

ANTIOKSIDAN ALAMI dan SINTETIK

**Prof.Dr. Ir. Kesuma Sayuti, MS
Dr. Ir. Rina Yenrina, MSi**



Andalas University Press

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Penulis :

Prof.Dr. Ir. Kesuma Sayuti, MS

Dr. Ir. Rina Yenrina, MSi

Reviewer : Tuty Anggraini, STP, MP, Ph D

Ilustrasi Sampul dan Penata Isi :

Dyans Fahrezionaldo

Safri Y

Gambar Sampul : vector4free.com

Hak Cipta pada Penulis

Andalas University Press

Jl. Situjuh No. 1, Padang 25129, Telp/Faks. : 0751-27066

email : cebitunand@ymail.com

facebook : AU Press (Andalas University Press)

Anggota :

Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia (APPTI)

Cetakan :

I. Padang, 2015

ISBN : 978-602-8821-97-1

Hak Cipta dilindungi Undang Undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebahagian atau seluruh isi buku tanpa izin tertulis dari penerbit.

Isi di luar tanggung jawab percetakan

Ketentuan Pidana Pasal 72 UU No. 19 Tahun 2002

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam pasal 2 ayat (1) atau pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp. 1.000.000.- (satu juta rupiah) atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 5.000.000.000.- (lima milyar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu Ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1), dipidana dengan pidana penjara lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp. 500.000.000.- (lima ratus juta rupiah).

PRAKATA

Assalamualaikum wr wb

Syukur alhamdulillah kehadiran ALLAH SWT atas segala anugerah, rahmat dan karunia-Nya sehingga buku ini dapat diselesaikan. Penulisan buku ini adalah bermaksud untuk menyebar luaskan pengetahuan tentang antioksidan, radikal bebas dan bahan pangan yang mengandung antioksidan.

Indonesia merupakan daerah agraris yang memiliki produk alam yang mengandung antioksidan yang melimpah dan belum dimanfaatkan secara optimal. Antiosksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas . Oleh karena itu dalam buku ini dijelaskan pengertian antiosidan, golongan antioksidan, pengertian dan pembentukan radikal bebas. mekanisme kerja antioksidan, metode pengujian antioksidan dan antioksidan pada bahan pangan.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan buku ini. Akhir kata dengan segala kerendahan hati penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini banyak terdapat kesalahan dan kekurangan. Untuk itulah kritik dan saran yang membangun dari pembaca semuanya penulis harapkan. Semoga tulisan ini bermanfaat bagi kita semuanya.

Padang, Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

PRAKATA	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
I. PENDAHULUAN	1
II. Pengertian Antioksidan dan manfaatnya	7
2.1 Pengertian Antioksidan	7
2.2 Manfaat Antioksidan	10
2.3 Fungsi Zat Antioksidan	14
III. Radikal Bebas	15
3.1 Pengertian Radikal Bebas	15
3.2 Sumber Radikal Bebas	18
3.3 Tahapan Reaksi Pembentukan Radikal Bebas	24
3.4 Tempat Pembentukan Senyawa Radikal Bebas	26
3.5 Efek negatif Radikal Bebas	27
3.6 Efek positif Radikal bebas	29
IV. Golongan Antioksidan	31
4.1 Antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis	32
4.2 Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, yaitu antioksidan premier, sekunder dan tersier	32
4.3 Antioksidan Alami	38
Vitamin A	38
Karotenoid	42
Vitamin C	47
Vitamin E	52

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Antosianin	55
Isoflavon	57
Selenium	59
4.4 Antioksidan Sintetik	61
Butil Hidroksi Anisol (BHA)	62
Butil Hidroksi Toluen (BHT)	63
Propil Galat	65
Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ)	65
V. Mekanisme Kerja Antioksidan	67
5.1 Mekanisme berbagai senyawa antioksidan	70
a. Flavonoid	70
b. Karotenoid	72
c. Vitamin C	73
VI. Metode Pengujian Antioksidan	75
6.1 DPPH	76
6.2 Uji Kadar Selenium	79
6.3 β -Karoten	80
6.4 Total Phenolic Content	81
6.5 Oxygen Radical Absorbance Capacity Method (ORAC)	81
VII. Antioksidan Pada Bahan Pangan	85
7.1 Kedelai	85
7.2 Ubi Jalar	88
7.3 Mengkudu	90
7.4 Sayur sayuran	93
7.5 Buah-buahan	95
Daftar Pustaka	98

Antioksidan, Alami dan Sintetik

DAFTAR TABEL

1. Senyawa Fitokimia Dan Fungsinya Bagi Kesehatan	9
2. Mekanisme Aktivitas Antioksidan	10
3. Potensi Berbagai Sayuran dan Buah-buahan Untuk Pencegahan Penyakit	13
4. Radikal Bebas Biologis	19
5. Spesies Oksigen reaktif (ROS)	20
6. Sumber Alamiah zat gizi Antioksidan	39
7. Kandungan Vitamin A dalam Berbagai Bahan Pangan	41
8. Sumber dan Kandungan Karoten pada Daun, Buah-buahan dan Rimpang	44
9. Acuan Label Gizi Produk Pangan	46
10. Kadar Vitamin C pada Umbi-umbian dan Buah-buahan	48
11. Kandungan Vitamin dan Mineral Beberapa Jenis Sayuran	49
12. Kadar Vitamin E Pada Beberapa Produk	53
13. Beberapa Contoh Substansi Antioksidan Alamiah Yang Terdapat Dalam Bahan Pangan Dan Belum Dikatagorikan Sebagai Zat Gizi Bagi Manusia	54
14. Kadar Antosianin pada Berbagai Bahan Pangan	57
15. Produk Pangan Kedelai Dan Kadar Isoflavon Total	58
16. Kecukupan Harian Mineral Selenium Pada Berbagai Kelompok Usia (microgram/hari)	61
17. Antioksidan yang diizinkan digunakan dalam makanan	62
18. Contoh Antioksidan Untuk Produk Pangan di Beberapa Negara	65
19. Keuntungan dan Kerugian Antioksidan Sintetik dan Antioksidan Alami	66
20. Kandungan Isoflavon dalam Beberapa Produk Kedelai	87
21. Komposisi Susu Kedelai Cair Dan Susu Sapi Tiap 100 gr	88
22. Kandungan Gizi dari Ubi jalar Ungu, Putih dan Kuning	90
23. Kehilangan Vitamin C Dalam Sayuran Pada Penyimpanan	93
24. Kandungan Vitamin dan Mineral beberapa Jenis Sayuran	94

Antioksidan, Alami dan Sintetik

25. Pengaruh Pemasakan terhadap Kandungan Beta Karoten Pada Sayuran	95
26. Kadar Vitamin A pada berbagai Bahan Pangan	96
27. Kandungan Natrium, Kalium, Tembaga dan Seng Berbagai Jenis Pisang (mg/100gr)	97
28. Kandungan Gizi Berbagai Jenis Pisang per 100 g Daging Buah	97

BAB I PENDAHULUAN

Kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan telah mengalami peningkatan pada kurun waktu terakhir ini (Golberg, 1994). Pangan yang diharapkan tidak hanya punya rasa yang lezat, tetapi juga mempunyai khasiat yang bermanfaat bagi kesehatan, yang disebut dengan istilah pangan fungsional. Pangan fungsional adalah bahan pangan yang mengandung senyawa atau komponen yang berkhasiat dan bermanfaat bagi kesehatan. Senyawa atau komponen tersebut adalah serat pangan, oligosakarida, gula alkohol, asam amino, peptida, protein, glikosida, alkohol, isoprenoida, vitamin, kolin, mineral, bakteri asam laktat, asam lemak tidak jenuh, dan senyawa antioksidan (Golberg, 1994).

Dengan pola makan yang beragam kebutuhan zat gizi tubuh dapat dipenuhi, karena tidak ada satu pun makanan yang mengandung semua zat gizi dengan jenis dan jumlah yang cukup. Semakin beragam bahan pangan yang dikonsumsi, semakin lengkap perolehan zat gizi untuk mewujudkan kesehatan yang optimal.

Tubuh membutuhkan karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan mineral disamping itu juga air. Tanpa adanya air proses metabolisme tidak dapat berlangsung. Serat adalah bagian dari karbohidrat yang punya peran yang penting dalam menjaga kesehatan. Sumber serat yang paling utama adalah sayuran dan buah-buahan dibandingkan dengan sumber serat lainnya. Serat pangan berguna untuk mencegah berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker usus besar (kanker kolon), aterosklerosis, gangguan jantung, diabetes mellitus, hipertensi dan penyakit batu ginjal (Astawan dan Leomitro, 2008)

Vitamin terdapat dalam bahan pangan baik pangan hewani maupun pangan nabati. Bahan pangan daging, ikan, telur, kacang-kacangan dan sumber karbohidrat biasanya diolah dengan menggunakan suhu yang relatif tinggi dan waktu yang lama, sehingga selama pengolahan terjadi

Antioksidan, Alami dan Sintetik

kehilangan vitamin yang relatif lebih banyak. Sedangkan pengolahan sayuran dan buah menggunakan suhu yang relatif rendah dan waktu yang lebih pendek sehingga selama pengolahan terjadi kehilangan vitamin yang relatif lebih sedikit. Karotenoid (prekursor vitamin A), vitamin C, dan vitamin E adalah antioksidan alami yang bermanfaat untuk melawan serangan radikal bebas, penyebab penuaan dini, dan berbagai jenis kanker.

Berbeda halnya dengan vitamin, mineral relatif tahan selama pengolahan kecuali mineral tertentu seperti Iodium. Oleh karena itu mineral dapat disumbangkan baik dari pangan nabati maupun hewani, ada beberapa mineral yang berperan sebagai antioksidan yaitu Cu, Zn, Se dan Mn.

Pengolahan dan penyimpanan makanan berpengaruh terhadap kestabilan zat gizi yang terkandung dan performance dari bahan makanan. Makanan yang mengandung minyak, lemak akan mengalami penurunan kandungan mutu dan gizi apabila dilakukan proses pemanasan dan jika disimpan dalam jangka waktu yang panjang. Salah satu penurunan kandungan gizi ini terjadi karena reaksi oksidasi sehingga juga mengakibatkan penurunan terhadap rasa dari makanan tersebut. Menghambat dan keterlambatan dari proses oksidasi merupakan hal yang sangat penting bagi produsen makanan. Proses oksidasi bisa dihambat dengan berbagai cara diantaranya adalah penggunaan pengolahan suhu rendah, inaktif enzim, pencegahan makanan kontak langsung dengan oksigen, pengurangan tekanan udara dan penggunaan kemasan yang cocok.

Cara lain yang dapat digunakan untuk menghentikan proses oksidasi adalah dengan penambahan zat aditif. Penambahan zat aditif seperti antioksidan dapat digunakan untuk menghambat proses oksidasi. Mekanisme penghambatan tergantung pada struktur kimia, dalam mekanisme ini yang paling penting adalah reaksi dengan radikal bebas lipid, yang akan membentuk produk non-aktif (Gordon, *et al.* 2001)

Dewasa ini antioksidan menjadi topik penting dalam berbagai disiplin ilmu. Khususnya dalam bidang kedokteran dan kesehatan, teori tentang senyawa radikal, radikal bebas dan antioksidan semakin berkembang. Hal ini didasari karena semakin dimengerti bahwa sebagian besar penyakit diawali oleh reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Penelitian tentang antioksidan alami dalam bahan pangan menjadi *trend* akhir-akhir ini. Hal ini dikarenakan beberapa antioksidan sintesis yang biasa digunakan oleh industri pangan, seperti BHA dan BHT, akhir-akhir ini diduga bersifat *karsinogenik* (penyebab kanker). Sementara itu, dilain pihak pilihan dan ketersediaan terhadap antioksidan alami masih terbatas.

Tubuh secara terus-menerus menghasilkan senyawa radikal dan pada akhirnya menghasilkan radikal bebas melalui peristiwa metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh. Polusi lingkungan seperti ultraviolet, asap rokok dan lain-lain yang tanpa kita sadari terhirup. Meydani *et al.*, (1995) melaporkan bahwa pembentukan radikal bebas akan meningkat dengan bertambahnya usia. Radikal bebas adalah oksidan yang sangat reaktif, karena radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Senyawa tersebut selalu berusaha untuk menyerang komponen seluler seperti lipid, lipoprotein, protein, karbohidrat, RNA dan DNA.

Seiring dengan bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas, maka penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang dengan baik untuk makanan maupun untuk pengobatan (Boer, 2000). Stres oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh (Trilaksani, 2003). Senyawa antioksidan adalah suatu inhibitor yang dapat digunakan untuk menghambat autooksidasi.

Oleh karena itu tubuh memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas maupun senyawa radikal. Antioksidan dalam kadar tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi.

Meydani (2000), menyatakan bahwa resiko penyakit kardiovaskuler bisa diturunkan dengan mengkonsumsi antioksidan dalam jumlah tertentu, selain itu antioksidan juga dapat meningkatkan sistem imunitas dan mampu menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Salah satu teori penuaan yang dipercaya banyak saat ini terjadi karena oksidasi akibat radikal bebas dalam tubuh.

Antioksidan secara alami bisa didapatkan dari makanan. Akan tetapi banyak yang tidak mengetahui bahwa makanan tersebut

Antioksidan, Alami dan Sintetik

sebenarnya mengandung antioksidan sehingga ada yang membeli suplemen antioksidan yang harganya cukup mahal. Beberapa contoh makanan sumber antioksidan antara lain vitamin A : wortel, brokoli, sayur hijau, bayam, labu, hati, kentang, telur, aprikot, mangga, susu dan ikan. Vitamin C : Lada (merica), cabe, peterseli, jambu biji, kiwi, brokoli, taoge, kesemek, pepaya, stroberi, jeruk, lemon, bunga kol, bawang putih, anggur, raspberri, jeruk, kepruk, bayam, tomat dan nanas. Vitamin E : asparagus, alpukat, buah zaitun, bayam, kacang kacangan, biji bijian, minyak sayur, sereal. Beta karoten, lutein, likopen, wortel, labu, sayur sayuran hijau, buah buah berwarna merah, tomat, rumput laut. Polipenol : Buah berri, teh, bir, anggur, minyak zaitun, cokelat, kopi, buah kenari, kacang, kulit buah, buah delima dan minuman anggur.

Radikal bebas bersifat reaktif, dan jika tidak diinaktifkan akan merusak makromolekul pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, sehingga dapat menyebabkan penyakit degeneratif (Langseth, 1995; Leong dan Shui, 2002 *cit* Amrun *et al.*, 2007). Pada penelitian lebih lanjut telah diteliti bahwa sekitar 40 penyakit mencakup aterosklerosis, hipertensi, iskemik, Alzheimer, Parkinson, kanker dan peradangan disebabkan oleh radikal bebas (Behera *et al.*, 2004).

Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen diantaranya adalah enzim *catalase* yang berikatan dengan Fe, *glutathione peroxidase* dan *glutathione S-transferase* yang berikatan dengan Se, *superoxide dismutase* yang berikatan dengan Cu, Zn dan Mn, akan tetapi jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh atau melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk (Reynertson, 2007). Antioksidan memiliki kemampuan mendonorkan elektron dan dapat berfungsi sebagai agen pereduksi sehingga dapat mengkhelat ion metal dan mengurangi potensi radikal dalam tubuh (Vaya dan Aviram, 2001).

Kondisi masyarakat saat ini cenderung memprihatinkan. Hal ini didukung dengan semakin parahnya kondisi lingkungan serta adanya perubahan pola konsumsi pangan yang terjadi di masyarakat. Perubahan tersebut yaitu perubahan dari pola konsumsi pangan tradisional yang banyak mengandung pati (karbohidrat kompleks) dan serat menjadi pola konsumsi modern dengan kandungan protein,

Antioksidan, Alami dan Sintetik

lemak, gula dan garam tinggi tetapi rendah kandungan serat. Semua ini akan mengakibatkan semakin meningkatnya proses oksidasi yang terjadi. Akibatnya timbul berbagai jenis penyakit degeneratif seperti kegemukan dan obesitas, penyakit jantung koroner, hipertensi, diabetes mellitus, maupun kanker yang jumlah penderitanya semakin meningkat.

Kesadaran masyarakat akan timbulnya berbagai macam penyakit di atas memunculkan sikap untuk kembali memperbaiki pola konsumsinya sehingga dapat mempertahankan kesehatan. Slogan "kembali ke alam" (*back to nature*) saat ini menjadi salah satu alternatif bagi sebagian besar masyarakat untuk dapat mengatasi berbagai permasalahan kesehatan.

BAB II.

Pengertian Antioksidan dan Manfaatnya

2.1 Pengertian Antioksidan

Senyawa fitokimia merupakan zat alami yang terdapat dalam tanaman yang memberikan cita rasa, aroma dan warna yang khas pada tanaman tersebut. Beberapa khasiat senyawa fitokimia tersebut berfungsi sebagai antioksidan, meningkatkan sistem kekebalan, mengatur tekanan darah, menurunkan kolesterol, serta mengatur kadar gula darah.

Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*elektron donor*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat (Winarti, 2010). Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi.

Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan.

Senyawa fenolik mempunyai berbagai efek biologis seperti aktivitas antioksidan melalui mekanisme sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkhelat logam, peredam terbentuknya singlet oksigen serta pendonor elektron (Karadeniz *et al.*, 2005). Flavonoid merupakan

Antioksidan, Alami dan Sintetik

salah satu dari kelompok senyawa fenolik yang ditemukan dalam buah dan sayur (Farkas *et al.*, 2004). Beberapa tahun belakangan ini, telah dibuktikan bahwa flavonoid memiliki potensi yang besar melawan penyakit yang disebabkan oleh penangkap radikal (Middleton *et al.*, 2000 *cit* Amic *et al.*, 2003).

Proses oksidasi tidak saja terjadi dalam tubuh manusia tetapi juga dapat terjadi dalam makanan. Komponen makanan yang paling mudah mengalami oksidasi adalah lemak. Antioksidan merupakan senyawa yang ditambahkan ke dalam lemak atau makanan berlemak untuk mencegah terjadinya proses oksidasi dapat memperpanjang kesegaran dan palabilitas dari makanan tersebut. Antioksidan yang ditambahkan kedalam bahan makanan tersebut harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu : (1) tidak mempunyai efek fisiologis yang berbahaya; (2) tidak menyebabkan terbentuknya flavor, odor atau warna yang tidak disukai pada lemak atau makanan; (3) efektif pada konsentrasi rendah; (4) larut dalam lemak; (5) tahan terhadap proses pengolahan; (6) mudah diperoleh; dan (7) ekonomis (Muchtadi, Palupi dan Astawan 1993).

Bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas mengakibatkan penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang baik untuk makanan maupun untuk pengobatan (Boer, 2000). Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Panovska *et al.*, 2005).

Kacang-kacangan, sayur-sayuran, buah-buahan, coklat dan teh merupakan sumber flavonoid. Selain itu flavonoid juga tersedia dalam bentuk suplemen diantaranya dalam bentuk serbuk, kapsul atau ekstrak. Saat ini suplemen makanan dalam bentuk serbuk, ekstrak banyak beredar dipasaran diantaranya adalah ekstrak teh hijau yang mengandung katekin (monomer flavonol), ekstrak teh hitam mengandung teaflavin dan tearubigin. Selain itu juga tersedia ekstrak *bilberry*, *elderberry*, *black currant*, buah anggur yang kaya antosianin.

Senyawa fitokimia ditemukan pada berbagai sayuran dan buah-buahan. Senyawa ini mempunyai manfaat bagi kesehatan, yang membuat tubuh lebih sehat dan lebih kuat. Fungsi atau manfaat senyawa fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 1. Senyawa Fitokimia dan Fungsinya Bagi Kesehatan

Senyawa Fitokimia	Fungsi Bagi Kesehatan								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Karotenoid	√		√		√				
Fitosterol	√						√		
Saponin	√	√			√		√		
Glukosinolat	√	√					√		
Polifenol	√	√	√	√	√	√		√	
Inhibitor protease	√		√					√	
Mono terpen	√								
Fitoestrogen	√		√						
Sulfida	√	√	√	√	√	√	√	√	
Asam fitat	√		√		√			√	√
Keterangan;	F: Anti inflamasi A: Antikanker B: Antimikroba C: Antioksidan D: Merangsang sistem Imun G: Mengatur tekanan darah H: Menurunkan Kolesterol I: Mengatur kadar gula darah								

Sumber: Astawan dan Kasih (2008)

Sayuran dan buah-buahan merupakan sumber antioksidan penting, dan telah dibuktikan bahwa pada orang yang banyak mengkonsumsi sayuran dan buah-buahan memiliki resiko yang lebih rendah menderita penyakit kronis dibandingkan dengan yang kurang mengkonsumsi sayuran dan buah-buahan (Hennekens, 1986; Van Poppel et al., 1994; Colditz et al., 1985).

Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat secara alami dalam bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan yang disebabkan terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang sehingga bahan pangan yang berasa dan beraroma tengik (Andarwulan 1995). Menurut Wildman (2001) antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Secara langsung efek yang diberikan oleh antioksidan dalam tubuh, yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh, dan secara tidak langsung, yaitu dengan mencegah terjadinya pembentukan radikal. Antioksidan pertama kali digunakan sebelum Perang Dunia II yang digunakan untuk pengawetan makanan.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh banyak faktor seperti kandungan lipid, konsentrasi antioksidan, suhu, tekanan oksigen, dan komponen kimia dari makanan secara umum seperti protein dan air. Proses penghambatan antioksidan berbeda-beda tergantung dari struktur kimia dan variasi mekanisme. Dalam mekanisme ini yang paling penting adalah reaksi dengan radikal bebas lipid, yang membentuk produk non-aktif. (Gordon, *et al.* 2001). Mekanisme dari aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Mekanisme Aktivitas Antioksidan

Jenis Antioksidan	Mekanisme aktivitas Antioksidan	Contoh Antioksidan
Hidroperoxide Stabiliser	- Menonaktifkan radikal bebas lipid	Senyawa Fenol
	- Mencegah penguraian hidroperoksida menjadi radikal bebas	
Sinergis	- Meningkatkan aktivitas antioksidan.	Asam Sitrat dan Asam Askorbat
Chelators Logam	- Mengikat berat logam menjadi senyawa non-aktif	Asam Fosfat dan Asam Sitrat
Unsur mengurangi hidroperoksida	- Mengurangi Hidroperoksida	Protein, Asam amino

Sumber: Gordon, *et al.*, 2001

2.2 Manfaat Antioksidan

Antioksidan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan serta kesehatan dan kecantikan. Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat *et al.* 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Di bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya (Tamat *et al.*, 2007). Antioksidan sangat penting sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga bisa digunakan untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan.

Peroksidasi lipid merupakan reaksi kimia yang sering terjadi pada bahan pangan yang memproduksi asam, aroma tak sedap dan toksik selama proses pengolahan dan penyimpanan sehingga mempengaruhi mutu dan keamanan produk pangan (Heo *et al.*, 2005).

Resiko terkena penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis dan penyakit degeneratif lainnya bisa diturunkan dengan mengkonsumsi antioksidan dalam jumlah yang cukup. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan dapat meningkatkan status imunologi dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan. Kecukupan antioksidan secara optimal dibutuhkan oleh semua kelompok usia (Winarsi, 2007).

1. Konsumsi Antioksidan Bisa Memperkuat Otot

Selain untuk mencegah kanker atau menjaga kesehatan kulit antioksidan yang terdapat dalam vitamin C dan E juga dapat membantu menjaga kekuatan otot. Sebuah penelitian pada orang dewasa membuktikan bahwa asupan vitamin C dan E yang cukup dapat meningkatkan kekuatan otot. Asupan makanan yang tinggi antioksidan mempunyai peranan penting dalam menjaga fungsi otot pada orang dewasa.

Resiko utama yang terjadi apabila kekuatan otot menurun adalah dapat mengakibatkan cacat atau kerapuhan. Konsumsi vitamin C yang baik adalah sebesar 144 miligram dan vitamin E sebesar 11 miligram per hari.

2. Antioksidan Untuk Menghambat Penuaan (Anti Aging)

Stress selain menyebabkan penuaan dini (aging) juga meningkatkan risiko berbagai penyakit degeneratif yang mengancam seperti diabetes, jantung, stroke, gagal ginjal dsb. Hal tersebut dipicu oleh pola makan yang salah, gaya hidup yang salah, serta stres yang berkepanjangan baik akibat pekerjaan, rumah tangga, maupun lingkungan sosial.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Struktur sel yang berubah turut mengubah fungsinya, yang akan mengarah pada proses munculnya penyakit, hal tersebut dapat terjadi pada kulit maupun organ yang lain. Dengan demikian pada individu yang hidup dengan stres tinggi, pekerjaan yang melelahkan, bekerja di bawah paparan sinar matahari dan polusi udara memerlukan antioksidan eksogen agar radikal bebas yang berlebihan dapat diperangkap oleh antioksidan tersebut. Antioksidan tersebut diperoleh dari bahan makanan yang mengandung vitamin C, E, dan betacaroten, serta senyawa flavonoid.

Antioksidan alami yang terdapat pada sayur dan buah segar yang merupakan antioksidan terbaik, selain itu antioksidan dalam bentuk suplemen dapat dikonsumsi setiap hari. Konsumsi vitamin A, C dan E sebagai antioksidan dapat mencegah penuaan dini dan diberikan sesuai kebutuhan. Beberapa suplemen seperti omega-3, alpha lipoic-acid, ubiquinon, arginin, Zinc, juga akan sangat membantu proses peremajaan dan memperlambat proses penuaan.

3. Pencegahan Penyakit

a. Kanker hati oleh aflatoksin B1 (AFB1)

Aflatoksin B1 diproduksi oleh kapang *Aspergillus flavus* yang tumbuh pada bahan pangan seperti jagung, kacang tanah dapat menyebabkan terjadinya kanker hati. Fasilitas gudang tempat penyimpanan hasil pertanian yang kurang memadai seperti yang terdapat di daerah yang panas dan lembab seperti yang terdapat di negara-negara Asia dan Afrika, hal ini mengakibatkan berkembangnya kapang tersebut yang pada akhirnya meningkatnya resiko timbulnya penyakit kanker hati (*hepatocellular carcinoma*).

Klorofil merupakan salah satu antioksidan, yang dapat menetralkan beberapa macam oksidan secara *in vitro*. Penelitian telah dilakukan terhadap 180 orang laki-laki di Cina yang mempunyai resiko tinggi mengidap penyakit kanker hati karena tingginya AFB1 dan tingginya prevalensi penyakit infeksi kronis hepatitis B.

b. Anti Kanker dan Mengatasi Diabetes

Likopen merupakan salah satu antioksidan, karena kemampuan likopen untuk melawan radikal bebas. Likopen mempunyai aktivitas antioksidan dua kali lebih kuat dibandingkan dengan beta karoten. Likopen dapat mencegah terjadinya oksidasi LDL (low density protein).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Oleh karena itu dengan mengonsumsi likopen dapat mencegah terjadinya penyumbatan pembuluh darah sehingga mengurangi resiko penyakit jantung dan stroke.

Manfaat likopen lainnya bagi kesehatan yaitu untuk mencegah berbagai penyakit diantaranya adalah kanker prostat, kanker tulang dan kanker rahim. Institut kanker nasional AS, melaporkan bahwa konsumsi tiga buah tomat dalam seminggu dapat mencegah kanker prostat. Penelitian lain yang dilakukan di Harvard University menunjukkan laki-laki yang mengonsumsi sepuluh tomat yang diolah dalam seminggu mempunyai risiko terkena kanker prostat sebanyak 35% lebih rendah dibandingkan dengan laki-laki yang mengonsumsi tomat kurang dari satu setengah kali dalam seminggu. Dengan mengonsumsi tomat juga mampu menurunkan serangan jantung, serta kanker payudara.

Tabel 3. Potensi Berbagai Sayuran dan Buah-buahan Untuk Pencegahan Penyakit

Bahan pangan	Kandungan	Manfaat
Alpukat	Antioksidan (Vit A dan C), mineral (K, Fe, Mg, Ca), karbohidrat	Sariawan, kencing batu, menurunkan kolesterol
Pisang	Vit (B6, C dan E), mineral (K)	Batuk, influenza, sariawan, gangguan pencernaan, tekanan darah rendah
Jeruk	Vit (A, B, C), protein, mineral (Ca, P, Fe)	Flu, kulit kering, tekanan darah rendah, kolesterol
Tomat	Vit E, β karoten, likopen, mineral (P, Fe, S), protein	Kanker tulang, sariawan, wasir, jerawat
Wortel	β karoten	Mata merah, bengkak, rabun senja
Brokoli	Antioksidan, mineral (Ca, Zn)	Keropos tulang, anemia, sariawan, kulit kering
Bayam	β karoten, mineral (Ca, Mg, Fe)	Anemia, sariawan, kulit kering
Labu	Pektin, β karoten, mineral (Ca, P)	Tifus, Wasir, demam, flu, bisul
Bawang Putih	Antioksidan, antibiotik, protein, mineral	Menurunkan kolesterol, kanker, hipertensi
Kedelai	Isoflavonoid	Kanker payudara dan prostat
Strawberi	Antiosidan	Meningkatkan antioksidan di dalam tubuh sampai 20%

Sumber : Astawan dan Kasih (2008)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Kandungan likopen dalam darah berhubungan terbalik dengan kadar gula darah. Kenaikan kadar gula darah akan semakin mudah apabila kandungan likopen dalam darah semakin rendah, demikian pula sebaliknya. Konsumsi makanan yang mengandung likopen dapat mengatasi kadar gula darah. Dengan demikian likopen dapat mencegah terjadinya diabetes melitus.

Sayuran dan buah-buahan yang mempunyai potensi sebagai pencegahan penyakit dapat dilihat pada Tabel 3

2.3 Fungsi Zat Antioksidan

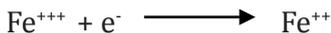
Fungsi utama dari antioksidan adalah untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi baik dalam makanan maupun dalam tubuh. Dalam makanan, antioksidan diharapkan dapat menghambat oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi. Peroksidasi lipid adalah salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan (Hernani dan Raharjo, 2005). Antioksidan selain digunakan dalam industri farmasi, tetapi antioksidan juga digunakan secara luas dalam industri makanan, industri petroleum, industri karet dan sebagainya (Tahir *et al*, 2003). Dalam tubuh antioksidan diharapkan juga mampu menghambat proses oksidasi. Proses oksidasi yang terjadi secara terus menerus dapat menimbulkan berbagai penyakit degeneratif dan penuaan dini.

BAB III. Radikal Bebas

3.1 Pengertian Radikal Bebas

Secara biokimia, oksidasi merupakan proses pelepasan elektron dari suatu senyawa. Sedangkan reduksi adalah proses penangkapan elektron. Senyawa yang dapat menarik atau menerima elektron disebut oksidan atau oksidator, sedangkan senyawa yang dapat melepaskan atau memberikan elektron disebut reduktan atau reduktor. (Winarsi, 2007)

Dalam ilmu kimia, pengertian oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik elektron misalnya ion ferri (Fe^{+++})



Para ahli biokimia menyebutkan bahwa radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Menurut Winarti (2010), radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. Elektron yang tidak berpasangan selalu berusaha untuk mencari pasangan baru, sehingga mudah bereaksi dengan zat lain (protein, lemak maupun DNA) dalam tubuh.

Tubuh manusia mengandung molekul oksigen yang stabil dan yang tidak stabil. Molekul oksigen yang stabil penting untuk memelihara kehidupan sel. Dalam jumlah tertentu radikal bebas diperlukan untuk kesehatan, akan tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. Fungsi radikal bebas dalam tubuh adalah untuk melawan radang, membunuh bakteri dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah (Giriwijoyo, 2004).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan tiga cara yaitu (Kumar *et al.* 2005; Eberhardt, 2001):

1. Peroksidasi komponen lipid dari membran sel dan sitosol.
Menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak (otokatalisis) yang mengakibatkan kerusakan membran dan organel sel.
2. Kerusakan DNA,
Kerusakan DNA ini dapat mengakibatkan mutasi DNA bahkan dapat menimbulkan kematian sel.
3. Modifikasi protein teroksidasi oleh karena terbentuknya *cross linking* protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sistein, metionin, lisin dan histidin.

Ada berbagai radikal bebas turunan dari C dan N, akan tetapi yang paling banyak diketahui adalah radikal oksigen. Radikal bebas bisa terbentuk ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini, sering kali terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi ini, mudah sekali terbentuk radikal bebas seperti anion superoksida, hidroksil dan lain-lain. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya Hidrogen peroksida (H_2O_2). Kedua kelompok senyawa tersebut diistilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR).

Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus menerus di dalam tubuh. Hal ini terjadi melalui proses metabolisme sel normal, proses peradangan, kekurangan nutrisi, maupun sebagai respons adanya radiasi sinar gama, ultraviolet (UV), polusi lingkungan dan asap rokok (Wijaya, 1996). Ditambahkan Winarti (2010), faktor yang menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh antara lain sinar X, asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetik, residu pestisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan. Diet (pola makan sendiri) juga dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas.

Menurut Mohamed *et al.*, (2008), bahwa radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan bahan pangan yaitu kehilangan nutrisi, perubahan parameter utama bahan makanan seperti aroma, rasa, tekstur, konsistensi dan kenampakan. Radikal bebas bersifat reaktif, dan jika tidak diinaktifkan akan dapat merusak makromolekul

Antioksidan, Alami dan Sintetik

pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, sehingga dapat menyebabkan penyakit degeneratif.

Kerusakan sel akibat reaktivitas senyawa radikal mengawali timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, infeksi, penyakit jantung koroner, rematik, pemyakit respiratorik, katarak, liver dan aging (Wijaya, 1996; Meydani, 2000). Hal tersebut terjadi karena interaksi senyawa oksigen reaktif (ROS) atau senyawa nitrogen reaktif (RNS) dengan DNA mengawali terbentuknya DNA *adducts* selama proses perbaikan atau replikasi, yang berakibat terjadinya mutasi DNA. Penumpukan DNA termutasi menyebabkan perkembangan sel neoplastis

Radikal bebas di dalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya. Bahan radikal bebas tersebut sebenarnya merupakan senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan itulah yang mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya. Caranya adalah dengan mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada disekitarnya. Yang diikat radikal bebas pada umumnya adalah molekul besar seperti lipid, protein, maupun DNA (pembawa sifat). Apabila hal tersebut terjadi, maka akan mengakibatkan kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak bisa dikendalikan .

Radikal bebas yang bereaksi dengan komponen biologis akan menghasilkan senyawa teroksidasi yang dapat digunakan sebagai penanda kerusakan oksidatif. Komponen endogen yang dapat diserang oleh radikal bebas adalah lipid, protein dan DNA. (Lampe, 1999; Wijaya, 1996)

Radikal bebas yang biasa disebut senyawa oksigen reaktif (ROS) dapat dibentuk melalui jalur enzimatik atau metabolik. Proses perubahan dari asam arakodonat menjadi prostaglandin dan prostasiklin dipicu oleh enzim lipoksigenase dan siklooksigenase yang menghasilkan senyawa oksigen reaktif berupa peroksida dan epoksida, serta oksidase yang berbentuk aldehid oksidase dan selanjutnya akan membentuk radikal anion superoksida.

Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang sangat menarik atau menyerang elektron di sekelilingnya. Senyawa radikal bebas juga dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal. Kemiripan sifat antara radikal

Antioksidan, Alami dan Sintetik

bebas dan oksidan terletak pada agresivitas untuk menarik elektron di sekelilingnya. Berdasarkan sifat ini, radikal bebas dianggap sama dengan oksidan. Pemahaman radikal bebas sebagai oksidan memang tidak salah, tetapi perlu diketahui bahwa tidak setiap oksidan merupakan radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibandingkan dengan senyawa oksidan non radikal. Hal ini berkaitan dengan tingginya reaktivitas senyawa radikal bebas tersebut, yang mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru. Bila senyawa radikal baru tersebut bertemu dengan molekul lain, akan terbentuk radikal baru lagi, dan seterusnya sehingga akan terjadi reaksi berantai (*chain reactions*). Reaksi seperti ini akan berlanjut terus dan baru akan berhenti apabila reaktivitasnya diredam (*quenched*) oleh senyawa yang bersifat antioksidan.

Cara terbentuknya radikal bebas adalah secara in-vivo dan in-vitro dengan proses sebagai berikut (1) pemecahan satu molekul normal secara homolitik menjadi dua, hal ini memerlukan tenaga yang tinggi dari sinar ultraviolet, panas, dan radiasi ion, (2) kehilangan satu elektron dari molekul normal, dan (3) penambahan elektron pada molekul normal.

3.2 Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh (endogen), bisa pula berasal dari luar tubuh (eksogen). Secara endogen, sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh, radikal bebas yang terbentuk dan berpengaruh di dalam sel (intrasel) maupun ekstrasel. Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, reaksi antara besi logam transisi dalam tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom, maupun pada kondisi iskemia. Secara endogen, radikal bebas dapat timbul melalui beberapa mekanisme yaitu : oto-oksidasi, aktivitas oksidasi (misalnya: siklooksigenase, lipooksigenase, dehidrogenase dan peroksidase), sistem transpor elektron.

Tipe radikal bebas turunan oksigen reaktif sangat signifikan dalam tubuh. Oksigen reaktif ini mencakup, hidroksil (OH^\cdot), peroksil (ROO^\cdot), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (O_2^*), oksida nitrit (NO^\cdot), peroksinitrit (ONOO^\cdot) dan asam hipoklorit (HOCl).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Spesies oksigen reaktif (ROS) bisa dibagi menjadi dua kelas, yaitu *oxygen-centered radicals* dan *oxygen-centered non-radicals*. Adapun yang termasuk *oxygen-centered radicals* adalah anion superoksida ($^{\bullet}O_2^-$), radikal hidroksil (OH^{\bullet}), radikal alkoksil (RO^{\bullet}) dan radikal peroksil (ROO^{\bullet}). Sedangkan yang tergolong kedalam *oxygen-centered non-radicals* adalah hidrogen peroksida (H_2O_2), dan singlet oxygen (O_2^*). Senyawa reaktif lainnya adalah nitrit oksida (NO^{\bullet}), nitric dioksida (NO_2^*) dan peroksinitril ($OONO^{\bullet}$). ROS dalam sistem biologi berkorelasi dengan radikal bebas walaupun ROS tidak tergolong radikal bebas, seperti oksigen tunggal dan hidrogen peroksida. Radikal bebas dan ROS dapat dibentuk oleh sistem enzim prooksidatif, oksidasi lipid, irradiasi, inflamasi, merokok dan polusi udara.

Tabel 4. Radikal Bebas Biologis

Kelompok Oksigen Reaktif	
O_2^*	Radikal Superoksida (<i>Superoxide radical</i>)
$^{\bullet}OH$	Radikal hidroksil (<i>Hydroxyl radical</i>)
ROO^*	Radikal peroksida (<i>Peroxyl radical</i>)
H_2O_2	Hidrogen peroksida (<i>Hydrogen peroxide</i>)
1O_2	Oksigen tunggal (<i>Singlet oxygen</i>)
NO^{\bullet}	Nitrit oksida (<i>Nitric oxide</i>)
$HOCl$	Asam hipoklor (<i>Hypochlorous acid</i>)

Radikal bebas seperti superoksida (O_2^*), nitrit oksida (NO^{\bullet}) dan yang lainnya diproduksi *in vivo* secara kontinyu (Ames, 1983; Halliwell dan Gutteridge, 1989; Moncada dan Higgs, 1993; Muchtadi, 2012). Sedangkan superoksida diproduksi akibat terjadinya kebocoran dari rantai elektron antara mitokondria dan sistem mikrosom p450 (Fridovich, 1983; Muchtadi, 2012)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 5. Spesies Oksigen reaktif (ROS)

No	Radicals	
1	O ₂ [*] superoxide	H ₂ O ₂ Hydrogen peroxide
2	HO [*] hydroxyl radical	¹ O ₂ singlet oxygen
3	HO ₂ hydroperoxyl radical	LOOH lipid hydroperoxide
4	LO ₂ [*] Lipid peroxy radical	Fe=O iron-oxygen complexes
5	LO [*] Lipid alkoxy radical	HOCl hypochlorite
6	NO ₂ nitrogen dioxide	
7	NO [*] nitric oxide	

Sumber : Gordon MH *et all*, 2001

Secara endogen, radikal bebas didapat dari polusi yang berasal dari luar, bereaksi di dalam tubuh dengan jalan inhalasi, digesti (makanan), injeksi, atau melalui penyerapan kulit. Sumber dari luar tubuh terbentuk dari asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, pestisida, anestetik, limbah industri, ozon, serta sinar ultraviolet. (Langseth, 1995).

Radikal bebas berasal 2 sumber yaitu dari sumber endogen dan eksogen.

a. Secara endogen

Radikal bebas pada organisme aerobik berasal dari 1-5% terjadi kebocoran elektron, elektron ini bereaksi dengan oksigen membentuk radikal superoksida, reduksi O₂ menjadi superoksida pada fagositosis, pada peristiwa *iskemi*, reaksi Fenton dan Haber-Weiss dan metabolisme eicosanoid. Secara endogen sumber radikal bebas yang berasal dari proses metabolik yang normal dalam tubuh manusia. Proses metabolik tubuh manusia dapat menghasilkan lebih 90% oksigen yaitu melalui proses diantaranya adalah:

- Proses oksidasi makanan dalam menghasilkan energi di mitokondria yang disebut dengan *electron transport chain* akan memproduksi radikal bebas *superoxide anion* (O₂^{*-}).
- Sel darah putih seperti neutrofil secara khusus memproduksi radikal bebas yang digunakan dalam pertahanan untuk menghancurkan patogen.
- Sejumlah obat yang memiliki efek oksidasi pada sel dan menyebabkan produksi radikal bebas.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- d. Proses oksidasi *xanthin* (senyawa yang ditemukan di sebagian besar jaringan tubuh dan cairan bertindak sebagai enzim yang terlibat dalam mengkatalis perubahan *hypoxanthine* kepada *xanthine* dan seterusnya kepada *uric acid* yang menghasilkan *hydrogen peroxide*).
 - e. Reaksi yang melibatkan besi dan logam lain.
 - f. Olahraga dengan latihan yang lebih lama dan lebih intensif maka akan mengonsumsi oksigen lebih banyak. Di lain pihak oksigen adalah penting untuk memproduksi energi, akan tetapi terdapat juga oksigen yang akhirnya akan membentuk radikal bebas.
- b. Secara eksogen

Radikal bebas berasal dari pencemaran lingkungan, asap kendaraan, bahan tambahan makanan dan rokok (Rice-Evan *et al.* 1991; Halliwell 1994). Secara eksogen, sumber radikal bebas berasal dari bermacam-macam sumber diantaranya adalah polutan, berbagai macam makanan dan minuman, radiasi, ozon dan pestisida. Bagi perokok menghisap radikal bebas dari asap rokok sehingga mempunyai resiko yang tinggi mengidap berbagai macam penyakit. Begitu pula dengan mereka yang bekerja dalam lingkungan bahan kimia yang bersifat volatile seperti bensin, cairan pembersih atau lingkungan yaitu udara yang terkontaminasi oleh asap kendaraan bermotor (sopir angkot, bus, truk dan polisi lalu lintas)

Tempat diproduksi radikal bebas adalah di dalam sel oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, peroksisom, endoplasmic reticulum dan inti sel.

Anion Superoksida ($O_2^{\bullet -}$)

Oksigen yang teraktivasi dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas oksigen yang disebut anion superoksida. Senyawa radikal ini akan membentuk kompleks dengan senyawa organik senyawa in vitro. Penyebab senyawa tersebut menjadi kompleks adalah sifat permukaan membran, muatan listrik, sifat pengikatan makromolekul dan bagian enzim, substrat serta katalisator.(Belleville-Nabet, 1996 ; Winarsi, 2007)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

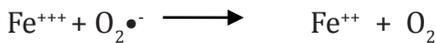
Radikal ion superoksida (anion superoksida) diproduksi di beberapa tempat yang memiliki rantai transport elektron. Oksigen teraktivasi bisa terjadi dalam berbagai bagian sel, termasuk mitokondria, kloroplas, mikrosom, glikosom, peroksisom dan sitosol (Elstner, 1991).

Radikal Hidroksil (OH•)

Senyawa H₂O₂ dapat berbahaya apabila bersama-sama ion superoksida karena dapat membentuk radikal hidroksil (OH•) melalui reaksi haber-Weiss berikut :



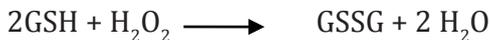
Reaksi Haber-Weiss memerlukan ion Fe⁺⁺⁺ atau Cu⁺⁺ dan terjadi melalui 2 tahap.



Dari berbagai bentuk senyawa oksigen reaktif tersebut, radikal hidroksil adalah senyawa yang paling reaktif dan berbahaya. Radikal hidroksil bukan merupakan produk primer proses biologis, melainkan berasal dari H₂O₂ dan O₂•⁻

Hidrogen Peroksida (H₂O₂)

Hidrogen peroksida adalah salah satu senyawa oksigen reaktif yang berbentuk non radikal yang terbentuk apabila terjadi reaksi oksidasi yang dikatalisis oleh oksidase, yang terjadi dalam retikulo endoplasmik (mikrosom) khususnya peroksisom. Hidrogen peroksida adalah senyawa oksidan yang sangat kuat dan dapat mengoksidasi bermacam-macam senyawa yang terdapat dalam sel seperti glutation.



Selain bersifat sebagai oksidator hidrogen peroksida juga dapat membentuk radikal bebas apabila bereaksi dengan logam transisi seperti Fe⁺⁺ dan Cu dalam reaksi Fenton



Antioksidan, Alami dan Sintetik

Menurut Liochev dan Fridovich (1999) dalam Muchtadi, (2012), dismutasi anion superoksida akan menghasilkan hidrogen peroksida, kemudian selanjutnya bias direduksi menjadi air atau menjadi radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$). Radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) adalah salah satu oksidan terkuat di alam.

Singlet Oksigen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksigen terbentuk melalui penyinaran sinar matahari (UV) dan radiasi ionisasi. Yang dimaksud dengan singlet oksigen adalah bentuk oksigen yang memiliki reaktivitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan oksigen bentuk "ground state". Oksigen di atmosfer merupakan sumber oksigen dalam reaksi oksidasi. Keadaan dasar oksigen di atmosfer berbentuk triplet ($^3\text{O}_2$). Akan tetapi oksigen triplet bisa tereksitasi membentuk singlet oksigen ($^1\text{O}_2$), dan dalam keadaan gas, singlet oksigen ini cukup stabil. Menurut Grossweiner (2000), singlet oksigen dalam keadaan gas mempunyai waktu hidup 45 menit. Singlet oksigen maupun triplet dapat menyebabkan reaksi oksidasi terhadap ikatan tak jenuh pada asam lemak. Singlet oksigen lebih reaktif dibandingkan oksigen triplet karena berada dalam keadaan tereksitasi. Singlet oksigen dapat mempercepat reaksi oksidasi dalam makanan walaupun pada suhu yang rendah (Min dan Boff, 2002 ; Herawati dan Syafsir Akhlus, 2006). Singlet Oksigen dapat terbentuk oleh reaksi fotokimia terhadap oksigen triplet dengan adanya *fotosensitizer*. Di alam banyak terdapat senyawa yang berfungsi sebagai *fotosensitizer* seperti klorofil, porpirin, riboflavin, dan mioglobin yang dapat menyerap energi dari cahaya dan memindahkannya ke oksigen triplet untuk membentuk singlet oksigen (Liedias dan Hansberg, 2000; Herawati and Syafsir Akhlus, 2006).

Makanan merupakan sumber utama radikal bebas di dalam tubuh. Makanan olahan baik olahan rumahan ataupun pabrik berpotensi mengandung radikal bebas. Makanan yang mengandung lemak dan protein dapat rusak akibat proses pengolahan makanan diantaranya seperti membakar, memanggang, merebus tanpa ada kontrol suhu dan waktu dapat merusak. Makanan yang mengandung asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, linoleat dan linolenat mudah teroksidasi menjadi hidroperoksida (Donnelly and Robinson, 1990)

Radikal bebas akan menyerang biomakromolekul penting dalam tubuh seperti komponen penyusun sel, yaitu protein, asam nukleat,

Antioksidan, Alami dan Sintetik

lipid dan polisakarida. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein serta DNA termasuk polisakaridanya. Asam lemak tak jenuh merupakan senyawa yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas. Radikal bebas akan merusak lemak tak jenuh ganda pada membran sel sehingga dinding sel menjadi rapuh, merusak pembuluh darah dan menimbulkan aterosklerosis. Radikal bebas ini juga dapat merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem informasi genetika dan membentuk sel kanker. Radikal bebas juga dapat merusak Jaringan lipid sehingga akan terbentuk peroksida dan menimbulkan penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

3.3 Tahapan Reaksi Pembentukan Radikal Bebas

Radikal bebas di dalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya. Adanya elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya. Senyawa ini mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada disekitarnya. Radikal bebas biasanya mengikat molekul besar seperti, lemak, protein, maupun DNA (pembawa sifat).

Kerusakan molekul lemak, protein, maupun DNA disebabkan karena rentan terhadap radikal bebas (Abate, 1990; Allen, 2000), yang terjadi dengan proses berikut :

- (1) Peroksidasi lemak, terjadi kerusakan pada membran sel yang kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi; proses ini dinamakan dengan peroksidasi lemak. Hal tersebut sangat merusak karena merupakan suatu proses berkelanjutan, dimana pemecahan hidroperoksida lemak, sering melibatkan katalisis ion logam transisi.
- (2) Kerusakan protein, protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang kecuali bila sangat ekstensif. Hal ini terjadi jika radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein, salah satu penyebab kerusakan adalah, jika protein berikatan dengan ion logam transisi.

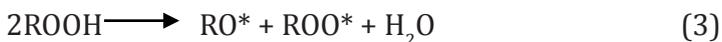
Antioksidan, Alami dan Sintetik

- (3) Kerusakan DNA, kerusakan di DNA menjadi suatu reaksi berantai, biasanya kerusakan terjadi bila ada delesi pada susunan molekul, apabila tidak dapat diatasi, dan terjadi sebelum replikasi maka akan terjadi mutasi. Radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk disekitar DNA seperti pada radiasi biologis

Tahapan reaksi pembentukan radikal bebas secara umum mirip dengan *rancidity oxidative*. Yaitu melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi, dengan mekanisme kerja sebagai berikut (Gordon, 1990; Cuppett, 1997).

a. Tahap inisiasi, merupakan awal pembentukan radikal bebas.

Pada tahap ini radikal bebas mulai terbentuk yang diproduksi oleh beberapa proses. Suhu tinggi, proses ekstrusi dan tekanan pada proses pemotongan bahan polimer dapat menghasilkan radikal alkil. Setelah oksidasi dimulai, menyebabkan konsentrasi hidroperoksida menjadi besar. Dekomposisi hidroperoksida menjadi sumber utama inisiator radikal. Penyerapan sinar UV menghasilkan radikal yang disebabkan oleh hidroperoksida dan senyawa karbonil. Kebanyakan degradasi polimer disebabkan oleh penyerapan cahaya ultra violet dari autoksidasi radikal. Substrat oksidatif dapat bereaksi secara langsung dengan oksigen khususnya pada temperatur tinggi sehingga menghasilkan radikal.



Pada tahap inisiasi asam lemak (RH) bereaksi dengan oksigen triplet, dan membentuk radikal lemak (R^*) dan radikal peroksida (HOO^*) dengan inisiator cahaya atau panas.

b. Tahap Propagasi, merupakan awal pemanjangan rantai radikal atau reaksi, dimana radikal-radikal bebas akan diubah menjadi radikal-radikal yang lain.

Pada tahap propagasi terjadi oksogenasi radikal lemak (R^*) membentuk radikal peroksida (ROO^*). Proses oksigenasi ini terjadi

Antioksidan, Alami dan Sintetik

sangat cepat dengan aktifitas energi yang hampir mendekati nol, sehingga konsentrasi ROO^* yang terbentuk jauh lebih besar. Konsentrasi R^* dalam sistem makanan, dimana oksidasi berada kemudian radikal peroksida yang terbentuk, akan bereaksi dengan asam lemak lain dan membentuk hidroperoksida dan radikal lemak baru (R'^*).

Reaksi propagasi dapat terjadi beberapa kali sebelum terjadi pemutusan oleh radikal peroksi ke non radikal. Dekomposisi homolitik hidroperoksida dihasilkan oleh reaksi propagasi sehingga meningkatkan tingkat inisiasi oleh produksi radikal. Laju reaksi dari molekul oksigen dengan radikal alkil membentuk peroksi radikal (reaksi 5) jauh lebih tinggi jika dibandingkan laju reaksi radikal peroksi dengan atom hidrogen dari substrat (reaksi 6)



c. Tahap terminasi, yaitu senyawa radikal yang bereaksi dengan radikal lain atau dengan penangkap radikal, sehingga potensi propagasinya rendah.

Konversi radikal peroksi dan alkil ke non radikal mengakhiri reaksi propagasi, sehingga mengurangi perpanjangan rantai kinetik. Reaksi terminasi (reaksi 7 dan 8) yang signifikan terjadi ketika konsentrasi oksigen sangat rendah. Kombinasi radikal alkil (reaksi 7) menyebabkan cross-linking, yang mengakibatkan peningkatan viskositas dan berat molekul.



Pada tahap terminasi, akan terbentuk spesies non radikal karena radikal bebas yang bereaksi satu sama lain. Sedangkan hidroperoksida akan terdekomposisi menjadi produk alkohol, asam keton, dan substrat lain yang lebih stabil.

3.4 Tempat Pembentukan Senyawa Radikal Bebas

Radikal bebas selain terjadi dalam tubuh manusia, akan tetapi juga terjadi didalam tanaman yaitu pada berbagai bagian sel diantaranya

Antioksidan, Alami dan Sintetik

adalah kloroplas, mitokondria, retikulo endoplasma, peroksisom, glikosisom, membran plasma dan dinding sel.

Senyawa radikal bebas diketahui dibentuk oleh sel netrofil dan makrofag, yaitu ketika tubuh terinfeksi mikroorganisme (Janssen, *et all.*, 1993). Menurut Breen dan Murphy (1995) selama proses fosforilasi oksidatif, oksigen akan tereduksi menjadi air dengan penambahan 4 elektron. Dalam reaksi reduksi ini akan terbentuk radikal anion superoksida ($O_2\bullet^-$), yang kemudian diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim superoksida dismutase.

3.5 Efek Negatif Radikal Bebas

Radikal bebas bersifat destruktif, sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan makromolekul sel, seperti: protein, lipid, karbohidrat, atau DNA (Langseth, 1995). Reaksi antara radikal bebas dan molekul itu berujung pada timbulnya suatu penyakit, yaitu antara lain:

1) Kerusakan DNA pada inti sel

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA dengan mengoksidasi DNA (Reynertson, 2007). Sel yang mengandung DNA rusak (*damaged DNA*) tersebut bila membelah sebelum DNA tersebut diperbaiki, akan mengakibatkan perubahan genetik secara permanen, hal tersebut merupakan langkah pertama dalam karsinogenesis (Langseth, 1995). Oksidasi DNA oleh senyawa radikal bebas dapat menginisiasi terjadinya kanker (Reynertson, 2007).

2) Kerusakan protein

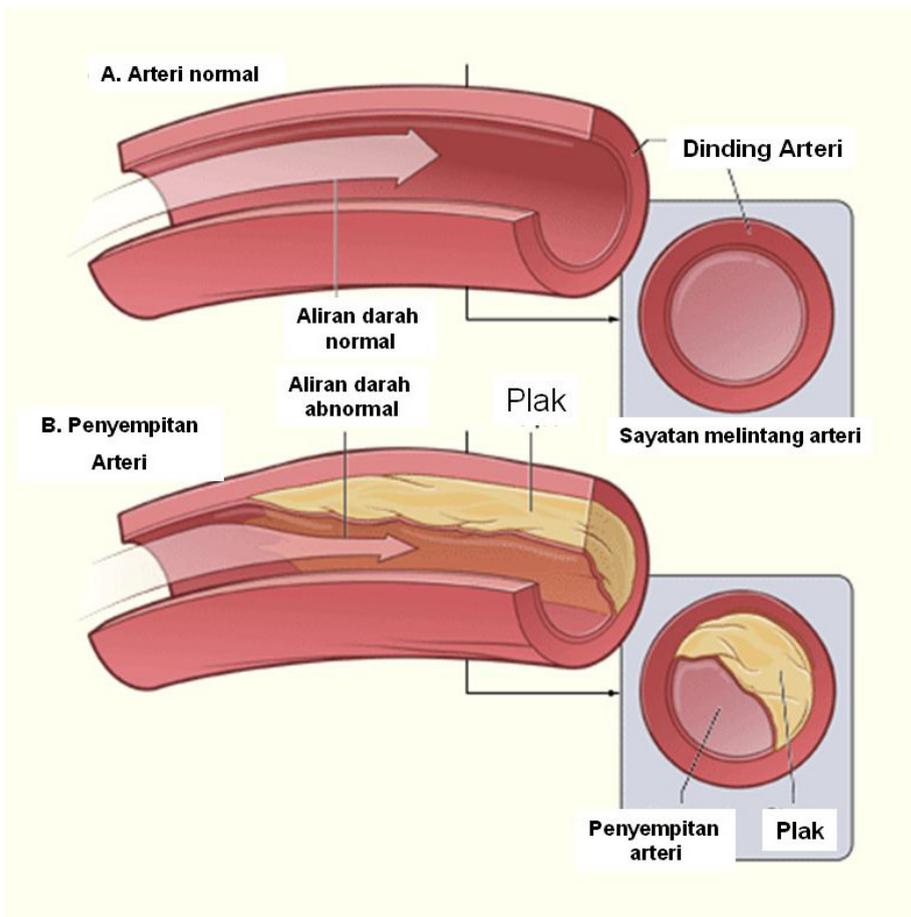
Perubahan LDL (*low density lipoprotein*) menjadi bentuk LDL teroksidasi yang diperantarai oleh radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan dinding arteri dan kerusakan bagian arteri lainnya (Langseth, 1995). Meningkatnya kadar LDL oleh oksigen reaktif dapat merusak dinding arteri yang menyebabkan aterosklerosis (Langseth, 1995).

3) Kerusakan lipid peroksida

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada ikatan lemak tak jenuh dalam fosfolipid membran (lipid peroksidasi) (Josephy, 1997). Peroksidasi lipid pada membran merusak struktur membran dan menyebabkan hilangnya fungsi dari organel sel (Kappus, 1985 *cit* Madhavi *et al.*, 1995).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Efek kerja radikal bebas lebih besar dibandingkan dengan oksidan pada umumnya. Molekul-molekul seluler dan ekstraseluler seperti protein, asam lemak tidak jenuh ganda, glikoprotein dan bahan-bahan penyusun DNA seperti karbohidrat dan basa purin dapat dirusak oleh radikal bebas pada tubuh manusia. Radikal bebas pada konsentrasi tinggi menyebabkan kematian sel, gangguan sistem enzim, merusak DNA dan RNA sehingga terjadi mutasi gen (Halliwell and Gutteridge 1992; Oberley 2001).



Gambar 1. Atherosklerosis (National Heart, Lung and Blood Institute, 2015)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

3.6 Efek Positif Radikal Bebas

Ketidak seimbangan antara jumlah antioksidan dengan radikal bebas yang terbentuk akan menyebabkan stress oksidatif atau kerusakan oksidatif. Kerusakan jaringan bisa terjadi apabila dalam tubuh terjadi peradangan yang melibatkan sel-sel radang (*inflamatori cells*). Namun radikal bebas tidak selalu berdampak negatif pada tubuh manusia. Menurut Muchtadi (2000), Keberadaan radikal bebas juga berdampak positif dan diperlukan oleh tubuh.

Peranan radikal bebas yang secara fisiologis berperan sebagai regulator dalam metabolisme sebagai senyawa oksigen reaktif (SOR) dan senyawa nitrogen reaktif (SNR) adalah radikal $\text{NO}\bullet$ yang mengubah *endotelial derived relaxing factor* (EDRF) menjadi modulator neuronal, H_2O_2 secara fisiologis berperan dalam agregasi platelet, dan anion superoksida berperan dalam kemositaksis bakteri (Winarsi, 2007). Beberapa efek positif radikal bebas adalah:

- a. Senyawa oksigen reaktif berperan dalam proses bakterisidal dan bakteriolisis normal. SOR disintesis sel fagosit melalui jalur NADP oksidase seperti radikal anion superoksida dan H_2O_2 yang berperan sebagai pembunuh bakteri (bakterisidal).
- b. Radikal anion superoksida mempunyai sifat vasokonstriktor pada otot halus atau dalam fibroblas.
- c. Senyawa oksigen reaktif berperan dalam kapasitas spermatozoid sehingga keberadaannya berfungsi dalam fertilitasi.
- d. Senyawa oksigen reaktif secara *in vitro* bersifat mitogenik pada berbagai sel.
- e. Berperan dalam sintesis DNA karena aktivitas ribonukleotida reduktase (mengubah ribose menjadi deoksiribosa, gula DNA) sangat tergantung pada SOR.
- f. Berperan dalam kapasitas spermatozoa, oleh karena itu keberadaannya berfungsi dalam fertilitasi.

BAB IV.

Golongan Antioksidan

Antioksidan secara umum didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rosseli 1990).

Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Menurut Meydani, *et all.* (1995), keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan fungsinya sistem imunitas tubuh. Senyawa asam lemak tak jenuh merupakan komponen terbesar yang menyusun membran sel, yang diketahui sangat sensitif terhadap perubahan keseimbangan oksidan-antioksidan. Sehingga, sel imun memerlukan antioksidan dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan sel lain. Defisiensi antioksidan yang berupa vitamin C, vitamin E, Se, Zn, dan glutation sangat berpengaruh terhadap sisitem imun.

Secara alami sistem antioksidan tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas, telah ada didalam tubuh. Ada dua macam antioksidan, antioksidan internal dan eksternal. Antioksidan internal adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sendiri. Secara alami tubuh mampu menghasilkan antioksidan sendiri, akan tetapi kemampuan ini ada batasnya. Kemampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan alami akan semakin berkurang, dengan bertambahnya usia.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Ada beberapa pengelompokan antioksidan, yaitu

4.1 Antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis.

- a. Antioksidan enzimatis misalnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase.
- b. Antioksidan non enzimatis, dibagi dalam 2 kelompok lagi :
 - Antioksidan larut lemak, seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin.
 - Antioksidan larut air, seperti asam askorbat, protein pengikat logam.

Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya bisa diatasi oleh antioksidan endogen seperti enzim *catalase*, *glutathione peroxidase*, *superoxide dismutase*, dan *glutathione S-transferase*. Tetapi jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh atau melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler, maka dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal yang terbentuk (Reynertson, 2007). Antioksidan mempunyai kemampuan mendonorkan elektron dan bisa berfungsi sebagai agen pereduksi sehingga dapat mengkhelat ion metal dan mengurangi potensi radikal dalam tubuh (Vaya dan Aviram, 2001).

4.2. Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier.

4.2.1 Antioksidan Primer

Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer mengikuti mekanisme pemutusan rantai reaksi radikal dengan mendonorkan atom hidrogen secara cepat pada suatu lipid yang radikal, produk yang dihasilkan lebih stabil dari produk awal.

Antioksidan primer adalah antioksidan yang sifatnya sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang bisa bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan mengubahnya menjadi produk-produk yang lebih stabil.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Suatu molekul dapat beraksi sebagai antioksidan primer jika dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal lipid dan radikal yang berasal dari antioksidan ini lebih stabil daripada radikal lipidnya, atau diubah menjadi produk-produk lain yang stabil.

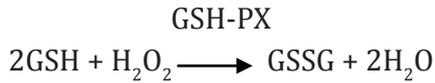
Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), katalase dan protein pengikat logam. *Superoksida Dismutase* (SOD), GPx disebut juga dengan antioksidan enzimatis yaitu antioksidan endogenus yang melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas oksigen seperti anion superoksida (O_2^*), radikal hidroksil (OH^*), dan hidrogen peroksida (H_2O_2)

Antioksidan enzimatik berperan sebagai sistem pertahanan dari serangan stress oksidatif. Enzim-enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivitasnya sangat tergantung adanya ion logam. Aktivitas SOD tergantung adanya Cu, Zn, dan Mn, sedangkan katalase bergantung pada Fe (besi), dan glutathion peroksidase bergantung pada selenium. Katalase dan GPx menunjukkan potensinya dengan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O sedangkan SOD mengkatalisis reaksi dismutasi radikal anion superoksida. Katalase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi dekomposisi hydrogen peroksida menjadi oksigen dan H_2O . Peranan katalase sebagai "peroksidase khusus", adalah mengoksidasi 1 molekul hidrogen peroksida menjadi oksigen dan secara simultan mereduksi molekul hidrogen peroksida kedua menjadi air.

- *Glutation Peroksidase* (GSH-Px)

GSH-Px merupakan enzim antioksidan yang mengandung selenium (Se) pada sisi aktifnya. Adapaun kerja enzim ini mengubah molekul hidrogen peroksida (yang dihasilkan dari aktivitas enzim SOD dalam sitosol dan mitokondria) dan berbagai hidro serta lipid peroksida menjadi air (Winarsi, 2007). GSH-Px bekerja dengan cara mengoksidasi glutathion bentuk tereduksi (GSH) menjadi bentuk teroksidasi (GSSG). Glutathion tereduksi mencegah lipid membran dan unsur-unsur sel lainnya dari kerusakan oksidatif dengan cara merusak molekul hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida. Dan aktivitasnya GSH-Px memerlukan glutathion sebagai kosubstrat dan glutathion reduktase untuk merestorasi glutathion menjadi bentuk tereduksi.

Antioksidan, Alami dan Sintetik



Gambar 2. Mekanisme Kerja Glutation Peroksidase (GSH-Px) (Winarsi, 2007)

Glutation peroksidase adalah enzim intraseluler yang terdispersi dalam sitoplasma, akan tetapi aktivitasnya juga dapat ditemukan dalam mitokondria. Glutation peroksidase ekstraseluler terdeteksi dalam berbagai jaringan. Enzim glutation peroksidase berperan penting dalam melindungi sel, melalui reaksi seperti di atas maupun melalui peroksida organik yang terbentuk dalam oksidasi kolesterol dan asam lemak. Aktivitas enzim glutation peroksidase mampu mereduksi 70 % peroksida organik dan lebih dari 90% H_2O_2

Menurut Asikin (2001), enzim glutation peroksidase juga dapat langsung mereduksi hidroperoksida kolesterol, ester kolesterol, lipoprotein dan fosfolipid yang teroksidasi dalam membran sel. Aktivitas enzim tersebut juga dapat diinduksi oleh keadaan hiperoksida. Enzim glutation peroksidase bersama glutation reduktase dan NADH adalah bagian dari siklus redoks glutation yang berperan untuk mempertahankan kadar glutation.

Selenium (Se) merupakan mineral yang penting untuk sintesis protein dan aktivitas enzim glutation peroksidase. Defisiensi Se pada manusia bisa menyebabkan nekrosis hati dan penyakit degeneratif.

Se terdapat dalam bentuk organik yang merupakan nutrisi utama bagi manusia dan hewan. Se penting untuk sintesis dan aktivitas glutation peroksidase yang mereduksi hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik. Aktivitas enzim ini tergantung pada adanya 4 atom Se pada sisi aktif enzim. Se memiliki efek perlindungan terhadap iradiasi UV, karsinogenesis dan penuaan.

Aktivitas glutation peroksidase rendah pada penderita nekrosis hati dan penyakit degeneratif karena terjadi defisiensi selenium. Sementara pada penderita alergi, aktivitas glutation peroksidase sel darah merah meningkat 2 kali dibandingkan dengan kontrol yaitu 16 U/g Hb. Aktivitas enzim ini juga dapat diinduksi oleh antioksidan sekunder isoflavon.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Superoksida Dismutase (SOD)

SOD dikenal sebagai protein yang mengandung Cu, dan diidentifikasi dalam berbagai sebutan seperti eritrocuprein, indofenol oksidase dan tetrazolium oksidase (McCord dan Fridovitch, 1969; Winarsi, 2007). Enzim SOD juga berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutasi dari anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2)



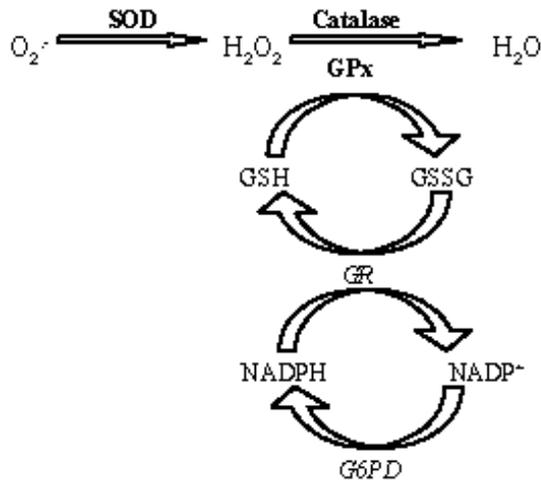
Gambar 3. Reaksi Dismutasi (Winarsi, 2007)

Enzim SOD melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya proses peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Sebenarnya enzim ini telah ada dalam tubuh, akan tetapi memerlukan bantuan zat gizi mineral seperti mangan (Mn), seng (Zn), dan tembaga (Cu) agar dapat bekerja. Oleh karena itu, mineral-mineral tersebut harus tersedia dalam jumlah yang cukup, jika ingin menghambat timbulnya gejala penyakit degeneratif

Aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang bisa menyebabkan stres oksidatif. (Beyer, *et al.*, 1991 ; Bowler, *et al.*, 1992; Scandalias, 1993; Winarsi, 2007). Berdasarkan adanya logam yang berperan sebagai kofaktor pada sisi aktif enzim, enzim SOD dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD dan Fe-SOD

Fe-SOD merupakan jenis SOD yang pertama kali dikenal yang ditunjukkan oleh keberadaan Fe sebagai logam kofaktor pada sisi aktif, yang teridentifikasi sebagai Fe dalam bentuk Fe^{2+} terlarut dalam jumlah berlebihan. Ketersediaan O_2 dalam jumlah berlebihan bisa menyebabkan mineral Fe teroksidasi, tetapi apabila ketersediaan Fe^{2+} menurun akan meningkatkan penggunaan logam Mn^{+++} .

Antioksidan, Alami dan Sintetik



Gambar 4. Enzim-enzim antioksidan utama (SOD, katalase, glutation peroksidase) saling bekerjasama mengeliminir anion superoksida yang terbentuk secara normal di dalam tubuh

Mineral Fe^{++} tidak berguna, ketika atmosfer dipenuhi oksigen sementara Cu^+ tidak terlarut diubah menjadi Cu^{++} terlarut. Pada keadaan demikian, Cu^{++} mulai digunakan sebagai kofaktor pada sisi aktif SOD. Cu/Zn -SOD disebut juga SOD_1 . Enzim ini merupakan homodimer yang terdapat pada sitoplasma eukariot, peroksisom, kloroplas, dan periplasma prokariot. Enzim tersebut berperan penting dalam sistem pertahanan terhadap oksidan. Dalam Cu/Zn -SOD ini, mineral Cu penting untuk fungsinya katalitik enzim, sedangkan Zn penting bagi fungsi struktural.

Superoksida dismutase adalah enzim yang mengkatalisis dismutase radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot -}$) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Superoksida dismutase merupakan metaloenzim yang aktivitasnya tergantung adanya logam Cu , Zn dan Mn serta dapat ditetapkan dengan menggunakan sistem yang menghasilkan superoksida dan indikator. Kemudian indikator tersebut akan bereaksi dengan anion superoksida.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Katalase

Katalase merupakan enzim yang mengatalisis dismutase hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Enzim katalase memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan $\frac{1}{2} O_2$. Enzim ini berperan sebagai peroksidasi khusus dalam reaksi dekomposisi hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Enzim tersebut dapat mengoksidasi 1 molekul hidrogen peroksida menjadi oksigen, selanjutnya enzim ini akan mereduksi molekul hidrogen peroksida kedua menjadi air secara simultan. Metanol, etanol dan format merupakan senyawa pemberi ion hidrogen sehingga reaksi ini dapat berjalan (Winarsi, 2007).

Dalam mengkatalisis H_2O_2 peran katalase lebih kecil jika dibandingkan dengan kecepatan pembentukannya. Katalase juga dapat memusnahkan H_2O_2 yang terdapat dalam peroksisom berbagai jaringan (Wijaya, 2006). Enzim katalase in sangat Para peneliti mengatakan bahwa aktivitas enzim katalase bisa diinduksi oleh asupan antioksidan.

Winarsi *et al.* (2003) mengatakan bahwa pada wanita premenopause aktivitas katalase dapat meningkat yang diintervensi dengan 100 mg isoflavon kedelai dan 8 mg Zn selama 2 bulan. Ditambahkan Swain *et al.* (2002) bahwa setelah mengonsumsi 40 g kedelai selama 24 minggu wanita premenopause akan terlindung dari serangan oksidatif, terlihat dengan meningkatnya aktivitas enzim antioksidan.

4.2.2 Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen.

Lipida pangan umumnya mengandung ion-ion logam dalam jumlah sangat kecil yang mungkin berasal dari enzim-enzim yang diaktifkan oleh logam, berasal dari peralatan pemurnian minyak atau berasal dari proses hidrogenasi. Logam-logam berat khususnya yang bervalensi dua atau lebih dengan potensial redoks yang sesuai, seperti Co, Cu, Fe, Mn dan sebagainya, mempersingkat periode induksi dan meningkatkan kecepatan maksimum dari oksida lipida.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Senyawa pengkelat logam yang membentuk ikatan-ikatan σ dengan logam sifatnya efektif sebagai antioksidan sekunder karena hanya senyawa ini menurunkan potensil redoks dan karenanya menstabilkan bentuk teroksidasi dari ion-ion logam.

Asam sitrat, EDTA dan turunan asam fosfat adalah senyawa-senyawa pengkelat ion-ion logam. Asam sitrat yang banyak digunakan dalam produk pangan adalah pengkelat logam yang lemah. Meskipun demikian, senyawa ini sangat efektif dalam menghambat kerusakan oksidatif dari lipida dalam bentuk produk pangan dan umumnya ditambahkan kedalam minyak nabati sesudah proses deodorisasi. Pengkelat ion-ion logam ini sering disebut sinergis karena dapat meningkatkan aktivitas antioksidan fenolik. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, β -caroten, isoflavon, bilirubin dan albumin. Potensi antioksidan ini dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya (*scavenger free radical*) sehingga radikal bebas tidak beraksi dengan komponen seluler.

4.2.3 Antioksidan tersier

Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase (Putra, 2008 dan DepKes, 2008).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya secara luas diseluruh dunia untuk digunakan dalam makanan adalah *Butylated Hidroxyanisol* (BHA), *Butylated Hidroxytoluene* (BHT), *Tert-Butylated Hidroxyquinon* (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Buck 1991)

4.3 Antioksidan Alami

Vitamin A

Untuk pertumbuhan dan perkembangan tubuh sangat diperlukan vitamin A untuk fungsi sistem imun dan proses penglihatan. Adapun

Antioksidan, Alami dan Sintetik

aktivitas vitamin A beta-karoten adalah $1 \frac{1}{2}$ retinol, sedangkan aktivitas vitamin A alfa karoten dan alfa-kriptosantin masing-masing adalah $1/24$ retinol. (Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, 2000)

Fungsi betakaroten adalah sebagai prekursor vitamin A yang secara enzimatik berubah menjadi retinol, zat aktif vitamin A dalam tubuh. Dilaporkan konsumsi vitamin A yang cukup dalam jangka waktu beberapa tahun, di dalam hati akan tertimbun cadangan vitamin A yang dapat memenuhi kebutuhan sampai sekitar tiga bulan tanpa konsumsi vitamin A dari makanan. Salah satu penghasil antioksidan yang saat ini menjadi primadona adalah ubi jalar.

Tabel 6 . Sumber Alamiah zat gizi Antioksidan

No	Komponen Antioksidan	Bahan Pangan
1	Vitamin A	Jeruk, buah berwarna kuning, mentega, margarine
2	Vitamin E	Biji bunga matahari, tomat, biji-bijian yang mengandung kadar minyak tinggi, kacang-kacangan, susu dan produk-produknya.
3	Vitamin C	Buah-buahan : jeruk, kiwi, anggur, pisang, apel, tomat, pir, melon, sayuran (sebagian rusak selama pemasakan), kentang
4	Vitamin B2	Susu, produk-produk susu, daging, ikan, telur, sereal tanpa polis, kacang-kacangan
5	Karotenoid (Prekursor Vitamin A)	Wortel, melon, daun hijau, sitrus
6	Seng (Zn)	Makanan sumber hewani : daging merah, krustase, ikan, susu dan produk-produknya
7	Tembaga (Cu)	Kadar pada makanan tergantung pada konsentrasi Cu dalam tanah, hati, sereal
8	Selenium	Kadar pada makanan tergantung pada konsentrasi dalam tanah : sereal, daging, ikan
9	Protein : Gliadin gandum Ovalbumin	Grup amid berbagai residu glutamine sangat penting Gandum, telur

Sumber : Prosiding Seminar,1996

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Komoditi ubi jalar mempunyai potensi yang sangat tinggi untuk dikembangkan, mempunyai produktivitas tinggi, potensi penggunaan cukup luas dan cocok untuk program diversifikasi pangan. Selain mengandung serat tinggi, ubi jalar mengandung rafinosa yang berfungsi sebagai prebiotik, mengandung karotenoid, antosianin, senyawa polifenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan.

Menurut Astawan dan Kasih (2008), beta-karoten mempunyai kemampuan sebagai antioksidan yang dapat berperan penting dalam menstabilkan radikal berinti karbon, sehingga mengurangi resiko terjadinya kanker. Salah satu keunikan sifat antioksidan beta-karoten adalah efektif pada konsentrasi rendah oksigen, sehingga dapat melengkapi sifat antioksidan vitamin E yang efektif pada konsentrasi tinggi oksigen. Beta-karoten juga dapat meningkatkan komunitas antarsel didalam tubuh sehingga dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Kandungan beta-karoten pada bahan pangan alami dapat mengurangi resiko terjadinya *stroke*. Hal tersebut disebabkan oleh aktifitas beta karoten yang dapat mencegah terjadinya plak atau timbunan kolesterol di dalam pembuluh darah.

Kekurangan vitamin A merupakan salah satu masalah gizi utama dibanyak negara berkembang, termasuk Indonesia. Ubi jalar merah memiliki kandungan β -karoten atau provitamin A yang tinggi yaitu 7.700 IU per 100 gr sehingga memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai sumber β -karoten alami. Jenis bahan pangan sumber vitamin A dapat dilihat pada Tabel dibawah ini

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 7. Kandungan B-Karoten (Pro Vitamin A) dalam Berbagai Bahan Pangan dan Makanan

Komoditas	B-Karoten($\mu\text{g}/100\text{g}$)
Beras Jagung kuning	641
Beras Jagung putih	301
Bubur Manado	1437
Ubi Jalar Kuning	794
Biji Salak	1667
Keripik Ubi	920
Kacang Ercis	212
Kacang Merah	137
Bakung	1080
Bayam Merah	7325
Daun Bawang Merah	218
Daun Kasbi Singkokng Karet	9999
Daun Kelor	3266
Daun Kubis	9999
Daun Leilem	753
Daun Pare	1800
Daun Selasih	4112
Daun Singkong Ampenan	7917
Daun Singkokng Kopang	3882
Daun Ubi Kuning	3564
Daun Ubi Putih	103
Daun Ubi Tinta	516
Kacang Panjang	125
Kangkung Tondano	2741
Labu Kuning	1569
Rumput Laut	1958
Sayur Bunga Pepaya	372
Sayur Garu	9999
Plecing Kangkung	870
Mangga	316
Mangga Kuini	932
Minyak Kelapa Sawit	18181
Daun Salam Kering Bubuk	5400

Sumber: Mahmud, et al (2008)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Karotenoid

Karotenoid dapat meredam radikal bebas, karena karotenoid merupakan kelompok pigmen dan antioksidan alami yang, yang menyebabkan warna kuning orange dan merah pada tanaman (Gross, 1991; Roddrigues-Amaya, 2003; Stahl dan Sies, 2003). Pigmen ini ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi seperti pada alga, jamur, dan bakteri, pada jaringan non fotosintesis dan fotosintesis bersama dengan klorofil. Selain itu karotenoid juga ditemukan pada hewan seperti ikan, burung, dan serangga (Gross, 1991, Stahl dan Sies, 2003).

Karotenoid pada hewan bukan merupakan hasil sintesis didalam tubuhnya, tetapi berasal dari makanan yang dikonsumsinya yang mengandung karotenoid. Sintesis karotenoid hanya dapat terjadi pada tumbuhan (Gross, 1991; Rodriques-Amaya dan Kimura, 2004; Widiawati, 2001; Stahl dan Sies, 2003). Karotenoid ini dapat diklasifikasikan kedalam dua kelompok yaitu karoten dan xantofil (Gross, 1991; Rodrigues-Amaya dan Kimura, 2004; Knight dan Mantoura, 1985; Fawley, 1989; de las Rivas, Anunciacion, dan Javier, 1989; Zeb dan Mehmood, 2004).

Karoten merupakan karotenoid hidrokarbon contohnya β -karoten dan likopen, sedangkan xantofil merupakan turunan teroksidasinya, yang umumnya berupa hidroksi, epoksi, metoksi, aldehid, dan ester. Contoh xantofil ini adalah lutein, dan zeaxantin. (Gross, 1991; Arab *et al.*, 2001). Ditambahkan Winarsi (2007) Karotenoid tersusun atas likopen, β -karoten, lutein, zeaxanthin, dan cryptoxanthin.

Beberapa manfaat dari senyawa karotenoid, adalah sebagai prekursor vitamin A, antioksidan, peningkatan daya tahan tubuh, dan pengubahan metabolisme kanker (Arab *et al.*, 2001; Gross, 1991; Zeb dan Mehmod, 2004; Yan, 1998). Selain itu beberapa golongan karotenoid juga dimanfaatkan sebagai pewarna makanan (Mac-Dougall, 2002).

Karotenoid berfungsi sebagai peredam singlet oksigen dan deaktivator radikal bebas (Palozza dan Krinsky, 1992; dalam Redriguez-Amaya, 2001; Miranda, *et al.*, 1998).

Mekanisme karotenoid sebagai peredam singlet oksigen adalah:

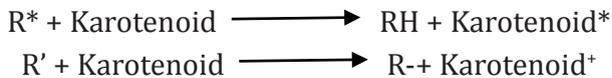


Antioksidan, Alami dan Sintetik

Energi akan dilepas melalui interaksi rotasi dan vibrasi antara karotenoid triplet dengan menggunakan pelarut untuk mengembalikan karotenoid ke keadaan semula (Palva dan Russel, 1999; Pokorny dan Gordon, 2001, Stahl dan Sies, 2003).



Deactivator radikal bebas terjadi melalui proses transfer elektron (Dutta, *etal.*, 2005). Reaksi karotenoid sebagai deactivator radikal bebas adalah:



Struktur karotenoid mempengaruhi bioaktivitas yang dimilikinya, seperti faktor ikatan rangkap, rantai terbuka, dan jumlah substituen oksigen akan meningkatkan aktivitas antioksidan karotenoid.

Banyak bahan pangan yang bisa menjadi sumber antioksidan alami, diantaranya adalah seperti rempah-rempah, teh, kakao, biji-bijian, sereal, buah-buahan, sayur-sayuran dan tumbuhan alga laut dan air tawar (Shui, 2004). Bahan pangan ini mengandung jenis senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, seperti asam-asam amino, asam askorbat, golongan flavonoid, tokoferol, karotenoid, tannin, peptide, melanoidin, produk-produk reduksi dan asam-asam organik lain (Pratta, 1992, di dalam Trilaksani, 2003).

Karotenoid yang merupakan sumber utama vitamin A dan juga antioksidan yang sebagian besar ada dalam tumbuhan (Tabel 3) (Gross, 1997; Soviani, 2004; Yulianti, 2004; Christiana, 2007) perlu mendapat perhatian karena merupakan antioksidan didalam tubuh. Rata-rata asupan karotenoid, beta karoten yang diperlukan dalam tubuh berdasarkan National Health Interview Survey (1992) bagi laki-laki dan perempuan dewasa adalah 2,9 mg/hari dan 2,5 mg/hari. Untuk menurunkan risiko penyakit kronis, diperlukan 3-6 mg/hari.

B-karoten digunakan sebagai suplemen nutrisi ataupun sebagai prekursor vitamin A. Adapun peran β -karoten adalah dapat meningkatkan efikasi terapi kemoterapi dan radiasi pada kultur sel

Antioksidan, Alami dan Sintetik

kanker pada manusia ataupun pada hewan percobaan. Berdasarkan hasil penelitian, konsumsi buah-buahan dan sayuran yang mengandung β -karoten tinggi, memiliki resiko rendah terserang penyakit kanker dan penyakit kardiovaskular (Buring dan Hennekens, 1993).

Karotenoid bisa diperoleh dari daun, buah dan rimpang tumbuhan, yang dapat meredam dan menghentikan aktivitas radikal bebas tersebut. Sumber dan kandungan karotenoid dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Sumber dan Kandungan Karoten pada Daun, Buah dan Rimpang

Nama Tumbuhan	Kandungan Karotenoid
Daun	
Amaranthus gageticus, Lim (jenis bayam)	93 μ g/g berat segar
Apium graveoleus, Linn (seledri)	75 μ g/g berat segar
Brassica ojuncea, Czern & Coss (sawi)	13 μ g/g berat segar
Brassica oleracea, Linn var acephala DC (kubis)	43 μ g/g berat segar
Brassica oleracea, Linn var capitata Linn (kubis)	34 μ g/g berat segar
Brassica spp (Kubis)	71 μ g/g berat segar
Cantella asiatica, Urban (daun kaki kuda)	47 μ g/g berat segar
Cucurbita maxima, Duch (labu)	78 μ g/g berat segar
Cucurbita moschata (labu merah)	3,50 mg/0,5 g berat kering'
Sechium edule (labu siam)	5,96 mg/0,5 g berat kering'
Coleus amboinicus (jenis kentang jawa)	6,78 mg/0,5 g berat kering'
Piper sarmentosum (jenis sirih)	9,63 mg/0,5 g berat kering'
Manihot esculenta, Crantz, (daun singkong)	8,07 \pm 45 μ g/g berat basah"
Manihot glaziovii (singkong karet)	767 \pm 71 μ g/g berat basah"

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Buah	
Cucurmis sativa, Linn. (mentimun)	0,95 µg/g berat segar*
Cucurbita maxima, Duch. (labu)	23,0 µg/g berat segar*
Parkia speciosa, Hassk. (petai)	8,2 µg/g berat segar*
Pisum sativum, Linn. (ercis)	8,9 µg/g berat segar*
Solanum melongena, Linn. (terung bentuk panjang)	7,9 µg/g berat segar*
Solanum melongena ,sw. (terung bentuk bulat)	5,3 µg/g berat segar*
Solanum turvum, sw. (terung kecil bulat)	8,7 µg/g berat segar*
Solanum xanthocarpum, sw. (terung bentuk jorong)	3,9 µg/g berat segar*
Vigna sinensis, Savi ex Hassk. (Kacang panjang)	6,8 µg/g berat segar*
Zea mays (jagung)	12,6 µg/g berat segar*
Malus domestica, L. (apel)	15,57 µg/g berat segar*
Averrhoa carambola. (belimbing)	22,0 µg/g berat segar matang*
Rubus spp (beri hitam)	5,8 µg/g berat segar*
Vaccinium spp (beri biru)	2,7 µg/g berat segar*
Phoenix dactylifera, L (kurma)	12,7 µg/g berat segar matang*
Vitis unifera (anggur)	3,1 µg/g berat segar*
Citrus limon, L. Burm (jeruk asam)	1,4 µg/g berat segar*
Psidium guajava, L. (jambu biji)	62,9 µg/g berat segar*
Mangifera indica, L. (mangga, Alponso)	125,0 µg/g berat segar*
(mangga, Badani)	89,2 µg/g berat segar*
Cucumis melo, L. (melon)	20,2 µg/g berat segar*
Carica papaya,L. (Pepaya)	13,8 µg/g berat segar*
Capsicum annum, L. (cabe merah)	1353,2 µg/g berat kering*
Diospyros kaki, Thunb (kesemek)	68,66 µg/g berat segar*
Ananas comosus, L. Merr (nenas)	1,0 µg/g berat segar*
Fragaria xananassa, Duch (strawberri)	0,4 µg/g berat segar*
Lycopersicon es culentum,L. (cabe merah)	97,7 µg/g berat segar*
Citrullus lanatus, Thumb (sirsak orange)	34,0 µg/g berat segar*
(sirsak merah)	25,0 µg/g berat segar*
Citrus aurantim, L. (jeruk manis)	21,0 µg/100 g
Musa paradisiacal, L. (pisang)	50,0 µg/100 g

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Rimpang/Umbi	
Daucus carota (wortel)	400 µg/100 g
Boesenbergia pandurata (temu kucing)	1,16 mg/0,5 g berat kering'
Curcuma xanthorrhiza (temu lawak)	1,93 mg/0,5 g berat kering'
Languas galangal	1,69 mg/0,5 g berat kering'
Zingiber cassumunar (bengle)	1,31 mg/0,5 g berat kering'
Zingiber officinale (jahe)	1,70 mg/0,5 g berat kering'
Zingiber zerumbet (lempuyang gajah)	5,52 mg/0,5 g berat kering'

Keterangan : *Sumber Gross, 1991 dan 1987.'Sumber Chanwithesuk,dkk, 2004

"Sumber Madalena, 2006.-Sumber Anonim, 2006 dalam syahputra, 2007

Keberadaan sistem perlindungan didalam tubuh yang tidak memadai yang disebabkan oleh radikal bebas yang terbentuk akibat polusi udara, asap rokok, sinar ultra violet yang diproduksi sinar matahari, pestisida dan pencemaran lain di dalam makanan, bahkan oleh olah raga yang berlebihan, maka disarankan untuk tetap mengkonsumsi sumber antioksidan seperti karotenoid yang berasal dari luar tubuh secara teratur, sesuai dengan kondisi, kebiasaan hidup dan kepentingan masing-masing individu. Dengan mengonsumsi karotenoid maka kemungkinan pemutusan radikal bebas akan berkurang, sehingga resiko penyakit dan kelainan dalam tubuh dapat diminimalisasi.

Kebutuhan karotenoid, beta karoten dan vitamin A di Indonesia, yang terdapat pada produk makanan dapat dilihat pada Tabel 10 dibawah ini.

Tabel 9. Acuan Label Gizi Produk Pangan

Zat Gizi	Nilai Acuan Label Gizi untuk Kelompok Konsumen						
	Satuan	Umum	Bayi 0-6 bln	Anak 7-12 bln	Anak 2-5 thn	Ibu Hamil	Ibu menyusui
Vitamin A*)	RE	600	375	400	440	800	850
Setara karoten total*)	mcg	7200	4500	4800	5280	9600	10200
Setara β-karoten total*)	mcg	3600	2250	2400	2640	4800	5100
Vitamin C	mg	90	40	40	45	90	100
Vitamin E	mg	15	4	6	7	15	19
Zink (Zn)	mg	12	5,5	8	9,4	14,7	13,9
Selenium (Se)	mcg	30	5	13	19	35	40

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- *) Vitamin A bersumber dari pangan (non sintetik)
- * Untuk Vitamin A dari sumber hewan atau retinol, 1 RE setara 1 RAE (Retinol Activity Equivalent)
- * Untuk memenuhi setara RAE dari karoten total, nilai RE dikali 24
- * Untuk memenuhi setara RAE dari β -karoten, nilai RE dikali 12

Dikutip dari : lampiran keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor HK.00.05.52.6291 tanggal 9 agustus 2007

Karotenoid yang digambarkan dalam Tabel 10 berhubungan dengan respon imun yang lebih baik, perlindungan terhadap kanker dan juga berfungsi sebagai antioksidan. Karotenoid, seperti beta karoten dan fucosanthin, dikenal sebagai peredam radikal bebas. Radikal bebas ini, bisa menyebabkan kerusakan sel yang bersifat karsinogenik. Oleh karena itu untuk meredam aktivitas radikal bebas sangat dibutuhkan karotenoid yang memiliki aktivitas antioksidan, karena secara tidak langsung karotenoid berfungsi sebagai anti karsinogenik, anti mutagenik (Yan, 1998), pencegahan dan pengurangan penyakit seperti kronarasis, inflamantori, penurunan fungsi otak, alzheimer, katarak, mencegah proses penuaan pada kulit, serta peningkatan sistem kekebalan tubuh (Shui, *et al.*, 2004).

Vitamin C

Salah satu contoh antioksidan alami yaitu vitamin C. Menurut deMan (1999), vitamin C (Ascorbic Acid) terdapat dalam seluruh jaringan hidup dan dapat mempengaruhi reaksi oksidasi-reduksi dalam jaringan tersebut. Sumber utama vitamin C terdapat pada sayuran dan buah-buahan. Manusia dan kelinci untuk percobaan merupakan satu-satunya jenis primata yang tidak dapat mensintesis vitamin C. Kebutuhan manusia akan vitamin C belum dapat ditentukan secara pasti. Namun, telah diketahui rata-rata kebutuhan vitamin C pada manusia per hari antara 45 sampai 75 mg. Keadaan stres yang berkelanjutan dan terapi obat-obatan bisa meningkatkan kebutuhan akan vitamin C.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 10. Kadar Vitamin C pada Umbi-umbian dan Buah-buahan

No	Jenis Buah	Kadar vitamin C (mg per 100 g)
1	Lengkeng	71
2	Sirsak	20
3	Leci	70
4	Umbi bengkuang	20
5	Jeruk	50-60

Sumber: Astawan dan Kasih, 2008

Vitamin C atau L-asam askorbat merupakan antioksidan yang larut dalam air (*aqueous antioxidant*). Senyawa ini, menurut Zakaria *et al.* (1996), merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Dalam keadaan murni, vitamin C berbentuk kristal putih dengan berat molekul 176, 13 dan rumus molekul $C_6H_8O_6$. Vitamin C memiliki struktur yang mirip dengan struktur monosakarida, tetapi mengandung gugus enadiol.

Secara alami bentuk vitamin C adalah isomer-L. Isomer ini memiliki aktivitas lebih besar dibandingkan dengan bentuk isomer D. Aktivitas vitamin C, bentuk isomer D hanya 10% dari aktivitas isomer L (Muchtadi *et al.*, 1993).

Asam askorbat merupakan antioksidan alamiah yang terdapat dalam berbagai jenis buah-buahan dan sayuran, yang selama pemasakan dapat mengalami kerusakan sampai sedikitnya setengahnya. Asam askorbat merupakan antioksidan larut air. Asam askorbat menangkap secara efektif sekaligus O_2^* (anion superoksida) dan 1O_2 (Singlet oksigen). Asam askorbat dapat memutus reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipid peroksidasi. Pada konsentrasi rendah, asam ini bereaksi secara langsung pada fase cair dengan radikal peroksil LOO^* lalu berubah menjadi askorbil sedikit reaktif. Pada konsentrasi tinggi, asam ini tidak bereaksi. Asam askorbat mempunyai peranan penting dalam perlindungan DNA pada sperma (Fraga *et al.*, 1991)

Asam askorbat sangat mudah teroksidasi secara reversibel menjadi asam L-dehidroaskorbat yang secara kimia sangat labil dan dapat mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan sebagai vitamin C lagi (Buckle, 1987).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Vitamin C (asam askorbat) merupakan antioksidan alami yang mudah dan murah bila dikonsumsi dari alam. Vitamin C sebagai antioksidan berfungsi untuk mengikat O_2 sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi (oxygen scavenger) (Kumalaningsih dan Suprayogi, 2006). Menurut Sudarmadji (1989), vitamin C mempunyai berat molekul 178 dengan rumus molekul $C_6H_8O_6$, dalam bentuk kristal tidak berwarna, memiliki titik cair 190-192 °C, bersifat larut dalam air, sedikit larut dalam aseton/alkohol yang mempunyai berat molekul rendah. Vitamin C sukar larut dalam kloroform, eter dan benzen.

Vitamin C merupakan senyawa yang mudah larut dalam air, , sangat sensitif terhadap kerusakan yang datang dari luar, seperti suhu, gula, garam, pH, oksigen dan katalisator logam.

Vitamin C pada buah bisa hilang secara terus menerus selama pengolahan, misalnya selama blansing dan pencucian, pemotongan dan penggilingan. Paparan udara pada jaringan-jaringan akan menyebabkan hilangnya vitamin C akibat oksidasi. Umumnya kehilangan vitamin C terjadi apabila jaringan dirusak dan kontak dengan udara. Selama penyimpanan dalam keadaan beku pun terjadi kehilangan vitamin C. Makin tinggi suhu penyimpanan makin besar terjadinya kerusakan zat gizi. Dalam bahan pangan beku kehilangan yang lebih besar dijumpai terutama pada vitamin C daripada vitamin yang lain (Rohanah, 2002).

Tabel 11. Kandungan Vitamin dan Mineral Beberapa Jenis Sayuran

Jenis Sayuran	Kalsium (mg)	Besi (mg)	Vit A (SI)	Vit B ₁ (mg)	Vit C (mg)
Bayam	267	3,9	6090	0,08	80
Daun katuk	204	2,7	10370	0,10	239
Daun Kelor	440	7,0	11300	0,21	220
Daun Ketela Pohon	165	2,0	11000	0,12	275
Daun Pepaya	353	0,8	18250	0,15	140
Sawi	220	2,9	6460	0,09	102
Tomat (matang)	5	0,5	1500	0,06	40
Wortel	39	0,8	12000	0,06	6

Sumber: Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI (1992)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Asam askorbat dapat pula bersifat sebagai prooksidan. Asam ini menaikkan penyerapan zat besi di usus dan dapat mereduksi secara *in vitro*. Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang nantinya berfungsi dalam reaksi Fenton. Suplementasi vitamin C sering dilakukan. Tindakan ini berguna dalam proses, penanganan dan pencegahan infeksi, keracunan rokok, alkohol dan lain-lain. Vitamin C juga disarankan dalam penanganan kanker walaupun saat ini belum ada bukti yang jelas.

Menurut Fennema (1996) untuk hasil maksimal, antioksidan-antioksidan primer biasanya dikombinasikan dengan antioksidan *phenolic* atau dengan berbagai agen pengkelat logam lainnya (Tabel 6). Suatu kesinergisan terjadi ketika antioksidan-antioksidan bergabung sehingga menghasilkan aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan yang diuji sendiri-sendiri. Dua jenis antioksidan sangat dianjurkan. Antioksidan yang satu untuk menangkap atau meredakan radikal bebas; antioksidan yang lain mengkombinasikan aktivitas sebagai peredam radikal bebas dan sebagai agen pengkelat.

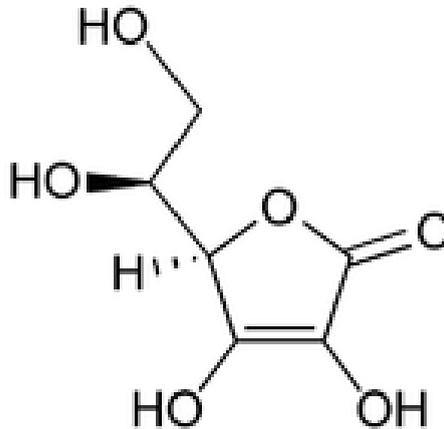
Vitamin C merupakan salah satu antioksidan sekunder dan memiliki cara kerja yang sama dengan vitamin E, yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Dalam beberapa penelitian vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dalam menentukan aktivitas antioksidan (Dalimartha dan Soedibyo, 1998 dalam Praptiwi *et al.* 2006). Vitamin C membantu mempertahankan kondisi tubuh terhadap flu dan flue (meningkatkan sistem kekebalan tubuh), mengurangi tingkat stress dan membantu proses penyembuhan. Vitamin ini juga berperan penting dalam memelihara kesehatan sel-sel kulit sehingga tetap tampak bersih, berseri, dan sehat.

Vitamin C dikenal sebagai senyawa utama tubuh yang dibutuhkan dalam berbagai proses penting, mulai dari pembuatan kolagen (protein berserat yang membentuk jaringan tulang), pengangkut lemak, pengangkut electron dari berbagai reaksi enzimatik, pemacu gusi yang sehat, pengatur tingkat kolesterol, serta pemacu imunitas. Selain itu Vitamin C sangat diperlukan tubuh untuk penyembuhan luka dan meningkatkan fungsi otak agar dapat bekerja maksimal.

Vitamin C dijuluki *Master of Nutrient*, hal ini dikarenakan vitamin C mempunyai kemampuan yang luar biasa. Bila kebutuhan optimal vitamin C dalam tubuh dipenuhi, banyak penyakit bisa dihindarkan bahkan disembuhkan.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Vitamin C dapat disintesis secara alami dalam tanaman dan hewan dan bisa dibuat secara sintetis dari gula. Vitamin C mudah larut dalam air dan mudah rusak oleh oksidasi, panas dan alkali. Sumber vitamin C terutama berasal dari buah-buahan segar akan tetapi sebagian besar berasal dari sayuran dan buah-buahan. Misalnya pada buah jeruk, baik yang dibekukan maupun yang dikalengkan merupakan sumber vitamin C yang tinggi. Begitu juga halnya dengan *berries*, nenas dan jambu. Sayur-sayuran seperti bayam, brokoli, cabe hijau dan kubis juga merupakan sumber vitamin C yang baik, bahkan setelah dimasak. Sedangkan beberapa jenis bahan pangan hewani seperti susu, telur, daging, ikan dan unggas sedikit sekali kandungan vitamin C-nya (Winarno, 1991).



Gambar 5. Struktur Vitamin C

Kekurangan vitamin C menyebabkan defisiensi vitamin C. Dalam keadaan tertentu, keadaan tersebut menimbulkan masalah kesehatan seperti tingginya kolesterol, sakit jantung, arthritis (radang sendi) dan pilek. Dengan demikian asupan vitamin C yang cukup dapat menyeimbangkan kolesterol dan trigliserida. (Winarti, 2010).

Vitamin C juga dikenal sebagai senyawa ampuh untuk menangkal radikal bebas (molekul tidak stabil karena kehilangan elektron). Beberapa diantara radikal bebas itu bersifat toksik dan sangat reaktif. Untuk mengganti elektron yang hilang, radikal bebas merupakan serangkaian reaksi kimia yang menyebabkan kerusakan pada membran sel, mutasi DNA, mempercepat ketuaan dan penyebab penumpukan

Antioksidan, Alami dan Sintetik

lemak. Pemakaian vitamin C sebagai salah satu antioksidan alami secara luas dianjurkan dalam mengobati dan mendetoksifikasi (mengurangi racun) keadaan tersebut. Kerusakan akibat radikal bebas berimplikasi pada timbulnya sejumlah penyakit, termasuk kanker, kardiovaskuler dan katarak.

Vitamin E

Vitamin E merupakan sebuah senyawa fenolik dan sebagaimana umumnya senyawa fenolik dapat menangkap radikal bebas. Vitamin E merupakan antioksidan larut lemak yang utama dan terdapat dalam membran seluler dimana vitamin ini mereduksi radikal bebas lipid lebih cepat dari pada oksigen.

Vitamin E dengan nama kimia tokoferol dikenal sebagai antiosidan yang dipercaya dapat mencegah berbagai macam penyakit seperti kanker, jantung koroner, katarak dan sebagainya dengan cara menjinakkan molekul-molekul radikal bebas yang berbahaya serta menghambat laju proses penuaan. Radikal bebas tergantung pada kualitasnya, merupakan bagian integral dari makanan yang dikonsumsi atau mungkin diproduksi melalui proses oksidatif dalam tubuh.

Selain sebagai 'pemakan' radikal bebas, vitamin E berperan meningkatkan ketahanan tubuh. Vitamin E juga berperan mencegah konversi nitrit menjadi nitrosamine (salah satu zat karsinogenetik) dan meningkatkan respon kekebalan. Beberapa studi menunjukkan defisiensi vitamin E akan menekan produksi antibodi dan merusak respon kekebalan.

Vitamin yang disebut sebagai vitamin 'kecantikan', mudah ditemukan pada produk-produk kecantikan, umumnya yang berhubungan dengan pemeliharaan kesehatan kulit. Vitamin E adalah salah satu vitamin antioksidan yang dapat melindungi sel-sel tubuh akibat radikal bebas. Vitamin E dapat melindungi sel-sel kulit dari serangan radikal bebas dan melindungi kerusakan DNA pada sel-sel kulit sehingga bisa mencegah kerusakan kolagen dan elastin yang memicu terjadinya kulit keriput dan kendur. Selain itu vitamin E juga bisa digunakan untuk mengatasi jerawat, peradangan, serta bisa mempercepat proses penyembuhan luka.

Vitamin E mempunyai sifat antioksidan yang larut dalam lemak. Salah satu keunggulan antioksidan yang larut lemak adalah dapat melindungi kolesterol LDL agar tidak mudah teroksidasi. Kolesterol

Antioksidan, Alami dan Sintetik

LDL yang tidak terlindungi akan mudah termutasi oleh proses oksidasi. Sekali terjadi oksidasi, partikel kolesterol LDL akan berubah bentuk menjadi kerak lemak dan berpotensi menyebabkan penyumbatan pembuluh darah. Itulah sebabnya, selain untuk kecantikan, vitamin E dalam tubuh juga akan membantu mengurangi resiko terjadinya penyakit stroke. Selain itu, vitamin E juga dapat melindungi vitamin-vitamin lain yang masuk ke dalam tubuh. Bila sepanjang saluran pencernaan tubuh kita terdapat vitamin E, hal ini dapat mencegah oksidasi vitamin B kompleks dan vitamin C (Astawan dan Kasih, 2008)

Tabel 12. Kadar Vitamin E Pada Beberapa Produk

NO	Produk	Jumlah Sajian	Kadar Vitamin E (mg per saji)
1	Produk Tomat dikalengkan tanpa garam	1 cangkir	11,27
2	Saus spageti	1 cangkir	5,10
3	Saus tomat	1 cangkir	5,10
4	Pepaya Segar	1 potong	2,22

Sumber : USDA National Nutrient Database for Standard Reference (2007)

Selain yang tersebut diatas tauge juga kaya akan vitamin E. Dengan mengonsumsi tauge yang kaya akan vitamin E akan melindungi sel-sel telur atau spermatozoa dari berbagai kerusakan akibat serangan radikal bebas. Serangan radikal bebas pada spermatozoa kemungkinan dapat menyebabkan sel tersebut cacat, misalnya terjadi abnormalitas pada bagian ekor atau kepala, sehingga mempengaruhi motilitas (daya gerak) spermatozoa tersebut dan membuahi sel telur. Akibatnya, proses kehamilan pun sulit terjadi. Serangan radikal bebas pada sel telur wanita juga akan berdampak negative sehingga proses pembuahan tidak dapat berlangsung dengan baik.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 13. Beberapa Contoh Substansi Antioksidan Alamiah Yang Terdapat Dalam Bahan Pangan.

No	Komponen Antioksidan	Bahan Pangan
1	Amin biogen	Antioksidan berdasarkan fungsi amin dan fenol Keju
2	Fenol: Tirosol, hidroksitirosol Vanilin, asam panilat Timol Kalpakrol Gingerol Zingeron	Minyak oliv Panili Minyak atsiri dari <i>tyme</i> Minyak Jahe Jahe
3	Polifenol : Flavonoid Flavon, Flavonol Heterosida flavonoat Kalkon auron Biflavonoid	- Efektifitas sebagai antioksidan tergantung pada derajat dan posisi OH - Pigmen sayuran, terdapat dalam kutikul poliar dan sel epidermik daun
4	Tanin : Asam galat, asam elagat Proatolianidol	- Digunakan dalam industri atau dalam fitoterapi - Minuman anggur

Sumber : Prosiding Seminar, 1996

Antioksidan sering digunakan dalam berbagai produk makanan dan aktivitas dari antioksidan tersebut sangat bergantung pada suhu, komposisi dari makanan, struktur makanan dan ketersediaan oksigen. Suhu tertinggi untuk aktivitas antioksidan pada minyak goreng yaitu antara 180 sampai 200 °C, sedangkan suhu terendah yaitu 5 °C pada produk seperti margarin dan mayonaise yang disimpan dalam lemari pendingin. Selain dari proses dan suhu penyimpanan dari produk makanan, kandungan yang terdapat dalam bahan makanan seperti air, karbohidrat, protein, dan lain sebagainya juga ikut mempengaruhi aktivitas antioksidan (Gordon 1990)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

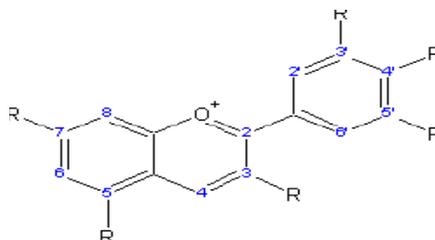
Antosianin

Antosianin merupakan glikosida antosianidin, yaitu merupakan garam polihidroksiflavilium (2 - arilbenzopirilium). Sebagian besar antosianin alami adalah glikosida (pada kedudukan 3- atau 3,5-) dari sejumlah terbatas antosianidin (Sastrohamidjojo, 1996).

Senyawa flavonoida adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat merah, ungu dan biru dan kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Sebagian besar senyawa flavonoida alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoida terikat pada gula. Glikosida merupakan kombinasi antara suatu gula atau suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006).

Antosianin adalah pigmen yang memberikan warna merah keunguan pada sayuran, buah-buahan dan tanaman bunga yang merupakan senyawa flavonoid yang bisa melindungi sel dari sinar ultraviolet. Antosianin pada tanaman hadir bersamaan dengan pigmen alami seperti flavonoid, karotenoid, anthaxanthin, dan betasianin (Astawan dan Kasih, 2008).

Antosianin merupakan turunan garam flavilium atau benzilflavilium (3,5,7,4' tetrahidroksiflavilium). Antosianin memiliki sifat mudah larut dalam air dan merupakan suatu gugusan glikosida yang terbentuk dari gugus aglikon dan glikon (Markakis, 1982). Apabila gugus glikon dihilangkan melalui proses hidrolisis maka dihasilkan antosianidin. Gugus gula yang umum berikatan dengan antosianidin misalnya glukosa, galaktosa, xilosa, arabinosa dan rhamnosa. Antosianidin ini akan berwarna merah di lingkungan asam, biru di lingkungan basa dan warna ungu di lingkungan netral (Francis, 1982 cit Kristie, 2008). Menurut Jackman dan Smith (1996), terdapat delapan belas jenis antosianidin, tetapi hanya enam yang memegang peranan penting dalam bahan pangan yaitu pelargonidin, sianidin, delphinidin, peonidin, petunidin dan malvidin. Antosianidin memiliki struktur kimia yang dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 6. Struktur dasar antosianidin (Jackman dan Smith, 1996)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Sianidin yang terdapat pada buah-buahan yang kaya antosianin juga berfungsi sebagai antioksidan yang melindungi membrane sel lemak dari oksidasi. Antosianidin merupakan inti aglikon antosianin yang menyebabkan terbentuknya warna pada sayuran, buah-buahan yaitu warna merah, biru dan kuning.

Sifat dan warna antosianin di dalam jaringan tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jumlah pigmen, letak dan jumlah gugus hidroksil dan metoksil yang tersubsitusi dan berbagai macam pengaruh lingkungan

Antosianin memiliki fungsi fisiologis yaitu sebagai antioksidan, perlindungan terhadap sel-sel hati (Kumalaningsih dan Suprayogi, 2006). Antosianin bermanfaat bagi kesehatan tubuh karena dapat berfungsi sebagai antioksidan, antihipertensi, dan pencegah gangguan fungsi hati, jantung koroner, kanker, dan penyakit-penyakit degeneratif, seperti arteosklerosis. Antosianin juga mampu menghalangi laju perusakan sel radikal bebas akibat nikotin, polusi udara, dan bahan kimia lainnya. Antosianin berperan dalam mencegah terjadinya penuaan, kemerosotan daya ingat dan kepikunan, polyp, asam urat, penderita sakit maag (asam lambung). Selain itu, antosianin juga memiliki kemampuan menurunkan kadar gula darah (antihiperghlisemik). Total kandungan antosianin bervariasi pada setiap tanaman dan berkisar antara 20 mg/100 g sampai 600 mg/100g berat basah.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa antosianin yang ada pada anggur merah dapat meningkatkan kandungan flavonoid dalam darah sehingga meningkatkan kemampuannya untuk menangkap radikal bebas. Selain itu antosianin juga mempunyai efek sebagai anti radang, antibakteri, dan untuk mencegah penyakit diabetes mellitus (Astawan dan Kasih, 2008).

Kandungan antosianin beberapa jenis sayuran dan buah-buahan dapat dilihat pada Tabel 14

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 14. Kadar Antosianin dalam beberapa Bahan Pangan

Bahan Pangan	Kadar Antosianin (mg per 100 g)
Marion Blackberries	433
Blackberries	353
Blubberies, hasil kebun	529
Blubberies, liar	705
Kismis hitam	533
Buah murbei	1.993
Chokeberry	2.147
Sweet cherry	177
Cranberry	133
Anggur	192
Plum	250
Black raspberry	845
Red raspberry	116
Strawberry	69
Kubis merah	113
Lobak merah	116
Terong	35
Bawang merah	39
Kacang Hitam	23

Sumber: Astawan dan Kasih, 2008

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi kekuatan antioksidan pada buah-buahan dan sayuran yang berwarna ungu, diantaranya adalah tingkat kematangan buah, berbagai proses pengolahan seperti pada proses pengalengan dan berbagai pengolahan

Isoflavon

Menurut Winarti (2010), isoflavon merupakan salah satu golongan flavonoid yang dapat membantu mengurangi resiko penyakit jantung koroner, prostat dan kanker. Isoflavon bersifat sebagai fitoestrogen karena kemampuan isoflavon yang dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen pada sel. Ditambahkan Schmidl dan labuza (2000), isoflavon berpotensi sebagai pelindung dan pencegah penyakit-penyakit kardiovaskular, kanker dan osteoporosis), sehingga isoflavon dapat dimanfaatkan sebagai komponen pangan agar menjadi pangan fungsional.

Isoflavon umumnya terdapat pada kacang-kacangan dengan kandungan sekitar 0,25%. Pada kedelai, isoflavon terdapat dalam

Antioksidan, Alami dan Sintetik

bentuk glikosida, yang terdiri dari 64% genistin, 23% daidzin, dan 13% glisitin, yang dominan pada kedelai fermentasi adalah aglikon yang merupakan bentuk aktif dari glikosida dari pelepasan glukosa dari glikosida.

Isolat kedelai mengandung isoflavon yang dapat menurunkan kolesterol LDL dan menaikkan kolesterol HDL dibandingkan dengan pemberian kasein. Penurunan kolesterol LDL dan meningkatnya kolesterol HDL kemungkinan juga dapat disebabkan pengaruh senyawa antioksidan isoflavon, yang terdapat di dalam tempe maupun kedelai (Marsono, *et al.*, 1997 dalam Sri, 2008).

Kedelai mengandung isoflavon, yang merupakan salah satu senyawa fitokimia (Muchtadi, 2010). Kandungan isoflavon pada kedelai berkisar 2-4 mg/g kedelai. Makanan olahan yang terbuat dari kedelai seperti tahu, susu kedelai, tepung kedelai, dan kedelai utuh mengandung isoflavon sebanyak 130-380 mg/gram. Akan tetapi, kecap dan minyak kedelai tidak mengandung isoflavon. Konsentrat kedelai yang biasanya digunakan sebagai bahan tambahan pangan mengandung jumlah isoflavon yang berbeda tergantung pada proses pengolahannya. Berikut ini kadar isoflavon berbagai produk olahan pangan.

Tabel 15. Kadar Isoflavon Total dalam Berbagai Produk Olahan Kedelai

No	Produk Olahan Kedelai	Kadar Isoflavon (mg/100g bdd)
1	<i>Miso</i>	2,55
2	<i>Miso soup mix, dry</i>	0,39
3	<i>Soy milk</i>	9,56
4	<i>Soybean butter</i>	0,57
5	<i>Soybean oil</i>	0,00
6	<i>Soy flour, full fat, roasted</i>	198,95
7	<i>Soy protein isolate</i>	97,43
8	<i>Tempe burger</i>	3,00
9	<i>Tofu (Mori-Nu, silken, firm)</i>	7,91
10	<i>Tofu (Vitasoy, silken, soft)</i>	33,17

Sumber: Winarti (2010)

Senyawa isoflavon tersebut pada umumnya berupa senyawa kompleks atau konjugasi dengan senyawa ikatan glukosa. Selama proses pengolahan, senyawa isoflavon dapat mengalami transformasi baik

Antioksidan, Alami dan Sintetik

melalui proses fermentasi maupun proses non-fermentasi, terutama melalui proses hidrolisa, sehingga dapat diperoleh senyawa senyawa isoflavon bebas yang disebut aglikon (Prawiroharsono, 1998).

Genistein dan daidzein merupakan bentuk isoflavon dalam kedelai dan bentuk glikosidanya adalah genistin dan daidzein. Bentuk glikosida dari isoflavon ini akan terlepas setelah proses hidrolisa oleh enzim usus yaitu glukosidase yang kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi berbagai jenis metabolit spesifik. (Winarti, 2010). Ditambahkan Anderson dan Wolf (1995), kedelai mengandung dua jenis isoflavon diantaranya adalah genistein dan daidzein, ditambah satu jenis isoflavon minor adalah glisitein.

Kandungan isoflavon pada produk-produk dari kedelai jumlahnya bervariasi tergantung pada jenis, kondisi pertumbuhan, cara pengolahan dari kedelai tersebut. Ketersediaan biologis isoflavon sangat tinggi apabila isoflavon dikonsumsi manusia sebagai makanan ataupun sebagai suplemen makanan. Akan tetapi tidak semua produk dari kedelai mengandung genistein dan daidzein karena kedua senyawa ini bisa hilang selama pengolahan (Winarti, 2010).

Selenium

Selenium adalah mineral yang penting untuk sintesis protein dan aktivitas enzim glutathion peroksidase. Defisiensi Se pada manusia bisa menyebabkan nekrosis hati dan penyakit degeneratif. Manusia yang kekurangan selenium akan lebih berisiko menderita kanker dibandingkan mereka yang berkecukupan selenium (Winarsi, 2007).

Selenium merupakan mineral pada konsentrasi rendah dalam rantai makanan yang penting untuk nutrisi manusia. Berperan dalam nutrisi manusia yang disebabkan peran selenocysteine asam amino sebagai komponen dari selenoprotein mamalia diantaranya adalah glutathion peroksidase (Pokorny, *et al.*, 2001).

GSH-Px mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida termasuk peroksida lipid yang disintesis dalam sel. Glutathion peroksidase adalah enzim antioksidan yang mengandung selenium (Se) pada sisi aktifnya. Kerja enzim ini mengubah molekul hidrogen peroksida (yang dihasilkan SOD dalam sitosol dan mitokondria) dan berbagai hidroserta lipid peroksida menjadi air (Winarsi, 2007).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Selenium terdapat dalam bentuk organik yang merupakan bentuk nutrisi utama bagi manusia dan hewan. Selenium penting untuk sintesis dan aktivitas glutathione peroksidase yang mengkatalisa reduksi hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik. Aktivitas enzim ini tergantung pada adanya 4 atom selenium pada sisi aktif enzim.

Suplementasi selenium memiliki pengaruh positif terhadap sistem kardiovaskular, sistem kekebalan tubuh dan pada kesehatan tubuh pada umumnya, tidak semua memberikan peranan sebagai antioksidan. Selenium dalam jumlah cukup diperlukan untuk meminimalkan resiko kanker karena selenium dapat berfungsi untuk pencegahan terbentuknya radikal bebas (Pokorny, *et al.*, 2001).

Selenium juga berfungsi sebagai sistem imunitas (kekebalan) tubuh dan regulasi kelenjar tiroid. Karena peranan dari selenium yang cukup besar, oleh karena itu kebutuhan selenium harus dicukupi dalam asupan diet sehari-hari. Selenium mempunyai berbagai peran, diantaranya adalah proteksi terhadap jaringan tubuh dari dampak negatif stress oksidatif, pemeliharaan dan pertahanan tubuh terhadap infeksi, serta modulasi perkembangan dan pertumbuhan tubuh.

Konsumsi serat pangan yang berlebihan (>35gr/hari) bias menghambat penyerapan mineral didalam tubuh termasuk mineral selenium. Daya cerna dan daya serap dari selenium dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti pada sumber bahan pangan, pola makan, dan kondisi kesehatan tubuh. Bahan pangan yang lebih mudah dicerna dan diserap adalah bahan pangan yang bersumber dari bahan pangan hewani dibandingkan dengan yang nabati (Astawan dan Kasih, 2008).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 16. Kecukupan Harian Mineral Selenium Pada Berbagai Kelompok Usia (microgram/hari)

Kelompok Usia	Asumsi bobot tubuh	Kebutuhan Rata-rata Harian (mikrogram)		Kecukupan Yang dianjurkan (microgram/hari)
		Per kg bobot tubuh	Total	
0-6 bulan	6	0,85	5,1	6
7-12 bulan	9	0,91	8,2	10
1-3 tahun	12	1,13	13,6	17
4-6 tahun	19	0,92	17,5	22
7-9 tahun	25	0,68	17,0	21
Wanita 10-18 tahun	49	0,42	20,6	26
Pria 10 -18 tahun	51	0,50	22,5	32
Wanita 19-65 tahun	55	0,376	20,4	26
Pria 19-65 tahun	65	0,42	27,3	34
Wanita >65 tahun	54	0,37	20,2	25
Pria > 65 tahun	54	0,41	26,2	33
Kehamilan 0-3 bulan				28
Kehamilan 4-6 bulan				30
Masa menyusui 0-6 bulan				35
Masa Menyusui 7-12 bulan				42

Sumber: Astawan dan Kasih, 2008

Tabel 17 Menyajikan kecukupan harian mineral selenium pada berbagai kelompok usia. Angka kecukupan gizi dari selenium yang dianjurkan ini merupakan angka kebutuhan gizi lebih besar dari kebutuhan tubuh yang sesungguhnya. Tujuannya adalah untukantisipasi seandainya rendah nya daya cerna dan daya serap terhadap selenium yang ada pada makanan.

4.4 Antioksidan Sintetik

Beberapa antioksidan sintetik yang lebih populer digunakan adalah senyawa fenolik seperti butylated hydroxyanisol (BHA), terbutilasi hidroksi - toluena (BHT) , butylhydroquinone tersier (TBHQ), dan ester dari asam galat, misalnya gallate propil (PG). Antioksidan fenolik sintetis selalu diganti oleh alkil untuk meningkatkan kelarutannya dalam lemak dan minyak (Gordon *et al*, 2001).

Antioksidan sintetik utama yang digunakan mempunyai batas penggunaan yaitu 0,02 % dari kandungan lemak atau minyak.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Antioksidan yang paling cocok untuk minyak nabati adalah TBHQ. BHA dan BHT cukup stabil terhadap panas dan sering digunakan untuk stabilisasi lemak dalam proses pemanggangan dan penggorengan produk.

Beberapa antioksidan, seperti BHA dan BHT, untuk mendapatkan hasil yang sinergis maka sebaiknya digunakan dalam kombinasi dengan . Antioksidan sintetik telah diuji dengan sangat teliti oleh toksikologi, akan tetapi penggunaan dalam jangka panjang akan memberikan efek pada tubuh.

Penggunaan bahan alami seperti antioksidan alami lebih sehat dan lebih aman daripada antioksidan sintesis. Sejak tahun 1980 antioksidan alami telah muncul sebagai alternatif untuk antioksidan sintetik .

Tabel. 17 Antioksidan yang diizinkan digunakan dalam makanan

Antioksidan Primer	Sinergis
Tocopherols	Asam sitrat dan isopropil sitrat
Gum guacic	Asam phosphoric
Propyl gallate	Asam thiodipropionic dan didodecyl, dilauryl, dan dioctadecyl esters
Butylated hydroxyanisole (BHA)	Asam ascorbat dan ascorbyl
Butylated hydroxytoluene (BHT)	Palmitate
2,4,5-Trihydroxybutyphenone (TBHP)	Asam tartarat
4-Hydroxymethyl-2-6-di- <i>tert</i> -butyphenol	Lecithin
<i>tert</i> -Butylhydroquinone (TBHQ)	

Sumber : Fennema 1996

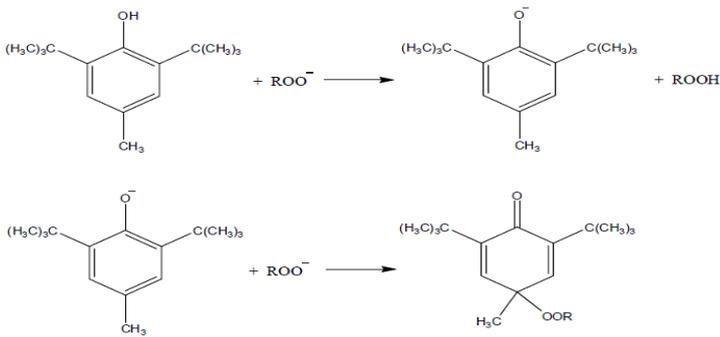
a. Butil Hidroksi Anisol (BHA)

BHA memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada lemak hewan dalam sistem makanan panggang, namun relatif tidak efektif pada minyak tanaman. BHA bersifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk padat putih dan dijual dalam bentuk tablet atau serpih, bersifat volatil sehingga berguna untuk penambahan ke materi pengemas.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

b. Butil Hidroksi Toluen (BHT)

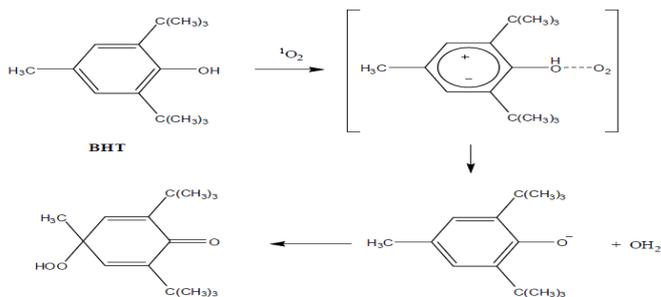
Antioksidan sintetik BHT memiliki sifat serupa BHA, akan memberi efek sinergis bila dimanfaatkan bersama BHA, berbentuk kristal padat putih dan digunakan secara luas karena relatif murah. Untuk meningkatkan ketahanan minyak sawit RBD terhadap oksidasi, diperlukan tambahan antioksidan dari luar sebagai pengganti antioksidan alami yang hilang akibat proses. Salah satu antioksidan sintetik yang sering digunakan adalah butil hidroksi toluena (BHT). Senyawa ini tidak beracun (Ketaren, 1986) tapi menunjukkan aktifitas sebagai antioksidan dengan cara men-deaktifasi senyawa radikal seperti ditampilkan pada Gambar 9.



Gambar 7. Mekanisme BHT Dalam Melindungi Minyak/Lemak (Ketaren, 1986)

BHT ini juga dapat berfungsi sebagai quencher (pemadam) bagi singlet oksigen (Fukuzawa, 1998; Herawati dan Syafsir Akhlus, 2006), seperti yang ditampilkan pada Gambar 9. Selain mempunyai kelarutan yang baik dalam minyak/lemak, BHT juga memiliki aktifitas yang baik terhadap radikal (Merck Index, 1983; Herawati dan Syafsir Akhlus, 2006), serta cukup tahan terhadap proses pemanasan (Berry, 2003). Oleh karena itu BHT memiliki potensi yang sangat besar sebagai salah satu alternatif antioksidan yang digunakan untuk memperluas penggunaan minyak sawit RBD.

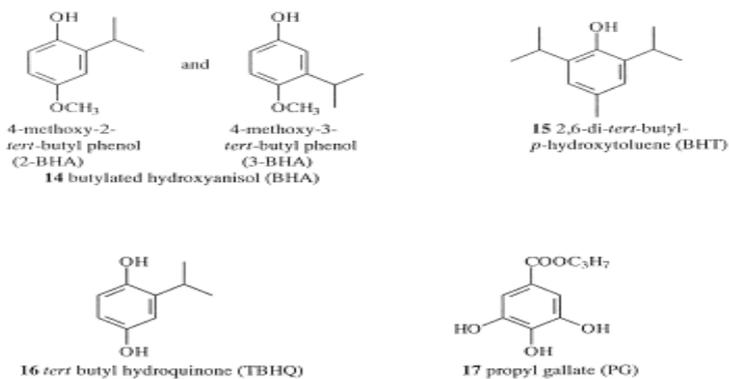
Antioksidan, Alami dan Sintetik



Gambar 2: Reaksi BHT dengan oksigen singlet

Gambar 8. Reaksi BHT dengan Singlet Oksigen (Herawati dan Syafsir Akhlus, 2006)

Fotooksidasi, BHT berperan sebagai penangkap senyawa radikal, dalam menghambat reaksi karena dalam reaksi fotooksidasi juga terbentuk senyawa radikal ketika hidropersida terurai menjadi radikal hidropersoksi dan radikal alkoksi (Maforimbo, 2002; Herawati dan Syafsir Akhlus, 2006). Singlet oksigen bereaksi dengan asam lemak dengan cara yang berbeda dengan oksigen triplet. Singlet oksigen bersifat elektrofil yang cenderung menangkap elektron untuk mengisi kekosongan elektron pada orbital molekulnya. Di lain pihak, oksigen triplet hanya bereaksi dengan senyawa radikal (Min & Boff, 2002 ; Herawati and Syafsir Akhlus, 2006).



Gambar 9. Rumus bangunan BHA, BHT, TBHQ dan PG (Min & Boff, 2002)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

c. Propil Galat

Propil galat mempunyai karakteristik sensitif terhadap panas, terdekomposisi pada titik cairnya 148 °C, dapat membentuk kompleks warna dengan ion metal, sehingga kemampuan antioksidannya rendah. Propil galat memiliki sifat berbentuk kristal padat putih, sedikit tidak larut lemak tetapi larut air, serta memberi efek sinergis dengan BHA dan BHT.

d. Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ)

TBHQ dikenal sebagai antioksidan paling efektif untuk lemak dan minyak, khususnya minyak tanaman. TBHQ memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada penggorengan tetapi rendah pada pembakaran. TBHQ dikenal berbentuk bubuk putih sampai coklat terang, mempunyai kelarutan cukup pada lemak dan minyak, tidak membentuk kompleks warna dengan Fe dan Cu tetapi dapat berubah pink dengan adanya basa.

Tabel 18. Contoh beberapa Antioksidan untuk Produk Pangan di Beberapa Negara

	Senyawa fenolik	Asam dan Ester
Amerika Serikat	Butil Hidroksi Anisol (BHA) Butil Hidroksi Toluena (BHT) Tert Butil Hidroksi quinon (TBHQ) Trihidroksibutiropenon Propil galat Tokoferol 4-hidroksimetil-2,6-ditertier butilfenol	Diauril tiopropionat Asam tiopropionat
Kanada	BHA BHT Propil Galat Tokoferol	Asam Askorbat Askorbil palmitat Askorbil stearat Asam sitrat Lesitin sitrat Monogliserida sitrat Monoisopropil sitrat Asam tartarat

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 19. Keuntungan dan Kerugian Antioksidan Sintetik dan Antioksidan Alami

Antioksidan sintetik	Antioksidan Alami
Murah	Mahal
Digunakan secara umum	Digunakan secara khusus untuk beberapa produk
Meningkatkan keselamatan	Merupakan bahan yang tidak berbahaya
Penggunaannya dibatasi untuk beberapa produk	Penggunaannya terus meningkat dan penggunaannya terus berkembang
Daya larut rendah	Jangkauan daya kelarutan yang luas
	Meningkatkan daya tarik
Mengurangi daya tarik	

Sumber : Gordon *et al*, 2001

BAB V.

Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan tubuh mempunyai mekanisme tertentu dalam aktivitasnya. Tingginya kadar MDA dalam plasma merupakan salah satu indikasi telah terjadi aktivitas oksidasi. Konsumsi antioksidan yang cukup dapat menekan aktivitas oksidasi. Senyawa flavonoid diketahui banyak terdapat dalam sayuran dan buah-buahan, serta lebih berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan vitamin C dan E (Rice-Evans *et al.*, 1995)

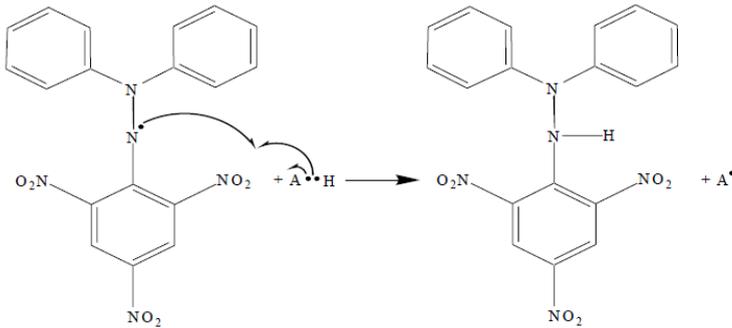
Menurut Wise *et al.*, (1996) bahwa konsentrasi peroksida lipid menurun dari 16,85 menjadi 3,13 $\mu\text{mol/l}$, pada pemberian suplementasi jus ekstrak sayuran dan buah kering seperti wortel, beet, brokoli, bayam, tomat, apel, jeruk, nenas, dan pepaya selama 1 minggu. Penurunan oksidasi lipoprotein sebesar 34% juga terjadi pada pemberian 600 mg bubuk bawang putih selama 2 minggu (Phelps dan Harris, 1993).

Antioksidan dapat menghentikan proses perusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan lagi mencuri elektron dari sel dan DNA.

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 (empat) macam mekanisme reaksi yaitu:

- a. Pelepasan hidrogen dari antioksidan
- b. Pelepasan elektron dari antioksidan
- c. Addisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan.
- d. Pembentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

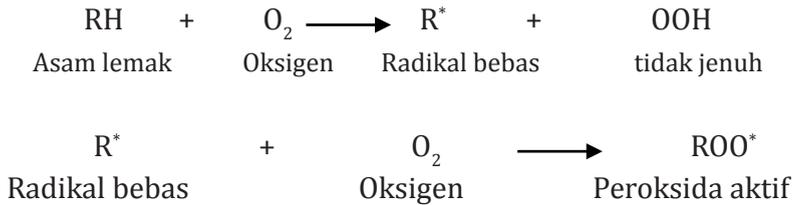
Antioksidan, Alami dan Sintetik



Gambar 10. Reaksi radikal DPPH dengan Antioksidan (Windono et al., 2001)

Prinsip kerja dari pada antioksidan dalam menghambat otooksidan pada lemak dapat dilihat sebagai berikut :

Oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh. Kemudian radikal bebas yang terbentuk akan beraksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif.



Apabila dalam suatu asam lemak yang terdapat dalam minyak tidak mengandung antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap lemak. Apabila ditambah suatu antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan antioksidan tersebut. Sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan dengan penambahan suatu antioksidan.

Mekanisme kerja antioksidan primer adalah dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif dengan cara memutus reaksi berantai (polimerisasi) atau dikenal dengan istilah juga *chain-breaking-antioxidant* (Winarsi, 2007).

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Mekanisme kerja antioksidan sekunder adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (*free radical scavenger*). Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Antioksidan sekunder terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang terkandung didalam antioksidan alami ini adalah vitamin C, vitamin E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin, asam lipoat, bilirubin dan albumin, likopen dan klorofil (Winarsi, 2007). Antioksidan sintetik dibuat dari bahan-bahan kimia antara lain *butylated hydroxyanisol* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* (PG) (Heo *et al.*, 2005). Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme berikut

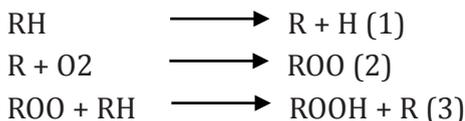
- (a) memberikan suasana asam pada medium (sistem makanan)
- (b) meregenerasi antioksidan utama
- (c) mengkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan
- (d) menangkap oksigen
- (e) mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen.

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh 4 macam reaksi adalah : (1) pelepasan hidrogen dari antioksidan, (2) pelepasan elektron dari antioksidan, (3) penambahan lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan, (4) pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Ketaren, 1986).

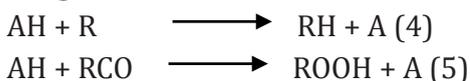
Pada antioksidan tersier enzim-enzim tersebut berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat aktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA akibat radikal bebas dapat dicirikan oleh rusaknya *single* atau *double strand* pada gugus basa dan non- basa (Winarsi, 2007).

Menurut Pokorny (1971), mekanisme kerja antioksidan dalam menghambat proses ketengikan adalah sebagai berikut

Antioksidan, Alami dan Sintetik



Pengaruh antioksidatif antioksidan:



Reaksi (1) sampai (3) menunjukkan perubahan prinsip yang terjadi selama reaksi oksidasi. Radikal bebas yang terbentuk dari asam lemak tidak jenuh sebagai akibat pengaruh panas, cahaya dan logam berat (1). Radikal bebas bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida (2). Radikal peroksida mengikat semua atom hidrogen dari molekul asam lemak membentuk radikal asam lemak yang baru dan hidroperoksida (3). Zat antioksidan bereaksi dengan radikal asam lemak dan radikal peroksida (4) dan (5). Radikal bebas menjadi kurang aktif dan radikal antioksidan yang terbentuk tidak mampu melanjutkan rantai oksidasi lebih lanjut.

5.1 Mekanisme berbagai senyawa antioksidan

a. Flavonoid

Flavonoid memberikan kontribusi pada aktivitas antioksidannya secara *in vitro* dengan cara flavonoid mengikat (kelasi) ion-ion metal seperti Fe dan Cu. Ion-ion metal seperti Cu dan Fe ini, dapat mengkatalisis reaksi yang akhirnya memproduksi radikal bebas. (Mira *et al.*, 2002 ; Muchtadi 2012). Flavonoid merupakan pembersih radikal bebas yang efektif secara *in vitro*. Tetapi, Walaupun mengonsumsi flavonoid dalam jumlah tinggi, konsentrasi flavonoid dalam plasma dan intraseluler manusia hanya sekitar 100 – 1000 kali lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi antioksidan lain seperti asam askorbat (vitamin C). Sebagian besar Fe dan Cu terikat dengan protein pada organisme hidup, mengakibatkan membatasinya untuk ikut dalam reaksi pembentukan radikal bebas. Walaupun flavonoid mempunyai kemampuan untuk mengikat ion-ion metal, akan tetapi tidak diketahui senyawa flavonoid ini dapat berfungsi sebagai pengikat ion metal pada kondisi normal. (Frei dan Higdon, 2003 ; Muchtadi 2012). Flavonoid juga bisa

Antioksidan, Alami dan Sintetik

mengikat zat besi non-home dan menghambat penyerapannya dalam usus. Yang dimaksud zat besi non-home adalah bentuk zat besi yang terdapat pada bahan pangan nabati, berbagai produk olahan susu dan suplemen zat besi. Dengan meminum satu cangkir teh setelah makan maka dapat menghambat penyerapan zat besi non home sebanyak 70% yang terkandung dalam makanan yang dikonsumsi tersebut. (Hurrell *et al.*, 1999 ; Zijp *et al.*, 2000 ; Muchtadi, 2012) . Minuman yang mengandung flavonoid sebaiknya tidak dikonsumsi dalam waktu yang bersamaan, untuk memaksimalkan penyerapan zat besi non-home dari makanan.

Mekanisme pencegahan timbulnya kanker oleh senyawa flavonoid diantaranya adalah

- 1) Stimulasi aktivitas enzim-enzim detoksifikasi fase II (Kong *et al.*, 2001 ; Walle dan Walle, 2002). Enzim-enzim detoksifikasi fase II akan mengkatalisis reaksi yang meningkatkan ekskresi senyawa toksik atau bahan kimia karsinogenik dalam tubuh.
- 2) Menjaga aturan siklus sel yang normal (Chen *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2004). Jika DNA mengalami kerusakan, siklus sel akan berhenti pada titik tempat terjadinya kerusakan sehingga memberi kesempatan pada DNA untuk melakukan mengaktifkan jalur yang membawa pada kematian sel jika kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki (Stewart *et al.*, 2003)
- 3) Menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis (Sah *et al.*, 2004 ; Kavanagh *et al.*, 2001 ; Ramos, 2007).
- 4) Menghambat invasi tumor dan angiogenesis (Bagli *et al.*, 2004 ; Kim, 2003). Dengan bantuan enzim-enzim *matrix-metalloproteinases* sel-sel kanker akan menyerang jaringan normal.
- 5) Mengurangi terjadinya peradangan (inflasi) (Sakata *et al.*, 2003 ; Cho *et al.*, 2003). Peradangan ini bisa terjadi akibat produksi radikal bebas secara lokal oleh enzim-enzim inflamasi (inflammatory enzymes)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Mekanisme pencegahan timbulnya penyakit kardiovaskuler oleh flavonoid adalah sebagai berikut:

- 1) Mengurangi inflamasi (Sakata *et al.*, 2003 ; Cho *et al.*, 2003).
- 2) Menurunkan ekspresi adhesi molekuler sel-sel vaskuler (Choi *et al.*, 2004 ; Ludwig *et al.*, 2004). Pelekatan sel-sel darah putih merupakan salah satu tahap awal dalam perkembangan aterosklerosis yang berasal dari darah k dinding arteri.
- 3) Meningkatkan aktivitas nitrik oksida sintase (eNOS) endotelial (Anter *et al.*, 2004) Enzim yang mengkatalisis pembentukan nitrik oksida oleh sel-sel endotelial vaskuler disebut dengan eNOS. Untuk mempertahankan relaksasi arteri (vasodilatasi) maka diperlukan nitrik oksida. Vasodilatasi yang terganggu berhubungan dengan meningkatnya resiko timbulnya penyakit kardiovaskuler (Duffy dan Vita, 2003)
- 4) Mengurangi agregasi platelet (Deana *et al.*, 2003 ; Bucki *et al.*, 2000)

Penghambatan agregasi platelet merupakan strategi untuk pencegahan primer dan sekunder timbulnya penyakit kardivaskuler.

b. Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen alami dari hasil sintesis tanaman, algae, dan bakteri fotosintetik. Adapun molekul berwarna tersebut adalah merupakan sumber warna kuning, merah dan oranye bermacam-macam tanaman (IARC, 2008 ; Muchtadi, 2012). Dalam tanaman , karotenoid memiliki fungsi antioksidan adalah sebagai inaktivasi singlet oksigen, suatu oksidan yang terbentuk selama fotosintesis. (Halliwell dan Gutteridge, 1999 ; Muchtadi, 2012). Pada proses dalam membersihkan singlet oksigen , karoten mengabsorpsi ekse enenrgi dari singlet oksigen dan kemudian melepaskannya sebagai panas. Karotenoid diperlukan dalam mempertahankan jaringan tanaman karena singlet oksigen dapat terbentuk selama fotosintesis.

Adapun peranan antioksidan β -karoten dalam sel imun diantaranya adalah β -karoten dapat menghambat fagosit dari kerusakan oto-oksidatif, meningkatkan respon proliferasi limfosit T dan B, menstimulasi efektor fungsi sel T (Bendich, 1989).

Beta karoten yang dikunsumsi berbarengan dengan vitamin C dan vitamin E berdasarkan penelitian terbukti dapat meningkatkan

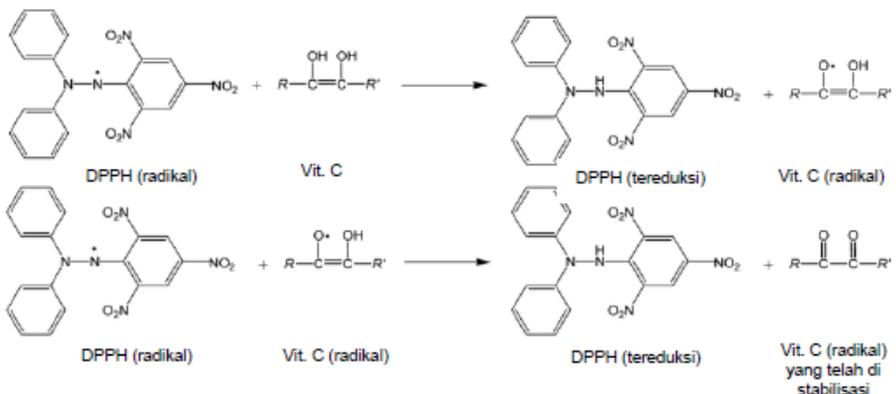
Antioksidan, Alami dan Sintetik

kemampuan antioksidan apabila dibandingkan dengan mengonsumsi beta karoten secara tunggal. Beta karoten yang bereaksi dengan radikal bebas akan menyebabkan radikal bebas menjadi stabil dan menyebabkan karotenoid menjadi stabil. Adanya vitamin C dapat membantu menstabilkan radikal bebas beta karoten. Vitamin C yang telah berubah menjadi radikal selanjutnya distabilkan oleh antioksidan alami tubuh yaitu glutation (Astawan, 2008).

Dalam *The Journal of Agricultural and food chemistry* dikemukakan bahwa wortel yang melalui proses pemanasan akan meningkatkan daya serap antioksidan didalam tubuh. Kadar antioksidan pada wortel juga akan meningkatkan jika disimpan pada temperatur yang tinggi selama satu minggu, akan tetapi setelah itu kadarnya akan menurun.

c. Vitamin C

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu bahan yang mengandung antioksidan untuk bisa meredam senyawa radikal bebas yang ada disekitarnya. Aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil. Menurut Nishizawa *et al.* (2005) bahwa DPPH telah diketahui manfaatnya sebagai penentuan aktivitas antioksidan untuk menguji aktivitas antioksidan radikal dari vitamin yang bersifat antioksidatif dan komponen aromatik *polyhydroxy*. Gambar disajikan reaksi yang terjadi antara DPPH terhadap antioksidan vitamin C.



Gambar 11. Reaksi antara DPPH dan asam askorbat yang Terkonjugasi (Nishizawa et al, 2005)

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Vitamin C adalah salah satu antioksidan sekunder yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Berbagai penelitian yang dilakukan vitamin C digunakan dalam beberapa tingkat konsentrasi untuk dapat mengetahui aktivitas antioksidan, yaitu kemampuan untuk dapat meredam radikal bebas dengan menggunakan metode DPPH

BAB VI. METODE PENGUJIAN ANTIOKSIDAN

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay* (LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* (Badarinath *et al.*, 2010).

Pengujian kapasitas antioksidan suatu senyawa dilakukan secara bertahap sebagai berikut :

- Uji in vitro menggunakan reaksi kimia, misalnya metillinoleat, DPPH
- Uji in vitro menggunakan materi biologis, misalnya mengukur viabilitas sel (teknik kultur sel), pembentukan dien terkonjugasi dan kadar TBARS dari isolat LDL, dan lain-lain.
- Uji in vivo pada model hewan percobaan, misalnya aktifitas enzim antioksidan, kadar TBARS
- Uji in vivo pada manusia

Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH adalah metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasarkan pada jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath *et al.*, 2010).

Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan bisa diamati dan dilihat menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004).

6.1 DPPH

Pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi adalah heksana, diklorometana, etil asetat, etanol dan metanol, secara terpisah. 1,1-Diphenyl-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal diukur dengan menggunakan metode modifikasi dari Lu *et al* (2000) dan Lai *et al* (2001) sejumlah 100 μL sampel (0,62-4,96 mg / mL) atau sembilan belas persen etanol atau asam askorbat (sebagai standar) dicampur dengan 50 μL 100 mM Tris-HCl (pH 7,4) dan kemudian ditambahkan dengan 5 μL 500 M (2,5 mg / mL) DPPH. Sembilan puluh persen dari etanol digunakan sebagai larutan blanko dan larutan DPPH tanpa sampel disajikan sebagai kontrol. Campuran kemudian dikocok dengan kuat selama 1-3 menit dan didiamkan pada suhu kamar selama 30 menit dalam kondisi gelap. Absorbansi larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Aktifitas antioksidan dinyatakan dalam % penghambatan. Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

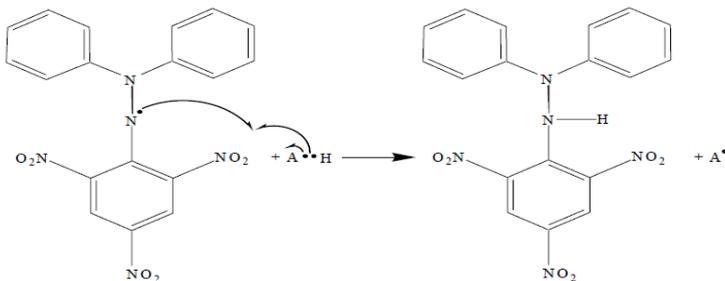
Metode DPPH (1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl) merupakan salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, 2005).

Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai model dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Sawai *et al.*, 1998 ; Senba *et al.*, 1999 ; Yokozawa *et al.*, 1998 *cit* Windono *et al.*, 2001 *cit* Pratimasari, 2009). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk skrening aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa (Koleva *et al.*, 2001 *cit* Marxen *et al.*, 2007 *cit* Pratimasari, 2009), selain itu metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis.

Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada λ_{max} 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer, dan diplotkan terhadap konsentrasi Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi (Gambar 11).

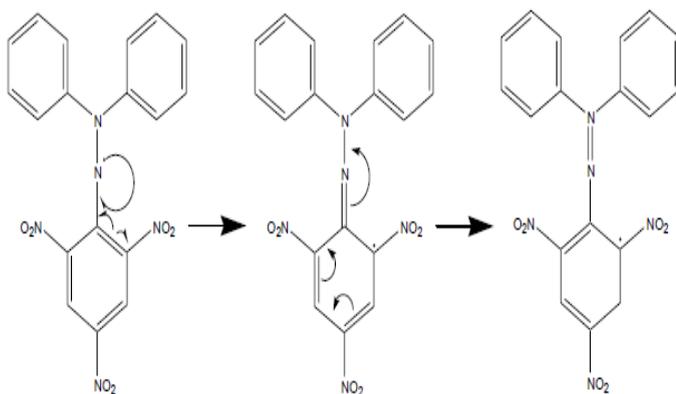
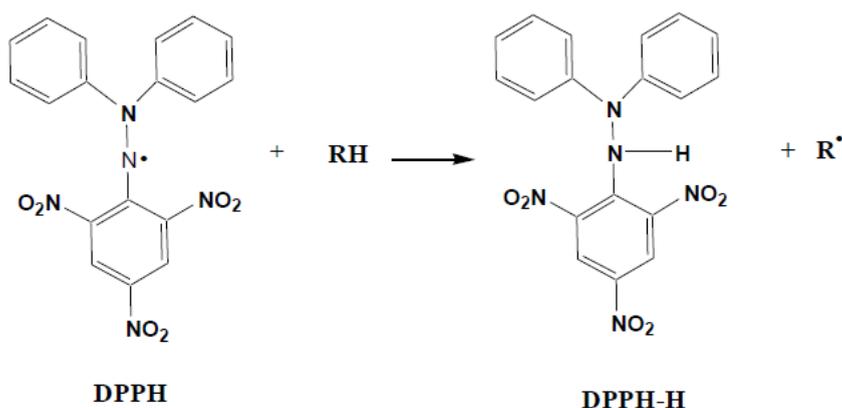


Gambar 12. Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Windono et al, 2001)

Peredaman warna DPPH terjadi disebabkan oleh adanya senyawa yang bisa memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH

Antioksidan, Alami dan Sintetik

sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2- pikrilhidrazin). Reaksi reduksi DPPH tersebut dapat dilihat pada reaksi berikut:

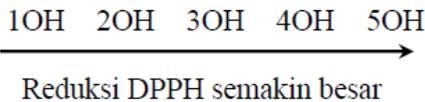


Gambar 13. Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Prakash et al, 2001).

Reduksi DPPH menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil. Senyawa-senyawa hidroksil didalam ekstrak etanol akan terpisah menggunakan kromatografi kolom menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil. Oleh karena itu terjadi pengurangan jumlah hidrogen yang dapat didonorkan dari fraksi J pada DPPH. Pada quersetin peredaman warna terjadi lebih efektif jika dibanding ekstrak etanol. Hal ini karena di dalam molekul quersetin mempunyai

Antioksidan, Alami dan Sintetik

lima gugus hidroksil. Jumlah ini cukup banyak pada setiap molekulnya untuk mereduksi DPPH. Oleh karena itu dapat diprediksikan bahwa didalam ekstrak etanol maupun fraksi J senyawa yang berperan dalam aktivitas antioksidan adalah golongan flavonoid dengan jumlah gugus hidroksil cukup sedikit. Semakin banyak gugus hidroksil bebas yang dapat menyumbangkan hidrogen maka semakin banyak juga reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH



Gambar 14. Orientasi Besarnya Reduksi DPPH oleh Gugus Hidroksil.

6.2 Uji Kadar Selenium

Selenium adalah mineral yang penting untuk sintesis protein dan aktivitas enzim glutathione peroksidase. Defisiensi Se pada manusia bisa menyebabkan nekrosis hati dan penyakit degeneratif. Manusia yang kekurangan selenium akan lebih berisiko menderita kanker dibandingkan mereka yang berkecukupan selenium. (Winarsi (2007)

Glutathione peroksidase (GSH-Px) adalah enzim antioksidan yang mengandung selenium (Se) pada sisi aktifnya. Kerja enzim ini mengubah molekul hidrogen peroksida (yang dihasilkan SOD dalam sitosol dan mitokondria) dan berbagai hidroserata lipid peroksida menjadi air (Winarsi, 2007).

Selenium terdapat dalam bentuk organik yang merupakan bentuk nutrisi utama bagi manusia dan hewan. Selenium penting untuk sintesis dan aktivitas glutathione peroksidase yang mengkatalisa reduksi hidrogen peroksida dan hidroperoksida organik. Aktivitas enzim ini tergantung pada adanya 4 atom selenium pada sisi aktif enzim.

Prosedur kerja Penentuan kadar selenium (Muchtadi *et al.*,1992) dengan menggunakan metode *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) adalah :

1. Timbang 2,5 gr sampel, kemudian tempatkan ke dalam gelas beaker 50 ml
2. Tambahkan 5 ml campuran asam nitrat : sulfat pekat (2:1) dengan pengadukan untuk memperoleh campuran yang homogen dan hancurkan perlahan-lahan pada suhu 70°C di atas hotplate.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

3. Tambahkan 5 ml campuran asam dua kali dan naikan suhunya sampai 100°C hingga volume larutan mencapai 5 ml.
4. Dinginkan larutan (biasanya tidak berwarna atau berwarna kekuning-kuningan), kemudian tambahkan beberapa tetes hidrogen peroksida dan selanjutnya panaskan perlahan-lahan. Lanjutkan pemanasan hingga diperoleh larutan yang jernih.
5. Setelah selesai pindahkan larutan ke dalam larutan labu ukur 50 ml, kemudian tepatkan volumenya dengan air bebas ion. Buat pula bentuk dengan cara yang sama.
6. Lakukan analisis kandungan mineral terhadap aliquot sampel menggunakan AAS dengan larutan standar.
7. Co analisis menggunakan atomisasi elektrotermal.

6.3 β -Karoten

Pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi adalah etanol dan metanol dalam ekstraksi terpisah. β - karoten ditentukan menurut Velioglu et al . (1998. Salah satu mililiter β - karoten 0,2 mg / mL kloroform dipipet ke dalam 50 mL labu alas bulat yang mengandung 0,02 mL asam linoleat (Fluka Chemika) dan 0,2 mL Tween 20 . Campuran kemudian diuapkan pada 50 °C untuk 10 menit . Setelah penguapan campuran segera diencerkan dengan 50 mL air destilasi dandiguncang untuk membentuk solusi liposom .

Lima aliquot mL emulsi dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda yang mengandung 0,2 mL sampel di 80 % etanol atau metanol 80% pada 1 mg / mL 0,2 mL dari 90 % etanol (sebagai kontrol) atau BHT (sebagai standar) . Tabung kemudian lembut dicampur dan ditempatkan pada 45 °C di bak mandi air selama 2 jam . Absorbansi larutan diukur pada spektrofotometer pada 470 nm. Pengukuran dilakukan pada interval 20 menit , sementara menundukkan sampel untuk autoksidasi termal pada suhu 50 ° C selama 2 jam .

Aktivitas antioksidan (AA) β -karoten diukur dengan menggunakan metode yang dimodifikasi dari Jayaprakasha *et al.*, (2001). Menurut Jayaprakasha et al. (2001), waktu untuk At dan Aot berada di 180 min. Dalam percobaan ini, absorbansi diukur pada 120 menit, At dan Aot berada di 120 menit. Dimana A0 dan A00 adalah nilai absorbansi diukur pada saat awal inkubasi sampel dan kontrol, masing-masing, dan sementara At dan Aot adalah nilai absorbansi diukur dalam

Antioksidan, Alami dan Sintetik

sampel atau standar dan kontrol pada $t = 120$ menit. Rumusnya adalah sebagai berikut

$$AA = 1 - \frac{(A_0 - A_t)}{(A^{o_0} - A^{o_t})} \times 100$$

6.4 Total Phenolic Content

Pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi adalah etanol dan metanol dalam ekstraksi secara terpisah. Jumlah konten fenolik ditentukan menurut Velioglu et al., (1998) menggunakan Folin - Ciocalteu reagen . Hal ini dibuat dengan mengencerkan dalam 10 kali lipat . Reaksi ini didasarkan pada oksidasi colometric / reduksi .

Sejumlah 2 g sampel diekstraksi dengan 50 mL dari 90 % etanol dan 90 % metanol . Hal itu kemudian ditempatkan pada orbital shaker selama 120 menit pada 50°C . Campuran kemudian disaring dengan Whatman No 1 . Filter kertas dan filtrat digunakan untuk kuantifikasi dari total fenolat . 100 uL ekstrak sampel dicampur dengan 0,75 ml Folin - Ciocalteu reagen dan campuran dibiarkan untuk berdiri di 22 °C selama 5 menit . Kemudian , 0,75 mL natrium bikarbonat (60 g / L) larutan ditambahkan ke dalam campuran. Setelah 90 menit di 22 °C , absorbansi diukur pada 725 nm. Pengukuran dibandingkan dengan kurva standar asam galat disiapkan (GA) solusi dan dinyatakan sebagai rata-rata (\pm SD) mg asam galat (GA) setara per gram untuk penentuan sixplicate.

6.5 Oxygen Radical Absorbance Capacity Method (ORAC)

Nilai ORAC dilaporkan untuk biji-bijian gandum dan fraksinya bersama dengan makanan berbasis gandum. ORAC memiliki keterbatasan diantaranya adalah pertama, uji rumit dan membutuhkan operator lebih terampil. Kedua, mengingat memakan waktu sifat tes kinetik, pembacaan mikroplate yang mahal karena diperlukan untuk sejumlah sampel yang besar. Ketiga, ORAC melibatkan reaksi kompleks. (Yu Liangli, 2007)

Bahan yang digunakan : 75 mM phosphate buffer (PBS) dengan pH 7,4 , 1mM fluoroscein (FL), 0.01mm FL sekunder diencerkan dengan

Antioksidan, Alami dan Sintetik

phosphate buffer, 81,6 nM FL yang diencerkan dengan phosphate buffer, 50mM larutan utama (primer) dari 6-hidroksi-2,5,7,8-tetramethylchoman-2-carboxylic acid (trolox) disiapkan dalam pelarut yang sama digunakan untuk melarutkan sampel antioksidan.

0.5 mM trolox sekunder diencerkan dengan pelarut yang sama, kemudian Trolox dilakukan pembuatan larutan standar dari 10 hingga 100 μM dengan mengencerkan larutan dengan pelarut yang sama. 2,2-Azobis(2-amidinopropane)dihydrochloride (AAPH) larutan yang dibuat dalam phosphate buffer, 0.36 M untuk metode *High-Throughput Determination Using a Microplate Reader* atau 0,6 M untuk *Single Read Fluorometer*. Kemudian larutan sampel diencerkan dengan range yang linear yang menggunakan pelarut yang sama. 96-well plates dirancang untuk fluorescence ukuran metode High-Throughput Determination

a. Metode *High-Throughput Determination Using a Microplate Reader*

- Tambahkan 225 μL dari 81,6 nM FL dengan hati-hati,
- kemudian tambahkan 30 μL larutan sampel, larutan standar atau larutan kosong (hanya pelarut),
- kemudian pelat tertutup diinkubator minimal 20 menit dalam pelat pembaca dipanaskan sampai suhu 37°C.
- Tambahkan 25 μL dari 0,36 M AAPP dengan baik untuk memulai reaksi. Baca fluorescence dari pelat yang tidak tertutup setiap menit menggunakan eksitasi dengan panjang gelombang 493 nm dan emisi panjang gelombang 535 nm pada 37°C sampai semua pembacaan kurang dari 5% dari nilai awal.
- Tata letak pelat seperti Gambar dibawah ini

Antioksidan, Alami dan Sintetik

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Blank	Trolox 20 μ M	Trolox 40 μ M	Trolox 60 μ M	Trolox 80 μ M	Trolox 100 μ M	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	
C		Blank	Trolox 20 μ M	Trolox 40 μ M	Trolox 60 μ M	Trolox 80 μ M	Trolox 100 μ M	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	
D		Blank	Trolox 20 μ M	Trolox 40 μ M	Trolox 60 μ M	Trolox 80 μ M	Trolox 100 μ M	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	
E		Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12	Sample 13	Sample 14	
F		Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12	Sample 13	Sample 14	
G		Sample 5	Sample 6	Sample 7	Sample 8	Sample 9	Sample 10	Sample 11	Sample 12	Sample 13	Sample 14	
H												

Gambar 15. Recommended plate layout for ORAC assay. Layout for 14 sample, 5 trolox standards, and blank, all run in triplicate. Outer wells with shading filled with 300 mL water.

- b. Metode dengan menggunakan a Single Read Fluorometer
- Tambahkan 2400 μ L 8,1 nM FL untuk menguji tabung yang diikuti oleh
 - 300 μ L larutan kosong, larutan sampel dan ekstrak sampel,
 - 300 μ L 0,6 M APPH
 - Kemudian divortek selama 5 detik
 - mentransfer campuran reaksi ke kuvet dan mengambil bacaan fluorescense setiap menit menggunakan eksitasi panjang gelombang 493 nm dan emisi panjang gelombang 515 nm sampai semua pembacaan kurang dari 5% dari nilai awal.

Perhitungan :

$$RAUC = 0,5 + f_1 / f_0 + f_2 / f_0 + f_3 / f_0 + \dots \dots \dots f_{1-1} / f_0 + 0,5 (f_1 / f_0)$$

Dimana f_0 adalah pembacaan fluoresensi awal pada 0 min dan f_1 adalah fluoresensi akhir. f_1 dapat ditetapkan sebagai bacaan yang kurang dari atau sama dengan 5% dari f_0

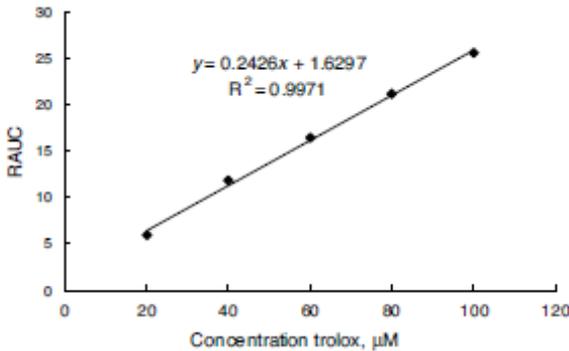
Antioksidan, Alami dan Sintetik

Nilai RAUC bersih untuk sampel dan standar dihitung sebagai

$$\text{Nilai RAUC}_{\text{sampel}} = \text{RAUC}_{\text{sampel}} - \text{RAUC}_{\text{blank}} \text{ dan}$$

$$\text{Nilai RAUC}_{\text{standard}} = \text{RAUC}_{\text{standar}} - \text{RAUC}_{\text{blank}}$$

Menghasilkan kurva standar dengan memplot nilai-nilai RAUC standar terhadap konsentrasi trolox dalam μM seperti pada Gambar dibawah ini



Gambar 16. Kurva standar ORAC

Yang mana trolox dapat digantikan senyawa antioksidan standar yang lain. Perhitungan trolox sama dengan (TE) dalam $\mu\text{mol} / \text{L}$ untuk setiap sampel menggunakan persamaan regresi linear dari kurva standard ($y = 0.2426x + 1.6297$) seperti yang ditunjukkan pada Gambar. Sebagai contoh, jika $\text{RAUC}_{\text{sample}}$ bersih adalah 18,00, sedangkan nilai ORAC dari larutan sampel hasil pengujian adalah 67,47 $\mu\text{mol TE/L}$.

Nilai ORAC di $\mu\text{mol Trolox setara} / \text{g sampel}$ dihitung sebagai $\mu\text{mol trolox equivalent/g} = (\mu\text{mol TE/L}) \times \text{DF} \times (\text{L}_{\text{pelarut}} / \text{g}_{\text{sampel}})$

Dimana DF adalah faktor pengenceran ekstrak sampel, dan $\text{L}_{\text{pelarut}}$ dan g_{sampel} adalah liter pelarut untuk melarutkan g_{sampel} yang digunakan untuk menyiapkan sampel (atau liter pelarut yang digunakan untuk mengekstrak gram sampel).

BAB VII

ANTIOKSIDAN PADA BAHAN PANGAN

Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder tanaman sangat penting karena dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang dapat melindungi dari penyakit kardiovaskuler, oksidasi lipoprotein densitas rendah (LDL) dan beberapa penyakit kanker lainnya (Akagawa dan Suyama, 2001). Selain itu juga diketahui memiliki peran dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme, serangga dan herbivora. Aktivitas ini dimiliki karena kemampuannya membentuk kompleks dengan protein yang larut dan protein ekstraseluler, dan dapat membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri (Cowan, 1999), sehingga dapat berfungsi sebagai antibakteri. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ini dapat dimanfaatkan dan sebagai bahan tambahan makanan yang akan menjaga makanan dari ketengikan dan kontaminasi bakteri.

7.1 Kedelai

Senyawa golongan glikosida flavonoid yang berperan sebagai antioksidan terdapat dalam kedelai. Senyawa flavonoid tersebut adalah dari golongan isoflavon dengan kadar sekitar 0,25% (Snyder dan Kwon, 1987). Isoflavon berpotensi sebagai pelindung dan pencegah penyakit-penyakit kardiovaskular, kanker dan osteoporosis (Schmiedl dan Labuza, 2000), sehingga isoflavon dapat dimanfaatkan sebagai komponen pangan agar menjadi pangan fungsional. Salah satu jenis tanaman yang mengandung isoflavon adalah kacang kedelai.

Kacang kedelai (*Glycine max* L) dikenal sebagai sumber utama protein nabati yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai industri pangan dan nonpangan. Industri pangan tradisional seperti industri tahu, tempe, kecap dan tauco sudah tersebar dimana-mana dalam

Antioksidan, Alami dan Sintetik

bentuk industri kecil atau rumah tangga (Syarief dan Irawati, 1988). Kedelai mengandung senyawa-senyawa antioksidan diantaranya adalah vitamin E, vitamin A, provitamin A, vitamin C dan senyawa flavonoid golongan isoflavon, genistein dan daidzein. Sedangkan senyawa kimia atau senyawa antioksidan yang mempunyai fungsi dapat mencegah penyakit kanker terutama kanker prostat pada kaum laki-laki dan kanker payudara pada kaum wanita adalah flavonoid golongan isoflavon, yaitu genistein dan daidzein dan glisitein (Aak, 1989). Sedangkan Pada tempe, di samping ketiga jenis isoflavon tersebut juga terdapat antioksidan faktor II (6,7,4-trihidroksi isoflavon) yang mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan dengan isoflavon dalam kedelai. Antioksidan ini disintesis pada saat terjadinya proses fermentasi kedelai menjadi tempe oleh bakteri *Micrococcus luteus* dan *Coreyne bacterium*. Penuaan (*aging*) dapat dihambat bila dalam makanan yang dikonsumsi sehari-hari mengandung antioksidan yang cukup. Karena tempe merupakan sumber antioksidan yang baik, konsumsinya dalam jumlah cukup secara teratur dapat mencegah terjadinya proses penuaan dini.

Isoflavon merupakan senyawa antioksidan yang terdapat dalam kedelai (Potter, 1995) dan tempe (Kasmidjo, 1990). Lovatti, *et al.*, (1990) melaporkan bahwa isolat kedelai mengandung isoflavon yang dapat menurunkan kolesterol LDL dan menaikkan kolesterol HDL dibandingkan dengan pemberian kasein. Penurunan kolesterol LDL dan meningkatnya kolesterol HDL kemungkinan juga dapat disebabkan pengaruh senyawa antioksidan isoflavon, yang terdapat di dalam tempe maupun kedelai (Marsono, *et al.*, 1997 dalam Deliani, 2008).

Jumlah isoflavon dalam kedelai bervariasi, bergantung pada jenis kedelai, daerah geografis budidaya dan cara pengolahannya. Kandungan isoflavon dalam beberapa produk kedelai disajikan pada Tabel 21.berikut :

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 20. Kandungan Isoflavon dalam Beberapa Produk Kedelai

Produk Kedelai	Kandungan Isoflavon (genistein & Daidzein) (mg / 100 g)
Kedelai hijau, tak dimasak	54,8
Kedelai matur, tak dimasak	188,8
Kedelai panggang	194,2
Susu kedelai	8,8
Tahu, tak dimasak	33,6
Tempe tak dimasak	53,1
Tepung kedelai	208,6

Sumber : Anderson, *et al.* (1999)

PRODUK OLAHAN KEDELAI

a. Susu Kedelai

Susu kedelai merupakan cairan berwarna putih seperti susu sapi, tetapi dibuat dari ekstrak kedelai. Diproduksi dengan menggiling biji kedelai yang telah direndam dalam air. Hasilnya disaring hingga diperoleh cairan susu kedelai, dimasak dan diberi gula dan esen atau cita rasa untuk meningkatkan rasanya.

Gizi dalam Susu Kedelai

Komposisi gizi susu kedelai hampir sama dengan susu sapi. Karenanya susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi. Terutama bagi orang yang alergi susu sapi, yaitu mereka yang tidak punya atau kurang enzim laktase dalam saluran pencernaannya, hingga tidak mampu mencerna laktosa dalam susu sapi. Akibatnya, laktosa akan lolos ke dalam usus besar dan akan dicerna oleh jasad renik yang ada di sana.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 21. Komposisi Susu Kedelai Cair Dan Susu Sapi Tiap 100 gr

Komponen	Susu Kedelai	Susu Sapi
Kalori (Kkal)	41,00	61,00
Protein (gram)	3,50	3,20
Lemak (gram)	2,50	3,50
Karbohidrat (gram)	5,00	4,30
Kalsium (mg)	50,00	143,00
Fosfor (gram)	45,00	60,00
Besi (gram)	0,70	1,70
Vitamin A (SI)	200,00	130,00
Vitamin B ₁ (mg)	0,08	0,03
Vitamin C (mg)	2,00	1,00
Air (gram)	87,00	88,33

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (1992)

7.2 Ubi Jalar

Ubi jalar merupakan salah satu pangan yang mengandung antioksidan. Komoditi ubi jalar mempunyai potensi yang sangat tinggi untuk dikembangkan, mempunyai produktivitas tinggi, potensi penggunaan cukup luas dan cocok untuk program diversifikasi pangan. Selain mengandung serat tinggi, ubi jalar mengandung rafinosa yang berfungsi sebagai prebiotik, mengandung karotenoid, antosianin, senyawa polifenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Ubi jalar adalah sumber utama karbohidrat yang baik untuk penderita diabetes karena kandungan gulanya sederhana. Ubi jalar merah juga sangat kaya akan pro vitamin A atau retinol. Di dalam 100 gr ubi jalar merah terkandung 2310 mcg (setara dengan satu tablet vitamin A). Bahkan dibandingkan bayam dan kangkung, kandungan vitamin A ubi jalar merah masih setingkat lebih tinggi.

Ubi jalar putih mengandung 260 mcg (869 SI) betakaroten per 100 gram, ubi merah yang berwarna kuning emas tersimpan 2900 mcg (9675 SI) betakaroten, ubi merah yang berwarna jingga 9900 mcg (32967 SI). Semakin pekat warna jingga ubi jalar ini maka, semakin tinggi pula kadar betakarotennya yang merupakan bahan pembentuk vitamin A dalam tubuh. Secangkir ubi jalar merah kukus yang telah dilumatkan menyimpan 50000 SI betakaroten, setara dengan kandungan betakaroten dalam 23 cangkir brokoli, yang menggembirakan perebusan hanya merusak 10% kadar betakaroten, sedangkan penggorengan atau pemanggangan dalam oven hanya

Antioksidan, Alami dan Sintetik

20%. Akan tetapi penjemuran dapat menghilangkan hampir separuh kandungan betakaroten, sekitar 40% (Hasim, A., 2008)

Ubi jalar ungu, kulit dan dagingnya dapat dijadikan bahan pewarna makanan dan minuman. Ubi jalar ungu mengandung pigmen antosianin dengan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan varietas lainnya. Antosianin dari ubi jalar ungu mempunyai fungsi sebagai antioksidan, anti kanker dan sebagai perlindungan terhadap kerusakan hati. Ubi Jalar ungu dijadikan sebagai bahan baku penghasil antosianin pada beberapa industri pewarna makanan dan minuman. Selain itu ubi jalar ungu juga dijadikan sebagai bahan baku pada industri ice cream, minuman beralkohol, pie dan roti (Winarti, 2010)



Gambar 17. Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar ungu mengandung antioksidan yang tinggi. Menurut Arixs (2006), ubi jalar ungu mengandung kadar antosianin sebesar 11,051 mg/100 gr. Komposisi gizi dan kandungan antosianin pada ubi jalar ungu, ubi jalar putih dan ubi jalar kuning dapat dilihat pada Tabel 23 dibawah ini

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 22. Kandungan Gizi dari Ubi jalar Ungu, Putih dan Kuning

Kandungan	Ubi Jalar Ungu	Ubi Jalar Putih	Ubi Jalar Kuning
Zat pati	12,64%	28,79%	24,47 %
Gula reduksi	0,30 %	0,32%	0,11 %
Lemak	0,94 %	0,77%	0,68 %
Protein	0,77 %	0,89%	0,49 %
Air	70,46 %	62,24%	68,78 %
Abu	0,84 %	0,93%	0,99 %
Serat	3 %	25%	2,79 %
Vitamin C	21,43 mg/100g	28,68 mg/100mg	29,22 mg/100g
Antosianin	11,051 mg/100g	0,06 mg/100mg	0,456 mg/100g

Sumber : Arixs (2006)

7.3 Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Morinda atau tanaman noni memiliki 80 species. Dari hasil penelitian, 60 diantaranya tidak bisa dikonsumsi karena mengandung racun. Hasil Riset Dr. Scott Gerson menunjukkan hanya species *Morinda citrifolia* yang tumbuh di *kepulauan French Plinesia (TAHITI)* memiliki nutrisi 20% lebih tinggi dibanding jenis lain yang tumbuh didaerah manapun . *Morinda citrifolia* mengandung banyak senyawa bioaktif yang terbukti bermanfaat meningkatkan kesehatan (enhance health).

Buah mengkudu memiliki keunikan dibandingkan buah lainnya. Buah mengkudu dapat dikategorikan dalam *medicinal plant*. Ada 2 jenis tanaman yaitu Food Plant (tanaman buah) dan Medicinal Plant (tanaman kesehatan). Food plant (tanaman buah) merupakan tanaman yang memiliki zat nutrisi yang berguna untuk bertahan hidup. Yang paling utama adalah flavonoids dan carotenoids.

Flavonoids dan carotenoids mempunyai khasiat antioksidan. Contoh flavonoids: cyandine-3-glucoside (di buah acai berry) dan xanthones (di buah manggis). Contoh carotenoids: beta karoten. sebaiknya dimakan dalam keadaan segar (buah segar) karena carotenoids dan flavonoids mudah rusak (kadarnya menurun = degradasi) bila diproses (dimasak, pasteurisasi) dan disimpan lama. Sedangkan medicinal plant (tanaman kesehatan) contohnya adalah buah mengkudu atau buah noni. Senyawa lain dalam mengkudu adalah IRIDOIDS (bukan flavonoids/carotenoids). Iridoids jarang terdapat dalam buah dari tanaman buah (flood plants), kecuali blueberry. Iridoids terdapat di berbagai tanaman kesehatan (termasuk beberapa Chinese Herbal). Tujuan tanaman membuat iridoids adalah

Antioksidan, Alami dan Sintetik

untuk mempertahankan diri terhadap infeksi dan makhluk pemakan tanaman (herbivora) Kadar iridoids dalam *Morinda citrifolia* sangat tinggi dibandingkan dengan tanaman lainnya.

Iridoids berbeda dengan flavonoids. Iridoid relatif stabil dibanding polyphenols. Iridoids disintesa oleh tanaman dengan langkah biokimia yang berbeda yang membuatnya hampir sama dengan sekelompok phytokimia.

Iridoid telah terbukti secara ilmiah bisa mengurangi bahaya radikal bebas, mengontrol kolestrol, meningkatkan energi, meningkatkan kesehatan jantung, meningkatkan sistim kekebalan tubuh, mengurangi peradangan, mencegah mutasi sel, dan mendukung kesehatan kerja otak. Iridoid merupakan "*phytochemical*" luar biasa yang diproduksi oleh tumbuhan sebagai suatu daya tahan terhadap infeksi dan agresi/ancaman lainnya. Iridoid ditemukan dalam jumlah yang cukup besar dari suatu tanaman, yang tidak terdapat secara umum dalam buah-buahan. Sangat stabil dan tahan terhadap degradasi selama proses pengolahan dan penyimpanan, tidak seperti flavonoid.

Selain dari irridoid, dalam buah Mengkudu Tahiti juga ditemukan kandungan Proxeronine. Zat ini berhasil merevitalisasi & meregenerasi sel yang telah mati hingga berfungsi lagi, secara alami mampu meningkatkan sistim kekebalan tubuh seseorang, meningkatkan fungsi dari sel dan memperbaiki sel-sel yang rusak dalam tubuh, baik yang diakibatkan berbagai penyakit atau proses penuaan. Mampu melawan *kanker ganas* dan berfungsi sangat baik dalam penyembuhannya. *Kanker* dalam tubuh berarti hilangnya kontrol selular dalam tubuh, sehingga *pertumbuhan sel yang tidak baik* menjadi tidak terkontrol. Sel-sel kanker ini akan menyerang jaringan lokal, berpindah ketempat lain dan berkembang biak. Kanker sendiri bermula dari sel yang bermutasi dan berubah. Sel abnormal ini mempertahankan mutasinya melalui proses reproduksi sel meskipun terdapat usaha dari sistem pertahanan tubuh yang berusaha mengeleminasi sel-sel abnormal. Sel-sel yang bermutasi ini (berasal dari DNA yang abnormal) kemudian bergerak ke sejujur tubuh dan berdiam di satu atau lebih organ tubuh. Saat ini ada lebih dari seratus jenis kanker yang tumbuh dalam tubuh manusia.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Makanan Olahan Mengkudu

a. Jus Buah Mengkudu

Akhir-akhir ini, banyak perusahaan juice memperlihatkan ketertarikannya atas manfaat kesehatan flavonoids dan polyphenols, namun itu semua banyak terdapat di dalam segala jenis buah. Dan sayangnya banyak flavonoids sangat tidak stabil; kualitasnya menurun selama proses pembuatan produk, pasteurizing, dan penyimpanan.

Jus buah mengkudu saat ini sudah dikomersilkan dan salah satu yang terkenal adalah Tahitian Noni Juice bermanfaat sebagai obat kanker alternatif karena Tahitian Noni Juice bekerja ditingkat selular. Lebih jauh lagi dipercaya bahwa Tahitian Noni Juice meningkatkan struktur selular yang di hancurkan oleh kanker. Beberapa penelitian lain telah dilakukan di laboratorium-laboratorium untuk menegaskan kemampuan Tahitian Noni Juice untuk melawan kanker. Sebagai obat kanker alternatif. Dalam suatu penelitian, empat orang ilmuwan dari Jepang menyuntikkan sel ras (sel yang menjadi pemicu bagi pertumbuhan yang merusak) dengan substansi yang disebut damnacanthal yang ditemukan dalam Tahitian Noni Juice. Mereka mengobservasi bahwa pemberian damnachantal ternyata menghambat reproduksi sel ras secara signifikan. Damnachantal adalah suatu substansi didalam Tahitian Noni Juice yang di percaya sebagai agen anti kanker.

b. Velva Mengkudu

Mengkudu tinggi akan kandungan selenium, yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, sebaliknya jika terjadi defisiensi selenium (Se) pada manusia dapat menyebabkan nekrosis hati dan penyakit degeneratif. Manusia yang kekurangan selenium akan lebih berisiko menderita kanker dibandingkan mereka yang berkecukupan selenium. Oleh karena itu digunakan mengkudu sebagai bahan baku pembuatan *velva*.

Velva merupakan campuran dari *puree* (bubur buah) dengan gula dan bahan penstabil yang dibekukan dalam alat pembeku es krim untuk memperoleh tekstur yang halus. *Velva* buah merupakan salah satu pangan alternatif bagi sebagian orang yang mempunyai masalah kesehatan terhadap produk-produk es krim yang mengandung lemak tinggi. Keunggulan *velva* dibandingkan dengan makanan beku lain

Antioksidan, Alami dan Sintetik

seperti es krim adalah kandungan lemak yang rendah, lebih kaya serat alami dan kandungan vitamin yang tinggi terutama vitamin C, dan provitamin A (β -karoten) yang berasal dari buah sebagai bahan baku (Winarti, 2006).

7.4 Sayur-sayuran

Dengan mengonsumsi sayuran dapat memperoleh sejumlah zat gizi diantaranya adalah vitamin A, vitamin C dan serat pangan yang penting bagi tubuh. Setiap sayuran mengandung kandungan gizi yang berbedabeda dan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti perbedaan varietas, keadaan cuaca, tingkat kematangan dan kondisi penyimpanan.

Vitamin C mudah teroksidasi atau mudah rusak yang disebabkan oleh pengaruh cahaya dan suhu tinggi. Perubahan vitamin C oleh pengaruh suhu dapat dilihat pada Tabel 24 dibawah ini

Tabel 23. Kehilangan Vitamin C Dalam Sayuran Pada Penyimpanan

Jenis Sayuran	Hari	Kondisi penyimpanan Suhu ($^{\circ}$ C)	
		Kehilangan (%)	
Asparagus	1-7	1-2	5-50
Brokoli	1-4	7-7	20-35
Buncis	1-4	7-7	10-20
Bayam	2-3	0-1	5-5

Sumber : Winarti (2010)

Beberapa sayuran yang mengandung vitamin A adalah wortel, bayam, daun katuk, daun kelor, sawi, tomat, serta daun ketela pohon. Sedangkan sayuran yang mengandung vitamin C adalah tomat, buncis, sawi, bayam, dan wortel. Selain vitamin A dan C sayuran yang dikonsumsi juga mengandung zat gizi seperti vitamin B1 (thiamin), dan mineral seperti kalsium (Ca), dan besi (Fe). Kandungan vitamin dan mineral beberapa jenis sayuran dapat dilihat pada Tabel 25 dibawah ini

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 24. Kandungan Vitamin dan Mineral beberapa Jenis Sayuran

Jenis sayuran	Kalsium (mg)	Besi (mg)	Vit A (S.I)	Vit B1 (mg)	Vit C (mg)
Bayam	267	3,9	6090	0,08	80
Daun katuk	204	2,7	10370	0,10	239
Daun Kelor	440	7,0	11300	0,21	220
Daun Ketela Pohon	165	2,0	11000	0,12	275
Daun Pepaya	353	0,8	18250	0,15	140
Sawi	220	2,9	6460	0,09	102
Tomat (matang)	5	0,5	1500	0,06	40
Wortel	39	0,8	12000	0,06	6

Sumber: Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI (1972)

Wortel merupakan sayuran yang mengandung provitamin A yang tinggi. Selain Pro-vitamin A (karoten), wortel juga mengandung vitamin B, vitamin C yang bermanfaat bagi tubuh. B-karoten adalah prekursor vitamin A. Hasil oksidasi β -karoten yaitu retinal yang merupakan bentuk aktif dari vitamin A. (Winarno, 1993). Kandungan β -karoten pada wortel bermanfaat sebagai antioksidan, mencegah kanker, dan mencegah kebutaan (Muchtadi, 1996). Kadar pro-vitamin A pada wortel adalah 10 kali lipat jika dibandingkan dengan buah lainnya yang kaya akan karoten. Pro-vitamin A berfungsi sebagai menguatkan gigi dan membersihkan darah.

Kadar antioksidan pada wortel yang disimpan pada suhu tinggi akan meningkat, akan tetapi setelah itu kadar antioksidannya tidak akan berkurang. Proses pemasakan yang tepat, kadar beta karoten didalam makanan tidak akan berkurang (Astawan dan Kasih, 2008). Proses pemanasan akan menyebabkan pembukaan pada sel-sel tanaman, sehingga antioksidan dan bahan kimia tanaman dapat diserap oleh tubuh secara baik. Pengaruh proses pemasakan terhadap kandungan beta karoten pada sayuran dapat dilihat pada Tabel 26.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 25. Pengaruh Pemasakan terhadap Kandungan Beta Karoten Pada Sayuran

Proses pemasakan	Bahan Pangan	Kadar beta karoten (%) dibandingkan pangan mentahnya
Penggorengan	Wortel	91
Pasteurisasi	Tomat	114
Sterilisasi	Tomat	97
Dijemur 10 jam dibawah sinar matahari	Bayam	43
Pengeringan 19 jam 65°C di dalam Oven	Bayam	72
Microwave	Brokoli	118
Microwave	Bayam	102
Pengukusan	Brokoli	118
Pengukusan	Bayam	111
Pendinginan, disimpan dalam plastik	Kacang hijau	115
	Bayam	83

Sumber: Astawan dan Kasih, 2008

7.5 Buah-Buahan

Buah-buahan merupakan sumber vitamin dan mineral yang diperlukan tubuh dalam proses metabolisme dalam pencernaan makanan untuk menjaga kesehatan tubuh. Buah-buahan seperti tomat, pepaya, apel, strawberry dan jambu biji merah merupakan sumber vitamin C dan A. Selain itu pada buah pepaya dan tomat juga mengandung vitamin E yang merupakan salah satu vitamin antioksidan yang melindungi sel kulit dari radikal bebas sehingga bias mencegah terjadinya kanker kulit. Kadar vitamin A pada berbagai bahan pangan dapat dilihat pada Tabel 27 dibawah ini

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 26. Kadar Vitamin A pada berbagai Bahan Pangan

Sumber Pangan	Jumlah Vitamin A (IU per cangkir)
Tomat	1.121,40
Pepaya	863,36
Semangka	556,32
Jeruk Bali	318,57

Sumber : <http://www.whfoods.org>

Buah pepaya yang berwarna merah selain mengandung Vitamin A juga mengandung kadar likopen yang tinggi. Enzim papain merupakan salah satu ciri khas dari buah pepaya. Enzim ini sangat bermanfaat untuk mempercepat proses pencernaan protein. Selain itu enzim papain juga mampu memecah protein menjadi arginin. Arginin adalah salah satu asam amino esensial yang dalam kondisi normal tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan harus didapatkan melalui makanan seperti telur dan ragi. Apabila enzim terlibat dalam proses pencernaan protein, maka secara alami separoh protein akan diubah menjadi arginin.

Selain Pepaya, semangka juga buah kaya likopen yaitu sekitar 4.100 mikrogram per 100gram daging buah. Likopen ini dapat bersinergi dengan vitamin C dan beta karoten untuk melawan berbagai jenis kanker (Astawan dan Kasih, 2008).

Buah jambu biji merah merupakan buah yang kaya akan kandungan vitamin C. Kandungan vitamin C pada jambu biji merah adalah sebesar 49 mg/100 g yaitu dua kali lipat lebih banyak dibandingkan kandungan vitamin C pada jeruk manis. Pada jambu biji merah juga terdapat likopen yaitu karotenoid yang mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat memberikan perlindungan pada tubuh dari kanker. Tannin yang terdapat pada jambu merah dapat memperlancar sistem pencernaan dan sirkulasi darah (Winarti, 2010).

Buah pisang juga mengandung kalium. Kalium bermanfaat untuk mengendalikan tekanan darah, terapi darah tinggi serta membersihkan karbondioksida didalam darah. Selain kalium buah pisang juga mengandung tembaga (Cu) dan seng (Zn) yang berperan penting sebagai antiosidan untuk menangkal radikal bebas. Kandungan kalium pada beberapa jenis pisang pada Tabel 28 dibawah ini

Antioksidan, Alami dan Sintetik

Tabel 27. Kandungan Natrium, Kalium, Tembaga dan Seng Berbagai Jenis Pisang (mg/100gr)

Jenis Pisang	Natrium	Kalium	Tembaga	Seng
Pisang Kayu	1	493	0,08	0,3
Pisang Gapi	6	392	0,13	0,25
Pisang garoho	3	359	0,13	0,25
Pisang kepok	10	300	0,1	0,2
Pisang Ketip	4	726	0,15	0,5
Pisang mas	43	616	0,12	0,4

Selain kalium, tembaga dan seng buah pisang juga mengandung beberapa vitamin seperti vitamin A, vitamin B dan vitamin C. Kandungan vitamin A pada pisang tergantung pada jenis pisang.. Kandungan gizi pisang dapat dilihat pada Tabel 29 dibawah ini.

Tabel 28. Kandungan Gizi Berbagai Jenis Pisang per 100 g Daging Buah

Kandungan gizi	Jenis Pisang					
	Ambon	Angleng	Lampung	Mas	Raja	Susu
Energi (kkal)	99	68	99	127	120	118
Protein (g)	1,2	1,3	1,3	1,4	1,2	1,2
Lemak (g)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Karbohidrat (g)	25,8	17,2	25,6	33,6	31,8	31,1
Kalsium (mg)	8	10	10	7	10	7
Fosfor (mg)	28	26	19	25	22	29
Besi (mg)	0,5	0,6	0,9	0,8	0,8	0,3
Vitamin A (SI)	146	76	618	79	950	112
Vitamin B1 (mg)	0,08	0,08	0	0,09	0,06	0
Vitamin C (mg)	3	6	4	2	10	4
Air (g)	72,0	80,3	72,1	64,2	65,8	67,0

Sumber : Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1992

Antioksidan, Alami dan Sintetik

DAFTAR PUSTAKA

- Aak, K., 1989, *Kacang Tanah dan Kedelai*, Kanisius, Yogyakarta
- Allen RG, Tressini M. 2000. *Oxidative stress and gene regulation. Free Radical Biol Med.* 28;463-499.
- Astawan, M., Kasih, A. L. 2008. *Khasiat Warna-Warni Makanan* Gramedia. Jakarta
- Bendich A, 1989. *Carotenoids and the immune resposn.* J Nutr, 119;112-115
- Berry, D., 2003, *Food Product Design: Fat's Chance.* Week Publishing Company, Northbrook.
- Boer, Y., 2000, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq), *Jurnal Matematika dan IPA 1*, (1) hal 26-33
- Buck DF. 1991. Antioksidant. J. Smith (eds). *Food Additive User's Handbook.* Galsgow-UK : Blakie Academic & Profesional
- Buckle, k. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, dan M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan.* Penerjemah; Purnomo, Hari dan Adiono. Jakarta. UI. Press. Terjemahan dari : *Food Science.* 365 hal.
- Buring, J.E dan CH. Hennekens. 1993. "Retinoids and Carotenoids" dalam : *Cancer: Principles and Practise of Oncology.* V.T. devita Jr., S. Hellman, dan S.A. Rosenberg (Eds). 4 th ed. Philadelphia:J.B. Lippincott: 464-474
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I. 1992. *Daftar Komposisi Bahan Makanan.* Penerbit Bhatara, Jakarta.
- Depkes RI. 2008. Artikel "Antioksidan Resep Sehat dan Umur Panjang". <http://www.depkes.go.id>. [19 Maret 2013
- Donnelly JK and Robinson DS. 1990 *Oxygen Radicals in Living System and in Food.* BNF Nutri Bull, vol. 15. Hlm 115-129
- Eltstner, E.F. 1991. "Mechanisms of Oxygen Activation in Different Compartments of Plant Cells. " dalam *Active oxygen / oxidative Stress and Plant Metabolism.* E. J. Pell dan K.L. Steffen (Eds). Rockville, MD : American society of Plant Physiologists. 13-25

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Fennema OR. 1996. *Food Chemistry, 3rd edition*. New York : Marcel Dekker]
- Fraga CG, mohchnik PA, Shigenage MK, helbock HJ, Jacob RA, Ames BN. 1991. *Ascorbic Acid Protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm*. Proc. Natl. Acad Sci, USA, 88, 11003-11006
- Fukuzawa, K., 1998, Rate constants for quenching singlet oxygen and activities for inhibiting lipid peroxidation of carotenoids and alpha tocopherol in liposomes. *Lipids*, 33, pp. 751-756
- Grossweiner, L.I., 2000, *Singlet Oxygen: Generation and Properties*, J. Photobiol. Edu., Chicago USA.
- Gross, Jeana. 1991. *Pigments In Vegetables (Chlorophylls and Carotenoids)*. Van Nostrand Reinhold. New York. 7. 75
- Goldberg, L. 1994. *Functional Food, Designer Food, Pharma Food, Nutraceuticals*. Chapman and Hall : New York.
- Gordon MH. 1990. *Measuring Antioksidan Activity*. New York : CRC Press
- Gordon MH J. Pokorny, N. Yanishlieve, M. Gordon.2001. *Antioksidants in Food*. New York : CRC Press
- Gordon, M.H. 1990. *The Mekanism of Antioxidan Action in Vitro* Di dalam B.J.F. Hudson, ed. *Food Antioxidan*. Elvisier Applied Science. London.
- Halliwell B. 1994. *Free Radical, Antioxidant and Human Disease : Curiosity, Cause or Consequence*. The Lancet 344: hlm 721-724
- Hasim, A., Yusuf. 2008. *Ubi Jalar Kaya Antosianin Pilihan Pangan Sehat*. Sinar Tani.
- Herawati and Syafsir Akhlus. 2006. *Kinerja (Bht) Sebagai Antioksidan Minyak Sawit Pada Perlindungan Terhadap Oksidasi Oksigen Singlet*. Jurusan Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Hernani dan Mono Raharjo., 2005, *"Tanaman Berkhasiat Antioksidan"*, Penerbit Swadaya, Jakarta.
- Hernani, Raharjo, M., (2005). *Tanaman berkhasiat Antioksidan*, Penebar Swadaya, Jakarta,.
- Hirazumi, A., E. Furuzawa, S.C. Chou, and Y. Hokama. 1996. *Immunomodulation contributes to the anticancer activity of Morinda citrifolia (noni) fruit juice*. Proc. West Pharmacol. Soc. 39: 7-9.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Hirazumi, A. and E. Furuzawa. 1999. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumor activity.
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, 2000. Beta-karoten and other carotenoid. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and karotenoids. National Academy Press, Washington, DC. Pp 325-400
- Jackman, R. L. and J.L Smith. 1996. Anthocyanin and Betalain. in Hendry, G.A.P. dan J. D. Houghton (eds). Natural Food Colorants, Second Edition. Capman andHall. London
- Ketaren, S., 1986, Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. UI Press, Jakarta, pp. 120-126.
- Ketaren, S. 1975. *Peranan Lemak dalam Bahan Pangan*. Departemen Teknologi Hasil Pertanian . Fatemeta. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Kumalaningsih, S., Suprayogi. 2006. Tamarillo (Terung Belanda). Surabaya : Trubus Agrisarana
- Lampe JW. 1999. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. Am J Clin Nutr 70 Suppl: 475S-490S
- Lenny, S. 1996. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan alkaloida. USU.Medan
- Liedias, F. & Hansberg, W., 2000., Catalase Modification as a Marker for Singlet Oxygen : Methods Enzymol., 319, Academic Press, New York, pp. 110-119.
- Maforimbo, E., 2002., Evaluation of Capsicum as a Source of Natural Antioxidant in Preventing Rancidity in Sunflower Oil, J. Food Tech. in Africa, 7, pp. 68-72.
- Mahmud, M.K., Hermana, Zulfianto, N.A., Apriyantono, R.R., Ngadiarti, I., Hartati, B.m Bernadus, Tinexcellly. 2008. Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI). PT Elex Media Komputindo, Kompas Gramedia, Indonesia,
- Markakis, P. 1982. *Anthocyanin as Food Colors*. Academic Press, New York.
- Meydani SN, Wu D, Santos MS, Hayek MG. 1995. Antioxidants and immune response in aged persons: Overview of present evidence. Am J Clinl Nutr 62 (6 Suppl): 1462S.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Meydani, M. 2000. Effect of functional food ingredient : Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *Am J Clinl Nutr* 71 (6 Suppl): 1665S
- Miranda, M.S., Cintra, R.G., Barros, S.B.M., Mancini-Filho, J. 1998. *Antioxidant Activity of The Microalga Spirulina maxima*. FAPESP.
- Min, D.B. and Boff, J.M., 2002, Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1, pp 58-64.
- Muchtadi D, NS Palupi, M Astawan. 1993. *Metabolisme Zat Gizi, Sumber, Fungsi dan Kebutuhan bagi Tubuh Manusia Jilid II*. Jakarta : Pustaka Sinar Harapan
- Muchtadi D, NS Palupi, M Astawan. 1993. *Metabolisme Zat Gizi, Sumber, Fungsi dan Kebutuhan bagi Tubuh Manusia Jilid II*. Jakarta : Pustaka Sinar Harapan
- Muchtadi,H. 2000. *Sayur-sayuran. Sumber serat dan Antioksidan : Mencegah penyakit Degeneratif*. Bogor : Jurusan Teknologi Pangan & Gizi. FATETA.IPB
- Muhilal. 1991. *Teori Radikal Bebas dalam Gizi dan Kedokteran*. Cermin Dunia Kedokteran No. 73. Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi, Departemen Kesehatan RI : Bogor
- Nazir, Novizar. 2000. *Gambir; Budidaya, Pengolahan, dan Prospek Diversifikasinya*. Padang. Penerbit Yayasan Hutanku
- NIH (National Heart, Lung and Blood Institute), What is Atherosclerosis?. U.S. Department of Health & Human Service. <http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/atherosclerosis> [10 Desember 2015]
- Nishizawa M, M Kohno, M Nishimura, A Kitagawa, Y Niwano. 2005. Nonreductive Scavenging of 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) by Peroxyradical: A Useful Method for Quantitative Analysis of Peroxyradical. *Chem Pharm Bull* 53(6) 714-716
- Panovska, T.K., Kulevanova, S., Stefova., 2005, In Vitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Species (Lamiaceae), *Acta Pharm*, 55 hal 207-214
- Phelps S, Harris WS. 1993. Garlic Supplementation and Lipoprotein, oxidation susceptibility. *Lipids* 28:475-477

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Pohan, H.G. dan N.T. Antara. 2003. Pengolahan mengkudu dilihat dari aspek keamanan pangan dan analisa ekonomi. *Jurnal Riset Industri dan Perdagangan* 1(1): 28-37.
- Prakash, A., Rigelhof, F., Miller, E., 2001, *Antioxidant Activity*, Medalliaon Laboratories Analitical Progress, vol 10, No.2
- Putra SE. 2008. Artikel "Antioksidan Alami di Sekitar Kita". <http://www.chemistry.org>. [19 Maret 2013]
- Praptiwi, P Dewi, M Harapini. 2006. Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas *Dipheni Picril Hydrazil Hydrate* (DPPH) Ekstrak Metanol *Knema laurina*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(1), 32-36
- Pokorny. 1971. *Stabilization of Fat by Phenollic Antioxidants*. *Journal Food Technology*.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwel PG, Bramely PM, Pridham JB. 1995. The relative antioxidants activities of plant-derivet polyphenolic flavonoids. *Free Radic res* 22:375-383
- Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR. 1991. *Technique in Free Radical Research*. Elsevier Amsterdam, London, Tokyo
- Rumondang, A. H. 2005. *Studi Pembuatan Sari Buah Salak*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang
- Rohanah, Ainun. 2002. *Pembekuan*. <http://www.library.usu.ac.id>
- Schmidl, M. K dan Labuza, T. P. 2000. *Essential of Functional Foods*. Aspen Publisher, Inc : Gaithersburg, Maryland.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Gadjah Mada University Press
- Shui, G., Wong, S.P., Leong, L. P. 2004. *Characterization of Antioxidants and Change of Antioxidant Levels During Storage of Manilkara zapota L*. *Agricultural and Food Chemistry*. 52. 7834-7841.
- Sri, W. 2012. Pengaruh Isoflavon Kedelai Terhadap Kadar Hormon Testosteron Berat Testis Diameter Tubulus Seminiferus Dan Spermatogenesis Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). Program Studi Biomedik
- Stahl, W., Sies, H. 2003. *Antioxidant Activity of Carotenoids*. *Molecular Aspects of Medicine*. 24, 345-351

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Swain, J.H., D.I. Alekel, S.B. Dent, C.T. Peterson, dan M.B. reddy. 2002. "Iron Indexes and otal antioxidant status in Response to Soy protein intake in Perimenopausal Women. Dalam; *The American Journal of Clinical Nutrition*. 76 (1): 165-171
- Sudarmadji, S. dkk. 1984. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta. 138 hal.
- Sunardi , Ilham. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoabilimbi*, L.) Terhadap 1,1-diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). Teknologi Farmasi Fakultas Teknik Universitas Setia Budi. *Seminar Nasional Teknologi 2007 (SNT 2007) ISSN : 1978 - 9777*
- Tamat, S. R., T. Wikanta dan L. S. Maulina. 2007. *Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 5 (1) : 31-36.
- Tahir, I., Wijaya, K., Widianingsih, D., (2003). *Seminar on Chemometrics-Chemistry Dept Gadjah Mada University*, Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan senyawa Turunan Flavon/Flavonol, 25 Januari.
- The Merck Index, 1983, Tenth Edition, Published by Merck and Co Inc., Rahway NJ, USA
- Trilaksani, W., 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*, Institute Pertanian Bogor, Bogor, hal 1-12
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2007. 'Beta-crytoxanthin'. www.nal.usda.gov.
- Wijaya A. 1996. Radikal Bebas dan Parameter Status Antiosidan. Forum Diagnosticum. Lab Klinik Prodia 1:1-12
- Wise JA, Morrin RJ, Sanderson R, Blum K.1996. Changes in plasma carotenoid, α -tocopherol, and lipid peroxide levels in response to supplementation with concentrated fruits and vegetable extracts: A pilot study. *Curr Ther Res Clin Exp* 57: 445-461
- Winarno, F. G. 1991. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia. Jakarta.
- Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta
- Yan, X., Chuda, Y., Suzuki, M., Nagata, T. 1999. *Fucoxanthin as The Major Antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a Common Edible Seaweed*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63. 605-607.

Antioksidan, Alami dan Sintetik

- Yu Liangli. 2007. Wheat Antioxidants. Department of Nutrition and Food Science The University of marland
- Zakaria, F.R., B. Irawan, S.M. Pramudya, dan Sanjaya. 2000. "Intervensi Sayur dan Buah Pembawa Vitamin C dan E Meningkatkan Sistem Imun populasi Buruh Pabrik di Bogor." dalam : Buletin Teknologi dan Industri Pangan.