

ANALISIS KANDUNGAN SULFORAFAN PADA BEBERAPA FASE PERTUMBUHAN DARI BEBERAPA JENIS *BRASSICACEAE*

ANALYSIS OF SULFORAFHAN CONTENT IN SEVERAL GROWTH PHASES OF SEVERAL TYPES OF *BRASSICACEAE*

W. Tilaar, J. Polii Mandang, dan A. Pinarria

^{*)}Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulangi Manado

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine differences in sulforaphane content in sprouts, cauliflower seedlings, mature plants from white flower cabbage, broccoli, cabbage and Chinese cabbage. This research was conducted in Tomohon and analyzed in the Chemistry laboratory of the State Polytechnic of Malang. The research method used was a randomized block design with 4 treatments, namely broccoli, white cauliflower, rock cabbage and Chinese cabbage with 3 repetitions in each growth phase. The results of the analysis of sulforaphane content in the growth phase of sprouts were the highest in broccoli, which was 117.08 ug, higher than white cauliflower (0.72 ug), rock cabbage (16.58 ug) and Chinese cabbage 0.38 ug). Furthermore, in the young plant phase the highest sulforaphane content in broccoli was 0.679 ug compared to white cauliflower (0.018 ug), rock cabbage (0.183 ug), and Chinese cabbage (0.003 ug). Then lastly, the highest sulforaphane content in mature plants was rock cabbage, which was 0.776 ug compared to broccoli (0.148 ug), white cauliflower (0.273 ug), and Chinese cabbage (0.001 ug). So the sulforaphane content in the sprouting phase of broccoli was higher than that of white cauliflower, rock cabbage and cabbage sprouts. Similarly, in young plants and in mature plants, rock cabbage showed higher sulforaphan content.

Keywords: *broccoli, white cauliflower, cabbage and chinese cabbage, sulforaphane, growth phase*

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kandungan sulforafan pada kecambah, bibit kubis bunga, tanaman dewasa dari kubis bunga putih, brokoli, kol dan petsai. Penelitian ini dilaksanakan di Tomohon dan di analisis di laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang. Metode penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok dengan 4 perlakuan yaitu jenis tanaman brokoli, kol bunga putih, kol batu dan petsai dengan diulang 3 kali pada setiap fase pertumbuhan. Hasil Analisis kandungan sulforafan pada fase pertumbuhan kecambah adalah tertinggi pada brokoli yaitu 117,08 ug lebih tinggi dari pada kol bunga putih (0,72 ug), kol batu (16,58 ug) dan petsai 0,38 ug). Selanjutnya pada fase tanaman muda kandungan sulforafan tertinggi pada brokoli yaitu 0,679 ug dibandingkan dengan pada kol bunga putih (0,018 ug), kol batu (0,183 ug), dan petsai (0,003 ug). Kemudian terakhir kandungan sulforafan pada tanaman dewasa yang tertinggi pada kol batu yaitu 0,776 ug dibandingkan brokoli (0,148 ug), kol bunga putih (0,273 ug), dan petsai (0,001 ug). Jadi kandungan sulforafan pada fase pertumbuhan kecambah dari brokoli lebih tinggi dibandingkan pada kecambah pada kol bunga putih, kol batu dan pada kecambah petsai. Demikian pula pada tanaman muda dan pada tanaman dewasa menunjukkan kol batu lebih tinggi kandungan sulforafannya.

Kata kunci : *brokoli, kol bunga putih, kol batu dan petsai, sulforafan, fase pertumbuhan*

PENDAHULUAN

Brassicaceae adalah tanaman sayuran yang termasuk dalam suku kubis-kubisan. Jenis sayuran kubis cukup populer sebagai bahan pangan. Brokoli paling mirip dengan kembang kol, namun brokoli berwarna hijau, sedangkan kembang kol berwarna putih. Brokoli merupakan tanaman yang hidup pada habitat yang bercuaca dingin (Anonimous, 2009). Selanjutnya kol atau kubis serta petsai hanya dikonsumsi daunnya. Tanaman-tanaman tersebut merupakan tanaman endemik dimana hanya terdapat pada tempat-tempat tertentu dan dapat beradaptasi di beberapa tempat di Indonesia. Selain mengandung gizi, tanaman brokoli, kembang kol, kubis dan petsai mengandung suatu senyawa yang sangat bermanfaat bagi kesehatan manusia.

Sayuran jenis kubis- kubisan disebutkan paling kaya zat antioksidan, baik dalam hal jumlah maupun jenisnya. Senyawa antioksidan yang penting tersimpan dalam jenis kubis adalah sulforafan. Selain itu, sayuran ini mengandung betakaroten, kuersetin, glutatoin. Brokoli, kembang kol atau kubis bunga putih, kol, dan petsai terutama amat penting bagi wanita, karena mampu membuang kelebihan estrogen berbahaya yang berpotensi membangkitkan kanker. Bagi penderita kencing manis (diabetes mellitus), sayuran tersebut membantu meredakan melonjaknya kadar gula darah, karena sayuran tersebut sangat kaya mikromineral kromium. Untuk itu, makanan penderita diabetes disarankan lebih sering memanfaatkan sayuran kelompok kubis-kubisan, terutama brokoli (Apriadi, 2008).

Sayuran *Brassicaceae* ini mengandung lemak, protein, karbohidrat, serat, air, zat besi, kalsium, mineral, dan bermacam vitamin (A, C, E, riboflamin, nikotinamide). Sayuran tersebut mengandung sulforafan, yaitu suatu senyawa pencegah penyakit kanker. Sehingga brokoli dan sayuran kubis lainnya dikelompokkan sebagai tanaman obat (Jeffery dan Araya, (2008). Brokoli dan jenis kubis berkhasiat mempercepat penyembuhan penyakit serta mencegah dan menghambat perkembangan sel-sel kanker di dalam tubuh, terutama penyakit kanker yang berkaitan dengan hormon, seperti kanker payudara pada

wanita dan kanker prostat yang mengancam pria. Ini terbukti melalui penelitian yang dilakukan tim epidemiologi dari Harvard University. Tanaman ini sangat baik dikonsumsi penderita kencing manis. Kandungan *chromium* dan seratnya dapat mengatur kadar gula darah. Brokoli dan jenis kubis lainnya memperkuat sel-sel tulang. Apabila dikonsumsi sejak muda, mencegah penyakit pengeroposan tulang (*osteoporosis*) di usia tua. *Brassicaceae* berkasiat pula menghadang penyakit kulit seperti abses atau bisul (Dalimartha, 2005) dan (Jeffery dan Araya, 2008).

Melihat manfaat tanaman sayuran tersebut maka perlu untuk diteliti pada fase pertumbuhan mana dan jenis kubis mana yang memiliki kandungan sulforafan yang tertinggi secara *in vivo*.

Dari uraian pada bagian sebelumnya, maka permasalahan yaitu Berapa kandungan sulforafan pada kecambah, bibit (tanaman muda) dan tanaman dewasa dari kubis bunga putih, brokoli, kol dan petsai.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kandungan sulforafan pada kecambah, bibit kubis bunga, tanaman dewasa dari kubis bunga putih, brokoli, kol dan petsai. Melalui penelitian tersebut banyak masyarakat mengetahui tentang kandungan sulforafan yang tertinggi baik dari fase tumbuh maupun pada masing-masing jenis kubis.

RIP DAN ROAD MAP PENELITIAN PERGURUAN TINGGI

Berdasarkan Rencana Induk Perguruan Tinggi bahwa diarahkan kepada penelitian dibidang Pangan, sebab itu dipilih pengembangan penelitian tentang sayuran kubis sebagai bahan makanan sayuran dimana mengandung Karbohidrat, protein, vitamin serta mengandung senyawa antikanker yaitu sulforafan. Adapun penelitian sudah dilakukan adalah khusus secara *in vitro* (kultur Jaringan) pada tanaman brokoli. Penelitian yang telah dilakukan adalah :

1. Mikropropagasi brokoli dan studi aktifitas enzim peroksidase, katalase dan glutamat dehidrogenase selama pertumbuhan *in vitro*. (1990)

2. Mikropropagasi brokoli dan analisis sulforafan selama pertumbuhan in vitro (2012)
3. Induksi kalus dan Tunas dari eksplan pucuk Brokoli dalam media MS yang diberikan NAA dan BAP. (2014).

Dengan adanya penelitian pada waktu yang lalu dimana terfokus pada kultur in vitro, maka saat ini kami akan mengarahkan pada penelitian secara in vivo namun dikaitkan dengan beberapa jenis kubis lainnya dan melakukan analisis sulforafan.



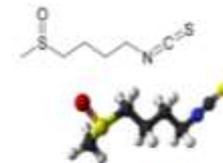
Sulforafan

Sulforafan adalah senyawa *organosulfur* yang menunjukkan antikanker, antidiabetik, dan memiliki antimikrobia. Ini dihasilkan oleh sayuran *crucifera* seperti *broccoli*. Enzim *myrosinase* mempercepat reaksi *glucoraphanin*, kelompok *glucosinolate*, menjadi sulforafan pada tanaman ini. Bibit brokoli dan kauliflora khususnya kaya *glucoraphanin*. Sulforafan diidentifikasi pada bibit brokoli, mempunyai konsentrasi yang sangat tinggi. Itu juga ditemukan pada kubis tunas, kubis bunga putih, kubis putih, kale, kubis rabi, sesawi, lobak, turnip, dan selada air.

Sulforafan, atau (*R*)-1-isotiosiano-4-metil-sulfonil butana, adalah salah satu fitokimia yang berasal dari molekul gula menjadi glukosinolat. Setelah dimakan sulforafan akan terpisah dari molekul gula (<http://id.wikipedia/wiki/sulforafana> 2009). Ding, Zhou, dan Cao, (2006). mengemukakan bahwa bioaktif sulforafan sangat tinggi khasiatnya dan kandungannya di alam sedikit, dengan adanya

penelitian maka sangat nyata pentingnya. Sulforafan atau *4-methylsulfinyl butana isothiocyanat* dipertimbangkan sebagai zat yang berpotensi dalam menginduser enzim protein fase II (*glutathion transferase*, NADPH, *quinon reduktase* sebagai penghambat yang kuat dari enzim fase I (*cytochrom P-450*) 1,2. Dikatakan bahwa, laju detoksifikasi pada fase II meningkat dan aktivasi dari *carsinogen* selama fase I relatif berkurang, selanjutnya sulforafan berperan penting dalam pencegahan kanker. Secara alami, itu dihasilkan melalui hidrolisasi dari *glukorafanin* membentuk sulforafan. Untuk senyawa ini dimiliki oleh *family Cruciferae*, yang ditemukan sebagai kaya *glucorafanin* yaitu sekitar 1- 2% khususnya dari genus *Brassica*. *Glukorafanin* ini akan diubah menjadi sulforafan sehingga orang-orang yang mengkonsumsi sejumlah besar buah dan sayuran *Crusiferae* mengurangi resiko perkembangan kanker.

Adapun struktur dari sulforafan dapat dilihat dibawah ini.



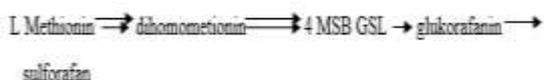
Struktur sulforafan
 RumusMolekul C₄H₉NO₂
 Massa 177.23 g mol⁻¹

Biosintesis Sulforafan

Khusus untuk sulforafan, Li *et al* (2010), mengatakan bahwa sulforafan dengan 1-5 umol/l menurunkan aldehyd dehydrogenase dan populasi sel yang positif terkena kanker yaitu sebesar 65 – 80 % pada sel-sel batang kanker manusia (P< 0,01) dan mengurangi ukuran dan jumlah dari mammosphere sekitar 8 – 125 kali dan 45 – 75 % (P, 0,01). Ia menyimpulkan bahwa sulforafan menghambat sel-sel kanker dan mengatur lintasan Wnt/β-catenin kembali.

Zat antioksidan terdapat dua tipe yaitu tipe langsung dan tak langsung. Tipe langsung merupakan substansi yang membantu dalam proses fisiologi, biokimia dan proses seluler contoh

glutation, tocopherol, ascorbic acid dan *caretenoid*. Sedangkan antioksidan tidak langsung merupakan substansi yang tidak mampu membantu dalam reaksi radikal atau reaksi redoks tetapi ini didalam sel mampu dengan berbagai jenis mekanisme untuk detoksifikasi dan menginduksi perlindungan terhadap hewan serta sel-selnya menolak karsinogen dan *mutagenesis*, contoh *glutation transferase, NAD(P)H reduktase, epoxide hydrolase* dan *heme oxygenase* yang berperan dalam induser fase II (Fahey dan Talalay (1999)). Dikatakan bahwa sulforafan merupakan antioksidan yang termasuk tipe tidak langsung. Keck dan Finley (2004) dan juga Ding, Zhou dan Cao (2006) menyatakan bahwa sulforafan dihasilkan melalui *hydrolysis glukosinolat*. Kemudian Berhow, Vermillion, Jham, Tisserat dan Vaughn (2010) menyatakan bahwa salah satu golongan *glukosinolat* adalah *glukorafanin* yang dengan bantuan *myrosinase* membentuk sulforafan. Adanya proses hidrolisis dengan enzim *myrosinase* maka terbentuk sulforafan. Senyawa glukorafanin serta sulforafan banyak terdapat pada Brassica serta *euporbiaceae*. Sarikamis et al (2006) mengemukakan pula bahwa biosintesis sulforafan adalah sebagai berikut:



Skema Biosintesa sulforafan berdasarkan Sarikamis et al (2006)

Keterangan : 4 MSB GSL (4 metilsulfonilbutyl glukosinolat).

Kandungan komponen bioaktif dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan genetik tanaman tersebut. Menurut Jeferey et al (2003). pada brokoli, kandungan dari glukosinolat dan produk hidrolisis bioaktifnya bervariasi dipengaruhi oleh genetik dan lingkungan.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Kaskasen Tomohon dan Laboratorium Jurusan Teknik kimia Politeknik Negeri Malang. Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah sonicleaner, hot plat, sentrifuga, mortal dan alat-alat gelas lainnya. , perangkat *Liquid Chromatography Mass spectroscopy Mass Spectroscopy*, kolom shim-Pack XR-ODSIL (50 mm x 2,0 mm I.D.), fase gerak A : 5 mmol/l ammonium format-air, fase gerak B : asetonitril, laju pengaliran 0,3 ml/menit, volume injeksi 5 ul, temperature kolom 40 0 C, pengaliran gas 1,5 l/menit, tekanan gas kering 10 l/menit.

Bahan-bahan yang digunakan adalah bibit kecambah, bibit pindah tanam 2 minggu, daun tanaman dewasa dari kubis bunga putih, kubis bunga hijau (brokoli), Kol, dan petsai serta senyawa kimia untuk ekstraksi. Bahan-bahan tersebut antara lain methanol p.a, asetonitril, ammonium format dan akuades, dan standart sulforafan. ekstrak biji brokoli.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok dengan 4 perlakuan yaitu jenis tanaman brokoli, kol bunga putih, kol batu dan petsai dengan diulang 3 kali pada setiap fase pertumbuhan yaitu fase kecambah (umur 12 Hari) ; fase bibit atau tanaman muda umur 1 bulan dan fase dewasa umur berbunga atau sekitar 2,5 bulan. Variabel yang diamati kandungan sulforafan secara kualitatif dan kuantitatif pada daun dari jenis-jenis kubis tersebut. **Cara kerja :**

1. Ekstraksi dan isolasi sulforafan

Ekstraksi sulforafan diawali dengan penimbangan berat bibit kecambah, bibit pindah tanam 2 minggu, daun dan bunga tanaman dewasa dari kubis bunga putih, kubis bunga hijau (brokoli), Kol, dan petsai. Bahan-bahan tersebut ditimbang pada timbangan digital. Kemudian dimasukkan pada mortal dan ditambahkan dengan 1 -2 ml metilklorida dan digerus sampai hancur. Tunas-tunas brokoli yang telah digerus dipindahkan ke tabung flash dan ditambahkan dengan 25 – 50 ml metilklorida. Selanjutnya dilakukan sonifikasi selama 30 menit untuk mengeluarkan sulforafan dari jaringan tunas brokoli, kembang kol, kol dan petsai. Kemudian ekstrak sulforafan yang dihasilkan disaring menggunakan kertas waltmen dan dipindahkan ke suatu tabung dan diletakan pada kotak pemanas

atau hot plat dengan tempertaur 70 sampai 80 °C sampai menghasilkan supernatant. Residu yang kering ini ditambahkan 5 ml NaSO4 dan dipanaskan kembali pada hot plat dengan 70 sampai 80 °C sampai supernatant kering. Residu yang kering ini ditambahkan 10 ml asetonitril, kemudian disaring dengan kertas waltmen dan larutan tersebut disentrifuge selama 15 menit dengan 4000 rpm. Terakhir larutan yang mengandung residu tadi dipindahkan ke microtube dan di masukan ke LC tandem MS untuk menentukan kandungan sulforafan tunas.

2. Analisis kualitatif dan kuantitas sulforafan

Analisis kualitatif dan kuantitatif untuk sulforafan dilakukan dengan alat LC MSMS Plus. Fase gerak A : 5 mmol/l ammonium format-air, fase gerak B : asetonitril, laju pengaliran 0,3 ml/menit, volume injeksi 5 ul, temperature kolom 40 0 C, pengaliran gas 1,5 l/menit, tekanan gas kering 10 l/menit. Panjang gelombang UV yang digunakan untuk mendeteksi sulforafan adalah 254 nm. Sebelum analisis dilakukan , terlebih dahulu dilakukan filtrasi terhadap fase gerak dan larutan sampel dengan membrane filter selulosa asetat (PTFE) 0,4 um. Sebagai senyawa pembanding digunakan sulforafan standart yang diperoleh dari Pusat Ilmu Pengetahuan Biofarma. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi antara sulforafan standar dengan waktu retensi sampel. Bila dalam sampel terdapat senyawa yang mempunyai waktu retensi sama dengan sulforafan standar , maka senyawa tersebut adalah sulforafan. Koinjeksi standar dan sampel dilakukan untuk memastikan keberadaan sulforafan pada sampel.

Analisis kuantitatif untuk mendapatkan konsentrasi sulforafan diperoleh dengan cara mengkonversikan luas area sampel dengan luas area standar yang telah diketahui konsentrasinya pada kurva kaliberesi standar. Kurva kalibrasi standar diperoleh dari data luas area berbagai konsentrasi larutan sulforafan standar kemudian dibuat hubungan antara luas area dengan kandungan sulforafan.

Analisis Data

Data dikumpulkan, ditabulasi dan dianalisis secara statistik untuk penarikan kesimpulan . Data hasil penelitian akan disajikan dalam bentuk table. Uji statistik dengan melakukan perhitungan dengan cara penjumlahan dan untuk mengetahui perbedaan rataan kandungan sulforafan pada bibit kecambah, bibit pindah tanam 2 minggu, daun tanaman dewasa dari kubis bunga putih, kubis bunga hijau (brokoli), Kol, dan petsai dilakukan dengan penimbangan berat masing-masing jenis kubis merata-ratakan hasil tersebut dan dianalisis kandungan sulforafan menurut fase pertumbuhan (kecambah, bibit umur 2 minggu pindah tanam, tanaman dewasa) dari masing-masing jenis sayuran kubis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentersasi tertinggi pada fase pertumbuhan kecambah adalah pada jenis brokoli yang tertinggi. Hal ini terlihat pada table dibawah ini.

Kandungan Sulforafan untuk kecambah ug/g

Perlakuan	I	II	II	rata-rata
Brokoli	176.25	115.63	59.37	117.08
Koll Bunga	0.20	0.76	1.19	0.72
Koll Batu	32.99	5.54	11.21	16.58
Petsai	0.33	0.09	0.71	0.38

Hasil rata-rata kandungan sulforafan pada kecambah dari jenis-jenis kubis menunjukkan bahwa pada brokoli jauh lebih besar dibandingkan dengan kandungan sulforafan yang ada pada kecambah kol bunga putih, koll batu dan petsai.

Kandungan Sulforafan untuk tanaman muda ug/g

Perlakuan	I	II	II	rata-rata
Brokoli	0.325,63	1.040,80	0.671,44	0,679,29
Koll Bunga	0.018,59	0.004,26	0.032,20	0.018,35
Koll Batu	0.169,93	0.137,24	0.242,83	0,183.33
Petsai	0,006,61	0.003,70	0.000	0.003,44

Pada tanaman muda yaitu berumur 1 bulan di pertanaman menunjukkan bahwa kandungan sulforafan pada tanaman muda brokoli masih lebih tinggi dibanding kol bunga putih, kol batu dan petsai.

Kandungan Sulforafan untuk tanaman dewasa ug/g

Perlakuan	I	II	III	rata-rata
Brokoli	0.095,82	0.222,71	0.125,80	0.148,11
Kolli Bunga	0.061,78	0.195,40	0.564,76	0.273,98
Kolli Batu	0.248,68	2.028,92	0.053,12	0.776,91
Petsai	0.00041	0.002,27	0.001,82	0.001,50

Pada table diatas menunjukkan bahwa kol batu lebih besar kandungan sulforafan dan diikuti dengan kol bunga putih dan brokoli serta petsai.

Selanjutnya kandungan sulforafan antara fase pertumbuhan menunjukkan bahwa pada kecambah brokoli lebih tinggi kandungannya dibandingkan pada tanaman muda dan dewasa baik pada brokoli sendiri maupun pada antar jenis kubis.

KESIMPULAN

Kandungan sulforafan tertinggi pada kecambah brokoli baik dibandingkan dengan jenis kubis lainnya baik pada fase pertumbuhan maupun antar jenis kubis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 2009. Brokoli. http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu =2&id=207. (Diakses pada hari Senin tanggal 20 Februari 2009 pukul 09.00 WIB).pp. 1
- Apriadi, W.H. 2008. Menimbang Keunggulan Sayuran Daun pp. 1.
- Berhow M.A , K. Vermillion, G.N Jham, B. Tisserat and S.F. Vaughan, 2010. Purification of a Sinapine-Glucoraphanin Salt From Broccoli Seeds. American Journal of Plant Sciences (1):113-118.
- Dalimartha, S. 2005. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2. Trubus Agriwidya. Jakarta. 214 hlm
- Ding.T.j , L. Zhou and X. P. Cao, 2006. A Facile and Green Synthesis of Sulforaphane. Chinese Chemical Letters Vol. 17 (9) : 1152-1154.
- Jeffery E.H and M. Araya. 2009. Physiological Effects of Broccoli Consumption. Phytochem Rev. (2009) 8: 283-298.
- Keck A.S and J.W Finley, 2004. Cruciferous Vegetables : Cancer Protective Mechanisms of Glucosinolate Hydrolysis Products and Selenium. Intregative Cancer Therapies 3(1) p. 5-12.
- Li Y, T.Zhang, H. Korkaya, S. Liu, H.F Lee, B. Newman, Y.Yu, S.G Cluthien, S.J Schwartz, M.S. Wicha and D. Sun, 2010. Sulforaphane, a Dietary Component of Broccoli/Broccoli Sprout, Inhibits Breast Cancer Stem Cel. Clinical Cancer Research. 16(9):2580-2590.
- Sarikamis G, J. Marquez, R. MacCormack, R.N Bennett, J.Roberts and R. Mithen, 2006. High Glucosinolate Broccoli : a Delivery System for Sulforaphane. Mol.Breeding (18):219-228