

UJI PENANGKAPAN RADIKAL HIDROKSIL OLEH EKSTRAK TOMAT MENGGUNAKAN METODE DEOKSIRIBOSA (Suatu Upaya Pencegahan Kerusakan Gula DNA Akibat Polutan Udara)

Teti Nurchayati, Maya Rahmayanti

Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
Jl. Marsda Adisucipto Yogyakarta, e-mail: my_mybs@yahoo.co.id

Abstrak

Radikal bebas merupakan salah satu polutan udara yang dapat menyerang dan merusak hampir semua molekul biologis seperti DNA, protein, dan membran lipid. Untuk mengatasi masalah ini dikembangkanlah suatu penelitian yang dapat mencegah interaksi antara radikal bebas (radikal hidroksil) dengan gula DNA. Uji kerusakan gula DNA oleh radikal hidroksil dilakukan dengan cara mereaksikan radikal hidroksil (yang dihasilkan melalui reaksi Fenton) dengan 2-deoksiribosa (gula DNA) yang akan menghasilkan produk yang dinamakan malonaldehid. Metode ini disebut metode deoksiribosa. Semakin banyak malonaldehid yang terbentuk menunjukkan semakin banyak radikal hidroksil yang bereaksi dengan gula DNA (semakin tinggi terjadinya kerusakan gula DNA). Ekstrak tomat dikatakan sebagai antioksidan jika dapat menghambat reaksi antara radikal hidroksil dengan gula DNA. Hal ini terjadi apabila senyawa likopen dalam ekstrak tomat dapat menangkap radikal hidroksil yang akan menyerang gula DNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin banyak ekstrak tomat ditambahkan pada reagen fenton dan gula DNA, jumlah malonaldehid yang terbentuk semakin berkurang. Hal ini menunjukkan ekstrak tomat mampu mencegah radikal hidroksil menyerang gula DNA.

Kata kunci: radikal bebas, polutan udara, gula DNA, metode deoksiribosa, ekstrak buah tomat

PENDAHULUAN

Kondisi udara yang bersih berperan penting bagi kehidupan makhluk hidup yaitu untuk bernafas. Bisa dibayangkan jika udara yang kita hirup adalah udara yang sudah tercemar oleh zat-zat yang sangat membahayakan bagi tubuh. Menurut PP No. 29 Tahun 1986 yang dimaksud dengan udara yang tercemar adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan atau komponen lain ke udara dan atau berubahnya tatanan udara oleh kegiatan manusia atau oleh proses alam sehingga kualitas udara turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan udara menjadi kurang atau tidak dapat berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya.

Dilihat secara definisi, pencemaran udara adalah adanya satu atau lebih substansi fisik, kimia, atau biologi di atmosfer dalam jumlah yang dapat membahayakan kesehatan manusia, hewan, dan tumbuhan (Davis, 2020). Sumber pencemaran udara dapat berasal dari gunung berapi, kebakaran hutan, transportasi, dan industri. Zat-zat pencemaran udara terdapat dalam bentuk gas atau partikel (biasanya sebagai bahan-bahan partikulat). Kedua bentuk zat pencemar itu berada di atmosfer secara simultan, tetapi seluruh zat pencemar udara 90% berbentuk gas. Bentuk-bentuk zat pencemar yang sering terdapat dalam atmosfer antara lain gas, embun, uap, awan, kabut, debu, haze dan asap. Pembentukan kabut asap terjadi karena adanya reaksi yang melibatkan radikal bebas.

Radikal bebas merupakan spesi yang sangat penting dalam atmosfer karena terlihat secara signifikan dalam fenomena kimia atmosfer. Spesi tersebut bisa dalam bentuk atom, atau kelompok-kelompok atom dengan elektron tidak berpasangan dan sangat bersifat reaktif. Di atmosfer bagian atas radikal bebas mempunyai waktu paruh yang hanya beberapa menit saja meskipun ada yang lebih lama. Radikal bebas dapat terlibat dalam reaksi rantai dimana radikal bebas yang lain terbentuk dari reaksi tersebut (Manahan, 2000).

Radikal bebas dapat menyerang dan merusak makromolekul pembentuk sel seperti DNA, membran lipid, protein, dan karbohidrat. Jika makromolekul yang diserang adalah DNA, maka radikal bebas ini dapat memicu terjadinya pemecahan ikatan pada molekul tersebut sehingga akan mengakibatkan perubahan kimia gula deoksiribosa dan basa purin atau pirimidinnya. Hal ini dapat memacu terjadinya kerusakan sel atau mutasi atau disebut juga degradasi makromolekul pada deoksiribosa. Selain itu, jika radikal ini menyerang membran lipid dan protein, maka hal ini dapat memacu terjadinya kerusakan jaringan dan proses penuaan. Oleh karena itu tubuh memerlukan antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas tersebut sehingga tidak dapat menginduksi suatu penyakit (Halliwell, 2000). Hal inilah yang menjadi latar belakang banyak dikembangkan senyawa antioksidan dari bahan alam, salah satunya buah tomat.

Tomat sebagai Senyawa Antioksidan

Tomat mengandung banyak unsur gizi yakni kaya akan vitamin A, mineral, serat, zat besi, senyawa fenolik dan karotenoid (Bernardinus, 2002). Keistimewaan lain buah tomat adalah tingginya kandungan likopen. Selain memberikan warna merah pada buah tomat, likopen terbukti efektif sebagai zat antioksidan kuat. Kandungan likopen di dalam sebutir buah tomat mencapai sekitar 50 persen, yaitu dalam 100 gram tomat mencapai sekitar 3-5 mg (Giovannucci, 1999). Struktur senyawa likopen disajikan pada gambar 1.

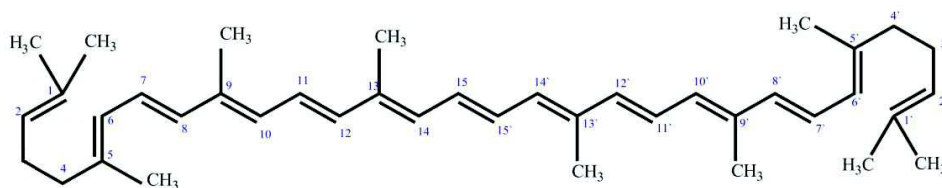
Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas sebagai antioksidan apabila senyawa tersebut dapat memperlambat atau menghambat proses oksidasi senyawa lain. Berikut adalah ciri-ciri umum antioksidan yang diharapkan: aman dalam penggunaan; tidak memberi flavor, odor, warna pada produk; efektif pada konsentrasi rendah; tahan terhadap proses pengolahan produk (berkemampuan antioksidan yang baik); dan tersedia dengan harga yang murah (Coppen, 1983).

Pengujian terhadap antioksidan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan in vitro dan in vivo. Pada penelitian ini akan dilakukan uji secara in vitro menggunakan metode deoksiribosa dengan reagen fenton sebagai penghasil radikal hidroksil. Reaksi pembentukan radikal hidroksil yang dapat dilihat pada persamaan reaksi Haber-Weiss berikut (www.lenntech.com) :

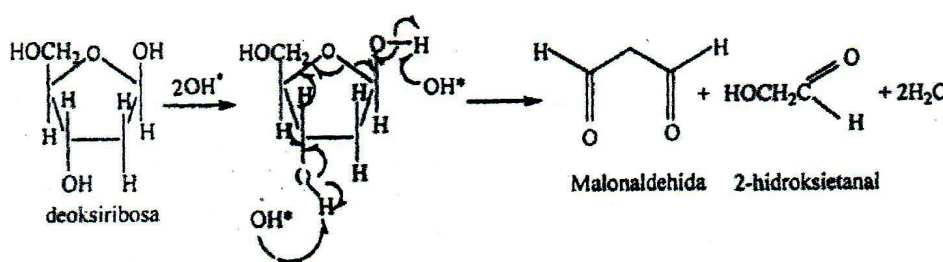


Radikal hidroksil akan bereaksi dengan 2-deoksiribosa membentuk malonaldehid dengan reaksi yang disajikan pada gambar 2 (Ardhyan dan Agnes, 2006).

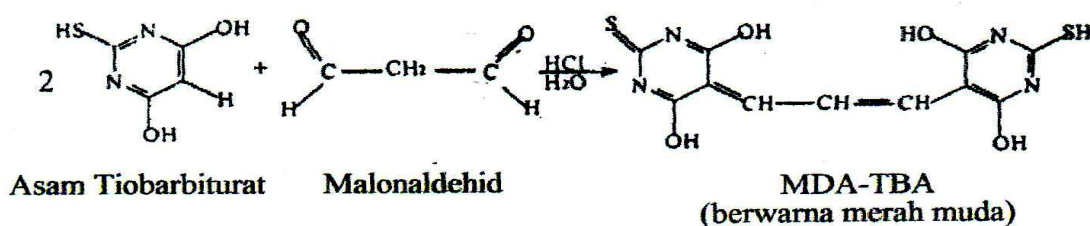
Adanya sampel atau ekstrak yang mengandung senyawa yang dapat menangkap radikal hidroksil akan mengurangi kerusakan 2-deoksiribosa. Adanya malonaldehid dapat diidentifikasi dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang akan membentuk kompleks berwarna merah muda, sehingga dapat ditetapkan secara spektrofotometri. Reaksi yang terjadi antara malonaldehid dengan TBA dapat dilihat pada gambar 3 (Halliwell, 1999).



Gambar 1. Struktur Likopen dalam Buah Tomat



Gambar 2. Reaksi 2-deoksiribosa dengan Radikal Hidroksil



Gambar 3. Reaksi Pembentukan Kromogen MDA-TBA

METODE PENELITIAN

a. Pembuatan Ekstrak Tomat

Menghaluskan sebanyak 0,5 kg kulit buah tomat matang, selanjutnya dimaserasi dalam metanol sebanyak 250 mL selama 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Residu yang diperoleh dimaserasi kembali. Dari penyaringan ini diperoleh filtrat, yang kemudian dievaporasi. Hasil evaporasi diekstraksi yaitu dengan menambahkan pelarut kloroform pada corong pisah.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

Mengambil salah satu sampel untuk menentukan panjang gelombang maksimum, yaitu dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang dengan rentang 520 – 535 nm. Dari panjang gelombang tersebut, absorbansi dihitung menggunakan *spectronic 20*. Penentuan panjang gelombang maksimum dipilih pada saat nilai absorbansi paling besar.

c. Cara kerja uji penangkapan radikal hidroksil sebagai pencegah degradasi 2-deoksiribosa

Pada tabung reaksi bertutup, memasukkan sebanyak 0,6 mL larutan 2-deoksiribosa $2,5 \times 10^{-3}$ M dan ekstrak tomat sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 mL. Kemudian ke dalam masing-masing tabung ditambahkan 0,3 mL larutan FeSO_4 1×10^{-3} M ; 0,3 mL EDTA 1×10^{-3} M ; 0,3 mL larutan H_2O_2 p.a 2×10^{-2} M ; 0,3 mL larutan vitamin C 1×10^{-3} M dan larutan buffer fosfat pada pH 7,4 dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan. (Penambahan buffer fosfat disesuaikan dengan volume ekstrak tomat yang ditambahkan sehingga volume akhir campuran adalah 6 ml). Inkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, ditambahkan 1 ml TCA 5 % dan 1 ml TBA 1 %. Tabung reaksi yang berisi larutan sampel tersebut dipanaskan menggunakan *Hot Plat* pada suhu 80°C selama 30 menit. Kemudian didinginkan dengan air mengalir selama 5 menit dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu *spectronic 20*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Radikal hidroksil akan menyerang 2-deoksiribosa menghasilkan malonaldehid. Malonaldehid akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat pada kondisi asam membentuk kromogen (senyawa berwarna) merah muda. Perubahan warna dari tiap penambahan ekstrak disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Perubahan Warna dari Tiap Penambahan Ekstrak (Keterangan dari kiri ke kanan, tanpa penambahan ekstrak tomat, penambahan ekstrak tomat 0,2 ml, penambahan ekstrak tomat 0,4 ml, penambahan ekstrak tomat 0,6 ml, penambahan ekstrak tomat 0,8 ml, penambahan ekstrak tomat 1 ml).

Intensitas warna merah muda dari kiri ke kanan semakin menghilang, ini dipengaruhi oleh penambahan ekstrak tomat yang semakin banyak. Berkurangnya intensitas warna merah muda diperkuat dengan hasil absorbansi yang diukur menggunakan *spectronic 20* pada panjanggelombang maksimum yaitu 527 nm. Berikut data penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{max})

Tabel 1. Data Panjang Gelombang dan Absorbansi

Panjang Gelombang	Absorbansi
521	0,110
523	0,111
525	0,112
527	0,113
529	0,111
531	0,108
533	0,099

Data yang disajikan pada tabel 1 menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum pada 527 nm, karena pada panjang gelombang tersebut nilai absorbansi yang diperoleh paling besar yaitu 0,113. Sehingga untuk mentukan besar absorbansi pada sampel yang lain menggunakan panjang gelombang 527 nm. Hasil pengukuran absorbansi sampel pada panjang gelombang 527 nm disajikan pada tabel 2.

Absorbansi dari masing-masing sampel menunjukkan nilai absorbansi yang semakin kecil seiring dengan penambahan ekstrak tomat yang semakin banyak maka efek penangkapan radikal hidroksil secara proporsional juga naik. Semakin kuat intensitas warna merah kompleks yang

terbentuk berarti semakin sedikit radikal hidroksil yang ditangkap oleh ekstrak tomat, tetapi jika warna kompleks semakin hilang berarti radikal hidroksil yang ditangkap oleh ekstrak tomat semakin banyak. Artinya degradasi 2-deoksiribosa semakin dapat dicegah.

Tabel 2. Data Absorbansi Sampel

Penambahan Ekstrak Tomat	Absorbansi
non	0,820
0,2	0,363
0,4	0,299
0,6	0,229
0,8	0,202
1	0,113

Dari data absorbansi yang diperoleh dapat ditentukan besar persentase penangkapan radikal hidroksil oleh ekstrak tomat menggunakan rumus sebagai berikut:

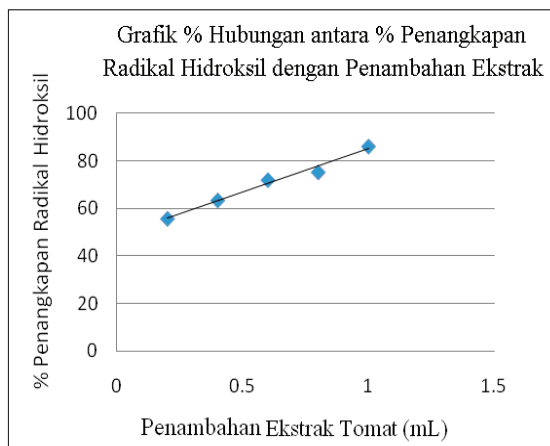
$$\% \text{ penangkapan radikal hidroksil} = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100 \%$$

Keterangan:

A₀ = absorbansi sampel tanpa ekstrak buah tomat = 0,820

A_s = absorbansi sampel dengan ekstrak buah tomat.

Berdasarkan data yang diperoleh, ternyata semakin banyak volume ekstrak tomat yang ditambahkan semakin tinggi persentase penangkapan radikal hidroksil. Grafik hubungan % penangkapan radikal hidroksil dengan penambahan ekstrak disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan antara % Penangkapan Radikal Hidroksil dengan Penambahan Ekstrak.

Proses yang terjadi dalam reaksi radikal hidroksil dengan likopen adalah radikal hidroksil akan menyerang likopen pada group

metilen yang berdekatan dengan ikatan rangkap $-C=C-$ (Buck, 1991). Terlihat pada gambar 2, likopen memiliki 4 gugus metilen yaitu di atom C nomor 3, 4, 3' dan 4'. Keempat gugus metilen ini yang kemudian akan bereaksi dengan radikal hidroksil sehingga senyawa likopen mudah menangkap radikal hidroksil. Akibatnya jumlah radikal hidroksil yang menyerang dan merusak 2-deoksiribosa tersebut berkurang, maka malonaldehid yang terbentuk juga akan berkurang. Dengan demikian intensitas warna merah muda yang terbentuk juga berkurang.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa ekstrak tomat mampu menangkap radikal hidroksil menggunakan metode deoksiribosa sehingga dapat mencegah kerusakan gula DNA akibat polutan udara. Volume optimum ekstrak buah tomat yang dapat menangkap radikal hidroksil pada penelitian ini adalah 1 mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardhyan Purwantoko dan Agnes Nora Iska Harnita, 2006, *Validasi Metode Deoksiribosa Sebagai Uji Penangkapan Radikal Hidroksil Oleh vitamin C Secara In Vitro*, Universitas Sanata Darma Yogyakarta, jurnal;142-151.
- Bernardinus.T.Wahyu Wiryanta, 2002, *Bertanam Tomat*, cet.I, Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Buck, D.F., 1991, *Antioxidants*, di dalam: J. Smith, editor *Food Additive User's*
- Coppen, P.P, 1983, *The use of antioxidant*, Di dalam: J.C. Allen dan R.J Hamilton, editor. *Rancidity in Foods*, London: Applied Science Publishers.
- Davis, Devra, 2002, *When Smoke Ran Like Water: Tales of Environmental Deception and the Battle Against Pollution*, Basic Books.
- Giovannucci, E., 1999, *Tomatoes, Tomato-Based Products, Lycopene, and Cancer: review of the epidemiologic literature*, J.Natl, Cancer Inst, 91:317-331.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999, *Free Radicals in Biology and Medicine*, third edition, hal:23, 36-49, 53-60, 106-206, 264-271, 366, New York: Oxford University Press.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 2000, *Free Radical in Biology and Medicine*, Oxford New York: University Press.
- Manahan, Stanley E., 2000, *Environmental Chemistry*, Boca Raton: CRC Press LLC.
- www.lenntech.com/Fenton-reaction.htm+fenton+reaction+&hl=i