

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penuaan (*Aging*)

Definisi *aging* menurut *American Academy of Anti-Aging Medicine* (A4M) adalah perubahan fisik yang disebabkan oleh disfungsi fisiologik (Klatz, 2003). Penuaan adalah kumpulan gejala dari perubahan yang terus menerus terjadi pada molekul (DNA, protein, lemak) pada sel dan organ. Banyak faktor *aging* yang dapat menyebabkan proses penuaan. Berbagai faktor dikelompokkan menjadi faktor internal dan faktor eksternal. Beberapa faktor internal ialah memendeknya telomer, hormon yang berkurang dan radikal bebas. Faktor eksternal yang utama ialah gaya hidup tidak sehat, diet tidak sehat, polusi lingkungan, dan stres (Meier dkk., 2007).

Aging sangat erat kaitannya dengan telomer. Telomer adalah segmen ujung DNA kromosom sel eukariot, yang berfungsi untuk menjaga kestabilan kromosom. Telomer terdiri dari urutan nukleotida yang sangat spesifik (TTAGGG) yang berulang ratusan bahkan ribuan kali. Sehingga rumus umum struktur nukleotida telomer adalah (TTAGGG) n . T, A dan G menunjukkan nukleotida yang berisi basa thymin, adenin dan guanin. Telomer berfungsi untuk menjaga keutuhan genom (materi genetik) selama perkembangan sel. Telomer akan memendek setiap kali sel membelah dan pada panjang tertentu, sel akan berhenti membelah, atau yang disebut sel yang menua yang selanjutnya akan mati (Greider & Blackburn, 1996).

Dalam kondisi normal, sel yang aktif membelah atau berproliferasi memiliki aktivitas enzim telomerase yang rendah sehingga kurang bisa mempertahankan fungsi telomer dalam menjaga integritas genom (Shay dkk., 2001). Enzim telomerase merupakan ribonukleoprotein yang memiliki dua domain yaitu domain yang berhubungan dengan sekuen RNA (*ribonucleic acid*) dan domain katalitik. Fungsi sekuen RNA pada telomerase yaitu untuk mensintesis DNA, sedangkan domain katalitik berfungsi untuk meningkatkan aktivitas polimerase (Cohen, 2007).

Namun, faktor-faktor penyebab itu dapat dihindari bahkan dapat diperlambat, dan kualitas hidup dapat dipertahankan. Dengan kata lain usia harapan hidup dapat menjadi lebih panjang dengan kualitas hidup yang lebih baik (Pangkahila, 2007). Banyak teori yang menjelaskan tentang proses penuaan, salah satunya adalah teori radikal bebas. Teori radikal bebas menjelaskan bahwa suatu organisme menjadi tua karena

terjadi akumulasi kerusakan oleh radikal bebas dalam sel sepanjang waktu. Radikal bebas memiliki sifat reaktifitas tinggi karena dapat menarik elektron dan mengubah suatu molekul menjadi radikal oleh hilangnya atau bertambahnya satu elektron pada molekul lain. Radikal bebas akan merusak molekul yang elektronnya ditarik oleh radikal bebas tersebut sehingga menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Molekul utama di dalam tubuh yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak, dan protein (Suryohudoyo, 2000). Bertambahnya usia maka akumulasi kerusakan sel akibat radikal bebas semakin mengambil peranan, sehingga mengganggu metabolisme sel (Goldman & Klatz, 2007). ROS berlebihan dapat menginduksi kerusakan komponen seluler secara ireversibel dan menyebabkan kematian sel melalui jalur apoptosis intrinsik mitokondria, sehingga memicu kerusakan DNA mitokondria dan peningkatan apoptosis sel (Hanukoglu, 2006).

Menurut Pangkahila (2007), *aging* terbagi dalam beberapa fase yaitu premenopause, menopause dan postmenopause. Menopause ditandai dengan berhentinya haid selama satu tahun secara berturut-turut. Premenopause merupakan masa 4-5 tahun sebelum terjadi menopause yang ditandai dengan perubahan sintesis hormon, khususnya hormon estrogen. Kadar FSH dan estrogen pada fase premenopause dapat menjadi normal atau meningkat. Kadar FSH yang tinggi mengakibatkan terjadinya stimulasi ovarium yang berlebihan sehingga kadang-kadang dijumpai kadar estrogen yang sangat tinggi. Menopause, setelah memasuki usia menopause selalu ditemukan kadar FSH yang tinggi. Pada awal menopause kadang-kadang kadar estrogen rendah. Periode post menopause adalah periode setelah menopause yang ditandai dengan tidak adanya oosit yang diovulasikan. Hampir semua wanita atau betina pada saat post menopause umumnya mengalami berbagai macam keluhan yang diakibatkan oleh rendahnya kadar estrogen (Baziad, 2003).

2.2 Perubahan Metabolisme Hormonal Saat Premenopause

Estrogen terbesar adalah estradiol yang berasal dari ovarium. Estradiol adalah jenis yang paling aktif dari estrogen yang melibatkan ratusan kegiatan dalam tubuh. Kadar rata-rata estradiol selama siklus normal adalah 80 pg/ml. Memasuki masa perimenopause aktivitas folikel dalam ovarium mulai berkurang. Ketika ovarium tidak menghasilkan ovum dan berhenti memproduksi estradiol, kelenjar

hipofise berusaha merangsang ovarium untuk menghasilkan estrogen, sehingga terjadi peningkatan produksi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Kadar FSH menjadi meningkat 10-20 kali lipat dan tiga kali lipat pada kadar *Luteinizing Hormone* (LH) yang mencapai kadar maksimal satu sampai tiga tahun setelah menopause. Peningkatan kadar FSH dan LH adalah bukti dari terjadinya kegagalan ovarium. Perubahan siklus hormonal ini mulai terjadi tiga tahun sebelum menopause dan penurunan produksi estrogen oleh ovarium baru tampak sekitar enam bulan sebelum menopause (Speroff & Fritz, 2005).

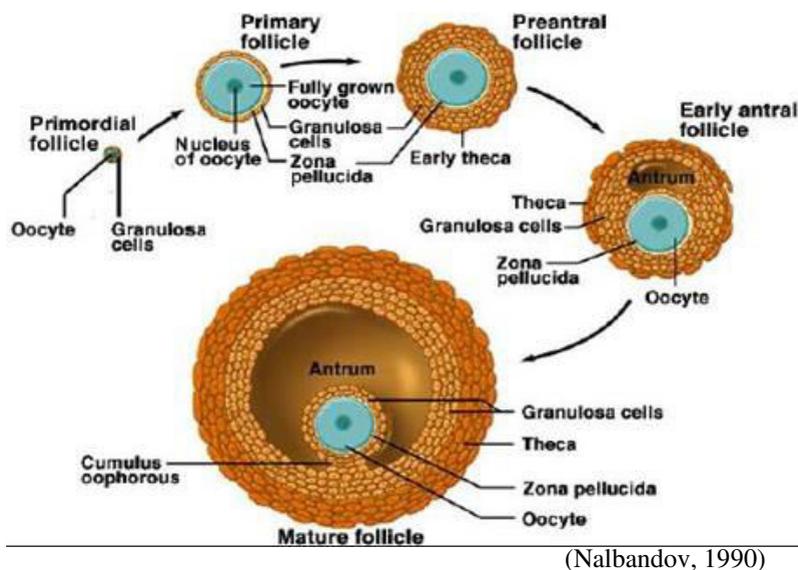
2.3 Folikulogenesis

Selama berlangsungnya siklus ovarium terjadi perubahan-perubahan terutama pada folikel ovarium, yaitu perubahan pada folikel primordia menjadi folikel sekunder kemudian berubah menjadi folikel tersier dan terakhir menjadi folikel De Graaf. Setelah terjadi ovulasi folikel De Graaf akan berubah menjadi korpus luteum. Semua proses-proses tersebut di atas dikenal dengan nama folikulogenesis (Williams, 2002). Siklus ovarium dan folikulogenesis adalah proses yang berlangsung terus-menerus sampai persediaan folikel primer habis. Tidak semua folikel primer akan mengalami pendewasaan secara lengkap, hanya sebagian kecil saja yang akan sampai pada stadium yang siap untuk diovulasikan. Sebagian besar dari folikel-folikel tersebut akan mengalami atresia sebelum benar-benar menjadi folikel yang matang (Austin & Short, 1984).

Sejak mamalia betina lahir, terdapat banyak folikel primer di dalam korteks ovarium. Masing-masing terdiri dari sebuah oosit primer yang dibungkus oleh selapis sel folikel (Junqueira dkk., 1995). Perkembangan selanjutnya dari folikel primer adalah membentuk folikel sekunder. Folikel ini mengalami perbanyakan sel dan terdapat lapisan kedua di sekitar oosit. Selanjutnya sel-sel folikel tersebut bersatu membentuk lapisan granulosa. Tahap akhir perkembangan, folikel sekunder dikelilingi oleh ruangan yang tidak teratur dan merupakan hasil diferensiasi sel-sel epitel dari stroma ovarium. Sel-sel epitel tersebut kemudian secara bersama-sama membentuk teka folikuli. Folikel sekunder dengan teka folikuli ini disebut juga sebagai folikel preantral. Pada perkembangan akhir folikel sekunder terjadi pemisahan teka folikuli menjadi teka interna dan teka eksterna (Guerin, 2002).

Folikel tersier disebut juga folikel cavitati atau folikel antral, dicirikan dengan adanya cavitati (antrum) dan diferensiasi teka folikuli menjadi

teka interna dan teka eksterna (Guerin, 2002). Selanjutnya, rongga folikel semakin membesar dan oosit melekat pada dinding folikel yang dibentuk oleh sel-sel granuloosa. Lapisan granuloosa tampak menipis karena penambahan cairan folikel (*liquor folikuli*) tidak seimbang dengan pembelahan sel-sel granuloosa. Pada tahap ini disebut sebagai folikel matang (De Graaf). Semua folikel yang tidak lulus seleksi gagal berkembang dan mengalami atresia. Atresia ini dapat terjadi pada folikel primer atau pada semua tingkatan di atasnya (Leeson dkk., 1996).



Gambar 1. Folikulogenesis

2.4 Radikal Bebas

Saat usia muda terdapat keseimbangan antara radikal bebas dan pertahanan antioksidan. Seiring dengan pertambahan usia, keseimbangan terganggu oleh berkurangnya cadangan antioksidan dan produksi berlebih dari radikal bebas (Saxena & Lal, 2006). Senyawa oksigen reaktif diproduksi terus menerus di dalam organisme aerobik sebagai hasil dari metabolisme energi normal. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh, serta unsur DNA (Pasupathi, 2009).

Ketidakseimbangan antara jumlah antioksidan dan senyawa radikal bebas akan mengakibatkan kerusakan stres oksidatif. Pada saat keadaan inilah perusakan tubuh terjadi oleh radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bersifat reaktif. Suatu atom atau molekul akan tetap stabil bila elektronnya berpasangan, untuk mencapai kondisi stabil tersebut, radikal bebas dapat menyerang bagian tubuh seperti sel, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada sel tersebut dan berimbas pada kinerja sel, jaringan dan akhirnya pada proses metabolisme tubuh. ROS terdiri dari anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksil (OH). *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh mitokondria khususnya radikal hidroksil (OH) (Arief, 2010). Apabila produksi ROS berlebih maka akan terjadi stres oksidatif sehingga dapat menstimulasi *cytochrome c* dan faktor *trigger* apoptosis yang lain di mitokondria sehingga menyebabkan kematian sel (Hanukoglu, 2006).

2.5 Kemangi (*Ocimum canum* Sims.)

Kemangi merupakan salah satu tanaman berkhasiat yang tidak hanya tumbuh di Indonesia tetapi juga di India, Taiwan, Cina, dan Asia Tenggara. Kemangi disebut juga tulusi, tulasi, *holy basil*, *sacred basil*. Menurut taksonominya, kemangi diklasifikasikan sebagai berikut (USDA, 2012).

Kingdom : Plantae
Subkingdom: Tracheobionta
Super Divisi: Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Lamiales
Famili : Lamiaceae
Genus : *Ocimum*
Spesies : *Ocimum canum* Sims.

Helai daun bulat telur (1-1,7 cm x 5-10 mm), tepi daun bergerigi kecil, permukaan daun berbulu halus, lateral empat atau lima pasangan. Batang kemangi terdapat bulu terutama pada tanaman muda. Bentuk batang muda *Ocimum* sp. pada dasarnya ada yang bulat atau persegi, berwarna hijau. Tipe rangkaian bunga kemangi adalah berupa rangkaian

majemuk. Struktur bunga terdiri dari kelopak, mahkota, benangsari, dan putik. Tandan bunga banyak, padat, dan tegak. Bunga kecil, berwarna putih dengan benang sari menonjol. Kelopak dan mahkota lebih pendek dibandingkan dengan spesies yang lain. Mahkota bunga dan kotak sari berwarna putih. Bentuk biji bulat telur, warna biji cokelat-hitam dengan berat 0,091–0,125 g (Gambar 2) (Hadipoentyanti & Wahyuni, 2008).

Biji kemangi mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol. Daun kemangi mengandung flavonoid sebesar 10 %, saponin sebesar 6 %, tanin sebesar 4,6 %, steroid/triterpenoid, minyak atsiri (2 %), asam heksauronat, pentosa, xilosa, asam metil homoanisat, molludistin serta asam ursolat (Peter, 2002). Kandungan fitokimia terbanyak pada daun kemangi adalah flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan alami yang dapat menangkap molekul radikal bebas atau sebagai antioksidan alami (Haryanti & Agus, 2009). Flavonoid pada daun kemangi yaitu orientin yang merupakan golongan flavon yang dapat digunakan sebagai anti radikal bebas. Flavon adalah suatu senyawa kristalin tidak berwarna yang menjadi bahan dasar pigmen tumbuhan untuk warna putih atau kuning (Hariana, 2008).



(Health Care, 2015)

Gambar 2. *Ocimum canum* Sims.

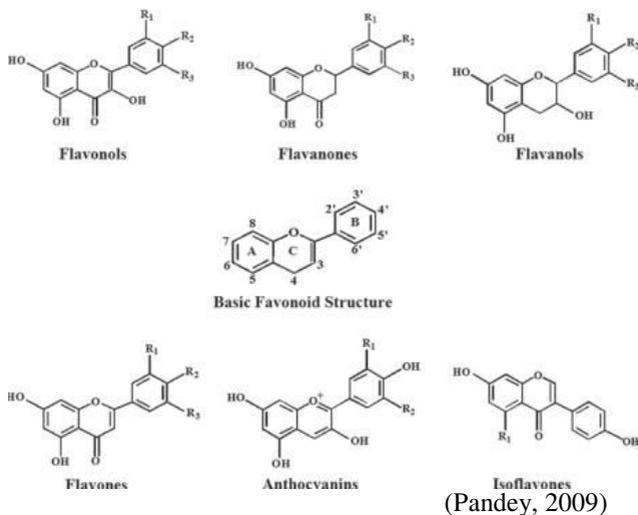
Mayoritas penyakit metabolik yang berasal dari stres oksidatif menggunakan flavon dan studi terbaru menunjukkan efek positif dari flavon pada penyakit yang berhubungan dengan oksidatif stres. Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari kemangi. Orientin dapat melindungi tubuh dari pengaruh radiasi. Mekanismenya didasarkan pada aktivitas antioksidan yang melindungi lipid dari oksidasi (Singh dkk., 2012). Komponen dari kemangi ini melindungi struktur sel juka

kromosom dari kerusakan berbasis oksigen (FAO, 2009). Kemangi juga mempunyai beragam khasiat antara lain, analgesik, anti bakterial, anti inflamasi, anti oksidan, anti stress, imunomodulator, aktivitas hipoglikemik, dan anti kanker (Prakash & Gupta, 2005).

2.6 Kandungan Senyawa Fitokimia Tanaman Kemangi

Tanaman kemangi memiliki banyak sekali kandungan nutrisi seperti mineral, karbohidrat, protein dan fitokimia. Senyawa fitokimia pada tanaman kemangi memiliki nilai manfaat paling tinggi flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol dengan aktivitas antioksidan yang tinggi. Flavonoid sebagai antioksidan dapat menghambat reaksi peroksidasi lipid dan merupakan senyawa pereduksi yang baik. Flavonoid bertindak sebagai penangkal yang baik untuk radikal hidroksil dan superoksida sehingga membran lipid terlindungi (Sulistiyawati & Proverawati, 2010).

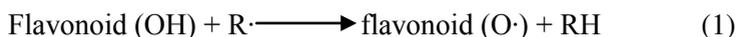
Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6 (Maslarova, 2001). Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini menjadi dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Hess, 2000). Struktur cincin B hidroksil merupakan struktur yang paling efektif untuk mengikat radikal bebas karena kelompok hidroksil pada nukleus dapat mendonorkan hidrogen sehingga dapat menstabilkan radikal bebas (Suryohudoyo, 2000). Flavonoid dikelompokkan menjadi beberapa sub kelompok berdasarkan cincin heterosiklik yaitu terdiri atas flavon, flavonol, flavanol, flavanones, antosianin, dan isoflavon (Gambar 3). Salah satu kelompok flavonoid adalah flavon (C₁₅H₁₀O₂). Flavon memiliki antioksidan, anti-poliferasi, kegiatan anti-inflamasi dan lain-lain (Kumar & Pandey, 2013).



Gambar 3. Struktur kimia flavonoid dan sub kelasnya

Kandungan terpenting yang dimiliki oleh hampir setiap kelompok flavonoid adalah kapasitas mereka sebagai antioksidan untuk membantu tubuh melawan oksigen reaktif. Flavonoid memiliki kemampuan untuk mengganggu sistem produksi radikal bebas atau bisa juga dengan meningkatkan fungsi antioksidan endogen (Suryanto dkk., 2008).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan sebagai berikut 1) flavonoid menghambat kerja enzim, 2) senyawa flavonoid efisien dalam mengikat logam, diantaranya logam besi bebas dan tembaga bebas yang dapat meningkatkan pembentukan spesies oksigen reaktif 3) flavonoid dapat memakan radikal bebas secara langsung. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan paling efektif ada dua cara yaitu flavonoid dioksidasi oleh radikal secara langsung, kemudian mengikat logam yang dapat meningkatkan pembentukan spesies oksigen reaktif. (Suryanto dkk., 2008). Reaksi flavonoid sebagai antioksidan dapat menstabilkan ROS melalui reaksi berikut (1) (Nijveldt, 2001).



2.7 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan (radikal bebas), termasuk enzim dan protein pengikat logam (Pangkahila, 2007). Menurut Kartikawati (1999), terdapat dua macam mekanisme kerja antioksidan pada radikal bebas, yaitu

antioksidan primer/ antioksidan enzimatis yang mampu mengurangi pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Contohnya adalah *superoksida dismutase* (SOD) dan *glutathione*.

a. *Superoksida dismutase* (SOD)

SOD adalah antioksidan intraselular utama dalam sel aerobik. Kerja enzim ini memecah anion superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida (Evans dkk., 1991).



b. Sistem Glutathion

Sistem glutathion terdiri dari glutathion (GSH) dan glutathion peroksidase (GPx). Glutathion berperan untuk melindungi sel dari radikal oksigen dan senyawa toksik. Glutathion terdapat dalam sitoplasma dan mitokondria sel mamalia. Glutathion peroksidase adalah enzim paling penting untuk menghilangkan hidrogen peroksida dari membran sel. Enzim ini mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida dengan menggunakan *glutathione* tereduksi sebagai kofaktornya. Kofaktor adalah senyawa kimia non-protein yang diperlukan untuk aktivitas biologis protein. Protein ini biasanya enzim, dan kofaktor dapat dianggap "molekul pembantu" yang membantu dalam transformasi biokimia. Sistem *glutathione* adalah kunci pertahanan tubuh untuk melawan hidrogen peroksida dan peroksida lainnya (Evans dkk., 1991). Reaksi yang terjadi:



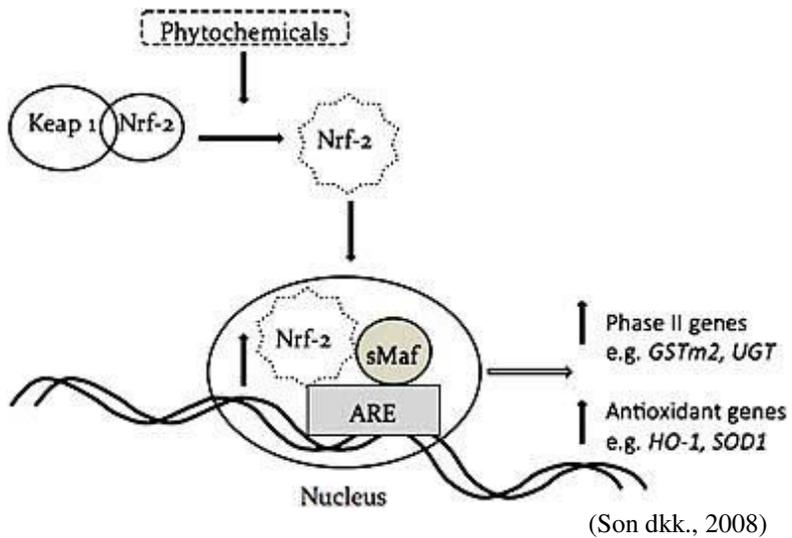
Selanjutnya adalah antioksidan sekunder/ antioksidan non-enzimatis, yang berasal dari luar tubuh. Antioksidan non-enzimatis salah satunya adalah flavonoid. Antioksidan ini berperan mengikat radikal bebas. Secara umum, tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui tiga tahapan reaksi yaitu (1) tahap inisiasi, yaitu awal pembentukan radikal bebas, (2) tahap propagasi, yaitu pemanjangan rantai radikal. Kemangi bekerja pada tahap ini karena flavonoid pada kemangi bekerja sebagai pemutus rantai reaksi pemanjangan (3) tahap terminasi, yaitu bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain atau penangkap radikal (Pasupathi, 2009). Sebagai antioksidan, kandungan flavonoid pada daun kemangi dapat meredam radikal bebas dalam tubuh melalui dua cara, yaitu meredam radikal bebas secara langsung dan mengaktifasi sintesis

antioksidan endogen melalui jalur *Nuclear factor erythroid-2-related factor 2* (Nrf2).

2.8 Nrf2 (*Nuclear factor erythroid 2 related factor 2*)

Berbagai macam senyawa kimia baik alami maupun sintetis dapat bertindak sebagai *inducer* terhadap ekspresi gen antioksidan. Senyawa alami juga dapat bertindak sebagai *inducer* terhadap ekspresi gen antioksidan. Salah satu *inducer* adalah golongan fenol. *Inducer* bekerja melalui mekanisme aktivasi Nrf2. Senyawa fitokimia dapat mengaktifasi Nrf2 secara tidak langsung. Senyawa fitokimia mengikat *Kelch-like ECH-associated protein 1* (Keap1) atau melalui fosforilasi Nrf2. *Nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) adalah faktor transkripsi yang dalam keadaan normal akan berikatan dengan Keap-1 (Mann dkk., 2007). Sebaliknya, dalam kondisi terpapar oleh senyawa yang bertindak sebagai *inducer*, maka *inducer* bereaksi dengan Keap1 dan mengakibatkan pelepasan Nrf2 dari Keap1. Nrf2 kemudian mengalami translokasi menuju nukleus dan berikatan dengan *Antioxidant Response Element* (ARE) bersama protein *small Musculoaponeurotic fibrosarcoma* (sMaf) untuk mengaktifasi ekspresi enzim sitoprotektif seperti *gluthation peroxidase* (Son dkk., 2008). sMaf merupakan faktor transkripsi dalam tubuh yang dikode oleh sMaf gen. Nrf2 berfungsi untuk memulihkan homeostasis dengan mengontrol antioksidan (Baird dkk., 2011).

Antioxidant Response Element mengaktifasi enzim antioksidan seperti SOD dan glutathione yang terlibat dalam meredam ROS. ARE merupakan respon antioksidan yang mengatur total sistem antioksidan yang tersedia di seluruh sel-sel organisme. Nrf2 merupakan master regulator dari proses *aging* (Hanukoglu, 2006). Aktifnya antioksidan endogen mengakibatkan berkurangnya stress oksidasi, sehingga terjadi penekanan terhadap produksi radikal bebas yang ditunjukkan dari berkurangnya apoptosis sel (Best, 2003). Melalui studi Nutrigenomics, telah ditetapkan bahwa berbagai makanan yang aktivatornya kuat dari jalur Nrf2 dapat memicu produksi dari ribuan molekul antioksidan yang memberikan perlindungan jauh lebih baik terhadap efek radikal (Araujo, 2011).



Gambar 4. Mekanisme aktivasi Nrf2/ARE oleh senyawa fitokimia