

KANDUNGAN ANTIOKSIDAN BEBERAPA LALAPAN

Amril Latif (amril@mail.ut.ac.id)
Universitas Terbuka

ABSTRACT

The product of fat oxidation on food has a significant effect towards human's health, especially those who often consume it. It has been known for long time that vegetables, fruits, and fish have an ability to stifle Free Radical through the activities of antioxidant belonged to them. Among some kinds of antioxidant, natural antioxidant is the one which does not have any side-effects. This research is aimed to know the ability of antioxidant consisted in kemangi leaves, kemangi, rende, poh-pohan, and lettuce to stifle Free Radical. Based on the result of spectrophotometer test towards those dishes of raw vegetables (lalapan), kemang leaves have the most antioxidant with 0,488 absorption, followed by rende leaves with 0,394 absorption, kemangi leaves with 0,326 absorption, poh-pohan leaves with 0,176 absorption, and lettuce with 0,1635 absorption. Based on the spectrum analysis, it can be seen that lettuce leaves have more effective antioxidant to stifle Free Radical.

Keywords: antioxidant, dish of raw vegetables, free radical, lipida, spectrophotometer

Proses penuaan dan penyakit degeneratif seperti kanker kardiovaskuler, penyumbatan pembuluh darah yang meliputi hiperlipidemia, aterosklerosis, dan trombosis penyebab stroke dan tekanan darah tinggi serta terganggunya sistem imun tubuh dapat disebabkan oleh stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan keadaan tidak seimbang jumlah oksidan dan prooksidan dalam tubuh. Pada kondisi ini, aktivitas molekul radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (SOR) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa xenobiotik (zat asing) dari makanan atau lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan tersebut.

Tubuh kita mengalami proses oksidasi setiap hari yang akan menghasilkan radikal bebas. Namun demikian, pembawa radikal bebas dan SOR yang dominan berasal dari makanan dan minuman yang kita konsumsi. Contoh sederhana sumber makanan pembawa radikal bebas adalah makanan yang digoreng dengan minyak goreng yang telah digunakan berulang, seperti makanan jajanan tahu, pisang, tempe, bakwan goreng, dan lain-lain. Tubuh kita memiliki kemampuan menetralkan karena menghasilkan zat-zat yang bersifat antioksidan dalam berbagai sistem metabolisme tubuh. Selain itu, seperti yang dilaporkan Nabet (1996), bahwa zat antioksidan alami yang bersifat gizi dan non gizi telah banyak ditemukan pada bahan pangan. Antioksidan ini akan sangat membantu untuk menekan pembentukan radikal bebas dan SOR yang mungkin terbentuk selama proses pencernaan, serta mengurangi keaktifan zat-zat yang merugikan tubuh. Peran antioksidan juga terlihat jelas pada berbagai penyakit gastro-enterologi. Pasien kolesistik yang meningkat level MDA eritrosit dan rendah konsentrasi vitamin E dalam serumnya, memerlukan vitamin E dalam dosis tinggi. Penyakit maag (*ulcero-necrotic enterocolitis*) dilaporkan juga terkait dengan radikal bebas dan defisiensi pertahanan antioksidan. Timbulnya atau tumbuh kembalinya polip pada usus pun diduga terkait dengan radikal pengoksidasi.

Peran positif antioksidan terhadap penyakit kanker dan kardiovaskuler, terutama yang diakibatkan oleh *aterosclerosis*/penyumbatan dan penyempitan pembuluh darah juga banyak disoroti. Antioksidan berperan dalam melindungi lipoprotein densitas rendah (LDL) dan sangat rendah (VLDL) dari reaksi oksidasi. Lemak jenuh merupakan bagian terbesar dari lipoprotein densitas rendah (LDL, lipoprotein pembawa kolesterol utama dalam plasma) dan oksidasi pada lemak inilah yang akan menyebabkan terjadinya aterosklerosis. Pencegahan aterosklerosis tersebut dapat dilakukan dengan menghambat oksidasi LDL menggunakan antioksidan yang banyak ditemukan pada bahan pangan.

Adapun untuk kanker dan tumor banyak ilmuwan spesialis setuju bahwa penyakit ini berawal dari mutasi gen atau DNA sel. Perubahan pada mutasi gen dapat terjadi melalui mekanisme kesalahan replikasi dan kesalahan genetika yang berkisar antara 10-15%, atau faktor dari luar yang merubah struktur DNA seperti virus, polusi, radiasi, dan senyawa xenobiotik dari konsumsi pangan sebesar 80-85%. Radikal bebas dan reaksi oksidasi berantai yang dihasilkan jelas berperan pada proses mutasi tersebut. Risiko tersebut sebenarnya dapat dikurangi dengan mengkonsumsi antioksidan dalam jumlah yang cukup.

Hasil penelitian pada pertengahan tahun 80-an yang menunjukkan bahwa beta karoten mampu mengurangi risiko kanker paru-paru, merupakan ide awal perhatian terhadap keterkaitan antioksidan dalam menghambat penyakit ini. Mekanisme aktivitas antitumor atau kanker dengan senyawa kimia dapat melalui 3 cara yaitu : menghambat bioaktivikasi karsinogenesis, menutup jalur pembentukan sel ganas (*blocking agent*) oleh antioksidan, serta menekan dan memanipulasi hormon (Okey, et. al.,1998). Jadi aktivitas antioksidan, selain dapat mencegah auto-oksidasi yang menghasilkan radikal bebas dan SOR, juga dapat menekan proliferasi (perbanyak) sel kanker.

Apakah sebenarnya radikal bebas yang menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti tersebut di atas? Radikal bebas dapat terjadi bila elektron ditarik dari sebuah atom atau sekelompok atom, reaksi demikian disebut juga reaksi oksidasi. Secara bersamaan ada reaksi reduksi yang terjadi akibat penambahan elektron terhadap suatu atom yang lain atau kelompok atom yang lain. Reaksi oksidasi dapat atau tidak melibatkan penambahan atom oksigen atau penarikan atom hidrogen dari substansi selama oksidasi terjadi. Reaksi oksidasi reduksi biasanya terjadi pada sistem biologis (misalnya pada tubuh manusia) dan juga pada sistem pangan. Meskipun sejumlah reaksi oksidasi bermanfaat terhadap pangan namun dapat menyebabkan pengaruh lain yang tidak diinginkan seperti: rusaknya vitamin, pigment dan lipida yang diikuti dengan hilangnya nilai gizi dan menimbulkan cita rasa yang tidak sedap. Pengendalian terhadap reaksi oksidasi yang tidak diinginkan pada produk pangan biasanya diterapkan pada saat proses pengolahan dan pada teknik pengepakan yaitu dengan mengeluarkan oksigen atau menambahkan zat-zat kimia yang mampu mencegah oksidasi yang kita sebut sebagai antioksidan.

Sebelum pengembangan teknologi kimia khusus untuk pengendalian radikal bebas yang menjadi mediasi oksidasi lipid, istilah anti oksidan juga telah diterapkan kepada seluruh zat yang mampu mencegah reaksi oksidasi tersebut. Sebagai contoh asam askorbat (vitamin C) telah dipertimbangkan menjadi suatu anti oksidan dan telah digunakan untuk mencegah terjadinya reaksi pencoklatan enzimatik pada permukaan buah-buahan atau sayuran yang dipotong. Pada pemanfaatan ini asam askorbat berfungsi sebagai zat pereduksi dengan cara mentransfer atom hidrogen ke senyawa quinon yang terbentuk melalui oksidasi enzimatik dari senyawa fenolik. Pada suatu sistem yang tertutup asam askorbat bereaksi cepat dengan oksigen sehingga akan bertindak sebagai penangkap oksigen. Seperti halnya asam askorbat, demikian juga dengan sulfit yang teroksidasi pada sistem pangan menjadi sulfonat dan sulfat. Oleh karena itu sulfit juga efektif sebagai

anti oksidan pada pangan seperti buah-buahan kering. Anti oksidan pangan yang paling banyak digunakan adalah zat fenolik. Terminologi yang akhir-akhir ini sering dipakai “anti oksidan pangan” telah diterapkan kepada senyawa-senyawa yang mampu *menginterupsi rantai radikal bebas pada reaksi oksidasi lipid* dan dengan demikian bertindak sebagai *scavenger singlet oxygen*, tetapi istilah tersebut tidak digunakan dalam arti sempit. Anti oksidan sering menunjukkan tingkat efisiensi yang bervariasi sebagai sistem perlindungan pangan dan sering bergabung untuk melahirkan perlindungan yang lebih kuat (efek sinergis) terhadap pangan. Dengan demikian pencampuran anti oksidan kadang-kadang memiliki aksi sinergis, tetapi mekanisme pembentukan efek sinergis tersebut belum dapat dipahami secara sempurna. Dalam hal ini asam askorbat dapat memperkuat sifat anti oksidan dari fenolik dengan cara memberikan atom hidrogen kepada radikal fenoksi yang terbentuk ketika anti oksidan fenolik memberikan atom hidrogen kepada reaksi rantai dari lipid yang mengalami oksidasi. Di dalam aksinya ini asam askorbat bila dibandingkan dengan lipid sedikit kurang polar sehingga asam askorbat akan terlarut di dalam lemak, dengan demikian akan terjadi reaksi esterifikasi terhadap asam lemak untuk membentuk senyawa seperti *ascorbyl palmitate*.

Adanya keadaan transisi ion logam, terutama tembaga dan besi yang mampu menyebabkan oksidasi lipid melalui aksi katalis logam tersebut. Logam-logam ini berlaku sebagai pro-oksidan dan acap kali menjadi tidak aktif bila ditambahkan zat pengkelat, seperti asam sitrat atau EDTA. Adapun peran zat pengkelat ini dapat memberikan efek sinergis karena dia dapat meningkatkan fungsi anti oksidan fenolik. Akan tetapi zat-zat pengkelat ini sering tidak sebagai anti oksidan apabila digunakan sendiri-sendiri.

Ada sejumlah senyawa alam yang mampu bertindak sebagai anti oksidan, sebagai contoh adalah *tocopherol* yang digunakan secara luas. Baru-baru ini ekstrak dari bumbu-bumbuan terutama rosemary telah sukses diperdagangkan sebagai anti oksidan alami demikian juga dengan *gossypol* yang merupakan anti oksidan alami dari biji kapas, tetapi *gossypol* ini bersifat racun sehingga tidak boleh digunakan untuk produk-produk pangan. Anti oksidan alami yang lain adalah berasal dari daun lalapan yang diyakini banyak mengandung senyawa fenolik dan *coniferyl alcohol* (terdapat pada tumbuh-tumbuhan). Keseluruhan dari anti oksidan ini strukturnya berhubungan dengan *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *propyl gallate*, dan *di-t-butylhydroquinone* (TBHQ), BHA, BHT, PG, dan TBHQ merupakan anti oksidan phenolik sintetis yang telah diakui penggunaannya pada pangan. Seluruh senyawa fenolik tersebut bertindak sebagai inhibitor (penghambat) oksidasi dengan cara berpartisipasi pada reaksi melalui bentuk penstabilan resonansi radikal bebas, namun seluruh substansi fenolik tersebut mampu bertindak menangkap singlet oksigen. Ada beberapa anti oksidan alami yang cukup aman sebagai anti oksidan seperti daun poh-pohan, selada air, daun kemang, kemangi, dan rende. Tetapi penelitian kemampuan antioksidan dari lalapan ini belum begitu banyak, karena itu diperlukan penelitian antioksidan beberapa lalapan.

Sudah lama diketahui bahwa dari beberapa daun lalapan seperti: daun poh-pohan, selada air, daun kemang, kemangi, dan rende, mempunyai kemampuan sebagai antioksidan dan meredam radikal bebas, tetapi belum diketahui sejauh mana kemampuan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan anti oksidan beberapa daun lalapan serta kemampuan dari lalapan tersebut untuk meredam radikal bebas.

METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Kimia Pangan Institut Pertanian Bogor dari bulan Maret 2003 sampai dengan bulan April 2003. Penelitian ini terdiri dari 2 tahap yaitu tahap pertama menentukan lalapan yang memiliki kandungan zat antioksidan paling tinggi. Tahap kedua

menentukan lalapan yang mempunyai kemampuan meredam radikal bebas lebih baik. Untuk penelitian tahap pertama menggunakan Metode Chander dan Dodds yang dimodifikasi (Shetty, et. al., 1995) dengan prinsip bahwa senyawa golongan fenolik bereaksi spesifik dengan senyawa *folin ciocalteu* dalam suasana basa dengan membentuk kompleks berwarna hijau-kebiruan.

Tahap kedua untuk menentukan kemampuan lalapan meredam radikal bebas digunakan metode Diene Terkonyugasi yang dimodifikasi (Chan dan Levett, 1977) dengan prinsip bahwa reaksi oksidasi asam linoleat dalam minyak kedelai murni pada tahap awal dapat mengubah posisi ikatan rangkap tak terkonyugasi. Ikatan terkonyugasi pada asam linoleat (C18:2) disebut dien terkonyugasi. Ikatan terkonyugasi mampu menyerap sinar pada panjang gelombang UV.

Alat untuk proses menguji sampel lalapan yang diinduksi radikal bebas adalah water bath, spektrofotometer, sentrifuse, gelas ukur, tabung reaksi, pipet, pipet hisap, mikropipet 10 - 100 µl dan 200 - 1000 µl, dan inkubator. Data-data hasil pengamatan dihitung konsentrasinya dengan menggunakan rumus Lambert Beer sebagai berikut:

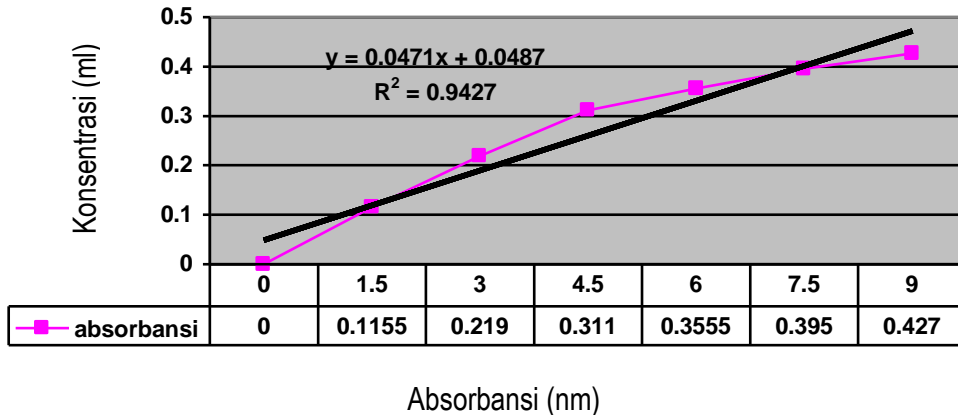
$$C = \frac{A \times 1000 \times F_p \times 100}{\epsilon \times b}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Tahap 1

Untuk penelitian tahap 1, yaitu menentukan lalapan yang memiliki kandungan antioksidan paling tinggi diperoleh data sebagai berikut.

1. Data absorpsi larutan standar pada panjang gelombang 725 nm (Gambar 1)



Gambar 1. Hubungan Antara ml Standar dengan Absorbansi.

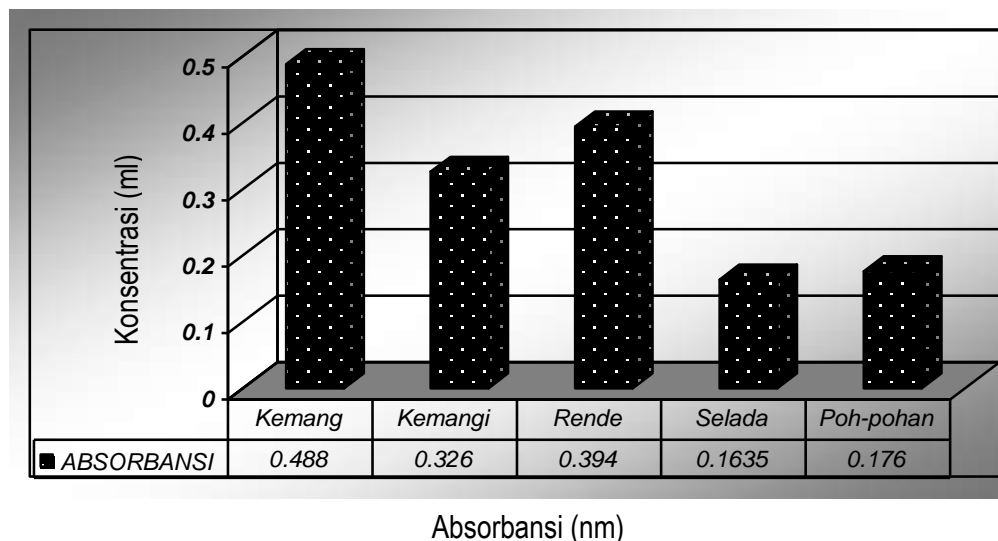
Keterangan gambar:

Y adalah volume standar

X adalah absorbansi (banyaknya sinar yang terserap).

$R^2 = 0,9427$ menunjukkan sebaran data sangat mendekati garis liniernya.

2. Data absorpsi larutan sampel pada panjang gelombang 725 nm (Gambar 2),



Gambar 2. Hubungan Antara ml Sampel dengan Absorbansi

Kemampuan standar untuk menyerap sinar ultra violet dengan panjang gelombang 725 nm berbanding lurus dengan konsentrasi asam tanat yang terkandung di dalamnya. Sementara itu di antara sampel yang diteliti yang paling tinggi kandungan zat antioksidanya adalah kemang (Absorbansi = 0,488), selanjutnya diikuti oleh rende (Absorbansi = 0,394), kemangi (Absorbansi = 0,326), poh-pohan (Absorbansi = 0,176), dan selada (Absorbansi = 0,1635).

Penelitian Tahap 2

Untuk penelitian tahap 2, yaitu menentukan lalapan yang memiliki kandungan antioksidan paling tinggi diperoleh data sebagai berikut.

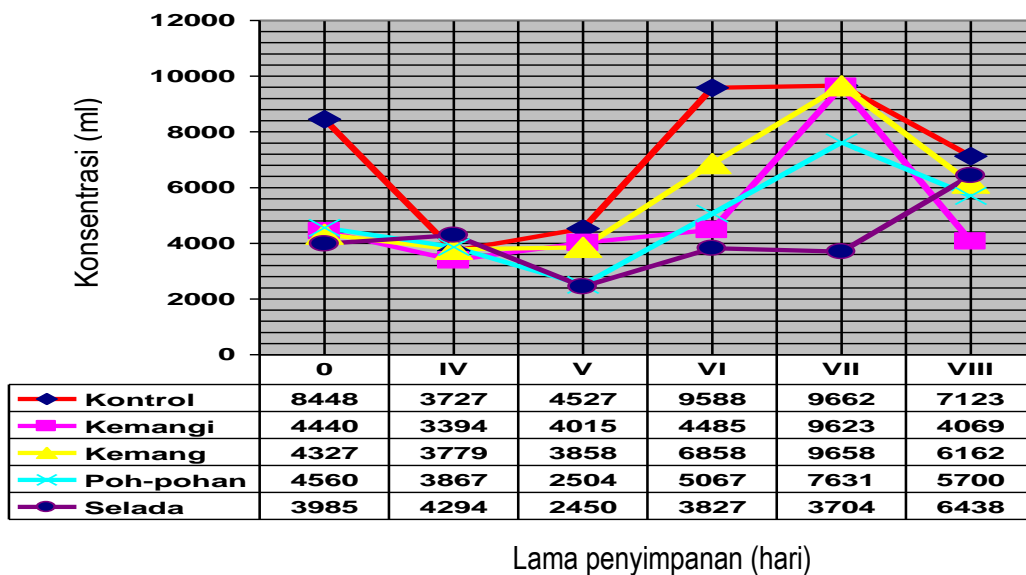
1. Data absorpsi larutan sampel pada panjang gelombang 234 nm (Tabel 3)

Tabel 3. Absorbansi Uji Aktivitas Antioksidan dari Sampel (λ : 234).

Dengan menggunakan rumus :

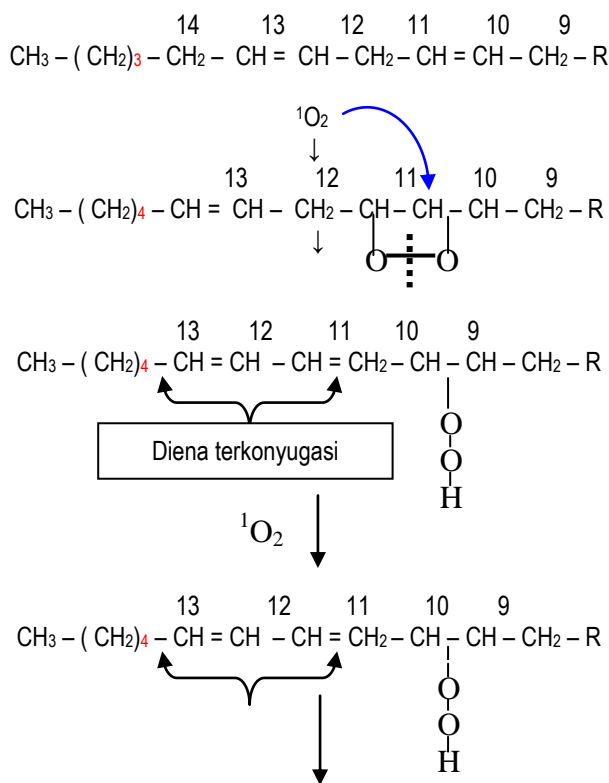
$$C = \frac{A \times 1000 \times F_p \times 100}{\epsilon \times b}$$

Maka didapatkan data hubungan konsentrasi dengan lama penyimpan sebagai berikut



Gambar 3. Hubungan Konsentrasi dan Lama Penyimpanan.

Pada saat diamati pada hari pertama minyak kedelai yang ada di dalam kontrol telah mengandung diena terkonyugasi sebagai akibat dari adanya reaksi antara asam lemak linoleat dengan singlet oksigen. Dengan reaksi sebagai berikut



Dengan adanya singlet oksigen kembali diena terkonyugasi pun hilang.

Pada hari ke- 4 diena terkonyugasinya kembali turun hal ini disebabkan diena yang diamati pada hari pertama bersifat labil maka saat pengamatan pada hari ke-4 berkurang tetapi pada hari ke-5 asam linoleat kembali bereaksi dengan singlet oksigen sehingga jumlah diena yang diamati meningkat kembali. Pada hari ke-7 jumlah diena masih stabil tetapi pada hari ke-8 (karena kelabilan diena) maka jumlah diena dalam minyak kedelai kembali turun, begitu seterusnya sampai seluruh lipida yang ada dalam kedelai menjadi rancid (tengik).

Peran Antioksidan alami yang terdapat pada kemangi, kemang, poh-pohan, dan selada adalah sebagai penghambat terbentuknya lipida teroksidasi dengan cara menyumbang atom hidrogennya kepada oksidator atau kepada lipid teroksidasi. Sehingga lipid tersebut tidak menyebabkan reaksi berantai, dengan adanya antioksidan alami tersebut terlihat pada hari pertama jumlah asam linoleat yang dioksidasi oleh singlet oksigen dapat dikurangi dengan cepat. Tetapi pada hari ke 4 s/d hari ke 7 untuk kemangi, kemang, dan poh-pohan ada peningkatan jumlah diena terkonyugasi dan pada hari ke 8 diena terkonyugasinya kembali turun. Turunnya diena terkonyugasi ini bukan disebabkan pengaruh anti oksidan alami yang ada pada kemangi, kemang, dan poh-pohan tetapi lebih disebabkan oleh kelabilan diena terkonyugasi itu sendiri. Pada hari ke 8 yang tak terdeteksi oleh uv, sedang untuk selada pada hari ke 4 s/d ke 7 tidak menunjukkan peningkatan diena yang berarti, namun pada hari ke 8 diena terkonyugasi meningkat. Ini berarti senyawa fenolik yang dikandung oleh selada lebih efektif kerja antioksidannya bila dibandingkan yang lain, atau kemampuan selada untuk meredam radikal bebas lebih efektif dibanding yang lain.

Terbentuknya diena terkonyugasi dapat dihambat dengan menggunakan antioksidan alami seperti kemangi, kemang, poh-pohan, dan selada. Berdasarkan pengamatan diantara antioksidan alami tersebut, daun selada yang paling banyak kandungan senyawa fenoliknya.

PENUTUP

Berdasarkan hasil uji spektrofometri yang telah dilakukan terhadap daun kemang, kemangi, rende, poh-pohan dan selada, yang memiliki kandungan antioksidan paling banyak adalah kemang (Absorbansi = 0,488), selanjutnya diikuti oleh rende (Absorbansi = 0,394), kemangi (Absorbansi = 0,326), poh-pohan (Absorbansi = 0,176), dan selada (Absorbansi = 0,1635). Selanjutnya berdasarkan telaah terhadap grafik terlihat bahwa selada memiliki antioksidan yang lebih efektif untuk meredam radikal bebas.

REFERENSI

- Chan, H.W. & Levett, G. (1977). *Lipids* 12, 99-104.
- Nabet. (1996). Polyphenolic flavonoids inhibit macrophage-mediated oxidation of LDL and attenuate atherogenesis. *Atherosclerosis* 1998;137 (Suppl):S45-S50.
- Okey, A.B., Harper, P.A., Grant, D.M., & Hill, R.P. (1998). Environmental carcinogenesis. Dalam I. Tannock, R.P. Hill, R. Bristow, & L. Harrington, *The basic science of oncology*, 4th edition (eds). New York: McGraw-Hill.
- Shetty, S., Kumar, A., Johnson, A., Pueblitz, S., & Idell, S. (1995). *Urokinase receptor in human malignant mesothelioma cells: role in tumor cell mitogenesis and proteolysis*. *Am J Physiol* 268: L972-L982.