

ANTIOKSIDAN: MEKANISME KERJA DAN FUNGSINYA DALAM TUBUH MANUSIA

Antioxidants: Mechanism of Action and Its Function in Human Body

Hendra Wijaya dan Lukman Junaidi

Balai Besar Industri Agro (BBIA)
Jl. Ir. H. Juanda No. 11, Bogor 16122

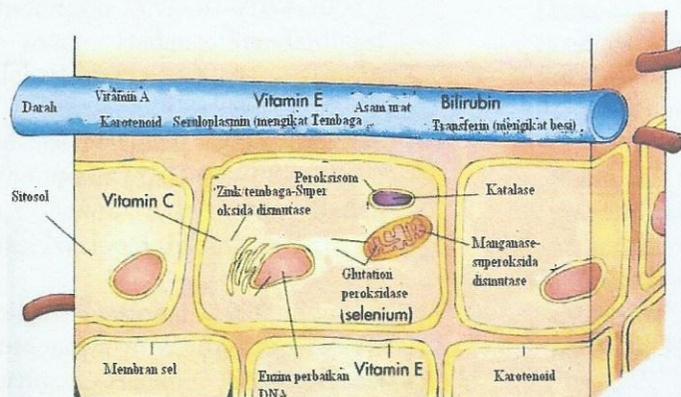
ABSTRACT: Antioxidant could be defined by several means. Antioxidant is a substance that could postpone and delay oxidation of molecule substrate in human body, i.e: protein, carbohydrate, lipid and DNA, by oxidant. Antioxidant that works in the human body's biological systems is called a biological antioxidant. Biological antioxidants can be grouped into: 1) enzymatic antioxidants (endogenous), 2) non-enzymatic antioxidants (endogenous), and 3) antioxidants from food (exogenous). Enzymatic antioxidants (endogenous) include superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutaredoxin, tioredoxin, peroksiredoxin, and coenzyme Q10. Non-enzymatic antioxidants (endogenous) include glutathione, uric acid, bilirubin, α -lipoic acid. Some examples of antioxidants from food (exogenous) are carotenoids, vitamin E and vitamin C. Those antioxidants are able to work in hydrophobic and hydrophilic cellular environment so as to form a strong network of cooperation in preventing the occurrence of oxidative damage. Some of the functions of antioxidants in the human body that can be expressed are: preventive defense the human body against oxidants, strong defense system against free radicals, prevent the occurrence of atherosclerosis in blood vessels, regulation of metabolism such as disabling lipoxigenase.

Keywords: biological antioxidant, endogenous antioxidants, enzymatic antioxidants, non-enzymatic antioxidants exogenous antioxidants

PENDAHULUAN

Antioksidan didefinisikan dengan berbagai cara dan arti. Dalam konteks tulisan ini antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda dan memperlambat oksidasi substrat yaitu molekul didalam tubuh manusia, seperti: protein, karbohidrat, lemak dan DNA, oleh oksidan (Powers dan Jackson, 2008). Oksidan adalah senyawa yang dapat mengoksidasi senyawa lain seperti ROS (*reactive oxygen spesies*) dan RNS (*reactive nitrogen spesies*). ROS terdiri

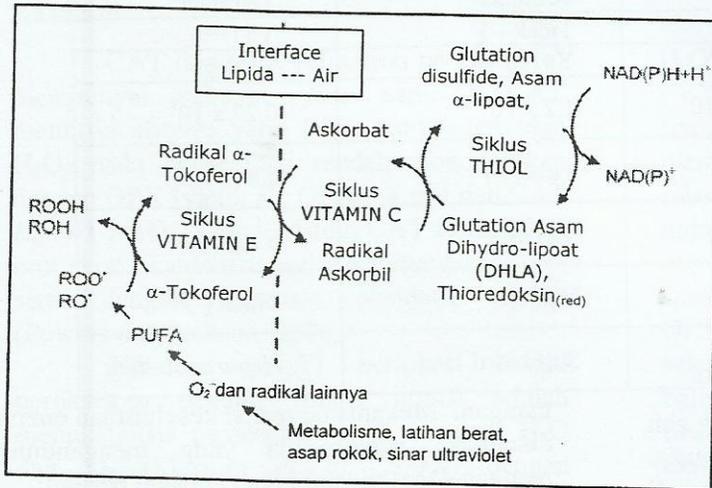
dari senyawa radikal seperti superoksida, hidroksil, peroksil, alkoksil, dan hidroperoksil dan senyawa non radikal seperti hidrogen peroksida, asam hipoklorous, oksigen singlet, dan ozon. RNS terdiri dari nitrit oksida dan peroksi nitril (Sen *et al*, 2000). Antioksidan yang dapat bekerja di dalam sistem biologis tubuh manusia disebut antioksidan biologis. Hubungan sistem pertahanan preventif tubuh manusia oleh antioksidan dalam melawan oksidan pada berbagai lokasi didalam sel dan jaringan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sistem pertahanan preventif dalam tubuh manusia (Sumber: Muchtadi, 2009).

Pengelompokan antioksidan biologis juga bermacam-macam. Pada tulisan ini antioksidan biologis dikelompokkan menjadi: (1) antioksidan enzimatis (endogen), (2) antioksidan nonenzimatis (endogen), dan (3) antioksidan dari makanan (eksogen). Antioksidan endogen adalah antioksidan yang

berasal atau disintesis di dalam tubuh sedangkan antioksidan eksogen adalah antioksidan yang berasal dari luar tubuh atau dari makanan dan minuman. Konsep jaringan kerjasama antioksidan di dalam tubuh, baik yang enzimatis, non-enzimatis maupun dari makanan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Konsep jaringan kerja antioksidan biologis (Packer, 2002)

Sistem antioksidan bekerja di lingkungan hidrofobik dan lingkungan hidrofilik. Antioksidan saling berinteraksi dengan cara meregenerasi radikal antioksidan yang terbentuk setelah menetralkan oksidan sehingga aktif kembali. Siklus ini menghasilkan sistem pertahanan yang kuat melawan radikal bebas atau senyawa oksidan lainnya (Packer, 2002). Pada tulisan ini akan ditelaah mengenai masing-masing antioksidan yang bekerja dalam sistem biologis tubuh manusia, yang bertujuan untuk lebih memahami peranan antioksidan tersebut.

ANTIOKSIDAN ENZIMATIS

Superoksida Dismutase

Superoksida dismutase (SOD) ditemukan pada tahun 1969 oleh McCord dan Fridovich (McCord dan Fridovich, 1969). SOD merupakan pertahanan pertama melawan radikal superoksida membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Oleh

karena itu, semakin banyak SOD di dalam tubuh, semakin optimal pertahanan terhadap radikal bebas di seluruh sel dan organ tubuh, sehingga radikal bebas pun terkendali.

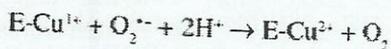
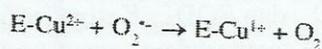
Pada mamalia, ada tiga isoform SOD yaitu SOD_1 , SOD_2 , dan SOD_3 . Ketiga isoform tersebut semuanya memerlukan logam transisi aktif dalam sisi aktifnya untuk aktivitas katalitiknya. Dua dari isoform SOD terletak dalam sel sedangkan isoform SOD ketiga ditemukan di ruang ekstraseluler (Suzuki *et al*, 2000).

SOD_1 membutuhkan tembaga-seng sebagai kofaktor dan terutama terletak di sitosol dan ruang antar membran mitokondria. SOD_2 menggunakan mangan sebagai kofaktor dan terletak dalam matriks mitokondria. Sedangkan SOD_3 membutuhkan tembaga-seng sebagai kofaktor dan terletak di ruang ekstraseluler. Ringkasan sifat isoenzim SOD manusia ditunjukkan dalam Tabel 1 (Powers dan Jackson, 2008).

Tabel 1. Sifat dan karakterisasi enzim SOD

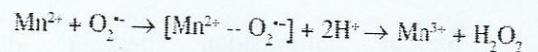
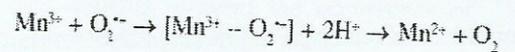
No	Sifat	SOD ₁	SOD ₂	SOD ₃
1	Lokasi	Sitosol dan mitokondria	Matriks mitokondria Ruang antar membrane	Ekstraselular
2	Logam/monomer	1 Cu, 1 Zn	1 Mn	1 Cu, 1 Zn
3	Massa molekul (kDa)	32,5	24,7	30
4	Sub unit	Dimer	Tetramer	Tetramer
5	Inhibisi oleh CN ⁻	Ya (+)	Tidak (-)	Ya (++)
6	Inhibisi oleh H ₂ O ₂	Ya (+)	Ya (+)	Ya (+)
7	Konstanta kecepatan reaksi dengan O ₂ ⁻	0,26 x 10 ⁹	1,2 x 10 ⁹	0,27 x 10 ⁹
8	Inhibisi oleh dietilditiokarbamat	Ya (+)	Tidak (-)	Ya (++)
9	Inhibisi oleh 2% sodiumdodesilsulfat	Tidak (-)	Ya (+)	Ya (++)
10	Inhibisi oleh kloroform/etanol	Tidak (-)	Ya (+)	Tidak (-)
11	Heterogenitas	Glikasi, sulfhidril	Sulfhidril	Heparin binding

Protein CuZnSOD dikodekan oleh gen SOD₁ yang berlokasi pada kromosom manusia. Enzim ini sebagian besar berlokasi di sitoplasma, tetapi pada kondisi tertentu ditemukan juga dalam inti sel dan lisosom. Pada lokasi ini, enzim memungkinkan melindungi protein, lipid dan DNA dari oksidasi dan regulator intraselular. Mekanisme reaksi enzim dismutase superoksida yang mengandung tembaga dapat digambarkan sebagai berikut:



Protein SOD₂ adalah SOD yang mengandung mangan (MnSOD). Enzim ini berbentuk homotetramer, dengan 4 sisi aktif yang setiap sisi aktifnya mengandung atom mangan yang merupakan pusat katalitik protein. Protein tetramik membentuk *channel* untuk superoksida masuk dan bereaksi dengan

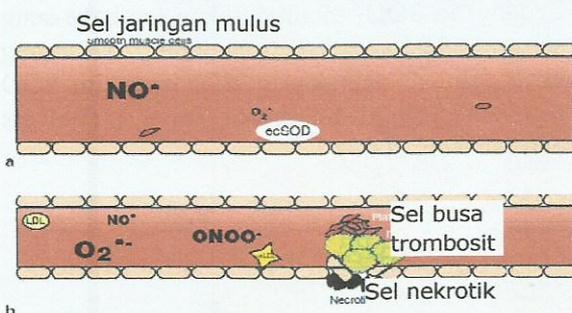
mangan. Mekanisme reaksi keseluruhan enzim dismutase superoksida yang mengandung mangan dapat digambarkan sebagai berikut:



Meskipun radikal superoksida tidak terlalu toksik, tetapi radikal superoksida dapat menghasilkan elektron dari membran sel atau komponen seluler lainnya, sehingga memicu reaksi radikal berantai. Radikal superoksida bersifat toksik karena kemampuannya membentuk radikal hidroksil dan bereaksi dengan NO membentuk radikal peroksinitril (ONOO⁻). Radikal peroksinitril berperan dalam pembentukan sel busa (*foam cell*) yang dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis. Oleh karena itu, penting bagi sel untuk menjaga keseimbangan radikal superoksida (Fridovich, 1995).

Gambar 3. Mekanisme ecSOD mencegah terjadinya aterosklerosis didalam pembuluh darah (Fridovich, 1995)

- Pembuluh darah normal karena ecSOD menjaga agar konsentrasi superoksida rendah
- Rendahnya aktivitas ecSOD menyebabkan terjadinya aterosklerosis melalui pembentukan sel busa



Pada Gambar 3. ditunjukkan peranan SOD di endotelium dalam mencegah

terjadinya aterosklerosis pada pembuluh darah. Bukti langsung untuk mendukung gagasan ini diilustrasikan oleh fakta bahwa mutagenesis dari SOD₁ pada manusia mendorong apoptosis neuron spinal yang mengakibatkan *amyotrophic lateral sclerosis* (Fridovich, 1995).

Katalase

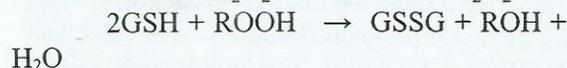
CAT dan GPX (glutation peroksidase) mempunyai substrat yang sama. CAT memiliki afinitas yang lebih rendah terhadap H₂O₂ pada konsentrasi rendah dibandingkan dengan GPX (yaitu, K_m GPX = 1 μ M dan CAT K_m = 1 mM). Level protein CAT tertinggi di otot serat oksidatif tinggi dan terendah di otot serat dengan kapasitas oksidatif rendah (Powers dan Jackson, 2008).

Katalase (CAT) berlokasi dalam peroksisom dengan fungsi utama adalah mengkatalisis pemecahan H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ (Maritim *et al*, 2003), dengan mekanisme reaksi: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$. Katalase adalah homotetramer dengan massa molekul 240 kDa dan secara luas terdistribusi di dalam sel. Besi merupakan kofaktor yang diperlukan pada sisi aktif enzim Katalase.

Glutation peroksidase

Analisis selenoproteomik telah mengidentifikasi tujuh glutation peroksidase (GPX) yaitu GPX1-GPX7. Semua enzim GPX mengkatalisis reduksi H₂O₂ atau hidroperoksida organik (ROOH) menjadi air (H₂O) dan alkohol (ROH), masing-masing dengan menggunakan glutation tereduksi (GSH) atau dalam beberapa kasus

menggunakan glutaredoksin dan thioiredoksin sebagai donor elektron (Callahan *et al*, 2001). Ketika GSH bertindak sebagai donor elektron, ia menyumbangkan sepasang ion hidrogen dan GSH teroksidasi menjadi glutation disulfida (GSSG) dengan mekanisme reaksi sebagai berikut:



Meskipun reaksi yang dikatalisis oleh semua GPX adalah sama, GPX secara individu mempunyai perbedaan dalam spesifisitas substrat (misalnya berbagai kisaran hidroperoksida) dan lokalisasi seluler (sitosol dan mitokondria). Berdasarkan variasi spesifisitas substrat dan lokasi seluler isoform GPX, tampaknya GPX mengoptimalkan fungsi sebagai enzim antioksidan seluler. Fakta bahwa banyak isoenzim GPX dapat mengurangi berbagai hidroperoksida mulai dari H₂O₂ menjadi kompleks hidroperoksida organik membuat GPX sebagai antioksidan intraselular yang penting dalam melindungi membran lipid, protein, dan asam nukleat terhadap kerusakan yang dimediasi oleh ROS. Selain itu, meskipun semua isoenzim GPX adalah peroksidase efisien, berbagai isoform GPX juga dapat menggunakan berbagai peran spesifik dalam pengaturan metabolisme seperti menonaktifkan lipoksigenase (Brigelius-Flohe, 1999). Masella dan Mazza (2009) menjelaskan karakteristik fisik dan lokasi jaringan GPX1-GPX7 pada manusia seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Fisik dan lokasi jaringan dari beberapa GPX pada manusia

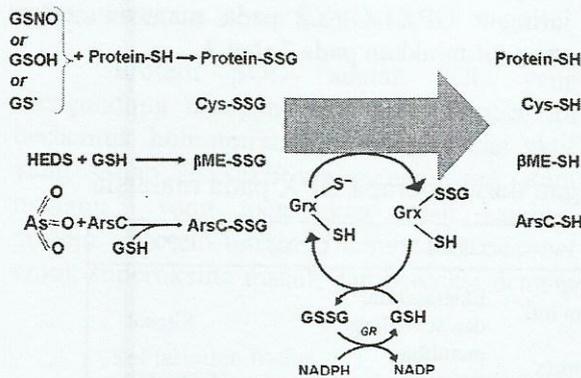
No.	Sifat	GPX ₁	GPX ₂	GPX ₃	GPX ₄	GPX ₅	GPX ₆	GPX ₇
1	Lokasi selular	Sitosol dan mitokondria	Sitosol	Ruang ekstraselular dan sitosol	sekeliling membran inti dan mitokondria	Ekstraselular dan sekeliling membran	-	Sitosol
2	Subunit	Tetramerik	Tetramerik	Tetramerik	Momomerik	Dimerik	-	-
3	Massa molekul (kDa)	21	22	22,5	19	24	-	-
4	Lokasi di jaringan	Semua jaringan	Lambung dan usus	Semua jaringan	Testes, spermatoz, jantung dan otak	Epidermis, spermatozoa, hati dan ginjal	<i>Olfactory epithelium</i>	<i>Mammary</i>

Untuk dapat berfungsi dengan baik, isoform GPX sangat membutuhkan pasokan elektron dari GSH. Ketika GSH dioksidasi oleh GPX membentuk GSSG, sel harus memiliki jalur yang mampu meregenerasi GSH. Reduksi GSSG kembali ke GSH dapat dilakukan oleh glutathion reduktase dan NADPH. Banyak jaringan menghasilkan NADPH oleh glukosa-6-fosfat dehidrogenase melalui jalur pentosa tetapi otot rangka menghasilkan NADPH terutama melalui isositrat dehidrogenase (Lawler dan Demaree, 2001).

Glutaredoxin

Kelompok enzim glutaredoxin (GRX) disebut juga *thioltransferase* sesuai dengan reaksi yang dikatalisnya. Reaksi yang dikatalisis oleh enzim GRX diantaranya adalah reduksi protein-SSG dan Cys-SSG melalui *thiol-disulfide exchange* (transfer thiol) yang masing-masing akan menghasilkan Protein-SH dan Cys-SH. Pada Gambar 4 ditunjukkan mekanisme reaksi antioksidan glutaredoxin. Pembentukan protein-SSG merupakan respon keseimbangan atau homeostatik dibawah kondisi stress oksidatif untuk mencegah oksidasi *irreversibel* residu protein (Masella dan Mazza, 2009).

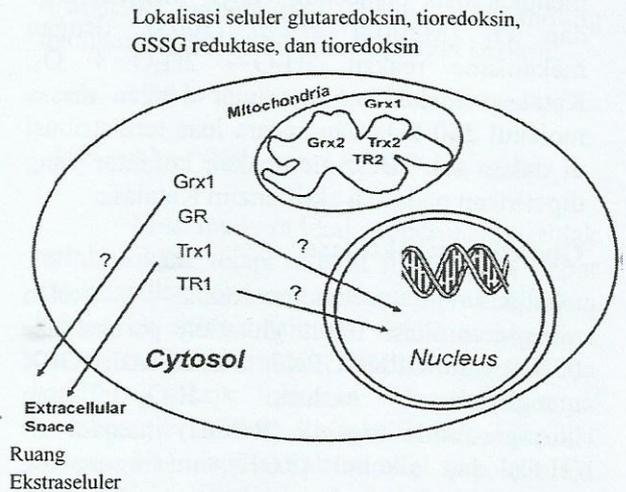
Reaksi Pertukaran Thiol disulfide yang dikatalisis oleh glutaredoxin



Gambar 4. Mekanisme reaksi antioksidan glutaredoxin (Masella dan Mazza, 2009)

Terdapat dua bentuk GRX yang telah dikarakterisasi di dalam mamalia yaitu GRX₁ dan GRX₂. Disamping itu terdapat lima bentuk GRX (GRX₁₋₅) yang telah diidentifikasi

dalam *Escherichia coli* dan kapang, serta bentuk gen GRX₅ juga telah diidentifikasi pada mamalia. GRX₁ ditemukan pertama kali dalam mutan *E. coli*. GRX₁ mempunyai motif CXXC pada sisi aktifnya dengan spesifik sekuens CPYC. Isoform GRX₁ adalah isoform yang telah dikarakterisasi dengan baik dalam mamalia, yang terdapat dalam jumlah mikromolar dalam sel mamalia. GRX₁ terutama berlokasi di sitosol dan baru-baru ini juga ditemukan ada di ruang inter-membran mitokondria. Namun fungsi spesifik GRX₁ dalam mitokondria belum diketahui. Keberadaan GRX₁ dalam inti sel juga telah diketahui terutama dalam inti sel sapi. Pada Gambar 5 ditunjukkan lokasi glutaredoxin (GRX), tioredoksin, GSSG reduktase, dan tioredoksin reduktase dalam sel (Masella dan Mazza, 2009).



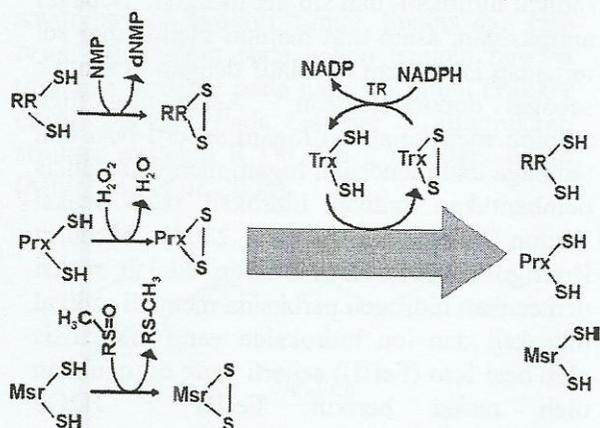
Gambar 5. Lokasi glutaredoxin, tioredoksin, GSSG reduktase dan tioredoksin reduktase dalam sel (Masella dan Mazza, 2009)

Glutaredoxin GRX₂ mengandung 164 asam amino dengan bobot molekul 18 kDa. GRX₂ menampilkan hanya 30% sekuens homolog dengan GRX₁. Diantara perbedaan dalam sekuens asam amino adalah perubahan pada motif sisi aktif dari CPYC ke CSYC. Dua klon GRX₂ pada manusia telah ditemukan yaitu GRX_{2a} dan GRX_{2b} karena dengan jelas berbeda pada sekuens N-terminal (Masella dan Mazza, 2009).

Tioredoxin

Sistem antioksidan tioredoksin terdiri dari tioredoksin (TRX) dan tioredoksin reduktase (TR). Massa molekul TRX mamalia adalah 12 kDa yang mempunyai sisi ditiol aktif dan sel mengandung dua sistem TRX yaitu sistem sitosol (TRX_1) dan mitokondria (TRX_2). TRX adalah disulfida reduktase yang bertanggung jawab untuk memelihara sel dalam keadaan tereduksi. TRX yang telah teroksidasi akan diregenerasi kembali dengan pemberian elektron dari NADPH melalui tioredoksin reduktase (TR). Pada Gambar 6 ditunjukkan mekanisme antioksidan tioredoksin (Masella dan Mazza, 2009). Tioredoksin reduktase (TR) adalah enzim yang mengandung selenium sehingga aktivitasnya dapat dipengaruhi oleh jumlah selenium dalam makanan yang dikonsumsi (Muchtadi, 2009).

Reaksi Pertukaran Thiol disulfide yang dikatalisis oleh glutaredoksin



Gambar 6. Mekanisme antioksidan tioredoksin (Masella dan Mazza, 2009)

Seiring dengan pencegahan oksidasi protein, banyak fungsi-fungsi fisiologis lain dari TRX yang telah diuraikan, termasuk pengurangan faktor transkripsi, perlindungan terhadap stres oksidatif, dan pengendalian apoptosis. Selain itu, tioredoksin reduktase juga memberikan kontribusi sebagai enzim antioksidan dengan mengurangi hidroperoksida dan berfungsi sebagai *dehydroascorbate reduktase* yang tergantung pada NADPH untuk mendaur ulang vitamin C (Powers dan Jackson, 2008).

Peroksiredoksin

Peroksiredoksin (PRX) ditemukan pada tahun 1988 dan merupakan peroksidase

baru yang mampu mengurangi hidroperoksida dan peroksinitrat dengan menggunakan elektron yang disediakan oleh tiol fisiologis, yang merupakan bentuk tiol yang sesuai dengan fungsi dan kebutuhan tubuh, seperti TRX. Sel mamalia mengekspresikan enam isoform PRX yaitu PRX I-VI, yang didistribusikan secara diferensial dalam sel. PRX I, II, dan VI ditemukan di sitosol, PRX III terletak di mitokondria, PRX IV terletak di ruang ekstraseluler dan PRX V terletak di mitokondria dan peroksisom. Efisiensi molar PRX umumnya lebih kecil daripada GPX atau CAT (Powers dan Jackson, 2008).

Koenzim Q₁₀

Antioksidan Koenzim Q₁₀ (*ubiquinone*) yang terletak pada membran sel, disintesis dalam sel dan sangat penting dalam transpor elektron mitokondria. Kapasitas antioksidannya ditunjukkan oleh kemampuannya membentuk koenzim Q₁₀ tereduksi (QH₂) (Portakal *et al*, 2000). Secara *in vitro* koenzim Q₁₀ dapat berfungsi sebagai antioksidan non-enzimatik melalui pembersihan radikal RO₂⁻ dan menghambat peroksidasi lipida. Namun demikian, kontribusi dari koenzim Q₁₀ untuk pertahanan antioksidan *in vivo* masih belum jelas. Meskipun beberapa studi telah meneliti efek suplemen koenzim Q₁₀ pada fungsi otot rangka namun dampaknya relatif masih belum diketahui (Powers dan Jackson, 2008).

ANTIOKSIDAN NONENZIMATIS

Glutation

Salah satu antioksidan nonenzimatik yang paling penting dalam tubuh adalah glutathion (GSH). Glutation adalah tripeptida (glutamat-sistein-glisin) dan merupakan tiol non-protein paling melimpah dalam sel. Antioksidan ini terutama disintesis di hati dan diangkut ke jaringan melalui sirkulasi darah. Sintesis GSH dari asam amino terjadi melalui dua tahap reaksi yang dikatalis oleh glutamat sistein ligase dan *glutamate sintase*. Setiap reaksi sintesis GSH membutuhkan energi berupa ATP (Masella dan Mazza, 2009).

Konsentrasi glutathion dalam sel berada dalam kisaran milimolar di sebagian besar jaringan. Kandungan GSH bervariasi tergantung pada fungsi organ tubuh. Sebagai

contoh, jaringan dengan paparan tinggi oksidan (misalnya, lensa mata dan hati) mengandung tingkat GSH yang tinggi. Demikian juga konsentrasi GSH ditemukan di serat otot rangka bervariasi tergantung dari jenis serat otot rangka. Serat otot rangka tipe I pada tikus mengandung GSH 2-3 mM, lebih tinggi 400-600% dibandingkan dengan serat tipe IIb yang mengandung GSH \pm 0,5 mM (Masella dan Mazza, 2009).

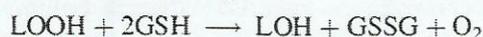
Terdapat dua peran GSH sebagai antioksidan yaitu: (1) GSH langsung dapat bereaksi dengan berbagai radikal dengan mendonorkan sebuah atom hidrogen, dan (2) GSH sebagai substrat untuk GPX dalam upaya menghilangkan H_2O_2 dan hidroperoksida. Dalam reaksi ini, GSH akan teroksidasi menjadi glutathion disulfida (GSSG) seperti reaksi berikut:

Glutathione peroxidase



Menurut Masella dan Mazza (2009), GSH juga terlibat dalam menetralkan produk peroksidasi lipid, lipid hidroperoksida (LOOH) dan 4-hydroxynonenal (HNE) yang diperoleh dari oksidasi fosfolipid dan asam lemak. Netralisasi dilakukan oleh GSH dengan bantuan GPX atau GST (glutathion transferase) seperti reaksi berikut:

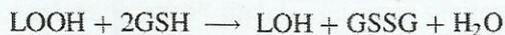
Glutathione peroxidase



Glutathione transferase

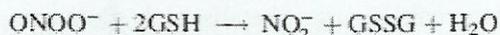


Glutathione transferase A1



Lebih lanjut Masella dan Mazza (2009) menyebutkan bahwa GSH juga penting dalam perlindungan terhadap serangan RNS, seperti reaksi dengan peroksinitril berikut:

Glutathione peroxidase



Selain itu, GSH juga terlibat dalam mengurangi radikal antioksidan lain dalam sel termasuk vitamin E dan C. Dalam hal ini GSH menunjukkan kemampuannya mengurangi radikal vitamin E yang dibentuk dalam reaksi

pemutusan dengan radikal alkoksil atau peroksil lemak. Demikian pula, GSH dapat mengurangi radikal *semidehydroascorbate* (radikal vitamin C) yang berasal dari daur ulang vitamin E (Powers dan Jackson, 2008).

Asam urat

Asam urat selama ini dikenal sebagai senyawa yang dapat menyebabkan nyeri pada otot dan persendian. Fakta lain menyebutkan bahwa asam urat dapat bertindak sebagai antioksidan. Asam urat adalah produk samping dari metabolisme purin pada manusia dan primata lainnya. Peran antioksidan asam urat pertama kali dilaporkan pada tahun 1960 dan bukti tambahan sebagai sifat antioksidan diperkuat pada tahun 1980 dengan percobaan menunjukkan bahwa asam urat adalah pembersih (*scavenger*) kuat radikal peroksil, radikal hidroksil, dan singlet oksigen. Sebagai antioksidan, asam urat mampu melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif dengan bertindak sebagai donor elektron. Asam urat juga mampu mengkelat ion logam seperti besi dan tembaga dan mencegah logam mengkatalisis pembentukan radikal hidroksil pada reaksi Fenton (Powers dan Jackson, 2008). Menurut Rodrigo (2010) reaksi Fenton adalah reaksi pemecahan hidrogen peroksida menjadi radikal hidroksil dan ion hidroksida yang dikatalisis oleh besi ferro (Fe(II)) seperti yang ditunjukkan oleh reaksi berikut: $Fe(II) + H_2O_2 \rightarrow Fe(III) + \cdot OH + ^-OH$

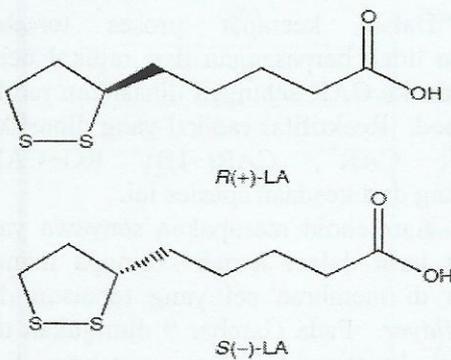
Ihara *et al* (2004) melaporkan urutan kapasitas antioksidan asam askorbat, bilirubin, alfa-tokoferol, dan asam urat dengan menggunakan metode 2,20-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline 6-sulphonate) dari yang paling besar adalah: asam askorbat, asam urat, bilirubin dan alfa-tokoferol. Penelitian lain tentang asam urat menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi asam urat dalam darah berhubungan dengan peningkatan kapasitas antioksidan plasma dan mencegah terjadinya aterosklerosis (Nieto *et al*, 2000). Chaudhari *et al* (2010) melaporkan bahwa di dalam plasma, asam urat, vitamin C, dan albumin memberikan kontribusi 85% terhadap kapasitas antioksidan plasma, dan asam urat merupakan kontributor utama dalam *total radical trapping capacity* (TRAP) yaitu sebesar 38 - 47%,

dibandingkan vitamin C dan vitamin E adalah masing-masing 13-17% dan 2-8%.

Asam urat terdapat pada plasma dalam jumlah yang relatif besar. Keuntungan lain dari asam urat adalah radikal asam urat (UH_2) yang dihasilkan setelah bereaksi dengan radikal reaktif, merupakan radikal yang bersifat tidak aktif dan tidak bereaksi dengan oksigen untuk menghasilkan radikal lain.

Asam α -lipoat

Selama 15 tahun terakhir, asam α -lipoat telah mendapat banyak perhatian sebagai antioksidan seluler. Asam α -lipoat adalah senyawa yang terjadi secara alami dan dapat diperoleh dari berbagai jenis makanan (Powers dan Jackson, 2008). Contoh bahan pangan nabati yang mengandung lipolisin (asam α -lipoat yang terikat dengan asam amino lisin) dari kandungan tertinggi ke terendah adalah sayur bayam, brokoli, tomat, buncis dan *rice bran*. Sedangkan pada bahan pangan hewani terutama terdapat pada hati dan ginjal (Packer *et al*, 2001). Pada Gambar 7 ditunjukkan struktur molekul R (+) dan S (-) asam lipoat (Mulchand *et al*, 2008).



Gambar 7. Struktur molekul R (+) dan S (-) asam lipoat (Mulchand *et al*, 2008)

Sifat fungsional asam α -lipoat adalah kofaktor bagi kompleks α -dehidrogenase dan berperan dalam reaksi transfer sulfur-oksigen (S-O). Reaksi transfer S-O merupakan reaksi transfer gugus asetil yang terikat pada S di senyawa dihidrolipoamida kepada koenzim A yang dikatalisis oleh enzim *dihydrolipoamide acetyltransferase* (Mulchand *et al*, 2008). Biasanya asam α -lipoat terdapat dalam jumlah yang sangat kecil pada jaringan hewan dan umumnya terikat pada kompleks enzim yang membatasi fungsinya sebagai antioksidan.

Namun asam α -lipoat yang tidak terikat dan dalam bentuk tereduksi (asam dihidrolipoat) dan beberapa metabolitnya merupakan antioksidan yang efektif. Selain itu banyak penelitian yang mendukung gagasan bahwa asam α -lipoat dapat memberikan efek antioksidan yang menguntungkan dalam konteks fisiologis dan dapat berperan dalam daur ulang vitamin C (Powers dan Jackson, 2008). Karakter penting dan unik asam lipoat adalah kemampuannya mereduksi radikal dalam lingkungan berair dan lingkungan lemak sehingga kemampuan antioksidannya dapat berfungsi dalam cairan ekstraseluler dan intraseluler. Asam α -lipoat juga mampu mengkelat logam, menghilangkan toksin, dan mencegah oksidasi kolestereol (Mulchand *et al*, 2008).

Bilirubin

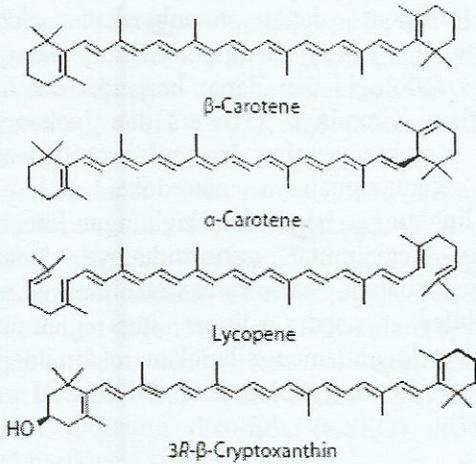
Bilirubin adalah produk akhir katabolisme hemoprotein oleh heme-oksigenase dengan memotong cincin heme membentuk biliverdin. Biliverdin kemudian direduksi oleh enzim biliverdin reduktase menjadi bilirubin. Meskipun biliverdin dan bilirubin mempunyai kemampuan mengurangi spesies oksidatif, bilirubin dianggap sebagai antioksidan fisiologis terbaik. Bilirubin memiliki potensi antioksidan yang kuat terhadap radikal peroksil dan telah ditunjukkan dalam melindungi sel terhadap serangan hidrogen peroksida. Kemampuan bilirubin sebagai antioksidan kuat merupakan hasil dari sebuah siklus amplifikasi yaitu: bilirubin bertindak sebagai antioksidan sehingga ia sendiri akan teroksidasi menjadi bentuk biliverdin dan kemudian didaur ulang kembali ke bilirubin melalui biliverdin reduktase (Powers dan Jackson, 2008).

ANTIOKSIDAN DARI MAKANAN

Karotenoid

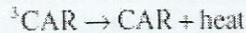
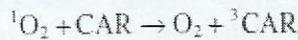
Karotenoid adalah kelompok senyawa pigmen berwarna merah, *orange* dan kuning yang berjumlah lebih dari 750 molekul di alam (Britton *et al*, 2004) dan 50 diantaranya terdapat dalam rantai makanan manusia (Khachik dan Spangler, 1997). Diantara 50 senyawa tersebut, sejauh ini hanya 24 senyawa yang terdeteksi dalam plasma darah dan jaringan manusia dan hanya 6 molekul yang

jumlahnya melimpah ditemukan dalam plasma darah normal manusia. Pada Gambar 8 ditunjukkan struktur karotenoid yang ditemukan melimpah dalam plasma.

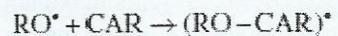
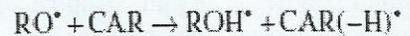
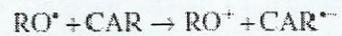
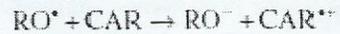


Gambar 8. Karotenoid utama yang ditemukan dalam plasma (Landrum, 2010).

Karotenoid dibagi kedalam dua kelas utama yaitu karoten dengan hidrokarbon tersiklisasi atau tanpa siklisasi dan xantofil yang mempunyai gugus hidroksil, gugus keto atau keduanya (Landrum, 2010). Karotenoid C_{40} (CARs) dan xantofil (XANs) adalah salah satu pigmen antioksidan alami utama dan sangat efektif dalam membersihkan singlet oksigen [1O_2] dan berinteraksi dengan radikal bebas. Sifat antioksidan karotenoid berasal dari susunan struktural molekulnya yang terdiri dari rantai panjang ikatan rangkap konjugasi. Pengaturan ini memungkinkan karotenoid melakukan penetralan atau pembersihan (*scavenging*) terhadap beberapa spesies radikal yang berbeda, termasuk radikal superoksida dan peroksil. Karotenoid mampu melindungi kulit, mata dan organ lain dari serangan radikal (Landrum, 2010). Proses keseluruhan *quenching* 1O_2 secara sederhana adalah merubah kelebihan energi singlet oksigen menjadi panas melalui perubahan karotenoid [CAR] menjadi keadaan triplet tereksitasi energi rendah [3CAR] dan O_2 melalui reaksi berikut:



Reaksi CAR dengan radikal bebas lebih kompleks dan lebih tergantung pada keadaan radikal [RO \cdot] daripada keadaan CAR. Reaksi tersebut berlangsung dalam empat proses diantaranya adalah:

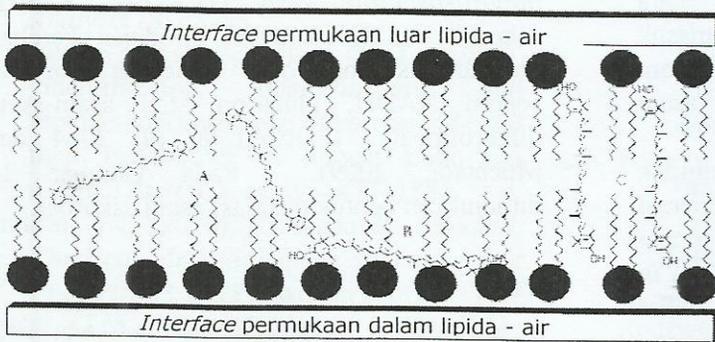


Keterangan:

1. $CAR^{+\bullet}$ dan $CAR^{-\bullet}$ adalah radikal kation dan anion dari CAR yang dihasilkan melalui transfer elektron ke dan dari radikal RO^\bullet .
2. $CAR(-H)^\bullet$ adalah radikal yang dibentuk melalui transfer atom H ke RO^\bullet .
3. $(RO-CAR)^\bullet$ adalah radikal tambahan

Dalam keempat proses tersebut, elektron tidak berpasangan dari radikal bebas ditransfer ke CAR sehingga dihasilkan radikal karotenod. Reaktifitas radikal yang dihasilkan [$CAR^{+\bullet}$, $CAR^{-\bullet}$, $CAR(-H)^\bullet$, $RO-CAR^\bullet$] tergantung dari keadaan spesies ini.

Karotenoid merupakan senyawa yang bersifat larut dalam lemak sehingga mampu bekerja di membran sel yang tersusun dari lipid *bilayer*. Pada Gambar 9 ditunjukkan tipe orientasi karotenoid dalam membran lipid *bilayer*. Setiap molekul karotenoid mempunyai orientasi yang berbeda didalam membran lipid *bilayer* tergantung struktur molekul. Kemampuan karotenoid berada dalam membran sel dan kapasitas antioksidannya menyebabkan karotenoid merupakan antioksidan biologis yang efisien terhadap peroksidasi lipid (Landrum, 2010).



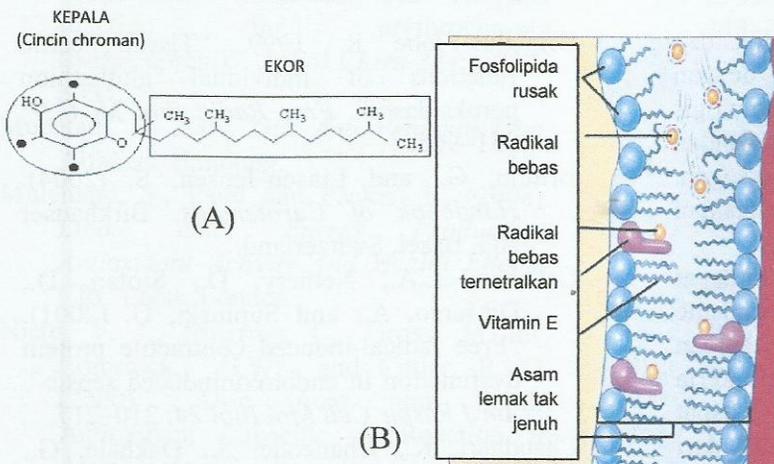
Gambar 9. Tipe orientasi karotenoid dalam membran lipid bilayer.

Keterangan: A adalah β-karoten, B adalah lutein, dan C adalah zeaxantin. (Landrum, 2010).

Vitamin E

Vitamin E adalah vitamin yang bersifat larut dalam lemak sehingga dapat berada dalam membran sel dan disimpan terutama dalam jaringan adiposa dan hati. Vitamin E mengacu kepada setidaknya delapan isomer struktural tokoferol atau tokotrienol dan α-tokoferol adalah senyawa yang paling

dikenal memiliki aktivitas antioksidan paling kuat. Berkaitan dengan aktivitas antioksidannya, vitamin E terdiri dari bagian kepala yang bersifat hidrofilik dan bagian ekor bersifat hidrofobik. Sifat ini memungkinkan vitamin E berada dalam membran sel. Pada Gambar 10 ditunjukkan posisi vitamin E dalam membran sel.



Gambar 10. Vitamin E dalam membran sel (Packer, 2002)

(A) Struktur molekul vitamin E dan (B) lokasi kerja vitamin E dalam membran sel

Bagian kepala vitamin E berada pada bagian yang berdekatan dengan fosfolipid membran sel sedangkan bagian ekor menjulur ke dalam membran sel. Posisi ini merupakan posisi yang sangat ideal dalam melawan radikal dan menghentikan reaksi berantai oksidasi lemak pada membran sel (Packer, 2002).

Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat adalah vitamin yang bersifat larut dalam air sehingga merupakan antioksidan penting bagi tubuh terutama pada lingkungan fasa cair. Nilai pKa asam askorbat adalah 4,25 sehingga dominan dalam bentuk anion askorbat pada pH fisiologis. Salah satu sifat yang membuat vitamin C sangat ideal sebagai antioksidan adalah rendahnya potensial reduksi satu elektron asam askorbat dan radikal askorbil

sehingga dapat bereaksi dengan cara mereduksi ROS dan RNS termasuk superoksida, hidroksil, singlet oksigen, ozon, nitrogen oksida, radikal nitrosida dan asam hipoklorous (Packer, 2002).

Vitamin C juga dapat bertindak sebagai ko-antioksidan dengan meregenerasi radikal α -tokoferol. Hal ini merupakan fungsi yang sangat penting karena uji coba secara *in vitro* menunjukkan bahwa α -tokoferol dapat bertindak sebagai pro-oksidan tanpa kehadiran ko-antioksidan seperti vitamin C. Sifat lain yang membuat vitamin C sebagai antioksidan ideal adalah reaktivitas yang rendah dari radikal askorbil yang dibentuk ketika asam askorbat bereaksi dengan ROS dan RNS. Radikal askorbil bukan merupakan oksidator dan reduktor yang kuat sehingga bereaksi lambat dengan oksigen. Ketika radikal reaktif berinteraksi dengan asam askorbat maka akan terbentuk radikal yang lebih tidak reaktif. Radikal askorbil dengan cepat membentuk

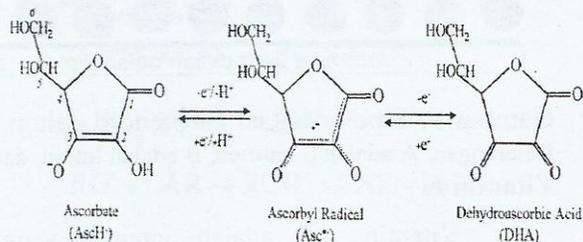
PENUTUP

Terdapat berbagai jenis antioksidan dalam tubuh manusia yang disebut dengan antioksidan biologis. Antioksidan biologis dapat dikelompokkan sebagai antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen terdiri dari antioksidan enzimatis dan antioksidan nonenzimatis.

Antioksidan biologis yang terdapat dalam tubuh manusia memiliki mekanisme kerja dan fungsi masing-masing. Pemahaman yang baik berkaitan dengan mekanisme kerja dan fungsi tersebut diharapkan dapat mendukung pemanfaatan yang optimal dari antioksidan tersebut untuk kepentingan kesehatan manusia.

Beberapa fungsi antioksidan dalam tubuh manusia yang dapat dikemukakan adalah: (1) pertahanan preventif tubuh manusia oleh antioksidan dalam melawan oksidan, (2) sistem pertahanan yang kuat melawan radikal bebas atau senyawa oksidan lainnya, (3) peranan SOD di endotelium dalam mencegah terjadinya aterosklerosis pada pembuluh darah, dan (4) berbagai isoform GPX juga dapat menggunakan berbagai peran spesifik dalam pengaturan metabolisme seperti menonaktifkan lipoksigenase

dihidroaskorbinic acid (DHA). Radikal askorbil dan DHA dapat direduksi kembali menjadi askorbat oleh beberapa senyawa seperti NADH, glutation atau asam-asam dihidrolipoat (Pattwell *et al*, 2004 dan Muchtadi, 2009). Pada Gambar 11 ditunjukkan bentuk oksidasi asam askorbat.



Gambar 11. Tahapan oksidasi 1 elektron asam askorbat (Pattwell, 2004).

DAFTAR PUSTAKA

- Brigelius-Flohe R. 1999. "Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases". *Free Radic Biol Med* 27: 951-965.
- Britton, G., and Liaaen-Jensen, S. (2004). *Handbook of Carotenoids*. Birkhauser AG, Basel, Switzerland.
- Callahan, L.A., Nethery, D., Stofan, D., DiMarco, A., and Supinski, G. (2001). "Free radical-induced contractile protein dysfunction in endotoxin-induced sepsis". *Am J Respir Cell Mol Biol* 24: 210-217.
- Chaudhari, K., Khanzode, S., Dakhale, G., Saoji, A., and Sarode, S. (2010). "Clinical correlation of alteration of endogenous antioxidant-uric acid level in major depressive disorder". *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 25 (1): 77-81.
- Fridovich, I. (1995). "Superoxide radical and superoxide dismutases". *Annu Rev Biochem* 64: 97-112.
- Ihara, H., Hashizume, N., Hasegawa, T., and Yoshida, M. (2004). "Antioxidant capacities of ascorbic acid, uric acid, a-tocopherol, and bilirubin can be measured in the presence of another antioxidant,

- serum albumin". *Journal of Clinical Lab. Analysis* 18: 45-49.
- Khachik, F., and Spangler, C. J. (1997). "Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum". *Anal. Chem.* 69: 1873-1881
- Landrum, J.T. (2010). *Carotenoids: Physical, Chemical, And Biological Functions And Properties*. CRC Press, New York.
- Lawler, J.M., and Demaree, S.R. (2001) "Relationship between Nadp-specific isocitrate dehydrogenase and glutathion peroksidase in aging rat skeletal muscle". *Mech Ageing Dev* 122: 291-304.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A. and Watkins J. B. (2003). "Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review". *J Biochem Molecular Toxicology. Volume 17*.
- Masella, R., and Mazza, G. (2009). *Gluthathion and Sulfur Amino Acids In Human Health And Disease*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.
- McCord, J.M., and Fridovich, I. (1969). "Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein)". *J Biol Chem* 244: 6049-6055.
- Muchtadi, D. 2009. *Gizi Anti Penuaan Dini*. Alfabeta. Bandung.
- Mulchand, S., Patel and Packer, L. (2008). *Lipoic acid: Energy Production, Antioxidant Activity And Health Effects*. CRC Press, London
- Nieto, F. J., Iribarren, C., Gross, M. D., Comstock, G.W. and Cutler, R. G. (2000). "Uric Acid and Serum Antioxidant Capacity: A Reaction to Ateroklerosis?" *Ateroklerosis* 148:131-139
- Packer, L., P.K. Kraemer, and G. Rimbach. (2001). *Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications*. Nutrition 17:888-895
- Packer, L., (2002). *The Antioxidant Vitamins C and E*. AOCS press, Washington.
- Pattwell, D.M., McArdle, A., Morgan, J.E., Patridge, T.A., and Jackson, M.J. (2004). "Release of reactive oxygen and nitrogen species from contracting skeletal muscle cells". *Free Radic Biol Med* 37: 1064-1072.
- Portakal, O., Zkaya Z., I'Nal M. E, dan Bozan, B. (2000). "Coenzyme Q10 Concentrations and Antioxidant Status in Tissues of Breast Cancer Patients". *J. Clinical Biochemistry, Vol. 33*
- Powers, S. K., and Jackson, M. J. (2008). "Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production". *Physiol Rev* 88: 1243-1276.
- Rodrigo, R., (2010). *Oxidative Stress And Antioxidant: Their Role in Human Disease*. Nova Science Publisher. New York.
- Sen, K. C., Packer, L., and Hanninen, O.O.P. (2000). *Handbook Of Oxidant And Antioxidant In Exercise*. Elsevier. Newyork
- Suzuki, K., Ohno, H., Oh-ishi, S., Kizaki, T., Ookawara, T., Fukii, J., Radak, A., and Taniguchi, N. (2000). *Superoxide Dismutases in Exercise and Disease. in: Handbook of Oxidants and Antioxidants and Exercise, edited by Sen CK, Packer L, Hanninen O*. Amsterdam: Elsevier, p. 243-295.