

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Toksikologi

Toksikologi didefinisikan sebagai ilmu tentang racun pada masyarakat awam. Namun seiring berkembangnya waktu terdapat berbagai macam definisi tentang toksikologi. Yang mengawali perkembangan toksikologi pada awalnya adalah Paracelsus (1493-1541) dengan pernyataan bahwa semua senyawa adalah racun, yang membedakan apakah senyawa itu racun atau obat adalah dosisnya (Eaton dan Gilbert, 2008). Pernyataan ini mengawali pemikiran terhadap definisi toksikologi modern yang lebih fokus terhadap pengaruh kuantitas suatu zat kimia terhadap sistem biologi (Donatus, 2001). Definisi lainnya menurut Hudgson dan Levi, 2004 menyatakan bahwa racun adalah semua senyawa yang menimbulkan efek berbahaya bila diberikan kepada makhluk hidup, baik secara sengaja maupun tidak sengaja.

##### 2.1.1 Uji Toksikologi

Uji toksikologi dilakukan dengan menggunakan hewan uji, misalnya seperti tikus, mencit, atau hewan mamalia lainnya. Uji ini harus dilakukan pada semua penelitian yang berkaitan dengan senyawa obat sebelum senyawa obat tersebut digunakan pada manusia. Hasil dari uji toksikologi ini nantinya akan menggambarkan potensi toksisitas dari senyawa uji pada hewan yang dapat dijadikan sebagai prediktor ketoksikan yang mungkin terjadi pada senyawa tersebut bila senyawa uji tersebut digunakan pada manusia. (Barile, 2013).

### 2.1.2 Uji Toksisitas Subkronik

Uji toksisitas memiliki definisi sebagai pengujian suatu substansi untuk mengetahui sejauh mana substansi tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada makhluk hidup. Sedangkan, uji toksisitas subkronis didefinisikan sebagai uji toksisitas suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu dalam durasi antara durasi pemajanan pada penelitian akut dan kronik, yaitu selama kurang dari tiga bulan. Uji toksisitas subkronis dapat dilakukan dengan durasi bervariasi, namun pada umumnya uji ketoksikan ini dilakukan selama 90 hari (Barile, 2013). Uji ini ditujukan untuk mengungkapkan spektrum efek toksik yang terjadi serta untuk memperlihatkan apakah spektrum efek toksik itu berkaitan dengan takaran dosis (Donatus, 2001).

Tujuan utama dari aplikasi uji ketoksikan subkronik adalah mengestimasi kisaran dosis yang tidak menimbulkan efek toksik atau sering disebut NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) dan mengidentifikasi lebih jauh target organ spesifik yang mungkin terkena efek toksik akibat pemajanan berulang. Tujuan lain dari uji toksisitas subkronis ini adalah mengungkap spektrum efek toksik senyawa uji, mengevaluasi hubungan dosis pemajanan dengan respon toksik, dan memungkinkan terliputnya mekanisme serta efek toksik yang munculnya lambat dan tidak terliput pada uji ketoksikan akut (Barile, 2013).

Hasil uji ketoksikan subkronik akan memberikan informasi tentang efek utama senyawa uji dan organ sasaran yang dipengaruhi serta perkembangan efek toksik yang lambat berkaitan dengan takaran yang tidak teramati pada uji ketoksikan akut. (Hayes dan Kruger, 2014).

### 2.1.3 Uji Toksisitas Subkronik Metode OECD 408

Pada penelitian menggunakan metode OECD 408 ini senyawa obat yang akan diteliti dosisnya diberikan secara oral dengan dosis yang dibagi menjadi beberapa tingkatan ke kelompok hewan yang sudah dibagi menjadi satu kelompok sesuai dengan tingkatan dosis yang sudah ditentukan. Menurut guideline OECD 408 ayat 13 ini minimal kelompok perlakuan dibagi menjadi tiga tingkat dosis, dengan penentuan kelompok dosis terkecil merupakan dosis optimal dari hasil penelitian sebelumnya, dan dua dosis berikutnya adalah dua kali lipat dan empat kali lipat dari dosis optimal penelitian sebelumnya tersebut. Pada penelitian uji toksisitas subkronik antosianin ini, dosis dimulai dari 10 mg/kgBB karena dosis ini merupakan dosis yang paling optimal dalam penelitian tentang efek ekstrak antosianin terhadap *foam cell* tikus pada penelitian Maharani *et al.* pada 2014 sehingga dosis berikutnya adalah 20 mg/kgBB dan 80 mg/kgBB. Selama pemberian dosis senyawa obat yang akan diteliti tersebut, keadaan hewan terus diobservasi setiap hari apakah ada tanda-tanda dari toksisitas atau tidak. Bila di tengah penelitian ada hewan yang mati, hewan tersebut di nekropsi, dan pada akhir penelitian, hewan-hewan yang bertahan hidup tersebut harus dimatikan dan dinekropsi juga (OECD, 1998).

### 2.1.4 NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*)

NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) merupakan konsentrasi atau dosis terbesar yang ditemukan melalui penelitian atau observasi, dimana masih belum ditemukan adanya perubahan merugikan dari morfologi, kapasitas fungsional, pertumbuhan, perkembangan, atau masa hidup dari organisme yang dipapar dengan dosis tersebut (Dorato, 2005). Penentuan dari NOAEL ini dilakukan dengan cara terlebih dahulu menemukan dosis yang memberikan toksisitas namun tidak

menyebabkan kematian. Lalu bila dosis tersebut sudah ditemukan, satu tingkat dosis dibawahnya yang masih belum memberikan efek toksisitas tersebut yang disebut dengan dosis NOAEL (OECD, 1998).

## **2.2 Uji Fungsi Ginjal**

Uji fungsi ginjal yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah dengan cara mengukur kadar ureum dan kreatinin serum yang interpretasinya akan mencerminkan laju filtrasi glomerulus (GFR) yang menunjukkan fungsi ginjal, apakah ginjal masih bekerja dengan normal atau tidak (Burtis dan Bruns, 2014).

### **2.2.1 Ureum**

Ureum merupakan molekul kecil produk akhir metabolisme nitrogen. Ureum merupakan metabolit utama yang berasal dari protein makanan dan pergantian protein jaringan. Sehingga asupan makanan sangat mempengaruhi kadar ureum, dimana asupan tinggi protein akan menyebabkan peningkatan kadar ureum sedangkan asupan protein yang rendah, malnutrisi, atau kelaparan akan menyebabkan kadar urea juga menurun (Burtis dan Bruns, 2014).

#### **2.2.1.1 Nilai Normal Ureum**

Pada pengukuran nilai ureum dalam serum, nilai normal pada tikus wistar jantan memiliki cakupan 10.7 sampai 20 mg/dl, sedangkan pada tikus wistar betina antara 11.7 sampai 25 mg/dl, cakupan yang luas ini disebabkan karena banyaknya faktor yang mempengaruhi nilainya, seperti asupan protein, katabolisme protein di dalam tubuh, keadaan hidrasi, sintesis urea hepatic, dan ekskresi urea ginjal (Giknis dan Clifford, 2008).

### 2.2.1.2 Perubahan pada Nilai Normal Ureum

Naiknya kadar ureum serum di atas jangkauan nilai normal ataupun turunnya kadar ureum serum di bawah nilai normal dipengaruhi oleh banyak faktor dalam metabolismenya. Naiknya kadar ureum di atas jangkauan normal umumnya disebabkan oleh factor ekstrarenal yang mempengaruhi konsentrasi urea yang bersirkulasi, sebagai contoh karena asupan protein yang tinggi, pendarahan gastrointestinal, proses katabolik yang terjadi di dalam tubuh seperti demam atau infeksi, dan konsumsi obat-obatan antianabolik seperti tetrasiklin atau glukokortikoid. Namun pada keadaan seperti ini, kadar kreatinin serum tidak terpengaruh, sehingga nilainya masih dalam jangkauan normal. Sedangkan pada kondisi obstruksi *postrenal* seperti pada *malignancy*, *nephrolithiasis*, dan *prostatism*, baik kadar urea maupun kreatinin keduanya meningkat. Untuk penurunan kadar ureum umumnya disebabkan karena asupan protein yang kurang, kelaparan, malnutrisi, kelainan aktivitas metabolik akibat gangguan pada *liver* (Burtis dan Bruns, 2014).

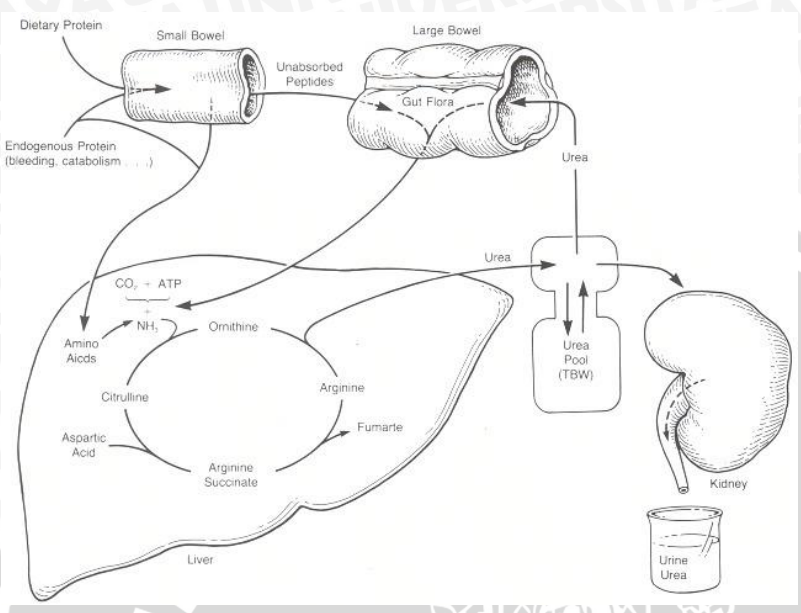
### 2.2.1.3 Metabolisme Ureum

Metabolisme urea terjadi ketika protein dari makanan yang merupakan sumber primer dari pembentukan urea ini masuk ke dalam usus halus. Di dalam usus halus ini, protein dari makanan tersebut diubah menjadi asam amino dan peptida, yang 90% dari hasil konversi tersebut diabsorpsi dan dibawa ke liver, sedangkan sisa peptida lainnya yang tidak terabsorpsi ke liver akan menuju ke kolon (Burtis dan Bruns, 2014).

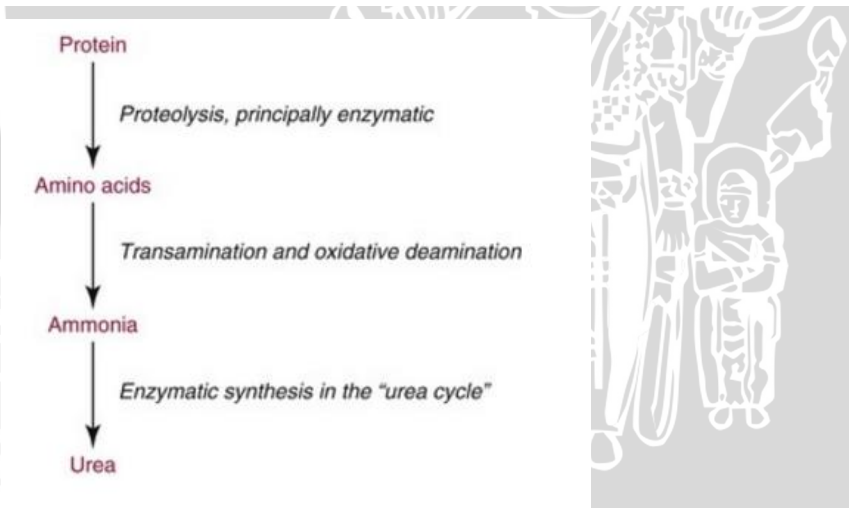
Asam amino yang dibawa ke liver, nantinya di dalam hepatosit akan mengalami proses deaminasi dan transaminasi. Dari proses deaminasi dan transaminase ini, akan dihasilkan kelebihan nitrogen yang berikutnya kelebihan

nitrogen tersebut akan memberikan sumbangan nitrogen ke dalam siklus urea. Sedangkan peptida yang menuju ke kolon karena tidak diabsorpsi ke liver tersebut akan bercampur dengan sebagian urea dari siklus urea dan dikonversikan menjadi ammonia oleh flora normal yang ada di dalam kolon. Ammonia hasil konversi tersebut, nantinya akan berdifusi melewati sirkulasi portal ke liver dan kembali lagi memasuki siklus urea. Proses dimana sebagian urea dari siklus urea dikonversikan ke ammonia di kolon dan dikembalikan lagi ke siklus urea di liver disebut dengan sirkulasi enterohepatik. Sedangkan 90% urea, sekitar 10 gram setiap hari, diekskresikan oleh ginjal dalam proses yang dimulai dengan filtrasi glomerulus dan sejumlah kecil urea lainnya hilang melalui saluran pencernaan, paru-paru, dan kulit; selama latihan, sebagian besar dapat diekskresikan dalam keringat (Burtis dan Bruns, 2014).

Laju aliran urin tinggi (lebih dari 2 ml / menit), 40% dari beban yang difiltrasi diserap, dan pada tingkat aliran yang lebih rendah dari 2 ml / menit, reabsorpsi bisa meningkat sampai 60%. Aliran rendah, seperti pada obstruksi saluran kemih, memperpanjang waktu untuk reabsorpsi dan sering dikaitkan dengan peningkatan hormon antidiuretik (ADH), yang meningkatkan permeabilitas tubulus pengumpul terminal (*terminal collecting tubule*) terhadap urea. Sehingga selama ADH terinduksi sekresi urea berkontribusi terhadap konsentrasi intratubular dari urea (Burtis dan Bruns, 2014).



**Gambar 2.1 Metabolisme Ureum (Walker et al., 1990)**

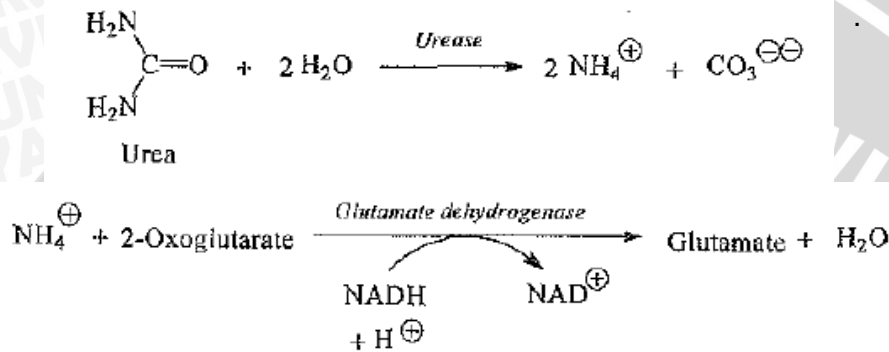


**Gambar 2.2 Pembentukan Ureum (Burtis dan Bruns, 2014)**

**2.2.1.4 Pengukuran Kadar Ureum Serum**

Pengukuran kadar ureum serum dilakukan dengan metode enzimatik yang pada reaksi pertamanya menggunakan urease untuk menghidrolisis urea dan

menghasilkan ammonia, lalu ammonia yang dihasilkan tersebut dihitung dengan menambahkan *glutamate dehydrogenase* untuk menghasilkan NAD(+) dengan adanya *2-oxoglutarate* dan NADH pada reaksi kedua. Pada pemeriksaan serum ini nilai absorbansi NADH diukur pada panjang gelombang 340nm (Burtis dan Bruns, 2014).



**Gambar 2.3 Reaksi Enzimatik untuk Pengukuran Kadar Ureum Serum (Burtis dan Bruns, 2014)**

## 2.2.2 Kreatinin

Kreatinin juga merupakan molekul kecil produk akhir metabolisme nitrogen. Kreatinin ini merupakan hasil dari katabolisme kreatin otot. (Burtis dan Bruns, 2014).

### 2.2.2.1 Nilai Normal Kreatinin

Pada normalnya, untuk tikus wistar jantan, cakupan nilainya adalah 0.3 sampai 0.5 mg/dl. Sedangkan, untuk tikus wistar betina, nilai normalnya adalah 0.3 sampai 0.6 mg/dl (Giknis dan Clifford, 2014).

### 2.2.2.2 Perubahan pada Nilai Normal Kreatinin

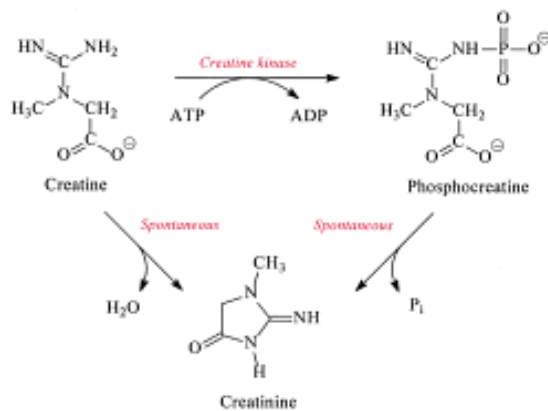
Kadar kreatinin dapat meningkat pada saat melakukan olahraga karena olahraga dapat menyebabkan peningkatan kreatinin di otot skeletal, mengonsumsi



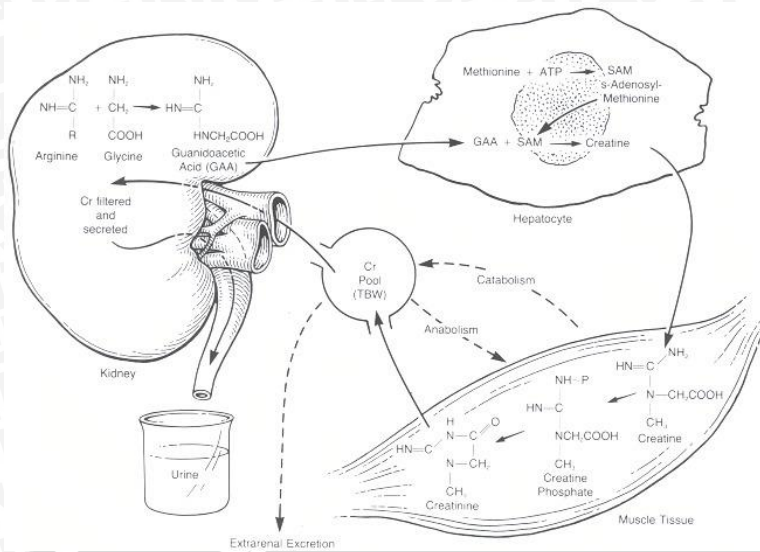
daging yang telah dimasak juga dapat meningkatkan kadar kreatinin, karena proses pemasakan daging tersebut akan mengkonversi kreatin yang ada di daging menjadi kreatinin, selain itu mengkonsumsi obat seperti *trimethoprim*, *cimetidine*, dan salisilat juga dapat mempengaruhi produksi kreatinin. (Edelstein, 2010).

### 2.2.2.3 Metabolisme Kreatinin

Pembentukan Kreatinin dimulai dengan proses transamidinasi dari arginin dan glisin membentuk asam guanidoacetic (GAA). Reaksi ini terjadi terutama di ginjal, tetapi juga dapat terjadi di liver dan pankreas. asam guanidoacetic (GAA) diangkut ke hati dan dimetilasi oleh *S-adenosyl methionin* (SAM) untuk membentuk kreatin. Kreatin memasuki sirkulasi, dan 90% dari kreatin tersebut diambil dan disimpan oleh jaringan otot. Dalam reaksi dikatalisis oleh creatine phosphokinase (CPK), sebagian besar kreatin otot ini difosforilasi menjadi kreatin fosfat. Setiap hari, sekitar 2% dari kreatin yang disimpan ini dikonversi secara non-enzimatik dan ireversibel menjadi kreatinin (Burtis dan Bruns, 2014).



Gambar 2.4 Pembentukan Kreatinin (Burtis dan Bruns, 2014)



**Gambar 2.5 Metabolisme Kreatinin (Walker et al., 1990)**

#### 2.2.2.4 Pengukuran Kadar Kreatinin Serum

Pengukuran kadar kreatinin serum dilakukan dengan menggunakan cara reaksi Jaffe. Pada reaksi Jaffe ini, kreatinin direaksikan dengan *picric acid* di dalam medium basa yang berasal dari natrium hidroksida (NaOH). Prosesnya dilakukan dengan menunggu pembentukan warna jingga kekuningan selama kira-kira 15 menit pada suhu ruangan. Setelah warna tersebut terbentuk, proses pengukuran dilakukan dengan mengukur absorbansi menggunakan *photometer* pada panjang gelombang 520nm (Toora dan Rajagopal, 2000).

#### 2.3 Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*)

Ubi jalar ungu atau *Ipomoea batatas* varietas ungu atau dalam bahasa Inggris disebut *sweet potato* merupakan salah satu jenis tumbuhan yang banyak tumbuh di daerah beriklim tropis dan subtropis. Ubi jalar ungu ini diperkirakan asal mulanya berasal dari benua Amerika bagian tengah. Pada abad ke 16 pertama kali orang-orang

Spanyol yang menyebabkan ubi jalar ungu ini menyebar hingga ke daerah Asia dan Oceania. Di Asia ubi jalar terutama tersebar ke Filipina, Jepang, dan Indonesia (Purwono dan Purnamawati, 2007). Menurut Rukmana, H. R, 2001 sekitar tahun 1960an ubi jalar telah menyebar dan ditanam hamper di seluruh wilayah Indonesia.

### 2.3.1 Taksonomi *Ipomoea batatas*

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Ipomoea</i> L
Species	: <i>Ipomoea batatas</i> (L) Lam.
Kultivar	: Gunung Kawi

(United States Department of Agriculture, 2007)



**Gambar 2.6 *Ipomoea batatas* L Varietas Ungu Kultivar Gunung Kawi**

### 2.3.2 Karakteristik *Ipomoea batatas*

*Ipomoea batatas* merupakan tumbuhan yang baik berkembang di daerah yang beriklim tropis dan subtropis. Tumbuhan ini biasanya hidup mulai dari dataran rendah pantai sampai ketinggian 3000 m di atas permukaan laut dan tumbuh pada suhu optimum sekitar 12°C sampai 35°. *Ipomoea batatas* ini lebih menyukai sinar matahari, namun toleran terhadap naungan sampai 30-50 %. Jenis ini tumbuh dengan baik pada curah hujan 600-1600 mm selama masa pertumbuhannya. Musim kemarau merupakan musim dimana pembentukan umbinya terjadi. Kelembaban tanah 60-70 % diperlukan untuk pertumbuhan awal, pertengahan 70-80 % dan akhir pertumbuhan memerlukan kelembaban 60 %. Jenis ini cenderung toleransi terhadap kekeringan. Tanaman ini dapat hidup pada tipe tanah bervariasi, namun tipe tanah seperti tanah lempung berpasir merupakan tanah yang paling cocok untuk pembiakan tanaman ini

Di Indonesia, beberapa varietas ubi jalar berasal dari Jepang, yang kemudian diusahakan secara luas di nusantara. Varietas ubi jalar Jepang yang dikenal di Indonesia antara lain : varietas ibaraki, beniazuma, dan naruto (Hartayo, 2004).

### 2.3.3 Kandungan *Ipomoea batatas*

Ubi jalar memiliki kandungan karbohidrat dan kalori yang tinggi. Ubi jalar ini mengandung vitamin C sejumlah 65% dari kebutuhan vitamin C yang dibutuhkan manusia setiap harinya dalam sediaan satu cangkir dan bebas lemak. Vitamin C sangat penting untuk mencegah komponen pembentuk kanker yang berasal dari nitrit dan nitrat dari makanan-makanan tertentu. Vitamin lain yang terkandung dalam ubi jalar antara lain: B6, riboflavin, thiamin, dan niacin (Kumalaningsih, 2006).

Ubi jalar jingga dan ungu mengandung sejumlah besar antosianin dan beta karoten. Antosianin fenolik dan karotenoid tersirat dalam warna dari daging ubi jalar (krim, kuning tua, jingga, dan ungu) dan bekerja sebagai suatu antioksidan. Warna dan varietas ubi jalar dapat mempengaruhi kadar dan sifat fenolik, antosianin (Steed dan Truong, 2008), dan karotenoid (Tokusoglu dan Yildirim, 2011).

**Tabel 2.1 Perbedaan komposisi kimia ubi jalar oranye, ungu, putih**

Komposisi Kimia	Jenis Warna Daging Umbi		
	Oranye <sup>1</sup>	Putih <sup>2</sup>	Ungu <sup>2</sup>
Air (%)	79,28	62,24	70,46
Abu (%)	1,09	0,93	0,84
Pati (%)	15,18	28,79	12,64
Protein (%)	-	0,89	0,77
Gula reduksi (%)	1,69	0,32	0,3
Serat kasar (%)	0,84	2,5	3
Lemak (%)	-	0,77	0,94
Vitamin C (mg/100 mg)	-	28,68	21,43

Sumber: <sup>1</sup>Dewi (2007)

<sup>2</sup>Suprpta (2003) dalam Arixs (2006)

**Tabel 2.2 Perbandingan kadar antosianin pada ubi jalar putih, kuning dan ungu (Suprpta, 2003)**

Antioksidan / 100 gram	Ubi jalar putih	Ubi jalar kuning	Ubi jalar ungu
Antosianin	0,06mg /100g	4,56mg /100g	110,51mg/100g

**Tabel 2.3 Perbandingan kadar antosianin pada berbagai kultivar ubi jalar varietas ungu ( Balitkabi, 2012)**

Nama kultivar ubi jalar	Kadar antosianin
Kloning MSU 01022-12	33,89/100g
Gunung Kawi	110-220 mg/100g
Ayamurasaki/ Yamagawamurasaki (Ubi jalar Jepang)	300 mg/ 100g
Kloning RIS 03063-05	510,80mg/100g
Kloning MSU 03028-10	560-590,8mg/100g

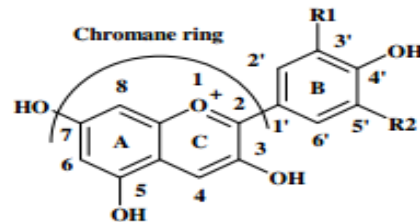
## 2.4 Antosianin

Antosianin merupakan pigmen larut air yang terdapat di banyak spesies dari tanaman. Istilah antosianin mulanya berasal dari gabungan kata dalam Bahasa Yunani : *anthos* yang berarti bunga, dan *cyanos* yang berarti biru. Pigmen ini merupakan salah satu dari metabolit sekunder dari tumbuhan dan merupakan salah satu jenis flavonoid yang penting yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antimutagenik, hepatoprotektif, dan antihipertensi. Pigmen ini terakumulasi pada vakuola sel tumbuhan, yang pada sayur dan buah-buahan, antosianin ini terakumulasi dalam bentuk glikosida. Pada tumbuhan, antosianin ini bertanggung jawab dalam pembentukan warna merah, ungu, atau biru pada bunga, kulit biji, buah, dan daun. Dimana pada bagian yang berbeda-beda tersebut, konsentrasi dan komposisi antosianin juga berbeda-beda, tergantung pada faktor internal (genetik) dan faktor lingkungan (Oancea dan Oprean, 2011).

Antosianin banyak ditemukan pada banyak spesies tanaman yang memiliki warna merah, ungu, atau biru pada bunga, kulit biji, buah, atau daunnya. Pigmen ini terakumulasi di seluruh bagian tanaman berbuah seperti pada golongan buah *berry* (*raspberry*, *blackberry*, *blueberry*), duwet, kismis, dan anggur serta pada sayur-sayuran seperti pada tomat, bawang merah, kubis merah, ubi jalar ungu, dan terong. Menurut Oancea dan Oprean, 2011 kandungan antosianin pada buah-buahan lebih tinggi dibanding pada kandungannya pada sayur-sayuran.

Secara struktur kimia, antosianin merupakan glikosida dan asilglikosida dari antosianidin, dan aglikon flavilium (2-fenilbenzopyrilum) berdiferensiasi sebagai substitusi hidroksil atau metoksil dalam struktur dasarnya. Inti dari antosiandin, flavilium, memiliki struktur karbon C6-C3-C6 yang tipikal, dimana mengandung satu cincin benzopiran heterosiklik (sebagai cincin C), satu cincin aromatik (sebagai cincin

A) dan satu unsur fenil (sebagai cincin B). Dalam bentuk kation, antosianidin memiliki dua ikatan ganda di cincin C sehingga dapat membawa muatan positif (Hosseinia and Beta.,2007).



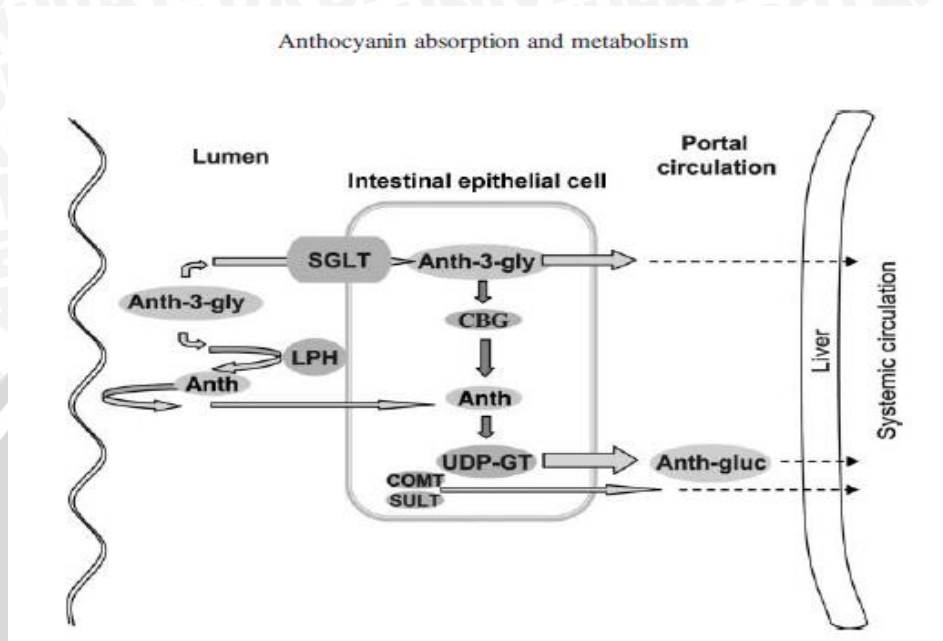
Aglycone	R1	R2	colour	$\lambda_{\max}$ (nm)
Cyanidin (Cy)	OH	H	Red	535
Peonidin (Pn)	OCH3	H	Bluish-purple	532
Pelargonidin (Pg)	H	H	Orange-red	520
Malvidin (Mv)	OCH3	OCH3	Purple	542
Delphinidin (Dp)	OH	OH	Purple	546
Petunidin (Pt)	OCH3	OH	Purple	543

Fig. 1. Common anthocyanin structure and corresponding anthocyanidins (aglycones).

### Gambar 2.7 Struktur Kimia Antosianin (Kay, 2006)

Pada beberapa tahun terakhir, banyak peneliti yang tertarik terhadap potensi antosianin untuk digunakan dalam bidang kesehatan sebagai obat alternatif untuk berbagai penyakit (Giusti dan Wrolstadt, 2003). Beberapa manfaat antosianin antara lain antosianin sering dihubungkan sebagai antioksidan (Oancea dan Oprean, 2011), dan mengurangi resiko kelainan kardiovaskuler (Mazza, 2007). Sampai sekarang, belum ada penelitian yang menyatakan hal mengenai toksisitas antosianin (He *et al.*, 2010). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian terhadap antosianin pada hewan coba tikus, apakah antosianin tersebut memiliki efek toksisitas atau tidak bila nantinya digunakan pada manusia

### 2.4.1 Absorpsi Antosianin



**Gambar 2.8 Absorpsi Antosianin (Kay, 2006)**

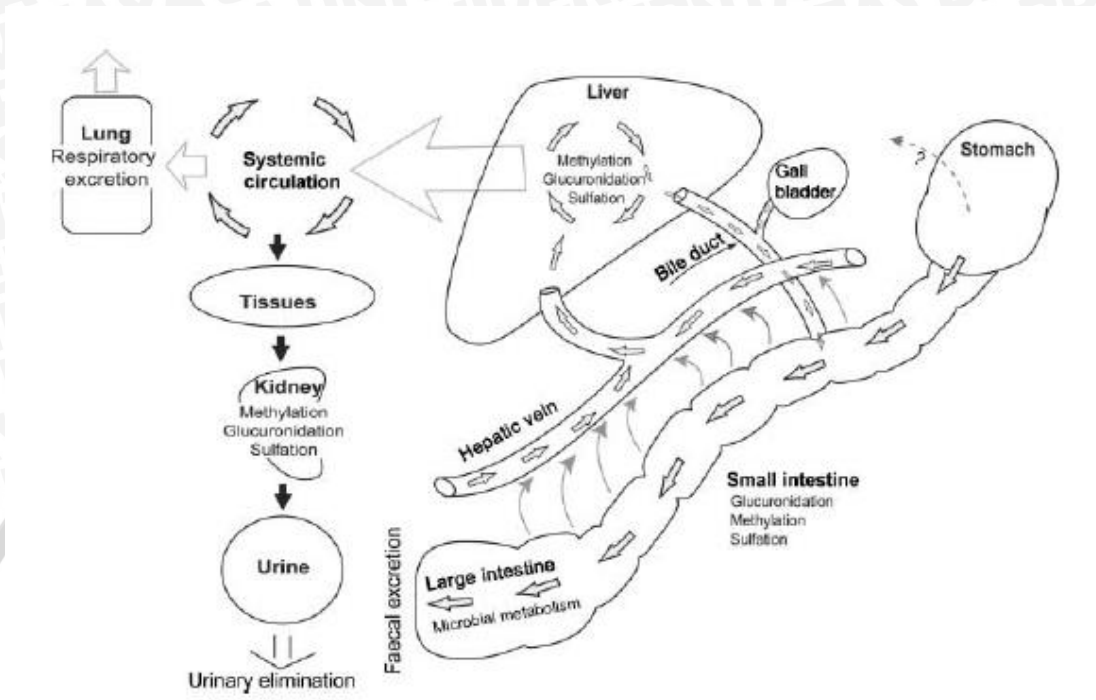
Flavonoid seperti antosianin, kebanyakan terdapat di dalam makanan berupa glikosida (Hollman dan Katan, 1998). Glikosilasi mempengaruhi sifat biologisnya. Sifat biologis tersebut penting dalam menentukan mekanisme absorpsinya, apakah senyawa tersebut akan difusi secara pasif melintasi membran biologis dan bagaimana senyawa tersebut dipartisi secara *internal* ketika melalui berbagai macam fase sel. Glikosida flavonoid memiliki sifat *hydrophilic*, sehingga difusi melintasi membrane biologis tidak akan terjadi (Kay, 2006). Maka dari itu, absorpsi dari glikosida antosianin membutuhkan salah satu antara mekanisme transport aktif spesifik atau hidrolisis dari  $\beta$ -glycoside sebelum absorpsi. Pada beberapa uji coba pada manusia, absorpsi dari kebanyakan flavonoid terjadi di dalam usus halus.



Namun beberapa fraksi dari flavonoid yang lolos dari proses absorpsi di usus halus bagian atas akan mengalami metabolisme *bacterial* pada usus besar dimana senyawa akan di deglikosilasi dan *aglycone* akan ditranspor atau dimetabolisme lebih lanjut (Manach *et al.*, 2005). Seperti yang dibahas sebelumnya, terdapat dua mekanisme yang mungkin terjadi dalam transport glikosida flavonoid yaitu transport dari glikosida yang intak dengan *transporter* berupa *sodium-glucose co-transporter* atau hidrolisis ekstraselular dari glikosida dengan *lactate phlorizin hydrolase* pada *brush border*, yang diikuti dengan difusi pasif dari *aglycone* (Kay, 2006).

Metabolisme antosianin juga sama seperti metabolisme glikosida flavonoid hidrofilik, yang akan menjalani salah satu atau kedua mekanisme transpor yang dibahas sebelumnya. Mekanisme pertama, glikosida antosianin akan dihidrolisis pada mukosa membrane *brush border* oleh *lactate phlorizin hydrolase*. Lalu *aglycone* akan berdifusi ke dalam *enterocyte* dan memasuki sirkulasi *portal* atau dikonjugasi sebelum melintasi membrane *basolateral* ke dalam cairan serosa. Terdapat bukti, bahwa *aglycone* dari antosianin terdapat di dalam sirkulasi atau urin. Mekanisme yang kedua adalah transport melalui *sodium-glucose co-transporter*, ketika di dalam sel, glikosida yang intak dapat secara langsung melintasi membrane *basolateral* menuju sirkulasi *portal* tau dihidrolisis dahulu oleh  $\beta$ -*glucosidase* sebelum metabolisme dan transport *intestinal*. Kedua mekanisme ini telah terbukti terlibat dalam proses absorpsi antosianin karena pada penelitian, *derivat* dari glikosida dan glukoronida ditemukan di dalam plasma dan serum (Williamson *et al.*, 2000).

## 2.4.2 Metabolisme Antosianin



**Gambar 2.9 Metabolisme Antosianin (Kay, 2006)**

Flavonoid secara ekstensif dimetabolisme, yang pada akhirnya 5-10% dari senyawa yang masuk tersebut di ekskresikan ke urin dan 52% dikeluarkan sebagai CO<sub>2</sub>. Meskipun banyak flavonoid dilaporkan memiliki *bioavailability* yang rendah karena metabolisme yang panjang, namun karena metabolit flavonoid ini bertahan di dalam sirkulasi dalam waktu yang, alhasil flavonoid memiliki *bioactivity* yang signifikan. Pada antosianin, untuk menjaga *bioactivity*-nya, antosianin menjaga struktur dasarnya, antosianidin (Kay, 2006).

Pada metabolismenya, antosianin mengalami tiga proses, yaitu konjugasi glukoronida, metilasi, dan sulfasi atau *glycination* (Hollman dan Katan, 1998). Proses

pertama adalah konjugasi glukoronida, konjugasi glukoronida ini adalah reaksi konjugasi utama yang terlibat dalam metabolisme flavonoid. Proses ini terjadi pada *liver*, *intestine*, dan ginjal. *Intestine* merupakan tempat *initial* dan yang utama dalam proses glukoronidasi flavonoid mengikuti konsumsi diet yang normal, walaupun *liver* sebenarnya merupakan organ yang memiliki kapasitas terbesar untuk proses glukoronidasi ini. Proses kedua adalah proses metilasi, proses ini merupakan reaksi konjugasi kedua yang terpenting untuk *flavonoid*, proses ini dijalankan oleh enzim *methyltransferase* yang terdapat di *liver* dan *intestine*. Dalam reaksi metilasi flavonoid, reaksi yang umum adalah *O-methylation*. Dalam hal ini, *liver* memiliki aktivitas *catechol-O-methyltransferase* tertinggi dan merupakan organ utama dari proses metilasi. Pola hidrosilasi dari struktur cincin flavonoid menentukan tempat utama dari metilasi. Proses ketiga adalah sulfasi yang dikatalis oleh *sulfotransferase*. Proses sulfasi ini merupakan jalur *high saturatable* sehingga menyebabkan konsentrasi dari metabolit proses ini, yaitu *flavonoid sulfides* sangat rendah di dalam darah dan urin (Kay, 2006).

Antosianin memiliki jalur metabolisme yang lebih pendek dari golongan flavonoid lainnya. Keberadaan glikosida antosianin yang belum dimetabolisme dapat diidentifikasi di dalam urin dan darah. Penelitian Kay *et al.* 2005 menyatakan 68% antosianin di dalam urin dalam bentuk *derivate* yang sudah dimetabolisme.

#### 2.4.3 Eliminasi dan Reabsorpsi Antosianin

Jalur eliminasi dari antosianin tergantung dari tipe konjugat yang diproduksi dan tempat diproduksinya konjugat tersebut. Misal pada konjugat yang dihasilkan *intestine* secara langsung memasuki sirkulasi sistemik, sedangkan konjugat yang dihasilkan oleh *liver*, konjugat diekskresikan ke empedu (Kay, 2006).

Jalur ekskresi yang lain adalah melalui urin, namun antosianin yang diekskresi relatif rendah, yaitu sekitar 0.01-3% dari dosis yang masuk. Selain itu, bakteri kolon juga berperan dalam metabolisme antosianin ini, bakteri kolon memecah glikosida dari senyawa yang masih utuh menghasilkan *aglycone* untuk direabsorpsi melalui dinding *intestinal* atau degradasi yang lebih jauh. Pada penelitian Tsuda *et al.* 1999, pemberian glikosida *cyanidin* pada tikus menunjukkan peningkatan *protocatechuic acid* secara signifikan pada konsentrasi plasma. *Protocatechuic acid* ini merupakan hasil metabolisme sampingan utama dari antosianin oleh fermentasi bakteri *faecal* manusia. Selain itu, paru-paru juga berperan pada proses eliminasi dan juga merupakan tempat utama untuk ekskresi banyak *xenobiotic*.

#### 2.4.4 Intoksikasi Antosianin

Antosianin merupakan salah satu jenis *xenobiotic*, sehingga antosianin akan diperlakukan seperti obat-obatan ketika masuk ke dalam tubuh makhluk hidup, antosianin akan melalui proses absorpsi, metabolisme, dan eliminasi. Dalam asupan antosianin yang wajar, antosianin ini dapat berperan sebagai antioksidan, namun dalam dosis yang berlebihan, antosianin ini dapat berubah sifatnya menjadi prooksidan seperti *xenobiotic* lainnya (Eaton dan Gilbert, 2008). Sifat prooksidan dari antosianin memungkinkan terjadinya intoksikasi antosianin pada organ ginjal. Hal ini dapat terjadi, karena dalam keadaan asupan yang wajar saja, penelitian Kay, 2006 menunjukkan keberadaan glikosida antosianin di dalam urin. Sehingga dari hal ini, apabila asupan antosianin berlebihan, maka keberadaan glikosida antosianin pada ginjal meningkat dan adanya antosianin pada tubulus ginjal akan terkonsentrasi pada proses reabsorpsi air dan elektrolit dari filtrat glomerulus. Hal ini tentunya menyebabkan antosianin yang awalnya konsentrasinya tidak menyebabkan

efek toksik, namun karena terus-menerus terakumulasi maka akan tercapai konsentrasi toksik pada ginjal. Ketika konsentrasi toksik tersebut tercapai, maka antosianin tersebut akan memiliki sifat prooksidan yang menyebabkan radikal bebas meningkat dan peningkatan radikal bebas ini tentunya akan menyebabkan kerusakan struktur pada organ yang berdampak langsung terhadap fungsi ginjal dan juga akan mengubah keadaan lingkungan sekitar sel, sehingga hal ini juga akan mengganggu fungsi hingga tingkat selular, dimana pada organ ginjal, kerusakan selular yang paling mengganggu fungsi ginjal adalah kerusakan pada organel mitokondria yang berperan dalam transpor aktif organ ginjal (Schnellmann, 2008).

