

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

2.1.1 Deskripsi pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Manusia diberikan akal pikiran oleh Allah SWT yakni agar senantiasa dapat menjalankan amanah dari Allah SWT sebagai hamba-Nya. Segala sesuatu yang ada dimuka bumi ini sebenarnya memiliki manfaat yang sangat beragam yang dapat digunakan untuk kemaslahatan umat manusia. Ciptaan Allah SWT yang memiliki manfaat besar diantaranya yaitu tumbuh-tumbuhan. Salah satu manfaat yang dapat kita ketahui pada tumbuhan yakni kegunaannya sebagai obat-obatan yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit yang dialami oleh manusia. Hal ini sebagaimana yang difirmakan oleh Allah SWT yakni berbunyi.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾
إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman (Q. S. Asy Syu’ara’ surat 26: 7-8)”.

Ayat di atas menjelaskan bahwasanya Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuhan yang baik, makna dari *tumbuhan yang baik* ini yakni tumbuhan yang dapat bermanfaat bagi kemaslahatan seluruh umat manusia. Tumbuhan yang baik yang dimaksud dalam ayat ini yakni tumbuhan

yang dapat digunakan sebagai obat-obatan sehingga dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Pegagan merupakan salah satu tumbuhan yang dianggap tidak bermanfaat. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa kandungan bahan aktif di dalam pegagan memiliki banyak sekali manfaat salah satunya yakni kandungan triterpenoid saponin (*asiaticoside*) yang terdapat dalam pegagan yang diketahui dapat merevitalisasi pembuluh darah sehingga peredaran darah ke otak menjadi lancar. Selain itu pegagan juga dapat dipakai sebagai perangsang saraf memori sehingga dipakai sebagai pengganti ginkgo biloba Febrianika (2008).

Ayat di atas juga menjelaskan bahwasanya segala sesuatu yang ada di muka bumi ini dan yang telah diciptakan oleh Allah SWT tidak ada satupun yang sia-sia. Segala yang diciptakan memiliki manfaat dan kegunaan masing-masing. Selain dapat digunakan sebagai obat, bahan aktif yang terkandung di dalam pegagan ini juga disinyalir mampu mempengaruhi metabolisme pada organ-organ yang terkait dengan reproduksi betina.

Besung (2009) pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan tanaman liar yang banyak tumbuh di perkebunan, ladang, tepi jalan, pematang sawah ataupun di ladang yang agak basah. Kashiko (2004) menambahkan bahwa tumbuhan ini hidup menjalar, mempunyai sulur berakar, daunnya seperti ginjal, melekat pada tangkai yang panjang dan bergerombol menjadi satu putaran batang, tangkai daun agak melebar di bagian bawah kadang-kadang berwarna kemerah-merahan, dan daunnya bisa dimakan sebagai obat.

Pegagan merupakan tumbuhan tropis yang tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 2500 dpl (di atas permukaan laut). Mempunyai rizoma pendek sebagai batang dan geragih-geragih jalar panjang, daun berupa ginjal atau kaki kuda, pinggiran berombak bergerigi. Bunga berbentuk payung berwarna kemerahan, bulat kuning coklat (Hardi, 2010).

Buah pegagan berukuran kecil, panjang 2-2,5 mm, lebar 7 mm, berbentuk lonjong atau pipih, menggantung. Perkembangbiakan pegagan bisa dari stolon dan bisa pula dengan biji (Winarto dan Surbakti, 2003).



Gambar 1. Morfologi pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) (Hardi, 2010)

2.1.2 Klasifikasi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Menurut Besung (2009) klasifikasi ilmiah pegagan adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledone
Ordo : Umbellales
Famili : Umbelliferae (Apiaceae)
Genus : *Centella*
Spesies : *Centella asiatica*(L.) Urban

2.1.3 Kandungan daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Pegagan mengandung berbagai bahan aktif, kandungan bahan aktif yang terpenting adalah triterpenoid saponin, termasuk asiaticoside,

centelloside, madecassoside, dan asam asiatik. Komponen yang lain adalah minyak volatil, flavonoid, tanin, fitosterol, asam amino, dan karbohidrat (Besung, 2009).

Pegagan (*Centella asiatica* (L.)Urban) memiliki kandungan triterpenoid saponin (asiaticoside) yang dapat merevitalisasi pembuluh darah sehingga peredaran darah ke otak menjadi lancar. Pegagan dapat dipakai sebagai perangsang saraf memori sehingga dipakai sebagai pengganti ginkgo biloba (Febrianika, 2008).

Centella asiatica (L.) Urban yang banyak digunakan sebagai obat alami mengandung berbagai bahan aktif, kandungan bahan aktif itu adalah triterpenoid saponin. Bahan aktif triterpenoid saponin itu meliputi asiatikosida, centellosida, madekossida, asam asiatik dan komponen yang lain. Bahan aktif triterpenoid saponin berfungsi untuk meningkatkan aktifitas makrofag yang menyebabkan meningkatnya fagositosis dan sekresi interleukin. Sekresi interleukin ini akan memacu sel β untuk menghasilkan antibodi (Besung, 2009).

Bahan aktif asiatikosida dan madekossida mampu memperbaiki kerusakan sel dan membentuk serat kolagen secara cepat, bahan aktif tersebut juga mampu memperbaiki sel-sel granulosa pada ovarium (Suhaimi, 2007). Selain itu bahan aktif asiatikosida diketahui mempercepat penyembuhan luka dengan jalan meningkatkan kandungan hidroksiplorin dan mukopolisakarida yang merupakan bahan untuk mensintesis matriks ekstra seluler. Asiatikosida

dapat juga meningkatkan produksi antioksidan baik dari golongan enzimatik dan non enzimatik (Kusumawati, 2007).

Triterpenoid saponin pada pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) berfungsi untuk meningkatkan aktivasi makrofag. Bahan triterpenoid saponin mampu memacu produksi kolagen I, yaitu protein pemacu proses penyembuhan luka (Winarto, 2003). Dalam kajian fertilitas (terutama pada betina) menurut Fitriyah (2009) bahan aktif pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dapat mempengaruhi perkembangan folikel ovarium mencit betina (*Mus musculus*) dengan meningkatkan dan menurunkan jumlah folikel primer, tertier, dan de graaf.

Asiatikosida mampu bekerja dalam detoksifikasi pada hati dan merupakan marker dalam penentuan standar baku pada pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). Madekossida juga berperan penting karena mampu memperbaiki kerusakan sel dengan sintesis kolagen (Selfitri, 2008). Fibroblast sangat penting dalam pembentukan serat kolagen, kolagen dibina atas protein dan merupakan 30% dari seluruh protein tubuh mamalia, oleh karena serat kolagen berperan dalam penyembuhan luka atau kerusakan jaringan (Kusumawati, 2007).

Flavonoid adalah suatu kelompok yang termasuk ke dalam senyawa fenol yang terbanyak di alam, senyawa-senyawa flavonoid ini bertanggung jawab terhadap zat berwarna ungu, merah, biru dan sebagian zat berwarna kuning dalam tumbuhan. Flavonoid dalam tumbuhan mempunyai empat

fungsi: 1) sebagai pigmen warna, 2) fungsi patologi, 3) aktivasi farmakologi, 4) flavonoid dalam makanan (Handayani, 2005).

Fitosterol merupakan turunan senyawa sterol yang dahulu hanya ditemukan pada hewan dalam bentuk kolesterol sebagai bahan baku pembentuk hormon seks. Senyawa-senyawa fitosterol yang terdapat pada tumbuhan antara lain: sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Tisnajaya dkk, 2005).

2.2 Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1 Deskripsi mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan berkaki empat dan merupakan hewan pengerat. Hewan pengerat merupakan hewan yang memenuhi persyaratan sehingga paling banyak digunakan sebagai hewan coba di berbagai penelitian laboratorium. Hewan yang digunakan harus sehat, asal jenis hewan diketahui, jenis kelamin, usia, dan bobot tubuh harus jelas dan seragam. Biasanya penelitian menggunakan hewan muda dan dewasa (Yunianto, 2007).

Sesungguhnya Allah SWT telah menciptakan makhluk-Nya dengan bentuk yang paling sempurna, lengkap dengan semua yang diperlukan untuk kelangsungan hidupnya. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam Qur'an Surat An-Nur (surat 24 : 45) yakni sebagai berikut;

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِ ۚ وَمِنْهُمْ مَّن

يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ يَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۚ إِنَّ

اللَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya : “Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan diatas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki, sedang sebagian yang lain berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendakinya, sesungguhnya Allah Maha kuasa atas segala sesuatu”.

Asy-Syuyuti dan Al-Mahalliy (2010) menafsirkan ayat tersebut bahwa (Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan) maksudnya makhluk hidup (dari air) yakni air mani (maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya) seperti ulat dan binatang melata lainnya (dan sebagian berjalan dengan dua kaki) seperti manusia dan burung (sedangkan sebagian yang lain berjalan dengan empat kaki) seperti hewan liar dan hewan ternak. (Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu). Allah telah mnciptakan semua jenis makhluk yang melata.

Selanjutnya ditafsirkan oleh Shiddieqy (2000) Allah SWT telah menjadikan segala binatang yang melata di atas bumi, baik manusia, binatang, burung, ataupun binatang lainnya dari air. Air adalah salah satu unsur tubuh. Sebagian ahli tafsir mengatakan bahwa jumlah yang terbesar dari binatang itu dijadikan dari nutfah, walaupun ada juga yang tidak berasal dari padanya. Di antara binatang itu ada yang bergerak dengan perutnya seperti ular, ikan, dan sebagainya. Dinamai gerakan-gerakan binatang dengan berjalan, padahal sebenarnya binatang itu melata untuk memberi isyarat kepada kesempurnaan kodrat-Nya, walaupun binatang-binatang itu tidak mempunyai alat berjalan, namun seolah-olah berjalan juga. Di antara binatang-binatang itu ada yang berjalan dengan dua kaki, seperti manusia dan burung. Di antara makhluk-

akhluq itu ada yang berjalan dengan empat kaki seperti lembu, unta, singa dan sebagainya. Allah tidak menjelaskan binatang yang berjalan dengan kaki lebih dari empat, seperti laba-laba. Allah menjadikan apa yang telah dia terangkan dan apa yang belum dia terangkan dan bermacam-macam bentuknya, beraneka gerakannya, dan berlain-lainan tabiat dan kekuatannya. Allah menjadikan segala yang tersebut itu dan segala yang dikehendaki. Dia benar-benar mempunyai kekuasaan yang mutlak dan sungguh Maha Berkuasa.

Penggalan ayat ini juga menjelaskan bagaimana hewan ini berjalan dengan menggunakan kaki. Menurut Jasin (1984), hewan mamalia ini banyak yang hidup secara nocturnal dan juga yang hidup secara diurnal. Hal ini sesuai dengan Ayat diatas yang menjelaskan tentang kaki dari hewan mamalia ini. Kaki yang Allah SWT berikan digunakan untuk mencari rejeki selain itu juga digunakan sebagai sarana dalam menemukan bukti-bukti kekuasaan Allah Swt.

Al Bassam (2006), juga menyatakan bahwa Nabi Muhammad SAW bersabda :

وعن ميمونة رضي الله عنها زوج النبي صلى الله عليه وسلم: (أن فأرة وقعت في سمن, فماتت فيه, فسئل النبي صلى الله عليه وسلم عنها, فقال: ألقوها وما حولها, وكلوه).
رواه البخاري. وزاد أحمد والنسائي: في سمن جامد.

Artinya: Dari Maimunah RA, Istri nabi Saw. ia berkata: bahwa ada seekor tikus terjatuh ke dalam minyak samin lalu ia mati di dalamnya. Nabi SAW ditanya tentang hal itu, beliau bersabda, “ Buanglah ia (tikus itu) dan bagian yang ada di sekitarnya, lalu makanlah (sisanya).” (HR. Bukhari) Imam Ahmad dan An-Nasa’I menambahkan, “pada minyak yang beku.”

Hadits tersebut menyatakan bahwa sesungguhnya tikus apabila ia jatuh di dalamnya (minyak samin) dan keluar dalam keadaan hidup, maka

minyak samin tersebut tidak najis. Hal ini seperti yang telah dipaparkan oleh para ahli fikih yang menjadikan kucing dan hewan kecil lainnya suci saat ia masih hidup, berdasarkan hadits Rasulullah SAW yang artinya “*Sesungguhnya ia tidak najis, ia adalah jenis hewan-hewan yang lalu lalang di sekitar kalian*”. Kemudian berdasarkan hadits tersebut ulama’ menganalogikan dengan hewan jenis lainnya.

Pada penelitian ini, tikus dipilih menjadi subyek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Walaupun tikus mempunyai struktur fisik dan anatomi yang berbeda dengan manusia, tetapi tikus adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia (Syahrin, 2006).

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan politocous karena mempunyai kemampuan menghasilkan anak lebih dari satu dalam setiap kelahiran. Hewan-hewan pilotocous memiliki bentuk ovarium seperti buah murbei. Morfologi buah murbei sangat tepat untuk menggambarkan kondisi morfologi ovarium mencit. Sebagaimana kita ketahui buah murbei memiliki bentuk lonjong dengan permukaan tidak rata dan memiliki granula-granula yang tidak sama besar. Kondisi tersebut dapat dijadikan gambaran bahwa pada permukaan ovarium (bagian korteks) terdapat banyak folikel dalam berbagai tahap perkembangan dengan ukuran berbeda. Kondisi tersebut menyebabkan penampilan permukaan ovarium yang tidak rata (bergranula). Ovarium mencit memiliki dua bagian utama yang terdiri atas korteks dan medula (Partodihardjo, 1992).

Ovarium mempunyai dua fungsi, sebagai organ eksokrin yang menghasilkan sel telur atau ovum dan sebagai organ endokrin yang mensekresikan hormon-hormon kelamin betina, estrogen dan progesteron

(Toelihere, 1977). Ovarium berjumlah sepasang, di kanan kiri uterus dalam rongga pelvis. Diikatkan ke dinding dorsal tubuh pada *broad ligament* uterus oleh *mesovarium* (Yatim, 1996).



Gambar 2. Morfologi Mencit (*Mus musculus*) (Dok. pribadi, 2013).

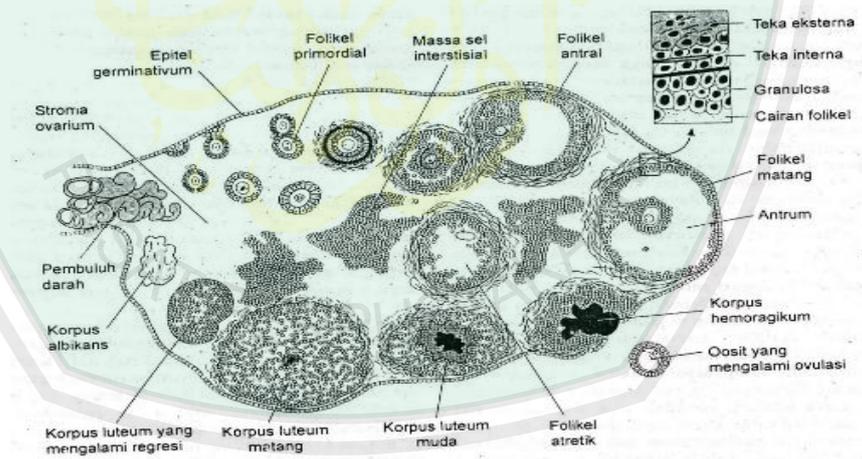
2.2.2 Anatomi dan Fisiologi Reproduksi Mencit

Secara anatomi alat kelamin betina dapat dibagi menjadi 3 bagian besar yaitu: gonad atau ovarium yang merupakan alat kelamin utama yang berfungsi menghasilkan telur, saluran-saluran reproduksi betina terbagi menjadi: oviduct atau tuba falopi, uterus yang terbagi lagi atas kornua uteri dan korpus uteri, servik dan vagina, alat kelamin bagian luar yang terdiri atas klistoris dan vulva. Pada mamalia ovarium terdapat sepasang dan tempatnya di dekat ginjal dimana gonad berasal (Partodihrdjo, 1992).

Jaringan dasar ovarium yang disebut dengan *stroma* mengandung serat jaringan ikat, otot polos, dan pembuluh darah yang bergelung-gelung banyak. Dalam *stroma cortex* banyak sekali folikel, folikel itu terdiri dari oosit dan sel-sel folikel (Yatim, 1994). Ovarium terdiri dari dua bagian yaitu medulla dan kortex (Susilawati, 1992), kortex adalah bagian kulit ovarium

terletak di bagian germinal. Terdiri dari jaringan ikat interstitial yang disebut *stroma*. *Stroma* korteks terdiri dari jalinan serat retikuloa dan sel bentuk gelendong mirip otot polos.

Ovarium diselaputi oleh selaput sel-sel yang berasal dari lapisan peritonium, yang kemudian berubah menjadi bentuk kubus disebut *epitel germinal* (Yatim,1994) ovarium berfungsi sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Sebagai kelenjar eksokrin berfungsi menghasilkan telur dan sebagai kelenjar endokrin berfungsi menghasilkan hormon steroid yaitu estrogen, progesteron, relaxin dan inhibidin (Susilawati, 1992).



Gambar 3. Histologi Ovarium (Ganong, 2007)

Ovarium mensintesis 3 macam hormon, yaitu: estrogen, progesteron, dan relaxin. Estrogen dan progesteron merupakan hormon steroid, sedangkan relaxin merupakan polipeptida (Partodihardjo, 1992). Estrogen merupakan hormon yang berperan penting pada kerja sel granulosa, sel teka, dan sel

luteal ovarium. Hormon estrogen ini juga berperan pada reseptor FSH dan LH (Suhaemi, 2006). Reseptor FSH pada sel granulosa berperan dalam perkembangan folikel. Hormon FSH bersifat obligatori bagi seleksi dan perkembangan folikel dominan. Sistem sinyal reseptor FSH berperan penting dalam pertumbuhan dan diferensiasi folikel dominan melalui kemampuannya membentuk cairan folikel, proliferasi sel, dan ekspresi reseptor LH (Suhaemi, 2007).

Hormon progesteron yang terdapat pada ovarium terbentuk pada bagian folikel, sel-sel ovarium dan korpus luteum. Korpus luteum adalah jaringan tubuh yang banyak membentuk progesteron. Menurut Husnurizal (2008) penurunan kadar progesteron ini akan merangsang hipofisis anterior melepaskan FSH dan LH, kedua hormon ini bertanggung jawab dalam proses folikulogenesis dan ovulasi, sehingga terjadi pertumbuhan dan pematangan folikel. Folikel-folikel tersebut akhirnya menghasilkan hormon estrogen yang mampu memanifestasikan gejala birahi.

Dalam uterus progesteron mempunyai tiga pengaruh nyata yang meliputi: Pertama; untuk menghambat kontraksi myometrium. Kedua; progesteron merangsang tumbuhnya kelenjar-kelenjar susu uterus pada endometrium. Ketiga; pada spesies tertentu implantasi selalu diikuti oleh proses perkembangan sel-sel permukaan endometrium yang menerima blastosit yang disebut deciduoma (Partodihardjo, 1992).

2.3 Pengertian dan jenis radikal bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron – elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Fessenden, 1986). Senyawa radikal bebas timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh (Reynertson, 2007), berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar dan radiasi matahari atau radiasi kosmis (Machlin, 1992).

Senyawa radikal bebas dapat mengganggu integritas sel karena dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel baik komponen structural (molekul penyusun sel) maupun komponen fungsional (enzim, DNA) (Arivazhagan et al., 2000). Berbagai contoh radikal bebas dari Reactive Oxygen Species (ROS) adalah radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$), radikal hidroksil ($\cdot OH$), radikal peroksil (RO_2^{\cdot}), radikal alkoksil (RO^{\cdot}) dan non radikal lainnya yang dapat merangsang oksidasi atau terbentuknya senyawa, molekul atau atom yang bersifat radikal diantaranya hipoklorit ($HOCl$), ozone (O_3), singlet oksigen (1O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2), peroksinitrit ($ONOO^-$) sedangkan radikal dari Reactive Nitrogen Species (RNS) diantaranya adalah radikal nitrogen oksida (NO^{\cdot}), nitrogen dioksida (NO_2^{\cdot}), dan radikal nitrogen oksida lainnya (Wiseman dan Halliwell, 1996), karena elektron radikal bebas tidak berpasangan maka mempunyai kecenderungan menarik elektron dari molekul lain dan dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel (Halliwell dan Gutteridge, 1999; Arivazhagan et al., 2000).

Menurut Lautan (1997) dan Papas (1999) tidak semua ROS adalah radikal bebas, beberapa ROS yang ada di dalam tubuh adalah radikal superoksida (O_2^*), radikal hidroksil ($*OH$), radikal hidroperoksil (HO_2^*), radikal lipid (L^*), radikal lipid peroksil (LO_2^*), radikal lipid alkoksil (LO^*), radikal nitrogen oksida ($r(NO_2^*)$), radikal nitrat oksida (NO^*), radikal tiyil (RS^*), sedangkan ROS bukan radikal di-antaranya adalah hidrogen peroksida oksida ($r(NO_2^*)$), radikal nitrat oksida (NO^*), radikal tiyil (RS^*), sedangkan ROS bukan radikal di-antaranya adalah hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), hidroperoksida lipid ($LOOH$), kompleks besi-oksigen ($Fe=O$), hipoklorit ($HOCl$).

Radikal endogen menurut Widowato (2005) adalah radikal hasil proses-proses endogen atau metabolisme seluler yang melibatkan oksigen, meliputi proses-proses enzimatik, autoksidasi yang dikatalisis logam transisi, peroksidasi lipid, logam transisi, termasuk sistem transport elektron dalam mitokondria dan mikrosom, oksidatif fagositik, dan reaksi lainnya.

Radikal bebas terbentuk dalam tubuh sebagai produk samping metabolisme, selain itu juga dapat berasal dari luar tubuh yang terserap melalui pernafasan atau kulit. Serangan radikal bebas dapat menimbulkan penyakit degeneratif seperti jantung, rematik, dan penyakit-penyakit pada otak, ginjal, paru-paru, sistem pencernaan dan imun. Akibatnya akan mengurangi lamanya hidup, menurunkan kualitas hidup dan mempercepat proses penuaan (Dalimartha dan Soedibyo, 1999).

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. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh, dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas bisa terbentuk, misalnya, ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini, seringkali terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi demikian, mudah sekali terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksi, 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), ozon, dan lain-lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering diistilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau Reactive Oxygen Species (ROS) (Winarsih, 2007).

Sering kali pengertian oksidan dan radikal bebas dianggap sama karena keduanya memiliki kemiripan sifat. Kedua jenis senyawa ini juga memiliki aktivitas yang sama dan memberikan akibat yang hampir sama, meskipun melalui proses yang berbeda. Sebagai contoh, dampak reaksi H_2O_2 (sebagai oksidan) dan radikal bebas hidroksil (OH^*) terhadap glutathion (GSH) (Winarsih, 2007).

Kemiripan sifat antara radikal 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 (Winarsih, 2007).

Target utama radikal bebas adalah merusak protein, karbohidrat, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein serta unsur DNA (terutama pada basa nitrogennya). Efek negatif yang ditimbulkan sangat bervariasi, tergantung jenis molekul yang diserang dan jenis organ tubuh. Gangguan umum yang ditimbulkan adalah gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul modifikasi yang tidak dapat dikenali oleh system imun bahkan mutasi sel. Serangan radikal bebasterhadap molekul disekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai yang kemudian menghasilkan senyawa baru, dan dampak yang ditimbulkan akan semakin besar. Peran utama senyawa antioksidan adalah menangkap radikal bebas, memutus reaksi berantai, sehingga efek negatif lainnya dapat dicegah.

Kerusakan oksidatif atau kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen seperti enzim catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, dan glutathione S-transferase. Namun 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).

Berkaitan dengan fungsinya, senyawa antioksidan di klasifikasikan dalam lima tipe antioksidan, yaitu:

1. Primary antioxidants, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini, misalnya BHA, BHT, PG, TBHQ, dan tokoferol.
2. Oxygen scavengers, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam system sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbilpalminat, asam eritorbat, dan sulfit.
3. Secondary antioxidantsI, yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk berdekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan poliolefin resin. Contohnya, asam tiodipropionat dan dilauriltiopropionat.

4. Antioxidative Enzyme I, yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya glukose oksidase, superoksidase dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase.
5. Chelators sequestrants, yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi lemak. Senyawa yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, ethylenediaminetetra acetid acid (EDTA), dan fosfolipid.

2.4 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsih, 2007).

Menurut Huang 2005, Antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik contohnya : superoksid dismutase, catalase, glutathione peroksidase. Sedangkan antioksidan non enzimatik adalah kofaktor enzim antioksidan, penghambat enzim oksidatif, pembentuk khelat logam transisi, dan penangkap radikal.

Berkaitan dengan reaksi oksidasi di dalam tubuh, status antioksidan merupakan parameter penting untuk memantau kesehatan seseorang. Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas, yang secara kontinyu dibentuk sendiri oleh tubuh. Bila jumlah senyawa oksigen reaktif ini melebihi jumlah antioksidan dalam tubuh, kelebihannya akan menyerang komponen lipid, protein, maupun DNA sehingga mengakibatkan kerusakan-kerusakan yang disebut stres oksidatif. Namun demikian, reaktivitas radikal bebas dapat dihambat melalui 3 cara (Winarsih, 2007) yakni sebagai berikut;

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai).
3. Memperbaiki (repair) kerusakan oleh radikal.

Antioksidan dapat berupa enzim (misalnya superoksida dismutase atau SOD, katalase, dan glutathion peroksidase), vitamin (misalnya vitamin E, C, A dan β -karoten), dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin, dan lain-lain). Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama (primer) terhadap kondisi stres oksidatif. Enzim-enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivitasnya sangat tergantung pada adanya ion logam. Aktivitas SOD bergantung pada logam Fe, Cu, Zn, dan Mn, enzim katalase bergantung pada Fe (besi), dan enzim glutathion peroksidase bergantung pada Se (Selenium). Antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal baru (Winarsih, 2007).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terjadinya proses oksidasi. Proses oksidasi dapat melemahkan sistem kekebalan tubuh dan mengakibatkan proses penuaan atau keriput yang lebih cepat pada tubuh. Antioksidan dapat menangkap radikal bebas yang menyerang tubuh, sehingga proses oksidasi pada sel-sel tubuh tidak berlanjut (Nurfina, 1996).

Disamping antioksidan yang bersifat enzimatis, ada juga antioksidan non-enzimatis yang dapat berupa senyawa nutrisi maupun non-nutrisi. Kedua kelompok antioksidan dan non-enzimatis ini disebut juga antioksidan sekunder karena dapat diperoleh dari asupan bahan makanan, seperti vitamin C, E, A, dan β -karoten. Glutathion, asam urat, bilirubin, albumin, dan flavonoid juga termasuk dalam kelompok ini. Senyawa-senyawa ini berfungsi menangkap senyawa oksidan serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Komponen-komponen tersebut tidak kalah penting perannya dalam menginduksi status antioksidan tubuh. Misalnya isoflavonoid, salah satu komponen flavonoid yang banyak terdapat dalam kedelai dan produk olahannya. Senyawa ini telah banyak dilaporkan perannya sebagai antioksidan (Winarsi, et al., 2003).

Antioksidan 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 antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990). Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok,

yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (Winarsih, 2007).

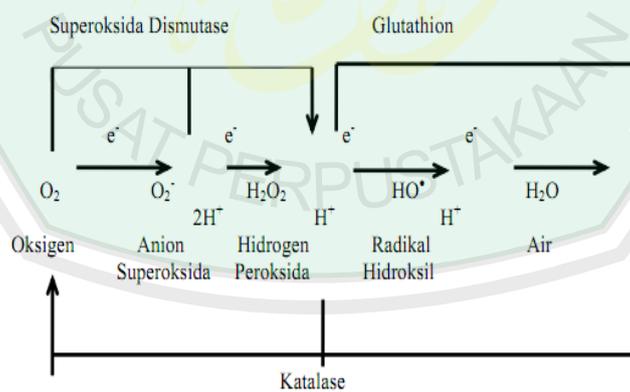
Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida, fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990).

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi (Rohdiana, 2001). Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan menstabilkan radikal bebas

dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Utami et al., 2009).

Reduksi oksigen sebagian (reduksi univalent) melepaskan superoksida melalui kebocoran rantai transport electron. Reduksi oksigen univalent berlangsung dalam sel dan ribuan reaksi diproses metabolik. Sebagai contoh ROS dihasilkan melalui fungsi oksigenase pada retikulum endoplasma dan autooksidasi flavin dan tiol tereduksi. Oksidase dan system transport electron juga merupakan sumber utama ROS. Pembentukan H_2O_2 dalam sel juga merupakan proses normal dan 15 persen dari oksidan ini dihasilkan dalam mitokondria. Reduksi univalent yaitu masing-masing hanya mengambil sebuah e^- , dengan menerima $1 e^-$ terbentuk $O_2^{\cdot -}$ yang juga dibatasi oleh dismutase spontan (Widowati, 2005).



Gambar 3. Jalur reduksi univalent dari oksigen dan enzim-enzim antioksidan (Widowati, 2005)

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh (Sofia, 2006 ; Kuncahyo dan Sunardi, 2007).

Antioksidan dibedakan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis, yang terdiri dari superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion peroksida (GPx), serta glutathion reduktase (GRx). Antioksidan non enzimatis antara lain vitamin C, vitamin E, dan beta karoten (Yilmaz et al., 2006; Jawi et al., 2007).

Secara alami beberapa jenis tumbuhan merupakan sumber antioksidan, hal ini dapat ditemukan pada beberapa jenis sayuran, buah-buahan segar, beberapa jenis tumbuhan dan rempah-rempah (Praptiwi et al., 2006).

2.5 Kandungan tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan

Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, bioflavanoid, vitamin C, vitamin E, β -karoten, katekin, licopen (Hernani dan Raharjo, 2006). Studi terbaru menunjukkan bahwa flavanoid dan polifenol memiliki kontribusi yang besar terhadap total aktivitas antioksidan dari suatu buah-buahan atau sayuran (Einbond et al, 2004).

Analisis kadar SOD dapat dilakukan dengan xantin dan xantin oksidase sebagai penghasil superoksida. Radikal superoksida akan

bereaksi dengan garam tetrazolium (berwarna kuning), menjadi formazan yang berwarna biru. Aktivitas SOD yang tinggi ditandai dengan banyaknya radikal superoksida yang dinetralkan atau semakin rendahnya jumlah formazan yang terbentuk. Perubahan warna dapat dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm.

Glutathione (L- γ -glutamyl-cysteinyl-glycine) merupakan tripeptida yang mengandung gugus sulfhidril (-SH). antioksidan, terutama berpartisipasi dalam penghancuran H₂O₂ dan peroksida organik. Ada dua glutathione, yaitu glutathione tereduksi dan glutathione teroksidasi. Glutathione banyak ditemukan di dalam sitosol hati. Keberadaan GSH di dalam sel hati sangat diperlukan sebagai substrat glutathione peroxidase dan sebagai senyawa konjugat detoksifikasi xenobiotik pada reaksi enzim fase II. Prinsip pengukuran aktivitas enzim ini, melalui mekanisme transfer elektron sehingga akan terjadi perubahan warna kekuningan menjadi warna ungu setelah 30 menit. Semakin tinggi warna ungu yang terbentuk absorbansinya akan semakin besar pula.

Peranan antioksidan pada kesehatan. Proses penuaan dan penyakit degeneratif seperti kanker kardiovaskuler, penyumbatan pembuluh darah yang meliputi hiperlipidemia, aterosklerosis, stroke, dan tekanan darah tinggi serta terganggunya sistem imun tubuh dapat disebabkan oleh stress oksidatif (Winarsih, 2007).

Stress oksidatif adalah keadaan tidak seimbangnya jumlah oksidan dan prooksidan dalam tubuh. Pada kondisi ini, aktivitas molekul radikal

bebas atau reactive oxygen species (ROS) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa xenobiotik dari makanan atau lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan tersebut (Winarsih, 2007).

Untuk melawan bahaya radikal bebas, tubuh telah mempersiapkan penangkal yaitu dengan sistem antioksidan. Ada 3 golongan antioksidan dalam tubuh (Winarsih, 2007) yaitu ;

1. Antioksidan Primer : berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas, misalnya Transferin, Feritin, albumin
2. Antioksidan Sekunder : berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, misalnya Superoxide Dismutase (SOD), Glutathion Peroxidase (GPx), Vitamin C, Vitamin E, B-Caroten, dan lain-lain.
3. Antioksidan Tersier atau repair enzim : berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas.

Secara alamiah tubuh manusia telah dilengkapi sistem pertahanan antioksidan yang terdiri atas katalase (Cat), superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), glutathion-S-transferase (GST), Glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD), gultathion tereduksi (GSH), total sulfhydryl group (TSH), dan vitamin C dan E (Winarsih, 2007).