

PRODUK OKSIDASI KOLESTEROL (CHOLESTEROL OXIDATION PRODUCT/COP) PADA PRODUK PERIKANAN

Rudi Riyanto

Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi
Kelautan dan Perikanan

PENDAHULUAN

Kolesterol merupakan alkohol steroid ($C_{27}H_{46}O$) yang menyebar pada semua bagian tubuh hewan dan merupakan komponen pembentuk sel dan membran sel. Dalam tubuh, perbandingan kolesterol sekitar 0,2% dari total berat tubuh. Kolesterol merupakan bahan dasar yang digunakan oleh kebanyakan organ penting untuk memproduksi senyawa tertentu termasuk hormon seks, adrenalin, asam empedu dan turunan vitamin D (Nettleton, 1987).

Kolesterol banyak terdapat dalam produk makanan siap saji di supermarket-supermarket. Sampai saat ini, disamping peran pentingnya dalam metabolisme tubuh, kolesterol banyak menimbulkan polemik karena efek yang ditimbulkannya, termasuk sebagai salah satu induktor penyakit jantung yang merupakan penyebab kematian terbesar di dunia jika terakumulasi melebihi jumlah tertentu.

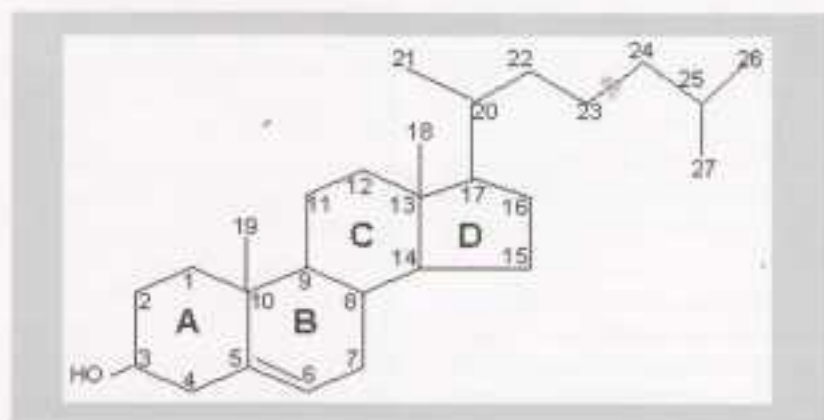
Sebagai molekul dengan ikatan tak jenuh pada C5-6 inti sterolnya, kolesterol mudah mengalami proses oksidasi. Banyak penelitian membuktikan bahwa kolesterol yang ada pada makanan berbahan baku hewani mengalami autooksidasi selama proses pengolahan dan penyimpanannya. Produk oksidasi kolesterol biasanya disebut *Cholesterol Oxidation Products (COP)*. Karena kandungan kolesterol pada produk makanan diketahui lebih lanjut dapat membentuk COP yang mempunyai aktivitas atherogenik,

mutagenik, karsinogenik, angiotoksik, sitotoksik, merusak membran sel dan menghambat biosintesis kolesterol serta menyebabkan arteriosklerosis (Oshima *et al.*, 1996; Zang, 2005), maka banyak penelitian dilakukan untuk menurunkan kadar kolesterol pada produk makanan (McLachlan *et al.*, 1990; Saito & Ohuchi, 1992; Wrezel *et al.*, 1992).

Pembentukan COP

Menurut Lercker *et al.* dalam Ubhayasekera (2005), oksidasi lipid dan sterol (kolesterol) memiliki mekanisme yang sama seperti autooksidasi, fotooksidasi dan oksidasi enzimatis menghasilkan hidroperoksida sejenis. Hidroperoksida dipercaya sebagai turunan asam lemak tak jenuh (PUFA), seperti banyak didapatkan pada produk makanan laut (*seafood*), berperan dalam memfasilitasi oksidasi kolesterol pada ikatan rangkap $\Delta-5$.

Autooksidasi molekul kolesterol terjadi melalui mekanisme radikal bebas dengan membentuk hidroperoksida, selanjutnya menjadi beberapa produk oksidasi kolesterol (COP atau disebut juga *oxysterol*). Peroksida dibentuk oleh PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acids*) selama oksidasi lipid yang memungkinkan pemecahan hidrogen dari ikatan ganda C5-6, diikuti pembentukan radikal bebas dalam struktur kolesterol. Radikal bebas ini mungkin beresonansi bentuk ke posisi C4 atau C7 cincin A dan B secara bergantian menyebabkan reaksi molekul oksigen pada posisi C 4,5,6 dan 7. Akan tetapi posisi paling stabil dan paling sesuai adalah pada C7, dimana hidroperoksida dapat membentuk turunan hidroksil (*7 α -hydroxycholesterol*) melalui dekomposisi atau turunan keton (*7-ketocholesterol*) melalui dehidrasi lebih lanjut. Kemungkinan lain adalah reaksi molekul radikal bebas oksigen langsung dengan ikatan ganda



Gambar 1. Struktur molekul kolesterol.

membentuk *5,6-epoxycholesterol* melalui adisi, dimana melalui dehidrasi lebih lanjut dapat ditransformasi menjadi suatu triol (*Cholesten-3 β , 5 α , 6 β -triol*). Oksidasi pada rantai lurus memungkinkan dihasilkannya turunan *20-hydroxy* atau *25-hydroxycholesterol* (Valenzuela *et al.*, 2003).

Studi mengenai efek yang diakibatkan oleh faktor-faktor seperti waktu, temperatur dan penyimpanan dalam ruangan (udara atau nitrogen) pada pembentukan COP dalam produk makanan telah banyak dilakukan (Oshima *et al.*, 1996; Suechin li *et al.*, 1996; Jeong *et al.*, 2000; Angulo *et al.* dalam Cuppett, 2002). Ditemukan hubungan antara level COP dan waktu penyimpanan (1 tahun dalam gelap atau tanpa cahaya) pada temperatur yang berbeda-beda (32°C dan 55°C). COP yang terbanyak terbentuk adalah *7-ketocholesterol*. Sedangkan COP yang ditemukan pada sampel yang disimpan dalam ruangan udara adalah *7-ketocholesterol* dan *7 β -hydroxycholesterol*. COP terbentuk melalui auto-oksidasi melibatkan triplet oksigen (3O_2). Ketika disimpan di ruangan nitrogen 2 COP tambahan ditemukan yaitu *cholestanetriol* dan α -epoxide, yang mengindikasikan oksidasi ganda terjadi melalui mekanisme *ground-state dioxygen* dan mekanisme induksi radikal bebas hidropersida. Sampel yang diperlakukan pada 55°C menjadi berwarna coklat, yang mengindikasikan terjadinya reaksi *Maillard* melalui mekanisme radikal bebas.

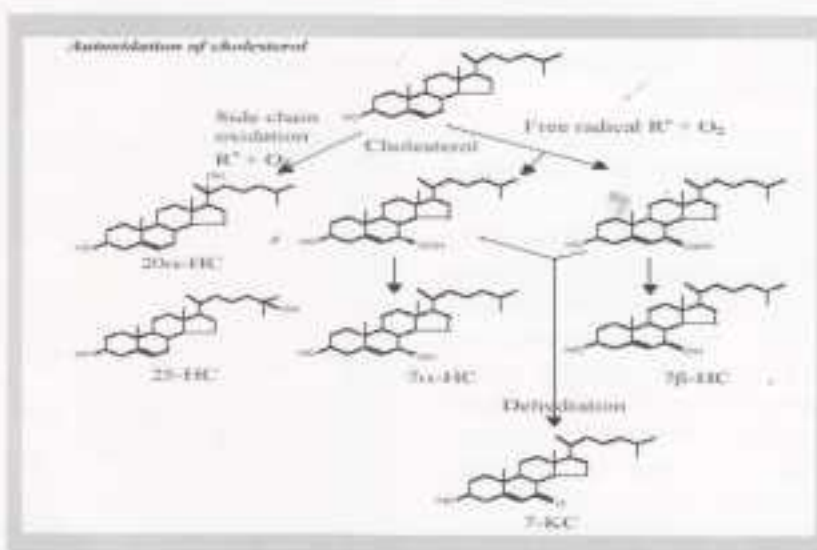
Radikal bebas oksigen menunjukkan tingkah laku yang berbeda sebagai indikator oksidasi kolesterol. Walaupun radikal bebas superoksida tidak efektif menginduksi terjadinya oksidasi kolesterol, tapi dengan keberadaan

radikal bebas bersama hidrogen peroksida, produk dari dismutasi radikal bebas superoksida, memberikan efek prooksidatif yang kuat. Ini berarti bahwa radikal bebas hidroksil yang dibentuk dari reaksi superoksida dengan hidrogenperoksida kemungkinan terlibat dalam mekanisme oksidannya.

Diperkirakan rata-rata 1% dari kolesterol yang terdapat dalam makanan sehari-hari dikonsumsi dalam bentuk oksida kolesterol. Sumber COP adalah makanan-makanan yang kaya kolesterol seperti susu, telur, minyak ikan, produk-produk olahan daging dan *seafood*. Rata-rata telur mengandung 200-220 mg kolesterol dan kandungan COP sekitar 0,05-1,50 μ g/g sedangkan kuning telur mengandung COP sekitar 15-120 μ g/g. Produk-produk turunan susu seperti keju, *yoghurt* (susu fermentasi), *evaporated milk* (susu evaporasi) mengandung COP dengan jumlah yang sedikit, dimana hal ini menunjukkan pengaruh metode pengolahan terhadap pembentukan COP, susu bubuk sekitar 1-2,5 μ g/g, *dehydrated cheese* 0,01-0,1 μ g/g,

whole milk powder 0,2-0,8 μ g/g. Pada daging yang dimasak rata-rata terkandung COP sekitar 180-1900 μ g/g. COP yang paling sering ditemukan pada produk makanan adalah *7 α -hydroxycholesterol*, *7 β -hydroxycholesterol*, α -*epoxycholesterol*, β -*epoxycholesterol* dan *7-ketocholesterol* yang dapat ditemukan dalam kisaran jumlah nanogram sampai miligram/g sampel (Valenzuela *et al.*, 2003).

Produk oksidasi kolesterol (COP) yang banyak ditemui pada produk-produk makanan konsumsi adalah *5-cholesten-3 β , 7 α -dial* (*7 α -HC*); *5-cholesten-3 β , 7 β -dial* (*7 β -HC*); *5-cholesten-3 β - α -7-one* (*7-KC*); *5-cholesten-5 α , 6 α -epoxy-3 β - α* (α -*CE*); *5-cholesten-5 β , 6 β -epoxy-3 β - α* (β -*CE*); *5-cholesten-3 β , 20 α -dial* (*20 α -HC*); *5-cholesten-3 β , 25-dial* (*25-HC*) dan *5-cholesten-3 β , 5 α , 6 β -triol* (*CT*). Umumnya panas, pH, cahaya, oksigen, aktivitas (keberadaan) air dan keberadaan asam-asam lemak tak jenuh (*unsaturated fatty acids*) merupakan faktor-faktor utama pembentukan COP selama proses pengolahan dan penyimpanan (Valenzuela *et al.*, 2003).



Gambar 2. Mekanisme terbentuknya COP melalui autooksidasi kolesterol (Ubhayasekera, 2005).



Gambar 3. Jenis dan model penanganan produk perikanan yang potensial membentuk COP (*Cholesterol Oxidation Products*).

COP dalam Jaringan Tubuh

Banyak penelitian telah dilakukan untuk meneliti efek COP jika terasap ke dalam tubuh. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa COP dapat menjadi lebih polar dari kolesterol dan dapat juga diabsorpsi pada saluran pencernaan dengan mekanisme yang sama dengan absorpsi kolesterol.

Seperti dijelaskan di awal bahwa COP diketahui mempunyai aktivitas atherogenik, mutagenik, karsinogenik, angiotoksik, sitotoksik, dapat merusak membran sel dan menghambat biosintesis kolesterol serta menyebabkan atherosklerosis

(Oshima *et al.*, 1996; Zhang, 2005) sehingga berbahaya bagi kesehatan.

Efek-efek sitotoksik, mutagenik dan mungkin karsinogenik beberapa COP telah dikaji pada model-model *in vitro*. Aksi atherogenik COP yang telah didemonstrasikan dalam model pengamatan *in vitro* dan *in vivo*, menunjukkan ekspresi patologi dengan karakterisasi yang terbaik dari oksidasi kolesterol dan sebanding dengan aksi atherodenik dari isomer *trans* asam lemak (Valenzuela *et al.*, 2003).

Menurut Emmanuel *et al.* dalam Valenzuela *et al.* (2003), COP dapat menjadi lebih polar

dari kolesterol dan dapat diabsorpsi di saluran intestinal melalui mekanisme seperti kolesterol terabsorpsi. COP dapat membentuk struktur molekul campuran senyawaan polar dan nonpolar pada intestinal lumen kecil. Linseisen *et al.*, 1998 juga menjelaskan bahwa COP dapat masuk ke sirkulasi darah bersama-sama kolesterol dan *biliary cholesterol* (*endogenous cholesterol*) yang terasap sebagai bagian struktur *chylomicron*. Karena kesamaan pada struktur antara COP dan kolesterol, maka transportasi COP di dalam serum kemungkinan terjadi dengan mekanisme yang sama seperti transportasi kolesterol.

Berdasarkan kesamaan struktur sebagaimana yang terjadi pada transportasi kolesterol, COP juga ditransportasikan oleh *low density lipoproteins* (LDL), demikian pula *high density lipoproteins* (HDL) juga terlibat dalam transportasi COP dari jaringan ke hati. Pada penelitian lain (Björkhem, 2002) ditemukan bahwa COP juga dapat melewati membran lipofilik jauh lebih cepat daripada kolesterol.

Walaupun persentase terbanyak COP diperoleh dari sumber yang dikonsumsi, diasumsikan juga bahwa beberapa sirkulasi COP dapat terbentuk dari proses oksidasi lipoprotein pada darah dan/atau pada metabolisme intraseluler. Turunan COP yang terbentuk secara enzimatik bisa dalam jumlah yang sebanding dengan persentase kolesterol yang ditemukan dalam serum dan jaringan lain (Linseisen *et al.*, 1998).

Keberadaan COP pada Produk Olahan Perikanan

Hasil penelitian seperti telah dijelaskan sebelumnya menunjukkan adanya korelasi antara keberadaan COP dengan kandungan PUFA dalam makanan. Produk olahan perikanan seperti diketahui memiliki kandungan PUFA yang relatif lebih tinggi daripada produk makanan lain yang berarti juga potensi terbentuknya COP khususnya pada hasil olahan produk perikanan menjadi lebih besar daripada produk makanan lain.

Seperti dijelaskan Aitken & Connel dalam Syartiwidya (2003), lemak pada ikan adalah lemak tidak jenuh, yaitu fosfolipid dan trigliserida yang mengandung sejumlah besar asam lemak tidak jenuh (PUFA) yang mudah teroksidasi oleh oksigen selama penanganan, pengolahan dan penyimpanan menghasilkan hidro-

peroksida yang merupakan sumber radikal bebas pada proses selanjutnya.

Dari hasil penelitian Suechin Li *et al.* (1996) yang mencoba mengkaji efek penyimpanan, pemanasan dan keberadaan tokoferol terhadap pembentukan COP dalam minyak makanan, diketahui bahwa kandungan oksida kolesterol pada semua minyak meningkat selama penyimpanan dan pemanasan dimana total oksida kolesterol pada minyak ikan jauh lebih tinggi daripada minyak sayur.

Oshima *et al.* (1996) mencoba mengamati efek pemanggangan terhadap pembentukan COP pada produk *seafood* yang kaya asam lemak tak jenuhnya. Pada pengamatan ini diketahui bahwa level oksida kolesterol pada ikan meningkat sejak pemanasan 6 menit. Pada ikan kering (seperti diamati Chen & Yen, 1994) juga ditemukan kandungan COP sampai level 4,8-65,7 ppm dengan 7α -hydroxycholesterol sebagai produk dominannya. COP lebih besar kemungkinannya didapati pada produk perikanan (*seafood*) daripada produk makanan yang lain (Zang, 2005).

Pada beberapa penelitian mengenai kandungan COP pada produk makanan terdapat kesamaan pandangan bahwa ada korelasi antara kandungan asam lemak pada produk ikan dengan oksida kolesterol yang terbentuk khususnya pengaruh keberadaan asam lemak tidak jenuh (PUFA).

Dari kenyataan tersebut, maka penting untuk dilakukan penelitian yang terkait dengan keamanan pangan produk-produk perikanan terlebih dengan adanya informasi bahwa kandungan logam berat pada produk perikanan dapat menjadi katalisator pada pembentukan COP selama pengolahan

dan penyimpanan (Brandsch *et al.*, 2002).

DAFTAR PUSTAKA

- Björkhem, I. 2002. Do oxysterol control cholesterol homeostasis?, *Journal of Clinical Nutrition*, 110 p.725-730.
- Brandsch, C., Ringseis, R. and Eder, K. 2002. High dietary iron concentrations enhance the formation of cholesterol oxidation products in the liver of adult rats fed salmon oil with minimal effects on antioxidant status, *Nutrient Interaction and Toxicity*, 132 p.2263-2269.
- Chen, J.S. and Yen, G.C. 1994. Cholesterol oxidation products in small sun dried fish, *Food Chemistry*, 50(2) p.167-170.
- Cuppet, S.L. 2002. The use of natural antioxidants in food products of animal origin, *In* Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordan, M. (ed.), *Antioxidants in Food-Practical Application*, Wood Head Publishing Ltd, Cambridge England, (12) 5.
- Jeong, H.K., Su, J.J. and Yong, J.K. 2000. Formation of cholesterol oxides in saury (*Cololabis Seira*, Kongchi) during pan frying, deep fat frying and microwave cooking, *Food Science and Biotechnology*, 9(1) p.48-51.
- Linseisen, J., Hoffmann, J., Riedl, J. and Wolfram, G. 1998. Effect of a single oral dose of antioxidant mixture (VtE and carotenoids) on the formation of cholesterol oxidation products after ex vivo LDL oxidation in humans, *European Journal Medicinal Resources*, 3 p.5-12.
- McLachlan, C.N.S., Catchpole, O.J. and Nicol, R.S. 1990. Removal of lipids from food stuffs, *European Patent*; EP 0 356 165 A1. N2 89-228085 (19890222)
- Nettleton, A.J. 1987. *Seafood and Health for New Zealanders*. David Bateman, Auckland. New Zealand, p. 51-63

- Oshima, T., Shozen, K. and Koizumi, C. 1996. Effects of grilling on formation of cholesterol oxides in seafood products rich in polyunsaturated-fatty acid. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 29(12) p. 94-99
- Saito, C. and Ohuchi, K. 1992. Method of reducing cholesterol concentration in food. *European Patent Application*; EP 0 493 045 A1, JP 90-405028 (19901221)
- Suechin, L.I., Cherian, G., Dong, U. A., Hardin, R.T. and Jeong, S.S. 1996. Storage, heating and tocopherol effect cholesterol oxide formation in food oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(12) p.3830-3834
- Syartiwiidya. 2003. *Kajian Tekstur dan Perubahan Mikrostruktur Nugget Ikan Selama Pengolahan dan Penyimpanan*. Thesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. p.10-14
- Ubhayasekera, S.J.K.A. 2005. *Cholesterol Oxidation Products-Analytical Methods and Levels in Sweets Containing Hested Butter Oil*. Thesis. Supervisor by Dutta PC. Sveriges Lantbruks University. 5 pp.
- Valenzuela, A., Sanhueza, J^o and Nieto, S. 2003. Cholesterol oxidation: Health, hazard and role of antioxidants in prevention. *Journal of Biological Resources*. 36 p.291-302
- Wrezel, P.W., Krishnamurthy, R.G. and Häsenhuettl, G.L. 1992. Method of removing cholesterol from edible oils. *US Patent*; US 5 128 162, US 560366 (19900731)
- Zang, T. 2005. *Cholesterol Oxidation in Roasted Salmon Fish with Different Cooking Oils*. Thesis. Department of Food Science. Louisiana State University. p.10-13.