

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Takokak

##### 1. Klasifikasi Takokak



Gambar 1. Buah Takokak

Buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) merupakan tumbuhan dari suku *Solanaceae* yang tersebar di Asia Selatan dan Asia Tenggara. Daun takokak dilaporkan mengandung *solasonine* sebagai kandungan utama, juga *sapogenin*, *neochlorogenin*, *neosolaspigemin*, *solaspigenin*, *triacontanol*, *tetratriacontanic acid*, *z-tritriacontanone*, *sitosterol*, *stigmasterol* dan *campesterol*. Buah takokak diketahui mengandung metabolit sekunder berupa glukoalkaloid, solasonine, dan sterolin (Bari et al., 2010; Yuanyuan et al., 2009). Ekstrak methanol dan kloroform dari batang dan akar takokak berfungsi sebagai antijamur terhadap *Candida albicans*, sedangkan ekstrak air, methanol, kloroform dan etanol dari daun takokak berperan aktif terhadap beberapa jamur patogen (Bari et al., 2010; Lalita et al., 2010).

Klasifikasi tanaman takokak adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (tumbuhan)  
Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)  
Super Divisio : Spermatophyta (menghasilkan biji)  
Divisio : Mangnoliophyta (berbunga)  
Kelas : Mangnoliopsida (berkeping dua / dikotil )  
Sub kelas : Asteridae  
Ordo : Solanales

Familia : Solanaceae (terung-terungan)  
Genus : Solanum  
Spesies : Solanum torvum Swartz

Bagian buah, bunga dan daun takokak mengandung saponin dan flavonoid, selain itu bunga dan daunnya juga mengandung alkaloid dan tanin (Elfahmi dkk., 2007).

## 2. Morfologi

Takokak memiliki nama ilmiah *Solanum torvum Swartz* atau *Solanum ferrugium Jc*, yang termasuk kedalam famili Solanaceae dan genus Solanum. Tanaman ini, dikenal dengan nama daerah cepoka, cokowana, pokak atau terong pipit, rimbang (Elfahmi dkk., 2007). Takokak merupakan tanaman yang keseluruhan bagiannya dilapisi oleh bulu. Takokak tumbuh di tempat yang cukup mendapatkan sinar matahari, tidak terlalu lembab dan tumbuh secara tersebar. Tumbuhan ini memiliki tinggi 2m - 5m, berduri tajam, tegak, dengan bunga berwarna putih, majemuk, berbentuk bintang, bertaju 5, dan kelopak berbulu. Daun meruncing, pangkal daun meruncing, panjang batang 27-30 cm, bentuk tulang daun menyirip. Tumbuhan ini berakar tunggang (Elfahmi dkk., 2007).

## 3. Manfaat Buah Takokak

Manfaat dari buah takokak adalah untuk melancarkan sirkulasi, menghilangkan darah beku, menghilangkan sakit (*analgetik*) dan menghilangkan batuk (*antitusif*). Buah, bunga dan daun takokak menurut beberapa penelitian mengandung saponin dan flavonoid (Mustarichie, dkk. 2011).

Takokak (*Solanum torvum Swartz*) digunakan oleh masyarakat sebagai sayur baik dimasak atau sebagai lalapan. Selain itu, takokak juga digunakan sebagai obat darah tinggi dan penambah nafsu makan. Tanaman ini juga dapat digunakan sebagai obat sakit lambung, sakit gigi, tidak datang haid, batuk kronis, obat sakit pinggang kaku, bisul, koreng, darah tinggi, penambah nafsu makan, gatal-gatal, mata kering, penghilang rasa sakit, anti radang dan alat kontrasepsi (Mustarichie, dkk. 2011).

#### **4. Komponen Bioaktif dan Komposisi Kimia Buah Takokak**

Menurut Rahman (2013), senyawa flavonol dan flavon dimanfaatkan dalam sayuran indigenous tersebut sangat bervariasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sayuran indigenous yang diteliti mengandung senyawa quercetin. Selain itu, menurut Astri (2012) buah takokak mengandung flavonoid, tanin, saponin, fenol dan quercetin.

##### **a. Flavonoid**

Setiap gugus dari flavonoid mempunyai kapasitas yang baik sebagai antioksidan. Gugus flavon dan katekin mempunyai aktivitas tertinggi untuk mencegah tubuh dari serangan radikal bebas. Diketahui sel-sel tubuh secara kontinu dapat dirusak oleh radikal-radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme aerobik atau yang diinduksi oleh kerusakan eksogen. Kerusakan sel dapat bertambah disebabkan oleh jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan endogen. Mekanisme lain dari flavonoid dalam mencegah oksidasi adalah dengan mengkelat ion logam dan menghambat reaksi Fenton dan Haber-Weis yang merupakan sumber penghasil radikal bebas oksigen (Yuan-Lu et al., 2011).

Senyawa flavonoid yang dikonsumsi mempunyai efek aditif terhadap pembersihan radikal bebas. Flavonoid dapat menambah fungsi kerja antioksidan endogen dengan berpartisipasi terhadap tiga sistem penghasil radikal yang berbeda seperti pembersihan langsung radikal. Flavonoid mencegah kerusakan sel. Pembersihan langsung radikal bebas oleh flavonoid menghasilkan zat yang stabil diketahui bahwa aktivitas dari gugus flavonoid tinggi, sehingga zat tersebut dapat menstabilkan spesies oksigen reaktif (Sunarmi, 2005).

Bahan alami yang mengandung senyawa flavonoid dan berperan sebagai antioksidan salah satunya adalah madu kelengkeng. Beberapa penelitian menyatakan bahwa madu kelengkeng memiliki aktivitas antiradikal bebas sebesar 82,10% lebih besar dibandingkan dengan madu randu yaitu 69,37% untuk setiap 1 gram ekstrak pekat metanol (Parwata et al. 2010). Madu kelengkeng banyak mengandung metabolit sekunder yang bersifat semi polar atau polar. Senyawa flavonoid selain memiliki ikatan rangkap majemuk juga memiliki gugus

hidroksi lebih banyak sehingga memiliki potensi lebih tinggi untuk mengikat radikal bebas. Flavonoid spesifik yang terkandung dalam madu kelengkeng adalah isoflavon (Asih et al. 2012).

#### **b. Tanin**

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang susah dipisahkan dan susah mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty et al., 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan terkondensasi. Tanin memiliki peran biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam dan juga berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002).

Bahan alami yang mengandung senyawa tanin dan berperan sebagai antioksidan salah satunya adalah biji alpukat. Berdasarkan penelitian Malanggi, L., dkk (2012) bahan yang digunakan adalah 2 macam biji alpukat, yaitu biji alpukat kering dan biji alpukat segar. Kandungan tanin terkondensasi dalam ekstrak biji alpukat menunjukkan bahwa kandungan tanin terkondensasi pada biji alpukat kering lebih tinggi dibandingkan biji alpukat segar. Berdasarkan penelitian, kandungan tanin terkondensasi tertinggi adalah ekstrak AK 20,855 mg/kg, ekstrak BK 16,966 mg/kg, ekstrak AS 5,411 mg/kg dan ekstrak BS 4,411 mg/kg. Kandungan tanin terkondensasi berkorelasi dengan kandungan total tanin. Kandungan tanin pada biji alpukat kering lebih tinggi dari biji alpukat segar. Kandungan tanin terkondensasi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan.

#### **c. Saponin**

Senyawa saponin merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Senyawa saponin merupakan fitokimia yang mempunyai karakteristik berupa kemampuan membentuk busa dan mengandung aglikon polisiklik yang berikatan dengan satu atau lebih gula (Majinda, 2012). Oleh karena itu, senyawa saponin perlu dilakukan pemisahan suatu zat (ekstraksi). Peristiwa

pemindahan zat terlarut antara dua pelarut yang tidak saling bercampur disebut ekstraksi. Senyawa saponin memiliki aktivitas antioksidan, senyawa saponin yang beraktivitas antioksidan adalah *alpha-hederin*, *hederasaponin-C*, *hederacolchiside-E* dan *hederacolchiside-F* (Majinda, 2012).

Bahan alami yang mengandung senyawa saponin dan berperan sebagai antioksidan salah satunya adalah belimbing wuluh. Ekstrak metanol buah belimbing wuluh mengandung alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, fenol dan triterpenoid. Selain itu, ekstrak metanol buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan (Hasanuzzaman et. al., 2013). Daun belimbing wuluh mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, tannin dan kumarin (Valsan dan Raphael, 2016). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing memiliki efek hipoglikemik dan hipolipidemik pada tikus model diabetes tipe I (Ibrahim et. al., 2014).

#### **d. Fenol**

Senyawa fenol berperan sebagai *scavenger* (pemakan) radikal peroksil karena fenol memiliki struktur molekul penting, yaitu cincin aromatic dan gugus hidroksil yang dapat berpindah karena mengandung hidrogen. Selain itu, fenol juga diketahui dapat meredam radikal bebas dengan membentuk chelate dengan ion-ion yang bervalensi dua logam seperti Cu, Fe, Zn dan Mn yang menyebabkan peroksidasi lipid. Senyawa fenol disebut antioksidan alami karena memiliki sifat penangkap radikal yang menghasilkan aktivitas antioksidan yang berperan sebagai reduktor, antioksidan pendonor atom hidrogen dan sebagai *singlet oxygen quencher* (Yuslianti, 2018).

Bahan alami yang mengandung senyawa fenol dan berperan sebagai antioksidan salah satunya adalah alga cokelat. Alga cokelat mengandung senyawa alkaloid, glikosida, tanin dan steroid yang banyak digunakan dalam pengobatan dan industri farmasi (Jeeva et al., 2012). Senyawa fenolik dan flavonoid memiliki aktivitas penghambatan oksidasi LDL, *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE),  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase (Nagappan et al., 2017). Selain itu, senyawa tersebut memberikan efek terapeutik serta perlindungan

terhadap beberapa penyakit degeneratif terutama kanker (Padua *et al.* 2015).

Senyawa fenolik salah satu antioksidan yang paling efektif dalam alga cokelat (Nagai dan Yukimoto, 2003). Kandungan fenolik pada alga cokelat sebesar 20-30% berat kering. Studi yang menunjukkan bahwa florotanin merupakan senyawa fenolik utama yang terdeteksi di dalam alga cokelat (Koivikko, 2008).

**e. Quercetin**

Quercetin merupakan salah satu flavonoid yang berkhasiat sebagai antioksidan. Quercetin banyak dijumpai dalam berbagai buah dan sayuran misalnya : apel, anggur merah, teh, bawang merah. Quercetin menunjukkan aktivitas antioksidan dengan menurunkan peroksidasi lipid (MDA) dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan pada tikus diabetes yang diinduksi *streptozotocin* (Coskun, et al., 2004). Quercetin memiliki sifat antikarsinogenik dan anti-inflamasi dengan efek antioksidan dan pembasmi radikal bebas. Namun, quercetin juga dapat dialihkan menjadi molekul reaktif (Methodiewa et al., 1999; Boots et al., 2003). Secara *in vitro*, degradasi oksidatif kuersetin telah terbukti menghasilkan pembentukan zat antara ortosemikuinon radikal bebas, yang kemudian dapat diubah menjadi molekul induk atau menjadi ortokuinon, dalam proses produksi spesies oksigen reaktif (Methodiewa et al., 1999; Boots dkk., 2003).

Beberapa peneliti berpendapat bahwa quercetin memiliki aktivitas antimikroba, antivirus, antioksidan dan anti-inflamasi (Doğan et al., 2015; Gutteridge, 1995). Selain itu, quercetin mampu meningkatkan potensi antioksidan seluler melalui jalur Nrf2 (Gutteridge, 1995). Studi lain oleh Dogan et al. (2015) menunjukkan bahwa quercetin mampu mencegah efek toksik dari zat kemoterapi yang diobati sebelum kehamilan (Doğan et al., 2015). Quercetin diberikan dengan dosis 10 mg/kg/hari secara oral gavage.

## B. Antioksidan

### 1. Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor) yang dapat menangkal dampak dari stress oksidatif. Selain itu, antioksidan mampu menghilangkan, membersihkan, menahan dan menangkal pembentukan reaksi oksidasi yang disebabkan radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas adalah atom yang tidak stabil karena tidak memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan elektron dengan mengikat sel-sel tubuh. Apabila hal tersebut terjadi terus menerus dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Khairun, N. B., 2018).

Antioksidan sangat penting dalam bidang kesehatan, kecantikan dan bahan pangan. Antioksidan dapat mencegah penyakit degeneratif dan penyakit kanker. Antioksidan dalam bidang kecantikan berfungsi untuk mencegah diri dari penuaan dini (antiaging), menjaga kesehatan kulit. Antioksidan dalam bidang pangan dapat digunakan untuk mencegah proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan seperti ketengikan, perubahan aroma dan warna dan dapat mencegah peroksidasi lipid pada bahan pangan (Yuslianti, E. R., 2018).

Antioksidan diklasifikasikan dalam beberapa bentuk yaitu endogen-eksogen, alami-sintetik, enzimatis-nonenzimatis, fungsi dan mekanisme kerja. Berdasarkan asalnya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti: *catalase* (Cat), *superoksida dismutase* (SOD), dan *glutathione peroksidase* (Gpx); serta antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh atau makanan. Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, *a-tocopherol*, *flavonoid*, *thymoquinone*, statin, niasin, *phycocyanin* (Khairun, N. B., 2018).

Berdasarkan sumber, antioksidan dapat diperoleh dari bahan sintetik dan alami. Antioksidan sintetik adalah *Butil Hidroxil Toluene* (BHT) dan *Butil Hidroxil Anisol* (BHA). Contoh antioksidan alami adalah vitamin A, vitamin E, vitamin C dan vitamin B2. Namun, penggunaan antioksidan

sintetik dapat bersifat karsinogenik dan toksik dalam dosis yang tinggi. Hal ini yang membuat antioksidan alami mulai banyak digunakan karena dengan tujuan dapat digunakan sebagai pengobatan preventif (Khairun, N. B., 2018).

Antioksidan enzimatis contohnya adalah enzim *superoksida dismutase* (SOD), *catalase*, dan *glutation peroksidase*. Sedangkan, antioksidan non-enzimatis dibagi dalam 2 kelompok yaitu larut lemak dan larut air. Antioksidan larut lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinolone dan bilirubin. Sedangkan, antioksidan larut air seperti asam askorbat dan protein pengikat logam. Antioksidan dimanfaatkan pada produk pangan sebagai aditif untuk mencegah kerusakan akibat oksidasi, diantaranya untuk mencegah oksidasi lipid, perubahan warna dan aroma pada pangan, selain itu juga dapat berperan sebagai pengawet pangan (Khairun, N. B., 2018).

## **2. Antioksidan Berdasarkan Fungsinya**

Antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya dibagi menjadi antioksidan primer, sekunder dan tersier. Mekanisme kerja antioksidan primer sifatnya sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang bisa bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan mengubah menjadi produk-produk yang lebih stabil. Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), *catalase* dan protein pengikat logam (Yuslianti, E. R., 2018).

Mekanisme kerja antioksidan sekunder dengan cara mengikat ion logam, menangkap radikal, penangkap oksigen, pengurai hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, isoflavon, bilirubin dan albumin (Yuslianti, E. R., 2018). Mekanisme kerja antioksidan tersier yaitu memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Antioksidan tersier memperbaiki DNA dan *metionin sulfida reduktase* (Yuslianti, E. R., 2018).

## **3. Hubungan Antioksidan dengan Atherosklerosis**

Atherosklerosis merupakan suatu penyakit degeneratif. Proses atherosklerosis terjadi melalui beberapa tahap. Kejadian awal pada proses atherosklerosis adalah kerusakan atau disfungsi endotel karena

tingginya kadar lemak LDL (Anwar, 2004). Menurut Utama (2003), sel endotel merupakan lapisan sel pembatas dinding pembuluh darah dan darah. Sel endotel ini sangat vital, karena kegiatan dan dinamikanya yang terus menerus mengatur keseimbangan komposisi darah dan kondisi dinding pembuluh darah. Kerusakan endotel menyebabkan pelepasan faktor pertumbuhan yang akan merangsang masuknya monosit ke lapisan intima pembuluh darah. Lipid akan masuk ke dalam pembuluh darah melalui transport aktif dan pasif.

Sayur dan buah-buahan merupakan sumber utama antioksidan karena mengandung tokoferol, asam askorbat, karotenoid, serta senyawa polifenol dan flavonoid. Dua jenis senyawa polifenol dan flavonoid banyak mendapat perhatian karena merupakan komponen bioaktif pada makanan khususnya sebagai antioksidan. Flavonoid terdapat pada daun, bunga, buah, biji-bijian, kacang-kacangan, bulir padi dan rempah. Dengan demikian, peran diet antioksidan polifenol dan flavonoid dari sayuran dan buah segar diperlukan untuk mengurangi risiko terkena penyakit jantung (Sukarianingsih dkk, 2004).

Antioksidan berfungsi mencegah kerusakan sel-sel endotel atau jaringan pembuluh darah. Pada saat bersamaan, antioksidan akan meningkatkan kolesterol 'baik' (*High Density Lipoprotein/HDL*) yang bermanfaat untuk mencegah penyakit jantung dan pembuluh darah. Selain itu, antioksidan berfungsi menangkal radikal bebas yang dapat mencegah oksidasi LDL sehingga proses atherosklerosis atau penyumbatan pembuluh darah dapat dihindari (Khomsan, 2006).

### **C. Kadar *Malondialdehyde* (MDA)**

*Malondialdehyde* (MDA) adalah zat oksidan atau radikal bebas yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh, melalui proses enzimatis atau non enzimatis. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel tubuh manusia memiliki suatu sistem antioksidan yang terorganisir, baik antioksidan enzimatis maupun antioksidan non-enzimatis yang bekerja secara sinergis, peningkatan kadar MDA menjadi tanda dari adanya penuaan (Gil et al., 2002).

*Malondialdehyde* banyak didapatkan dalam sirkulasi dan merupakan hasil akhir dari peroksidasi lemak akibat terputusnya rantai asam lemak dan menjadi senyawa toksik bagi sel. MDA diproduksi sesuai dengan proporsi peroksidasi lipid yang terjadi (Siswonoto, 2008). Pengukuran radikal bebas secara langsung sulit dilakukan karena radikal bebas tidak menetap lama, waktu paruhnya pendek, dan segera hilang dalam hitungan detik. Substansi yang sudah dikenal dan banyak dipakai sebagai petanda biologis peroksidasi lipid dan stres oksidatif adalah MDA. MDA sering digunakan sebagai petanda stres oksidatif khususnya pada berbagai keadaan klinis yang berkaitan dengan proses peroksidasi lipid (Anggraeni, Setyaningrum and Listiawan, 2017).

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan beberapa cara, yaitu dengan tes *thiobarbituric-reactive substance* (TBARS), metode pengukuran TBA ini dapat dilakukan dengan metode kolorimetri dan metode fluoresens. Metode pengukuran MDA juga dapat dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) yang merupakan metode pengukuran kadar MDA serum yang paling sensitive dan spesifik (Arkhaesi, 2008).

## **D. Radikal Bebas**

### **1. Pengertian**

Menurut Halliwell pada tahun 1999, radikal bebas adalah suatu atom, gugus, molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar. Molekul tersebut diantaranya atom hydrogen, logam-logam transisi dan molekul oksigen. Senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tak berpasangan menyebabkan molekul mudah tertarik pada suatu medan magnetik (paramagnetik) dan menyebabkan molekul sangat reaktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), bermuatan negatif (anion) atau tidak bermuatan (Yuslianti, E. R., 2018).

Radikal bebas bereaksi reaktif karena dapat membentuk senyawa radikal baru. Senyawa radikal baru apabila bereaksi dengan molekul lain akan terbentuk senyawa radikal yang baru lagi, demikian seterusnya sehingga semua reaksi-reaksi tadi disebut dengan reaksi berantai (*chain reaction*). Reaksi berantai akan berlangsung terus menerus dan reaksi ini

akan berhenti sampai saat peredaman oleh senyawa lain yang bersifat antioksidan. Radikal bebas dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel, baik komponen struktural (molekul-molekul penyusun membran sel) maupun komponen fungsional (enzim-enzim dan DNA). Radikal bebas dapat terbentuk dari senyawa yang bukan radikal bebas tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas seperti ozon, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan senyawa lainnya (Yuslianti, E. R., 2018).

## **2. Sumber Radikal Bebas**

Sumber radikal bebas terdiri dari dua yaitu sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh (radikal bebas endogenus) dan sumber radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (radikal bebas eksogenus). Radikal bebas endogenus ini sangat bervariasi. Sumber endogenus terjadi autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transport electron di mitokondria, oksidasi ion-ion logam transisi atau melalui ischemic. Sedangkan sumber eksogenus radikal bebas yakni berasal dari luar sistem tubuh, diantaranya sinar ultraviolet (UV), radiasi, asap rokok, senyawa kimia klorotetrafluorida, senyawa hasil pemanggangan dan zat pewarna (Utami, 2008).

Rokok mengandung radikal bebas yang dapat menyebabkan materi biologis di dalam tubuh mudah teroksidasi sehingga mengakibatkan terjadinya stress oksidatif, meningkatkan faktor transduksi dan transkripsi gen inflamasi sehingga sel radang juga dapat meningkat. Peningkatan sel radang ini dapat memperburuk kondisi stress oksidatif karena sel radang menghasilkan radikal bebas. Kondisi stress oksidatif inilah yang dapat merusak sel-sel di dalam tubuh dan dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA (*Malondialdehyde*) (Utami, 2008).

## **3. Hubungan Radikal Bebas dengan Atherosklerosis**

Radikal bebas menyebabkan penyakit degenerative pada manusia seperti kanker, penyakit hati dan atherosklerosis melalui mekanisme berantai (Lee et al., 2001). Radikal bebas memiliki pasangan elektron bebas di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat dan DNA yang berujung pada timbulnya penyakit (Anonim, 2005). Jika radikal bebas bereaksi dengan protein akan mengakibatkan katarak karena menyebabkan protein rusak

(Kumalaningsih, 2006) dan jika bereaksi dengan DNA akan mengakibatkan DNA menjadi rusak sehingga timbul penyakit kanker, kardiovaskuler dan penyakit degenerative (Vaya and Aviram, 2001).

#### **E. Stress Oksidatif**

Stres oksidatif terjadi apabila radikal bebas yang dihasilkan lebih besar dari yang dibuang oleh mekanisme pertahanan. Peristiwa stres oksidatif dapat menimbulkan gangguan fungsi biologi seperti homeostasis ion, aktivitas enzim, integrasi membrane, fungsi sel, bahkan kerusakan atau kematian sel (Ames, Shigenaga and Hagen, 1993). Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan, ketidakmampuan dalam pengaturan reaksi oksidasi-reduksi atau redoks yang terjadi didalam sel bertanggung jawab terhadap rusaknya keseimbangan secara oksidatif didalam sel, hal ini yang mendasari terjadinya proses penuaan. Penuaan akan terjadi bila sel dirusak oleh radikal bebas yang menumpuk sehingga mengakibatkan munculnya penyakit degeneratif seperti kanker, katarak, penyakit jantung, penurunan system imun dan gangguan kognitif (Ames, Shigenaga and Hagen, 1993).

Radikal bebas dapat mencetuskan terjadinya reaksi peroksidasi lipid berantai dengan menambahkan atom hydrogen dari sisi rantai karbon metilen. Radikal lipid bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksil. Radikal peroksil inilah yang akan menginisiasi reaksi berantai dan mengubah *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) menjadi lipid hidroperoksida. Lipid hidroperoksida ini sifatnya sangat tidak stabil dan mudah diurai menjadi produk sekunder seperti *aldehid* dan *malondialdehid*. *Malondialdehid* inilah yang digunakan sebagai penanda kerusakan suatu sel atau jaringan yang diakibatkan oleh stres oksidatif. Proses peroksidasi lipid ini tentunya akan mengganggu integritas dari membran sel yang lebih lanjut akan menyebabkan perubahan susunan struktur membran (Yuslianti, E. R., 2018).

Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang muncul selama stress oksidatif, memicu terbentuknya berbagai unsur aktif seperti 4-hidroksinonenal (HNE), menghasilkan kerusakan selular. Peroksidasi lipid dapat dicetuskan oleh berbagai jenis kimia yang dapat mengekstrak atom hydrogen dari sisi rantai *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) yang biasanya

terdapat pada membran sel. Asam arahidonat sebagai *polyunsaturated omega-6 fatty acid* terdapat dalam membran sel, otak, otot, dan hepar yang mengandung banyak ikatan rangkap metilen sebagai sumber atom hydrogen untuk radikal bebas (Yuslianti, E. R., 2018).

#### **F. Hewan Uji Coba Kelinci**

Kelinci adalah hewan yang hidup di Afrika hingga daratan Eropa. Setelah manusia bermigrasi ke berbagai benua baru, kelinci pun turut menyebar ke berbagai benua baru, kelinci pun turut menyebar ke berbagai pelosok benua baru, seperti Amerika, Australia, dan Asia. Kelinci di Indonesia, khususnya di Jawa, dibawa oleh orang-orang Belanda sebagai ternak hias pada tahun 1835 hingga tahun 1912 kelinci diklasifikasikan dalam ordo Rodensia (Rodent). Kelinci diklasifikasikan dalam ordo *Lagomorpha* yang dibedakan menjadi dua famili, yaitu *Ochtonidae* (jenis pika yang pandai bersiul) dan *Leporidae* (jenis kelinci dan terwelu). Famili Ochtonidae terdiri dari pika, dan family Leporidae terdiri dari terwelu (tegalan) dan kelinci (Hustamin R, 2006).

Indonesia terdapat kelinci lokal, yakni kelinci jawa (*Lepus negricollis*) dan kelinci sumatera (*Nesolagus netseheri schigel*). Kelinci jawa diperkirakan masih ada di hutan-hutan di daerah Jawa Barat. Mereka mencari makan pada malam hari dan berlindung ditengah semak-semak lebat pada siang hari. Warna bulunya cokelat perunggu kehitaman di punggung, serta hitam di tengkuk, bahu, dan telinga. Ekornya berwarna jingga dengan ujung berwarna hitam. Sementara itu, dari leher hingga kaki depan di bawah badan berwarna putih. Berat kelinci dewasa 2-4 kg, panjang 40-50 cm dan panjang telinga 10-12 cm. Kelinci ini hanya bisa beranak 2-3 ekor sekali beranak, tetapi masih bisa diperbaiki melalui pemulihan kelinci yang unggul (Hustamin R, 2006).

Kelinci sebagai hewan coba mempunyai banyak kelebihan yaitu sangat jinak dan non-agresif sehingga mudah untuk menangani dan mengamati, mudah dikembangbiakan dan sangat ekonomis dibandingkan dengan memakai hewan yang lebih besar, memiliki siklus vital pendek (bunting, menyusui, dan pubertas) dan termasuk kategori hewan rendah sehingga mudah untuk disetujui komite etika dibandingkan menggunakan hewan katagori tinggi. Kelinci yang dipakai dalam penelitian adalah kelinci

putih *New Zealand* (NZ), karena strain kelinci kurang agresif di alam dan memiliki masalah kesehatan lebih sedikit dibandingkan dengan jenis lainnya (Hustamin R, 2006).

### **G. Diet Atherogenic**

Diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah yang berakibat hiperkolesterolemia, salah satunya yakni diet aterogenik. Gaya hidup seperti merokok, kurangnya aktivitas fisik dan stres juga dapat memicu peningkatan kadar kolesterol dan trigliserida tinggi. Kolesterol dalam tubuh manusia menjadi sebuah masalah bagi siapapun yang belum mengetahui manfaat serta bahaya akan kolesterol. Apabila kolesterol terakumulasi dalam jumlah yang besar, dapat menyebabkan penyakit jantung koroner (PJK), salah satunya yaitu aterosklerosis. Aterosklerosis merupakan penebalan dinding pembuluh darah akibat penimbunan plak kolesterol pada lapisan tunika intima arteri yang dapat menghambat aliran darah, sehingga mengakibatkan penyakit serebrovaskular, kardiovaskular dan jantung koroner (Sagith et al., 2018).

Berdasarkan hasil penelitian Kumar tahun 2012 yang dilakukan terhadap 6 tikus putih jantan strain wistar kelompok aterogenik yang diberi diet aterogenik selama 12 minggu yang mengandung kuning telur, asam kolat dan lemak kambing serta pencekakan vitamin D<sub>3</sub> dapat menimbulkan lesi aterosklerosis pada aorta torasika tikus putih jantan strain wistar tersebut. Lesi aterosklerosis yang terjadi pada enam sampel aorta torasika kelompok yang diberi diet aterogenik menunjukkan gambaran berupa makrofag, sel busa, akumulasi lipid intrasel otot polos, akumulasi lipid ekstrasel otot polos dan sampai pada tahap defek permukaan. Lesi aterosklerosis tersebut bisa terbentuk karena pemberian vitamin D<sub>3</sub> dan diet aterogenik yang dilakukan. Diet aterogenik yang mengandung kolestrol dan lemak jenuh yang tinggi dapat meningkatkan kadar LDL.

Diet tinggi lemak dapat menimbulkan stres oksidatif terhadap endotel melalui mekanisme pembentukan kondisi dislipidemia, dengan kandungan profil lipid (kolesterol total, LDL, VLDL dan TG) yang tinggi dan kandungan HDL yang rendah. Stress oksidatif akan menyebabkan terjadinya disfungsi

endotel dan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan akan mengoksidasi LDL ekstraseluler (Kumar, 2012).

## H. Hiperlipidemia

Hiperlipidemia didefinisikan sebagai meningkatnya kadar trigliserida, lowdensity lipoprotein kolesterol dan kolesterol total, serta menurunnya *high density lipoprotein-cholesterol* (Nelson, RH. 2013). LDL menjadi mudah teroksidasi menjadi peroksida lipid dikarenakan konsentrasi LDL serta komponen asam lemak tidak jenuh ganda yang berada di dalam ester lipid dan kolesterol yang tinggi. Peroksidasi lipid sebagai produk reaksi oksidasi Spesies Oksigen Reaktif (ROS) dengan asam lemak tak jenuh ganda (Muchtadi D. 2013). Radikal bebas yang meningkat pada kasus hiperlipidemia akan mempengaruhi meningkatnya produk peroksidasi lipid sehingga tubuh akan jatuh pada keadaan stres oksidatif (Yang RL, Shi YHS, Li W, Le GW. 2008). Peningkatan ROS mengakibatkan terjadinya kerusakan protein pada sel yang mengganggu aktivitas enzim, asam nukleat akan mengakibatkan terjadinya kerusakan DNA dan mutasi sel, serta lipid yang mengakibatkan terjadinya proses peroksidasi lipid pada membran plasma. Penyakit-penyakit degeneratif seperti kerusakan hati dan aterosklerosis dapat timbul setelah diawali dari kerusakan sel akibat adanya SOR (Packer L, Weber SU. 2001).

Stres oksidatif yang berlangsung pada kasus hiperlipidemia menunjukkan adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas, SOR dan antioksidan pada tubuh makhluk hidup. Peroksidasi lipid dalam asam lemak tak jenuh ganda akan membentuk senyawa *malondialdehid* (MDA) yang bersifat toksik (Yang TC, 2014). MDA terjadi pada membran plasma, dalam jaringan dan pada organ tubuh misalnya hati. Peningkatan di hati akan mengakibatkan terjadinya kerusakan sel hati dan akan memasuki pembuluh darah serta berkontak dengan endotel sehingga dapat menyebabkan kerusakan organ atau jaringan yang lainnya (Haggag MESY, 2014).

## I. Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penyakit yang banyak mendapat perhatian dikarenakan sebagian besar bersifat asimtomatis. Proses aterosklerosis

dimulai sejak anak-anak dan perkembangan *fatty streak* tetap berlangsung. Lesi aterosklerotik di orta bayi berkembang setelah umur 8-18 tahun, menjadi lesi bentuk lanjut pada umur 25 tahun, dan biasanya manifestasi klinik penyakit akan muncul pada umur 50-60 tahun, yang disebabkan karena terjadinya disrupsi plak (Orford, JL and Selwyn AP, 2005). Disrupsi plak aterosklerotik dalam arteri koronari disebabkan oleh erosi dan ruptur plak memegang peran dalam perkembangan *artery coronary syndrome* (ACS). *Artery coronary syndrome* secara klinis tidak terdeteksi, sampai timbulnya stenosis atau thrombosis, terjadinya gangguan aliran darah dan iskemia miokardial. Secara klinis nampak sebagai *angina pectoris*, *acute myocardial infarction* dan *sudden cardiac death* (Worthley SG, 2001).

Hiperkolesterolemia terjadi karena jumlah kolesterol darah melebihi batas normalnya. Hiperkolesterolemia merupakan hasil dari meningkatnya produksi dan meningkatnya penggunaan LDL (*Low Density Lipoprotein*). Hiperkolesterol familial dapat disebabkan karena konsumsi kolesterol tinggi, terutama fraksi LDL adalah faktor terpenting terbentuknya aterosklerosis. Para ahli gizi menyatakan bahwa diet tinggi lemak dapat meningkatkan level kolesterol darah. Beberapa peneliti menerapkan prinsip tersebut untuk mendapatkan hewan coba yang hiperkolesterolemia (Sherer Y and Schoenfeld Y, 2001).

Hiperkolesterolemia menempati posisi penting sebagai penyebab terjadinya aterosklerosis. Penelitian tentang hewan coba untuk aterosklerosis pernah dilakukan oleh Murwani tahun 2006 menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar dengan lama pemberian 8 minggu dengan memberikan pakan tinggi lipid berupa kolesterol 2%, minyak babi 5%, dan asam kolat 0,2% sehingga terjadi kondisi hiperkolesterolemia dan terbentuknya sel busa sebagai proses awal terjadinya aterosklerosis.

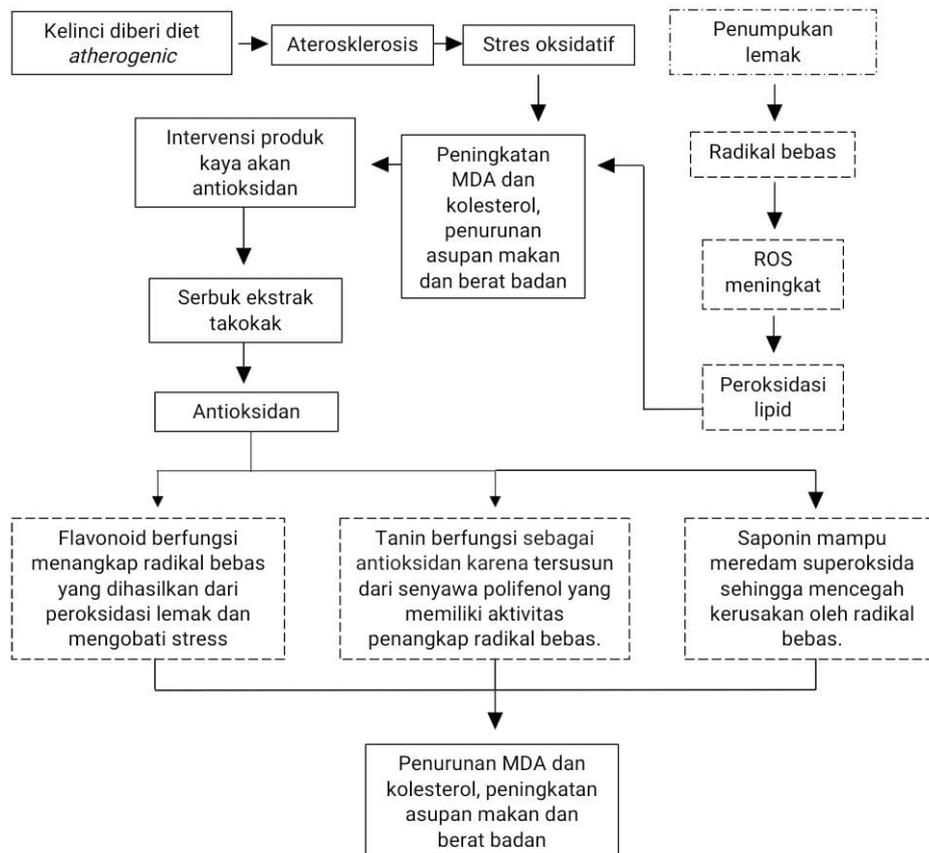
#### **J. Hubungan MDA (*Malondialdehyde*) dengan Atherosklerosis**

Peningkatan konsentrasi MDA plasma terjadi melalui oksidasi LDL akibat keadaan hiperkolesterolemia yang ditimbulkan pada pemberian diet tinggi kolesterol. Diet tinggi lemak meningkatkan kadar trigliserida darah, menurunkan kadar tiol dan meningkatkan peroksidasi lipid (Wilson & Adams, 2007). Proses oksidasi disebabkan serangan radikal bebas dengan menarik

atom hidrogen dari salah satu PUFA yang terikat pada LDL. Pembentukan radikal hidroksil dari hydrogen peroksida, yang diperantarai oleh Fe<sup>2+</sup> dapat mencetuskan reaksi berantai, akhirnya terjadi degradasi lemak dan terbentuk berbagai produk seperti MDA, etana dan pentana. MDA muncul di dalam darah maupun urin dan digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas (Widowati, 2007).

Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa radikal bebas berperan dalam terjadinya aterosklerosis. Kolesterol diangkut di dalam lipoprotein pada plasma, dan proporsi terbesar kolesterol terdapat di dalam LDL (Murray et al. 2003). Lipid yang terdapat pada lipoprotein LDL rentan terhadap radikal bebas. LDL yang telah teroksidasi difagositosis oleh makrofag membentuk sel busa. Sel busa merupakan tanda awal dari aterosklerosis (Murray et al. 2003; Sargowo 1997).

### K. Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

Hewan uji coba kelinci diberi diet *atherogenic* mengalami aterosklerosis sehingga terjadi stress oksidatif (ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan). Meningkatnya radikal bebas dapat menimbulkan peroksidasi lipid secara langsung sehingga menyebabkan peningkatan kadar MDA, peningkatan kadar kolesterol, penurunan asupan makan dan penurunan berat badan. Faktor yang dapat menyebabkan kadar MDA meningkat adalah penumpukan lemak.

Keadaan kadar MDA yang meningkat dapat dilakukan dengan cara alternatif adalah salah satunya pemberian minuman antioksidan dengan bahan dasar yang relatif murah yaitu dengan pemberian serbuk ekstrak takokak. Senyawa antioksidan yang terdapat di takokak yaitu flavonoid yang berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dan mengobati stress oksidatif, tanin yang berfungsi sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas, serta saponin yang berfungsi sebagai pencegah kerusakan oleh radikal bebas. Sehingga ketiga senyawa tersebut dapat menurunkan kadar MDA, menurunkan kadar kolesterol, meningkatkan asupan makan dan meningkatkan berat badan.

#### **L. Hipotesis Penelitian**

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak takokak (*Solanum torvum Swartz*) terhadap asupan makan pada kelinci dengan diet *atherogenic*.
2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak takokak (*Solanum torvum Swartz*) terhadap berat badan pada kelinci dengan diet *atherogenic*.
3. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak takokak (*Solanum torvum Swartz*) terhadap kadar MDA (*Malondialdehid*) pada kelinci dengan diet *atherogenic*.
4. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak takokak (*Solanum torvum Swartz*) terhadap kadar kolesterol pada kelinci dengan diet *atherogenic*.