira D & Gimenes MA. 2012. Secondary metabolite. In Sasikumar Dhanarasu (Editor). *Chromatography and Its Application*. <https://www.intechopen.com>.
- Alasalvar C, Grigor JM, Zhang DL, Quantick PC & Shahidi F. 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49: 1410-1416.
- Acamovic T & Brooker JD. 2005. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proceeding of Nutrition Society* 64: 403-412.
- Croteau R, Kutchan TM & Lewis NG. 2015. Natural products (Secondary metabolites). In *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, Eds. 2nd Ed. London: Wiley & Blackwell.
- Edreva A, Velikova V, Tsonev T, Dagnon S, Gürel AL & Aktas L. 2008. Stress-protective role of secondary metabolites: Diversity of functions and mechanisms. *Genetic Application of Plant Physiology* 34: 67-78.
- EPA (Environmental Protection Agencies). 2014. Pyrethroids and Pyrethrins. <http://www.epa.gov>. [18-08-2014]

- Gutzeit HO & Ludwig-Muller J. 2014. Plant Natural Products: Synthesis, biological functions and practical applications, First Edition. New York: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.
- Lewis WH & Elvin-Lewis MP. 1995. Medicinal plants as source of new therapeutics. *Annals of Missouri Botanic Garden* 82: 16-24.
- Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, Kong M, Li L, Zhang Q, Liu Y, Qin W, Wu H & Chen S. 2016. An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules* 21(1374): 1-19.
- Thawkar BS, Jawarkar AG, Kalamkar PV, Pawar KP & Kale MK. 2016. Phytochemical and pharmacological review of *Mentha arvensis*. *International Journal of Green Pharmacy* 10(2): 71-77.
- Wibaldus, Jayusuka A & Ardiningsih P. 2016. Bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap rayap tanah (*Coptotermes* sp). *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 5(1): 44-51.
- Wick PD. 2009. *Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach, 3rd Edition*. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.
- Wink M. 2010. Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. In Michael Wink (Editor). *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. Second Edition. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.

SENYAWA ANTIOKSIDAN ALAMI PADA TANAMAN

BAB 2



R. Susanti

SENYAWA ANTIOKSIDAN ALAMI PADA TANAMAN

Penulis R. Susanti

2.1. Pendahuluan

Antioksidan merupakan topik penting dalam bidang kesehatan. Antioksidan mampu melindungi tubuh dengan cara meredam serangan radikal bebas yang bersifat toksik pada sel. Radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS), merupakan senyawa yang dihasilkan oleh reaksi oksidatif. Reaksi oksidatif yang berlebihan (stres oksidatif) di dalam tubuh merupakan salah satu penyebab munculnya berbagai penyakit. Banyak faktor memicu tingginya reaksi oksidatif dalam tubuh, antara lain kondisi lingkungan serta perubahan pola konsumsi makanan. Polusi udara banyak terjadi di lingkungan sekitar, seperti ultraviolet, asap rokok, asap kendaraan, asap pabrik dan lain-lain. Pola konsumsi makanan modern biasanya memiliki kadar lemak, protein, gula dan garam yang tinggi tetapi rendah serat. Hal tersebut mengakibatkan peningkatan proses oksidasi, sehingga menimbulkan berbagai jenis penyakit degeneratif seperti jantung koroner, hipertensi, diabetes melitus, maupun kanker.

Reaksi oksidatif yang berlebihan akan memicu peningkatan kecepatan kerusakan sel akibat induksi radikal bebas turunan oksigen (ROS). Kerusakan sel terjadi akibat tingginya pembentukan ROS sehingga melebihi aktivitas antioksidan (*scavenger*/penangkap radikal bebas) (Fujii *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004). Secara fisiologis, tubuh manusia memiliki mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan intrasel seperti enzim superoksida dismutase (SOD),

katalase dan glutathion peroksidase (GPX) (Sanmugapriya & Venkataraman, 2006). Kerentanan suatu jaringan terhadap kerusakan oksidatif tergantung pada mekanisme pertahanan oksidatifnya, terutama oleh antioksidan endogen. Namun pada kondisi tubuh dengan reaksi oksidatif yang tinggi, diperlukan antioksidan eksogen supaya sel tidak mengalami kerusakan.

Kebutuhan antioksidan eksogen semakin meningkat seiring dengan tingginya kesadaran masyarakat tentang pentingnya hidup sehat. Secara alami, antioksidan bisa didapatkan dari tanaman pangan dan non pangan. Pada tanaman tersebut terdapat senyawa antioksidan yang efektif dan relatif aman seperti flavonoid, tanin, polifenol, alkaloid, vitamin C, beta karoten, vitamin E, dll. Namun, pilihan dan ketersediaan antioksidan alami juga masih terbatas. Sementara, antioksidan sintetik memiliki efek berbahaya jika dikonsumsi manusia. Antioksidan sintetik *Butyl Hydroxy Toluene* (BHT) dan *Tertier Butyl Hydroquinone* (TBHQ) dapat meningkatkan karsinogenesis pada manusia (Amarowicz *et al.*, 2000) dan kerusakan hati (Osawa & Namiki, 1981).

Pada bagian ini akan diuraikan hasil penelitian tentang antioksidan pada cabai dan tanaman lain serta perannya sebagai penangkal radikal bebas sehingga dapat mencegah dan atau mengobati penyakit akibat stres oksidatif.

2.2. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang pada orbital terluarnya ada satu atau lebih elektron tidak berpasangan. Radikal bebas

terbentuk melalui dua cara, yaitu endogen dan eksogen. Secara endogen, radikal bebas dihasilkan dari proses biokimia intrasel dan ekstrasel dalam tubuh. Radikal bebas dari eksogen bisa berasal dari obat-obatan dan polutan lingkungan seperti asap rokok, radiasi atau sinar ultra violet (Langseth, 2000). Beberapa senyawa ROS ada yang bersifat radikal seperti radikal hidroksil (OH^*), radikal superoksida (O_2^*), radikal nitrik oksida (NO^*) dan radikal lipid peroksil (LOO^*). Sementara ROS yang bersifat non radikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen ($^1\text{O}_2$), asam hipoklorat (HOCl), dan ozon (O_3) (Halliwell & Gutteridge, 1999; Langseth, 2000; Lee *et al.*, 2004). Bila radikal peroksi lipid tidak direduksi oleh antioksidan, maka terjadi peroksidasi lipid. Radikal peroksi lipid akan mengalami siklisisasi menjadi malondialdehida (MDA), sehingga MDA digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid untuk menilai stress oksidatif (Jovanovic *et al.*, 2012).

Radikal bebas bersifat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan pada molekul radikal bebas, secara cepat akan menarik elektron makromolekul yang berada di sekitarnya. Makromolekul tersebut akan mengalami peroksidasi dan terdegradasi sehingga menyebabkan kerusakan organel ataupun sel (Halliwell & Gutteridge, 1990). Namun, kerusakan sel tersebut hanya akan terjadi jika jumlah dan aktivitas antioksidan dalam tubuh tidak mampu menetralkan radikal bebas (Gitawati, 1995).

Antioksidan adalah pertahanan untuk menetralkan radikal bebas. Ketidakseimbangan akan terjadi jika pembentukan radikal bebas melebihi sistem pertahanan, sehingga radikal bebas tidak mampu

didetoksifikasi (Saleh & Agarwal, 2002). Terjadinya perubahan keseimbangan karena berlebihnya ROS atau berkurangnya antioksidan yang berfungsi menetralkan ROS, merupakan status positif stress oksidatif. Kondisi tubuh yang berhubungan dengan stres oksidatif adalah penyakit kronis, penuaan, terekspos toksin (Sikka *et al.*, 1995), infeksi, inflamasi, infertilitas (Saleh & Agarwal, 2002), serta penyakit degeneratif (Langseth, 1995).

Untuk meredakan efek radikal bebas diperlukan suatu antioksidan. Hasil penelitian Umarudin *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa efek antioksidan ekstrak tannin seledri mampu menurunkan kadar kolesterol total dan LDL tikus hiperkolesterolemia. Efek antioksidan ekstrak kecambah juga mampu menurunkan kadar MDA spermatozoa tikus hiperglikemia (Hidayat *et al.*, 2015). Efek antioksidan likopen pada ekstrak tomat mampu menurunkan kadar MDA dan glutathione peroksidase tikus hiperkolesterolemia (Iswari & Susanti, 2016).

2.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Metode yang paling lazim digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah metode penangkapan radikal *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Radikal DPPH bersifat stabil dalam larutan berair atau larutan etanol, dalam bentuk teroksidasi memiliki serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm. Metode DPPH ini didasarkan pada kemampuan antioksidan (dari sampel yang diuji) untuk mendonorkan atom hidrogen kepada radikal DPPH. Reaksi DPPH dengan antioksidan akan membentuk DPPH tereduksi (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin*) yang bersifat non-radikal. Warna ungu tua dari DPPH

akan berubah menjadi merah muda atau kuning pucat (warna dari DPPH tereduksi) (Molyneux, 2004; Septiana & Asnani, 2013; Sastrawan *et al.*, 2013). Perubahan warna tersebut bisa diamati dengan spektrofotometer sehingga aktivitas antioksidan (pada sampel) untuk meredam radikal bebas dapat ditentukan (Molyneux, 2004). Kelemahan dari metode DPPH adalah tidak dapat menentukan jenis radikal yang dihambat, aktivitas antioksidan yang terukur adalah antioksidan secara umum (Juniarti & Yuhernita, 2009).

Aktivitas antioksidan biasanya dinyatakan dalam bentuk persentase penghambatan dari DPPH, atau sebagai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (Molyneux, 2004). Efisiensi aktivitas antioksidan senyawa-senyawa murni ataupun ekstrak dapat diukur berdasarkan nilai IC_{50} (Pratama *et al.*, 2013). Semakin tinggi nilai IC_{50} , menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin kecil. Kriteria suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat apabila nilai IC_{50} sebesar 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} 100-150 ppm, dan lemah bila nilai IC_{50} sebesar 150-200 ppm (Molyneux, 2004).

Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH sangat menguntungkan karena sederhana, cepat dan murah karena tidak membutuhkan banyak reagen. Pada metode selain DPPH, biayanya mahal karena membutuhkan banyak waktu dan banyak reagen kimia. Metode selain DPPH juga tidak selalu dapat diterapkan pada semua jenis sampel (Badarinath *et al.*, 2010). Lebih lanjut Badarinath *et al.* (2010) menyebutkan ada 3 golongan metode pengujian antioksidan. Golongan pertama adalah metode transfer atom hidrogen (*Hydrogen*

Atom Transfer; HAT). Termasuk golongan pertama adalah metode *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah metode transfer elektron (*Electron Transfer*; ET). Termasuk golongan kedua adalah *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Metode *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* termasuk metode golongan ketiga (Badarinath *et al.*, 2010).

2.4. Aktivitas Antioksidan pada Berbagai Jenis Cabai dan Tanaman

Semakin tingginya kesadaran masyarakat akan pentingnya senyawa antioksidan, penggunaan antioksidan sebagai bahan makanan dan obat semakin meningkat (Boer, 2000). Berdasarkan sumbernya, ada antioksidan endogen (dihasilkan oleh tubuh) dan eksogen (dari luar tubuh). Antioksidan endogen termasuk antioksidan enzimatik, seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GPX) (Halliwell & Gutteridge, 1999). Antioksidan endogen mampu menetralkan dan mendegradasi senyawa radikal bebas (Valko *et al.*, 2007). Antioksidan eksogen termasuk antioksidan non-enzimatik, seperti α -tokoferol, karotenoid dan vitamin C (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Antioksidan dapat dimanfaatkan sebagai bahan aditif pada produk pangan untuk mencegah kerusakan akibat oksidasi lipid, perubahan warna dan aroma serta berperan sebagai pengawet. Berdasarkan perolehan/asalnya, ada antioksidan alami dan sintetis.

Antioksidan sintetis dibuat dari hasil sintesis reaksi kimia. Sementara antioksidan alami, terdapat pada bahan alam dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Pada sayur-sayuran dan buah-buahan, banyak mengandung antioksidan seperti asam lemak, vitamin C, klorofil, vitamin E, antosianin, β -karoten, flavonoid, flavon, isoflavon, katekin, dan isokatekin (Winarsi 2007). Efek antioksidan vitamin E terbukti dapat mempertahankan kualitas sperma tikus yang terpapar timbal (Yulianto *et al.* 2013). Selain sebagai antioksidan, vitamin A juga juga terlibat pada peningkatan sistem imun. Pemberian vitamin A terbukti dapat menurunkan parasitemia (Isnaeni *et al.*, 2012) melalui peningkatan ROI dan NOI makrofag (Iswari *et al.*, 2015), serta peningkatan IL-12 dan IFN- γ tikus yang terinfeksi *Plasmodium berghei* (Iswari & Susanti, 2016).

Secara sintetis antioksidan dapat dibuat dari bahan-bahan kimia. Termasuk antioksidan sintetis adalah BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), TBQH (*tert-butylhydroquinone*) dan PG (*propyl gallate*) (Heo *et al.*, 2005). Kesadaran masyarakat akan timbulnya berbagai macam penyakit akibat pola makan, gaya hidup dan lingkungan, memunculkan sikap 'kembali ke alam' (*back to nature*). Antioksidan alami dapat menghindari efek samping yang disebabkan oleh antioksidan sintetis BHA, BHT, dan PG yang sangat toksik (Naciye *et al.*, 2008). Di sisi lain, untuk mempertahankan jumlah antioksidan pada bahan pangan, perlu memperhatikan cara penyajian atau pemasakannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktifitas antioksidan umbi-umbian cenderung menurun setelah dimasak. Umbi yang digoreng, aktivitas antioksidannya lebih rendah dibanding

dikukus (Yuniastuti *et al.*, 2017). Pengukusan tomat dapat meningkatkan jumlah senyawa antioksidan (likopen, tokoferol, beta karoten dan vitamin C) sehingga aktivitas antioksidannya juga meningkat dibandingkan tomat yang dijus, direbus ataupun ditumis (Iswari & Susanti, 2016)

Antioksidan alami dari produk metabolit sekunder berbagai tanaman banyak dikaji baik komponen antioksidannya maupun khasiatnya mengatasi berbagai permasalahan kesehatan. Pada Tabel 2.1 disajikan hasil-hasil penelitian tentang aktivitas antioksidan dari berbagai tanaman. Berdasarkan Terlihat bahwa banyak tanaman, baik tanaman pangan (buah, sayur, makanan pokok) maupun non pangan terkandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan.

Tanaman cabai merupakan salah satu komoditi tanaman sayuran, bagian dari kebutuhan pokok sekunder. Berbagai jenis cabai banyak digunakan sebagai bumbu masakan (Gambar 2.1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa, cabai mempunyai aktivitas antioksidan bervariasi yaitu 55,96-81,31% (Tabel 2.2). Aktivitas antioksidan paling tinggi pada paprika merah (81,31%) dan paling rendah pada cabai besar merah (55,96%). Berdasarkan data pada Tabel 2.2 juga terlihat bahwa cabai keriting, cabai rawit dan cabai besar yang masih muda (berwarna hijau) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan yang tua/matang (berwarna merah/orange), untuk jenis cabai yang sama. Seperti diungkapkan Lannes *et al.* (2007), bahwa pada saat proses pemasakan buah cabai, terjadi sintesis pigmen karotenoid seperti *capsanthin*, *capsorubin*, dan *cryptocapsin*. Pigmen *capsanthin* dan

capsorubin memberikan warna merah, sedangkan pigmen betakaroten dan *violanthin* memberikan warna kuning (Prasath & Ponnuswani, 2008). Aktivitas antioksidan cabai paprika merah (81,31%) lebih tinggi dibanding paprika kuning (77,392%) dan hijau (70,621%).

Tabel 2.1. Aktivitas antioksidan pada berbagai tanaman

No	Buah/Bagian buah	Aktivitas antioksidan	Sumber/Acuan
1.	Kulit buah naga super merah	IC50 Antosinain: 73,2772 mg/L	Putri <i>et al.</i> (2015)
2.	Sirsak	Sari buah : 282,61 ppm Ekstrak etanol 96%: 660,08 ppm Ekstrak etil asetat: 480,26ppm	Prasetyorini <i>et al.</i> (2014)
3.	Buah naga merah	Kulit buah: 83,48± 1,02% Daging buah: 27,45± 5,03%.	Nurliyana <i>et al.</i> (2010)
4.	Ekstrak daun kayu bulan	Ekstrak 40%: 544,44 ppm Ekstrak 60%: 478,12 ppm Ekstrak 80%: 236,50ppm	Matheos <i>et al.</i> (2014)
5.	Daun klengkeng	Nilai ES50 ekstrak metanol 40,32 µg/ml kuersetin 2,48 µg/ml.	Salamah & Widayarsi (2015)
6.	Mahkota dewa	Buah muda - dalam etanol, IC50: 84,47 ppm - dalam etilasetat, IC50: 70,97 ppm - dalam n-butanol, IC50: 41,07 ppm - dalam air, IC50: 443,14 ppm Buah tua - dalam etanol, IC50: 81,67 ppm - dalam etilasetat, IC50: 141,93 ppm - dalam n-butanol, IC50: 64,59 ppm (dalam air, IC50: 221,93 ppm)	Soeksmanto <i>et al.</i> (2007)
7.	Malvaceae	Kapuk pendek IC50: 13,495±0,882 Kapuk panjang IC50: 17,919±1,159 Durian IC50: 13,327±0,964 Pahitan IC50: 12,394±0,776 Pungpulutan IC50: 13,708±1,136	Hardiana <i>et al.</i> (2012)
8.	Spirulina	Ekstrak aseton, IC50: 65,89 ppm Ekstrak etil asetat, IC50: 76,36 ppm.	Firdiyani <i>et al.</i> (2015)
9.	Kulit lidah buaya	IC50: 152,87 ppm	Rohmah <i>et al.</i> (in press)
10.	Lidah buaya	Ekstrak gel : 11,93% Konsentrat gel : 6,56% Ekstrak kulit : 85,01%	Moniruzzaman <i>et al.</i> (2012)

Cabai rawit banyak digunakan sebagai bumbu masak dan bahan obat (Rodrigues & Tam, 2010). Tingkat kepedasan cabai rawit bervariasi. Kebutuhan cabai rawit segar dan olahan biasanya menggunakan varietas cabai rawit dengan tingkat kepedasan sedang dan tinggi. Sementara untuk produksi oleoresin atau bahan pelengkap makanan menggunakan varietas cabai rawit dengan tingkat kepedasan rendah (Sharma *et al.*, 2008). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumen lebih menyukai cabai merah besar dengan tingkat kepedasan sedang (Adiyoga & Nurmalinda, 2012). Warna merah cerah cenderung disukai konsumen (Lannes *et al.*, 2007), karena memberikan warna merah pada masakan, sehingga lebih menarik. Cabai merah yang kecil tetapi pedas, juga banyak disukai konsumen (Sota, 2013).

Tabel 2.2. Aktivitas antioksidan pada berbagai jenis cabai

No	Jenis cabai	Aktivitas antioksidan (uji DPPH) (%)
	Cabai keriting (<i>Capsicum Annum var longum</i>)	
1.	Keriting hijau	79,631
2.	Keriting merah	78,567
	Cabai rawit (<i>Capsium frutescens</i>)	
3.	Rawit putih	56,687
4.	Rawit orange	70,146
5.	Rawit hijau lalap	76,805
	Cabai besar (<i>Capsicum annum L</i>)	
6.	Cabai besar hijau	72,916
7.	Cabai besar merah	55,960
	Paprika (<i>Capsicum annum var. Grossum</i>)	
8.	Paprika merah	81,310
9.	Paprika hijau	70,621
10.	Paprika kuning	77,392



Gambar 2.1. Jenis-jenis cabai. 1. Keriting hijau, 2. Keriting merah, 3. Rawit putih, 4. Rawit merah, 5. Rawit hijau, 6. Cabai besar hijau, 7. Cabai besar merah, 8. Paprika merah, 9. Paprika hijau, 10. Paprika kuning

Cabai merupakan sumber alami zat warna dan antioksidan (Howard *et al.*, 2000). Senyawa antioksidan pada cabai adalah vitamin A, E dan C, serta tanin, flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid, fenolik, dan karotenoid (Ikpeme *et al.*, 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar vitamin (A, E, C, niasin, B6, asam folat dan vitamin K) *Capsicum annuum* lebih tinggi dibanding *Capsicum frutescens*. Kadar senyawa tanin, flavonoid, saponin, terpenoid, dan karotenoid lebih tinggi pada *Capsicum annuum* dibanding *Capsicum frutescens* (Ikpeme *et al.*, 2014).

2.5. Mekanisme Kerja Antioksidan

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer

berfungsi mencegah terbentuknya radikal bebas baru. Antioksidan ini berperan sebagai pemberi atom hidrogen. Atom hidrogen dapat diberikan secara cepat ke radikal lipida ($R\bullet$, $ROO\bullet$) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil (Yunanto *et al.*, 2009). Termasuk antioksidan primer adalah enzim SOD, katalase dan GPX (Winarsih 2007). Antioksidan sekunder akan memperlambat laju autooksidasi, dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Termasuk antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan beta karoten. Antioksidan tersier berperan memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas (Yunanto *et al.*, 2009).

Tanin merupakan senyawa bioaktif golongan polifenol. Gugus -OH pada tanin mampu berfungsi sebagai antioksidan karena dapat meredam radikal bebas superoksida (O_2^-), hidroksil, peroksil (ROO^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), oksigen nitrit (NO^-), dan peroksinitrit ($ONOO^-$) yang terdapat di dalam tubuh (Wrasiati *et al.* 2011). Hasil penelitian Aripasha *et al.* (2015) menyatakan bahwa tanin berperan sebagai *scavenger hydrogen peroxide* (H_2O_2) sehingga H_2O_2 tidak bereaksi lebih lanjut menjadi radikal hidroksil (OH^-) dan peroksidasi lipid. Penelitian Umarudin *et al.* (2012) menunjukkan bahwa efek antioksidan ekstrak tanin seledri mampu menurunkan kadar kolesterol total dan LDL tikus hiperglikemik. Mekanisme tanin dalam menurunkan kadar kolesterol total adalah dengan menghambat oksidasi LDL.

Senyawa polifenol bersifat multifungsi dan berperan sebagai antioksidan karena dapat menghambat enzim atau mengikat ion logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas (Suhartono *et al.*, 2007).

Penelitian Yuhernita & Juniarti (2011) menunjukkan bahwa senyawa fenolik berperan sebagai antioksidan dengan kemampuannya menyumbangkan hidrogen. Polifenol dapat menyumbangkan satu elektron pada radikal bebas yang elektronnya tidak berpasangan, sehingga reaksi oksidasi menjadi terhambat (Muqsita *et al.*, 2015). Sebagai antioksidan, polifenol dapat menurunkan oksidasi LDL dan meningkatkan pembentukan *nitric oxide* (NO) (Vita, 2005). NO bersifat anti aterosklerosis, karena NO dapat menyebabkan dilatasi pembuluh darah (vasodilator). Efek antioksidan polifenol juga dilaporkan dapat menurunkan kadar kolesterol dan menghambat aterosklerosis (Langseth, 1995; Septiana *et al.*, 2002).

Saponin adalah golongan senyawa glikosida, dapat membentuk larutan koloidal dalam air dan membuih bila dikocok. Saponin memberikan rasa pahit menusuk. Saponin bersifat iritator pada selaput lendir, sehingga memunculkan respon bersin (Harborn, 1987). Saponin merupakan antioksidan sekunder, mampu menghambat peroksidasi lipid dengan cara membentuk hidroperoksida. Berdasarkan penelitian Akinpelu *et al.*, (2014) saponin memiliki efek antioksidan dan antibakteri. Saponin berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme peningkatan pembentukan SOD dan katalase (Aripasha *et al.*, 2015).

Senyawa alkaloid mengandung satu atau lebih senyawa nitrogen pada bagian cincin heterosiklik. Alkaloid memiliki efek antioksidan (Fadila *et al.*, 2007; Nihal *et al.*, 2010), melalui aktivitasnya sebagai *scavenger* (Fadila *et al.*, 2007; Adyitia *et al.*, 2014). Gugus indol pada senyawa alkaloid, mampu menghentikan reaksi berantai radikal bebas secara efisien (Yuhernita & Juniarti, 2011). Sebagai antioksidan,

alkaloid mampu melindungi sel dari toksisitas dan kerusakan genetik akibat oksidan H₂O₂ (Andiriyani *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang bertindak sebagai antioksidan eksogen (Hu *et al.*, 2013). Hasil penelitian Saritha *et al.* (2010) menunjukkan bahwa flavonoid pada ekstrak *Aloe vera* mampu menurunkan oksidasi lipid dan stres oksidatif. Flavonoid pada gel *A. vera* secara signifikan dapat meningkatkan NO dan kapasitas total antioksidan tikus diabetes yang diinduksi aloxan (Mohamed, 2011). Lebih lanjut Rasyid *et al.* (2012) menyatakan bahwa flavonoid secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA. Efek antioksidan dari flavonoid dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Kemampuan flavonoid untuk mendonorkan ion hidrogen, merupakan aktivitas antioksidan secara langsung terhadap radikal bebas. Secara tidak langsung, flavonoid mampu meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 relates factor 2* (Nrf2) sehingga ekspresi gen SOD (*superoxide dismutase*) meningkat (Aripasha *et al.*, 2015). Efek antioksidan flavanoid pada ekstrak buah pedada (*Sonneratia caseolaris*) mampu menghambat kerusakan sel hati tikus yang diinduksi parasetamol (Lestari & Susanti, 2015). Flavanoid dapat menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan glutation (Furtado *et al.*, 2008).

2.6. Simpulan

Banyak tanaman pangan maupun non pangan yang mengandung senyawa antioksidan alami, dengan jumlah dan aktivitas antioksidan yang bervariasi. Senyawa yang beraktivitas sebagai antioksidan alami

antara lain polifenol, tanin, saponin, alkaloid dan flavonoid serta vitamin C dan vitamin E. Proses penyajian dan pemasakan juga mempengaruhi jumlah dan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan pada 10 jenis cabai bervariasi dari 55,96% sampai 81,31%. Untuk jenis cabai yang sama, cabai yang masih muda (berwarna hijau) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan yang tua/matang (berwarna merah/orange). Banyak penelitian membuktikan bahwa antioksidan mampu menetralkan efek radikal bebas, sehingga dapat digunakan untuk mencegah dan atau mengobati penyakit degeneratif, gangguan fungsi maupun infeksi.

Daftar Pustaka

- Adyitia A, Untari EK & Wahdaningsih S. 2014. Efek ekstrak etanol daun *Premna cordifolia* terhadap malondialdehid tikus yang dipapar asap rokok. *Jurnal Pharmacy Science Research* 1(2): 104-115.
- Akinpelu BA, Igbeneghu OA, Awotunde AI, Iwalewa EO & Oyedapo OO. 2014. Antioxidant and antibacterial activities of saponin fractions of *Erythropheleum suaveolens* (Guill and Perri) stem bark extract. *Science Research Essays* 18(9): 826-833.
- Amarowicz R, Naczki M & Sahidi F. 2000. Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77: 957-961.
- Andiriyani MM, Untari EK & Wahdaningsih S. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bawang mekah (*Eleutherine Americana* Merr.) terhadap kadar malondialdehid tikus wistar jantan pasca paparan asap rokok. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 1(2): 43-50.
- Aripasha A, Andriana D & Purnomo Y. 2015. Efek dekok daun pulutan (*Urena lobata*) terhadap kadar SOD (Superoxyde dismutase) dan MDA (Malondialdehid) serum tikus model diabetes mellitus tipe II. *Jurnal Kedokteran Komunitas* 3(1): 304-311.

- Badarinath AV, Rao KM, Chetty CMS, Ramkanth S, Rajan TVS & Gnanaprakash K. 2010. A Review on *In-vitro* antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. *International Journal of Pharmacy and Technology Research* 2(2): 1276-1285.
- Boer Y. 2000. Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kandis (*Garcinia parvifolia* Miq). *Jurnal Matematika dan IPA* 1(1): 26-33.
- Fadila MB, Sabiha K, Khalida B, Mohamed C, Sandrine A, Yves C, Henry M & Dominique LM. 2007. Antioxidant activities of alkaloid extract of two algerian spesies of fumaria: *Fumaria capreolata* and *Fumiria bastardii*. *Records of Natural Products* 1: 28-35.
- Firdiyani F, Agustini TW & Ma'ruf WF. 2015. Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami *spirulina platensis* segar dengan pelarut yang berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 18(1): 28-37.
- Fujii J, Iuchi Y, Matsuki S & Ishii T. 2003. Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues. *Asian Journal of Andrology* 5: 231-242.
- Furtado RA, Rodrigues EP, Araujo FRR, Oliveira WL, Furtado MA, Castro MB, Cunha WR & Tavares DC. 2008. Ursolic acid and oleanolic acid suppress preneoplastic lesions induced by 1,2-dimethylhydrazine in rat colon. *Journal of Toxicologic Pathology* 36: 576-580.
- Gitawati R. 1995. Radikal bebas-sifat dan peran dalam menimbulkan kerusakan/kematian sel. *Cermin Dunia Kedokteran* 102: 33-36.
- Halliwell B & Gutteridge JMC. 1990. Role of free radical and catalytic logam ions in humans disease: An overview. *Methods in Enzymology* 186: 1-83.
- Halliwell B & Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3th Ed. New York: Oxford University Press Inc.
- Hardiana R, Rudiyanasyah & Zaharah TA. 2012. Aktivitas antioksidan senyawa golongan fenol dari beberapa jenis tumbuhan famili malvaceae. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 1(1): 8-13.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Heo S, Park P, Park S, Kim S & Jeon Y. 2005. Antioxidant activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Eclonia cava* by

- electron spin resonance spectrometry and comed assay. *European Food Research and Technology* 221: 41-47.
- Hidayat E, Susanti R & Marianti A. 2015. Protein profile and mda spermatozoa levels of hyperglycemic mice fed by bean sprouts extract. *Indonesian Journal of Pharmacy* 26(4): 192-199.
- Howard LR, Talcott ST, Brenes CH & Villalon B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* sp.) as influenced by maturity. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48: 1713-1720.
- Hu Y, Xu J & Hu Q. 2003. Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts. *Journal Agriculture and Food Chemistry* 51: 7788-7791.
- Ikpeme CE, Henry P & Okiri OA. 2014. Comparative evaluation of the nutritional, phytochemical and microbiological quality of three pepper varieties. *Journal of Food Nutrition Science* 2(3): 74-80.
- Isnaeni U, Iswari RS, Nugrahaningsih WH & Susanti R. 2012. Pengaruh pemberian vitamin A terhadap penurunan parasitemia mencit strain swiss yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. *Biosaintifika* 4(2): 121-126.
- Iswari RS, Susanti R & Dafip M. 2015. Vitamin A induction in reactive oxygen intermediate and nitric oxide intermediate production againts *Plasmodium berghei*. *Proceedings of the IConSSE FSM SWCU*: 27-33.
- Iswari RS & Susanti R. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak tomat terhadap kadar malondialdehyde (MDA) dan glutathion peroksidase (GPx) plasma darah tikus hiperkolesterolemik. *Prosiding Seminar Nasional Biologi V*. Semarang 29 Oktober 2016: 349-353.
- Iswari RS & Susanti R. 2016. Antioxidant Activity from Various Tomato Processing. *Biosaintifika* 8(1): 129-134.
- Iswari RS & Susanti R. 2016. Vitamin A modulation toward IL-12, IFN- γ production and macrophage activity in malaria disease. *AIP Conference Proceeding* 1744: 020049-1-020049-7.
- Jovanovic JM, Nolic RS, Kocie GM, Krestic NS & Kresmanovic MM. 2012. Glutathione protects liver and kidney tissue from cadmium and lead-provoked lilpid peroxidation. *Journal Serbian Chemical Society* 78(2): 197-207.
- Juniarti OD & Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (BSLT) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-

- pikrilhidrazyl) dari ekstrak daun saga. *Makara Sains* 13(1): 50-54.
- Langseth L. 2000. Antioxidants and their effect on health. Di dalam: Schmidl MK & Labuza TP (Eds.). *Essentials of Functional Foods*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Lannes SD, Finger FL, Schuelter AR & Casali VWD. 2007. Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. *Science Horticulture* 112: 266-270.
- Lee J, Koo N & Min DB. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3: 21-33.
- Lestari RD & Susanti R. 2015. Effectivity of pedada fruit (*Sonneratia caseolaris*) extract to the level of Sgot and Sgpt in rat treated by paracetamol induction. *Biosaintifika* 7(1).
- Matheos H, Runtuwene MRJ & Sudewi S. 2014. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kayu bulan (*Pisonia alba*). *Pharmacon, Jurnal Ilmiah Farmasi* 3(3): 235-246.
- Mohamed EAK. 2011. Antidiabetic, antihypercholestermic and antioxidative effect of *Aloe vera* gel extract in alloxan induced diabetic rats. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5(11): 1321-1327.
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 26(2): 211-219.
- Moniruzzaman M, Rokeya B, Ahmed S, Bhowmik A, Khalil MI & Gan SH. 2012. In vitro antioxidant effects of *Aloe barbadensis* Miller extracts and the potential role of these extracts as antidiabetic and antilipidemic agents on streptozotocin-induced type 2 diabetic model rats. *Molecules* 17: 12851-12867.
- Muqsita V, Sakinah EN & Santosa A. 2015. Efek ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap kadar MDA ginjal pada tikus wistar hiperglikemi. *E-jurnal Pustaka Kesehatan* 3(2): 235-238.
- Naciye E, Guller A & Errol A. 2008. Antioxidant activities of Rosemary (*Rosmarinus officinale* L) extract, black seed (*Nigella sativa* L) essential oil, carnatic acid rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry* 110(1): 76-82.

- Nihal TE, Ferda S & Sedat YV. 2010. Polyphenols, alkaloid and antioxidant activity of diferent grade turkish black tea. *GIDA* 35(3): 161-168.
- Nurliyana R, Zahir IS, Suleiman KM, Aisyah MR & Rahim KK. 2010. Antioxidant study of pulps and peels of dragon fruits: a comparative study. *International Food Research Journal* 17: 367-365.
- Osawa T & Namiki M. 1981. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *eucalyptus* leaf. *Agriculture Biological Chemistry* 45(3): 735-739.
- Prasath D & Ponnuswami V. 2008. Breeding for extractable colour and pungency in *Capsicum*-A review. *Journal of Vegetation Science* 35(1): 1-9.
- Prasetyorini, Moerfiah, Wardatun S & Rusli Z. 2014. Potensi antioksidan berbagai sediaan buah sirsak (*Annona muricata* linn). *Penelitian Gizi Makan* 37(2): 137-144.
- Pratama M, Baits M & Yaqin RN. 2013. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun tomat buah (*Lycopersicon esculentum* Mill, var. Pyriforme Alef) dan tomat sayur (*Lycopersicon esculentum* Mill, var. Commune Bailey) dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 2(1): 76-82.
- Putri NKM, Gunawan IWG & Wayan SIW. 2015. Aktivitas antioksidan antosianin dalam ekstrak etanol kulit buah naga super merah (*hylocereus costaricensis*) dan analisis kadar totalnya. *Jurnal Kimia* 9(2): 243-251.
- Rasyid HN, Ismiarto YD & Prasetia R. 2012. The efficacy of flavonoid antioxidant from chocolate bean extract: prevention of myocyte damage cause by reperfusion injury in predominantly anaerobic sports. *Malaysian Orthopedic Journal* 6(3): 3-6.
- Rodrigues KF & Tam HK. 2010. Molecular markers for *Capsicum frutescens* varieties cultivated in Borneo. *International Journal of Plant Breeding and Crop Science*. 2 (6): 165-167.
- Rohmah AN, Yuniastuti A & Susanti R. Pengaruh ekstrak kulit lidah buaya terhadap kadar malondialdehid dan superoksida dismutase tikus hiperglikemia. *Unnes Journal of Life Science*. In press.
- Salamah N & Widyasari E. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*euphoria longan* (l) steud.) dengan metode

- penangkapan radikal 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaziana* 5(1): 25-34.
- Saleh RA & Agarwal A. 2002. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *Journal of Andrology* 23(6): 737-752.
- Sanmugapriya E & Venkataraman S. 2006. Studies on hepatoprotective and antioxidant actions of *Strychnos potatorium* Linn. seeds on CCl₄ induced acute hepatic injury in experimental rats. *Journal of Ethnopharmacology* 105(1-2): 154-160.
- Saritha V, Anilakumar KR & Khanum F. 2010. Antioxidant and antibacterial activity of *Aloe vera* gel extracts. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive* 1(4): 376-384.
- Sastrawan IN, Sangi M & Kamu V. 2013. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji adas (*Foeniculum vulgare*) menggunakan metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains* 13(2): 110-115.
- Septiana AT & Asnani A. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian* 14(2): 79-86.
- Sharma A, Kumar V & Giridhar P. 2008. Induction of *in vitro* flowering in *Capsicum frutescens* under the influence of silver nitrate and cobalt chloride and pollen transformation. *Journal of Biotechnology* 11(2): 1-6.
- Sikka SC, Rajasekaran M & Hellstrom WJG. 1995. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *Journal of Andrology* 16(6): 464-468.
- Soeksmanto A, Hapsari Y & Simanjuntak P. 2007. Kandungan antioksidan pada beberapa bagian tanaman mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* (scheff) Boerl. (Thymelaceae). *Biodiversitas* 8(2): 92-95.
- Sota Y. 2013. Use of *Capsicum frutescens* in weno, romanum, and piis islands, chuuk atoll, federated states of micronesia. *Occasional Papers* 53: 77-89.
- Suhartono E, Fachir H & Setiawan B. 2007. *Kapita Selekta Biokimia: Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit*. Banjarmasin: Pustaka Banua.
- Umarudin, Susanti R, Yuniastuti A. 2012. Efektivitas ekstrak tanin seledri terhadap profil hiperkolesterolemi lipid tikus putih. *Unnes Journal of Life Science* 1(2): 78-85.

- Valko M, Rhode CJ, Moncol J, Izakovic M & Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico Biological Interactions* 160(1):1-40.
- Winarsih H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Windono T, Soediman S, Yudawati U, Ermawati E, Srielita & Erowati TI. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis vinifera*L.) Probolinggo Biru dan Bali. *Artocarpus* 1: 34-43.
- Wrasiati LP, Hartati A & Yuarini DAA. 2011. Kandungan senyawa bioaktif dan karakteristik sensori ekstrak simplisia bunga kamboja (*Plumeria* sp). *Jurnal Biologi* 17(2): 39-43.
- Yuhernita & Juniarti. 2011. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara Sains* 15(1): 48-52.
- Yulianto RA, Isnaeni W & Susanti R. 2013. Pengaruh pemberian vitamin E terhadap kualitas sperma tikus putih yang dipapar timbal. *Unnes Journal of Life Science* 2(2): 92-99.
- Yunanto A, Bambang S & Eko S. 2009. *Kapita Selekta Biokimia: Peran Radikal Bebas pada Intoksikasi dan Patobiologi Penyakit*. Banjarmasin: Pustaka Banua.
- Yuniastuti A, Iswari RS & Susanti R. 2017. Antioxidant acitivity in various processed products of inferior local tubers (*Dioscorea* sp. L.). *NRLS Conference Proceedings, International Conference on Natural Resources and Life Sciences (2016), KnE Life Sciences*: 35-40.

LIKOPEN SEBAGAI ANTI-ATHEROGENIK

BAB 3



Retno Sri Iswari

LIKOPEN SEBAGAI ANTI-ATHEROGENIK

Penulis Retno Sri Iswari

3.1. Pendahuluan

Atherosklerosis termasuk penyakit kardiovaskuler yang merupakan penyebab utama kematian di dunia. Penyakit ini ditandai dengan tingginya kadar lipoprotein berdensitas rendah atau *low density lipoprotein* (LDL) yang dapat memicu terjadinya penyakit kardiovaskuler seperti penyakit jantung koroner (PJK) atau stroke (Canas *et al.*, 2012). Sampai saat ini atherosklerosis masih menjadi masalah utama bagi kesehatan masyarakat di negara berkembang termasuk Indonesia.

Hasil penelitian epidemiologi menyatakan bahwa banyak mengkonsumsi tomat dan produk-produk tomat yang mengandung likopen mampu mencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler (Wu *et al.*, 2003). Hasil penelitian Basu & Imrhan (2006) melaporkan konsumsi 2-4 mangkok sup tomat atau sekitar 35 mg likopen, mampu mencegah dan mengurangi resiko atherosklerosis. Pemberian likopen tomat terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol total (Nouri & Abad, 2013), trigliserida dan kolesterol-LDL serta meningkatkan kadar kolesterol-HDL (Iswari, 2009; Mohajerin & Sefidan, 2013). Hal tersebut mengurangi potensi arterosklerosis dan dinyatakan bahwa likopen tomat bersifat anti atherosklerosis.

Likopen adalah suatu karotenoid yang mempunyai sifat larut dalam lemak merupakan pigmen yang secara alami memberi warna merah sesuai tingkat kematangan tomat (*Lycopersicon esculentum*) dan

produk-produknya (Shi, 2000). Likopen terlibat secara aktif dalam ekspresi gen melalui reseptor nukleus *Retinoid A Receptor* (RAR) dan *Retinoid X receptor* (RXR) (Takeuchi *et al.*, 2013) dan memicu eliminasi radikal bebas sehingga berdampak pada penurunan sel busa pada penyakit atherosklerosis (Zapata-Gonzalez *et al.*, 2007).

Berbagai penelitian menunjukkan likopen mempunyai efek anti-atherogenik baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Oleh sebab itu, pada bab ini, penulis akan memfokuskan pembahasan tentang efek anti-atherogenik dari likopen. Bab ini juga membahas sumber, fungsi, komposisi kimia likopen, bioavailabilitas dan pengaruh likopen pada kesehatan manusia terutama penyakit kardiovaskuler.

3.2. Senyawa Bioaktif Likopen

Sumber dan fungsi likopen. Tomat dan produk olahan tomat merupakan sumber utama diet likopen. Sumber likopen yang lain diantaranya adalah semangka, anggur merah, aprikot, jambu merah dan pepaya (Goni *et al.*, 2006). Jumlah likopen dalam tomat segar tergantung pada varietas, kematangan, dan kondisi lingkungan dimana tomat matang (Shi, 2000). Buah tomat memiliki kandungan likopen yang melimpah dan paling besar diantara karotenoid yang lain, yaitu mencapai 55,43 mg/ 100 g (Perveen *et al.*, 2015). Reboul *et al.* (2005) menunjukkan dari total sebanyak 6% kandungan likopen tomat terdapat pada kulit tomat. Hasil penelitian Iswari dan Susanti (2016) menunjukkan setiap 100 gram tomat segar mengandung likopen sebesar 27,48 mg dan pada 100 gram tomat kukus sebesar 46,92 mg. Penelitian ini juga mengungkap bahwa tomat yang dikukus memiliki total

kapasitas antioksidan dan aktivitas antioksidan paling tinggi daripada olahan tomat yang lain. Setiap 100 gram ekstrak tomat yang telah dikukus, selain mengandung likopen, juga mengandung antioksidan yang lain yaitu β -karoten (5862,441 μg), vitamin C (22,98 mg) dan α -tokoferol (0,41 mg). Proses pengukusan menyebabkan tekanan dan temperatur tinggi di dalam alat pengukus yang dapat merusak struktur dinding sel dan mengeluarkan antioksidan dalam tomat (Colle *et al.*, 2010).

Dalam tubuh manusia likopen ditemukan dalam serum (antara 21-43% dari total karotenoid), dalam plasma sekitar 0,22 -1,06 nmol/ml (Cohen, 2002). Likopen juga ditemukan dalam berbagai macam jaringan yang terdapat dalam tubuh seperti hati, ginjal, glandula adrenal, testis, ovarium dan kelenjar prostat (Basu & Imrhan, 2006). Likopen berbeda dengan β -karoten, karena likopen tidak mempunyai aktivitas provitamin, dan likopen diketahui lebih efisien mengikat radikal bebas singlet oksigen (Islamian & Mehrali, 2015).

Selain berpotensi sebagai antioksidan, likopen berfungsi menghambat kerja enzim *3-hydroxy-3methylglutaryl CoA reductase* (HMG-CoA reductase) yang berperan dalam sintesis kolesterol di hati. Likopen juga terbukti meningkatkan kadar lipoprotein berdensitas tinggi atau *high density lipoprotein* (HDL) karena likopen berfungsi mengaktifkan reseptor LDL di hati sehingga meningkatkan penyerapan dan meningkatkan degradasi LDL (Arab & Steck, 2000).

Penelitian terkini tentang kandungan tomat juga telah dikembangkan hingga ranah nutrigenomik. Likopen dapat mengurangi risiko penyakit degenerasi macular (gangguan penglihatan yang

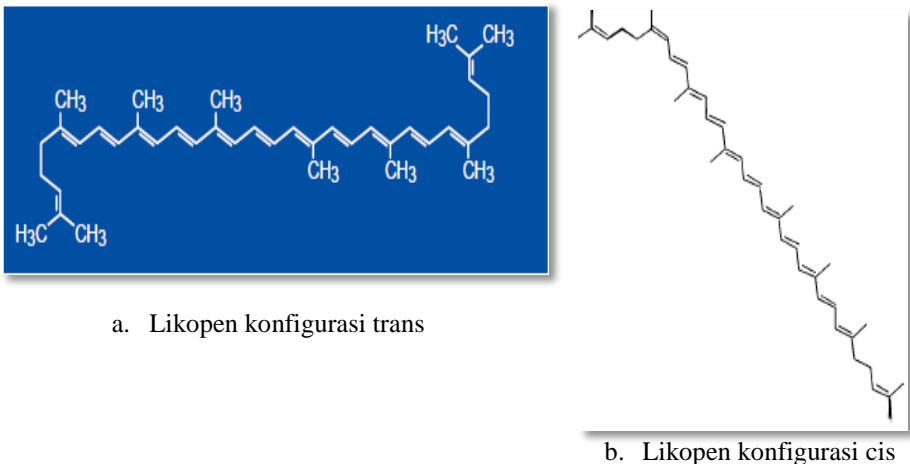
berkaitan dengan bertambahnya usia); oksidasi serum lipid; dan mencegah perkembangan tiga galur beda sel kanker (Takeshima *et al.* 2014). Likopen tomat juga berperan aktif sebagai penghambat proliferasi sel kanker pada manusia salah satunya kanker payudara (Nahum *et al.*, 2001) dan kanker prostat (Ford *et al.*, 2011).

Komposisi kimia likopen. Struktur likopen analog dengan rantai terbuka dari β -karoten akan tetapi tidak mempunyai aktivitas sebagai provitamin A. Struktur likopen berupa senyawa lipofilik, terdiri dari 40 karbon rantai terbuka (*acyclic*) tidak jenuh dengan 13 ikatan rangkap (11 terkonyugasi dan 2 tidak terkonyugasi), dan mempunyai beberapa bentuk isomer *in vivo* yaitu *trans* dan *cis*. Rotasi pada ikatan rangkap yang terkonyugasi pada atom C nomor 11 membentuk sejumlah isomer *cis*, yang mempunyai implikasi sesuai dengan aktivitas biologi dari karotenoid (Bramley, 2000).

Banyaknya ikatan rangkap yang terkonyugasi menjadikannya sebagai antioksidan potensial yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan likopen untuk mengikat oksigen tunggal dan kemampuannya untuk mengikat radikal peroksida. Kemampuan untuk mengikat oksigen tunggal dari likopen 2 kali lipat lebih tinggi daripada β -karoten dan 10 kali lipat dibanding α -tokoferol dan toluen hidroksi butirrat. Dalam plasma manusia, likopen merupakan campuran isomer yang terdiri atas 60% isomer-*cis* dan sisanya *trans* (Richelle *et al.*, 2012).

Likopen dapat mengalami isomerisasi *cis-trans*, yang diinduksi oleh cahaya, energi panas dan reaksi kimia. Sekitar 90 – 98 % likopen alami yang terkandung dalam buah dan sayur dan 79 – 88 % likopen yang terkandung dalam produk olahan tomat adalah dalam bentuk *all-*

trans. Selain itu, lebih dari 50 % likopen yang terkandung di dalam serum dan 80 – 90 % likopen yang terkandung dalam jaringan berbentuk konfigurasi *cis* (Zhang *et al.*, 2012). Pemrosesan dan pemanasan menyebabkan meningkatnya perubahan dari konfigurasi *trans* ke konfigurasi *cis*., sehingga mengakibatkan meningkatnya persentase isomer *cis*-likopen. Selain itu pH lambung yang rendah menyebabkan isomerisasi likopen menjadi bentuk *cis*-likopen (Boileau *et al.*, 2002). Bentuk *cis*-likopen lebih mudah diabsorpsi dan bioavailabilitasnya lebih baik. Dua bentuk likopen yang paling banyak dijumpai dalam jaringan manusia dan hewan adalah bentuk all-*trans* dan 5-*cis*-lycopene (Gambar 3.1).



Gambar 3.1. Struktur likopen (Boileau *et al.*, 2002)

Perubahan temperatur (menjadi panas) menyebabkan likopen terlepas dari matriksnya dan menjadi fase lipid dari makanan (terlarut di dalam lipid). Sifat likopen yang lipofilik, menyebabkan likopen dijumpai terutama dalam fraksi *low density lipoprotein* (LDL) dan *very low density lipoprotein* (VLDL) serum. Berdasarkan sifat tersebut,

mengonsumsi likopen harus diikuti dengan mengonsumsi lemak. Data dari beberapa penelitian pada manusia di India disarankan bahwa minimum dibutuhkan 5-10 gram lemak dalam makanan untuk absorpsi karotenoid (Reddy, 1995). Sebaliknya, sejumlah penelitian lain menemukan bahwa karotenoid diabsorpsi dari makanan dengan lemak yang lebih rendah (Boileau *et al.*, 2002). Secara umum, kandungan lemak sebanyak 40 % dari kalori diet sudah cukup untuk absorpsi likopen secara optimal.

3.3. Bioavailabilitas Likopen

Kebutuhan likopen diet. Tubuh manusia tidak mampu untuk mensintesis likopen, paling sedikit 85% likopen diet diperoleh dari tomat segar dan produk-produk berbasis tomat, sisanya diperoleh dari buah-buah yang lain seperti semangka, anggur merah, jambu dan papaya. Di Inggris konsumsi likopen harian adalah 1,03 mg/ orang (Omoni & Aluko, 2005). Di Jerman, rata-rata intake karotenoid sebesar 5,33 mg/ hari dan rata-rata intake likopen sebesar 1,28 mg/hari. Orang Nederlands, rata-rata intake likopen adalah 1,0 mg / hari untuk laki-laki dan 1,3 mg/ hari untuk wanita (de Munter *et al.*, 1997).

Ketersediaan likopen dalam tubuh. Walaupun 90% likopen dalam sumber diet ditemukan dalam bentuk linier, konformasi all-trans, jaringan dalam tubuh manusia (terutama hati, kelenjar adrenal, jaringan adipose, testes dan prostat) terutama mengandung isomer-cis. Holloway *et al.* (2002) melaporkan bahwa pemberian suplemen diet dari tomat murni selama 2 minggu pada sukarelawan-sukarelawan sehat, menunjukkan pola isomer ditubuh yang berbeda semua

dibanding tomat murni. 5-cis, 13-cis dan 9-cis isomer likopen, tidak terdeteksi dalam tomat murni, meskipun sedikit dominan dalam serum. Analisis likopen plasma pada sukarelawan dengan kondisi sehat, mendapatkan 12 isomer-cis berbeda dan total likopen-cis yang menyumbang sekitar 60-80% dari total kadar likopen (Wu *et al.*, 2003). Penelitian yang berkaitan dengan limpa menunjukkan terjadinya penyerapan yang lebih baik pada isomer-cis dan akibatnya menambah kekayaan dalam jaringan (Boileau *et al.*, 1999). Penelitian fisikokimia menunjukkan isomer-cis lebih efisien bergabung dengan lemak yang bercampur dengan makanan di dalam lumen, kemudian diserap usus halus menjadi kilomikron oleh enterosit. Isomer-cis juga mengalami penggabungan di dalam hati masuk ke dalam very low-density lipoprotein (VLDL) dan disekresi ke dalam darah.

Lebih lanjut, perubahan isomer likopen dari all-trans ke isomer-cis juga terjadi di dalam tubuh manusia karena adanya pengaruh asam lambung. Inkubasi likopen isomer trans dalam kapsul dan distimulasi getah lambung selama 1 menit menunjukkan 40% mengandung isomer-cis, dimana melebihi kadar likopen yang diinkubasi dengan air yaitu sebesar 20% selama 3 jam sebagai kontrol. Akan tetapi inkubasi yang dilakukan pada tomat murni menggunakan getah lambung hanya meningkatkan kandungan isomer likopen-cis sebesar 18%, dibandingkan inkubasi dengan air sebagai kontrol yang hanya 10%. Dengan demikian, pH lambung dan campuran makanan kemungkinan mempengaruhi isomerisasi yang meningkatkan penyerapan dan bioavailabilitas dari likopen-cis (Re *et al.*, 2001).

Proses pemasakan yang melepaskan likopen dari matriks masuk ke fase lipid dari makanan meningkatkan bioavailability. Pasta tomat dan tomat murni yang diolah lebih tinggi bioavailabilitasnya sebagai sumber likopen dari pada tomat mentah (Cooperstone *et al.*, 2015). Faktor-faktor seperti serat, lipid, sterol-sterol tanaman dan obat penurun kolesterol dapat menginterferensi penggabungan likopen ke dalam misel, dengan demikian menurunkan absorpsi (Boileau *et al.*, 2002). Peningkatan kadar likopen serum secara signifikan pada manusia sehat yang sehari-hari selama 1 minggu, mengkonsumsi saus spaghetti (39 mg likopen), jus tomat (50 mg likopen) atau oleoresin (75 atau 150 mg likopen), dibandingkan dengan placebo. Richelle *et al.*, (2002) membandingkan bioavailabilitas likopen dari pasta tomat dan formulasi laktolikopen (likopen dari oleoresin tomat ditanamkan dalam whey matriks protein) pada 2 orang sehat dan dilaporkan hasilnya bahwa bioavailabilitas kedua likopen dari 2 sumber yang berbeda adalah sama.

Konsumsi lemak pada dasarnya dapat digunakan untuk meningkatkan penyerapan likopen, prinsipnya melalui perangsangan produksi empedu untuk pembentukan misel asam empedu (Boileau *et al.*, 2002). Bioavailabilitas likopen dari produk-produk tomat yang dikonsumsi dengan minyak olif cenderung sama dengan minyak bunga matahari. Meskipun aktivitas antioksidan likopen di plasma cenderung meningkat dengan konsumsi minyak olif, akan tetapi penggunaan asam lemak monosaturated lebih direkomendasikan karena mempunyai pengaruh kuat pada absorpsi likopen dan mekanisme kerja antioksidan tersebut (Colle *et al.*, 2012). Penelitian Unlu *et al.* (2005) melaporkan peran lipid-lipid dalam apokat mampu meningkatkan absorpsi likopen.

Proses absorpsi likopen terjadi di dalam usus halus, diawali dengan lepasnya likopen dari matriks makanan. Likopen kemudian bergabung dengan asam lemak, monogliserida dan garam empedu membentuk misel. Misel diserap oleh membran *brush border* sel mukosa usus halus, selanjutnya terbentuk kembali lemak. Di dalam sel mukosa usus, terbentuk kembali lemak kemudian bergabung dengan fosfolipida, protein, kolesterol dan bersama dengan likopen membentuk kilomikron. Belum jelas apakah likopen ditransportasikan masuk ke dalam sel mukosa usus oleh suatu protein spesifik atau bermigrasi di dalam droplet lipid. Selanjutnya kilomikron keluar dari sel mukosa usus masuk ke pembuluh *lympha*, dan akhirnya masuk ke dalam peredaran darah. Di dalam peredaran darah dengan bantuan enzim lipoprotein lipase pada kilomikron, likopen dan karotenoid lainnya dapat masuk ke berbagai jaringan secara pasif, seperti kelenjar adrenal, ginjal, jaringan adiposa, limpa dan paru-paru. Sisa kilomikron akhirnya masuk kembali ke dalam hati untuk mengalami proses pemecahan kembali menjadi senyawa-senyawa penyusunnya. Likopen dan karotenoid dapat terakumulasi di hati dan mengalami pengemasan kembali menjadi *very low density lipoprotein* (VLDL). VLDL kemudian masuk ke dalam peredaran untuk dibawa ke jaringan adiposa. Selama dalam perjalanan menuju ke jaringan adiposa, VLDL mengalami transformasi menjadi LDL (Henry *et al.*, 2015).

Mekanisme kerja likopen. Likopen, karena ikatan rangkap yang terkonyugasi jumlahnya tinggi, menunjukkan kemampuannya menangkap oksigen singlet lebih tinggi dibanding dengan β -karoten atau α -tokoferol (Miyamoto & Di-Mascio, 2014). Likopen juga

menunjukkan keterlibatannya pada metabolisme dan oksidasi lipid dan perkembangan atherosklerosis. LDL merupakan kolesterol yang berkaitan dengan timbulnya plak pada pembuluh darah arteri. Likopen dapat mengurangi oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) dan membantu menurunkan kadar kolesterol darah (Ried & Fakler, 2011). LDL-teroksidasi adalah atherogenik tinggi sebagai perangsang akumulasi kolesterol dan pembentukan sel busa, menjadikan terbentuknya garis-garis lemak dari atherosklerosis (Libby, 2006).

Konsumsi likopen diet dari tomat dapat meningkatkan kadar likopen darah dan jaringan dan aktivitasnya sebagai antioksidan mencegah terjadinya atherosklerosis. Likopen berperan dalam menangkap oksigen reaktif dan mereduksi kerusakan oksidasi lipid membran (lipoprotein dan fosfolipid), protein-protein yang termasuk enzim, dan DNA. Reduksi stres oksidatif selanjutnya menyebabkan penurunan resiko penyakit kronis yang berhubungan dengan stres oksidatif seperti penyakit kardiovaskuler (Omoni dan Aluko, 2005). Selain itu, peningkatan status likopen dalam tubuh berperan dalam mengatur fungsi gen, meningkatkan komunikasi intraseluler, merangsang hormon dan respon imun atau mengatur metabolisme, dengan demikian menurunkan resiko penyakit kronis (Agarwal & Rao, 2000). Peran likopen pada penyakit kardiovaskuler melalui penghambatan HMG-CoA reduktase seluler, enzim yang membatasi sintesis kolesterol. Mekanisme likopen dalam menghambat enzim HMG-CoA *reductase* mirip dengan mekanisme statin (Palozza *et al.*, 2012). Enzim ini berperan dalam pembentukan mevalonat yang merupakan bahan baku dalam pembentukan kolesterol. Dengan

dihambatnya aktivitas enzim HMG-CoA reductase maka tidak terbentuk mevalonat sehingga tidak terbentuk pula kolesterol, akibatnya berefek hipokolesterolemik, mengaktifkan reseptor LDL serta meningkatkan degradasi kolesterol.

Likopen merupakan inhibitor kompetitif substrat dari HMG-CoA reductase yang mengikat sisi aktif enzim. Perubahan konformasi menyebabkan struktur sisi aktif HMG-CoA reductase berubah dan tidak dapat ditempel substrat (Simionescu 2001). Penurunan aktivitas enzim HMG-CoA reductase mengakibatkan sintesis kolesterol dalam sel hati berkurang. Kadar kolesterol intraseluler yang rendah mengakibatkan hati meningkatkan regulasi aktivitas reseptor LDL untuk memasok kolesterol. Peningkatan regulasi reseptor LDL disebabkan karena meningkatnya proses *sterol regulatory element binding protein 2* (SREBP-2), suatu aktivator transkripsi yang memainkan peran penting dalam pemeliharaan homeostasis kolesterol (Lagor & Millar, 2010). LDL yang masuk ke dalam hati mengalami hidrolisis oleh lisosom, kolesterol dapat mengalami reesterifikasi menjadi kolesterol ester melalui *acyl CoA: acyl transferase* (ACAT) atau diubah menjadi asam empedu (Parini *et al.*, 2004). Pemberian likopen akan menyebabkan aktivitas ACAT menurun dan menghambat akumulasi kolesterol ester (Fujiwara *et al.*, 2007).

Likopen dan semua jenis karotenoid akan diubah menjadi retinoldehide yang didistribusikan ke dalam sitoplasma. Retinoldehide didalam sitoplasma diubah menjadi *retinoic acid* yang akan berikatan dengan reseptor nukleus *Retinoid A Receptor* (RAR) dan *Retinoid X receptor* (RXR) (Takeuchi *et al.*, 2013). Komplek Retinoic Acid-RAR/

RXR tersebut membentuk heterodimer DNA sel dan memicu transkripsi protein reaksi fase akut seperti IL-12 dan TNF α sehingga mempengaruhi sistem kekebalan tubuh (Zapata-Gonzalez *et al.*, 2007). IL-12 yang tinggi akan memacu proliferasi sel T menjadi Th serta memicu sekresi IFN- γ oleh sel NK dan Th₁ maupun Th₂. Hal tersebut meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan memberi perlindungan terhadap infeksi patogen. Aktivasi RAR/RXR memiliki efek beruntun terhadap aktivasi reseptor lain seperti *Lipid X Receptor* (LXR) yang diduga mampu mengaktifkan (*up regulation*) maupun menurunkan (*down regulation*) gen yang berkaitan terhadap metabolisme lipid, pembentukan atherosklerosis dan distribusi lipid.

Stabilitas Likopen. likopen mempunyai struktur siklik dan planar simetrik dan tidak mempunyai aktivitas vitamin A, dan lebih banyak sebagai polien terkonjugasi. Karakteristik tersebut, mengakibatkan likopen rentan terhadap degradasi oksidatif. Faktor-faktor fisika kimia diketahui mendegradasi karotenoid termasuk temperatur, paparan cahaya, oksigen, pH yang ekstrim, dan molekul-molekul dengan permukaan yang aktif yang dapat melabilkan ikatan rangkap (Rao *et al.*, 2006).

Dalam suatu penelitian determinasi potensial fotoprotektif dari antioksidan diet dilakukan oleh Offord *et al.* (2002) karotenoid yang dipersiapkan dalam formulasi nonpartikel spesial bersama dengan vitamin C dan/ atau vitamin E. Adanya vitamin E dalam formulasi selanjutnya meningkatkan stabilitas dan pengambilan likopen seluler, yang disarankan bahwa vitamin E dalam nonpartikel, melindungi likopen melawan transformasi oksidatif. Sehingga disimpulkan bahwa

stabilitas likopen ditingkatkan oleh formulasi nonpartikel dan inkorporasi vitamin E. Badimon *et al.* (2010) meneliti stabilitas likopen selama pemanasan dan iluminasi. Stabilitas likopen dalam bentuk kristal yang disimpan pada berbagai temperatur (5,25-35 °C) dalam kontainer yang rendah udara, diséal di bawah gas inert, dan dilindungi dari cahaya. Setelah 30 bulan disimpan, kristal likopen tetap stabil (Barros *et al.*, 2011). Likopen sintetik seperti 5% TG (*tablet grade*) dan likopen 10% WS (*water soluble*) dalam formulasi butiran disimpan lebih dari 24 bulan likopen 10% FS (*fluid suspension*) dalam formulasi likuid diuji lebih dari 12 bulan dalam simpanan di bawah kondisi berbagai temperatur (5-25 °C), semua tetap stabil. Untuk 10% WS likopen dalam bentuk butiran, yang diismpn dalam cahaya dan temperatur ruang yang sesuai setelah 12 bulan rata-rata menjadi 93% dari berat awal (Pool-zobet *et al.*, 1997).

Keamanan likopen. Isue keamanan karotenoid menarik banyak perhatian setelah publikasi percobaan suplementasi β -karoten yang hasilnya negatif. Yang menarik dari penelitian tersebut adalah terjadinya peningkatan resiko kanker paru terkait dengan peningkatan kadar β -karoten plasma menjadi 12 dan 16 kali dengan suplementasi. Walaupun suplementasi menyebabkan peningkatan 11 kali kadar β -karoten, kadar terakhir β -karoten dicapai relatif rendah 0,5 μm . Tetapi hasil review beberapa penelitian yang mengukur kadar β -karoten serum dan likopen setelah suplementasi disarankan bahwa kadar β -karoten serum secara signifikan lebih tinggi dari pada penemuan likopen. Kadar serum yang dicapai untuk likopen tidak secara langsung berhubungan dengan jumlah suplementasi karotenoid (Nahum *et al.*, 2001). Sebagai

contoh, suplementasi yang tinggi 75 mg/ hari tidak meningkatkan kadar likopen serum lebih dari 1 μm .

Likopen dan hubungannya dengan mikronutrien yang lain.

Sumber likopen paling banyak digunakan dalam penelitian-penelitian manusia adalah produk-produk tomat, ekstrak tomat yang mengandung likopen, mikronutrient tomat lainnya dan atau karotenoid dalam berbagai sifat. Beberapa penelitian menunjukkan efek likopen dalam meredakan kondisi kronik adalah pada subyek yang diberi makan berbasis tomat, atau ekstrak tomat tetapi tidak dengan likopen murni. Sebagai contoh, preparasi oleoresin digunakan dalam berbagai penelitian juga mengandung karotenoid tomat yang lain seperti fiton, fitofluen dan β -karoten (Mapelli-Brahm *et al.* 2017).

3.4. Likopen sebagai Anti-Atherogenik dan Penyakit Kardiovaskuler

Hasil penelitian menunjukkan bahwa oksidasi LDL yang membawa kolesterol dalam aliran darah berperan penting dalam perkembangan aterosklerosis yaitu penebalan dan pengerasan dinding arteri akibat penumpukan LDL di dalam dinding pembuluh darah (Lloyd-Jones *et al.*, 2016). LDL yang teroksidasi sangat mudah menempel pada dinding pembuluh darah. Oksidan yang dihasilkan memicu diapedesis monosit, limfosit dan leukosit bergerak dari aliran darah melewati pembuluh darah dan menuju tunika intima. Sel monosit berdiferensiasi menjadi makrofrag yang memfagositosis LDL-teroksidasi membentuk sel busa yang berisi kolesterol-LDL. Mekanisme tersebut melepaskan sejumlah radikal bebas *reactive*

oxygen spesies atau ROS (Khan & Yeole, 2005). Terbentuknya sel busa yang lebih banyak dan bertambahnya jumlah makrofag di intima menyebabkan penebalan dinding arteri, yang dikenal sebagai lesi 1 (*initial lesi*). Sel busa akan bergabung dengan sel miosit dan membentuk garis lemak (*fatty streak*). Selanjutnya, terjadi akumulasi lipid ekstra sel masif sehingga menyebabkan penebalan dinding arteri (Yuan *et al.*, 2012).

Sel busa memicu pergerakan monosit lain sehingga terbentuk sel busa yang lebih banyak. Sel busa yang mengalami “kelebihan muatan” mengalami apoptosis dan melepas enzim pencernaan makrofag. Keadaan ini memicu lesi pada dinding pembuluh darah yang kemudian merangsang trombosit untuk menghasilkan benang-benang fibrin dan memperangkap sel darah merah membentuk *thrombus* (Sahin *et al.*, 2014). Kerusakan akibat enzim pencernaan juga terjadi di membrane basalis yang mengakibatkan migrasi sel otot polos menuju tunika intima dan mendorong deposit LDL-teroksidasi ke arah dalam pembuluh darah. Gabungan adanya *thrombus* dan migrasi sel otot polos mengakibatkan penyempitan dan penutupan pembuluh darah. Penyempitan pembuluh darah mempengaruhi peredaran darah ke jantung dan otak, mengakibatkan penyakit jantung koroner, serangan jantung dan atau stroke (van der Wulp *et al.*, 2013; Conti & Shaik-Dasthagirisaeb, 2015).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tomat dapat menurunkan LDL dan produksi sel busa (Isni *et al.*, 2016). Pemberian 440 mg likopen dalam 200 gr tomat dan 100 gr semangka setiap hari selama 7 hari (Copra *et al.*, 2000) menurunkan secara signifikan LDL-

teroksidasi pada non perokok dan tidak signifikan pada perokok. Hasil penelitian Upritchard *et al.*, (2000) pada penderita diabetes tipe II yang terkontrol diberi jus tomat sebanyak 500 ml setiap hari selama 4 minggu menunjukkan penurunan LDL-teroksidasi dibandingkan kontrol. Likopen juga mempunyai efek hipokolesterolemik baik secara *in vivo* dan *in vitro*. Dalam penelitian dengan diet suplementasi yang rendah pada 6 laki-laki yang diberi suplemen 60 mg/hari likopen selama 3 bulan. Pada akhir periode treatment, secara signifikan terjadi penurunan 14% LDL plasma dan tidak berefek pada kadar HDL (Furhrman *et al.*, 1997; Lorenz *et al.*, 2012). Konsumsi likopen tomat (60 mg/day) beserta antioksidan lain yang juga terkandung dalam tomat selama 3 bulan mampu menurunkan LDL plasma secara signifikan.

Penelitian pada tikus yang diberi pakan sehari-hari dengan diet hiperkolesterolemik selama 10 minggu oleh Basuny *et al.* (2009) menunjukkan bahwa pemberian likopen tomat tidak menyebabkan perubahan kandungan lipid serum (total lipid, kolesterol total, HDL dan LDL), fungsi hati dan ginjal. Sebaliknya, tikus yang diberi pakan diet hiperkolesterolemi menginduksi peningkatan yang signifikan pada aktivitas enzim, kadar lipid total serum, kolesterol total dan LDL dan menurunkan HDL, kadar glutathion peroksidase dan malonaldehyde. Hasil penelitian Iswari (2009) menunjukkan bahwa pemberian likopen tomat memperbaiki fraksi lipid serum darah tikus putih hiperkolesterolemi. Perbaikan fraksi lipid serum ditunjukkan dengan menurunnya kadar kolesterol total, trigliserida dan kolesterol LDL serta meningkatnya kadar kolesterol HDL.

Bukti-bukti yang tersedia di Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) menunjukkan bahwa ada kebalikan hubungan antara kadar likopen plasma dari jaringan dan kejadian penyakit kardiovaskuler. Laki-laki yang mengalami kejadian koronaria mempunyai kadar likopen plasma yang lebih rendah dibandingkan laki-laki yang tidak menderita penyakit koronaria. Sebaliknya, likopen serum dengan kadar yang lebih tinggi berkorelasi dengan penurunan ketebalan daerah intima arteri koronaria, sedangkan likopen plasma dengan kadar rendah meningkatkan 17,80% ketebalan di daerah intima dinding arteri koronaria (CCA-IMT) (Rissanen *et al.*, 2003). Tidak berbeda signifikan pada wanita. European Multicenter Case-Control Study pada antioksidan-antioksidan, kerusakan otot jantung dan penelitian kanker payudara (penelitian EURAMIC) melaporkan bahwa kadar likopen yang lebih tinggi secara independen melindungi melawan penyakit kardiovaskuler (Basu & Imrhan, 2006). The Women's Health Study selanjutnya menyatakan bahwa penurunan resiko berkembangnya penyakit kardiovaskuler lebih kuat dihubungkan dengan intake tomat yang lebih tinggi daripada dengan intake likopen (Sesso *et al.*, 2003). Likopen serum melakukan perannya pada tingkat-tingkat awal atherosclerosis, dibuktikan dengan meningkatnya CCA-IMT pada laki-laki paruh baya (Rissanen *et al.*, 2003). Penebalan dinding arteri merupakan tanda awal atherosklerosis, dan peningkatan penebalan memprediksi terjadinya penyakit jantung koroner. Berdasarkan kajian-kajian tersebut menyarankan penggunaan likopen murni dalam mengurangi resiko penyakit kardiovaskuler tetapi menggunakan konsumsi tomat olahan dan produk-produk tomat.

Kajian terkait atherosclerosis dan berbagai serum karotenoid di Rotterdam mendapatkan hasil adanya kebalikan hubungan antara kadar likopen serum dan atherosclerosis. Penelitian dilakukan dengan membandingkan 108 kasus dari atherosclerosis aorta dan 109 kontrol pada orang yang berumur 55 tahun ke atas. Hubungan antara kadar likopen serum dan atherosclerosis paling banyak diantara subyek perokok dan bekas perokok, kesimpulan lain yang diperoleh adalah tidak ada hubungan antara resiko pengerasan aortic dengan karotenoid serum seperti α -karoten, β -karoten, lutein dan zeaxanthin.

Penelitian lin dari European Study of Antioxidant, menunjukkan adanya hubungan kerusakan otot jantung dan kanker payudara (penelitian EURAMIC) dengan likopen. Hasil biopsy jaringan adipose laki-laki dengan kadar likopen tinggi pada jaringan adiposa mengalami penurunan 48% resiko kerusakan otot jantung dibandingkan laki-laki dengan kadar likopen di jaringan adipose yang rendah (Kohlmeir *et al.*, 1997).

Hasil-hasil ini menyatakan secara signifikan likopen menurunkan resiko penyakit jantung koroner. Hasil-hasil dari Women,s Health Study (WHS) menunjukkan bahwa perempuan dengan intake makanan-makanan berbasis tomat dengan likopen yang sangat tinggi mengurangi resiko CVD dibandingkan dengan perempuan yang intake makanan sejenis rendah (Sesso *et al.*, 2003). Peneliti juga menemukan bahwa perempuan yang mengkonsumsi makanan berbasis tomat yang dimakan lebih dari 10 kali tiap minggu mengurangi resiko kerusakan jantung atau stroke hingga 65%.

3.5. Simpulan

Berdasarkan uraian tentang likopen dan aktivitasnya sebagai anti-atherogenik dapat disimpulkan bahwa produk-produk tomat dan atau likopen tomat berperan sebagai anti-atherogenik. Dalam mengkonsumsi suplemen berbasis makanan dari tomat (dapat berupa sup tomat, ekstrak tomat, jus tomat atau minuman tomat lainnya) dan likopen tomat, harus dikonsumsi bersama dengan lemak diet, seperti minyak olive atau apokat agar terjadi peningkatan karotenoid plasma terutama likopen. Kurang lebih dibutuhkan 5-10 gram lemak dalam makanan untuk absorpsi karotenoid (Reddy, 1995). Hasil penelitian yang lain menemukan bahwa karotenoid diabsorpsi dari makanan dengan lemak yang lebih rendah (Boileau *et al.*, 2002). Secara umum, kandungan lemak sebanyak 40 % dari kalori diet sudah cukup untuk absorpsi likopen secara optimal.

Direkomendasikan asupan likopen sehari-hari kurang lebih 35 mg yang dapat diperoleh dengan mengkonsumsi 2 gelas jus tomat (bisa juga kombinasi produk-produk tomat) atau 200 gram tomat (Rao & Agarwal, 2000; Iswari, 2016) dan bukan likopen murni. Cara mengkonsumsi tomat yang baik adalah dengan dikukus 15 menit dan dihancurkan untuk mendapatkan kandungan bioaktif lebih banyak dan mudah diserap (Iswari & Susanti, 2016). Suplemen ini mempunyai peran baik sebagai khemopreventif maupun sebagai khemoteurapeutik sehingga tomat dan produk-produk tomat termasuk likopen baik digunakan untuk mencegah penyakit dan terapi penyakit. Khususnya pada penurunan oksidasi LDL

Tomat memiliki antioksidan lain, yaitu vitamin E dan vitamin C yang berperan sebagai penangkap radikal bebas, mencegah membran sel terutama sel epitel dan mencegah penurunan pertahanan tubuh. Kombinasi kedua vitamin tersebut dianggap efektif menangkalkan radikal bebas karena Vitamin C dapat meregenerasi vitamin E dan *gluthation* tereduksi (mengikat oksidan).

Daftar Pustaka

- Agarwal S & Rao AV. 2000. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Canadian Medical Association Journal* 163(6): 739-744.
- Arab L & Steck S. 2000. Lycopene and cardiovascular. *The American Journal of Clinical Nutrition* 7: 1691-1695.
- Badimon JJ & Ibanez B. 2010. Increasing High-Density Lipoprotein as a Therapeutic Target in Atherothrombotic Disease. *Revista Española de Cardiología* 63(3): 323-356.
- Basu A & Imrhan V. 2006. Tomato versus lycopene in oxidative stress and carcinogenesis: conclusions from clinical trials. *European Journal Of Clinical Nutrition* 1: 9.
- Basuny AM, Gaafar AM & Arafat SM. 2009. Tomato lycopene is a natural antioxidant and can alleviate hypercholesterolemia. *African Journal of Biotechnology* 8(23).
- Boileau TWM, Boileau AC & Edrman JWJr. 2002. Bioavailability of all-trans and cis-Isomer of Lycopene. *Society for Experimental Biology and Medicine*: 914-9.
- Canas JA, Damaso L, Altomare A, Killen K, Hossain J & Balagopal PB. 2012. Insulin resistance and adiposity in relation to serum b-carotene levels. *Journal of Pediatric* 161:58-64.
- Chopra M, O'Neill ME, Keogh N, Wortley G, Southon S & Thurnham DI. 2000. Influence of increased fruit and vegetable intake on plasma and lipoprotein carotenoids and LDL oxidation in smokers and nonsmokers. *Clinical Chemistry* 46(11): 1818-1829.
- Cohen L. 2002. A Review of animal model studies of tomato carotenoid, lycopene and cancer chemoprevention. *Experimental Biology and Medicine* 277: 864-868

- Colle I, Buggenhout SV, Loey AV & Hendrickx M. 2010. High pressure homogenization followed by thermal processing of tomato pulp: Influence on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility. *Food Research International* 43: 2193-2200.
- Colle IJ, Van-Buggenhout S, Lemmens L, Van-Loey AM & Hendrickx ME. 2012. The type and quantity of lipids present during digestion influence the in vitro bioaccessibility of lycopene from raw tomato pulp. *Food Research International* 45(1): 250-255.
- Conti P & Shaik-Dasthagirisaeb Y. 2015. Atherosclerosis: a chronic inflammatory disease mediated by mast cells. *Central-European journal of immunology* 40(3): 380.
- Cooperstone JL, Ralston RA, Riedl KM, Haufe TC, Schweiggert RM, King SA, Timmers CD, Francis DM, Lesinski GB, Clinton SK & Schwartz SJ. 2015. Enhanced bioavailability of lycopene when consumed as cis-isomers from tangerine compared to red tomato juice, a randomized, cross-over clinical trial. *Molecular nutrition & food research* 59(4): 658-669.
- de Munter L, Maasland DH, van den Brandt PA, Kremer B & Schouten LJ. 2015. Vitamin and carotenoid intake and risk of head-neck cancer subtypes in the Netherlands Cohort Study, 2. *The American journal of clinical nutrition* 102(2): 420-432.
- Ford NA, Elsen AC, Zuniga K, Lindshield BL & Erdman JW. 2011. Lycopene and apo-12'-lycopenal reduce cell proliferation and alter cell cycle progression in human prostate cancer cells. *Nutrition and cancer* 63(2): 256-263.
- Fujiwara Y, Kiyota N, Hori M, Matsushita S, Iijima Y, Aoki K, Shibata D, Takeya M, Ikeda T, Nohara T & Nagai R. 2007. Esculeogenin A, a new tomato sapogenol, ameliorates hyperlipidemia and atherosclerosis in ApoE-deficient mice by inhibiting ACAT. *Arteriosclerosis, thrombosis, and Vascular Biology* 27(11): 2400-2406.
- Goñi I, Serrano J & Saura-Calixto F. 2006. Bioaccessibility of β -carotene, lutein, and lycopene from fruits and vegetables. *Journal of agricultural and food chemistry* 54(15): 5382-5387.
- Henry SL, Woodside JV, Young I, Thies F & McEneny J. 2015. Lycopene intervention augments the antiatherogenic potential of HDL. *Atherosclerosis* 241(1): 106.

- Holloway DE, Yang M, Paganga G, Rice-Evans CA & Bramey PM. 2000. Isomerization of dietary lycopene during assimilation and transport in plasma. *Free Radical Research* 32: 93-102.
- Islamian JP & Mehrali H. 2015. Lycopene as a carotenoid provides radioprotectant and antioxidant effects by quenching radiation-induced free radical singlet oxygen: an overview. *Cell Journal (Yakhteh)* 16(4): 386.
- Isni NC, Iswari RS & Susanti R. 2016. Pengaruh ekstrak tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) terhadap jumlah sel busa endotel tikus hiperkolesterolemia. *Unnes Journal of Life Science*.
- Iswari RS & Yuniastuti A. 2006. Pengaruh Pemberian Jus Tomat terhadap kadar kolesterol Tikus Putih Hiperkolesterolemi. Unnes: LP2M.
- Iswari RS. 2009. Perbaikan fraksi lipid serum tikus putih hiperkolesterolemi setelah pemberian jus dari berbagai olahan tomat. Jurusan Biologi Fakultas MIPA. Universitas Negeri Semarang.
- Iswari RS, Dharmana E, Muiz F & Riwanto I. 2016. Combination of chloroquine and lycopene for combating malaria: a case study in mice (*Mus musculus*) infected with *Plasmodium berghei*. *Pakistan Journal of Nutrition* 15(5): 789-794.
- Iswari, R.S. and Susanti, R. 2016. Antioxidant activity from various tomato processing. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* 8(1): 129-134.
- Khan S & Yeole PG. 2005. Protective effects of tomato in coronary heart disease: a neutral perspective. *Journal Health Administrator* (20): 104-108.
- Lagor WR & Millar JS. 2010. Overview of the LDL receptor: relevance to cholesterol metabolism and future approaches for the treatment of coronary heart disease. *Journal of Receptor Ligand and Channel Research* 3: 1-14.
- Libby P. 2006. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *The American Journal of Clinical Nutrition* 83(2): 456S-460S.
- Lloyd-Jones DM. 2016. Slowing progress in cardiovascular mortality rates: you reap what you sow. *JAMA cardiology* 1(5): 599-600.
- Lorenz M, Fechner M, Kalkowski J, Fröhlich K, Trautmann A, Böhm V, Liebisch G, Lehneis S, Schmitz G, Ludwig A & Baumann G.

2012. Effects of lycopene on the initial state of atherosclerosis in New Zealand White (NZW) rabbits. *PLoS one* 7(1): e30808.
- Mapelli-Brahm P, Corte-Real J, Meléndez-Martínez AJ & Bohn T. 2017. Bioaccessibility of phytoene and phytofluene is superior to other carotenoids from selected fruit and vegetable juices. *Food chemistry* 229: 304-311.
- Miyamoto S & Di Mascio P. 2014. Lipid hydroperoxides as a source of singlet molecular oxygen. In *Lipid Hydroperoxide-Derived Modification of Biomolecules* (pp. 3-20). Springer Netherlands.
- Mohajerin D & Sefidan AM. 2013. Inhibitory Effects of *Solanum lycopersicum* L. on High Fat Diet-Induced Fatty Liver Disease in Rats. *Advances in Bioresearch* 4(4): 33-39.
- Nahum A, Hirsch K, Danilenko M, Watts CK, Prall OW, Levy J & Sharoni Y. 2001. Lycopene inhibition of cell cycle progression in breast and endometrial cancer cells is associated with reduction in cyclin D levels and retention of p27 Kip1 in the cyclin E-cdk2 complexes. *Oncogene* 20(26): 3428.
- Nouri MHK & Abad ANA. 2013. Comparative Study of Tomato and Tomato Paste Supplementation on the Level of Serum Lipids and Lipoproteins Levels in Rats Fed With High Cholesterol. *Iranian Red Crescent Medical Journal* 15(4): 287-291.
- Offord EA, Gautier JC, Avanti O, Scaletta C, Runge F, Krämer K & Applegate LA. 2002. Photoprotective potential of lycopene, β -carotene, vitamin E, vitamin C and carnolic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts. *Free Radical Biology and Medicine* 32(12): 1293-1303.
- Omoni AO & Aluko RE. 2005. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science & Technology* 16(8): 344-350.
- Palozza PAOLA, Catalano ASSUNTA, Simone RE, Mele MC & Cittadini A. 2012. Effect of lycopene and tomato products on cholesterol metabolism. *Annals of Nutrition and Metabolism* 61(2): 126-134.
- Parini P, Davis M, Lada AT, Erickson SK, Wright TL, Gustafsson U, Sahlin S, Einarsson C, Eriksson M, Angelin B & Tomoda H. 2004. ACAT2 is localized to hepatocytes and is the major cholesterol-esterifying enzyme in human liver. *Circulation* 110(14): 2017-2023.

- Perveen R, Suleria HAR, Anjum FM, Butt MS, Pasha I & Ahmad S. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum*) carotenoids and lycopenes chemistry; metabolism, absorption, nutrition, and allied health claims-a comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55(7): 919-929.
- Rao AV, Ray MR & Rao LG. 2006. Lycopene. *Advances in Food and Nutrition Research* 51: 99-164.
- Re R, Fraser PD, Long M, Bramley PM & Rice-Evans C. 2001. Isomerization of lycopene in the gastric milieu. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 281(2): 576-581.
- Reboul E, Borel P, Mikail C, Abou L, Charbonnier M, Caris-Veyrat C, Goupy P, Portugal H, Lairon D & Amiot MJ. 2005. Enrichment of tomato paste with 6% tomato peel increases lycopene and β -carotene bioavailability in men. *The Journal of Nutrition* 135(4): 790-794.
- Reddy V. 1995. Vitamin a status and dark green leavy vegetables. *Lancet* 346: 1634-6.
- Richelle M, Bortlik K, Liardet S, Hager C, Lambelet P, Baur M, Applegate LA & Offord EA. 2002. A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *The Journal of Nutrition* 132(3): 404-408.
- Richelle M, Lambelet P, Rytz A, Tavazzi I, Mermoud AF, Juhel C, Borel P & Bortlik K. 2012. The proportion of lycopene isomers in human plasma is modulated by lycopene isomer profile in the meal but not by lycopene preparation. *British Journal of Nutrition* 107(10): 1482-1488.
- Ried K & Fakler P. 2011. Protective effect of lycopene on serum cholesterol and blood pressure: Meta-analyses of intervention trials. *Maturitas* 68(4): 299-310.
- Rissaen TH, Voutilainen S, Nyyssonen K, Salonen J, Kaplan G & Salonen J. 2003. Serum lycopene concentration and carotid atherosclerosis: the Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *American Journal of Clinical Nutrition* 77: 133-138.
- Rissanen TH, Voutilainen S, Nyyssönen K, Salonen R, Kaplan GA & Salonen JT. 2003. Serum lycopene concentrations and carotid atherosclerosis: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 77(1): 133-138.

- Sahin S, Ozakpinar OB, Eroglu M & Tetik S. 2014. Platelets in preeclampsia: function and role in the inflammation. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences* 4(2): 111-116.
- Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM & Ridker PM. 2003. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *Jama* 290(22): 2945-2951.
- Shi J & Marguer ML. 2000. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Food Science Nutrition* (40): 1-42.
- Simionescu N. 2001. Statins: Mechanism of Action and Effect. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 5(4): 378-387.
- Takeshima M, Ono M, Higuchi T, Chen C, Hara T & Nakano S. 2014. Anti-proliferative and apoptosis-inducing activity of lycopene against three subtypes of human breast cancer cell lines. *Cancer Science* 105(3): 252-257.
- Takeuchi H, Nakatsuma AY, Ohoka Y, Iwata M, Kagechika H, Kato C & Song SY. 2013. Differentiation with differential dependence foxp3 + regulatory T cell and Th17 cell retinoid X receptor agonists modulate on retinoic acid receptor activation. *Journal of Immunology* 191: 3725-3733.
- Unlu NZ, Bohn T, Clinton SK & Schwartz SJ. 2005. Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil. *The Journal of Nutrition* 135(3): 431-436.
- Upritchard JE, Sutherland WH & Mann JI. 2000. Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 23(6): 733-738.
- van der Wulp MY, Verkade HJ & Groen AK. 2013. Regulation of cholesterol homeostasis. *Molecular and Cellular Endocrinology* 368(1-2): 1-16.
- Wu K, Schwaz SJ, Platz A, Clinton S, Erdman J & Ferruzzi M. 2003. Variation in plasma lycopene and specific isomer in a cohort of US men. *Journal of Nutrition* 133: 1930-1936.
- Yuan Y, Peng L & Jing Y. 2012. Lipid homeostasis and the formation of macrophage-derived foam cells in Atherosclerosis. *Protein Cell* (3): 173-181
- Zapata-Gonzalez F, Rueda F, Petriz J, Domingo P, Villarroya F, de Madariaga A & Domingo JC. 2007. 9-cis-retinoic acid (9cRA), a

retinoid X receptor (RXR) ligand, exerts immunosuppressive effects on dendritic cells by RXR-dependent activation: inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor γ blocks some of the RXR activities, and precludes them to mature phenotype development. *The Journal of Immunology* 178: 6130-6139.

Zhang L, Zhang H, Ndeurumi KH, Parkin KL & Venuste M. 2012. Thermally-induced geometrical isomerisation of lycopene and its potential influence on functional activity. *Food Chemistry* 132(4): 2112-2117.

POTENSI GLUKOMANAN LIDAH
BUAYA SEBAGAI
ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA

BAB
4



Ari Yuniastuti

POTENSI GLUKOMANAN LIDAH BUAYA SEBAGAI ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA

Penulis Ari Yuniastuti

4.1. Pendahuluan

Penyakit jantung coroner (PJK) dan pembuluh darah yang lebih dikenal dengan *Cardiovascular Disease* (CVD) merupakan penyebab utama kematian di dunia. Salah satu faktor risiko terjadinya penyakit jantung koroner (PJK) adalah hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana kolesterol dalam darah meningkat melebihi ambang normal yang ditandai dengan meningkatnya kadar LDL, trigliserida, dan kolesterol total. Kadar kolesterol total yang normal dalam plasma orang dewasa adalah sebesar 120 sampai 200 mg/dl. Adapun keadaan hiperkolesterolemia terjadi bila konsentrasi kolesterol total ≥ 240 mg/dl, LDL ≥ 160 mg/dl, dan trigliserida ≥ 150 mg/dl (Montgomery *et al.*, 1983). Bila kadar kolesterol dan trigliserida dalam darah melebihi normal tubuh dan tertimbun di dalam dinding pembuluh darah mengakibatkan pengkerakan pembuluh darah (aterosklerosis) sehingga mengakibatkan penyakit kardiovaskular (Anwar, 2004).

Faktor risiko terjadinya hiperkolesterolemia antara lain pola diet sehari-hari, jenis kelamin, umur, dan genetik (Maryanto & Fatimah, 2004). Pengaturan pola diet sebagai pilar utama yang digunakan untuk menurunkan risiko penyakit kardiovaskular adalah dengan mengurangi konsumsi lemak total dan lemak jenuh serta meningkatkan asupan sayuran dan buah yang kaya akan serat.

Data epidemiologi menunjukkan konsumsi sayur dan buah yang banyak secara konsisten dapat mengurangi risiko penyakit jantung koroner (Lin *et al.*, 2007). Masyarakat Indonesia perlu mengetahui produk makanan alami yang efektif untuk menurunkan kejadian hiperkolesterolemia, yang merupakan salah satu faktor risiko penyakit jantung koroner. Bahan alami yang dapat menurunkan kejadian hiperkolesterolemia yang perlu mendapatkan perhatian adalah ekstrak lidah buaya. Bahan alami tersebut selain murah dan mudah didapat, memiliki risiko efek samping yang kecil, sehingga relatif aman jika dibandingkan dengan obat-obatan sintesis (Widowati, 2007).

Gel lidah buaya merupakan salah satu olahan pangan kaya serat yang mudah dibuat, mudah didapatkan, murah, dan menyehatkan. Gel lidah buaya dihasilkan dari tanaman lidah buaya (Yuniastuti, 2004). Gel lidah buaya mengandung sejumlah serat larut dan tak larut air yaitu polisakarida berupa *acemannan* dan glukomanan, selain itu juga mengandung: carboxypeptidase, magnesium, zinc, kalsium, glukosa, kolesterol, asam salisilat, prekursor prostaglandin (*gamma-linolenic acid* [GLA]), vitamin A, C dan E, lignin, saponin, sterol dan asam amino (Afzal, 1991).

Glukomanan adalah polisakarida terbesar yang terkandung dalam empulur Aloe vera (Purbaya, 2003). Glukomanan merupakan polisakarida dari jenis hemiselulosa yang terdiri atas ikatan rantai galaktosa, glukosa, dan manosa (Hui, 2006), serta merupakan serat tinggi yang penting untuk membantu proses pencernaan dalam sistem pencernaan, yang merupakan serat larut (Selulose Dietary Fiber/SDF)

karena dapat menyerap 200 kali dari beratnya, serta dapat membentuk gel reversibel atau gel termo-non-reversibel.

Peran glukomanan menurut Danhof (2001) adalah: 1) menurunkan kolesterol total; 2) menurunkan trigliserida; 3) menurunkan fosfolipid; 4) menurunkan asam lemak non-ester; 5) menaikkan HDL-kolesterol dalam tubuh; dan 6) menurunkan LDL-kolesterol.

Glukomanan tidak dapat tercerna secara enzimatik menjadi bagian-bagian yang dapat dicerna oleh saluran cerna, sehingga sangat efektif dalam menyerap asam empedu yang akan mengemulsi lemak dan membawanya keluar bersama feces, sehingga kolesterol yang diikat oleh serat glukomanan tersebut tidak sampai masuk ke dalam cairan darah. Glukomanan juga bekerja dalam usus mengikat asam lemak dan menghambat penyerapan asam lemak dan menghambat biosintesis kolesterol. Kedua hal tersebut diduga yang menyebabkan kadar kolesterol darah menurun (Soeharto, 2000). Glukomanan dapat menghambat kerja *HMG KoA reduktase* dalam biosintesis kolesterol di sel dan menghambat kerja *Acyl CoA Cholesterol Acyl Transferase (ACAT)* sehingga dapat menurunkan hiperkolesterolemi (Kathi, 1999). Oleh karena itu glukomanan dapat dikatakan sebagai antihiperkolesterolemi, karena mampu menurunkan kadar kolesterol darah yang telah melebihi batas ambang normal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif glukomanan berperan dalam menurunkan kadar kolesterol darah (Yuniastuti *et al.*, 2007).

4.2. Senyawa Bioaktif Glukomanan

4.2.1. Komposisi dan Struktur Glukomanan

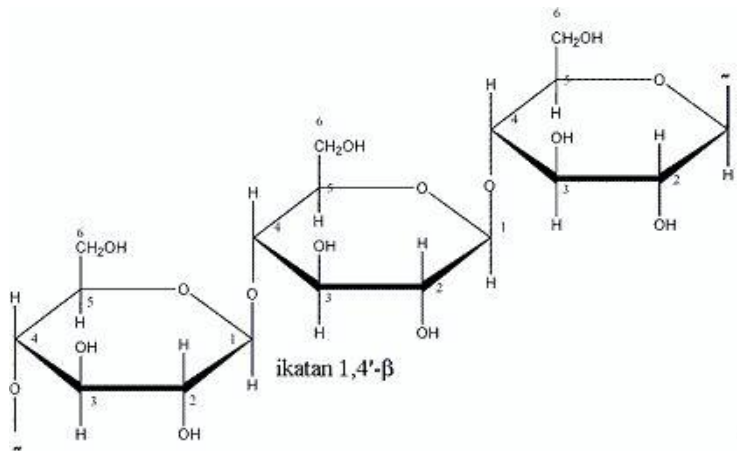
Serat makanan (dietary fiber), termasuk glukomanan adalah komponen dalam tanaman yang tidak tercerna secara enzimatik menjadi bagian-bagian yang dapat diserap oleh saluran pencernaan. Serat secara alami terdapat dalam tanaman. Kebanyakan diantaranya adalah karbohidrat kompleks (Siagan, 2003).

Glukomanan merupakan polisakarida yang terdiri dari glukosa (G) dan Mannosa (M) dengan proporsi 5 : 8 dalam ikatan β -glikosidik (1 – 4). ($1\beta \rightarrow$ mata rantai nomor 4). Contoh unit polimer basa adalah GGMMGMMMMMGGM. Rantai pendek terdiri dari 11-16 monosakarida dengan interval antara 50-60 unit yang tersebar dengan ikatan β (1 – 6) (ikatan rantai $1\beta \rightarrow$ mata rantai nomor 4). Pada setiap 9–19 unit rantai terdapat asetat yang berikatan dengan atom C nomor 6. Hidrolisis bentuk intermolekul kelompok asetat terjadi saat gel-nya berpengaruh (Zamora, 2005).

Glukomanan terdiri atas rantai polisakarida beta-Dglukosa ± 33 persen dan beta-D-manosa ± 67 persen dan memiliki asetil grup, serta memiliki sifat antara selulosa dan galaktomanan, sehingga dapat mengkristal dan membentuk struktur serat halus. Struktur *glukomannan* dapat dilihat pada gambar 4.1.

Menurut Ahmed (2015), hidrogel adalah polimer silang hidrofilik yang mampu menyerap dan menyimpan sejumlah besar air (10–1.000x beratnya). Interaksi antara hidrokoloid dan air bergantung pada ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen terjadi ketika sebuah atom hidrogen tertarik

oleh kekuatan yang cukup kuat untuk menjadi dua atom hidrogen (Pauling 1948 dalam Chaplin 2016).



Gambar 4.1. Struktur glukomanan

4.2.2. Sumber dan Fungsi Glukomanan

Glukomanan terdapat di berbagai tanaman, seperti biji salak sekitar 59,37%, tanaman konjak (iles-iles / *Amorphophallus muelleri* Blume) sekitar 64%. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mendapatkan glukomanan dari beberapa tumbuhan seperti iles-iles (*Amorphophallus*. Sp) (Koswara, 2009), bungkil inti sawit (Yopi *et al.*, 2006), dan lidah buaya (Yuniastuti *et al.*, 2007, Retnowati dan Kumoro, 2012; Istianah *et al.*, 2012), glukomanan pada daging lidah buaya sebesar 73,10% dan gel 76,49% (Gallaher *et al.*, 2002)

Glukomanan memiliki beberapa fungsi sebagai pangan fungsional. Pangan fungsional adalah pangan segar atau olahan yang dapat memberi manfaat kesehatan selain sebagai penyedia zat nutrisi.

Gel lidah buaya yang mengandung glukomanan dapat menjadi salah satu sumber pangan fungsional karena bermanfaat bagi kesehatan.

Pemanfaatan glukomanan telah menyebar pada beberapa industri diantaranya industri edibel film, bahan perekat, isolasi, industri makanan, cat, payung, kosmetik, obatobatan, dan lain-lain (Koswara, 2009). Dalam industri pangan, glukomanan digunakan sebagai pengental, pembentuk gel, pengemulsi, dan penstabil untuk skala komersial (Brown, 2000). Konyaku adalah bahan pangan yang bersifat alkali yang menyediakan beberapa nutrisi bagi tubuh. Dua jenis makanan yang dibuat dari tepung konyaku dan sangat populer di Jepang ialah tofu shirataki dan mi shirataki. Menurut Hui (2006), kata “shirataki” berarti "air terjun putih", menggambarkan penampilan mi ini yang tipis, bening dengan tekstur lembut. Shirataki merupakan komponen utama dari masakan Jepang sukiyaki. Mi shirataki dapat berbentuk basah atau kering. Selain di Asia, dua jenis shirataki tersebut juga dijual di Amerika Serikat dengan kelebihan tanpa mengandung karbohidrat dan gluten sehingga bermanfaat bagi orang-orang yang berdiet rendah kalori (Huffington, 2012). Mi shirataki akhir-akhir ini makin populer sebagai makanan kesehatan di Amerika Serikat (López & Kenji, 2015).

Glukomanan di bidang kesehatan, digunakan untuk mencegah penyakit jantung dengan menurunkan kolesterol dan mengurangi respon glikemik (Singh & Shelley, 2007). Pengujian suplemen konjak glukomanan (3,6 g/hari) selama 28 hari terhadap tingkat lipida dan glukosa darah pada 22 pasien diabetes 2 hiperlipidemia menunjukkan bahwa konjak glukomanan efektif mengurangi kolesterol plasma

11,1%, low-density lipoprotein (LDL)-kolesterol 20,7%, dan rasio kolesterol total/high-density lipoprotein (HDL) 15,6%, serta penyakit kardiovaskular 12,9% dan glukosa puasa 23,2% (Chen *et al.*, 2003).

Pada penelitian lain, setelah 8 minggu, pengujian konjak Glukomananbiskuit (0,5 g glukomanan per 100 kkal asupan makanan atau 8–13 g/hari) menunjukkan penurunan kolesterol serum total 12,4%, LDL 22%, dan rasio total/HDL 15,2%. Disimpulkan bahwa diet konjak glukomanan meningkatkan kontrol glikemik dan profil lipida (Vuksan *et al.*, 2000). Meskipun kadar trigliserida hampir sama pada semua tikus percobaan, tingkat peroksidase lipid secara signifikan lebih rendah pada tikus percobaan dengan diet tinggi serat (Yoshida *et al.*, 1991). Menurut Arvill dan Bodin (1995), tidak ada perubahan dalam tekanan darah diastolik atau berat badan manusia yang diamati dan tidak ada efek samping yang terlihat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa glukomanan adalah penurun kolesterol. Hasil penelitian Gallaher *et al.* (2000) menunjukkan bahwa glukomanan dapat menurunkan kolesterol hati melalui viskositas yang menghalangi atau mengurangi penyerapan kolesterol. Sementara itu, persentase hidrokoloid kental yang rendah mampu menurunkan kolesterol plasma pada tikus yang diberi pakan hidrokoloid. Penghambatan penyerapan kolesterol di dalam usus mungkin merupakan mekanisme primer (Levrat *et al.*, 2000). Perubahan komposisi asam empedu menunjukkan bahwa glukomanan menghambat penyerapan asam empedu oleh usus (Shimizu *et al.*, 1991). Pada semua kelompok tikus percobaan yang mengonsumsi tepung ile-iles, kadar kolesterol turun ke tingkat normal (Hou *et al.*, 1991).

4.3. Bioavailabilitas Glukomanan

Glukomanan dipakai seperti penahan lapar, karena ia menimbulkan perasaan kenyang. Apabila serat ini dimakan, maka akan membentuk gel di dalam lambung dan membantu melambatkan perjalanan zat makanan meninggalkan lambung untuk memasuki usus kecil. Satu gram glukomanan dapat menyerap 200 ml air, sehingga dapat digunakan untuk menyerap partikel, termasuk karsinogen. Perasaan kenyang timbul karena komposisi karbohidrat kompleksnya yang menghentikan nafsu makan. Fermantasi serat dalam usus besar meningkatkan pertumbuhan bakteri penghasil asam laktat yang membantu mencegah akumulasi zat racun dan bakteri patogen (penyebab penyakit) (Arrahman, 2005).

Ketersediaan glukomanan di dalam lidah buaya belum banyak diteliti namun pada tanaman iles-iles (*Amorphophallus spp*) dilaporkan bahwa kandungan glukomanan iles iles yang terdapat di Jepang yaitu *A. konjac* mengandung 64% glukomanan, sedangkan yang ada di Indonesia, *A. oncophyllus* kandungan glukomanannya 55% dan *A. variabilis* 44%. Sementara kandungan glukomanan pada karagenan *Eucheuma cottonii* 37,15% dan *E. spinosum* 37,07% (Tabel 4.1). Kandungan glukomanan bervariasi, bergantung pada bagian umbi dan periode pertumbuhan tanaman.

Glukomanan memiliki sifat sebagai serat yang mampu menyerap air. Serat tersebut dapat mengikat garam empedu di lumen usus. Secara normal lebih dari 95% garam empedu akan di daur ulang dengan cara diserap oleh darah dan dikembalikan lagi di hati. Serat ini akan menghambat proses daur ulang dan garam empedu akan disekresikan

melalui faeces, sehingga hanya sedikit garam empedu yang dikembalikan ke hati. Hal ini akan merangsang hati untuk membentuk garam empedu yang baru dan akan mengambil kolesterol dari darah sebagai bahan pembentuk garam empedu. Semakin banyak garam empedu yang dibentuk maka kolesterol yang beredar di dalam darah akan semakin berkurang atau turun.

Tabel 4.1. Perbandingan kandungan glukomanan pada umbi konjac, biji guar gum, dan karagenan.

Jenis Bahan	Kadar Glukomanan (%)
Umbi iles-iles, <i>Amarphophallus</i> konjac	64,00
Umbi iles-iles, <i>A. oncophyllus</i>	55,00
Umbi iles-iles, <i>A. variabilis</i>	44,00
Biji guar gum, <i>Cyamopsis tetragonolabou</i>	44,84
Karagenan, <i>Eucheuma cottonii</i>	37,15
Karagenan, <i>E. spinosum</i>	37,07

Polisakarida adalah polimer yang mengandung banyak gugus hidroksil dan umumnya berinteraksi kuat dengan air. Semua hidrokoloid yang berinteraksi dengan air akan menurunkan difusi dan menstabilkan keadaannya (Chaplin, 2016). Menurut Bureyet *et al.* (2008) terdapat dua mekanisme utama dalam pembentukan gel, yaitu: (1) pembentukan fase kontinu dan (2) pembentukan fase dispersi. Metode dengan urutan tahapan proses berbeda akan menghasilkan sifat gel partikel yang berbeda. Pembentukan fase kontinu terjadi ketika gel yang terbentuk rusak menjadi potongan kecil; sedangkan pembentukan fase terdispersi terjadi ketika tetesan yang terbentuk pertama diubah menjadi partikel gel.

4.4. Glukomanan Sebagai Antihiperkolesterolemi dan Antidiabetik

Beberapa penelitian membuktikan bahwa rendahnya kadar kolesterol dalam darah ada hubungannya dengan kandungan serat makanan. Secara fisiologis, serat makanan yang larut (SDF) lebih efektif dalam mereduksi plasma kolesterol yaitu *low density lipoprotein* (LDL), serta meningkatkan kadar *high density lipoprotein* (HDL) (Joseph, 2002).

Seperti serat larut lainnya, glukomanan dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan dua cara. Pertama, glukomanan bergabung dengan kolesterol di dalam garam empedu (cairan berwarna kuning yang diproduksi oleh hati untuk membantu penyerapan lemak di dalam jejunum). Sebagian besar kolesterol pembentuk garam empedu akan diekskresikan bersama serat sebagai bahan buangan dan tidak diserap lagi. Kolesterol merupakan bahan dasar pembentuk empedu. Untuk menggantikan garam empedu yang hilang, kolesterol dikeluarkan dari peredaran darah. Peristiwa ini dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Kedua, di dalam usus glukomanan mengikat asam lemak sehingga menghambat penyerapan asam lemak yang akhirnya menghalangi sintesis lemak dan kolesterol. Selain itu glukomanan juga mempunyai pengaruh secara tidak langsung terhadap kadar VLDL dalam hati. Hal ini dikarenakan glukomanan mempunyai sifat mudah berikatan dengan asam lemak. Di dalam usus halus glukomanan berikatan dengan asam lemak sehingga menghambat penyerapan asam lemak yang akhirnya menghalangi sintesis kolesterol dan lemak di dalam hati. Rendahnya sintesis lemak dalam hati menyebabkan rendah

pula mengangkut lemak dalam bentuk VLDL dari hati ke jaringan adiposa, sehingga menyebabkan rendahnya kadar LDL-kolesterol dalam darah. Seperti diketahui bahwa VLDL selama dalam perjalanan menuju ke sel target (otot dan adiposa) akan mengalami hidrolisis kandungan triglisridanya oleh lipase lipoprotein. Akibatnya VLDL akan bergabung dengan kolesterol dari VLDL yang lain sehingga menjadi molekul yang lebih berat yang disebut LDL-kolesterol.

Pemberian *Aloe veragel* pada diet menyebabkan penurunan total lemak, menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, meningkatkan kadar HDL dan menormalkan kadar gula darah (Ishii *et al.*, 2004). Beberapa studi tentang penggunaan suplemen glukomanan dengan beberapa gram/hari akan efektif menurunkan kolesterol total darah. LDL-kolesterol dan trigliserida dan dalam beberapa kasus dapat menaikkan HDL-kolesterol (Siagian, 2000). Lebih lanjut diketahui bahwa adanya kadar HDL yang tinggi akan mencegah terjadinya penimbunan LDL pada dinding pembuluh darah. Hal ini dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit jantung coroner (Adam, 2004).

Tingginya konsentrasi kolesterol plasma, terutama LDL-kolesterol, menyebabkan terakumulasinya lemak di dinding pembuluh darah, dan peningkatan LDL-kolesterol yang teroksidasi dan radikal bebas lain yang mengandung lipid. Diketahui bahwa LDL teroksidasi dan radikal bebas lain merupakan penyebab utama terjadinya aterosklerosis.

Glukomanan dalam usus halus bergabung dengan kolesterol yang terdapat di dalam garam empedu, garam empedu tersebut terbawa keluar bersama feces. Akibatnya garam empedu yang diabsorpsi

kembali menjadi lebih kecil. Untuk memenuhi kebutuhan garam empedu, tubuh akan mensintesis garam empedu. Bahan dasar garam empedu adalah kolesterol, sehingga tubuh mengambil kolesterol dari peredaran darah, akibatnya kadar kolesterol darah menurun. Selain itu glukomanan juga mempunyai pengaruh secara tidak langsung terhadap kadar VLDL dalam hati. Hal ini dikarenakan glukomanan mempunyai sifat mudah berikatan dengan asam lemak. Di dalam usus halus glukomanan berikatan dengan asam lemak sehingga menghambat penyerapan asam lemak yang akhirnya menghalangi sintesis kolesterol dan lemak di dalam hati. Rendahnya sintesis lemak dalam hati menyebabkan rendah pula mengangkutan lemak dalam bentuk VLDL dari hati ke jaringan adiposa, sehingga menyebabkan rendahnya kadar LDL-kolesterol dalam darah. Seperti diketahui bahwa VLDL selama dalam perjalanan menuju ke sel target (otot dan adiposa) akan mengalami hidrolisis kandungan trigliseridanya oleh lipase lipoprotein. Akibatnya VLDL akan bergabung dengan kolesterol dari VLDL yang lain sehingga menjadi molekul yang lebih berat yang disebut LDL-kolesterol.

Lidah buaya yang mengandung zat aktif glukomanan dapat memperbaiki profil lipid karena glukomanan mampu bergabung (berasimilasi) dengan kolesterol di dalam empedu sehingga garam empedu yang berikatan dengan glukomanan akan dikeluarkan bersama *feses*. Dalam keadaan normal garam empedu mengalami penyerapan kembali saat mencapai ileum, lebih dari 95% garam empedu mengalami resirkulasi, melalui sirkulasi enterohepatik ke hati dan kurang dari 5% dibuang bersama *feses*. Selain itu, glukomanan di dalam usus mengikat

asam lemak sehingga menghambat penyerapan asam lemak yang akhirnya menghambat biosintesis kolesterol. Kondisi ini menyebabkan tubuh secara alami membentuk garam empedu dari kolesterol yang diambil dari peredaran darah. Proses tersebut diduga dapat menyebabkan kadar kolesterol darah menurun. Dalam proses perbaikan profil lipid, lidah buaya juga bekerja mempercepat degradasi enzim HMG-KoA reduktase sehingga aktivitas enzim dihambat dan perubahan mevalonat menjadi kolesterol dihambat (Mahfouz, 2000).

Glukomanan berperan dalam menurunkan glukosa darah. Hasil penelitian Vuksan *et al.* (2001) menunjukkan bahwa glukomanan yang sangat kental berguna dalam mengurangi diabetes dan faktor risiko yang terkait, seperti hiperlipidemia dan hipertensi, serta ameliorasi resistensi insulin. Glukomanan memodulasi tingkat penyerapan nutrisi dalam usus kecil. Akibatnya, glukomanan meningkatkan sensitivitas insulin. Hasil penelitian lainnya menunjukkan bahwa perbaikan dalam hiper lipoproteinemia dan hiperglikemia yang disebabkan oleh suplemen serat makanan dapat membantu menghambat atau mencegah pembentukan ateromatous dalam kolesterol pada tikus yang diberi pakan diabetes (Hozumi *et al.*, 1995). Sementara itu, kandungan tingkat glikemik menurun secara bertahap setelah sarapan dengan biskuit glukomanan. Penurunan sekresi insulin dan pengurangan kebutuhan insulin dapat mempertahankan lebih lama cadangan fungsional sel β (Melga *et al.*, 1992). Makanan yang diperkaya glukomanan viskositas tinggi meningkatkan kontrol glikemik dan profil lipida sehingga berpotensi untuk terapi dalam pengobatan sindrom resistensi insulin

(Vuksan *et al.*, 2000). Makanan dari iles-iles berguna dalam pencegahan dan pengobatan hiperglikemia (Huang *et al.*, 1990).

4.5. Simpulan

Glukomanan merupakan polisakarida dari golongan mannan yang terdiri dari monomer β -1,4 α -monnose dan α -glukosa. Senyawa polisakarida dari Dmannosa sebesar 67 persen dan D-glukosa 33 persen serta memiliki sifat antara selulosa dan galaktomanan, sehingga dapat mengkristal dan membentuk struktur serat halus. Pemanfaatan glukomanan telah menyebar pada beberapa industri diantaranya industri edibel film, bahan perekat, isolasi, industry makanan, cat, payung, kosmetik, obat-obatan, dan lain-lain

Pada bidang kesehatan, glukomanan digunakan untuk mencegah penyakit jantung dengan menurunkan kolesterol dan mengurangi respon glukemik, mengontrol kegemukan, kadar gula darah, membantu mencegah kanker, sembelit, dan mereduksi kolesterol. Glukomanan juga efektif untuk obat pencahar atau *laxative*.

Glukomanan dari lidah buaya dapat menurunkan kadar kolesterol darah melalui mekanisme konjugasi glukomanan dengan kolesterol. Glukomanan bergabung dengan kolesterol di dalam garam empedu (cairan berwarna kuning yang diproduksi oleh hati untuk membantu penyerapan lemak di dalam jejunum). Sebagian besar kolesterol pembentuk garam empedu akan diekskresikan bersama serat sebagai bahan buangan dan tidak diserap lagi. Kolesterol merupakan bahan dasar pembentuk empedu. Untuk menggantikan garam empedu yang hilang, kolesterol dikeluarkan dari peredaran darah. Peristiwa ini dapat

menurunkan kadar kolesterol darah. Kedua, di dalam usus glukomanan mengikat asam lemak sehingga menghambat penyerapan asam lemak yang akhirnya menghalangi sintesis lemak dan kolesterol.

Salah satu upaya untuk menjaga kadar kolesterol darah tetap normal adalah dengan mengatur pola makan, yaitu dengan mengurangi makanan yang banyak mengandung lemak jenuh dan kolesterol. Dianjurkan apabila mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung lemak jenuh dan kolesterol sebaiknya disertai dengan mengkonsumsi ekstrak lidah buaya.

Daftar Pustaka

- Ahmad S., Kalhoro MA, Kalpadia Z & Badar Y. 1993. Aloe a biologically active dan potensial medicinal plant. Hamdarrd Medicus. *Quarterly Journal of Science and Medicine* 36(1).
- Agus. 2006. *Herbal-herbal Penurun Kolesterol*. <http://www.republika.co.id>.
- Alhanin J. 2001. Kadar Kolesterol Serum Darah Mencit (*Mus musculus*) Swis Webstar Setelah Pemberian Filtrat Bawang Merah (*Alium cepa* var *ascolinum*). *Skripsi*. Semarang: Unnes Press.
- Arrahman A. 2005. *Kekurangan Serat Menyebabkan Divertikulosis*. <http://www.pjnhk.go.id>.
- Ardiansyah. 2002. *Antioksidan dan Peranannya bagi Kesehatan*. <http://beritaiptek.com>. [12-052007]
- Astawan. 2005. *Mari Kita Santap Lidah Buaya*. <http://www.kompas.com>. [01-03-2007]
- Anggarini S. 2002. Stress Oksidatif. Goodyear-Bruch, Oxidative Stress in Critically Ill Patients. *American Journal of Critical Care* 11(6).
- Anonim. 2004. *Kolesterol Apakah Lebih Sedikit Lebih Baik*. <http://indonesian.cri.cn>,
- , 2000. *Glucomannan*. http://170.107.206.70/drug_info.
- , 2005. *What's Glucomannan? Glucomannan, the Ideal Food Fiber with a Wide Range of Uses*. <http://www.annecollins.com>.

- Bambang M. 2004. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Jantung*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Elizabeth JB. *Aloe vera: Understanding it's Proposed Mecanism of Action and Clinical Importance*. <http://www.pediatrics.curtin.edu>.
- Danhof IE. 2001. *Information of Aloe vera*. Jakarta: Department of Biology Faculty of Mathematics and Sciences University of Indonesia Depok Internal Uses of Aloe vera.
- Daw AG. 1994. A study of guar seed and guar gum properties (Cyamopsis tetragonolabous), A thesis in Faculty of Agriculture, University of Khartoum. <http://www.iaea.org>. [01-02-2018]
- Djubaedah E. 2003. Pengolahan lidah buaya dalam sirup, Pra-Forum Apresiasi dan Komersialisasi Hasil Riset. Balai Besar Industri – Agro.
- Hanum DF, Yuniastuti A & Nugrahaningsih. 2011. Pengaruh Ekstrak Lidah Buaya terhadap Kadar Malondialdehida Serum Darah Tikus Putih Hiperkolesterolemi. *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Ishii K, Tanizawa H & Takino Y. 2004. Studies of Aloe V. Mechanism of Cathartic Effect. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 47: 651-653.
- Kathi J, Kemper MD & Chiou V. 1999. *Aloe vera*. Longwood Herbal Task Force. <http://www.mcp.edu>.
- Kowara. 2013. Pengolahan umbi porang (iles-iles). Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan dan Seafast Center LPPM IPB. <https://seafast.ipb.ac.id>
- Joseph, G. 2002. *Manfaat Serat Makanan Bagi Kesehatan Kita*. URL:<http://tumoutou.net>.
- Lim BO, Seong NS, Choue RW, Kim JD, Lee HY, Kim SY, Yu BP, Jeon TI & Park DK. 2003. Efficacy of dietary aloe vera supplementation on hepatic cholesterol and oxidative status in aged rates. *Journal Nutritional Science Vitamin* 49: 292-296.
- Yogi A, Makino K, Nishioka I & Kuchino Y. 1977. Aloe mannan, polysacharida, from *Aloe arborescens*. Var. *Nataleusis*. *Planta Medica* 31(1): 17-20.
- Nanies. 2006. *Semasa: Lidah Buaya Penawar Segala Penyakit*. Availabelfrom. <http://66.102.7.104>.
- Maryanto S & Fatimah SM. 2004. Pengaruh pemberian jambu biji (*Psidium guajava L*) pada lipid serum tikus (*Sprague Dawley*) hiperkolesterolemi. *Media Medika Indonesiana* 39(2): 105-111.

- Montgomery R, Dryer RL, Conway TW & Spector AA. 1983. *Biokimia Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus*. Jilid 2. Edisi ke-4. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Pandey BP. 2003. *Taxonomy of Angiospermae*. Edisi XIV. New Delhi: S. Chand & Company Ltd.
- Purbaya JR. 2003. *Mengenal dan Memanfaatkan Khasiat Aloe Vera (Lidah Buaya)*. Bandung: Penerbit PIONIR JAYA.
- Rahman S. 2004. *Lidah Buaya: Atasi Serangan Jantung dan Diabetes*. <http://www.kompas.com>.
- Rosman R. 2002. Peta kesesuaian lahan dan iklim tanaman lidah buaya di Pulau Jawa Bagian Barat. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat-Bogor.
- Sunarto. 1999. *Klasifikasi Tumbuhan dan Pusat Asal Sejumlah Tanaman*. Semarang: CV. IKIP Semarang Press.
- Susanti R, Yuniastuti A & Iswari RS. 2012. Aktivitas Reactive Oxygen Spesies makrofag akibat stimulasi gel lidah buaya pada infeksi *Salmonella typhimurium*. *Jurnal MIPA* 35(1): 1-10.
- Umi K, Yuniastuti A & Iswari RS. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Lidah Buaya Terhadap Kadar Kolesterol HDL dan LDL Serum Tikus Putih Hiperkolesterolemia. *Skripsi*. Semarang: Unnes Press.
- Wahid P. 2000. Peluang pengembangan dan pelestarian lidah buaya (*Aloe vera*). 21.
- Widyastuti, S. 2010. Sifat fisik dan kimiawi karagenan yang diekstrak dari rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *E. spinosum* pada umur panen yang berbeda. *Agroteksos* 20(1):41-50.
- Yuniastuti A. 2004. Pengaruh pemberian susu fermentasi lactobacillus casei galur shirota terhadap kadar fraksi lipid serum tikus hiperkolesterolemi. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Yuniastuti A. 2007. Pengaruh Pemberian ekstrak lidah buaya terhadap kadar kolesterol total dan LDL-kolesterol serum darah tikus hiperkolesterolemia. *Jurnal MIPA* 30(2).
- Yuniastuti A. 2007. Pengaruh Jus Lidah Buaya (*Aloe vera*) terhadap respon proliferasi limfosit limpa mencit Balb/c yang diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *Jurnal MIPA* 30(3).
- Yuniastuti A. 2014. Peran Pangan Fungsional Dalam Meningkatkan Derajat Kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian*. Peran Pangan Fungsional Berbasis Pangan Lokal dalam Peningkatan Derajat Kesehatan. Semarang.

Zamora, A. 2005. *Carbohydrates-Chemical Structure*. <http://www.cchs.net>.

POTENSI FLAVONOID KULIT BUAH
RAMBUTAN SEBAGAI ANTIOKSIDAN
ALAMI

BAB
5



Lisdiana

POTENSI FLAVONOID KULIT BUAH RAMBUTAN SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI

Penulis Lisdiana

5.1. Pendahuluan

Tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan alami yang dalam perkembangannya juga digunakan sebagai tanaman obat (Nugraha 2008). Buah rambutan berbentuk bulat sampai lonjong dan seluruh permukaan kulitnya banyak ditumbuhi rambut-rambut (duri-duri lunak), oleh karena itu disebut Rambutan. Rambutan tergolong tanaman buah tropis dari family Sapindaceae, banyak tersebar di wilayah Indonesia, Malaysia, Sri Lanka, Thailand, Kamboja, Karibia, Amerika Latin dan ditemukan pula di daratan yang mempunyai iklim sub-tropis (Jansenss *et al.*, 2013). Di Indonesia banyak ditanam untuk dimanfaatkan buahnya dan kulit buahnya dibuang sebagai limbah yang belum termanfaatkan.

Buah rambutan tersusun atas 3 komponen yakni buah, biji dan kulit. Kulit buah (*perikarp*). Kulit buah rambutan diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang mengandung senyawa fenolik, yakni *ellagic acid*, *geraniin*, *corilagin*. Senyawa-senyawa tersebut telah dilaporkan mampu berperan sebagai antivirus, antiinflamasi, apoptosis, sitotoksik, sitoprotektif, antimikroba dan antioksidan. *N. lappaceum* memiliki antioksidan yang jauh lebih besar daripada antioksidan sintetis. Salah satu antioksidan yang ditemukan dalam kulit buah rambutan adalah flavonoid (Thitilertdecha *et al.*, 2010).

Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan yaitu mendonorkan ion hidrogen sehingga menetralkan efek toksik dari radikal bebas serta meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2). Akibat dari proses tersebut akan terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen, misalnya SOD (Sumardika & Jawi, 2012).

Enzim superoxide dismutase (SOD) adalah antioksidan enzimatis yang memegang peranan penting dalam melindungi sel dari stres oksidatif (Fridovich 1991). Superoxide dismutase mengatalisis reaksi dismutasi dari radikal anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). H_2O_2 akan diubah menjadi H_2O oleh enzim katalase dan glutathione peroksidase (Lee *et al.*, 2012). Pemakaian enzim SOD yang terlalu besar untuk menetralkan radikal bebas secara terus-menerus akan menurunkan aktivitas enzim tersebut (Muhammad, 2009). SOD merupakan salah satu antioksidan primer yang mampu menekan atau menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

Flavonoid berperan sebagai antioksidan telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri, anti-inflamasi, antiallergic, antimutagenik,

antiviral, antineoplastik, anti-trombotik, dan vasodilatasi, hepatoprotektif (Kumar & Abhay, 2013). Flavonoid juga merupakan salah satu hal yang harus ada dan penting dalam bahan makanan sebagai sumber antioksidan dan direkomendasikan sebesar 800 mg/hari (Pietta, 2000).

Palanisamy *et al.* (2008) menyatakan bahwa sebagai tanaman yang mengandung antioksidan, kulit buah rambutan diduga dapat menghambat terjadinya kerusakan oksidatif. Stres oksidatif dapat dilihat dari beberapa tanda yang berbeda, yaitu dengan pengukuran langsung agen oksidatif seperti produksi ROS oleh sel darah perifer, efek stres oksidatif pada target molekul (produk lipid peroksidasi dan protein teroksidasi), atau respon kapasitas antioksidan dalam plasma. Paparan bahan kimia oksidan seperti paparan asap rokok dapat dikaitkan dengan penurunan tingkat antioksidan endogen dalam kompartemen sistemik. Merokok mengakibatkan rendahnya konsentrasi antioksidan alami dalam plasma (Yanbaeva *et al.*, 2007). Hal ini dikarenakan keadaan stres oksidatif akibat pemaparan asap rokok dapat meningkatkan jumlah radikal bebas yang menyebabkan penggunaan SOD semakin banyak yang pada akhirnya jumlah antioksidan semakin berkurang. Kulit buah rambutan sebagai sumber senyawa antioksidan secara perlahan mendapatkan perhatian karena aktivitas antioksidannya lebih baik daripada bagian yang lain (Zulkifli *et al.*, 2012).

5.2. Flavonoid pada Kulit Rambutan

Rambutan merupakan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat dan sangat digemari masyarakat. Salah satu bagian yang belum dimanfaatkan secara maksimal adalah kulit buahnya. Saat ini kulit buah rambutan cenderung dibuang dan menjadi limbah yang belum dimanfaatkan. Banyak penelitian telah membuktikan berbagai macam senyawa kimia yang terkandung di dalam kulit buah rambutan. Kulit buah rambutan ditemukan memiliki efek biologis seperti aktivitas antioksidan, antibakteri (Palanisamy *et al.*, 2008; Thitilerdecha *et al.*, 2008), antiproliferasi (Khonkarn *et al.*, 2010), anti herpes simplex virus tipe 1 (Nawawi *et al.*, 1999) dan antihiperlipemik (Palanisamy *et al.*, 2011).



Gambar 5.1. *Nephelium lappaceum* L.

Kulit buah rambutan mengandung berbagai macam antioksidan seperti alkaloid, fenolik, steroid, terpenoid (Wardhani & Saptono, 2015), tanin (Thinkratok 2011), saponin (Fila *et al.*, 2012) dan asam

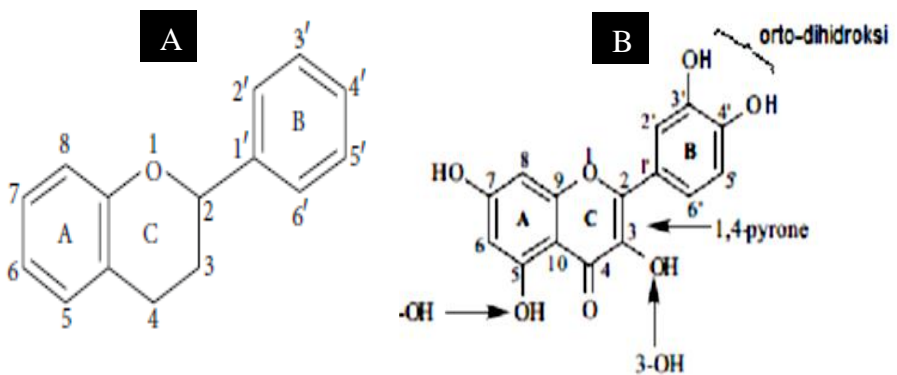
askorbat (Wall, 2006), dengan kandungan tertinggi adalah senyawa fenolik (Fila *et al.*, 2012). Senyawa fenolik bersifat antioksidan kuat, mempunyai cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu dan berperan melindungi sel tubuh dari bahaya radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas. Kulit buah rambutan juga mengandung flavonoid (Lisdiana *et al.*, 2017) serta antosianin (Hutapea *et al.*, 2014). Antosianin merupakan senyawa golongan flavonoid yang memberikan pigmen sehingga berwarna merah tua (Nurdin *et al.*, 2013). Flavonoid merupakan salah satu kelompok fenol yang terbesar di alam.

5.3. Struktur Kimia Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada banyak tanaman. Sumber utama flavonoid adalah produk buah (misalnya buah jeruk, rosehip, aprikot, cherry, anggur, kismis hitam, bilberry, apel), dan sayuran (misalnya bawang merah, brokoli, tomat, bayam), minuman (anggur merah, kopi, teh), biji kakao, produk kedelai dan herbal (Hodek *et al.*, 2002).

Flavonoid mempunyai struktur kimia C₆-C₃-C₆, dua cincin aromatic diikat melalui penghubung tiga rantai karbon (Santos-Buelga & Arturo, 2017). Berbagai kelas flavonoid berbeda dalam tingkat oksidasi dan pola substitusi pada cincin C, sedangkan perbedaan setiap senyawa dalam kelas adalah berbeda dalam substitusi pada cincin A dan B. Terdapat beberapa kelas flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu flavon, flavanon, isoflavon, flavanol, flava- nonol, flavan-3ol dan antosianin.

Secara kimia flavonoid terdiri atas 15 rangka karbon yang mengandung dua cincin benzene (A dan B) yang dihubungkan oleh sebuah cincin pyrin heterolik (C). Flavonoid dapat dibedakan menjadi beberapa kelas diantaranya flavones (flavnon, apigenin, dan luteolin), flavonols (quarcetin, kaemperol, myricetin, dan fisetin), flavanon (flavonon, hesperetin, dan naringenin) dan lainnya. Flavonoid dapat berupa aglikon, glikon, dan turunan dari metilat. Pada dasarnya struktur flavonoid adalah aglikon (Kumar & Abhay, 2013). Pembagian kelas dari jenis flavonoid ini berdasarkan tingkat oksidasi dan susunan substituen yang terikat pada cincin C. Masing-masing senyawa dari tiap kelas dibedakan berdasarkan susunan substituen dari cincin A dan B (Pietta, 2000). Analisis flavonoid yang terdapat pada tanaman dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya senyawa kimia alami, struktur yang kompleks, fisikokimia, dan konsentrasi dari flavonoid yang berubah bergantung matriks (Santos-Buelga & Arturo, 2017).



Gambar 5.2. Struktur kimia flavonoid. A struktur dasar flavonoid (Kumar & Abhay, 2013). B struktur flavonoid lengkap (Simanjuntak, 2012)

5.4. Bioavailabilitas Flavonoid

Flavonoid banyak digunakan dalam dunia kesehatan bukan karena tanpa alasan melainkan karena aktivitas biologis yang dimiliki oleh senyawa tersebut. Aktivitas biologis dari flavonoid diantaranya sebagai antioksidan, hepatoprotektif, antibakterial, anti inflamatori, anti kanker, dan aktivitas anti virus. Aktivitas yang dimiliki oleh flavonoid ini berhubungan dengan struktur dari flavonoid (Kumar & Abhay, 2013).

Pemberian ekstrak kulit rambutan secara oral akan masuk dalam system pencernaan dan mengalami biotransformasi di setiap fase dalam zona pencernaan. Kecuali di rongga mulut, belum ada bukti yang menunjukkan bahwa pada zona rongga mulut terjadi biotransformasi flavonoid (Viskupičová *et al.*, 2008). Selanjutnya Flavonoid akan mengalami absorpsi di saluran pencernaan dan dimetabolisme di hati sampai akhirnya di ekskresikan dalam urin atau feses. Flavonoid dalam plasma darah hanya ditemukan dalam jumlah kecil (Thilakarathna & Rupasinghe, 2013).

Absorpsi zat merupakan gerakan zat dari area pemberian ke sirkulasi sistemik (Boyd, 2013). Neal (2006). Proses absorpsi dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya formulasi zat, stabilitas terhadap asam dan enzim, motilitas usus, makanan dalam lambung, derajat metabolisme lintas pertama, serta kelarutan dalam lemak. Zat diabsorpsi terutama di usus halus karena permukaannya luas. Zat yang diabsorpsi dari saluran gastrointestinal memasuki sirkulasi portal, dan dimetabolisme secara luas saat zat melewati hati (metabolisme lintas pertama).

Ada dua tipe flavonoid yang juga berpengaruh pada proses penyerapan, yakni aglikon dan glikosida. Flavonoid dengan tipe aglikon dapat diserap baik pada saluran cerna, sehingga flavonoid tipe glikosida harus diubah terlebih dahulu menjadi aglikon (Hollman, 2004). Flavonoid yang diberikan secara oral akan masuk ke saluran sistemik untuk proses penyerapan. *Glycoside* flavonoid dihidrolisis oleh enzim LPH menjadi aglikon dan akan diangkut menuju hati melalui *hepatic portal vein* dan mengalami proses metabolisme tahap I dan II lanjut yang menghasilkan metabolit berupa turunan glukoronida dan sulfat yang akan memudahkan ekskresi melalui urin dan empedu yang sebelumnya melalui darah. Selain itu akan diangkut ke darah dan ke sel target dan jaringan lain. Keberadaan dalam plasma sangat sedikit bahkan tidak ada. Aglikon dalam usus halus yang masih memiliki struktur kompleks akan mengalami fase metabolisme I dan II yang kemudian menjadi sasaran perubahan struktur oleh mikroflora di kolon. Metabolit dalam hati selain diekskresikan dan diangkut ke darah, sel dan jaringan yang ditargetkan juga akan mengalami sirkulasi enterohepatik balik melalui ekskresi empedu akan dihidrolisis di kolon oleh mikroba pendegradasi dan diubah menjadi senyawa aglikon dan asam fenolik yang akan diangkut kembali ke hati dan di ekskresi melalui feses (Landete, 2012). Aglikon yang terbentuk memiliki berat molekul yang rendah sehingga mudah diserap (Thailakaatha & Rupasinghe, 2013).

Flavonoid yang terkonjugasi dengan glikosida (flavonoid glikosida) dihidrolisis dalam lumen usus halus oleh enzim *Lactase Phloridzin Hydrolase* (LPH, EC 3.2.1.23 dan 62), suatu β -glucosidase yang memiliki kemampuan menghidrolisis flavonoid glukosida dan

menghasilkan aglikon yang kemudian menembus sel epitel dengan mekanisme difusi pasif sebagai hasil dari peningkatan lipofilisitas. Hidrolisis alternatif, flavonoid glikosida dihidrolisis oleh *cytosolic β glucosidase* (CBG) yang terdapat di sel mukosa usus halus. Selanjutnya, *sodium-dependent glucose transporter* (SGLT₁) membawa aglikon ke sel epitel usus halus (Wiczkoski & Piskula, 2004; Kumar & Pandey, 2013; Noor, 2012)

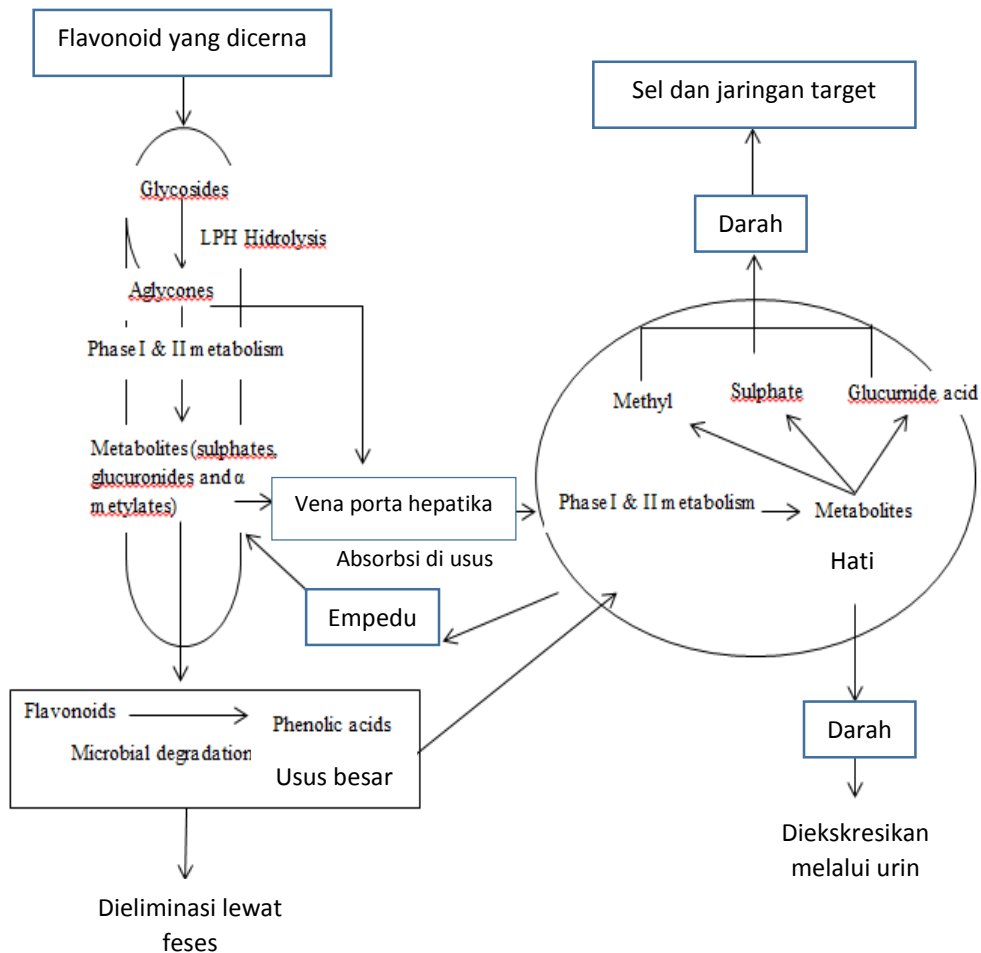
Sebelum mencapai perjalanan lebih lanjut dalam sel epitel usus halus aglikon mengalami metabolisme membentuk sulfat, glukoronat, dan atau metilasi metabolit dengan masing-masing aksi dari enzim *sulfotransferases* (SULT), *uridine-5'-diphosphataseglucoronosyl-transferase* (UGT), dan *catechol-O-methyltransferases* (COMT). Di sel epitel usus halus, quercetin salah satu jenis flavonoid berkonjugasi dengan asam glukoronik diperantarai oleh *uridine-5'-diphosphataseglucoronosyl-transferases* (UGT, EC. 2.4.1.17) menghasilkan *quercetin-3-glucoronide* dan *quercetin-7-glucoronide*. Lebih lanjut, *catechol-O-methyltransferases* (COMT, EC 2.4.1.17) memetilasi kelompok hidroksil dari cincin C quersetin bagian *catechol* (Wiczkoski & Piskula, 2004; Noor, 2012).

Setelah dari usus halus, flavonoid akan masuk ke dalam lambung yang di dalamnya terkandung getah lambung. Getah lambung memiliki konsentrasi ion H⁺ tinggi dan PH asam 1.0. Flavonoid resisten terhadap aktivitas getah lambung dan enzim. Flavonoid diabsorbsi di usus halus dan usus besar bergantung pada struktur flavonoid, dalam bentuk glikosida atau aglikon. Aglikon flavonoid memiliki ciri hidrofobik dan dapat menembus enterosit melalui membran (transport pasif). Adanya

substitusi glikosida pada molekul flavonoid meningkatkan hidrofilisitas flavonoid, sehingga membatasi kemungkinan absorpsinya (difusi sederhana) (Wiczkoski & Piskula, 2004).

Flavonoid yang tidak dapat diabsorpsi di usus halus, ditransport ke usus besar. Di dalam usus besar, mikroflora kolon menghidrolisis glikosida flavonoid sekaligus aglikon. Selain itu, mikroflora kolon juga mendegradasi struktur flavonoid menjadi asam fenolik, sehingga kadar flavonoid dalam feces sangat sedikit (Wiczkoski & Piskula, 2004; Kumar & Pandey, 2013).

Flavonoid yang dapat diabsorpsi di usus halus selanjutnya berikatan dengan albumin darah dan ditransport ke hati melalui vena portae. Di dalam hati flavonoid berkonjugasi melalui glukoronidasi, sulfasi, dan metilasi menjadi senyawa fenolik yang lebih kecil. Di dalam hati, flavonoid beserta metabolitnya mengalami modifikasi lebih lanjut, utamanya pembentukan *quercetin-3-, 7-, 4'-,3'-glucuronide* dan *3'- dan 4'-O- methylated derivatives*. Di dalam sitosol sel hati terdapat enzim dari kelompok sulfotransferase (PST, EC 2.8.2.1) yang mengkatalisis konjugasi quersetin dan berkonjugasi dengan asam sulfur. Metabolit yang dihasilkan di hati dieksresi ke empedu dan bersama empedu kembali ke usus halus untuk direabsorpsi, sehingga terjadi sirkulasi enterohepatik flavonoid (Wiczkoski & Piskula, 2004). Selain itu, flavonoid hasil metabolisme hati, ditransport ke sel/jaringan target dan ke ginjal melalui darah. Skema mengenai metabolisme flavonoid pada manusia ditunjukkan pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Skema metabolisme flavonoid dalam tubuh.

Flavonoid yang terdapat dalam peredaran darah masuk ke dalam ginjal. Di dalam ginjal flavonoid akan masuk ke dalam glumerulus melalui arteriol aferen. Di dalam glomerulus terjadi proses filtrasi. Filtrasi glomerulus umumnya adalah proses yang indiskriminatif. Selanjutnya flavonoid yang terkandung dalam plasma yang terfiltrasi

dialirkan ke tubulus proksimalis untuk direabsorpsi melalui brush border dengan mengambil bahan-bahan yang diperlukan tubuh seperti gula, asam-asam amino, vitamin, beberapa jenis flavonoid, dan sebagainya. Sisa bahan-bahan buangan yang tidak diperlukan disalurkan ke saluran penampung (*collecting tubulus*) dan diekskresikan sebagai urin. Flavonoid yang terkandung dalam urin merupakan metabolit hasil proses farmakokinetika dalam tubuh yang meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi.

5.5. Flavonoid kulit rambutan sebagai antioksidan

Kulit buah rambutan mengandung beberapa macam metabolit sekunder, yaitu senyawa fenolik, alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok senyawa polifenol yang dapat ditemukan di kulit buah rambutan yang berperan sebagai antioksidan (Lisdiana, *et al.*, 2016). Flavonoid inilah yang dapat mencegah terjadinya stress oksidatif. Flavonoid yang terdapat pada ekstrak kulit buah rambutan diduga dapat menghambat proses terjadinya peroksidasi lipid pada tahap inisiasi, sehingga radikal bebas tidak dapat berkembang menjadi radikal bebas yang baru (Murray, 2009).

Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam memberikan atom hydrogen atau kemampuan mengkelat logam (Redha, 2010). Flavonoid yang berasal dari ekstrak kulit rambutan ketika masuk secara oral akan mengalami proses absorpsi. Proses absorpsi dipengaruhi oleh faktor fisiologis tubuh seperti waktu tinggal dalam saluran cerna (*transit time*), kecepatan pengosongan lambung,

tempat absorpsi (lambung, usus), keefektifan luas permukaan pada tiap tempat absorpsi, pH, aliran darah, dan ada tidaknya makanan dalam saluran cerna (Wagner 1975 dalam Mirakel, 2007).

Flavonoid yang masuk secara oral akan masuk ke dalam saluran pencernaan dan diabsorpsi masuk ke dalam system peredaran darah, melalui peredaran darah dan dimetabolisme di hati sampai akhirnya di ekskresikan dalam urin atau feses. Flavonoid dalam plasma darah hanya ditemukan sedikit (Thilakarathna & Rupasinghe, 2013). Flavonoid tipe quercetin diserap cukup baik di usus dan mencapai kadar puncak dalam plasma dalam 6 jam setelah konsumsi per oral dengan konsentrasi $10,26 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$, waktu maksimal dalam plasma 6 jam dan waktu paruh sekitar $6,02 \pm 0,36$ dan kalkulasi AUC $18 \pm 0,84$. Flavonoid yang digunakan adalah quercetin murni dengan dosis 50 mg/kg tikus jantan putih (Kanimozhi, 2016).

Sebagai antioksidan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit rambutan terbukti mampu menurunkan jumlah leukosit total dan dapat melindungi kerusakan sel alveolus paru yang dipapar asap rokok, dengan dosis efektif 45 mg/kgBB (Lisdiana *et al.*, 2017). Hal ini karena flavonoid yang terdapat pada ekstrak kulit buah rambutan dapat menghambat proses terjadinya peroksidasi lipid pada tahap inisiasi, sehingga radikal bebas tidak dapat berkembang menjadi radikal bebas yang baru (Murray, 2009).

Flavonoid dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan lebih

stabil dibanding radikal lipida. Radikal-radikal antioksidan yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).

Hasil penelitian Lisdiana *et al.* (2017) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit rambutan berpengaruh terhadap jumlah eritrosit, kadar hemoglobin dan nilai hematokrit darah pada tikus putih yang dipapar asap rokok. Hal ini dapat dijelaskan bahwa flavonoid merupakan senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan, yang di dalam sel darah dapat bertindak sebagai penampung radikal hidroksil sehingga melindungi lipid membran. Efek proteksi dari ekstrak kulit buah rambutan dikarenakan flavonoid bersifat lipofilik sehingga mampu berikatan dengan membran sel eritrosit dan berfungsi sebagai pelindung terhadap radikal bebas.

Terjadinya penurunan jumlah eritrosit dan haemoglobin pada tikus yang terpapar asap rokok dikarenakan salah satu kandungan dari asap rokok yang dominan adalah karbonmonoksida (Inayatillah, 2014). Karbonmonoksida dapat menyebabkan berkurangnya pengiriman dan pemanfaatan oksigen pada jaringan tubuh (Batubara, 2013). Karbon monoksida dalam asap rokok mampu menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Terjadinya stress oksidatif yang berkepanjangan di dalam tubuh, akan membentuk radikal bebas berikutnya. Apabila radikal bebas yang bersifat reaktif tidak dihentikan maka akan merusak membran sel eritrosit dan terjadi peroksidasi lipid. Adanya peroksidasi lipid membran sel memudahkan sel eritrosit mengalami hemolisis yang menyebabkan hemoglobin terbebas, sehingga jumlah eritrosit, kadar

hemoglobin darah semakin berkurang. Hal ini sesuai dengan pendapat Muhammad (2009) yang mengatakan bahwa peroksida lipid pada membran eritrosit dapat mengakibatkan hilangnya fluiditas membran dan meningkatkan fragilitas atau kerapuhan membran eritrosit yang selanjutnya mengakibatkan eritrosit akan mudah pecah atau hemolisis sehingga menyebabkan anemia.

Hematokrit (PCV) adalah perbandingan antara eritrosit dan plasma darah yang dinyatakan dalam persen volume. Nilai hematokrit berkaitan erat dengan jumlah eritrosit/sel darah merah dalam tubuh. Nilai hematokrit merupakan persentase dari sel-sel darah terhadap seluruh volume darah, termasuk eritrosit (Soeharsono *et al.*, 2010). Penurunan nilai hematokrit dapat dijumpai pada kondisi anemia atau akibat kekurangan sel darah (Wientarsih *et al.*, 2013). Kadar hematokrit akan menurun ketika terjadi penurunan hemokonsentrasi, karena penurunan kadar seluler darah atau peningkatan kadar plasma darah. Penurunan nilai hematokrit di bawah normal dapat disebabkan oleh kerusakan eritrosit, penurunan produksi eritrosit atau dipengaruhi oleh jumlah, ukuran (Wardhana *et al.*, 2011). Apabila nilai persentase hematokrit semakin besar diatas kisaran normal maka akan menyebabkan makin banyak pergeseran diantara lapisan-lapisan darah dan pergeseran inilah yang menentukan viskositas. Viskositas dalam darah akan meningkat ketika hemotokrit meningkat yang mengakibatkan aliran darah melalui pembuluh sangat lambat (Guyton, 1996) sehingga menyebabkan suplai oksigen dan nutrisi ke organ terhambat. Kondisi ini menyebabkan berkurangnya fungsi organ. Flavonoid dalam kulit rambutan berpotensi mengendalikan dan

mengurangi peroksidase lipid melalui mekanisme antioksidan pemutus rantai dengan menangkap radikal ROO-. Flavonoid dapat memberikan donor H+ dan berikatan dengan radikal ROO- sehingga radikal ini dapat bersifat stabil. Kestabilan ini menyebabkan terhentinya reaksi berantai peroksidase lipid.

5.6. Simpulan

Tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) merupakan tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat herbal. Tidak hanya buahnya yang mengandung berbagai macam antioksidan, tetapi juga kulit buahnya diketahui mengandung berbagai macam antioksidan seperti alkaloid, fenolik, steroid, terpenoid, tanin, saponin dan asam askorbat dengan kandungan tertinggi adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik bersifat antioksidan kuat, berperan melindungi sel tubuh dari bahaya radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas.

Pemberian ekstrak kulit rambutan secara oral berimplikasi pada masuknya senyawa flavonoid ke dalam tubuh melalui system pencernaan dan mengalami biotransformasi di setiap fase dalam zona pencernaan. Selanjutnya Flavonoid akan mengalami absorpsi di saluran pencernaan dan dimetabolisme di hati sampai akhirnya di ekskresikan dalam urin atau feses.

Sebagai antioksidan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit rambutan terbukti mampu menurunkan jumlah leukosit total dan dapat melindungi kerusakan sel alveolus paru akibat paparan asap rokok dan mampu meningkatkan jumlah eritrosit, kadar hemoglobin

dan nilai hematokrit pada tikus yang dipapar asap rokok dengan dosis efektif sebesar 45 mg/kgBB.

Daftar Pustaka

- Fila WO, Johnson JT, Edem PN, Odey MO, Ekam VS, Ujong UP & Eteng OE. 2012. Comparative anti-nutrients assessment of Pulp, seed and rind of rambutan (*Nephelium Lappaceum*). *Annals of Biological Research* 3(11): 5151-5156.
- Fridovich I. 1991. *Oxygen & living processes: Superoxides radical and superoxide dismutase*. New York: Springer New York.
- Gordon MH. 1990. *Food Antioxidants: The mechanism of antioxidants action in vitro*. Editors BJB Hudson. Netherlands: Springer Netherlands. Flavonoid interactions during digestion, absorption, distribution and metabolism: a sequential structure-activity/property relationship-based approach in the study of bioavailability and bioactivity.
- Hernández C, Ascacio-Valdés J, Garza HDL, Wong-Paz J, Aguilar CN, Martínez-Ávila GC, Castro-López C & Aguilera-Carbó A. 2017. Polyphenolic content, *in vitro* antioxidant activity and chemical composition of extract from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican rambutan) husk. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 10: 1201-1205.
- Hollman & Peter CH. 2004. Absorption, bioavailability, and metabolism of flavonoids. *Pharmaceutical Biology* 42: 74-83.
- Hutapea ERF, Laura OS & Rondang T. 2014. Ekstraksi pigmen antosianin dari kulit rambutan (*nephelium lappaceum*) dengan pelarut metanol. *Jurnal Teknik Kimia USU* 3(2).
- Inayatillah IR. 2014. Kadar karbon monoksida udara ekspirasi pada perokok dan bukan perokok serta faktor-faktor yang mempengaruhi. *Jurnal Respirasi Indonesia* 34(4).
- Khonkarn R, Okonogi S, Ampasavate C & Anuchapreeda S. 2010. Investigation of fruit peel extracts as sources for compounds with antioxidant and antiproliferative activities against human cell lines. *Journal Food and Chemical Toxicology* 48(8-9): 2122-2129
- Kumar S & Abhay KP. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoid: an review. *The Scientific World Journal*: 1-16.

- Lee J & Alyson EM. 2012. Pharmacokinetics of quercetin absorption from apples and onions in healthy humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 3874-3881.
- Lisdiana, Nugrahaning WH & Priyantini W. 2017. The effect of rambutan peel extract (*Nephelium lappaceum* L.) to total leukocytes and histopathological of rat lungs exposed by cigarette smoke. *Jurnal Sain dan Teknologi* 15: 181-192.
- Lisdiana & Dewi FK. 2017. Effects of rambutan peel extract to the number of erythrocytes and haemoglobin in rats exposed to cigarette smoke. *Journal of Physics* 824: 1-6
- Muhammad I. 2009. Efek antioksidan vitamin C terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) jantan akibat pemaparan asap rokok. *Tesis*. Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB.
- Murray RK, Granner DK & Rodwell VW. 2009. *Biokimia Harper*, Edisi 27. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Nawawi ANN, Hattori M, Kurokawa M & Shiraki K. 1999. Inhibitory effects of Indonesian medicinal plants on the infection of herpes simplex virus type 1. *Journal Phytotherapy Research* 13(1): 37-41.
- Nugraha A. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum pada Tikus Wistar. *Artikel Ilmiah*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Nurdin BN, Yeni S & Emriadi. 2013. Inhibisi Korosi Baja Oleh Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* Linn) dalam Medium Asam Sulfat. *Jurnal Kimia Unand* 2(2): 133-143.
- Palanisamy U, Cheng HM, Masilamani T, Subramaniam T, Ling LT & Radhakrishnan AK. 2008. Rind of the rambutan, *Nephelium lappaceum* a potential source of natural antioxidants. *Journal Food Chemistry* 109(1): 54-63.
- Palanisamy U, Manaharan T, Teng LL, Radhakrishnan AKC, Subramaniam T & Masilamani T. 2011. Rambutan rind in the management of hyperglycemia. *Journal Food Research International* 44(7): 2278-2282.
- Pietta GP. 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal Natural Products* 63: 1035-1042.
- Santos-Buelga C & Arturo SF. 2017. Flavonoids: from structure to health issues. *Molecules* 22: 1-6.

- Simanjuntak K. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan. *Jurnal Bina Widya* 23(3): 135-140.
- Sumardika IW & Jawi IM. 2012. Ekstrak air daun ubijalar ungu memperbaiki profil lipid dan meningkatkan kadar SOD darah tikus yang diberi makanan tinggi kolesterol. *Medicina* 43(2): 67-71.
- Thailakaratha HS & Rupasinghe HP. 2013. Flavonoid bioavaibility and attempts of bioavaibiity enhancement. *Nutrients* 5: 3367-3387.
- Thinkratok A. 2011. Effects of the crude extract from the fruit rind of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) on obesity in male wistar rats. *Thesis*. Thailand: Suranaree University of Technology.
- Thitilerdecha N, Teerawutgulrag A & Rakariyatham N. 2008. antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *Journal Food Science and Technology* 41: 2029-2035.
- Thitilertdecha N, Teerawutgulrag A, Kilburn JD & Rakariyatham N. 2010. Identification of major phenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L and their antioxidant activities. *Journal Molecules* 15: 1453-1465.
- Viskupičová J, Miroslav O & Ernest Š. 2008. Bioavailability and Metabolism of Flavonoids. *Journal of Food and Nutrition Research* 47: 151-162.
- Wall MM. 2006. Ascorbic acid and mineral composition of longan (*Dimocarpus longan*), lychee (*Litchi chinensis*) and rambutan (*Nephelium lappaceum*) cultivars grown in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 655-663.
- Wardhani RAP & Supartono. 2015. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Bakteri. *Journal Chemical Sciences* 4(1): 46-51.
- Wientarsih I, Widhyari SD & Aryanti T. 2013. Kombinasi imbuhan herbal kunyit dan zink dalam pakan sebagai alternatif pengobatan kolibasiolosis pada ayam pedaging. *Jurnal Veteriner* 14(3): 327-334.
- Winarsi HMS. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Cetakan 5. Yogyakarta: Kanisius.
- Yanbaeva DG, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G & Wouters EF. 2007. Systemic effect of smoking. *Chest* 131(5): 1557-1566.

Zulkifli KS, Abdullah N, Abdullah A, Aziman N & Kamarudin SSW. 2012. Bioactive phenolic compounds and antioxidant activity of selected fruits peels. *International Conference on Environment, Chemistry and Biology* 49: 66-70.

POTENSI ANDROGRAFOLID DARI
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*)
SEBAGAI ANTIKANKER

BAB
6



Nugrahaningsih V/H

POTENSI ANDROGRAFOLID DARI SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SEBAGAI ANTIKANKER

Penulis Nugrahaningsih WH

6.1. Pendahuluan

Kanker merupakan penyakit dengan prevalensi yang cukup tinggi di dunia. Tahun 2016 sebanyak 1.685.210 kasus baru ditemukan di Amerika Serikat. Jenis kanker yang sering ditemukan adalah kanker mamma, kanker paru dan bronkus, kanker prostat, kanker colon dan rectum, kanker kandung kemih, melanoma kulit, non-Hodgkin lymphoma, kanker thyroid, kanker ginjal dan pelvis renalis, leukemia, kanker endometrial, dan kanker pancreas. Dari kasus tersebut diperkirakan 595.690 akan meninggal. Angka kematian kanker pada laki-laki lebih tinggi dibanding wanita, yaitu 207,9 per 100.000 pada laki-laki dan 145,4 per 100.000 pada wanita. Resiko kematian akibat kanker pada Afrika Amerika lebih tinggi dibandingkan pada Asia. Kanker tidak hanya terjadi pada lanjut usia, tetapi dapat juga terjadi pada anak. (www.cancer.gov, diakses 27 Februari 2018)

Sambitoto (*Andrographis paniculata*) adalah tanaman perdu yang banyak tumbuh di Indonesia. Memiliki rasa yang sangat pahit sehingga dijuluki *King of bitter*. Sambiloto merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan secara luas di negara-negara Asia. Secara tradisional sambiloto telah banyak digunakan sebagai obat termasuk untuk infeksi HIV dan antikanker. Beberapa penelitian menunjukkan sambiloto dapat berfungsi sebagai antipiretik, analgesik, imunostimulan, antihepatotoksik, anti mikrobia, anti-HIV, dan anti

kanker. Andrografolid dan 14-deoxy-11, 12-dehydroandrografolid adalah zat aktif dalam sambiloto yang berefek sebagai antiviral, antipiretik, imunostimulan dan antikanker (Suebasana, 2009; Chao, 2010). Neoandrografolid bersifat anti-inflamasi, anti-infeksi dan anti-hepatotoksik. 14-deoksiandrografolid dapat meningkatkan sistem imun dan bersifat anti-aterosklerotik. Kandungan andrograponin dalam sambiloto dapat berefek antiinflamasi dan anti infeksi. Isoandrographolide 3,19-isopropylideneandrographolide DAN 14-acetylan-drographolide merupakan kandungan lain dari sambiloto yang merupakan *tumor suppressor*. Sambiloto juga mengandung empat flavonoid yaitu 7-O-methylwogonin, apigenin, onysilin dan 3,4-dicaffeoylquinic acid yang berfungsi sebagai anti aterosklerotik.

Sambiloto dapat diekstrak dengan berbagai ekstraktor. Ekstrak methanol menarik zat aktif paling banyak. Ekstrak methanol mengandung alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, steroid dan teroenoid. Ekstrak air mengandung alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, saponin dan tanin. Steroid dan terpenoid tidak didapatkan pada ekstrak air. Ekstrak dengan dichloromethane hanya dapat menarik alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid (Pandey, 2011).

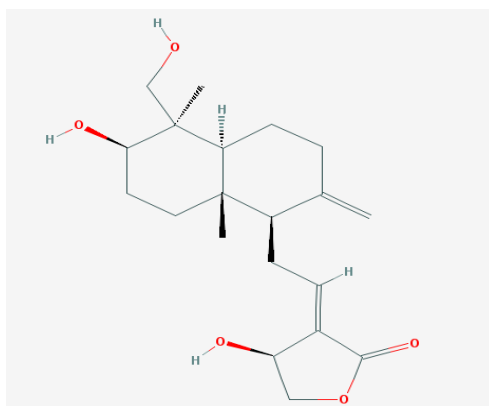
Komponen aktif sambiloto dapat diekstrak dari daun, batang atau keseluruhan bagian tanaman. Lebih dari 20 diterpenoid dan 10 flavonoid telah diekstrak dari tanaman sambiloto. Andrografolid ($C_{20}H_{30}O_5$) merupakan diterpenoid terbanyak yang ditemukan yaitu 4% dari tanaman kering, 0,8-1,2% dari batang, dan 0,5-6% dari daun. Selain andrografolid, diterpenoid lain adalah deoksiandrografolid,

neoandrografolid, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographide, dan isoandrografolid (Chao, 2010). Isolasi dengan fraksi terlarut etil asetat dari ekstrak etanol atau metanol didapatkan beberapa flavonoid yaitu 5-hydroxy - 7, 8 - dimethoxyflavone, 5 - hydroxy - 7, 8, 2', 5' - tetramethoxyflavone, 5 - hydroxy - 7,8,2',3'- tetramethoxyflavone, 5-hydroxy - 7,8,2' - trimethoxyflavone, 7-O-methylogonin dan 2' - methyl ether (Chao, 2010).

6.2. Struktur dan Keamanan Andrografolid

6.2.1. Struktur Andrografolid

Andrografolid merupakan metabolit sekunder utama dari tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*). Andrografolid adalah labdane diterpenoid dengan rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$ mempunyai berat molekul 350.455 g/mol. Nama sesuai nomenklatur IUPAC adalah 3-[2 - [Decahydro - 6 - hydroxyl - 5 - (hydroxymethyl) - 5,8a -dimethyl - 2 - methylene - 1 - naphthaleny] ethylidene]dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone. Struktur andrografolid secara 2D tampak pada Gambar 6.1.



Gambar 6.1. Struktur andrografolid

6.2.2. Keamanan Andrografolid

Daun sambiloto memiliki rasa yang sangat pahit sehingga sering disebut sebagai *king of bitter*. Masyarakat Indonesia biasa mengkonsumsinya sebagai seduhan dari daun kering. Pemakaian sambiloto pada masyarakat tergolong aman. Penelitian menggunakan tikus yang diberikan sambiloto selama 60 hari, tidak didapatkan adanya toksisitas pada organ testis, baik pada berat testis, struktur histologis, struktur sel Leydig maupun pada kadar testosteronnya. Toksisitas akut sambiloto diteliti pada berbagai sediaan menunjukkan dosis aman yang cukup tinggi. LD50 infusa sambiloto pada mencit dengan pemberian secara oral adalah 71,08 mg/10 gBB atau 177,6 mg/ekor (diasumsikan berat rata-rata mencit 25 g). Penelitian toksisitas ekstrak etanol melalui pemberian intraperitoneal pada mencit menunjukkan hasil LD50 sebesar 11.46 g/kgBB atau 286,5 mg/ekor (Akbar, 2011). Pemberian ekstrak aquades secara oral pada dosis 25 mg/ekor per hari selama 14 hari tidak menyebabkan perubahan struktur mikroanatomi pada ginjal dan hepar mencit (Nugrahaningsih, 2009).

6.3. Bioavailabilitas Andrografolid

Andrografolid yang terkandung dalam sambiloto sebagian besar terikat pada protein plasma dan sebagian masuk ke dalam sel. Kadar maksimum dalam plasma dicapai dalam waktu yang relatif cepat yaitu 1,5 – 2 jam pada pemberian oral, sedangkan waktu paruh berkisar antara 6,6 – 10 jam (Panossian, 2000). Andrografolid yang dikonsumsi secara oral diakumulasi dalam organ visera termasuk jaringan otak, ginjal, jantung dan paru. Andrografolid diabsorpsi dan diekskresi dari tubuh

secara cepat kurang lebih 80% dalam 8 jam dan 90% dalam 48 jam (Jarukamjorn & Nemoto, 2008).

6.4. Andrografolid sebagai antikanker

Sel kanker merupakan sel yang telah mengalami perubahan perantai sehingga terjadi proliferasi yang tidak terkontrol serta apoptosis yang menurun. Sel kanker memproduksi berbagai mediator kimia yang bertanggungjawab terhadap terjadinya invasi ke jaringan lain, timbulnya rasa sakit. Andrografolid yang terkandung dalam tumbuhan sambiloto memiliki potensi sebagai antikanker. Penelitian dengan menggunakan ekstrak sambiloto dan andrografolid yang dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo* telah memberikan hasil yang menunjukkan perannya terhadap sel kanker (Tabel 6.1). Berbagai jenis sel kanker dapat dihambat pertumbuhannya melalai jalur proliferasi sel, apoptosis, angiogenesis dan imunitas terhadap kanker.

Tabel 6.1. Penelitian andrografolid dan ekstrak sambiloto terhadap sel kanker

No	Obyek penelitian	Metode penelitian	Sediaan sambiloto	Hasil penelitian	Referensi
1	sel adenokarsin oma mamma	In vitro	Ekstrak air	Meningkatkan apoptosis sel mulai 1 mg/ml	Nugrahaningsih dkk <i>Media Medika Indonesiana</i> vol.38 (3) , th 2003
2	Sel HeLa	In vitro	Ekstrak metanol	Induksi apoptosis sel HeLa	Sukardiman dkk <i>Media Kedokteran Hewan</i> vol.21 no.3 th 2005
3	Sel TD-47	In vitro	Ekstrak metanol	Peningkatan ekspresi p53,bax,	Sukardiman dkk. <i>African Journal</i>

No	Obyek penelitian	Metode penelitian	Sediaan sambilan	Hasil penelitian	Referensi
				caspase 3 dan penurunan ekspresi bcl-2	<i>Traditional</i> , Vol 4 No.3 th 2007
4	Sel line HUVECs, SGC 7901, GES-1, MGC 803, BGC-823	In vitro	Andrografolid	Menekan NF-κB, menekan adhesi GES-1	Jiang CG, dkk <i>Anticancer Research</i> Vol 27 th 2007
5	Sel line B16-F-10 Mencit C57BL diinjeksi B16-F-10 intradermal	In vitro in vivo intraperitoneal	APE ANDLE	Menghambat angiogenesis tumor spesifik dengan down-regulasi proangiogenesis dan up-regulasi antiangiogenesis	Sheeja K, dkk <i>International Immunopharmacology</i> vol.7 th 2007
6	Sel HepG2 dan Hep3B, HeLa, HCT116	In vitro	DAPI (andro, 4-6-diamino-2-phenylindole)	Aktivasi p53 melalui ROS-dependent JNK menyebabkan up-regulasi DR4 dan sensitisasi TRAIL untuk induksi apoptosis	Zhou J, dkk <i>Molecular Cancer Therapy</i> vol.7 no.7 th 2008
7	Thymoma EL4	In vitro dan in vivo	Andrografolid dan ekstrak	Meningkatkan produksi CTL, IL-2 dan IFN γ	Sheeja dan Kuttan, <i>Journal Immunopharmacology and Immunotoxicity</i> 29(1): 81-93, 2008
8	Sel line PC-3, MDA-MB-435s, MDA-MB-231, SMMC 7721, K562, A549, SGC 7901	In vitro	Kristal andrografolid	Menghambat pertumbuhan PC-3: aktivasi caspase-3, up-regulasi bax, down-regulasi bcl-2 dan menghambat VEGF	Manikam ST dan Stanslas J. <i>Journal of Pharmacy and Pharmacology</i> vol.91.th 2009
9	Adenokarsinoma mammae pada mencit C3H	In vivo	Ekstrak air sambilan	Menghambat pertumbuhan transplant kanker, tidak ada kerusakan struktur ginjal	Nugrahaningsih, dkk. <i>Biosaintifika</i> 1(2), 2009
10	Sel PC-3, DU-145, LNCap	In vitro	Andrografolide	Meningkatkan Bax, Bid, caspase 8, menginduksi cell cycle arrest pada fase	Wong HC et al. <i>African Journal of Pharmacy and Pharmacology</i> 5(2), 2011

No	Obyek penelitian	Metode penelitian	Sediaan sambiloto	Hasil penelitian	Referensi
				G2/M (pada sel line PC-3)	
11	Adenokarsi noma mammae pada mencit C3H	In vivo	Ekstrak air sambiloto	Menginduksi Apoptosis adenokarsinoma mamma	Nugrahaningsih dkk, <i>Universa Medicina</i> 32(2): 99-107, 2013
12	Adenokarsi noma mammae pada mencit C3H	In vivo	Ekstrak air sambiloto	Menurunkan ekspresi VEGF adenokarsinoma mamma	Nugrahaningsih dkk, <i>Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia</i> 13(1):29-34, 2015

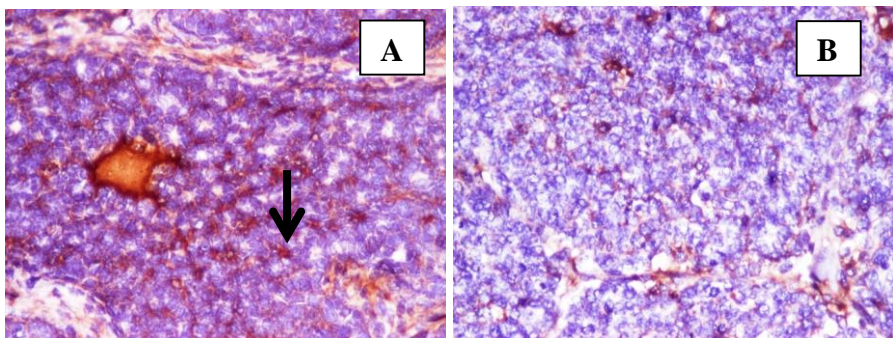
6.4.1. Penghambatan Proliferasi Sel Kanker

Sel-sel yang sedang dalam fase proliferasi mengekspresikan beberapa protein spesifik yang dapat dideteksi dengan antibodi monoklonal tertentu. Ki-67 merupakan suatu antigen inti sel yang sedang dalam fase G1, S, G2 dan M dari siklus sel, sehingga dapat digunakan sebagai penanda proliferasi sel.

Andrografolid yang diekstrak dari tumbuhan sambiloto menunjukkan pengaruhnya terhadap penghambatan proliferasi sel (Manikam, 2008; Zhao *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2011). Penelitian *in vitro* yang dilakukan dengan memberikan andrografolid konsentrasi 1 μM , 3 μM , 10 μM dan 30 μM pada sel line PC-3 kanker prostat menunjukkan adanya induksi *cell cycle arrest* pada fase G2/M. Sel yang diberi andrografolid menunjukkan down-regulasi dari ekspresi CDK1, tetapi tidak ada penurunan ekspresi CDK4 dan cyclin D1. (Wong *et al.*, 2011)

Pemberian ekstrak sambiloto dapat menurunkan indeks proliferasi sel adenokarsinoma mamma. Ekspresi Ki-67 sebagai

indikator sel yang aktif membelah menurun secara signifikan pada jaringan kanker mammae mencit yang mendapatkan ekstrak sambiloto secara oral selama 14 hari. Indeks proliferasi menjadi lebih rendah pada pemberian ekstrak dengan dosis yang lebih tinggi. Fraksi pertumbuhan Ki-67 berhubungan dengan grade pada sebagian besar tumor. Tumor yang tidak memiliki reseptor estrogen dan progesteron memiliki kecenderungan fraksi Ki-67 positif yang tinggi.



Gambar 6.2. Ekspresi Ki67 nampak sebagai sel dengan sitoplasma berwarna coklat (tanda panah) pada jaringan kanker adenokarsinoma mamma. Tampak perbedaan antara yang tidak diberi ekstrak sambiloto (A) dan yang diberi ekstrak sambiloto (B)

6.4.2. Penghambatan Angiogenesis

Pertumbuhan jaringan neoplastik yang cepat serta invasinya memerlukan nutrisi yang lebih banyak dibandingkan jaringan normal. Nutrisi tersebut diperoleh melalui pembentukan jaringan vaskuler baru dari pembuluh darah yang telah ada yang disebut angiogenesis. Angiogenesis terjadi karena kondisi kekurangan oksigen atau hipoksia akibat melonjaknya kebutuhan oksigen oleh jaringan neoplastik. Hipoksia memicu pelepasan faktor pro-angiogenesis yang akan

merangsang pembentukan pembuluh darah baru. Angiogenesis dipengaruhi oleh faktor-faktor proangiogenesis dan antiangiogenesis. Beberapa proangiogenesis yang sudah dikenal antara lain *fibroblast growth factor*, *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet-derived growth factor* (PDGF), *platelet-derived endothelial cell growth factor*, *angiopoetin-1*, *angiopoetin-2*, *transforming growth factor beta-1* (TGF- β 1), *transforming growth factor alpha* (TGF- α) dan *epidermal growth factor* (EGF).

Faktor proangiogenik yang paling banyak diketahui dan berperan dalam pertumbuhan kanker adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF). VEGF disekresi sebagai glikoprotein dimer, dimana semuanya mengandung residu delapan sistein yang khas yang disebut motif “cysteine knot”. VEGF merupakan protein angiogenik yang bekerja langsung dan paling potensial. Merupakan suatu mitogen spesifik sel endotel yang mampu berdifusi dan juga mampu meningkatkan permeabilitas vaskuler. Penghambatan VEGF dan reseptornya menunjukkan pengaruhnya pada angiogenesis beberapa tumor padat termasuk kanker mamma, kanker kolon, kanker kandung kemih, kanker lambung, dan kanker prostat. Beberapa strategi dikembangkan dengan target jalur VEGF sebagai bagian dari terapi antikanker.

VEGF diproduksi terutama oleh sel-sel tumor dan jaringan penyokong yang berhubungan dengan tumor juga dapat memproduksi. Sinyal kemotaktik yang berasal dari sel tumor dapat mempengaruhi sel-sel penyokong untuk menghasilkan VEGF dan faktor angiogenik lain. Sinyal dari sel kanker yang dilepaskan ke dalam ruang jaringan

penyokong akan mendukung pertumbuhan kanker dan sifat invasifnya. Kontribusi sel-sel penyokong dalam memproduksi VEGF dan faktor angiogenik lain memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tumor secara *in vivo*. Sinyal yang berasal dari jaringan penyokong mempunyai peran yang sangat penting dalam terapi dengan target pada penghambatan angiogenesis. Sel myeloid merupakan salah satu bagian dari jaringan penyokong yang mempunyai peran penting dalam mekanisme pembiasan terapi anti angiogenesis.

Penelitian Zhao dkk, dilakukan secara *in vitro* untuk melihat pengaruh andrografolid yang diisolasi dari tanaman *Andrographis paniculata* terhadap kadar VEGF serum pada kultur sel line kanker prostat (PC-3). Andrografolid diberikan dengan konsentrasi 0; 1,25; 2,5, 5, 10 dan 20 $\mu\text{mol/L}$. Pemeriksaan kadar VEGF pada supernatan dilakukan setelah inkubasi selama 48 jam. Andrografolid yang diberikan pada kultur sel PC-3 dapat menurunkan pelepasan VEGF oleh sel kanker tersebut. Efek penghambatan mulai terlihat pada konsentrasi 1,25 $\mu\text{mol/l}$ dan semakin kuat dengan bertambahnya konsentrasi andrografolid.

Penelitian secara *in vivo* pada mencit C3H yang diberi ekstrak sambiloto per oral dilakukan untuk melihat pengaruhnya terhadap angiogenesis jaringan adenokarsinoma mamma. Pemberian ekstrak selama 14 hari menunjukkan berkurangnya angiogenesis. Dengan pengecatan imunohistokimia didapatkan ekspresi VEGF yang lebih rendah pada jaringan adenokarsinoma mamma yang mendapat ekstrak sambiloto dibandingkan dengan yang tidak mendapat ekstrak sambiloto (Nugrahaningsih *et al.*, 2015). Penurunan kadar VEGF dimungkinkan

karena terhambatnya pertumbuhan sel kanker sehingga kebutuhan oksigen dan nutrisi juga berkurang.

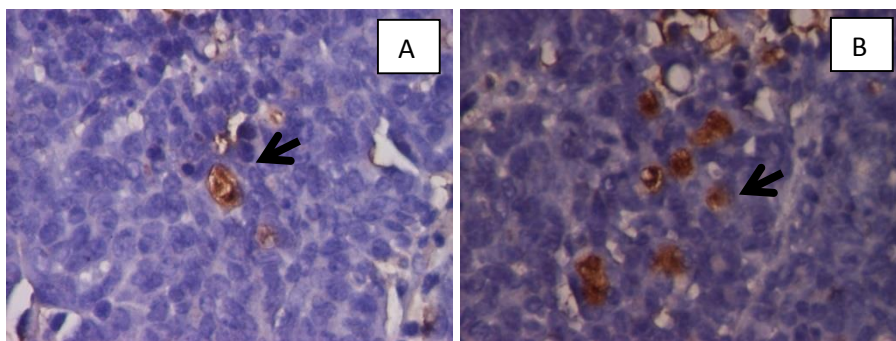
Penelitian lain dilakukan secara *in vivo* oleh Sheeja et.al. Penelitian dilakukan untuk mengeksplorasi efek anti angiogenesis dari ekstrak *Andrographis paniculata* dan andrografolid terhadap angiogenesis mencit C57BL/6. Dalam penelitian tersebut digunakan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* dan andrografolid yang disuntikkan secara intraperitoneal pada mencit C57BL/6 yang telah diinduksi dengan sel line tumor melanoma B16F-10 secara intradermal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Andrographis paniculata* dan andrografolid secara intraperitoneal selama 4 hari dapat menurunkan kadar VEGF serum.

6.4.3. Peningkatan Apoptosis

Apoptosis atau kematian sel terprogram adalah proses yang mempunyai peran penting pada regulasi jaringan dan organ. Kegagalan fungsi apoptosis menyebabkan sel menjadi immortal. Apoptosis adalah proses kompleks yang melibatkan sejumlah komponen. Apoptosis dikendalikan oleh banyak protein. Protein – protein tersebut dapat bersifat pro apoptosis seperti *Bax*, maupun anti apoptosis seperti *Bcl-2* dan *Bcl-xl*. Selain itu masih ada serangkaian kelompok protein caspase dimana caspase yang satu akan mengaktifkan caspase yang lain membentuk cascade caspase. Reseptor permukaan seperti *Fas* dan reseptor *TNF* serta sitokrom-C juga berperan dalam proses apoptosis.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh andrografolid terhadap apoptosis sel kanker antara lain human sel

kanker servik HeLa (Sukardiman, 2005; Zhou *et al.*, 2008), human sel kanker mamma T47-D (Sukardiman, 2007), human sel kanker gaster SGC-7901(Jiang *et al.*, 2007), sel leukemia promielositik akut: HL-60, NB4, NB4-R2 (Manikam, 2008), human sel kanker hati HepG2, Hep38 (Zhou *et al.*, 2008), human sel kanker kolorektal (Zhou *et al.*, 2008), human sel kanker prostat PC-3 (Zhao *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2011). Andrografolid terbukti dapat meningkatkan apoptosis pada sel-sel kanker tersebut. Andrografolid pada ekstrak sambiloto juga meningkatkan apoptosis sel adenokarsinoma mammae baik secara in vitro (Nugrahaningsih *et al.*, 2003) maupun in vivo (Nugrahaningsih *et al.*, 2013).



Gambar 6.3. Dengan metode TUNEL sel adenokarsinoma mamma yang mengalami apoptosis tampak berwarna coklat (tanda panah). . Tampak perbedaan jumlah sel yang apoptosis antara yang tidak diberi ekstrak sambiloto (A) dan yang diberi ekstrak sambiloto (B)

Andrografolid berpengaruh terhadap apoptosis dengan mekanisme regulasi terhadap p53 (Zhou *et al.*, 2008; Sukardiman, 2007) sehingga menyebabkan sel menuju apoptosis. Andrografolid juga

menginduksi apoptosis melalui aktivasi caspase 8 pada jalur *extrinsic death receptor* dan sesudah itu akan mengaktifkan caspase 9 (Wong *et al.*, 2011) dan caspase 3 (Sukardiman, 2007; Zhao, 2008) sebagai eksekutor. Caspase 8 juga dapat mengaktifkan Bax dan menurunkan ekspresi bcl-2 (Sukardiman *et al.*, 2007; Zhao, 2008; Wong, 2011).

TRAIL (*TNF related apoptosis-inducing ligand*) merupakan salah satu jenis TNF penting yang berpotensi besar dalam terapi kanker. Diterpenoid dari sambiloto meningkatkan TRAIL-induced apoptosis berbagai sel line tumor. Ekstrak sambiloto mensensitisasi sel kanker terhadap TRAIL-induced apoptosis. Sambiloto meningkatkan TRAIL-induced apoptosis terutama melalui promosi aktivasi caspase 8. Sebagai hasil dari peningkatan aktivasi caspase tersebut, sambiloto mempromosi FLIP-L cleavage dan *down regulation* IAP (*inhibitor of apoptosis*) (Zhou, 2008) Sambiloto mensensitisasi TRAIL-induced apoptosis dengan *up-regulation* DR4 melalui *p53-dependent transcriptional regulation*. Sambiloto menstabilkan p53 melalui aktivasi ROS-dependent JNK (*cJun N-terminal kinase*). Sambiloto juga mengaktifkan fungsi p53 melalui aktivasi ROS-dependent JNK, menyebabkan *up-regulation* DR4 dan sensitisasi TRAIL-induced apoptosis (Zhou, 2008).

6.4.4. imunosurveilens terhadap kanker

Imunosurveilens adalah mekanisme penjagaan atau pengawasan terhadap sel-sel yang berubah perilaku atau proses tumorogenesis. Sistem immune *innate* dan *adaptive* memegang peran penting dalam inisiasi tumbuhnya sel kanker dan progresifitas keganasan sel kanker.

Imunosurveilens terhadap sel kanker diperankan terutama oleh sel B, sel T, natural killer (NK), natural killer T (NKT) , interferon (IFN) dan perforin (Kim *et al.*, 2007). Sel *innate* seperti NK, sel NKT, sel $\gamma\delta$ T, eosinofil dan neutrofil merupakan proteksi terhadap tumor yang diperantarai oleh sistem imun, Ketiadaan imun adaptive dapat menyebabkan berkembangnya sel-sel kanker. Interferon γ (IFN γ), CD4 dan CD8 sel T memberikan respon yang kuat terhadap sel-sel kanker.

Andrografolid dan ekstrak sambiloto dapat meningkatkan produksi *cytotoxic T lymphocyte* (CTL) mencit BALB/c yang diinduksi dengan sel thymoma EL4. Peningkatan produksi CTL dipicu oleh meningkatnya produksi interleukin 2(IL-2) dan interferon γ (IFN- γ) (Sheeja dan Kuttan, 2008). Pemberian ekstrak juga memperpanjang umur sel EL4 dari 27,1 hari menjadi 51,1 hari (ekstrak) dan 44,5 hari (andrografolid).

6.5. Simpulan

Angka kesakitan dan kematian kanker yang tinggi merupakan masalah kesehatan yang memerlukan upaya pencegahan dan penanganan yang serius. Berbagai penelitian dikembangkan untuk mencari obat anti kanker. Tamnaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dikenal masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat yang memiliki banyak manfaat. Andrografolid yang merupakan metabolit sekunder utama dari tumbuhan sambiloto mempunyai potensi sebagai antikanker. Hasil penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan potensi yang dimiliki oleh andrografolid dalam menghambat pertumbuhan sel kanker Potensi andrografolid sebagai antikanker dapat

melalui beberapa mekanisme yaitu: 1) Penghambatan proliferasi, 2) Penghambatan angiogenesis, 3) Induksi atau peningkatan apoptosis, 4) Aktivasi sistem imun terhadap sel kanker.

Daftar Pustaka

- Akbar S. 2011. *Andrographis paniculata*: a review of pharmacological activities and clinical effect. *Alternative Medicine Review* 16(1): 66-77.
- Burgos RA, Caballero EE, Sfinchez NS, Schroeder RA, Wilkman GK, & Hancke JL. 1997. Testicular toxicity assessment of *Andrographis paniculata* dried extract in rats. *Journal Ethnopharmacol* 58: 219-224.
- Chao WW & Lin BF. 2010. Isolation and identification of bioactive compound in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian). *Chinese Medicine* 5: 17.
- Jarukamjorn K & Nemoto N. 2008. Pharmacological aspect of *andrographis paniculata* on health and its major diterpenoid constituent andrographolide. *Journal of Health Science* 54(4): 370-381.
- Jiang CG, Li JB, Liu FR, Wu T, Yu M & Xu HM. 2007. Andrographolide inhibits the adhesion of gastric cancer cells to endothelial cell by blocking E-selectin expression. *Anticancer Research* 27: 2439-2448.
- Kim R, Emi M & Tanabe K. 2007. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology* 121: 1-14.
- Manikam ST & Stanslas J. 2009. Andrographolide inhibits growth of acute promyelocytic leukemia cells by inducing retinoic acid receptor-independent cell differentiation and apoptosis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61: 69-78.
- Nugrahaningsih, Tjahjono & Dharmana E. 2003. Apoptosis sel adenokarsinoma mamma mencit C3H setelah pemberian ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) (penelitian in vitro). *Media Medika Indonesiana* 38(3): 121-124.
- Nugrahaningsih, Utami NR & Sugiarti E. 2009. Pengaruh ekstrak sambiloto terhadap pertumbuhan kanker mamma dan mikroanatomi ginjal mencit C3H. *Biosaintifika* 1(2).

- Nugrahaningsih, Sarjadi, Dharmana E & Subagio HW. 2013. *Andrographis paniculata* extract induced apoptosis of adenocarcinoma mammae in C3H mice. *Universa Medicina* 32(2): 99-107.
- Nugrahaningsih, Sarjadi, Dharmana E & Subagio HW. 2015. VEGF Expression of adenocarcinoma mammae after oral administration of *Andrographis paniculata* extract. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesi* 13(1): 29-34.
- Sheeja K, Guruvayoorappan C & Kuttan G. 2007. Antiangiogenic activity of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *International Immunopharmacology* 7: 211-21.
- Sheeja K dan Kuttan G. 2008. Activation of cytotoxic t lymphocyte responses and attenuation of tumor growth in vivo by *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Journal Immunopharmacology and Immunotoxicology* 29(1).
- Suebsana S, Pongnaratorn P, Sattayasai J, Arkaravichien T, Tiamkao S & Aromdee C. 2009. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, and toxic effect of andrographolide derivatives in experimental animal. *Archives of Pharmacal Research* 32(9): 1191-1200.
- Sukardiman, Rahman A, Ekasari W & Sismindari. 2005. Induksi apoptosis senyawa andrographolida dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) terhadap kultur sel kanker. *Media Kedokteran Hewan* 21(3): 105-110.
- Sukardiman, Harjotaruno, Widyawariyanti A, Sismindari & Zaini NC. 2007. Apoptosis inducing effect of andrographolide on TD-47 Human breast cancer cell line. *African Journal Traditional, CAM* 4 (3): 345-351.
- Wong HC, Sagineedu SR, Lajis NH, Loke SC & Stanslas J. 2011. Andrographolide induces cell cycle arrest and apoptosis in PC-3 prostate cancer cell. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5(2): 225-233.
- Zhao F, He EQ, Wang L & Liu K. 2008. Anti-tumor activities of andrographolide, a diterpene from *Andrographis paniculata*, by inducing apoptosis and inhibiting VEGF level. *Journal of Asian Natural Products Research* 10(5): 473-479.
- Zhou J, Lu GD, Ong CS, Ong CN & Shen HM. 2008. Andrographolide sensitizes cancer cells to TRAIL-induced apoptosis via p53-mediated death receptor 4 up-regulation. *Molecular cancer Therapy* 7(7): 2170-2180.

PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI
KULTUR KALUS
Stelechocarpus burahol

BAB
7



Noor Aini Habibah, Amelia Fransiska, Abdul Rosyid,
Enny Suwarsi Rahayu, Y. Ulung Anggraito

PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI KULTUR KALUS

Stelechocarpus burahol

Penulis Noor Aini Habibah, Amelia Fransiska, Abdul Rosyid, Enny Suwarsi Rahayu , Y. Ulung Anggraito,

7.1. Pendahuluan

Kultur jaringan tumbuhan merupakan teknik kultivasi *in vitro* dari jaringan tumbuhan secara aseptik. Teknik ini berkembang karena adanya teori totipotensi sel yang menyatakan bahwa setiap sel tumbuhan mempunyai kemampuan untuk tumbuh dan berkembang membentuk tumbuhan baru yang utuh serta mampu membentuk senyawa metabolit primer dan sekunder seperti tanaman induknya bila dipelihara pada kondisi yang tepat. Pada setiap sel tumbuhan terkandung sifat genetik dan fisiologi yang penting untuk pembentukan senyawa kimia tertentu yang sama dengan yang dibentuk tanaman induknya (Bhojwani & Razdan, 1983).

Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. f. & Thomson) termasuk tanaman pangan jenis buah-buahan. Kepel mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, cyclooxygenase-2 inhibitor, anti-hyperuricemic, zat sitotoksik, anti kanker, deodoran oral, dan senyawa fitoestrogen yang terdapat pada daun, bunga, dan daging buah, biji buah, kulit buah, dan kulit batang buah kepel (Hatmi *et al.*, 2014). Senyawa aktif kepel berpotensi sebagai antioksidan (Tisnadjaja *et al.*, 2006), obat asam urat (Purwantiningsih *et al.*, 2010), kontrasepsi oral (Sunardi, 2010) dan deodoran alami (Darusman *et al.*, 2012). Kepel memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi, aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh ekstrak buah kepel ini kemungkinan berasal dari

kandungan flavonoid dan vitamin C (Tisnadjaja *et al.*, 2006). Secara tradisional kepel telah digunakan sebagai bahan parfum, khususnya di kalangan keraton. Buah kepel dapat membuat keringat menjadi wangi, nafas menjadi harum, bahkan dapat mengharumkan air seni dan feces (Darsuman *et al.*, 2012). Hasil penelitian Purwantiningsih *et al.* (2010) menunjukkan bahwa daun kepel mempunyai kandungan senyawa flavonoid yang mempunyai kemampuan *antihyperuricemic* sehingga berpotensi dikembangkan sebagai obat asam urat. Hasil uji secara *in vivo* baik ekstrak etanol daun kepel maupun ekstrak heksan memiliki potensi sebagai penurun kadar asam urat darah.

7.2. Induksi Kultur Kalus

Kalus kepel dapat dihasilkan dari eksplan mesokarp, biji muda, daun (Habibah *et al.*, 2016) dan tangkai daun. Tiga sumber eksplan yaitu mesokarp, biji muda, daun dapat menghasilkan kalus remah yang baik digunakan untuk pembuatan kultur suspensi sel. Kalus dari ketiga eksplan yang ditanam pada medium dengan penambahan pikloram menghasilkan kalus yang lebih remah bila dibandingkan kalus yang ditanam pada medium dengan penambahan 2,4-D. Hal ini ditunjukkan dari anatomi kalus pada medium pikloram mempunyai ruang antar sel yang lebih banyak dan lebih lebar bila dibandingkan kalus pada medium 2,4-D. Masing-masing eksplan menghasilkan pertumbuhan yang bervariasi pada berbagai perlakuan ZPT dan pencahayaan. Laju pertumbuhan tertinggi didapatkan dari eksplan biji muda yang ditanam pada medium dengan penambahan pikloram 7,5 mg/L yang dipelihara dalam kondisi gelap (Habibah *et al.*, 2016). Kondisi gelap mengurangi

terjadinya *browning* yang akan mengganggu pertumbuhan kalus. *Browning* pada kalus akibat oksidasi fenolik mengurangi pertumbuhan kalus (Tang & Newton, 2004). Biosintesis asam fenolik dikatalisis oleh enzim *phenylalanine ammonia-lyase* (PAL), dan aktivitas enzim ini meningkat jika enzim terinduksi oleh intensitas cahaya yang tinggi (Kumari *et al.*, 2009). Chaa^hbani *et al.* (2015) melaporkan bahwa penggunaan 2,4-D konsentrasi tinggi yang dikombinasikan dengan BAP meningkatkan produksi fenolik.

Induksi kalus dari eksplan tangkai daun pada berbagai konsentrasi zat pengatur tumbuh menunjukkan bahwa hampir semua perlakuan berhasil membentuk kalus 100%, kecuali untuk perlakuan 2,4-D 5 mg/L dan kinetin 10 mg/L hanya 94,44% eksplan yang membentuk kalus. Kemampuan eksplan membentuk kalus sangat dipengaruhi oleh umur eksplan. Semakin muda usia eksplan semakin tinggi kemampuannya dalam membentuk kalus, begitu juga sebaliknya semakin tua usia eksplan maka semakin berkurang kemampuannya dalam membentuk kalus (Prakash & Gurumurthi, 2010). Eksplan yang berasal dari jaringan muda memiliki kemampuan dediferensiasi yang lebih baik sehingga lebih mudah terbentuk kalus dibandingkan dengan eksplan dari jaringan tua. Pada penelitian ini eksplan yang digunakan berasal dari jaringan muda dan dari tanaman yang masih muda juga, sehingga persentase eksplan yang berkalus cukup tinggi. Penggunaan 2,4-D dalam induksi kalus juga telah digunakan dalam induksi kalus jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan persentase paling tinggi terjadi pada kombinasi perlakuan 2,4-D 2,5 ppm + TDZ 10 ppm dan 2,4-D 7,5 ppm + 1,5 ppm. Pembentukan kalus dengan konsentrasi 2,4-D yang

berbeda-beda juga berhasil menginduksi kalus *Eucalyptus camaldulensis* (Prakash & Gurumurthi, 2010).

Proses induksi kalus tangkai daun kepel dimulai dengan pembengkakan pada bagian ujung tangkai daun dan pada daerah yang dilukai. Bagian eksplan yang kontak langsung dengan media memungkinkan penyerapan nutrisi yang lebih cepat sehingga pada bagian tersebut mengalami pembengkakan dan akhirnya tumbuh massa sel baru. Pembentukan kalus pada bagian yang dilukai juga ditunjukkan pada induksi kalus daun ramin, bagian eksplan yang sengaja dilukai menunjukkan adanya penebalan hingga akhirnya terbentuk kalus (Yelnitis & Komar, 2010). Pembentukan kalus *Arabidopsis* juga dimulai pada daerah yang dilukai (Iwase *et al.*, 2011b). Proses pembentukan kalus pada bagian luka dipengaruhi oleh gen *Wound Induced Dedifferentiation* (WIND). Gen WIND memiliki peran sebagai kunci molekuler dalam merespon luka untuk mengontrol dediferensiasi sel *Arabidopsis* sehingga pada daerah yang dilukai akan membentuk kalus (Iwase *et al.*, 2011a). Analisis RT-PCR menunjukkan bahwa gen WIND bekerja dengan cepat beberapa jam setelah ekplan dilukai (Iwase *et al.*, 2011b).

Penambahan 2,4-D berpengaruh terhadap waktu terbentuknya kalus kepel, namun tidak ada pengaruh yang nyata pada kinetin, dan interaksi antara keduanya terhadap waktu pembentukan kalus kepel. Berdasarkan hasil uji DMRT, konsentrasi 2,4-D 5 mg/L dan 7,5 mg/L mempercepat pertumbuhan kalus secara signifikan dibandingkan pada 2,4-D 10 mg/L (Tabel 7.1)

Tabel 7.1. Hasil perhitungan DMRT pada perlakuan 2,4-D untuk waktu terbentuknya kalus

Perlakuan	Rerata waktu berkalus
2,4-D 5 mg/L	17.67 ^a
2,4-D 7,5 mg/L	17.44 ^a
2,4-D 10 mg/L	21.67 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak memiliki perbedaan nyata

Penambahan 2,4-D eksogen pada media kultur jaringan meningkatkan akumulasi IAA dalam sel (Pasternak *et al.*, 2002). Ketika konsentrasi auksin meningkat, protein *Aux/IAA* mengalami degradasi oleh 26S proteasome, sehingga penekanan gen pada awal aktivasi auksin berhenti, kondisi ini menyebabkan auksin berekspresi (Hagen *et al.*, 2004). Mekanisme auksin dalam mempengaruhi pembentukan kalus telah dipelajari pada tanaman *Arabidopsis*. Sinyal auksin diteruskan melalui faktor transkripsi *Auxin Response Factor* (ARF) khususnya ARF7 dan ARF19 untuk mengaktifkan faktor transkripsi dari gen *Lateral Organ Boundaries Domain* (LBD) yaitu LBD16, LBD17, LBD18, dan LBD29. Kemudian LBD tersebut menginduksi *E2 Promotor Binding Factor a* (E2Fa) yang memiliki peran utama dalam memasuki siklus sel sehingga kalus dapat terbentuk (Ikeuchi *et al.*, 2013).

Secara umum waktu terbentuknya kalus kepel dari eksplan daun lebih cepat pada konsentrasi 2,4-D yang rendah. Uji DMRT menunjukkan konsentrasi 2,4-D yang paling optimal dalam mempercepat terbentuknya kalus adalah 2,4-D 7,5 mg/L. Konsentrasi 2,4-D tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan induksi kalus manggis

yang merupakan tanaman satu famili dengan kepel yaitu pada konsentrasi 2,4-D 0,5 mg/L (Rohani *et al.*, 2012). Penggunaan 2,4-D 5 mg/L juga telah berhasil menginduksi kalus dari daun ramin (Yelnitis & Komar, 2010). Hal ini sesuai dengan penelitian Habibah *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa induksi kalus kepel memerlukan konsentrasi auksin lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman lain. Perbedaan kemampuan eksplan dalam membentuk kalus tergantung pada tingkat hormon endogen dan eksogen, tipe eksplan *juvenil* atau dewasa, dan posisi eksplan (Pierik, 1997).

Berat basah kalus dari tangkai daun cenderung meningkat pada saat konsentrasi 2,4-D tinggi dan konsentrasi kinetin yang rendah. Hasil analisis varian dua jalan menunjukkan tidak ada pengaruh yang nyata pada perlakuan 2,4-D, kinetin, dan interaksi 2,4-D dan kinetin pada berat basah kalus. Berat basah kalus dari tangkai daun paling tinggi pada konsentrasi 2,4-D 7,5 mg/L dan kinetin 5 mg/l, sejalan dengan Sakpere *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa kombinasi kinetin konsentrasi rendah dan 2,4-D berhasil menginduksi kalus dan proliferasi.

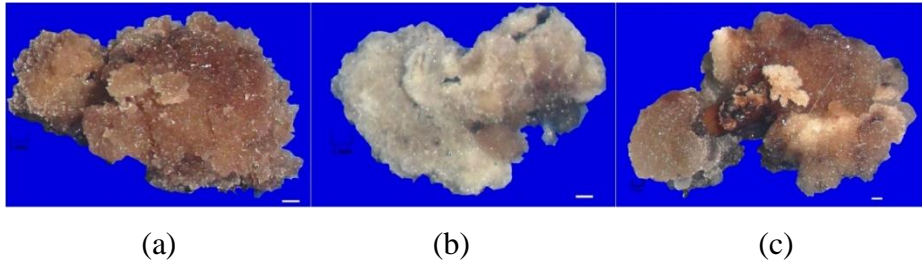
Secara umum cara auksin dalam mempengaruhi perkembangan sel tanaman dijelaskan melalui mekanisme transport polar yang berkaitan dengan *auxin influx* dan *auxin efflux*. Auksin masuk ke dalam sel dengan cara difusi pasif melalui membran plasma menuju sitosol. Auksin mendominasi dalam bentuk anion dalam sitosol kemudian keluar melalui *auxin anion efflux carrier* (Taiz & Zeiger, 2010). Pompa proton pada membran plasma menggunakan energi ATP dan mentransfer H^+ pada dinding sel membentuk H^+ -ATPase menyebabkan

pH dinding sel menjadi asam (pH 5). Perbedaan pH bagian dalam dan luar sel akibat adanya ion H^+ menyebabkan aktifnya enzim tertentu sehingga memutuskan beberapa ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Air menjadi mudah masuk melalui membran sel secara osmosis sehingga ukuran sel bertambah (Taiz & Zeiger, 2010).

Penggunaan sitokinin eksogen dapat meningkatkan transkrip *cdc2* dan *CycD3*. Peningkatan ekspresi *CycD3* inilah yang menjadi penyebab meningkatnya proliferasi sel (D'agostino & Kieber, 1999). Pada pembelahan sel *Nicotiana plumbaginifolia* kinetin hanya dibutuhkan pada akhir fase G2, sel yang kekurangan kinetin berhenti membelah dengan *p34cdc2-like histon kinase* yang inaktif. Kontrol *cdc2* kinase dengan menghambat fosforilasi tirosin ditandai dengan jumlah fosfotirosin yang tinggi pada enzim yang inaktif. Kinetin menstimulasi pengurangan fosfat, dan mengaktivasi enzim dan proses mitosis lebih cepat (Zhang *et al.*, 1996). Kinetin juga menunjukkan aktivitasnya dalam mengaktivasi pembelahan sel *Arabidopsis* melalui induksi *CycD3* (Khamlichi *et al.*, 1999).

Kalus yang terbentuk dari eksplan tangkai daun secara umum berwarna kecoklatan dan bertekstur remah. Beberapa kalus memiliki tekstur yang kompak, hal ini dapat diamati pada saat melakukan subkultur. Kalus kepel yang bertekstur kompak sulit dipisahkan sedangkan yang memiliki tekstur remah mudah dipisahkan. Kalus yang dihasilkan pada penelitian ini terdiri atas 55,55% kalus remah kecoklatan, 11,11% kalus putih kompak, dan 33,33% kalus kompak

kecoklatan. Kalus kepel berwarna putih pada 4 minggu pertama setelah penanaman dan mulai mengalami pencoklatan pada minggu ke-5.



Gambar 7.1. Perbandingan warna dan tekstur kepel pada perlakuan yang berbeda. (a) kalus kecoklatan dan remah pada perlakuan 2,4-D 7,5 mg/L dan kinetin 5 mg/L; (b) kalus putih kompak pada perlakuan 2,4-D 5 mg/L dan kinetin 10 mg/L; (c) kalus kecoklatan dan kompak pada perlakuan 2,4-D 10 mg/L dan kinetin 10 mg/L. *Scale bar*: 1 mm

Pencoklatan atau *browning* pada kalus biasa terjadi pada kultur jaringan tanaman berkayu. Proses pencoklatan pada kalus disebabkan adanya aktivitas senyawa fenolik yang tinggi. Pada penelitian ini kalus mulai mengalami pencoklatan pada saat usia kultur memasuki minggu ke-5. Hal ini dimungkinkan karena senyawa fenolik pada kalus kepel terakumulasi secara perlahan dan terus-menerus sehingga kalus mengalami pencoklatan pada minggu ke-5. Usaha untuk mengurangi pencoklatan pada kalus dilakukan dengan dilakukannya subkultur setiap 4 minggu sekali, namun tidak memberikan perbedaan pada visual kalus.

Dilaporkan oleh Laukkanen *et al.* (2000) bahwa pada kultur kalus pinus tanda-tanda pencoklatan kalus mulai terjadi pada minggu ke-2 setelah tanam, pada saat itu aktivitas peroksidase mencapai tingkat maksimum dan laju pertumbuhan mulai mengalami penurunan. Pada

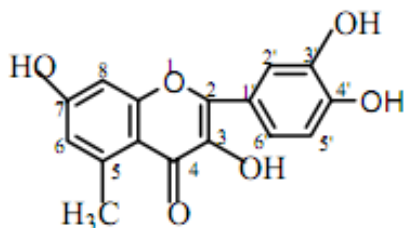
studi tersebut menunjukkan kalus yang mengalami *browning* terjadi akumulasi senyawa tannin. Selain itu *browning* pada kalus adalah sebagai akibat dari stress oksidatif tinggi dan dapat menyebabkan disorganisasi pada sitoplasma dan bahkan kematian sel, serta mengurangi kemampuan regenerasi kalus. Aktivitas peroksidase yang tinggi menstimulasi jaringan untuk mengalami pencoklatan (Laukkanen *et al.*, 2000). Hasil studi tersebut sesuai dengan George & Sherrington (1984) yang menyatakan bahwa perubahan eksplan menjadi kecoklatan disebabkan adanya senyawa fenol pada eksplan yang bereaksi dengan udara membentuk quinon dan menyebabkan perubahan warna kalus.

7.3. Jenis Flavonoid pada Kultur Kalus *S. burahol* yang Berpotensi sebagai Antioksidan

Tanaman kepel dengan nama sinonim *Uvaria burahol* Blume secara alami dapat ditemui di Indonesia terutama di Jawa, dan juga tersebar di Asia Tenggara dan kepulauan Salomon. Kepel dilaporkan mengandung antioksidan pada daun, kulit batang, bunga dan buahnya (Tisnadjaja *et al.*, 2006). Salah satu senyawa flavonoid yang terdapat pada kepel yaitu *3,7,3',4'-tetrahidroxy-5-methyl-flavone* (Gambar 8.2) mempunyai aktivitas antioksidan paling aktif dibanding flavonoid lain (Sunarni *et al.*, 2007).

Pada kultur kalus kepel, flavonoid yang terdeteksi adalah naringenin. Naringenin merupakan flavonoid awal yang terbentuk pada jalur biosintesis flavonoid. Naringenin menjadi substrat untuk produk flavonoid yang lain. Pada jalur selanjutnya terbentuk

dihidrokaempferol yang kemudian dengan bantuan enzim *flavonol synthase* diubah menjadi quercetin (Liu *et al.*, 2013). Flavonoid rutin (*quercetin 3-O rutinoside*), merupakan flavonol glikosida yang terdiri dari flavonol quercetin dan disakarida rutinose. Rutin merupakan produk lanjut dari quercetin (Gupta *et al.*, 2014). Naringen, quercetin dan rutin merupakan flavonoid yang berpotensi sebagai obat. Naringenin mempunyai aktivitas antioksidan, berpotensi sebagai obat *Alzheimer's disease* (Ferreira *et al.*, 2012, Ghofrani *et al.*, 2015). Quercetin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, anti kanker, aktivitas hepatoprotektif, anti inflamasi, dan juga anti virus (Kumar & Pandey, 2013). Rutin merupakan flavonoid yang berpotensi sebagai obat karena memiliki kemampuan sebagai antioksidan, aktivitas hepatoprotektif, anti fungi, anti inflamasi, mempunyai efek anti kanker, menghambat leukimia dan menguatkan pembuluh darah (Gupta *et al.*, 2014, Kumar & Pandey, 2013).



Gambar 7.2. Struktur kimia 3, 7, 3',4'-tetrahydroxy-5-methyl-flavone (Sunarni *et al.*, 2007)

7.4. Produksi Antioksidan

Beberapa bagian tumbuhan kepel mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Tisnadjaja *et al.* (2006) menyatakan

bahwa kandungan antioksidan pada kepel antara lain terdapat pada daun dan buahnya. Kalus kepel dari mesokarp, daun, biji muda, dan tangkai daun mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan pada beberapa bagian tumbuhan kepel ataupun kalus kepel bervariasi. Perbedaan aktivitas antioksidan disebabkan tiap bagian tumbuhan atau kalus mengandung flavonoid yang jumlah dan lokasi gugus hidroksinya pada kerangka flavonoid yang berbeda. Aktivitas antioksidan dari senyawa yang berasal dari tanaman seperti flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya. Flavonoid dengan gugus hidroksi bebas mempunyai aktivitas penangkap radikal dan adanya gugus hidroksi lebih dari satu terutama pada cincin B akan meningkatkan aktivitas antioksidannya (Gulcin *et al.*, 2004; Pokorni *et al.*, 2001; Sunarni *et al.*, 2007). Perbedaan aktivitas antioksidan pada kalus juga dipengaruhi jenis eksplan yang digunakan. Kalus dari eksplan mesokarp memiliki aktivitas antioksidan tertinggi bila dibanding dengan kalus dari eksplan biji dan daun. Mesokarp memiliki aktivitas antioksidan tinggi sehingga kalus yang dihasilkan juga memiliki aktivitas antioksidan tinggi.

Konsentrasi sukrosa yang ditambahkan ke dalam medium juga berpengaruh nyata terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Tabel 8.2 menunjukkan beda nyata aktivitas antioksidan pada perlakuan penambahan sukrosa konsentrasi 35 g/L. Konsentrasi sukrosa 25 g/L dan 30 g/L mengakibatkan aktivitas antioksidan yang tidak berbeda nyata satu dengan yang lain dan juga dengan kontrol (konsentrasi sukrosa normal yaitu 30 g/L).

Tabel 7.2. Pengaruh konsentrasi sukrosa terhadap peningkatan aktivitas antioksidan

Konsentrasi sukrosa tambahan (g/L)	Rerata aktivitas antioksidan (%)
0	63 a
25	66 a
30	61 a
35	44 b

Huruf yang sama menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata

Kandungan flavonoid tertinggi terjadi pada penambahan sukrosa konsentrasi 25 g/L kemudian cenderung menurun pada konsentrasi 30 g/L walaupun tidak signifikan dan 35 g/L menurun signifikan. Pada kontrol produksi flavonoid lebih sedikit dibandingkan dengan penambahan sukrosa sebanyak 25 g/L. Flavonoid merupakan salah satu jenis metabolit sekunder (MS). Fungsi sukrosa sebagai salah satu sumber karbon pembentuk MS dan berperan dalam jalur metabolisme (Taiz & Ziger, 2010).

Sukrosa mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder melalui jalur glikolisis. Sukrosa akan terhidrolisis membentuk dua gula monosakarida berupa glukosa dan fruktosa. Sukrosa mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder melalui jalur glikolisis. Monosakarida hasil hidrolisis sukrosa diubah menjadi gula terfosforilasi dan selanjutnya memperoleh senyawa gliseraldehid-3-fosfat menjadi 1,3-bifosfoglisarat, 3-fosfoglisarat, 2 fosfoglisarat, fosfoenolpiruvat dan hasil akhir glikolisis berupa asam piruvat (Taiz & Ziger, 2010). Fosfoenolpiruvat merupakan salah satu hasil glikolisis sebagai bagian dari pembentukan flavonoid melalui jalur asam

shikimat. Diperlukan aritrosa-4-fosfat yang merupakan hasil dari jalur pentosa fosfat untuk membentuk penilalanin sebagai salah satu jalur pembentuk flavonoid. Jalur pentosa fosfat mengambil gula terfosforilasi dari glikolisis berupa glukosa-6-fosfat untuk dibentuk beberapa senyawa salah satunya pembentuk eritrosa-4-fosfat. fosfoenolpiruvat dan eritrosa-4-fosfat masuk dalam jalur asam shikimat. Keduanya terkondensasi menjadi tujuh karbon dengan enam komponen heterosiklik berupa 3-deoksi-D-arabino-heptulusonat-7-fosfat (DAHP) dikatalis 3-deoksi-D-arabino-heptulusonat-7-fosfat (DAHP) sintase. Hasil akhir berupa *chorismate* sebagai bahan pembentuk asam amino esensial yaitu fenilalanin, tirosin, dan triptofan (Herrman, 1995).

Sebagian besar metabolit sekunder jenis fenolat terbentuk dari turunan fenilalanin dengan menghilangkan gugus amin. Akan tetapi dalam pembentukannya, metabolit sekunder jenis fenolat juga membutuhkan senyawa dari reaksi jalur asam malonat. Fenilalanin sebagai asam amino pembentuk struktur metabolit sekunder mengalami penghilangan molekul amin dengan dikatalis oleh enzim *phenylalanine ammonia lyase* (PAL) (Taiz & Ziger, 2010). Reaksi tersebut memicu terbentuknya kelompok hidroksil lainnya yaitu asam trans-sinamik, asam p-kumaril yang merupakan turunan dari komponen fenolat sederhana yang biasa disebut fenilpropanoid karena mengandung cincin benzen dan tiga rantai karbon. Reaksi selanjutnya dengan penambahan Ko-A-SH menjadi p-kumaril-Ko-A dan selanjutnya menjadi *chalcones* dengan penambahan stuktur dari jalur asam malonat dan pembentukan flavonoid (Held & Piechulla, 2011).

Pada konsentrasi lebih dari 25 g/L jumlah flavonoid cenderung menurun karena terjadi penghambatan pembentukan metabolit sekunder. Penghambatan ini terjadi karena sukrosa yang tersisa terkonversi menjadi hasil samping berupa senyawa-senyawa lain misalnya asam-asam organik dan CO₂. Ada mekanisme penghambatan balik atau *feedback inhibition* yaitu dihambatnya produksi MS karena dianggap cukup, sehingga proses metabolisme termasuk pembentukan MS khususnya flavonoid berkurang. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Irmawati (2007), bahwa peningkatan kadar reserpin pada kultur kalus tanaman *Rauvolfia feticillata* (Lour.) terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa sampai pada konsentrasi 30 g/L lalu menurun pada konsentrasi sukrosa 40 g/L. Sama halnya dengan pengaruh kandungan alkaloid vinkristin kalus daun *Chatarantus roseus* (L.) G. Don bahwa kadar alkaloid vinkristin tertinggi pada konsentrasi sukrosa 40 g/L. Kalus pada media dengan tambahan sukrosa 50 g/L, mengandung alkaloid vinkristin lebih sedikit, hal ini karena sukrosa sebagai sumber karbon, hidrogen dan oksigen dalam jumlah kurang dari 30 g/L tidak digunakan untuk pembentukan alkaloid vinkristin, tetapi hanya digunakan untuk pertumbuhan kalus. Penambahan 50 g/L sukrosa dapat menghambat pembentukan alkaloid vinkristin (Manuhara, 1995).

Kandungan flavonoid tertinggi akibat penambahan sukrosa konsentrasi 25 g/L dengan kandungan flavonoid 48% tidak hanya disebabkan sukrosa sebagai senyawa yang dilibatkan dalam metabolisme tetapi ada pengaruh potensial osmotik. Sinyal tekanan abiotik terdiri dari beberapa sebab, yaitu: suhu, salinitas, air, radiasi,

tekanan kimiawi, dan mekanis. Penambahan sukrosa merupakan salah satu modifikasi pada medium kultur jaringan. Perlakuan ini dapat menyebabkan kekurangan air pada sel atau sel menjadi dehidrasi. Hal ini karena *osmotic stress* yaitu tertarik keluarnya air sitoplasma yang menyebabkan penurunan kadar air dalam sel. Tekanan kimiawi akan timbul dalam sel tanaman (Akula & Ravishankan, 2011).

Tekanan kimiawi yang timbul, merupakan hal yang serupa dengan sinyal pembentukan enzim PAL yang berfungsi sebagai percabangan antara metabolit primer dengan metabolit sekunder. Artinya bahwa ketika enzim PAL sudah diaktifkan maka pembentukan metabolit sekunder akan berlanjut ke tahap selanjutnya menuju lebih spesifik. Aktivitas PAL meningkat dipicu dengan adanya faktor alam, cahaya, dan infeksi mikrobial. Titik ini sebagai awal mula stimulasi adanya inisiasi transkripsi pada gen pengkode enzim PAL. Contoh kasus yaitu terjadi infeksi mikrobial, maka secara langsung adanya mikrobial dapat menstimulasi transkripsi pada pembawa pesan RNA yang mengkode PAL. Kemudian meningkatkan pembentukan PAL pada tanaman yang merupakan salah satu stimulan terbentuknya metabolit sekunder komponen fenolat (Taiz & Ziger, 2010). Begitu pula dengan stimulasi lain seperti faktor fisik/alam khususnya pada *osmotic stress* yang disebabkan penambahan sukrosa pada media tanam menyebabkan peningkatan kandungan flavonoid.

Sukrosa dapat menginduksi tekanan osmotik pada tanaman gandum (*Triticum aestivum* L.), dan mempengaruhi pertumbuhan kalus serta beberapa parameter biokimia salah satunya terdapat penurunan pertumbuhan dan akumulasi prolin serta karbohidrat terlarut dalam

jaringan kalus. Peningkatan tekanan osmotik dan potensial air yang berakibat pada penurunan potensial turgor yang terlihat pada berat kalus kering. Terlihat pada produksi prolin dan total karbohidrat terlarut (Javed & Ikram, 2008). Al-Khayri (2002) menyebutkan bahwa, pertambahan masa kalus teramati pada konsentrasi sukrosa pada 87 mM. Pertumbuhan kalus teramati pula pada konsentrasi sorbitol 54,9 mM sedangkan pada konsentrasi tinggi terjadi penghambatan. Pertumbuhan kalus terbaik terjadi pada medium yang mengandung 54,9 mM sorbitol dengan kombinasi 87,6 mM sukrosa. Peningkatan *osmotic stress* merupakan akibat penambahan konsentrasi sukrosa dan sorbitol. Penelitian tentang sukrosa sebagai penginduksi *osmotic stress* dan efeknya pada biomasa, hasil metabolisme, dan antioksidan kultur akar pada tanaman *Hipericum perforatum* L. menunjukkan bahwa total fenol, flavonoid mengalami penambahan pada perlakuan dengan konsentrasi sukrosa yang tinggi (Cui *et al.*, 2010).

Tekanan osmotik secara umum dapat dikatakan mempengaruhi produksi MS berdasarkan keterangan di atas. Semakin besar tekanan osmotik dapat memicu bertambahnya produksi metabolit sekunder (Akula dan Ravishankar, 2011). Hal ini tidak berlaku apabila konsentrasi sukrosa berlebih. Tekanan osmotik yang besar dan potensial osmotik yang rendah menyebabkan sel dehidrasi. Imbasnya produksi flavonoid menurun bahkan pada batas tertentu akan menyebabkan sel mati (Taiz dan Ziger, 2010). Hal ini dibuktikan dengan menurunnya produksi flavonoid pada penambahan sukrosa 30 g/L dan 35 g/L.

Mekanisme stimulasi produksi metabolit sekunder karena adanya aktivitas *abscisic acid* (ABA) merupakan sinyal untuk mengatur ekspresi penyetelan gen pengatur pertahanan tanaman. Hormon ABA merupakan hormon yang memicu fase *senescence* pada tanaman, berperan penting dalam kehidupan dan perkembangan tanaman, perkecambahan biji, pertumbuhan tanaman, *senescence* dan respon stres pada tanaman. Khusus untuk stres seperti kondisi cekaman hipotau atau hiper-osmotik, garam mineral, dingin, dan kekeringan, ABA diketahui sebagai regulasi biosintesis metabolit sekunder pada beberapa kultur sel tanaman. Hormon ABA dapat menstimulasi *indole alkaloids* pada tanaman kultur sel *Catharantus roseus* (Zhao *et al.*, 2000). Produksi *benzophenanthridine alkaloids* pada kultur sel tanaman *Bloodroot (Sanguinaria canadensis)* diketahui distimulasi oleh ABA (Mahadyet *et al.*, 1998). Hormon ABA dianggap sebagai sinyal penanda tekanan osmotik yang menginduksi metabolit sekunder karena produksi sebagian besar metabolit sekunder dapat dipicu oleh pemicu stres, seperti sorbitol, manitol, sukrosa, dan tekanan garam mineral pada medium kultur jaringan, menyebabkan terjadi pembentukan ABA. Contohnya ABA dan tekanan somotik dapat meningkatkan produksi *indole alkaloid* pada kultur sel *C. roseus* (Zhao *et al.*, 2000) dan ABA dapat menstimulasi *taxol* pada kultur sel *Taxus sp* (Luo *et al.*, 2001) pada konsentrasi tinggi sukrosa dan manitol.

Terjadi tren yang sama antara aktivitas antioksidan dengan kandungan flavonoid. Keduanya mengalami kenaikan pada perlakuan dengan konsentrasi sukrosa 25 g/L dan mengalami penurunan pada perlakuan selanjutnya yaitu penambahan sukrosa 30 g/L dan 35 g/L

walaupun memiliki signifikansi yang berbeda. Hal ini menunjukkan adanya keterkaitan antara senyawa fenolat seperti flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Senyawa tersebut mempunyai gugus hidroksil yang tersubstitusi pada posisi *orto* dan *para* terhadap gugus –OH dan –OR. Senyawa fenol dalam tubuh berfungsi melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keroposnya tulang, dan sebagai antibiotik (Waji & Sugrani, 2009).

7.5. Simpulan

Kalus pada kepel dapat diperoleh dengan menginduksi eksplan daun, tangkai daun, biji dan mesokarp pada medium dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Kalus kepel dapat menghasilkan senyawa flavonoid yaitu antara lain naringenin. Kalus kepel mempunyai aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan kalus kepel tergantung antara lain pada jenis eksplan.

Daftar Pustaka

- Akula R & Gokare AR. 2011. Influence of biotic stress signal on secondary metabolites in plant. *Plant Signaling & Behavior* 6(11): 1720-1731.
- Al-Khayri JM & Al-Bahrany AM. 2002. Callus growth and proline accumulation in response to sorbitol and sucrose-induced osmotic stress in rice. *Biologia Plantarum* 45(4): 609-611.
- Bhojwani SS & Razdan MK. 1983. *Plant tissue culture*. Elsevier. Amsterdam. New York. 502 p.
- Chaa^hbani G, Tabart J, Kevers C, Dommes J, Khan MI, Zaoui S, Chebchoub L, Lachaa^hl M & Karray-Bouraoui N. 2015. Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid combined to 6-benzylaminopurine on callus induction, total phenolic and ascorbic acid production, and antioxidant activities in leaf tissue

- cultures of *Crataegus azarolus* L. var. aronia. *Acta Physiol Plant* 37: 16.
- Cui, Xi-Hua, Hoskotte NM, Chun-Hua W & Kee-Yoep P. 2010. Sucrose-induced osmotic stress affects biomass, metabolite, and antioxidant level in root suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. *Plant Cell Tissue Cultures* 10(3): 7-14.
- D'agostino & Kieber J.J. (1999). Molecular mechanism of cytokinin action. *Current Opinion Plant Biology* 2(5): 359-364.
- Darusman HS, Rahminiwati M, Sadiyah S, Batubara I, Darusman LK & Mitsunaga T. 2012. Indonesian kepel fruit (*Stelechocarpus burahol*) as oral deodorant. *Research Journal of Medicinal Plants* 6(2): 180-188.
- Ferreyra MF, Rius SP & Casati P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Plant Science* 3(222): 1-15.
- Ghofrani S, Joghataei M, Mohseni S, Baluchnejadmojarad T, Bagheri M, Khamse S & Roghani M. 2015. Naringenin improves learning and memory in an Alzheimer's disease rat model: Insights into the underlying mechanisms. *European Journal Pharmacology* (764): 195-201.
- Gulcin I, Uguz MT, Oktay M, Beydemir S & Kufrevioglu OI. 2004. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (*Salvia sclarea* L.). *Turkish Journal Agriculture Forestry* 28: 25-33.
- Gupta N, Chauhan RS & Pradhan JK. 2014. Rutin: A bioactive flavonoid in *Handbook of Medicinal Plants and their Bioactive Compounds*, Ed: N. Gupta ISBN: 978-81-308-0548-1 51-57.
- George EF & Sherrington PD. 1984. *Propagation by Tissue Culture*. London: Exegetics Ltd.
- Habibah NA, Moeljopawiro S, Dewi K & Indrianto A. 2016. Flavonoid production of callus cultures from mesocarp of *Stelechocarpus burahol*. *Biosaintifika* 8(2): 214-221.
- Hagen G, Guilfoyle TJ & Gray WM. (2004). Auxin signal transduction. In: Davies PJ (Eds.) *Plant Hormones, Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Dordrecht. Kluwer Academic Publisher.
- Hatmi RU, Widyayanti S & Sudarmaji. 2014. Potensi Kepel (*Stelechocarpus burahol* [Blume] Hook.F & Th.) Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Prosiding Seminar Nasional Sumber Daya Genetik Pertanian*.

- Held H & Piechulla B. 2011. 18-Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. *Plant Biochemistry* (Fourth Edition). 431-449.
- Herrmann KM. 1995. The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *The Plant Cell* 1(7): 907-919.
- Ikeuchi M, Sugimoto K & Iwase A. 2013. Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell* 25: 3159-3173.
- Irmawati. 2007. Pertumbuhan Kadar Reserpin Kultur Kalus *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baillon Pada Variasi Konsentrasi Sukrosa Dalam Medium MS. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Iwase A, Ohme-Takagi M, & Sugimoto K. 2011a. WIND1: A key molecular switch for plant cell dedifferentiation. *Plant Signaling Behav* 6: 1943-1945.
- Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, Hiratsu K, Kojima M, Arai T, Inoue Y, Seki M, Sakakibara H, Sugimoto K & Ohme-Takagi M. 2011b. The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in Arabidopsis. *Current Biology* 21: 508-514.
- Khamlichi CR, Huntley R, Jacqmar A & Murray JA. 1999. Cytokinin activation of arabidopsis cell division through a D-type cyclin. *Science* 283: 1541-1544.
- Laukkanen H, Rautiainen L, Taulavuori E & Hohtola A. 2000. Changes in cellular structures and enzymatic activities during browning of scots pine callus derived from mature buds. *Tree Physiology* 20: 467-475.
- Javed F & Ikram S. 2008. Effect Sucrose Induced Osmotik stress On callus growth and biochemical aspect of two wheat genotypes. *Pakistan Journal of Botany* 40(4): 1487-1495.
- Kumari R, Singh S & Agrawal SB. 2009. Effects of supplemental ultraviolet-b radiation on growth and physiology of *Acorus calamus* L. (sweet flag). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 51: 19-27.
- Kumar S & Pandey AK. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal* <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>.
- Liu N, Zeller FJ & Chen QF. 2013. The flavonoid content in leaves and inflorescences of the wild perennial *Fagopyrum cymosum* complex. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 825-838.

- Luo J, Liu L & Wu CD. 2001. Enhancement of paclitaxel production by abscisic acid in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Biotechnology Letters* 13(23): 1345-1348.
- Mahady GB, Liu C & Beecher CWW. 1998. Involvement of protein kinase and G proteins in the signal transduction of benzophenanthridine alkaloid biosynthesis. *Pytochemistry* 1(48): 93-102.
- Manuhara YSW. 1995. Pengaruh manipulasi media terhadap kadar alkaloid vinkristin kalus daun *Chataranthus roseus* (L.) G. Don. *Berkala Penelitian Hayati* 1: 1-7.
- Pasternak T, Prinsen E, Ayaydin F, Miskolczi P, Potters G, Asard H, Onckelen HAV, Dudits D & Feher A. 2002. The role of auxin, ph and stress in the activation of embryogenic cell division in leaf protoplast-derived cells of Alfalfa. *Plant Physiology* 129: 1807-1819.
- Prakash MG & Gurumurthi K. 2010. Effects of type of explant and age, plant growth somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 100: 13-20.
- Pierik RIM. 1987. *In Vitro Culture of Higer Plants*. Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht, The Netherlands.
- Pokorny J, Yanishlieva N & Gordon M. 2001. *Antioxidants in Food, Practical Applications*, 1-123, Wood Publishing Limited. Cambridge, England.
- Purwantiningsih, Hakim AR & Purwantini I. 2010. Antihyperuricemic activity of the kepel [*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.] leaves extract and xanthine oxidase inhibitory study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(2): 123-127.
- Rohani ER, Ismanizan I, & Noor NM. 2012. Somatic ebyrogenesis of mangosteen. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 110: 251-259.
- Sakpere AMA, Ajayi SA & Adelusi AA. 2014. Effect of growth regulator and explant types on callus induction on *Telfairia occidentalis* Hook F. *African Journal of Biotechnology* 13(20): 2015-2021.
- Sunardi C. 2010. Structure of steroids in *Stelechocarpus burahol* Hook F. & Thomson Stem Bark. *The Journal of Indonesian Medicinal Plant*. 3(2): 115-117

- Sunarni T, Pramono S & Asmah R. 2007. Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Indonesian Journal of Pharmacy* 18(3): 111-116.
- Taiz L & Zeiger E. 2010. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. Pp 545-582.
- Tang W & Newton RJ. 2004. Increase of polyphenol oxidase and decrease of polyamines correlate with tissue browning in virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.). *Plant Science* 167: 621-628.
- Tisnadjaja D, Saliman E, Silvia & Simanjuntak P. 2006. Study of kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) as an anti-oxidative compounds containing fruit. *Biodiversitas* 7(2): 199-209.
- Waji RA & Sugrani A. 2009. Flavonoid (Quercetin). *Makalah Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar: Program S2 Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin.
- Yelnitis & Komar TE. 2010. *Upaya induksi kalus embriogenik dari potongan daun ramim*. Bogor: Indonesia's Work Programme for 2008 ITTO CITES Project.
- Zhang K, Letham DS & John PC. 1996. Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34cdc-2-like h1 histone kinase. *Planta* 200: 2-12.
- Zhao J, Zhu WH, Hu Q & He XW. 2000. Improved indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* suspension cell cultures by various chemical. *Biothechnology Letter* 15(22): 1221-1226.

POTENSI ISOFLAVON PADA KEDELAI
SEBAGAI ANTI KANKER

BAB
8



Siti Harnina Bintari

POTENSI ISOFLAVON PADA KEDELAI SEBAGAI ANTI KANKER

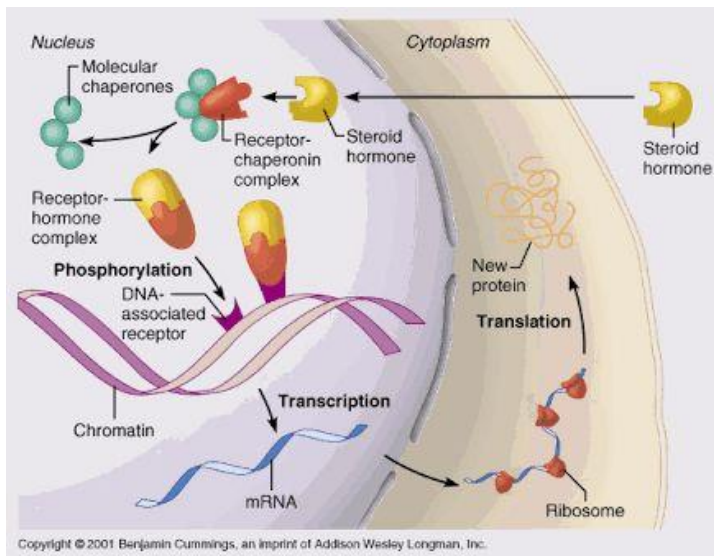
Penulis Siti Harnina Bintari

8.1. Pendahuluan

Isoflavon merupakan fitoestrogen, sifat utama dapat menempati reseptor estrogen hospes sehingga dapat mengurangi terjadinya ikatan antara estrogen dengan reseptor estrogen sehingga dapat mencegah timbulnya kanker payudara (Hilakivi-Clarke *et al.*, 2002). Isoflavon dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara melalui 3 (tiga) jalur. Jalur pertama, isoflavon dapat menghambat pembentukan enzim tirosin protein kinase yang terdapat pada membran sel dan sitoplasma (Boersma *et al.*, 2001; Toews, 1999). Penghambatan pembentukan enzim tirosin protein kinase selama proses karsinogenesis berpengaruh pada fosforilasi beberapa protein yang akan menjalankan tugasnya sebagai sinyal transduktor sesaat sebelum masuk pada replikasi DNA pada fase sintesis (S), yakni fase sekuens DNA terbagi menjadi dua bagian yang sama. Jalur ke dua, isoflavon dapat menghambat enzim DNA topoisomerase pada proses replikasi DNA. Penghambatan pembentukan enzim DNA topoisomerase pada saat replikasi berpengaruh pada proses membuka rangkaian DNA Jalur ke tiga, isoflavon mempunyai efek antiangiogenik, melalui penghambatan pembentukan enzim kolagenase oleh sel kanker dan pembentukan senyawa inhibitor cox-2 (enzim cyclooxygenase-2) untuk mencegah

produksi *growth factor* yang dibentuk oleh sel kanker selama proses angiogenesis (Surh & Na, 2002).

Struktur genistein yang seperti estradiol (estrogen) menyebabkan isoflavon mempunyai sifat seperti kelompok hormon steroid yakni bersifat tidak larut dalam air (hidrofobik). Sifat sinyal molekul hidrofobik dapat menembus membran plasma dan akan berikatan dengan reseptornya di sitoplasma dan akan berubah bentuk strukturalnya membentuk konformasi kompleks ligan-reseptor sehingga terbentuk area pengikatan DNA (*DNA binding site*) (Rood, 1998; Vile *et al.*, 1993) Selanjutnya kompleks protein reseptor – hormon kemudian memasuki inti sel, di mana ia berikatan dengan genom, yaitu pada tempat kromosom tertentu. (Gambar 8.1).



Gambar 8.1. Lintasan intraseluler hormon steroid (Reisberg, 2001)

Terkait dengan Gambar 8.1, suplementasi isoflavon dalam bentuk kedelai dan atau olahannya sebanyak 40 g/hari atau satu potong tempe selama 24 minggu mampu melindungi wanita pre menopause dari stres oksidatif. Terjadinya peningkatan aktivitas enzim SOD oleh isoflavon, diduga karena ikatan isoflavon dan reseptor estrogen mampu berdifusi ke dalam inti sel dan dapat berikatan dengan DNA. Ikatan ini menginduksi produksi dan ekspresi mRNA, kemudian keluar inti sel dan mensintesis protein baru di sitoplasma. Dengan demikian masyarakat Indonesia dan juga Asia yang banyak mengonsumsi kedelai dan turunannya banyak diuntungkan.

8.2. Tempe sebagai Sumber Isoflavon

Kedelai diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya tanin, steroid/triterpenoid, saponin dan flavonoid berpotensi sebagai antioksidan dan antikanker (Bintari *et al.*, 2013; Bintari & Nugraha, 2017). Kandungan tertinggi terdapat pada produk kedelai yang difermentasi seperti tempe. Tempe merupakan makanan fungsional, didalamnya terdapat gizi utama yakni karbohidrat, lemak, protein, vitamin B12, serat makanan yakni stakhiosa, verbaskosa dan rafinosa yang dikenal dengan oligosakarida, berperan sebagai prebiotik. Selain itu tempe segar juga mengandung mineral makro dan mikro dalam jumlah yang cukup. Terutama Ca melebihi kalsium telur ayam, Fe dan antioksidan isoflavon meliputi daidzein, glisitein, genistein, dan

senyawa Faktor II (Klus *et al.*, 1991). Rata-rata orang Asia mengkonsumsi genistein \pm 50-75 mg/hari, lebih kurang setara dengan jumlah yang terdapat dalam tempe dengan berat 100 g. Di sisi lain, tempe sarat dengan bakteri asam laktat (BAL) yang potensial sebagai probiotik. BAL yang penting dan ada dalam produk tempe antara lain dari genus *Lactobacillus*, *Streptococcus* dan *Bifidobacterium* (Kasmidjo, 1990). Kapang tempe dapat menghasilkan enzim fitase yang akan menguraikan asam fitat (yang mengikat beberapa mineral) menjadi fosfor dan inositol. Dengan terurainya asam fitat, mineral-mineral tertentu (seperti besi, kalsium, magnesium, seng) menjadi lebih tersedia untuk dimanfaatkan tubuh. Jumlah mineral zat besi, tembaga, dan seng berturut-turut adalah 9,39; 2,87; dan 8,05 mg setiap 100 g tempe.

Dibandingkan dengan kedelai, terjadi beberapa hal yang menguntungkan pada tempe, hal ini bisa dilihat dari meningkatnya kadar padatan terlarut, nitrogen terlarut, asam amino bebas, asam lemak bebas, nilai cerna, nilai efisiensi protein, serta skor proteinnya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat gizi tempe lebih mudah dicerna, diserap, dan dimanfaatkan tubuh dibandingkan dengan yang ada dalam kedelai. Hal ini dapat dijadikan indikator betapa pentingnya tempe dikonsumsi dengan pengolahan yang benar agar terbentuk pertahanan tubuh dan kecukupan gizi utama. Berapa sebenarnya isoflavon dibutuhkan oleh tubuh ?.

Kedelai mempunyai komposisi yang berbeda dengan tempe, namun ke duanya mempunyai kelebihan yakni sarat zat gizi makro

meliputi protein, karbohidrat dan lemak. Sementara, perbedaan yang mencolok antara tempe dan kedelai terdapat pada senyawa vitamin B12 dan senyawa bioaktif isoflavon aglikon serta keberadaan bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik.

Makanan dan minuman yang terbuat dari kedelai mempunyai isoflavon yang bervariasi tergantung proses pengolahannya. Pengolahan secara higienis ditengarai dapat menjadi salah satu faktor positif pada jumlah isoflavon aglikon pada tempe. Makanan dari kedelai seperti tempe, tahu dan minuman seperti susu kedelai dan tepung kedelai serta kedelai utuh mempunyai kandungan isoflavon berkisar antara 130 – 380 mg/100 gram. Oleh karenanya komoditas kedelai menjadi pilihan utama sebagai sumber isoflavon, di mana semua tanaman kacang–kacangan mempunyai senyawa isoflavon yang terikat dengan gula disebut sebagai senyawa glikosida. Minyak dari kedelai dan kecap tidak mengandung isoflavon. Kemudian, penggunaan alkohol dalam proses ekstraksi dapat mengakibatkan kadar isoflavon menurun. Seratus gram tempe terdapat isoflavon aglikon sebesar 49 mg, namun pada pembuatan tempe pada batch yang lain kandungan senyawa isoflavon aglikon berubah, yakni sebesar 26 mg/100 gram tempe (Bintari, 2013). Hal ini dapat disebabkan oleh banyak faktor yang belum diketahui namun ditengarai keberadaan bakteri *Micrococcus luteus* dan *Brevibacterium epidermidis* selama proses fermentasi tempe dan kompleksitas faktor fermentasi tempe menjadi indikator penting untuk mendorong meningkatnya senyawa isoflavon aglikon (Bintari

et al., 2009). Disisi lain kontribusi dari berlimpahnya kapang *Rhizopus oligosporus* dan enzim yang ada didalamnya ikut berperan penting pada hadirnya senyawa pada tempe.

Potensi kedelai dan olahannya sebagai sumber gizi dan senyawa bioaktif merupakan point penting untuk kesehatan oleh kaenanya makanan/jajanan berbasis tempe menjadi produk *super food, food for the future*". Hal ini dipicu oleh kemampuan isoflavon sebagai penangkap (scavenger) radikal, yaitu dengan cara mengubah O₂. (-) ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi yang dikatalisis oleh reaksi dismutasi. Dari beberapa bahan pangan yang telah dianalisis, diketahui bahwa kedelai menempati urutan pertama, mengandung daidzein 10,5-85 mg/100g dan genistein 26,8-120,5 mg/100g berat kering.

Studi epidemiologis menunjukkan bahwa perempuan yang mengkonsumsi kedelai atau bentuk olahannya, seperti tahu, taucu, kecap, miso dan tempe berisiko rendah terhadap kanker payudara (Surh, 1999; Berdanier, 1998). Semua produk tersebut mengandung antioksidan, yakni isoflavon yang berperan pada tingkat seluler dan karsinogenesis (Surh & Na, 2002; Toyomura & Kono, 2002; Toews, 1999).

8.3. Bioavalabilitas Isoflavon

Selama fermentasi tempe, maka terjadi kenaikan aktivitas antioksidan yang disebabkan oleh terhidrolisisnya senyawa isoflavon glikosida pada biji kedelai menjadi senyawa isoflavon

bebas yang disebut aglikon oleh enzim β -glukosidase pada saat proses perendaman biji. Enzim ini dihasilkan pula oleh *Rhizopus oligosporus* selama fermentasi. Aktivitas antioksidan dari isoflavon ini akan meningkat seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Menurut Barz *et al.* (1993) dan Bintari & Nugraheni (2015) kenaikan aktivitas antioksidan juga dikarenakan terbentuknya Faktor-II selama fermentasi tempe yang aktivitas antioksidannya lebih tinggi dibandingkan isoflavon aglikon yang lain. Kenaikan aktivitas antioksidan yang cukup signifikan saat proses fermentasi tempe mencapai waktu 36 jam (36,37%) dan nilainya berbeda nyata dengan saat fermentasi 30 jam (31,72 %). Pada fase ini terjadi pertumbuhan jamur tempe yang optimal dan hampir tetap atau bertambah sedikit, dilanjutkan oleh aktivitas *Rhizopus sp.* sehingga terjadi proses transformasi dan biosintesis senyawa aktif. Senyawa isoflavon pada kedelai berbentuk konjugat dengan senyawa gula melalui ikatan -o- glikosidik. Selama proses fermentasi ikatan -o- glikosidik terhidrolisa, sehingga terpisahkan senyawa gula dan isoflavon aglikon bebas. Isoflavon aglikon bebas tersebut mengandung senyawa genistein, glisitein dan daidzein. Hasil transformasi lebih lanjut dari senyawa aglikon ini justru menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi. Terbukti bahwa faktor II (6,7,4'-tri-hidroksi isoflavon) mempunyai aktivitas antioksidan dan antihemolisis lebih baik dari daidzein dan genistein. Senyawa isoflavon tempe, lebih aktif 10 kali dari senyawa karboksi kroman dan 3 kali dari senyawa isoflavon

aglikon lainnya yang terdapat pada kedelai (Jha *et al.*, 1997; Klus *et al.*, 1991). Sementara, produk tempe mempunyai keunggulan yakni mempunyai kandungan senyawa aktif, teknologi pembuatannya sederhana, harga terjangkau, mempunyai citarasa yang enak dan mudah dimasak. Senyawa isoflavon merupakan salah satu komponen yang juga mengalami proses metabolisme selama fermentasi berlangsung.

8.4. Isoflavon Tempe sebagai Anti Kanker

Pemanfaatan isoflavon untuk penghambatan sel kanker berkaitan dengan titik tangkapnya pada penghambatan pembentukan enzim tirosin protein kinase yang terdapat pada membran sel dan sitoplasma, menghambat enzim DNA topoisomerase, menginduksi apoptosis dan mempunyai efek antiangiogenik serta mempunyai sifat mutagenik pada gen TGF β (*Transforming Growth Factor*) (Peterson *et al.*, 1997). Tempe berpotensi untuk melawan radikal bebas, sehingga dapat menghambat proses penuaan dan mencegah terjadinya penyakit degeneratif. Komposisi gizi tempe baik kadar protein, lemak, dan karbohidratnya tidak banyak berubah dibandingkan dengan kedelai. Namun, karena adanya enzim pencernaan yang dihasilkan oleh kapang tempe, maka protein, lemak, dan karbohidrat pada tempe menjadi lebih mudah dicerna di dalam tubuh dibandingkan yang terdapat dalam kedelai. Oleh karena itu, tempe sangat baik untuk

diberikan kepada segala kelompok umur (dari bayi hingga lansia), sehingga bisa disebut sebagai makanan semua umur.

Isoflavon sebagai *chemoprevention* telah dipelajari secara *in vitro* dan *in vivo*, yaitu sebagai senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau proliferasi sel kanker. Salah satu aktivitas isoflavon adalah dapat menghambat pembentukan *Aberrant Crypt Foci (ACF)*, pada lesi pra neoplasia kanker kolorektal. Dengan penelitian eksperimen yang lain, terbukti bahwa genistein, salah satu komponen isoflavon pada konsentrasi 25-250 mg genistein/kg. Diet yang pada tikus dijejaskan agensia *Dimetil Benz Antrasen (DMBA)* dapat menurunkan tumor payudara sebesar 20% sampai 50%; melalui *biomarker* reseptor *Epidermal Growth Factor (EGF receptor)* (Lamartiniere, 2000). Pemberian isoflavon dari ekstrak tempe yang dikonsumsi lebih awal dapat digunakan sebagai agensia *pencegah* secara luas terhadap pertumbuhan sel kanker. Di sini, memperkuat bahwa penggunaan obat tradisional pada masyarakat secara empiris telah memberikan hasil yang baik, namun secara biomolekuler belum terdapat kejelasan efek patobiologi mengenai manfaat tempe untuk mencegah pertumbuhan sel kanker tersebut.

Dari berbagai studi epidemiologi didapatkan bahwa faktor risiko kanker payudara dapat berupa umur, riwayat kanker pada keluarga, radiasi, pola hidup termasuk diet, kegemukan, kebiasaan minum alkohol dan kebiasaan merokok (McPherson *et al.*, 2000; Vliet, 2000). Diperparah dengan kemajuan teknologi, bahwa zat-zat

pencemar dapat menjadi pemicu munculnya penyakit kanker pada manusia, yang ternyata sulit dihindari. Di sisi lain kondisi sosial ekonomi dan keterbatasan sarana dan prasarana kedokteran di Indonesia, maka kegiatan yang murah dan dapat diterima masyarakat, adalah dengan menghindari faktor risiko melalui perbaikan pola hidup khususnya pola makan, dengan memanfaatkan makanan yang mengandung isoflavon, yang ditengarai dapat menurunkan risiko terkena kanker payudara (Lamartiniere *et al.*, 1998; Gilbert, 2001).

8.5. Simpulan

Isoflavon berfungsi mempunyai aktivitas sebagai alat komunikasi dalam proses interaksi antar sel. Isoflavon sebagai fitoestrogen dapat digunakan sebagai alternatif mengatur keseimbangan hormon estrogen dengan progesteron Isoflavon mempunyai aktivitas seperti hormon estrogen dengan molekul sinyal yang bersifat hidrofobik, memiliki kemampuan untuk menembus membran yang terdiri atas lemak lapis ganda, dengan demikian reseptor bagi molekul sinyalnya berada di dalam sitoplasma sebagai reseptor sitosolik.

Tingkat keseringan dan jumlah tempe yang dikonsumsi perlu diperhatikan dan tetap disarankan makan makanan beragam, terukur dan bervariasi cara pengolahan. Hal ini bermanfaat untuk mengurangi efek isoflavon dari sifat ambivalen.

Daftar Pustaka

- Ballard-Barbash R, Birt DF, Kestin M, King IB. 1997. Perspectives on integrating experimental and epidemiologic research on diet, anthropometry and breast cancer. symposium diet, anthropometry and breast cancer: integration of experimental and epidemiologic apoproaches. *American Society for Nutritional Sciences*: 936S-939S.
- Barnes S. 2001. Role of phytochemicals in prevention and treatment of prostat cancer. *Epidemiologic Review* 23(1): 102-106.
- Bintari SH. 2013. Pasteurization for hygienic tempe: study case of krobokan tempe yesterday and today. *GSTF International Journal on Bioformatics & Biotechnology*.
- Bintari SH, Dyah A, Jumesti V E & Citra R. 2009. Efek inokulasi bakteri micrococcus luteus terhadap pertumbuhan jamur benang dan kandungan isoflavon pada proses pengolahan tempe. *Biosaintifika-Berkala Ilmiah Biologi* 1(1): 68-75.
- Bintari SH & Nugraheni K. 2015. The effects of isoflavone on antioxidant status in the serum of rats dmbs induced breast cancer and treated with tempe. *Artikel Seminar Nasional dengan Prosiding 1st Unnes International Conference on Research Innovation and Commercialization (UICRIC) to Better Life*: 251-254.
- Bintari SH & Nugraheni K. 2017. The potential of tempeh as a chemopreventive and chemotherapeutic agent targeting breast cancer cells. *Pakistan Journal of Nutrition* 16(10): 743-749.
- Bintari SH, Moeis F & Sarjadi. 2013. Perubahan parameter biologik jaringan kanker payudara mencit akibat pemberian isoflavon tempe. *The Indonesian Journal of Clinical Nutrition* 9(4): 197-203
- Boersma BJ, Barnes S, Kirk M & Wang CC. 2001. Soy isoflavonoids and cancer-metabolism at the target site. *Mutation Research* 480-481: 121-127.
- Gilbert MN. 2001. *The Healing Power of Soy's Isoflavones*. <http://www.virtuesofsoy.com>.

- Hilakivi-Clarke L, Wang C, Kalil M, Riggins R & Pestell RG. 2002. Nutritional modulation of the cell cycle and breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 11(4): 603-625.
- Jha HC, Kiriakidis S, MHoppe & Egge H. 1997. Antioxidative Constituents of Tempe. Reinventing the hidden Miracle of Tempe. *Proceedings International tempe Symposium*. Published by Indonesian tempe foundation Jakarta.
- Klus K, Borge G, Papendorf & Barz W. 1991. Formation of 6,7,4' tri hydroxy isoflavone (factor-2) from soybean seed isoflavones by bacteria isolated from tempe. *Journal of Biotechnology* 54(4): 979-999.
- Kasmidjo RB. 1990. *Tempe, Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan serta Pemanfaatannya*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada.
- Lamartiniere CA. 2000. Protection against breast cancer with genistein: a component of soy. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71(6): 1705S-1717S.
- Leong AS-Y & Le AKC. 1995. Biological indices in the assessment of breast cancer. *Journal Clinical Molecular Pathology* 48(5): M221-M238.
- Mc Pherson K, Steel CM & Dixon JM. 2000. ABC of breast diseases breast cancer-epidemiology, risk faktor, and genetics. *BMJ* 321(7261): 624-628.
- Reisberg, P. 2001. Hormones. <http://academics.wellesley.edu>. [31 Maret 2018]
- Rood L. 1998. The possible role of soy in breast cancer prevention and supplement. *Nutrition Bytes* 4(1): 1-5.
- Surh Y-J. 1999. Molecular mechanisms of chemopreventive effect of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutation Research* 428(1-2): 305-309
- Surh Y-J & Na H-K., 2002. Cyclooxygenase-2 as a putative target for cancer chemoprevention some anti-inflammatory phytochemicals. *Food and Chemical Toxicology* 40: 146-151.
- Toyomura K & Kono S. 2002. Soybean, soy foods, isoflavones and risk of colorectal cancer: a review of experimental and epidemiological data. *Asian Pasific Journal of Cancer Prevention* 3(2): 125-131.

- Toews VD. 1999. *All About Soy Isoflavones & Women's Health*. Avery Publishing Group 68.
- Vile RG, McClure MO & Weber JN. 1993. *Genes and Cancer Basic Molecular and Cell Biology*. Second edition. London: the BMJ Publishing Group Tavistock Square.
- Vliet Avd, 2000. Cigarettes, cancer and carotenoids: a counting unresolved antioksidan paradox. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(6): 1-4.
- Wangen KE, Duncan AM, Xu X & Kurzer Ms. 2001. Soy isoflavon and improve plasma lipids in normo cholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73(2): 225-231.

TENTANG PENULIS



Retno Sri Iswari

Purwodadi, 7 Februari 1952

Retno Sri Iswari sejak 1979 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, terutama mengajar mata kuliah Biokimia dan Dasar-Dasar Bioteknologi.



Noor Aini Habibah

Cilacap, 7 November 1971

Noor Aini Habibah sejak 1998 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, terutama mengajar mata kuliah Kultur Jaringan Tumbuhan, Genetika, Biologi Molekular dan Biologi Umum.



R. Susanti

Sragen, 23 Maret 1969

R. Susanti sejak 1997 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, terutama mengajar mata kuliah Biokimia, Kimia Organik dan metabolisme sel.



Ari Yuniastuti

Semarang, 2 Juni 1968

Ari Yuniastuti sejak 1998 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, terutama mengajar mata kuliah Gizi & Kesehatan dan Biokimia. Bidang peminatan Nutrition Health, Molecular Biology dan Imunologi.



Nugrahaningsih WH

Klaten, 9 juli 1969

Nugrahaningsih WH sejak 1998 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, terutama mengajar mata kuliah Anatomi Fisiologi Manusia, Struktur Jaringan Hewan dan Biopatologi.



Lisdiana

Pekalongan, 19 November 1959

Lisdiana sejak 1986 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, mengajar mata kuliah Struktur Jaringan Hewan, Antomi Fisiologi Manusia dan Struktur Tubuh Hewan.



Siti Harnina Bintari

Madiun, 14 Agustus 1960

Siti Harnina Bintari sejak 1987 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, terutama mengajar mata kuliah Mikrobiologi, Bioteknologi serta Gizi dan Kesehatan.



Yustinus Ulung A

Brebes, 27 April 1964

Yustinus Ulung Anggraito sejak 1990 sebagai staf pengajar di jurusan biologi FMIPA UNNES, terutama mengajar mata kuliah Genetika Biologi Molekular, Bioteknologi, dan Kultur Jaringan Tumbuhan.

ISBN 978-602-5728-05-1



9 786025 728051