

SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)

SEBAGAI PREKUSOR ANTIOKSIDAN ENDOGEN
PADA STRESS OKSIDATIF

Stress oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan. Hal itu dapat terjadi karena aktivitas fisik yang maksimal atau berlebih dapat memicu ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan tubuh atau antioksidan endogen yang diproduksi tubuh seperti Superoksida dismutase (SOD), Glutathion peroksidase (GPx), dan Catalase (CAT). Hal itu juga dapat terjadi karena fungsional biokimia, yaitu bila makhluk hidup berlebihan dalam karbohidrat, protein dan lemak akan terjadi stress tubuh dengan ditandai oleh Malondialdehid yang meningkat (MDA), SOD menurun, Glutathion Peroxidase (GPx) menurun, dan catalase (CAT) menurun; ini juga berhubungan dengan unsur-unsur kimiawi pada sel hidup dengan berbagai seri reaksi proses yang dialami tubuh.

Buku ini secara khusus bertujuan untuk menunjang proses pembelajaran mata kuliah biokimia yang merupakan suatu interdisiplin ilmu yang mengajarkan berbagai subbidang ilmu seperti Kedokteran, Bioteknologi, Mikrobiologi, Fisiologi, Biologi sel, Biofisik, Kimia, Farmasi, dan lainnya.



UDAYANA UNIVERSITY PRESS

Kampus Universitas Udayana Denpasar
Jl. PB. Sudirman, Denpasar - Bali, Telp. (0361) 255128
unudpress@gmail.com <http://penerbit.unud.ac.id>

ISBN: 978-602-294-113-2

UDAYANA UNIVERSITY PRESS

SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)

SEBAGAI PREKUSOR ANTIOKSIDAN ENDOGEN
PADA STRESS OKSIDATIF



Dr. Ir. Sri Wahjuni, M.Kes.

**SUPEROKSIDA
DISMUTASE (SOD)
SEBAGAI PREKUSOR ANTIOKSIDAN
ENDOGEN PADA STRESS OKSIDATIF**

Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2014 Tentang Hak Cipta

Lingkup Hak Cipta

Pasal 1

1. Hak Cipta adalah hak eksklusif pencipta yang timbul secara otomatis berdasarkan prinsip deklaratif setelah suatu ciptaan diwujudkan dalam bentuk nyata tanpa mengurangi pembatasan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Ketentuan Pidana

Pasal 113

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf I untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan / atau pidana denda paling banyak Rp. 100.000.000,00 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan / atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan / atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan / atau pidana denda paling banyak Rp. 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

**SUPEROKSIDA
DISMUTASE (SOD)
SEBAGAI PREKUSOR ANTIOKSIDAN
ENDOGEN PADA STRESS OKSIDATIF**

DR. IR. SRI WAHJUNI, M.KES.
JURUSAN KIMIA FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS UDAYANA



UDAYANA UNIVERSITY PRESS
2015

**SUPEROKSIDA
DISMUTASE (SOD)**
SEBAGAI PREKUSOR ANTIOKSIDAN ENDOGEN
PADA STRESS OKSIDATIF

Penulis:

Dr. Ir. Sri Wahjuni, M.Kes.

Editor:

Prof. Dr. Iwan H. Utama, MSVT.

Penyunting bahasa:

Prof. Ir. IDK. Harya Putra, M.Sc., Ph.D.

Cover & Ilustrasi:

Repro

Lay Out:

I Putu Mertadana

Diterbitkan oleh:

Udayana University Press
Kampus Universitas Udayana Denpasar,
Jl. P.B. Sudirman, Denpasar - Bali Telp. (0361) 9112762
unudpress@gmail.com <http://penerbit.unud.ac.id>

Cetakan Pertama:

2015, xii + 58 hlm, 15,5 x 23 cm

ISBN: 978-602-294-113-2

Hak Cipta pada Penulis.
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang :
Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari penerbit.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadapan Ida Sang Hyang Widhi Wasa (Tuhan Yang Maha Esa), berkat rahmatNya , penulis dapat menyelesaikan penulisan monograf yang berjudul *Superoksida Dismutase (SOD) Sebagai Prekursor Antioksidan Endogen pada Stress Oksidatif*. Peristiwa tersebut dimulai dari menurunnya jumlah oksigen dan nutrisi sehingga menimbulkan proses iskemik dan kerusakan mikrovaskuler.

Stress oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan. Hal itu dapat terjadi karena aktivitas fisik yang maksimal atau berlebihan dapat memicu ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan tubuh atau antioksidan endogen yang diproduksi tubuh seperti Superoksida dismutase (SOD), Glutation peroksidase (GPx), dan Catalase (CAT). Hal itu juga dapat terjadi karena fungsional biokimia, yaitu bila makhluk hidup berlebihan dalam karbohidrat, protein dan lemak akan terjadi stress tubuh dengan ditandai oleh Malondialdehid yang meningkat (MDA), SOD menurun, *Glutathion Peroxidase* (GPx) menurun, dan catalase (CAT) menurun; ini juga

berhubungan dengan unsur-unsur kimiawi pada sel hidup dengan berbagai seri reaksi proses yang dialami tubuh.

Ruang lingkup superoksida dismutase merupakan antioksidan endogen yang terjadi selama stress oksidatif; di mana kehidupan itu ada, di situ berlangsung proses-proses kimiawi. Para pakar karbohidrat, protein, dan lemak dalam mempelajari proses-proses kimiawi yang terjadi dalam mikroorganisme, tumbuhan, insekta, burung, mammalia rendah dan tinggi, terlebih dahulu harus mengetahui metabolismenya, molekulernya, dan enzim-enzim yang mempengaruhi pada proses-proses tersebut. Karena itu, metabolisme itu sendiri merupakan reaksi dalam sel yang dikatalisis oleh sejumlah enzim dan metabolisme bukanlah suatu proses acak melainkan sangat terintegrasi dan terkoordinasi untuk menyeimbangkan pada kondisi stress oksidatif.

Penulisan monograf ini masih jauh dari sempurna. Hal ini sangat disadari oleh penulis dan berpijak dari sinilah, penulis melalui kesempatan ini mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof.Dr. Iwan H. Utama, MsVT sebagai editor dan Prof.Ir.IDK. Harya Putra M.Sc.,Ph.D. sebagai penyunting bahasa yang dengan rela hati memberikan banyak referensi berarti dalam penyelesaian buku monograf ini. Juga disampaikan ucapan terima kasih kepada Bapak Drs. JiwaAtmaja,S.U., selaku Direktur Udayana University Press yang telah berkenan menerbitkan buku ini.Terakhir, penulis dengan rendah hati memohon kritik dan saran

DR. IR. SRI WAHJUNI, M.KES.

kepada mereka yang lebih ahli dan para pakar untuk memberi masukan yang positif kepada penulis untuk perbaikan tulisan monograf ini. Sebelum dan sesudahnya, penulis mengucapkan terima kasih.

Denpasar, September 2015

Penulis

DAFTAR ISI

PRAKATA.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR SINGKATAN /LAMBANG.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II STRES OKSIDATIF DAN MEKANISME ATEROSKLEROSIS	16
BAB III RADIKAL BEBAS	31
BAB IV PENUTUP	43
DAFTAR PUSTAKA.....	45
BIODATA PENULIS.....	57

DAFTAR GAMBAR

1. Letak subselular <i>isoform</i> SOD	1
2. Mekanisme kerja antioksidan enzimatik	14
3. Struktur mekanisme pathogenesis aterosklerosis akibat stress oksidatif	18
4. Mekanisme perkembangan lesi aterosklerosis	19
5. Struktur senyawa antioksidan	21
6. Reaksi 8-OhdG akibat adanya ROS	23
7. Mekanisme pengaruh flavonoid terhadap ROS	24
8. Pengaruh flavonoid terhadap radikal NO*	25
9. Pengaruh flavonoid pada radikal superoksidan	26
10. Mekanisme kerja flavonoid dalam menangkap ROS	27
11. Mekanisme flavonoid, Vit.E, dan Vit.C dalam melindungi lipida	28
12. Mekanisme flavonoid dalam menangkap HO*	29
13. Pengaruh ROS dan RNS terhadap kesehatan manusia	33
14. Mekanisme degradasi purin	34

DR. IR. SRI WAHJUNI, M.KES.

15. Peran ROS dalam proses inflamasi.....	35
16 Sumber-sumber radikal bebas yang menyerang DNA	38
17. Mekanisme pembentukan ROS dan RNS pada proses inflamasi.....	39
18. Mekanisme pembentukan ROS/ RNS pada proses metabolisme.....	40
19. Metabolisme karbohidrat melalui jalur fosfat pentosa.....	42

DAFTAR SINGKATAN/LAMBANG

ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
BHT	: <i>Butylated Hydroxytoluene</i>
BHA	: <i>Butylated Hydroxyanisole</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
GSH	: <i>Gluthatione</i>
GSHP _x	: <i>Gluthatione Peroxidase</i>
LPL	: <i>Lipoproteine Lipase</i>
MDA	: <i>Malondialdehyd</i>
PKV	: <i>Penyakit Kardiovaskuler</i>
PHGP _x	: <i>Phospholipid Hydroperoxida Gluthatione Peroxidase</i>
SKRT	: <i>Survey Kesehatan Rumah Tangga</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxida Dismutase</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Species</i>
TBHQ	: <i>Ten Butil Hidroksi Quinon</i>
PDE	: <i>Phosphodiesterasis</i>

BAB I PENDAHULUAN

Kajian dengan menggambarkan model hewan maupun sel memperlihatkan bahwa stress oksidatif menimbulkan berbagai kelainan pada pembuluh darah. Stress oksidatif adalah suatu keadaan di mana terjadi kelebihan *reactive oxygen species* (ROS), sehingga melampaui kemampuan antioksidan endogen (SOD) untuk meredam atau menetralsir ROS tersebut (Taniyama dan Griending, 2003)

Superoksida dismutase (SOD) adalah salah satu enzim antioksidan endogen potensial dalam tubuh, yang merupakan pertahanan antioksidan primer, dan yang juga memiliki peran penting dalam mengurangi aterosklerosis akibat stress oksidatif. Aterosklerosis adalah keadaan mengerasnya dinding arteri sebagai akibat plak ateromatous. Penyakit sindrom pembuluh darah ini terjadi sebagai respon terhadap peradangan kronis yang disebabkan oleh akumulasi leukosit pada makrofag yang dipicu oleh tingginya kolesterol-*Low Density Lipoprotein* (kolest-LD).

Pada pembuluh darah yang mengalami aterosklerosis, selain adanya lemak, juga ditemukan berbagai jenis sel yang terlibat dalam proses inflamasi yang berperan dalam menimbulkan berbagai komplikasi dan keluhan klinis (Arenillas, 2008).

Mediator imun penting yang terlibat dalam proses aterosklerosis adalah ligan *Cluster of Differentiation-40* (CD40) yang merupakan suatu aktivator yang poten dalam pathogenesis aterosklerosis. Ligan CD40 akan berikatan dengan reseptor CD40 yang merupakan anggota reseptor tumor nekrosis faktor (TNF) yang diekspresikan pada endotel yang mengawali proses inflamasi dan aterosklerosis melalui peningkatan interleukin pro-inflamasi (Phipp, 2000; Xia *et al.*, 2007). Ligan CD-40 adalah ligan untuk mengaktifkan sel T yang meregulasi respon imun terhadap pathogen. Peningkatan interleukin diawali oleh peningkatan molekul adhesi seperti VCAM-1 (Chae *et al.*, 2007). Terjadinya aterosklerosis diawali oleh aktivitas endotel oleh berbagai sebab sehingga endotel mengekspresikan mediator molekul adhesi yang disebut VCAM-1. Itu merupakan salah satu faktor yang dapat mengaktifkan endotel stress oksidatif atau terbentuknya *Oxidized-Low Density Lipoprotein* (ox-LDL) yang selanjutnya menjadi *oxidation specific Epitopes* (Hartvigsen *et al.*, 2009).

Oxidation specific epitopes tersebut akan mengaktifkan imunitas alami dan imunitas yang didapat sehingga terjadi reaksi inflamasi lebih lanjut. Berbagai sitokin pro-inflamasi akan terbentuk, di mana salah satu sitokin terpenting dalam aterosklerosis adalah *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1). Selain VCAM-1, juga muncul *Intracellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1). Namun, perannya dalam aterosklerosis tidak seperti *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1). Pada daerah endotel yang teraktivasi, VCAM-1 akan

berikatan dengan leukosit (Libby, 2003) terutama monosit dan limfosit melalui reseptor yang disebut *integrin*. Monosit yang telah menempel pada endotel selanjutnya akan masuk ke dalam intima arteri. Pergerakan monosit dari endotel ke dalam intima disebabkan oleh adanya mediator *chemoat ractant*, yaitu monosit *chemoat ractant protein-1* (MCP-1) yang diproduksi oleh sel otot polos endotel di daerah yang mengalami aterosklerosis (Libby, 2003).

Adanya peran antioksidan sangat penting bagi kesehatan tubuh manusia karena fungsinya dapat menghambat dan menetralsir terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas. Mekanisme hambatannya dimulai dari saat reaksi inisiasi, propagasi pada reaksi oksidasi lemak atau molekul lainnya di dalam tubuh dengan cara menyerap dan menetralsir radikal bebas atau mendekomposisi peroksida (Zheng dan Wang, 2009).

Netralisir ini dilakukan dengan cara memberikan satu elektronnya sehingga terjadi senyawa stabil atau terjadi terminasi dan reaksi-reaksi radikal berakhir (stress oksidatif tidak terjadi pada sel). Dengan demikian, antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap (menetralsir radikal bebas). Proses ini mampu mencegah penyakit-penyakit degeratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan semua itu merupakan bagian dari stress oksidatif.

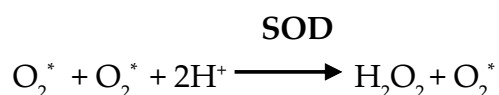
Stress oksidatif terjadi karena tidak seimbangnya jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan endogen yang diproduksi tubuh seperti superoksida dismutase

(SOD), Glutation peroksidase (GP_x), dan katalase (CAT). Keadaan ini dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel yang dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti: kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Radikal bebas dapat berada di dalam tubuh karena adanya hasil samping dari proses oksidasi, dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga atau aktivitas fisik yang berlebih/ maksimal, peradangan, dan terpapar polusi dari luar tubuh seperti asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, industri, dan radiasi matahari (Ardiansyah, 2007; Shafe, 2011).

Radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh dapat dinetralisir dengan adanya suatu antioksidan endogen, yaitu salah satunya *superoxide dismutase* (SOD). Misalnya hiperkolesterolemia yang disebabkan oleh peningkatan kadar kolesterol darah akan meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif, yaitu keadaan di mana tidak seimbangnya radikal bebas di dalam tubuh dengan jumlah antioksidannya. Keadaan stress oksidatif dapat diketahui dengan menentukan aktivitas SOD darah di dalam tubuh. Superoksida dismutase (SOD) merupakan salah satu antioksidan enzimatik, dan metaloenzim dalam tubuh; aktivitasnya tergantung pada kofaktor logam Cu, Fe, Zn, dan Mn.

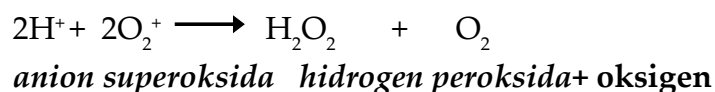
Superoksida dismutase adalah metaloenzim yang mengkatalisis reaksi reduksi radikal anion superoksida (O_2^*) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2), dan oksigen (O_2)

Enzim ini bersifat tidak stabil terhadap panas, cukup stabil pada kondisi basa (PH 6,5-7,5), dan masih mempunyai aktivitas walaupun disimpan sampai 5 tahun pada suhu 5°C. Aktivitas SOD tertinggi ditemukan di hati, kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium, dan timus (Murray *et al.*, 2009). Adapun reaksinya adalah sebagai berikut:

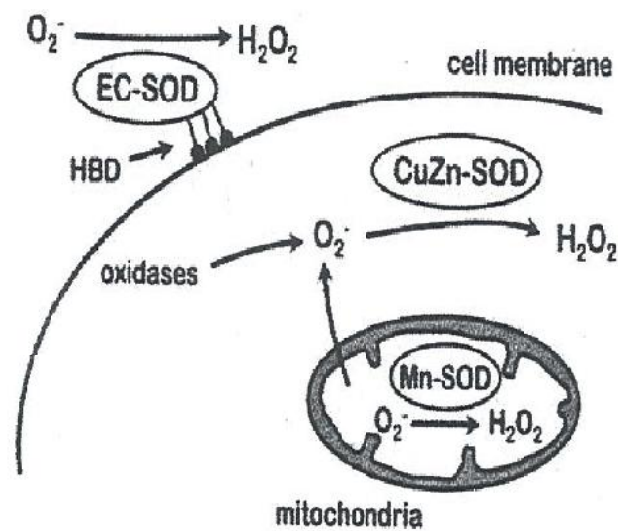


Enzim antioksidan (*antioksidant endogenous*) adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh manusia sebagai penangkal radikal bebas eksogen maupun radikal bebas endogen seperti: superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathion peroksidase (GP_x).

Antioksidan enzimatik disebut juga antioksidan sekunder, yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas (Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2009; Mega dan Swastini, 2010). Berdasarkan hal ini, superoksida dismutase (SOD) adalah salah satu antioksidan enzim yang terdapat dalam tiga *isoform* di dalam tubuh yang mana masing-masing merupakan produk gen yang berbeda, tetapi mengkatalisis reaksi yang sama, yaitu mengubah anion superoksida (O₂⁻) menjadi hidrogen peroksida dan oksigen seperti ditunjukkan pada reaksi sebagai berikut :



Ketiga *isoform* SOD tersebut adalah sitosolik atau tembaga-seng SOD (CuZn-SOD atau SOD-1), mangan SOD (Mn-SOD atau SOD-2) yang terletak dalam mitokondria, dan suatu ekstraselular dari CuZn-SOD (EC-SOD atau SOD-3). Walaupun letak subselular dari tiap *isoform* SOD adalah unik, fungsi dari masing-masing *isoform* pada pembuluh darah normal maupun penyakit vaskuler sangat penting. Gambaran letak subselular ketiga isoform SOD ditunjukkan pada Gambar 1 sebagai berikut ini.



Gambar 1, Letak subselular *Isoform* SOD (Shafe, 2011)

Eksresi dan aktivitas SOD memberikan pengaruh dan respon yang dalam bagi sel-sel vaskuler yang mengalami stress oksidatif akut maupun kronis. Selain mengkatalisis dismutase ion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan

oksigen, aktivitas enzim SOD berfungsi sebagai pelindung terhadap sitotoksisitas dengan mediasi superoksida, melindungi NO dan signal mediasi-NO dalam vaskuler, mengaktivasi NO sehingga mencegah signal mediasi-NO, di mana reaksi NO dengan superoksida menghasilkan peroksinitrit, suatu oksidan potensial untuk menghasilkan sitotoksisitas (Beckman dan Koppenol,1996).

Dengan demikian, ROS memiliki fungsi penting dalam sel-sel pembuluh darah. Hidrogen peroksida relatif lebih stabil, dan *diffusible* (masuk melalui membran sel) jika dibandingkan dengan beberapa ROS yang lain. Gambaran ini membuat hidrogen peroksida menjadi analog dengan NO sebagai suatu molekul signal. Dalam kenyataanya, sodium dismutase terekspresi menjadi SOD-1, SOD-2, dan SOD-3 sehingga masing-masing fungsi SOD-1 terekspresi dengan kadar yang relatif tinggi pada semua sel termasuk pembuluh darah, ekspresi SOD-2 vaskuler menunjukkan peran SOD-2 sebagai pelindung kerusakan mitokondria vaskuler dan perkembangan aterosklerosis, ox-LDL akibat fragmentasi DNA dan aktivasi caspase pada otot vaskuler, sehingga mengurangi kadar superoksida, dan meningkatkan fungsi endotel pada hiperkolesterolemia, diabetes, dan hipertensi rendah rennin (Zanetti *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2003). SOD-3 merupakan satu-satunya *isoform* SOD yang diekspresikan secara ekstrasel, terikat pada jaringan melalui domain ikatan heparin yang menyediakan afinitas protein untuk heparin proteoglikan sulfat pada permukaan sel, membran basal, matriks ekstrasellular. SOD-3 terdapat di seluruh dinding

pembuluh darah, terutama antara endotel dan oto vaskuler (Fukai *et al.*, 2002).

Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray *et al.*, 2009).

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri atas 3 golongan (Anonim, 2012).

1. Antioksidan Primer yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas. Antioksidan tersebut adalah Superoksida Dismutase (SOD), Glutathion Peroksidase (GP_x), dan Katalase.
2. Antioksidan Sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi). Antioksidan tersebut adalah vitamin C, vitamin A, dan vitamin E.

3. Antioksidan Tersier atau *repair enzyme* yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas. Antioksidan tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferase, dan lipase.

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dikelompokkan menjadi tiga sebagai berikut ini.

1. Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan SOD, GP_x, dan katalase
2. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat, dan Ten-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).
3. Antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan senyawa fenolik (flavonoid) (Anonim, 2012).

Antioksidan sintetis sudah banyak digunakan di masyarakat baik pada minuman maupun makanan kemasan yang dijual di pasaran seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propil Galat (PG) dan Ten-Butil Hidrosi Quinon (TBHQ). Menurut hasil penelitian Amarowicz *et al.* (2000), penggunaan bahan sintetis ini dapat

meningkatkan risiko penyakit kanker. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa adanya peningkatan konsumsi antioksidan alami yang terdapat dalam buah, sayur, bunga dan bagian-bagian lain dari tumbuhan dapat mencegah penyakit-penyakit akibat stress oksidatif seperti kanker, jantung, peradangan ginjal, dan hati.

Mikronutrien yang terkandung dalam tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid, antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan sebagai pengganti konsumsi antioksidan sintetis (Gill *et al.*, 2002). Hal ini dibuktikan oleh Shafie (2011) bahwa vitamin E yang diberikan pada mencit secara oral dapat mencegah terjadinya penyakit periodontal. Wrasiasi (2011) menyatakan bahwa ekstrak bunga kamboja cendana dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD, GP_x, dan Katalase. Zheng dan Wang (2009) menyatakan bahwa lebih dari 40 herbal tanaman obat di Cina mempunyai aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dan 40 herbal tersebut mengandung senyawa fenol yang tinggi termasuk di antaranya kandungan flavonoidnya yang tinggi. Hasil penelitian You *et al.* (2010) menyatakan bahwa kandungan senyawa fenol dan aktivitas antioksidan dari 40 spesies tanaman obat di Cina itu dapat digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit *cardiovascular* dan *cerebrovascular*. Adanya gugus -OH pada tokoferol (vit. E) dan senyawa fenol lainnya serta ikatan rangkap (>C=C<) pada β-karoten dapat menghambat dan menetralkan reaksi radikal bebas (Murray *et al.*, 2009).

Enzim Antioksidan

Enzim antioksidan yang berada dalam tubuh manusia berfungsi menangkal radikal bebas eksogen maupun radikal bebas endogen terhadap stress oksidatif. Jalur detoksifikasi ini adalah hasil dari beberapa enzim seperti superoksida dismutase mengkatalisis langkah pertama, kemudian catalase dan berbagai peroksidase yang akan menghilangkan hidrogen peroksida. Berdasarkan hal ini, SOD dikelompokkan menjadi Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD dan ada juga namanya EC-SOD. Cu/Zn-SOD ditemukan dalam sitosol, kloroplas tanaman tingkat tinggi, dan kemungkinan juga di ekstraseluler. Mn-SOD ditemukan dalam mitokondria sel eukariot dan peroksisom, Fe-SOD ditemukan berikatan dengan kloroplas, dan EC-SOD pada cairan ekstraseluler mamalia (Mc.Cord and Fridovich, 2006; Goodsell, 2007; Murray *et al.*, 2009).

Derajat aktivitas masing-masing SOD dipengaruhi oleh derajat stress oksidatif pada kompartemen subseluler. Kerja enzim SOD dapat dilihat pada banyaknya produk peroksidasi lipid dari setiap organel. Tingginya aktivitas SOD akan tergambarkan oleh rendahnya produk oksidasi lipid. SOD diidentifikasi sebagai eritrokuprein (kandungan tembaga yang berada pada protein darah), indofenol oksidase, dan tetrazolium oksidase. Gen SOD terletak pada kromosom 21, 6 & 4, secara berurutan (21q22.1, 6q25.3 & 4p15.3-p15.1) dan berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutasi dari anion superoksida (O_2^*) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen (O_2). Isoenzim EC-

SOD merupakan glikoprotein yang terletak dalam matriks jaringan interstisial dan glikokolik pada permukaan sel, berikatan dengan proteoglikan. Hanya ada 1 fraksi kecil EC-SOD yang ditemukan dalam cairan ekstrasel seperti plasma, limfa, cairan sinovial, dan cairan serebrospinal. Isoenzim EC-SOD merupakan homotetramer terglukosilasi, aktif dalam cairan dan matriks ekstraseluler seperti jantung, plasenta dan paru-paru, mengendalikan bioavailabilitas nitrit oksida yang diinduksi oleh IFN. Namun, keberadaannya dapat dihambat oleh TNF dan TGF. (Goodsell, 2007; Murray *et al.*, 2009).

Secara fisiologis, tubuh menghasilkan senyawa radikal bebas melalui proses fosforilasi oksidatif. Selama proses ini, O_2 akan tereduksi menjadi H_2O dengan penambahan 4 elektron, sehingga terbentuk radikal anion superoksida yang kemudian diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh enzim SOD. Proses fosforilasi dalam mitokondria menyebabkan 1 molekul O_2 tereduksi oleh 4 elektron bersama-sama dengan ion H^+ membentuk 2 molekul H_2O . Jika jumlah elektron yang mereduksi O_2 kurang dari 4, proses fosforilasi berlangsung tidak sempurna sehingga akan terbentuk senyawa radikal bebas.

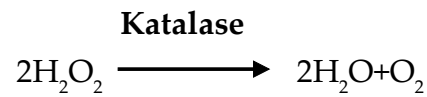
Kelainan fungsi *extracellular superoxide dismutase* (EC-SOD) adalah aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penyebab utama penyakit jantung dan pembuluh darah lainnya yang ditandai oleh ateroma (plak kekuningan) yang mengandung lipid dan kolesterol pada di dinding arteri serta penyempitan lumen arteri (Mc. Cord and Fridovic, 2006 ; Goodsell, 2007 ; Murray *et al.*, 2009 ; Grasi *et al.*, 2010).

Aterosklerosis dapat terjadi melalui proses inflamasi kronik dan stress oksidatif. Pada dinding pembuluh darah arteri, terdapat sel endotel yang melepaskan asam nitrat dan mengatur kelenturan pembuluh darah, menjaga komposisi otot tetap seimbang, dan mencegah pembekuan darah sehingga tidak terjadi inflamasi dan stress oksidatif (Grasi *et al.*, 2010).

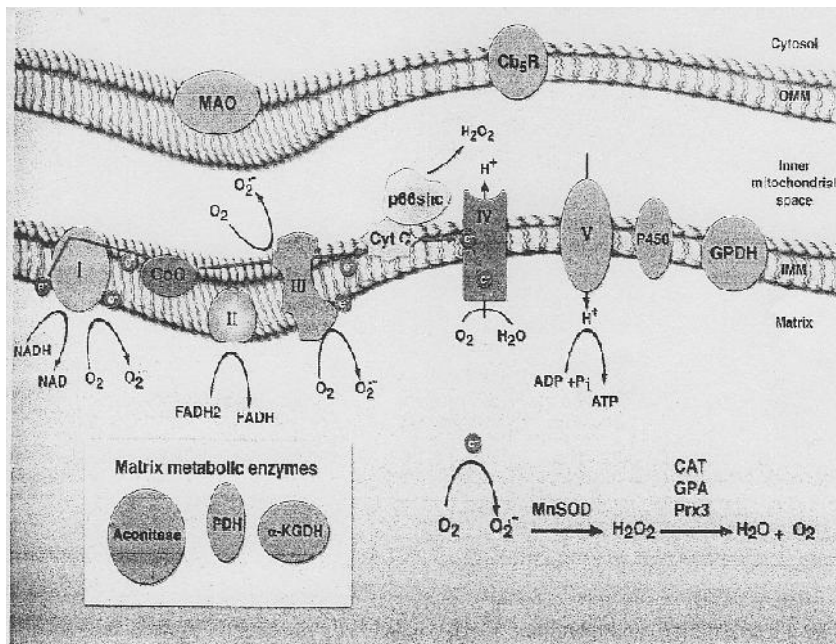
Kelainan fungsi SOD dan peningkatan jumlah radikal bebas yang terjadi pada penderita aterosklerosis ditandai oleh kerusakan atau disfungsi endotel pada pembuluh darah. Disfungsi endotel pada aterosklerosis terjadi secara bertahap, yaitu pada dekade pertama (awal terjadinya akumulasi lipid di ekstraseluler), dekade kedua (terjadi atheroma), dan dekade ketiga terjadi *fibrus plaques*, keempat terjadi *Complex raised plaque* dalam sel endotel. Jika sel endotel mengalami kerusakan, maka asam nitrat berkurang, yang berakibat pada gangguan sistem keseimbangan dinding pembuluh darah, dan terjadi penebalan otot dinding pembuluh darah sehingga makrofag, trombosit, LDL kolesterol yang teroksidasi akan membentuk suatu kompleks yang disebut *fat y streak* dan plak aterosklerosis. Proses pembentukan aterosklerosis secara teori inflamasi dan stress oksidatif dapat dicegah, yaitu dengan terapi antioksidan dengan cara pemberian suplemen antioksidan secara oral (Grasi *et al.*, 2010).

Katalase adalah enzim yang disusun oleh lebih dari 500 asam amino dan memiliki gugus forforin. Enzim ini mengkatalis reaksi reduksi senyawa hidrogen peroksida

(H₂O₂) menjadi oksigen (O₂) dan air (H₂O). Aktivitas katalase optimal pada pH 7 dan dapat meningkat dengan meningkatnya akumulasi H₂O₂. Katalase dengan konsentrasi yang tinggi ditemukan pada hati, darah, ginjal, otak, paru-paru, jaringan adipose, dan kelenjar adrenal. Adapun reaksinya adalah (Murray *et al.*, 2009):



Mekanisme kerja antioksidan enzimatik disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme kerja antioksidan enzimatik (Finkel, 2011)

DR. IR. SRI WAHJUNI, M.KES.

Dalam Gambar 2 di atas, terlihat O_2^* (radikal superoksida) yang dihasilkan dalam perubahan NADH menjadi NAD, $FADH_2$ menjadi FADH diubah menjadi H_2O_2 oleh MnSOD dan selanjutnya produk H_2O_2 diubah menjadi H_2O dan O_2 oleh katalis.

BAB II STRES OKSIDATIF DAN MEKANISME ATEROSKLEROSIS

Seperti yang telah diuraikan pada bab terdahulu, stress oksidatif pada aterosklerosis dapat berasal dari serangan leukosit pada luka endotel, dan sel otot polos dinding vaskular, akibat kondisi hiperkolesterolemia, kelebihan jaringan adipose (Furukawa *et al.*, 2004).

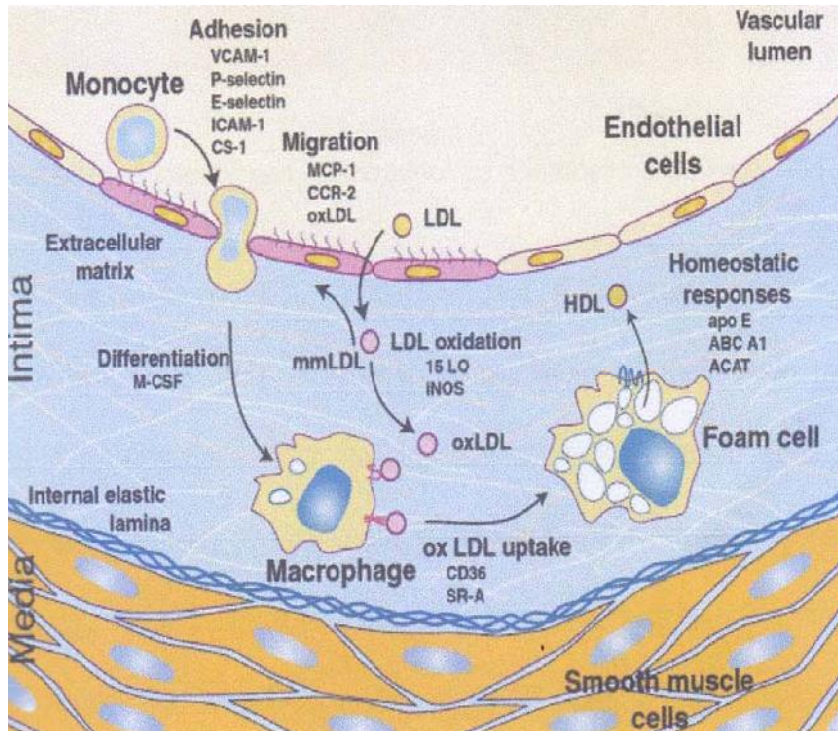
Mekanisme aterosklerosis akibat stress oksidatif

Mekanisme aterosklerosis akibat stress oksidatif diawali oleh terbentuknya mm-LDL (*minimally modified*-LDL/peroksidasi lipid) pada lapisan intima (sub endotel) yang kemudian bermigrasi ke sel endotel dan selanjutnya menyebabkan kerusakan sel endotel (disfungsi endotel) yang berdampak pada berkurangnya aktivitas sintesis, dan inaktivasi nitrit oksida. Pada sel endotel, lipid peroksidasi menginduksi adhesi leukosit endotel, mensekresi *monosit chemotactic protein-1*(MCP-1), dan *makrofag colony-stimulating factor* (M-CSF). Karena sel endotel mengalami disfungsi, maka kolest-LDL masuk ke dalam lapisan intima (sub endotel), dan teroksidasi oleh enzim 15-lipooksigenase atau iNOS menjadi bentuk LDL-teroksidasi (ox-LDL). Ox-LDL selanjutnya mengalami kemotaksis menuju monosit, sehingga monosit diambil dan diikat oleh sel endotel

dengan perantara atau mediator beberapa molekul adhesi pada permukaan sel endotel, seperti *intercellular cell adhesion molecule-1*(ICAM-1), *endothelial leucocyte adhesion molecule-1* (ELAM-1), dan *vascular cell adhesion molecule-1*(VCAM-1) untuk bermigrasi masuk ke dalam lapisan intima (sub endotel). Proses ini juga peran dari regulasi prostaglandin dan sitokin.

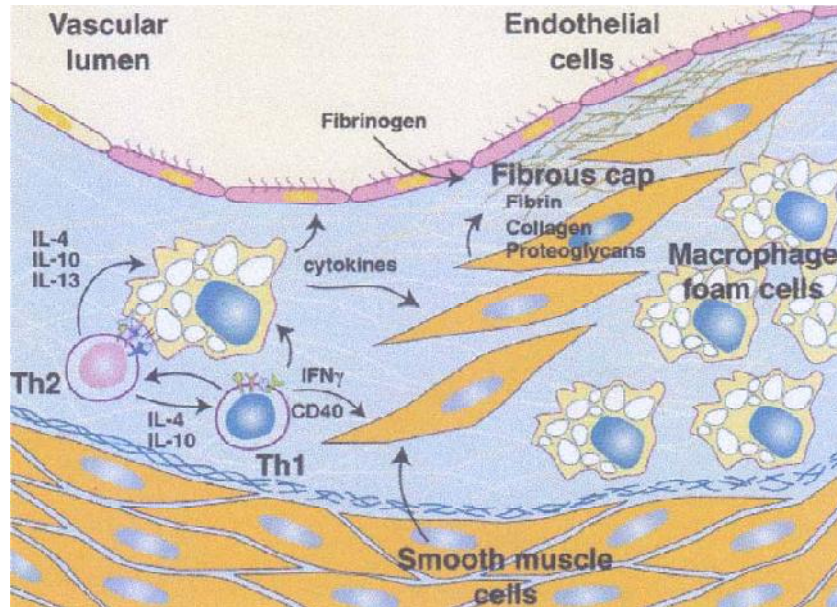
Selanjutnya, M-CSF memicu diferensiasi monosit menjadi jaringan makrofag. Ox-LDL tidak lagi dikenal oleh reseptor LDL, melainkan diambil oleh reseptor *scavenger* pada permukaan makrofag. Reseptor scavenger di atas permukaan makrofag memfasilitasi masuknya ox-LDL ke dalam semua sel, dan mentransfer makrofag yang berisi akumulasi lemak menjadi sel busa. Sebagian ox-LDL melalui sitotoksik menuju ke sel endotel dan berperan pada disfungsi endotel selanjutnya (Ross,1999).

Pada Gambar 3, ditunjukkan mekanisme aterosklerosis akibat stress oksidatif, yaitu makrofag dan sel busa terus berkembang dengan bantuan berbagai mediator inflamasi, seperti IL-4,IL-10, sitokin dan IFN γ membentuk topi-topi fibrous pada lapisan intima dan mudah pecah. Gambar 4 menunjukkan mekanisme perkembangan lesi aterosklerosis di sini secara kimia reaksi oksidasi kolest-LDL menjadi bentuk ox-LDL diawali oleh ROS yang menangkap sebuah atom H⁺ dari ikatan rangkap molekul PUFA (di mana dalam molekul LDL tersusun -2700 asam lemak PUFA terutama asam linoleat), selanjutnya diikuti oleh penataan ulang molekul untuk menghasilkan ikatan rangkap diena terkonjugasi.



Gambar 3. Mekanisme pathogenesis aterosklerosis akibat stress oksidatif (Christopher dan Joseph, 2001)

Selama fase inisiasi kolest-LDL berlangsung, kecepatan oksidasi tertahan oleh adanya antioksidan endogen (SOD) dalam partikel kolest-LDL, yang menghasilkan fase *lag* oksidasi. Fase *lag* segera diikuti oleh fase propagasi yang cepat bila antioksidan endogen telah habis, dan melihat molekul PUFA lain untuk membentuk radikal PUFA-peroksil (LOO[•]). Bila radikal ini bereaksi dengan H⁺, maka akan terbentuk hidroperoksida lipid (Sinclair *et al.*, 1990).



Gambar 4. Mekanisme perkembangan lesi aterosklerosis (Christopher and Joseph, 2001)

Senyawa Antioksidan Alami

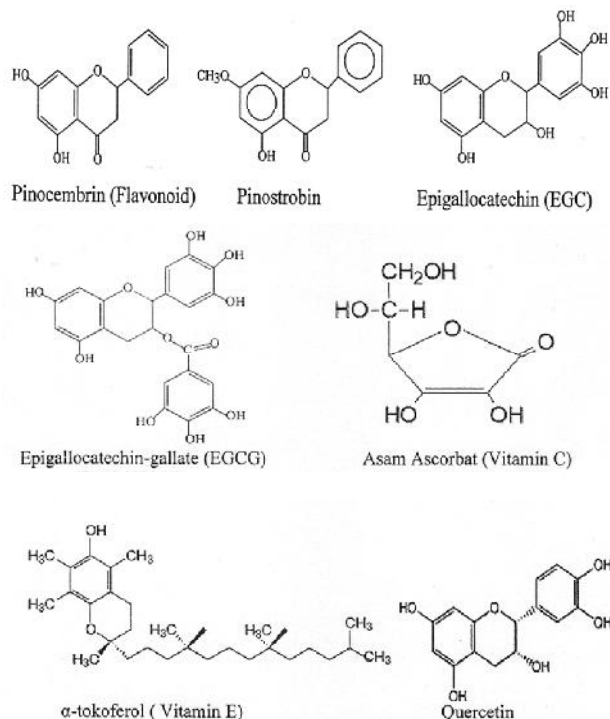
Senyawa antioksidan alami pada umumnya berupa vitamin C, vitamin E, karotenoid, senyawa fenolik, dan polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuomarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin, flavonol, dan kalkon. Turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Hal ini disebabkan karena gugus -OH dan ikatan rangkap dua ($>C=C<$) dimiliki oleh senyawa-senyawa di atas (Fessenden and Fessenden, 1986; Murray *et al.*, 2009).

Mikronutrien yang terkandung dalam tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid, antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan sebagai pengganti konsumsi antioksidan sintetis (Gill *et al.*, 2002). Hal ini dibuktikan oleh Sharie (2011) bahwa vitamin E yang diberikan pada mencit secara oral dapat mencegah terjadinya penyakit periodontal akibat terjadinya stress oksidatif. Wrasiasi (2011) menyatakan bahwa ekstrak bunga kamboja cendana dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD, GPX dan Katalase. Penelitian yang dilakukan oleh Cai *et al.*(2004) menyatakan bahwa kandungan senyawa fenolik dari 112 tanaman obat Cina memiliki koefisien korelasi positif dan sangat kuat ($R^2 = 96.4\%$) dengan aktivitas antioksidannya sehingga disimpulkan bahwa senyawa fenolik memberikan kontribusi yang signifikan pada kapasitas antioksidan tanaman obat.

Klopotek *et al.* (2005) menyatakan bahwa kandungan vitamin C dan senyawa fenolik pada buah strowberi yang sudah mengalami pengolahan (prosesing) mengalami penurunan yang cukup signifikan. Hal ini mengakibatkan aktivitas antioksidan pada produk segar lebih tinggi jika dibandingkan dengan produk olahan. Penelitian yang dilakukan oleh Indriati *et al.* (2002) menyatakan bahwa buah jambu mete yang mengalami penundaan pengolahan mengakibatkan penurunan senyawa polifenol yang dapat menurunkan aktivitas antioksidannya. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Kobayashi *et al.* (2008)

menyatakan bahwa kandungan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan yang dianalisis dari buah “pawpaw” mengalami penurunan selama proses pematangan.

Gugus aktif yang umum berfungsi sebagai penangkap dan penghambat reaksi radikal bebas selanjutnya adalah gugus-gugus -OH dan ikatan rangkap dua $>C=C<$ karena gugus-gugus ini dapat memberikan 1 molekul hidrogennya sehingga ROS menjadi stabil dan terbentuk radikal bebas baru yang kurang reaktif. Contoh senyawa antioksidan yang merupakan metabolit sekunder (senyawa fitokimia) dari tanaman dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur senyawa antioksidan alami (Chusnie dan Lamb, 2005)

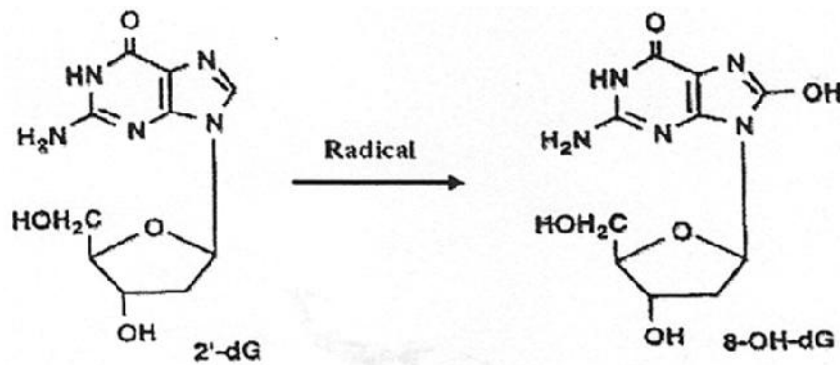
Senyawa-senyawa polifenol seperti H Flavonoid, poliena, dan senyawa yang banyak mengandung gugus-OH ini adalah multifungsional dan dapat bereaksi dengan radikal bebas sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, dan (d) peredam terbentuknya singlet oksigen (Birt *et al.*, 2001; Akhlaghi and Brian, 2009).

Antioksidan yang terdapat dalam ekstrak suatu tanaman diduga fungsinya dapat menghambat dan menetralsir terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan radikal-radikal bebas, baik yang eksogen maupun endogen. Reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas khususnya radikal bebas OH * dapat merusak membran sel normal di sekitarnya dan merusak komposisi DNA sehingga dapat menyebabkan terjadinya suatu mutasi. Mutasi atau kerusakan komposisi suatu DNA dapat menyebabkan terjadinya beberapa penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, dan lain-lain (Murray *et al.*, 2009). Senyawa 8-hidroksi-deoksiganosin (8-OHdG) merupakan marker yang menunjukkan

Senyawa-senyawa polifenol seperti H Flavonoid, poliena, dan senyawa yang banyak mengandung gugus-OH ini adalah multifungsional dan dapat bereaksi dengan radikal bebas sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, dan (d) peredam terbentuknya singlet oksigen (Birt *et al.*, 2001; Akhlaghi and Brian, 2009).

Antioksidan yang terdapat dalam ekstrak suatu tanaman diduga fungsinya dapat menghambat dan menetralsir terjadinya reaksi oksidasi yang melibatkan

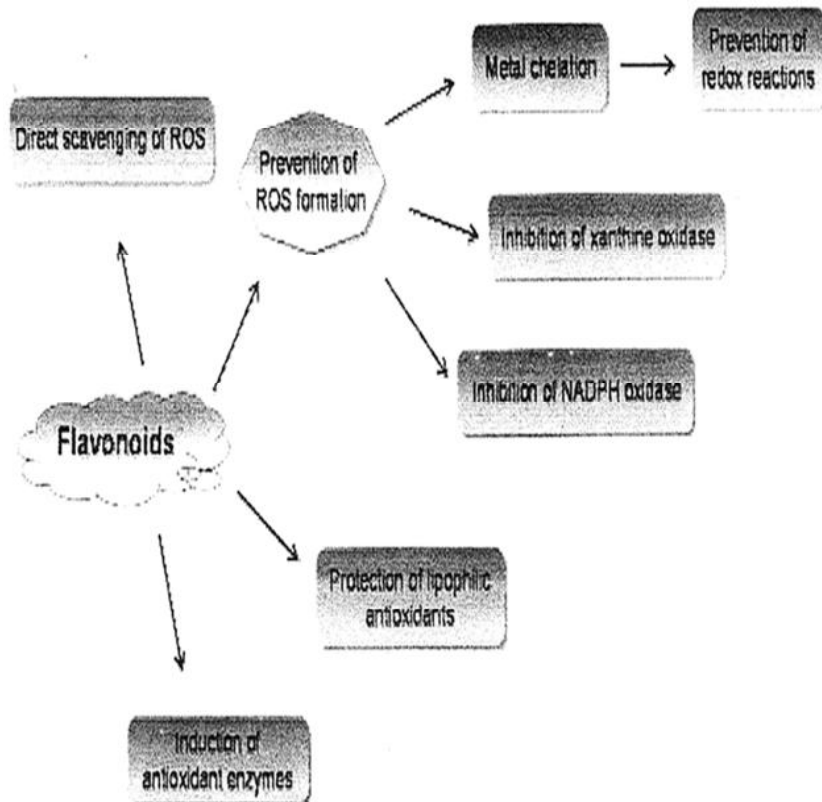
radikal-radikal bebas, baik yang eksogen maupun endogen. Reaksi oksidasi yang melibatkan radikal bebas khususnya radikal bebas OH^* dapat merusak membran sel normal di sekitarnya dan merusak komposisi DNA sehingga dapat menyebabkan terjadinya suatu mutasi. Mutasi atau kerusakan komposisi suatu DNA dapat menyebabkan terjadinya beberapa penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, dan lain-lain (Murray *et al.*, 2009). Senyawa 8-hidroksi-deoksiganosin (8-OHdG) merupakan marker yang menunjukkan terjadinya kerusakan DNA akibat radikal bebas yang berlebihan. Hal ini disebabkan oleh terjadinya oksidasi pada salah satu basa penyusun DNA yaitu Guanosin. Guanosin yang teroksidasi akan membentuk 8-OHdG seperti ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Reaksi guanosis hidrosilasi menjadi 8-OHdG akibat adanya ROS (Chabowska *et al.*, 2009)

Flavonoid dapat memberikan efek antioksidan dengan cara mencegah terbentuknya ROS, langsung menangkap ROS, melindungi antioksidan lipofilik, dan

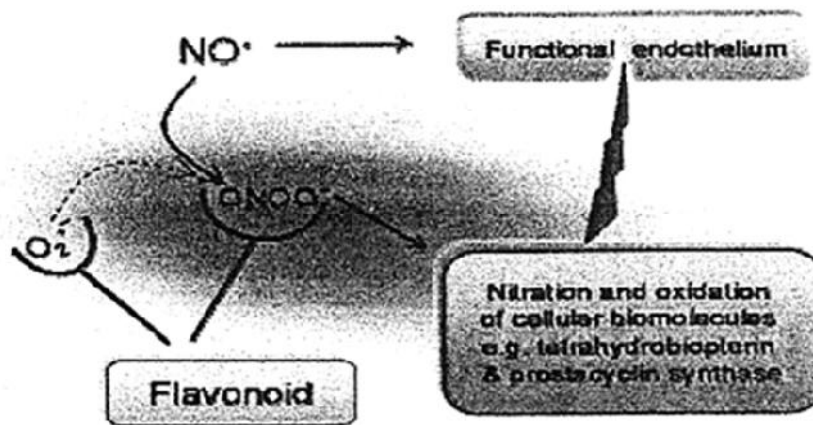
merangsang terjadinya peningkatan antioksidan enzimatis seperti yang disajikan dalam Gambar 7 (Akhlaghi *et al.*, 2009).



Gambar 7. Mekanisme pengaruh flavonoid terhadap ROS (Akhlaghi *et al.*, 2009)

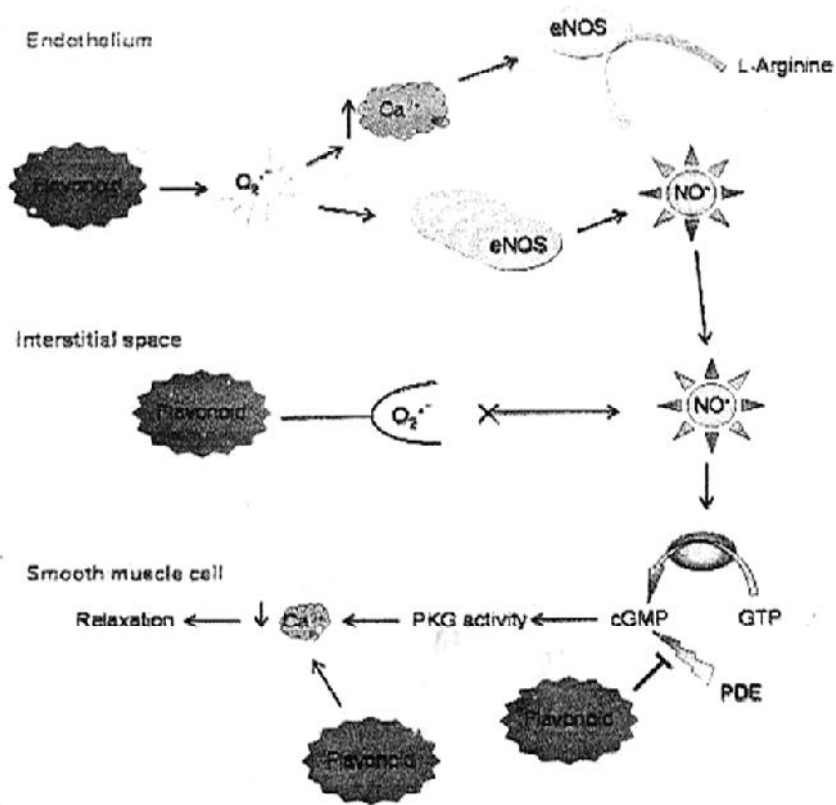
Flavonoid dapat menangkap secara langsung superoksida dan peroksinitrit. Melalui penangkapan superoksida, flavonoid dapat meningkatkan bioavailabilitas NO dan menghambat pembentukan peroksinitrit atau

flavonoid secara langsung dapat menangkap peroksinitrit yang merusak faserelaxation endotelium dan mengganggu endotelium, sehingga pada akhirnya menyebabkan sirkulasi darah yang lebih baik dalam arteri koroner seperti yang disajikan pada Gambar 8.



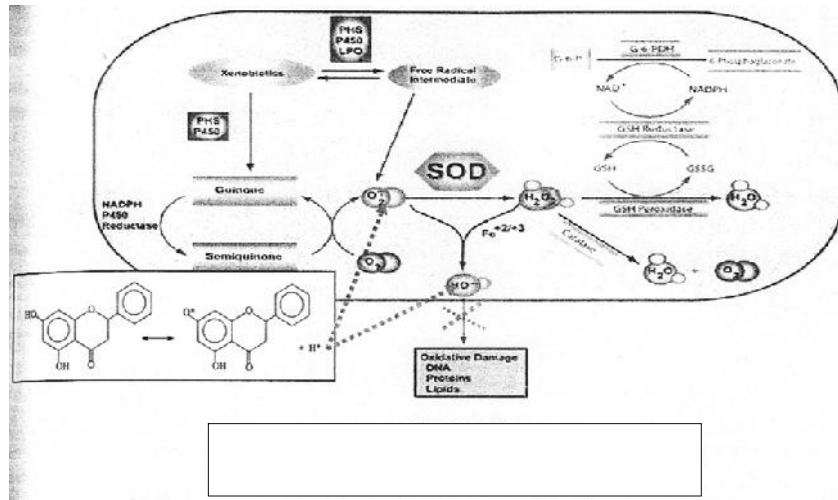
Gambar 8. Pengaruh flavonoid terhadap radikal NO^{\bullet}
(Akhlaghi *et al.*, 2009)

Pengaruh flavonoid pada endothelium tergantung pada vasorelaxation, dimana flavonoid akan menangkap $O_2^{\bullet -}$ sehingga terjadi peningkatan sitosolik Ca^{2+} yang berperan sebagai kofaktor untuk aktivasi eNOS atau peningkatan eNOS. Selain itu, penangkapan peroksida dalam cairan interstisial, flavonoid akan melindungi NO^{\bullet} dan menghambat phosphodiesterases (PDE) serta menurunkan Ca^{2+} dalam sel otot polos. Hal ini akan menyebabkan terjadinya peristiwa relaksasi (Akhlaghi *et al.*, 2009) seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 9.



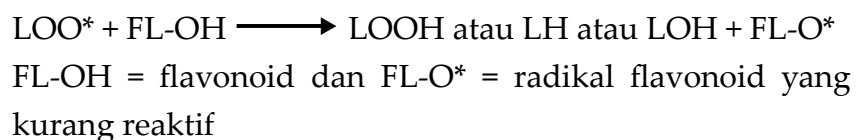
Gambar 9. Pengaruh flavonoid pada radikal superoksida (Akhlaghi *et al.*, 2009)

Flavonoid dapat menghambat terjadinya kerusakan DNA akibat reaksi HO^{\cdot} dengan basa-basa nitrogen dari DNA dan merangsang terbentuknya antioksidan enzimatis seperti SOD, katalase, dan GPX. Adapun mekanisme reaksinya dapat dilihat pada Gambar 10.

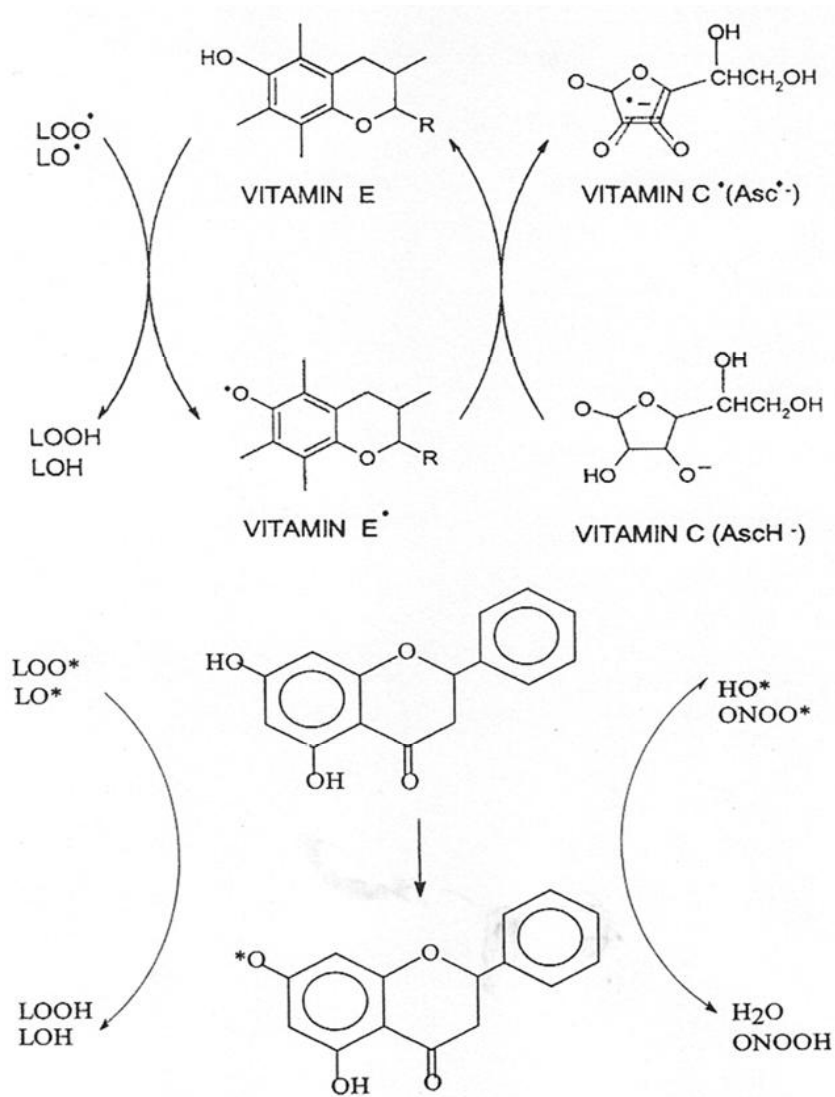


Gambar 10. Mekanisme kerja flavonoid dalam menangkap ROS (Oberley dalam Zainuri, 2012)

Flavonoid, vitamin C, dan vitamin E yang diisolasi dari alam dapat melindungi membran phospholipid FUPA dengan menyumbangkan atau memberikan salah satu ion hidrogennya (H^{\cdot}) kepada peroksil lipid radikal (LOO^{\cdot}). LOO^{\cdot} merupakan hasil reaksi HO^{\cdot} pada proses peroksidasi lipid reaksi serangan HO^{\cdot} terhadap PUFA (Poly Unsaturated Fat y Acid / asam lemak tak jenuh jamak rantai panjang) Pemberian H^{\cdot} oleh suatu antioksidan dapat menghentikan reaksi-reaksi radikal selanjutnya, seperti reaksi-reaksi berikut ini (Hamid *et al.*, 2010).

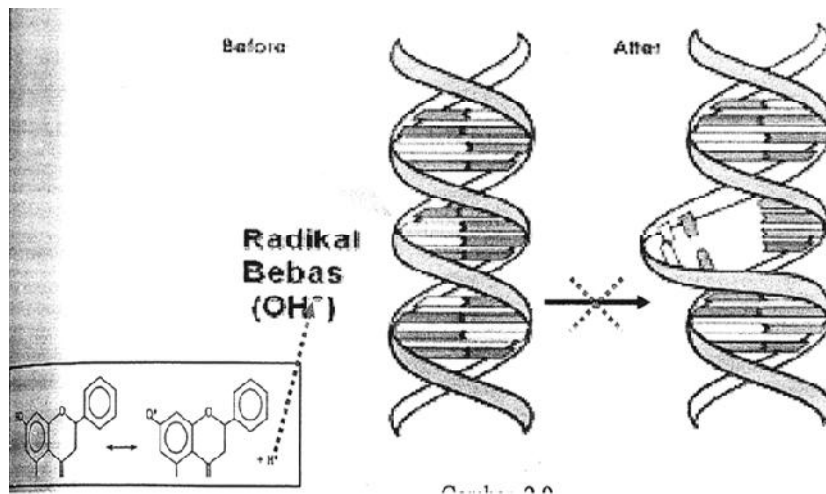


DR. IR. SRI WAHJUNI, M.KES.



Gambar 11. Mekanisme Flavonoid, Vit.E, dan Vit. C dalam melindungi lipida (Valko *et al.*, 2004 ; Hamid *et al.*, 2010)

Flavonoid dapat melindungi tubuh kita dari reaksi-reaksi lanjutan dari ROS dan RNS dengan menangkap ROS, memblokir reaksi propagasi dan merangsang terbentuknya antioksidan endogen seperti GPX, SOD, dan Katalase serta menumbuhkan kadar MDA, karena tidak terjadinya peroksidasi lemak (PUFA) dan menurunkan kadar 8-OHdG karena HO* yang biasanya masuk bereaksi ke dalam DNA sudah ditangkap oleh flavonoid seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 12.

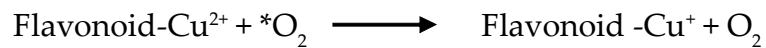
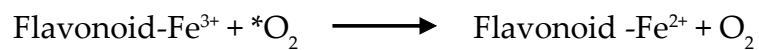
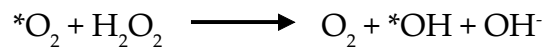


Gambar 12. Mekanisme Flavonoid dalam menangkap HO*
(Cooke and Mark, 2007)

Flavonoid dapat berfungsi sebagai antiinflamasi karena flavonoid dapat menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-1 β , dan interferon- γ (Akhlaghi *et al.*, 2009).

Flavonoid dapat berfungsi sebagai zat pengkelat dari logam-logam Cu dan Fe yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi Fenton. Reaksi ini termasuk reaksi penambahan Hidrogen Peroksida menjadi $\cdot\text{OH}$. Proses khelat ini akan menurunkan aktivitas katalitik dari logam Cu dan Fe sehingga akan mengurangi terbentuknya radikal $\cdot\text{OH}$ dan secara otomatis akan menurunkan proses kerusakan DNA dan proses peroksidasi lemak (PUFA), seperti reaksi berikut ini (Vaiko *et al.*, 2004; Akhlaghi *et al.*, 2009).

Fe/Cu



BAB III RADIKAL BEBAS

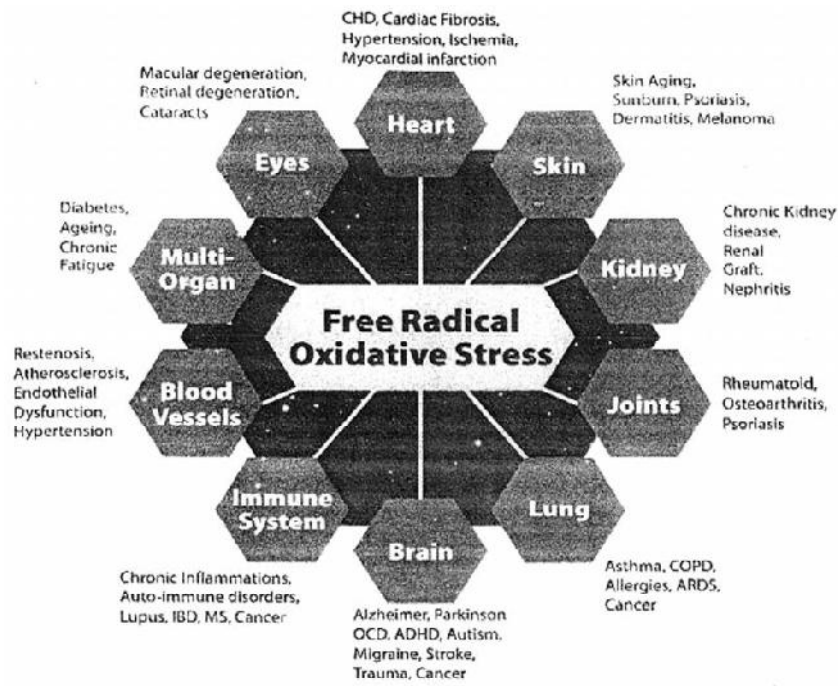
Radikal bebas adalah molekul, atom, atau gugus yang memiliki 1 atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya, sehingga sangat reaktif, dan radikal seperti itu contohnya, misalnya, radikal bebas turunan oksigen reaktif ROS. Radikal bebas cukup banyak jenisnya, tetapi yang keberadaannya paling banyak dalam sistem biologis tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS) (Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2009).

Radikal-radikal bebas ini merupakan hasil pemecahan homolitik dari ikatan kovalen suatu molekul atau pasangan elektron bebas suatu atom. ROS merupakan bagian dari hasil metabolisme sel normal atau sel yang terpapar zat-zat lain yang menyebabkan terjadinya inflamasi atau peradangan. ROS sebagian besar merupakan hasil dari respon fisiologis (ROS endogen) yaitu hasil metabolisme sel normal, dan sebagian kecil merupakan hasil paparan dari luar tubuh (ROS eksogen) yaitu oksigen reaktif yang berasal dari polutan lingkungan, radiasi, infeksi bakteri, jamur dan virus (Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2009).

ROS terdiri atas superoksida (O_2^*), hidroksil (OH^*), peroksil (ROO^*), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet

oksigen ($^1\text{O}_2$), oksida nitrit (NO^*), peroksinitrit (ONOO^*), dan asam hipoklorit (HOCl). Radikal bebas yang paling banyak terbentuk di dalam tubuh adalah superoksida. Superoksida ini akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen ini dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal hidroksil (OH^*). Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan. (Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2009).

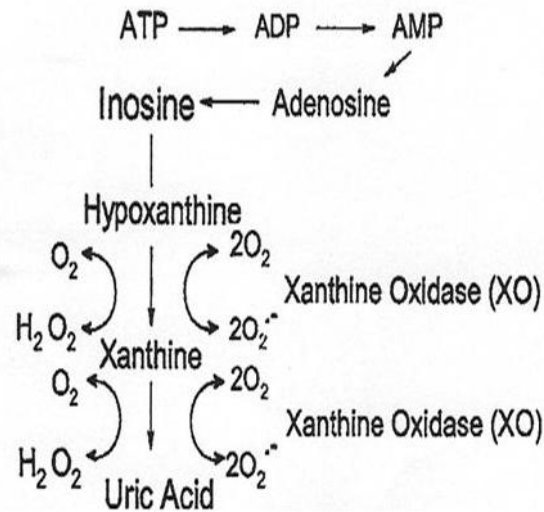
Radikal bebas dapat berada di dalam tubuh karena adanya hasil samping dan proses oksidasi dan pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan, dan terpapar polusi (asap kendaraan, asap rokok, makanan, logam berat, dan radiasi matahari). Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul sel di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga menjadi lebih stabil, tetapi molekul sel tubuh yang diambil elektronnya akan berubah menjadi radikal bebas. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan suatu peradangan, kerusakan DNA atau sel, dan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 13.



Gambar 13. Pengaruh ROS dan RNS terhadap kesehatan manusia (Akhlaghi *et al.*, 2009)

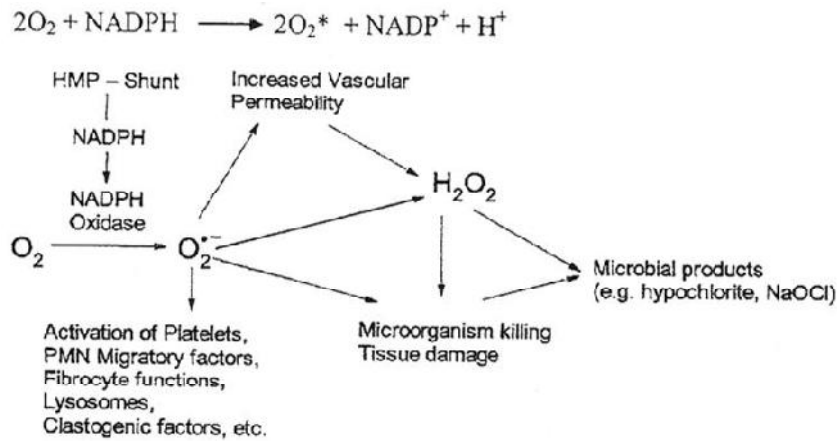
Radikal bebas dapat dihasilkan pada proses terbentuknya asam urat yang dikatalisis oleh enzim xantin oksidase. Dalam proses ini, akan dihasilkan radikal superoksida (O_2^*). Proses metabolisme ini biasanya terjadi pada mitokondria, seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 14.

Purine Degradation Pathway



Gambar 14. Mekanisme degradasi purin
(Valko *et al.*, 2004)

Radikal bebas juga dapat dihasilkan pada proses inflamasi yaitu pada proses perubahan NADPH menjadi NADP dengan katalis NADPH oksidase. Dalam proses ini, terjadi kebocoran O_2 yang selanjutnya berubah menjadi radikal superoksida ($^{\cdot}O_2$) yang dapat merangsang terbentuknya sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6. Proses metabolisme ini biasanya terjadi pada sitoplasma. Adapun reaksi kebocoran tersebut dapat terlihat dalam reaksi dan Gambar 15.



Gambar 15. Peran ROS dalam proses Inflamasi
(Valko *et al.*, 2004)

Akibat begitu besarnya pengaruh radikal bebas terhadap kesehatan manusia, maka tubuh memerlukan suatu asupan yang mengandung suatu senyawa, yaitu antioksidan yang mampu menangkap dan menetralkan radikal bebas tersebut sehingga reaksi-reaksi lanjutan yang menyebabkan terjadinya stress oksidatif dapat berhenti dan kerusakan sel dapat dihindari atau induksi suatu penyakit dapat dihentikan (Kikuzaki *et al.*, 2002; Sibuea, 2003). Reaksi terminasi antioksidan biasanya menangkap radikal hidroksil (*OH) pada tahap reaksi peroksidasi lemak, protein, atau molekul lainnya pada membran sel normal sehingga kerusakan sel dapat dihindari (Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2003).

Keberadaan radikal bebas tidak selamanya merugikan tubuh manusia, tetapi ada juga yang mempunyai efek

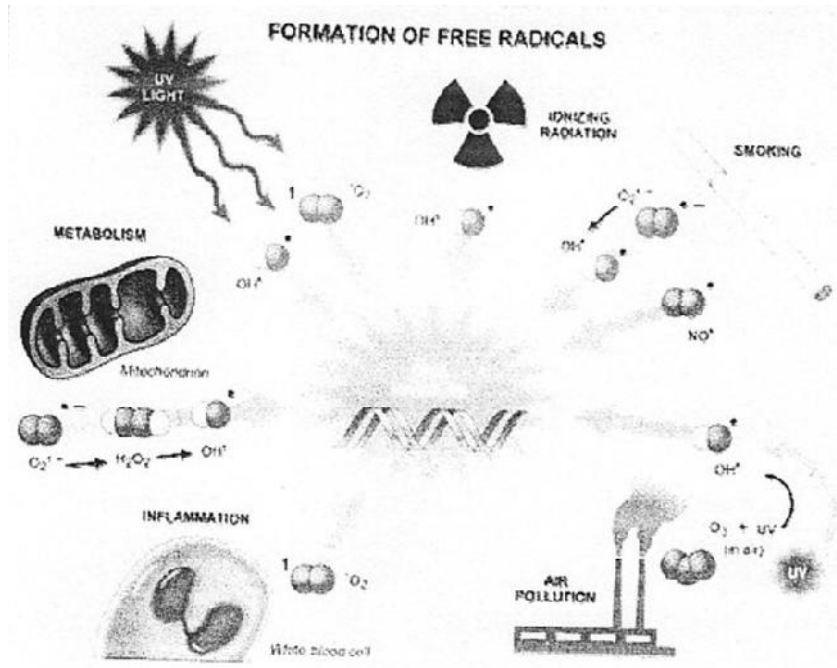
yang menguntungkan, seperti membantu destruksi sel-sel mikroorganisme, kanker, dan proses pematangan sel-sel di dalam tubuh. Leukosit memproduksi radikal bebas untuk memusnahkan gingiva, ligamen periodontal, dan tulang alveolar dengan cara merusak DNA, mengganggu produksi prostaglandin dan merangsang pembentukan sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α . Akan tetapi, produksi radikal bebas yang berlebihan dan produksi antioksidan yang tidak memadai dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim-enzim. Kerusakan jaringan dapat terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas asam lemak atau dikenal sebagai peroksidasi lipid (Murray *et al.*, 2009; Zheng dan Wang, 2009).

Reaksi radikal di dalam tubuh merupakan penyebab atau mendasari berbagai keadaan patologis suatu penyakit. Di antara senyawa-senyawa ROS, radikal hidroksil (*OH) merupakan radikal bebas yang paling reaktif atau berbahaya karena mempunyai tingkat reaktivitas yang sangat tinggi. Radikal hidroksil (*OH) dapat memasok tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan ketahanan sel, yaitu:

1. Asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel.
2. DNA, yang merupakan piranti genetik dari sel.
3. Protein, yang memegang berbagai peran penting seperti enzim, reseptor, antibodi, dan pembentuk matriks serta sitoskeleton (Fessenden and Fessenden, 1986; Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2003).

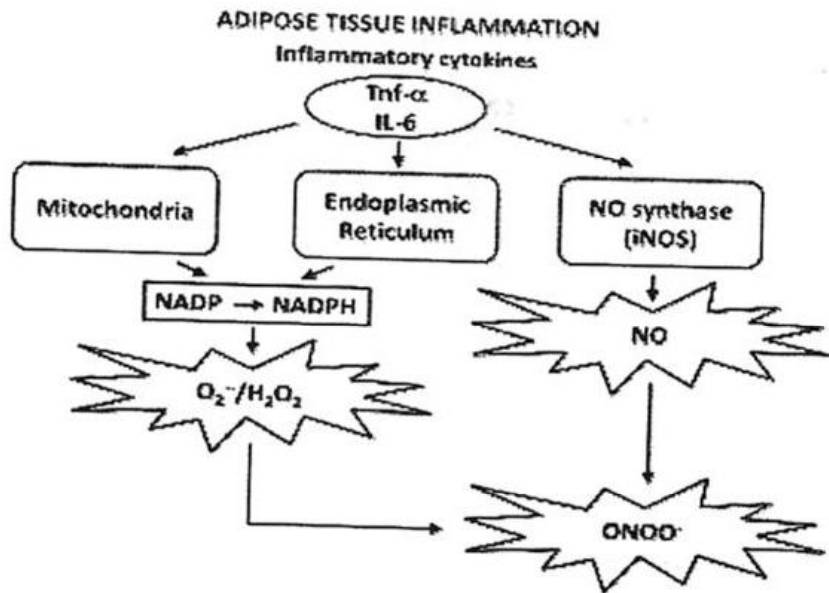
Regulasi jumlah radikal bebas secara normal dalam sistem biologis tubuh dilakukan oleh enzim-enzim antioksidan endogenous seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GPX). Pengukuran radikal bebas di dalam tubuh sangat sulit dilakukan karena radikal bebas bereaksi sangat cepat sehingga seringkali dilakukan pengukuran secara tidak langsung melalui produk turunannya seperti malondialdehid (MDA) dan 4-hidroksinonenal. Kedua senyawa tersebut sering digunakan untuk pengukuran reaksi radikal bebas lipid (Fessenden and Fessenden, 1986; Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2009).

Sumber radikal bebas ada dua, yaitu sumber eksogen dan sumber endogen. Sumber eksogen biasanya berasal dari luar tubuh seperti polutan udara, radiasi, zat-zat kimia karsinogenik, asap rokok, bakteri, virus dan efek obat (obat anastesi dan pestisida). Sumber endogen yaitu radikal bebas yang merupakan hasil metabolik normal dalam tubuh manusia seperti proses oksidasi makanan, proses oksidasi xantin dan olah raga yang berlebihan, seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 16. (Fessenden and Fessenden, 1986; Sadikin, 2002; Murray *et al.*, 2009).



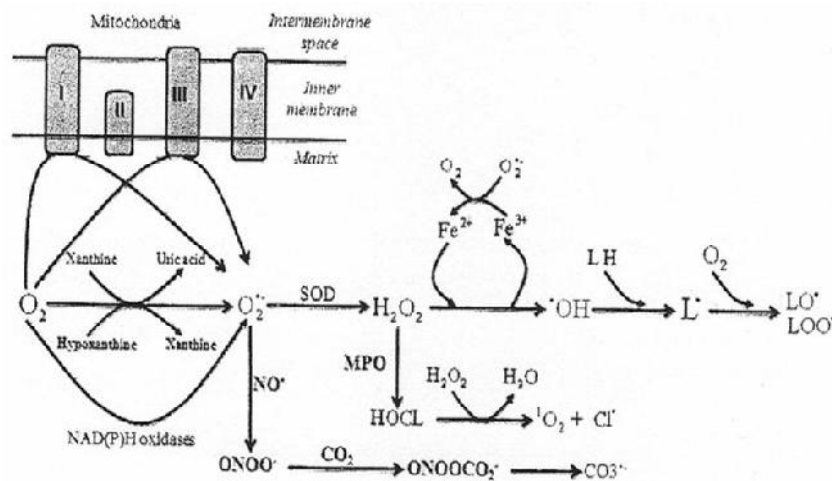
Gambar 16. Sumber-sumber radikal bebas yang menyerang DNA (Vasudevan and Sreekumari, 2004)

Sumber lain dari ROS dan RNS dapat terbentuk dari proses inflamasi seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 17.



Gambar 17. Mekanisme pembentukan ROS dan RNS pada proses inflamasi (Franch *et al.*, 2011)

Pembentukan ROS atau RNS dapat terjadi pada proses metabolisme di mana terjadi kebocoran O_2 yang pada proses selanjutnya menjadi radikal O_2^* , radikal $ONOO^*$, *OH , dan radikal yang lain. Radikal *OH akan memperoksidasi lemak sehingga menjadi radikal baru LO^* atau LOO^* seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 18.



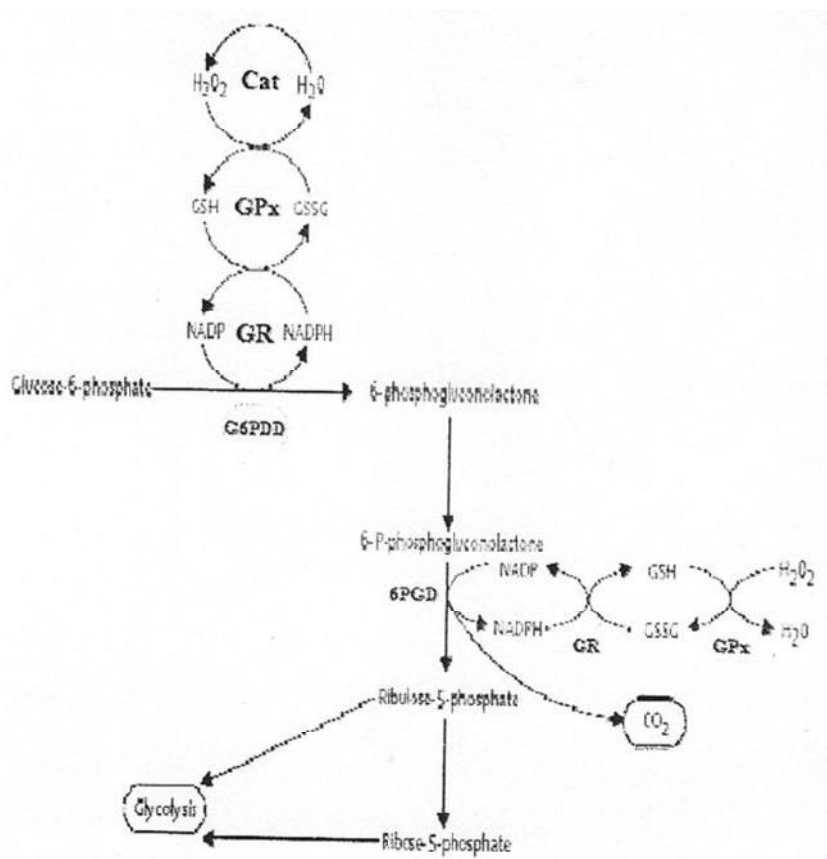
Gambar 18. Mekanisme pembentukan ROS/RNS pada proses metabolisme (Kunwar and Priyadarsini, 2011)

Pelatihan fisik memulai respon fisiologis dan biokimia yang kompleks. Setiap gerakan otot yang cepat dimulai dengan metabolisme anaerobik. Tenaganya berasal dari pemecahan ATP dengan hasil ADP atau AMP dan berlangsung di mitokondria. Pelepasan energi disertai dengan meningkatnya aliran elektron dalam rangkaian respirasi mitokondria sehingga terjadi pembentukan oksigen reaktif (O_2^{\bullet}) dan H_2O_2 dan upaya pembentukan ATP.

Pelatihan cenderung mengosongkan ATP dan meningkatkan jumlah ADP yang tentunya akan merangsang ADP katabolisme dan konversi *Xanthine dehydrogenase* menjadi *Xanthine oxidase*. *Xanthine oxidase* inilah akan membentuk radikal bebas (O_2^{\bullet}). Terbentuknya radikal bebas akan menyebabkan ketidakseimbangan yang disebut

sebagai stress oksidatif dengan hasil akhir rusaknya lemak, protein, dan DNA.

Terjadinya stress oksidatif akibat paparan radikal eksogen dan aktivitas berlebih dapat menyebabkan terjadinya defisiensi Glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD). Defisiensi G6PD akan mempengaruhi metabolisme karbohidrat yang pada akhirnya akan mengganggu kesehatan manusia. Metabolisme glukosa melalui jalur heksosa monofosfat meningkat beberapa kali ketika eritrosit terpapar dengan obat-obatan atau toksin yang membentuk radikal bebas (Cappellini and Fiorelli, 2009). G6PD menginisiasi jalur ini dengan menjadi katalis oksidasi glukosa-6-fosfat menjadi 6-phosphogluconolactone oleh koenzim nikotinamida adenin-dinucleotidephosphate (NADP), yang di ulangi menjadi NADPH. 6-phosphogluconolactone menghidrolisis secara spontan untuk 6-phosphogluconate. Ini berfungsi sebagai substrat untuk 6-phosphogluconate dehidrogenase dan NADP. Langkah kedua dalam jalur enzimatik ini juga berhubungan dengan pengurangan NADP⁺ untuk NADPH. NADPH dihasilkan sebagai akibat dari reaksi mengurangi glutathion teroksidasi (GSSG) untuk mengurangi glutathion (GSH) dalam reaksi dikatalisis oleh glutathion reduktase. GSH kemudian mengurangi hidrogen peroksida, oksidan kuat yang dihasilkan dalam metabolisme sel dan sebagai konsekuensi dari respon inflamasi, dan oksidan endogen dan eksogen lainnya, pada reaksi katalis oleh glutathione peroksidase seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 19.



Gambar 19. Metabolisma karbohidrat melalui jalur fosfat pentosa (Cappellini and Fiorelli, 2008)

BAB IV PENUTUP

Secara umum, stress oksidatif adalah keadaan meningkatnya radikal bebas berupa ROS (*reactive oxygen spesies*) di dalam tubuh, serta menurunnya kemampuan tubuh untuk menetralkan ROS, sehingga menyebabkan peroksidasi lipid, perubahan protein, dan kerusakan strain DNA. Pada peroksidasi membran lipid pada kolest-LDL, stress oksidatif menimbulkan kerusakan atau menyebabkan perubahan struktur biologis membran, menonaktifkan ikatan membran dengan reseptor atau enzim yang dapat mengganggu fungsi normal sel, dan berkontribusi pada kerusakan oksidatif sel lebih lanjut. Hiperkolesterolemia adalah salah satu penyebab atau faktor risiko utama terjadinya stress oksidatif sehingga dapat menimbulkan berbagai gangguan fungsi sel.

Endotel pembuluh darah merupakan sel penghalang semipermeabel yang berfungsi mengatur atau mencegah infiltrasi molekul, dan sel tertentu dalam darah ke jaringan perifer; jaringan ini merupakan salah satu sel yang peka terhadap stress oksidatif, dan mudah mengalami gangguan fungsi sel, sehingga menimbulkan kelainan (disfungsi). Salah satu kelainan pembuluh darah akibat stress oksidatif adalah aterosklerosis.

Aterosklerosis adalah keadaan mengerasnya dinding arteri sebagai akibat terbentuknya plak ateroma. Komplikasi aterosklerosis yang kronis menyebabkan suplai darah ke jaringan hilir tidak cukup sehingga mengakibatkan iskemia.

Secara umum, sodium dismutase (SOD) dapat memicu antioksidan eksogen atau bereaksi langsung dengan ROS yang mengakibatkan proses pembentukan lesi aterosklerosis dapat dicegah atau lesi pengembangan aterosklerosis dapat dihambat. Proses ini dapat diamati dari meningkatnya ekspresi sodium dismutase.

Stress oksidatif adalah keadaan di mana terjadi ketidakseimbangan jumlah radikal yang ada di dalam tubuh dengan antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh sendiri. Ketidakseimbangan inilah yang menyebabkan tubuh tidak bisa menangkap atau menetralkan keseluruhan radikal bebas tersebut. Kelebihan radikal bebas ini mengakibatkan intensitas reaksi oksidasi sel-sel normal semakin tinggi dan mengakibatkan kerusakan jaringan sel akan semakin parah.

Kelebihan radikal bebas juga akibat aktivitas tubuh yang berlebih, puasa yang berlebih, asap rokok, radiasi, dan pencemaran udara. Adanya kejadian seperti ini akan merangsang pengeluaran sitokin proinflamasi seperti Interleukin-6 (IL-6) atau Tumor Nekrosis Faktor-alpha (TNF- α) dan memicu pengeluaran PMN. PMN inilah yang menghasilkan radikal bebas berupa *superoksida anion*, *hydroxyl radical*, *nitrous oxide* dan *hydrogen peroxide* yang merusak jaringan sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhlaghi M., Brian, B. 2009. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 46 : 309-17.
- Almey A., Khan, A.J., Zahir S., Suleiman M., Aisyah Rahim K., 2010. Total phenolic content and primary antioxidant activity of methanolic and ethanolic extract of aromatic plants' leaves. *International Food Research Journal*. 17 : 1077-88.
- Amarowicz R., Naczk, M, and Shahidi F., 2000. Antioxidant Activity of Crude Tarmins of Canola and Rapeseed Hulls, *JAOCs*. 77 : 957-61.
- Anonim. 2012. Mengetahui Radikal Bebas dan Tipsnya, <http://mrsupel.blogspot.com/2012/06/mengetahui-radikal~bebas-dan-tipsnya.html>, diakses tanggal 3 Oktober 2012
- Ardiansyah, 2007. Antioksidan dan Peranannya bagi Kesehatan. <http://www.beritaiptek.com>, diakses pada tanggal 8 Januari 2009.
- Arise R.O., Ma1omo, S.O., Adebayo J .O., and Igunnu A. 2009. Effects of Aqueous Extract of *Eucalyptus globulus* on Lipid Peroxidation and Selected Enzymes of Rat Liver. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(2) : 77-81.

- Arsana, 2014. Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan Pelatihan Fisik menurunkan Stress Oksidatif pada Tikus Wistar (*Rat us norvegicus*) Selama Aktivitas Fisik Maksimal. (Disertasi). Denpasar : Universitas Udayana.
- Arenillas J.F.,Alvary-Sabin,J.,Molina,C.A.2008,Progression of Symptomatic Intracranial Large Artery Atherosclerosis is Associated with a Proinflammatory state an Impaired Fibrinolysis,*Stroke* 39: 1456 – 62.
- Beckman J.S.,Koppenol W.H.1996.NitricOxide,Superoxyde, and peroxytrile: The God, the bad,and the Ugly. *Am J Physiol*,271: C1424-37.
- Berliner J.A; Navab M; Fogelman A., MFrank J.S; Demer L.L; Edwards P.A.1995 Atherosclerosis:Basic Mechanisme, Oxidation, Inflammation and Genetic. *Circulation*,91 :2488-96.
- Birt D. F., Hendrich, S. and Wang W. 2001. Dietary Agents in Cancer Prevention: Flavonoids and Isoflavonoids. *Pharmacol. Ther.* 90 (2-3): 157-77.
- Cai Y., Luo, Q., Sun M. and Corke, H. 2004. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer. *Life Science* 74(17) : 2157 - 84.
- Cappellini M.D. and Fiorelli G. 2008. Glucosa-6-Phosphate Dehidrogenase Deficiency. *Lancet* 371: 64-74.
- Chabowska S.A.,Beck, A., R.Poreba,Andrzejak, R.J. Antonowicz Juchniewicz. 2009. Evaluation of DNA Damage in People Occupationally Exposed to Arsenik

- and Some Heavy Metals. *Polish J. of Environ. Study.* 18 (6) : 1131-39.
- Chevion S., Molan DS., Heled Y. 2003. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *PNAS.* 100(9):5119-23
- Cooke M.S. and Mark D. E., 2007. 8-oxo-deoxyguanosin : Reduce, reuse, recycle. *PNAS.* Vol.124 (34) 1 13535-1536
- Cushine T.T.P. and Lamb A.J.2005. Antimicrobial activity of flavonoid.*International of Antimicrobiologi Agent.*26 :343-356.
- Christopher and Joseph, 2001. Atherosclerosis :the Road Ahead. *Cell*,104: 503 – 106.
- Fukai T.,Folz R.J; Landmesser,U;Harrison,D.G.2002. ExtracellularSuperoxideDismutaseandCardiovascular Disease. *Cardiovase Res*,55 (2): 239-49
- Fessenden and Fessenden. 1986. Kimia Organik, edisi-3 (A.H. Pudjatmaka). Erlangga. Jakarta.
- Finkel T. 2011.Signal transduction by reactive oxygen species. *Journal Cell. Biol.* 194(1) : 7-15.
- Forlenza J.M. and Miller, G.E., 2006. Increased Serum Levels of 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosinein Clinical Depression. *Psychosomatic.* 68 : 1-7.
- Furukawa S., Fujita,T.,Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada,Y, Nakajima Y., Nakayama, O.,Makishima, M.,Matsuda,M.Shimomura. I.,2004. Increased Oxidative Stress in Obesity andits Impact on Metabolic Syndrome,. *lin nvest*,114:1752-61

- Franch PC., Belles, V.V., Codoner, A.A. and Iglesias, E.A., 2011. Oxidant mechanisms in childhood obesity : the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research*. 158 : 369-84.
- Gill ML., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B. and Kader, A.A. 2002, Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California, *J. Agric. Food Chem.* 50 (17) , pp. 4976-82.
- Goodsell D., 2007. Molecule of the Month: Superoxide Dismutase. http://www.rcsb.org/pdb/static.do?pf-education_discussion/molecule_of_the_month/pdb94_1.htm, diakses tanggal 27 Oktober 2012.
- Grassi D., Giovambattista Desideri and Claudio Ferri. 2010. Flavonoids : Antioxidants Against Atherosclerosis. *Nutrients*. 2 : 889-902.
- Hartvigsen K., Chou M.Y., Hansen L.F., Shaw P.X., Tsimikas s., Binder C.J., Wit tum J.L., 2009. The Role of Innate Immunity in atherosclerosis. *Journal of Lipid Research*, 50:388-93.
- Hamid AA., Aiyelaagbe O.O., Usman L.A., Ameen O.M. and Lawal A. 2010. Antioxidants : Its medicinal and pharmacological applications. *African J of Pure and Applied Chemistry*. 4(8):142-51.
- Indriati A., Widjanarko S.B. dan Ralchmadiono, S. 2002. Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Buah Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.), *BIOSAINS* 2(1) : 12-17.

- Jena, NR. 2012. DNA damage by reactive species : Mechanisms, mutation and repair. *J Biosci.* 37(3) : 503-17.
- Jiang M.Z., Yan H., Wen Y., Li X.M. 2011. In vitro and in vivo studies of antioxidant activities of flavonoids from *Adiantum capillus-veneris* L. *African Journal of Pharmacology* Vol. 5 (18). pp. 2079-85. China.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. and Taniguchi H. 2002. Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound. *J Agric. Food Chem.* 50(8) : 2161-68. Japan.
- Kanazawa K., Uehara M., Yanagitani H., Hashimoto T. 2006. Bioavailable flavonoid to suppress the formation of 8-OHdG in HepG2 cell. 455 (2) : 197-203. Japan.
- Klopotek Y., Ot o K. and Bohm V. 2005. Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *J. Agric. Food Chem.* 53 (14) : 5640 - 46.
- Kobayashi H., Wang C. and Pomper K.W., 2008. Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Pawpaw Fruit (*Asimina triloba* L.) at Different Ripening Stages. *Hort Science* 43 (1) : 268 - 70. Japan
- Kumar S. Kumar, D., Manjusha Saroha, K., Singh N. dan Vashishta B. 2008., Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. Methanolic fruit extract. *Acta Pharmacology* 58 : 215-20. India.

- Libby P., 2003. *Inflammation in Atherosclerosis*. Special Lecture. Available at <http://www.J-circ.or.jp/session/report/67th-ss/libby.htm>.
- Li L., Fink G.D., Watts S.W., Northcutt C.A., Galligan J.J., Pagano P.J., Chen A.F., 2003. Endothelin-1 Increase Vascular Superoxide via Endothelium (A)-NADPH Oxide Pathway in Low-renin Hypertension *Circulation*, 107 : 1053 – 8.
- Marciniak A., Brzeszczynska, J., Gwozdziński K. and Jegier A., 2009. Antioxidant Capacity and Physical Exercise, *Biology of Sport*. 26(3) : 197-213.
- McCord J.M., Fridovich I. 2006. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biol Chem*. 244 (22):6049-55.
- Middleton Jr.E., Kandaswami C. and Theoharides T.C. 2000. The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells : Implication for Inflammation Heart Disease and Cancer. *Pharmacological Review*. 52 : 673-751.
- Mega I.M., Swastini, D.A.. 2010. Screening Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal bebas Ekstrak Metanol Batang Gaharu (*Gyneros versteegii*). *J. Kimia* 4 (2). Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Udayana. Denpasar.
- Mermelstein N. 2009. Determining Antioxidant Activity. *Food Technology*. <http://www.ft.org>. Diakses pada Tanggal 23 Maret 2009.
- Murray R. K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009. *Biokimia Harper*, (Andri Hartono)..Edisi 27. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.

- Nausheen, Q.N., Ali, S.A., Subur, K. 2014. Cardioprotective and Antioxidant activity of Onion (*Allium cepa*) Leaves Extract in Doxorubicin Induced Cardiotoxicity in Rats. *Annals of Experimental Biology*. 2(2):37-42. India.
- Padayaty S.J., Daruwala R., Wang,Y., Eck,P.K., Song, J., Koh,W.S. and Levine, M. 2002. Vitamin C: From Molecular Actions to Optimim Intake. In : Cadenas, E. dan L. Packer. 2002. *Handbook of Antioxidants*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Phipps R.P., 2000. Atherosclerosis:The Emerging Role Of Inflammation and CD40- CD 40 Ligand System.*Proc Natl Acad SciUSA*,97:6930-2
- Phusrisom S., Chatuphonprasert W., Monthakantirat O., Pearaksa P., Jarukamjorn K. 2013. Alternanthera sessillis and Alternanthera bet zickiana Improved Superoxide Dismutase and Catalase Activities in the Livers of Ovariectomized Mice. *Journal of Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*.1.64-71. Thailand.
- Praveen K.; Ramamoorthy, Bono, A. 2007. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Content of *Morinda cilrifolia*. Fruit Extracts From Various Extraction Processes. *Journal of Engineering Science and Technology*. Vol. 2 (I) : 70 – 80
- Prior R.L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic in Food and Dietary Supplement. *J Agric. Food Chem*. 53(10) : 4290-4302.

- Prakash A. 2001, "Antioxidant Activity " Medallion Laboratories : Analithycal Progress, 19 (2) : 1 - 4.
- Reagan-Shaw S., Nihal, M. and Ahmad, N. 2007. Dose Translation from Animal to Human Studies Revisited. *The FASEB Journal Life Sciences Forum*. 22(-) : 659-661.
- Ridwan E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam I Penelitian Kesehatan, *J.Indon.Meal* 63 (3) : 112-16.
- Rohman A., Sugeng R. dan Utari, 2006. Antioxidant Activities, Total Phenolic and Flavonoid Contens of Ethyl Acetate Extract of Mengkudu (*Morinda citryolia* L.) Fruit and Its Fractions, *Majalah Farmasi Indonesia*. 17 (3) : 136-42.
- Ross R.,1999. Atherosclerosis An Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine*,340.2:115-26
- Sadikin, 2002. *Biokimia Enzim*. Cetakan I. Penerbit Widya Medika. Jakarta
- Sasaki M., dan Joh, T. 2007. Oxidative Stress and Ischemia Reperfusion Injury in Gastrointestinal Tract and Antioxidant Protective Agents. Diakses Tanggal 5 Nopember 2012.
- Shaile 2011, Hubungan Radikal Bebas dan Antioksidan Terhadap Penyakit Periodontal, Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara, Medan. diakses tanggal 27 Oktober 2012.
- Sibuea P., 2003. Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini. Sinar Harapan, Yogyakarta.
- Sinclair A.J., Barnet , A.H., Lunec J.,1990. Free Radicals and Antioxidant System in Health and Disease. *Br J Hosp Med*.43 :334-44.

- Singh R.P., Murthy, K.N.C. and Jayaprakasha, G.K. 2002. Studies on The Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts using In Vitro Models. *J Agric. Food Chem.* 50(1): 81-6.
- Siswonoto S. 2008. "Hubungan Kadar MDA Plasma dengan Keluaran Klinis Stroke Iskemik Akut. (Thesis). Semarang : Universitas Diponegoro.
- Sugiono 2011. *Statistika untuk Penelitian*. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Sugianto N.L., 2011. Pemberian Jus Delima Merah (*Punica granatum*) Dapat Meningkatkan Kadar Glutation Peroksidase Darah Pada Mencit (*Mus musculus*) dengan Aktivitas Fisik Maksimal. (Thesis). Denpasar. Universitas Udayana.
- Sumarna, Y. 2002. *Budidaya Gaharu*. Swadaya, Jakarta.
- Szymonik L.S., Czechowska G, Stryjecka-Zimmer M, Slomka M, Madro A, Celinski K, Wielosz M. 2003. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication. *J.Hepatobilliary Pancreat Surg.* 2003, 10(4) : 309-15.
- Tarigan 2004. *Profil Budidaya Gaharu*. Departemen Kehutanan, Pusat Bina Penyuluhan Kehutanan Jakarta.
- Taniyama Y & Griendling, K.K. 2003. Reactive Oxygen Species in the Vasculature. *Molecular and Cellular Mechanisms. Hypertention*, 42:1075-81.

- Tokur B., Korkmaz, K. and Ayas, D. 2006. Comparison of Two Tiobarbituric Acid (TBA) Method for Monitoring Lipid Oxidation in Fish. *J. Fisheries and Aquatic Sci* 23(3-4) : 33 1-34.
- Valko M., Mario I., Milan M., Christopher J.R. and Joshua T. 2004. *Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 266 : 36-37
- Vasudevan DM. and Sreekumari S. 2004. *Textbook of Biochemistry jbr Medical Student*. Jaypee. 4th ed. p. 338-40.
- Widowati W. 2007. Peran antioksidan sebagai agen hipokolesterolimia pencegah oksidasi lipid dan aterosklerosis. *Majalah Kedokteran Domianus*. Volume 6 No 3. hal 227-35. FK Atmajaya Jakarta.
- Wiratno. 2009. *Pengaruh Polwnol Teh Hyau Terhadap Sistem Imun Penderita Karsinoma Nasofaring yang Mendapat Radioterapi Kajianjumlah monosit, limfosit serta produksi TNF- α , IFN- γ dan IL-2 ex vivo*. *Media Medika Indonesia*. 43 (4) : 175-81
- Wolfe, K., Kang, X., He, X., Dong, M., Zhang, Q. and Liu, R.H. 2008. Cellular Antioxidant Activity of Common Fruits. *J Agric. Food Chem*. 56 (18) 2 8418-6426.
- Wolfe, K.L. and Liu., R.H. 2007. Cellular Antioxidant Activity (CAA) Assay for Assessing Antioxidants, Foods, and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem*. 55 (22) : 8896-8907.

- Wrasiati L.P. 2011. Karakteristik dan Toksisitas Ekstrak Bubuk Simplisia Btmga Kamboja Cendana (*Plumeria alba*) dan Peranannya Dalam Meningkatkan Aktivitas Antioksidan Enzimatis pada Tikus *Sprague dawley* (Disertasi). Denpasar. Universitas Udayana.
- Wresdiyati T., Astawan, M., Fithriani, Adnyane, I.K.M., Novelina, S. dan Aryani, S. 2010. Pengaruh α -Tokoferol Terhadap Profil Superoksida Dismutase dan Malondialdehida pada Jaringan Hati Tikus di Bawah Kondisi Stres. *Jurnal Veteriner*. Diakses tanggal 30 Oktober 2012.
- Wuryastuti H. 2000. The Influence of Dietary Protein and Fats on Plasma Lipid in Sprague Dawley Rats. *Indonesian Food and Progress*. 7(2) 1 37-41. Yogyakarta.
- Xia M., Ling, W., Zhu, H., Wang, Q., Hou, M., Tang, Z., Guo, H., Li, C., Ye, Q., 2007. Anthocyanin Prevent CD30-Activated Proinflammatory Signaling in Endothelial Cells by Regulating Cholesterol Distribution *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27 :519-24.
- Xu H.C. and Wang M.Y. 2014. Effect of flavonoid from Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) leaf on biochemical parameters related to oxidative stress induced by exhaustive swimming exercise of mice. *Biomedical Research*. 25 (1) : 1-5. China.
- Yokoyama M., 2000. The Tea polyphenol (-)-epigallocatechin effects on growth, apoptosis, and telomerase activity cis cervical cell lines. *gynecol oncoe* 92:197-204.

- You G.R., Xu, X.R., Song, F.L., and Li, H.B. 2010. Antioxidant Activity and Total Phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. *J. of Medicinal Plants Research* Vol.4 (22) : 2436-44.
- Yong Lv., Yue J., Guozhu H., Ping pan and Nan Li. 2007. Comparative Study on Protective Effects of Tea Polyphenols and Vitamin C against Chemically Induced Hepatotoxicity in Mice. *Asian Journal of Pharmacodynamics and Pharmacokinetics* 7(3) : 227-32.
- Zaneti M; Sato.J; Jost,C.J; Glovizki,P; katusic,Z. S.T; O'Brien,T.2001. Gene Transfer of Manganese Superoxide Dismutase Reverse Vascular Dysfunction in the Absence but not in the Presence of Atherosclerosis Plaque, *Human Gene Therapy*, 12:1407-16.
- Zheng W. and Wang S.Y., 2009. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J. Agric. Food Chem.*, 49 (11) : 5165-70, ACS Publications, Washington D.C.

BIODATA PENULIS



Dr. Ir. Sri Wahjuni, M. Kes dilahirkan di Surabaya pada Juni 1959, menempuh pendidikan sejak dari sekolah dasar (SD) sampai dengan Pascasarjana di Surabaya. Menyelesaikan pendidikan pada Fakultas Teknik Kimia UPN Surabaya (1985), dan Program Pascasarjana Universitas Airlangga (1999) Surabaya, dan Program Pascasarjana (Doktor) Universitas Udayana (2011). Sejak 1986, menjadi dosen pada jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana sampai sekarang, sekretaris Laboratorium FMIPA Bersama Universitas Udayana (2012—sekarang). Terlibat dan penelitian dan publikasi, antara lain 1) “Pengaruh Substitusi Berbagai Kadar Minyak Ikan Lemuru dalam diet terhadap penurunan trigliserida tanpa maupun dengan Suplementasi vitamin-E pada Tikus”, dalam *Review*, Vol.1. No.1, Juni 1999; 2) “Kadar Laktosa pada beberapa Merek Susu yang beredar di Pasaran kota Badung” (Denpasar). *Review Kimia*, Vol.1 No.2., Agustus. 2000; 3) Pemanfaatan arang aktif dari tempurung kelapa sebagai penghilang ketengikan pada Minyak Goreng Tradisional *Review Kimia*, Vol.3, No.2., Agustus 2001; 3) “Kadar Protein Teri

dengan Beberapa Kadar Penggaraman yang beredar di Kota Denpasar". *Review Kimia*. Vol.2, No,2,. Agustus 2002; 4) " Kadar Glukosa pada Nasi yang dimasak di *Magic Com*. Selama periode penyimpanan 12 jam, 18 jam, 24 jam, dan 30 jam". *Review Kimia* Vol.3 No. 1 April. 2003; 5) "Kadar Iod pada Minyak Goreng Bermerk dan Minyak Goreng Tradisional", dalam *Review Kimia*; Vol.4, No.2 Agustus 2004; 6) "Kadar Lemak pada Mesis yang Bermerk dan Tak Bermerk", dalam *Review Kimia*. Vol 5, No.1 April 2005; 7) "UridAcid Inhibition Activity of *Annona Muricata* L Leave Extract in Hyperuricemia induced Wistar Rat"., *Advances in Pure and Applied Chemistry* Vol.2, No.1. ISSN 216-0854. 2012.

Juga menyajikan makalah di berbagai pertemuan ilmiah, antara lain "Pemanfaatan arang aktif dari tempurung kelapa sebagai Penghilang ketengikan pada Minyak Goreng Tradisional"; Dipresentasikan pada seminar Nasional Biokimia UI. 2008, dan "Ekstrak Bunga Wjaya Kusuma dapat menurunkan kadar Hiperkolesterolemia pada Tikus Wistar", Seminar Nasional UNPAD, 2013. Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Memperbaiki Kerusakan Sel Beta Pangkreas melalui Penurunan Glukosa darah, MDA, dan Kerusakan sel (8-OHdG) pada Tikus Wistar Hiperglikemia, 2014. Identifikasi dan uji anti Bakteri *Escherichia coli* Senyawa flavonoid dari ekstrak daun salam (*Zyzygum polyanthum*), 2015. Beans (*Phaseolus Vulgaris* L Extract As antidyslipedemia : Decrease Total cholesterol, Malondialdehid, Low Density Lipoprotein, and increase of High Density Lipoprotein On Rat Wistar, 2015.