

SAMBAL, MAKANAN KHAS INDONESIA YANG BERPOTENSI MENCEGAH ATEROSKLEROSIS DAN KANKER, SERTA KAJIAN TITIK KRITIS KEHALALANNYA

SAMBAL, INDIGENOUS FOOD FROM INDONESIA : POTENTIALLY PREVENT ATHEROSCLEROSIS AND CANCER, AND STUDY OF ITS HALAL CRITICAL POINTS

R Hutami

Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Ilmu Pangan Halal Universitas Djuanda Bogor, Jl. Tol Ciawi No. 1, Kotak Pos 35 Ciawi, Bogor 16720.

Korespondensi: Rosy Hutami E-mail: rosy.hutami@unida.ac.id

(Diterima oleh Dewan Redaksi:09-03-2015)
(Dipublikasikan oleh Dewan Redaksi:01-04-2015)

ABSTRACT

Capsaicin is one of the active components in the family *Capsicum* sp. that can inhibit the oxidation of low density lipoprotein (LDL), cause of atherosclerosis. The aim of this review is to examine the capsaicin's anti-atherosclerosis and anti-cancer activities. The anti-atherosclerosis study was by measuring the value of Tbar (malonaldehid) by in vitro study, whereas the anticancer study was by observing the inhibition of MDA-MB-231 breast tumor cells by in vitro study. Based on this review, Capsaicin can reduce 28.7% of oxidation LDL mice plasma and can inhibit 70% of tumor cells growth. Further studies are needed to confirm this, especially when applied to the human body. Halal critical point in sambal production mostly comes from the additives and processing aid. For example is sugar which is used ion exchange resin and bleaching agent in their refining process. Ion exchange resin has possibility in containing animal gelatin and the bleaching agent can be produce from animal skin/bone. All of them are critical for the product halalness.

Key words: anti-atherosclerosis, anti-cancer, capcaisin, LDL.

ABSTRAK

Capsaicin salah satu komponen aktif pada keluarga *Capsicum* sp. yang dapat menghambat proses oksidasi lipoprotein densitas rendah (LDL) penyebab aterosklerosis. Review ini bertujuan untuk mengkaji efek capsaicin pada sambal dalam mencegah aterosklerosis dan kanker. Pengujian aktivitas *capsaicin* sebagai anti-aterosklerosis dilakukan secara in vitro melalui pengukuran nilai TBAR (malonaldehid), sedangkan pengujian sebagai anti-kanker dilakukan secara in vitro dengan mengamati penghambatan terhadap sel tumor payudara yaitu sel MDA-MB-231. Berdasarkan review ini didapatkan hasil bahwa *Capsaicin* dapat menurunkan tingkat oksidasi LDL plasma mencit sebesar 28.7%, dan menghambat sel tumor sebesar 70%. Dibutuhkan studi lebih lanjut untuk mengonfirmasi hal ini terutama jika diaplikasikan pada tubuh manusia. Titik kritis pada produk sambal umumnya berasal dari bahan tambahan dan bahan penolong yang digunakan. Contohnya adalah gula pasir yang kemungkinan menggunakan resin penukar ion dan *bleaching agent* pada proses rafinasinya. Resin penukar ion memiliki kemungkinan menggunakan gelatin hewani dan *bleaching agent* dapat berasal dari kulit/tulang hewan. Hal-hal tersebut merupakan bahan kritis bagi kehalalan suatu produk sehingga perlu dikritisi.

Kata kunci : antiateroskelosis, antikanker, capcaisin, LDL.

PENDAHULUAN

Sambal merupakan makanan khas Indonesia, yang sangat familiar dan digemari oleh masyarakatnya. Selain disukai berbagai kalangan, makanan ini dikonsumsi dengan intensitas yang cukup sering. Sambal merupakan bentuk *puree* atau halusan cabai (*Capsicum sp.*) dengan atau tanpa bahan tambahan seperti garam, bawang merah, dan bawang putih. Rasanya khas yaitu pedas akibat adanya komponen fenolik yang terkandung di dalamnya. Komponen ini diidentifikasi sebagai *capsaicin* (Oyagbemi *et al.*, 2010).

Selain karena peranannya dalam memberikan rasa yang khas pada sambal, capsaicin memiliki efek dapat meningkatkan nafsu makan dan kontrol appetit (Yoshioka *et al.*, 1998). Efek ini berhubungan dengan meningkatnya aktivitas impuls syaraf simpatik (Yoshioka *et al.* 1998; Kawada *et al.* 1988; Kawada *et al.* 1986; Yoshioka *et al.* 1999). Gambar sambal disajikan pada Gambar 1.



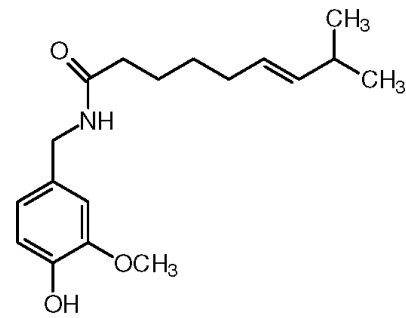
A



B

Gambar 1. A : Sambal rumahan,
B : Sambal pabrikan
(Arul, 2012; Atom, 2015)

Capsaicin (trans-8-methyl-N-Vanilyl-6-nonenamide) merupakan komponen pemberi rasa pedas yang ditemukan pada cabai merah, cabai rawit, dan cabai keriting. Capsaicin umumnya digunakan sebagai bumbu, bahan tambahan pangan, dan obat-obatan (Cordell *et al.* 1993). *Capsaicin* terdapat pada tumbuhan dari genus *Capsicum* dan keluarga *Solanaceae* (Oyagbemi *et al.* 2010). Gambar *capsaicin* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. *Capsaicin* (William, 2000)

Efek dari ekstrak *capsaicin* murni terhadap beberapa penyakit degeneratif seperti kanker payudara, kanker kolon, diabetes, dan aterosklerosis sudah banyak diteliti dan didiskusikan (Surh *et al.* 2000). Namun, informasi yang menyajikan data mengenai aktivitas *capsaicin* yang masih terikat dalam matriks pangan (cabai) terhadap penghambatan beberapa penyakit degeneratif seperti kanker dan aterosklerosis masih sangat terbatas. Review ini ditujukan untuk mengevaluasi efektivitas *capsaicin* yang masih terikat dalam matriks pangan (dalam bentuk sambal) dalam menghambat kanker dan aterosklerosis.

Kerusakan oksidatif pada tingkat seluler dan subseluler saat ini diyakini sebagai hal yang penting pada penyakit kardiovaskular, penyakit peradangan, kanker, dan penuaan. Pada manusia, *low-density lipoprotein* (LDL) plasma yang merupakan kendaraan untuk mentransport kolesterol ditengarai sebagai faktor utama penyebab terjadinya penyakit aterosklerosis pada pembuluh darah (Grundy *et al.* 1986). Oksidasi LDL diyakini berperan penting dalam terbentuknya aterosklerosis (Stamler *et al.* 1986). Penghambatan oksidasi LDL dapat mengurangi resiko aterosklerosis. Antioksidan terbukti secara *in vitro* dan *in vivo* dapat menghambat oksidasi LDL terutama antioksidan yang berasal dari rempah, seperti curcumin (kunyit), capsaicin (cabai merah), dan eugenol (cengeh) terbukti memiliki aktivitas penghambatan oksidasi lebih baik (Miyagi *et al.* 1997). Dengan demikian, *capsaicin* dipilih untuk dianalisis aktivitas dan peranannya terhadap penghambatan aterosklerosis.

Selain mengevaluasi aktivitasnya sebagai antiateroskelosis, capsaicin juga merupakan fitokimia yang mampu menekan pertumbuhan sel tumor dengan menginduksi terjadinya apoptosis (Yun *et al.* 1999). Terjadinya apoptosis berhubungan dengan peningkatan yang signifikan dari produksi *reactive oxygen species* (ROS) di dalam sel. Proliferasi seluler diketahui memegang peranan utama dalam mulitahap karsinogenesis terkait dengan adanya perubahan genetik yang disebabkan, sehingga proliferasi sel merupakan sebuah penanda penting bagi pencegahan kanker (Hanai *et al.* 2002; Bernatchez *et al.* 1999). Efek penghambatan *capsaicin* terhadap perkembangan kanker di berbagai organ telah banyak dilaporkan (Kundu *et al.* 2009). Pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini, merupakan penelitian untuk mengetahui aktivitas *capsaicin* terhadap pertumbuhan sel kanker payudara MDAMB-231, MCF-7, dan sel normal non-tumorigenik epitel payudara.

MATERI DAN METODE

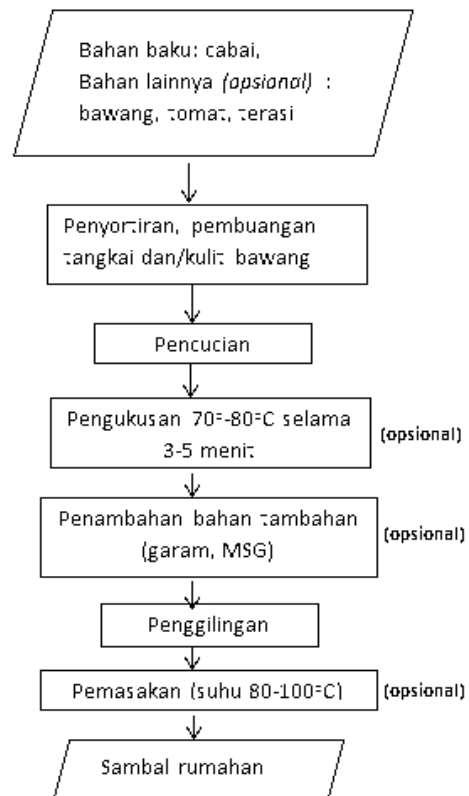
Pembuatan Sambal Rumahan

Materi

Cabai rawit, cabai merah, bawang merah, bawang putih, air, garam, gula pasir, gula merah, dan terasi, minyak goreng.

Diagram Alir

Diagram alir pembuatan sambal rumahan disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan sambal rumahan

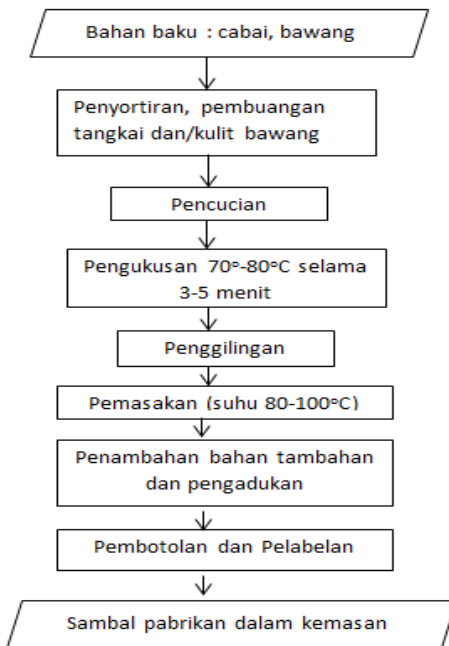
Pembuatan Sambal Pabrik

Materi

Cabai rawit, cabai merah, rempah-rempah, minyak goreng, tomat, terasi, bawang putih, tepung jagung, air, ubi, garam, penguat rasa, pengemulsi nabati, pengawet, gula pasir, cuka.

Diagram Alir

Diagram alir pembuatan sambal pabrikan disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir pembuatan sambal pabrikan (Asni dan Novalinda, 2010)

Pengaruh konsumsi capsaicin terikat matriks terhadap oksidasi LDL (Susmiati *et al.* 2010; Hansson *et al.* 2009; Hansson *et al.* 2005; Franke *et al.* 2006)

Materi

Penelitian terhadap efek capsaicin terikat matriks (sambal) terhadap pencegahan aterosklerosis ini mempergunakan 16 ekor mencit jantan. Total LDL diisolasi dari plasma darah mencit.

Bahan kimia yang digunakan antara lain *Bovine Serum Albumine* (BSA, Sigma), DMEM (Gibco, Cat. no. 12100-046), asam tiobarbiturat (TBA, Sigma), kupri sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), kalium tartat, natrium hidroksi, asam trikloro asetat (TCA, merck), natrium klorida, benzidin HCl dan asam 1,1,3,3-tetra metoksi propan (TMP, Sigma), Ficoll-Paque Plus Amersham, Biociences), medium RPMI-1640 (Sigma), *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), *Fetal Bovine Serum* (FBS, Sigma), *Asam Thiobarbiturat* (Sigma), *Bovine Serum Albumine* (BSA, Sigma), antibiotik (penisilin, streptomisin), asam tiobarbiturat (TBA, Sigma), kupri sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), kalium tartat, natrium hidroksi, asam trikloro asetat (TCA, merck), natrium klorida,

benzidin HCl dan asam 1,1,3,3-tetra metoksi propan (TMP, Sigma).

Alat yang dipergunakan antara lain ultrasentrifugasi Beckman XL-90 dengan rotor *swing-40*, sentrifugasi berkecepatan rendah Beckman dengan *rotor swing Bucket* 3750 rpm, tabung polialomer, mikroskop, spektrofotometer UV-Vis DMS 100 (varian), *vortex*, filter *Millipore* 0,45, *waterbath*, hemositometer, cawan kultur sel, *flask* kultur, pipet mikro dan alat gelas lainnya.

Prosedur Pengumpulan Data

Isolasi LDL

LDL plasma diisolasi dari dua kelompok mencit di mana masing-masing kelompok terdiri dari delapan ekor mencit. Kelompok pertama merupakan kelompok yang diberi pakan dengan 0,015 g capsaicin/100 gram ransum dan kelompok lainnya merupakan kontrol.

Pada tahap awal, tikus diadaptasikan selama 2 minggu dan kemudian diberi pakan aterosogenik selama 3 bulan (Adams *et al.* 1985). Tikus dipuasakan selama 24 jam sebelum pengambilan plasma darah pada vena femoralis dan disedasi menggunakan ketamin 10-15 mg/kg bobot badan.

Isolasi LDL dilakukan sesuai metode yang dilakukan oleh Sulistiyani *et al.* (1991) Plasma darah dipisahkan melalui sentrifugasi selama 30 menit dengan menggunakan Beckman GS-6R *low speed centrifuge* dengan kecepatan 1.800 g pada suhu 4°C. Selanjutnya, sebanyak 8 ml plasma darah dimasukkan ke dalam tabung polialimer dan ditambahkan 5 ml larutan 0,9% NaCl- 0,01% EDTA (b/v) secara hati-hati hingga tabung penuh. Larutan NaCl-EDTA ini berfungsi sebagai gradien densitas. Plasma darah disentrifus menggunakan ultrasentrifugasi Beckman XL-90 dengan rotor SW 40 pada suhu 4°C selama 20 jam dengan kecepatan 23.000 g. Dari pemusingan diperoleh β -VLDL yang terpisah, dengan cara mengambil lapisan bagian bawah ($d > 1,006$ g/ml) adalah LDL dan lapisan atas ($d < 1,006$ g/ml). Lapisan bawah ini ditambahkan KBr sebanyak 0,1109 g/ml kemudian dicampur hingga larut dan merata. Campuran larutan

tersebut diambil 9 ml dan dipindahkan ke dalam tabung sentrifus polialimer yang baru dan ditambahkan 4 ml KBr ($d=1,063 \text{ g/ml}$) yang mengandung larutan 0,9% NaCl-0,01% EDTA, lalu disentrifus dengan menggunakan ultrasentrifugasi dengan rotor SW-40 pada kecepatan $23000g$ pada suhu 4°C selama 24 jam, dari pemusingan akan diperoleh LDL pada lapisan atas dan dipisahkan dengan menggunakan alat pemotong tabung. Fraksi LDL selanjutnya dilakukan proses dialisis dengan larutan 0,9% NaCl-0,01% EDTA, pH 7,4/ 4°C dilakukan $3 \times 2 \text{ L}$ selama 72 jam. LDL yang diperoleh disaring dengan *millipore* $0,45 \mu\text{m}$. Fraksi yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C kemudian dilakukan pengujian terhadap kandungan protein dengan uji *Lowry* dan *bovine serum albumin* (BSA) digunakan sebagai standar.

Oksidasi LDL

Sediaan LDL yang telah diukur proteinnya di-dialisis kembali menggunakan larutan 0,9% NaCl-0,01% EDTA, pH 7,4/ 4°C dilakukan $3 \times 2 \text{ L}$ selama 72 jam. Oksidasi LDL dilakukan dengan menginkubasikan LDL dengan CuSO_4 $5 \mu\text{mol}$ dalam inkubator 37°C selama 4 jam. Derajat oksidasi LDL yang terbentuk diukur dengan uji asam tiobarbiturat yang umumnya adalah malonaldehida (Conti *et al.* 1991; Rafisi *et al.* 1992).

Pengaruh jenis cabai dan konsentrasi capsaicin terhadap penghambatan kanker (Dan Dou *et al.* 2011)

Materi

Cabai segar dari 10 varietas diperoleh dari pedagang lokal. Setiap varietas memiliki kandungan capsaicin yang berbeda-beda dalam skala Scoville (Tabel 1). Cabai habanero yang dikeringkan (P10) digunakan sebagai pembanding.

Tabel 1. Sepuluh varietas cabai dan kandungan *capsaicinnya* (skala Scoville)

Pepper	Scoville units
P1 (Bell pepper)	0
P2 (Pimento pepper)	100–500
P3 (Poblano pepper)	1,000–1,500
P4 (Anaheim pepper)	500–2,500
P5 (Hungarian wax pepper)	4,500–5,000
P6 (Jalapeño pepper)	2,500–8,000
P7 (Serrano pepper)	10,000–20,000
P8 (Cayenne pepper)	30,000–50,000
P9 (Thai pepper)	50,000–100,000
P10 (Habanero pepper)	100,000–350,000

Sumber : Dan Dou *et al.* (2011)

Preparasi Ekstrak dari Buah Cabai Utuh Segar

Cabai segar ditimbang dan digerus dengan menggunakan mortar batu, dan 100% etanol ditambahkan sehingga didapatkan konsentrasi 1 g cabai/1 ml etanol. Buah cabai yang digunakan adalah keseluruhan cabai untuk mendapatkan efek pedas yang relevan. Etanol digunakan sebab *capsaicinoids* bersifat sangat hidrofobik sehingga dibutuhkan solven yang nonpolar. Campuran yang didapatkan ditempatkan pada penggoyang selama semalam pada suhu ruang. Selanjutnya campuran ini disentrifus pada 20.000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatannya. Supernatan (ekstrak cabai) selanjutnya disimpan pada suhu 4°C . Seratus persen alkohol secara periodic digunakan selama percobaan untuk memverifikasi bahwa konsentrasi etanol tidak memiliki peranan yang signifikan di dalam aktivitas biologis ekstrak cabai.

Kultur Sel

Sel kanker payudara manusia MDA-MB-231 dan MCF-7 ditumbuhkan pada DMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA) sementara sel T Jurkat ditumbuhkan pada medium RPMI (Invitrogen, Carlsbad, CA). Kedua media

tersebut disuplementasi dengan 10% *fetal bovine serum*, 100 unit/ml penisilin, dan 100 µg/ml streptomisin. Sel epitel non-tumorigenik MCF-10A (dianggap sebagai sel epitel payudara normal) dipropagasi pada DMEM/F12 (Invitrogen, Carlsbad, CA) yang disuplementai dengan 5% *horse serum*, 20 ng/ml EGF, 0.5 µg/ml *hydrocortisone*, 0.1 µg/ml cholera toxin, 10 µg/ml insulin, 100 unit/ml penisilin, dan 100 µg/ml streptomisin. Keseluruhan selnya dikondisikan pada 5% atmosfer CO₂ pada suhu 37°C.

Penghambatan Pertumbuhan Sel

Sel MDA-MB-231 dioptimasi pada densitas 2×10^3 sel per sumur sementara sel MCF-7 dan MCF-10 dioptimasi pada densitas 5×10^3 sel per sumur di dalam 96 sumur plate. Setelah diinkubasi semalam, medium dihilangkan dan digantikan dengan medium segar yang mengandung DMSO (kontrol vehicle). Setelah inkubasi, 25 µl larutan 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (5 mg/ml in phosphate-buffered saline, PBS) ditambahkan pada setiap sumur dan diinkubasi lebih lanjut selama 2 jam pada suhu 37°C. Supernatant disedot dan MTT dibentuk. Selanjutnya dilarutkan di dalam isopropanol (100 ml) dengan mencampurnya selama 30 menit pada gyratory shaker. Absorbansi diukur pada 595 nm menggunakan Ultra Multifunctional Microplate Reader (Tecan, Durham, NC). Setiap perlakuan memiliki 8 sumur ulangan, dan jumlah DMSO dalam campuran reaksi tidak pernah melebihi 0,1%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh konsumsi capsaicin terikat matriks terhadap oksidasi LDL (Manjunatha *et al.* 2006)

Oksidasi LDL in vitro dari tikus dievaluasi berdasarkan keberadaan tembaga (II) sulfat, pada pengukuran peningkatan *thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)* sebagai fungsi dari waktu selama 12 jam (Tabel 2). Jumlah LDL teroksidasi tembaga menurun

sebesar 29 dan 21% pada perlakuan 3 dan 12 jam (Manjunatha *et al.*, 2006).

Tabel 2. Pengaruh asupan capsaicin terhadap tingkat oksidasi LDL oleh (II) (in vitro). Nilai disajikan dalam satuan Nanomoles TBAR.mg⁻¹ protein dan merupakan mean ± SD dari delapan mencit di tiap grup

Diet Grup	In vitro induksi Cu ²⁺	
	3 jam	12 jam
Control	11.0 ± 0.45	19.6 ± 0.47
Capsaicin	7.84 ± 0.61 (28.7%)*	15.5 ± 0.61 (20.9%)*

*Signifikansi dari control

Sumber : Manjunatha *et al.* (2006)

Berdasarkan data di atas, dapat diketahui bahwa *capsaicin* yang terikat dalam matriks pangan (dalam hal ini adalah sambal) terbukti tetap memiliki kemampuan sebagai antiaterosklerosis, yaitu secara signifikan menurunkan tingkat oksidasi LDL pasma mencit sebesar 28.7% dan 20.9% setelah diinkubasi selama 3 dan 12 jam.

Capsaicin menghambat oksidasi LDL dengan cara meredam radikal bebas oksigen dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogenus, contohnya superoksida dismutase, katalase, glutation peroksidase dan glutation transferase (Reddy *et al.* 1994). Melalui uji in vitro ini, antioksidan yang berasal dari cabai, dalam hal ini adalah *capsaicin*, terbukti mampu mencegah oksidasi LDL manusia (Reddy *et al.* 1994). *Capsaicin* diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan cara meningkatkan molekul-molekul antioksidan dan enzim antioksidan pada sel darah merah dan sel hati dari tikus yang mengalami hiperlipidemik / hiperkolesterolemik (Naidu *et al.* 2002; Kempaiah *et al.* 2004). *Capsaicin* telah terbukti dapat menurunkan pembentukan mediator proinflamasi, seperti *reactive oxygen species* [ROS] dan nitrit oksida yang dikeluarkan oleh makrofag (Kempaiah *et al.* 2004).

Penyebab utama dan mekanisme terbentuknya lesi aterosklerosis berhubungan erat dengan peradangan

(Kempaiah *et al.* 2004). Selama peradangan, pembuluh darah akan mensekresikan sitokina yang akan merangsang peningkatan permeabilitas permukaan pembuluh darah. Peningkatan permeabilitas ini menyebabkan monosit melekat pada permukaan pembuluh darah, bermigrasi ke intima, dan akhirnya berubah menjadi makrofag. Selama peradangan sel endotel juga akan mensekresikan limfosit sel T dan akan masuk ke intima (Hansson *et al.* 2009). Selanjutnya interaksi makrofag dan sel T menyebabkan makrofag mensekresikan sitokina radang, oksigen reaktif dan spesies nitrogen. Semua ini akan menyebabkan LDL teroksidasi dan kerusakan sel, diekspresikannya faktor jaringan (trombogenesis), protease penyebab terjadinya proliferasi sel otot. Sel busa yang terbentuk akan terakumulasi membentuk plak aterosklerosis sebagai lesi awal yang berisi kumpulan sel-sel imun (Hansson *et al.* 2009; Hansson *et al.* 2005). Perkembangan aterosklerosis pada dinding pembuluh darah terutama disebabkan oleh endositosis kolesterol plasma yang berlebihan. Sel-sel dinding pembuluh arteri yaitu: sel endotel, sel otot polos, dan makrofag dapat mengoksidasi LDL secara *in vitro* dengan kehadiran sejumlah katalitik ion metal transisi (Susmiati *et al.* 2010).

Makrofag adalah sel hasil diferensiasi dari monosit dan sel ini mempunyai dua reseptor khusus untuk menangkap kolesterol, yaitu reseptor LDL dan reseptor skavenger yang mengikat LDL termodifikasi. Partikel LDL yang termodifikasi tidak akan dikenali oleh reseptor LDL sehingga akan menjadi salah satu ligan reseptor LDL termodifikasi (Kempaiah^a *et al.* 2004). Makrofag adalah sel imun utama di dalam jaringan dan gangguan hebat terhadap makrofag dapat menimbulkan respon imun (Franke *et al.* 2006). Adanya kerusakan jaringan akan merangsang makrofag teraktivasi yang telah mengekspresikan mediator radang sehingga mempengaruhi respon peradangan, baik lokal maupun sistemik.

Gugus fenolik yang terdapat pada *capsaicin* diduga berfungsi sebagai

antibakteri, dan gugus fenolik tersebut menjadi dasar bahwa *capsaicin* mempunyai kemampuan dalam mengeliminasi derivat radikal oksigen bebas yang terdapat pada medium dan bertanggung jawab terhadap peroksidasi sel-sel lipid. Gugus fenolik ini adalah esensial untuk skavenger superoksida dan keberadaan gugus orto metoksi dari molekul fenolik akan meningkatkan aktivitas komponen fitokimia (Riemersma *et al.* 1994).

Efek Perlakuan Pemberian Ekstrak Cabai Segar terhadap Sel MDA-MB-231

Kesepuluh ekstrak cabai segar digunakan sebagai perlakuan terhadap sel kanker payudara MDA-MB-231 dan non-tumorigenik sel epitel payudara untuk menguji efek menghambatnya terhadap pertumbuhan sel, dengan DMSO sebagai kontrol.

Sepuluh μ l dari tiap ekstrak ditambahkan ke dalam 100 μ l medium kultur setelah semalaman ditumbuhkan pada plate 96 sumur (0.1 g cabai/ml konsentrasi akhir). Setelah 48 jam inkubasi, uji MTT digunakan untuk melihat pertumbuhan sel. Sepuluh μ l dari tiap ekstrak ditambahkan ke dalam 100 μ l medium kultur setelah semalaman ditumbuhkan pada plate 96 sumur (0.1 g cabai/ml konsentrasi akhir). Setelah 48 jam inkubasi, uji MTT digunakan untuk melihat pertumbuhan sel.

Hasilnya menunjukkan adanya hubungan yang erat antara kandungan *capsaicin* pada cabai dengan penghambatan pertumbuhan sel kanker. P1 dan P2, keduanya memiliki tingkat kepedasan yang rendah, menghambat kurang dari 20% dari pertumbuhan, sedangkan P3-P5 menunjukkan penghambatan yang moderat, dan P6-P10 ($P < 0.01$) menunjukkan peningkatan penghambatan yang konstan pada pertumbuhan sel. P9 dan P10 merupakan ekstrak yang paling efektif, yaitu mampu menghambat sekitar 70% dari pertumbuhan sel. Selain itu, berdasarkan penelitian ini juga diketahui bahwa ekstrak cabai segar tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan sel normal/ sel non-tumorigenik.

Berdasarkan data diketahui bahwa ekstrak cabai segar tetap memiliki aktivitas antikanker meskipun konsentrasi capsaicin dari varietas yang berbeda menjadi factor utama penyebab perbedaan aktivitas ini. Dengan demikian, sambal yang disajikan segar memiliki aktivitas antikanker dan juga antiaterosklerosis.

Aktivitas penghambatan pertumbuhan sel tumor oleh *capsaicin* disebabkan oleh inaktivasi dua faktor transkripsi eukariotik, yaitu faktor inti-kappa β (NF-kB) dan protein aktivator 1(AP-1) (Surh *et al.* 2000)

Pengaruh Jenis Cabai Bahan Baku Sambal terhadap Jumlah Capsaicin

Pada pembuatan sambal, penting juga untuk memperhatikan jenis cabai yang digunakan sebagai bahan baku. Sebab hal ini akan berhubungan dengan jumlah *capsaicin* yang terkandung di dalamnya sehingga akan memengaruhi aktivitasnya di dalam tubuh. Cabai dengan varietas yang berbeda dapat memiliki kandungan *capsaicin* yang berbeda.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Manjunata *et al.* (2006), konsentrasi capsaicin yang memiliki aktivitas menghambat kanker dan aterosklerosis adalah sebesar 0.015% atau dapat didefinisikan sebagai 1.500.000 μg capsaicin/g cabai. Atau setara dengan 353.02 gram/hari/bb tikus. Perlu ada konversi untuk jumlah asupan yang direkomendasikan bagi manusia. Namun, jumlah asupan harian ini tidak boleh melebihi ambang batas dosis letal yang jumlahnya setara dengan 47.2 mg/kg bb tikus/hari.

Titik Kritis Kehalalan Sambal

Titik Kritis Kehalalan Sambal Pabrikan

Titik kritis kehalalan sambal pabrikan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Titik Kritis Kehalalan Sambal Pabrikan

Bahan	Sumber bahan baku	Titik kritis
Cabai rawit	Tanaman	-
Cabai merah	Tanaman	-
Rempah-rempah	Tanaman	Bahan penolong (pelarut), bahan tambahan (pengisi)
Minyak Goreng	Tanaman	Bahan penolong (<i>Refining/bleaching agent</i>)
Tomat	Tanaman	-
Terasi		
Bawang putih	Tanaman	-
Tepung jagung	Tanaman	-
Air	Air	-
Gula pasir	Tanaman	Bahan penolong (resin penukar ion, <i>bleaching earth</i>)
Garam	Garam, Yodium	-
Penguat rasa :		
• MSG	Produk mikrobial	- Media fermentasi (molases, pepton, yeast extract, dll), antifoam. - Bahan penolong (Karbon aktif dan resin)
• Dinatrium inosinat	Bahan kimia	Bahan penolong
• Guanilat	Bahan dari proses mikrobial	Media fermentasi, bahan penolong
Cuka	Bahan kimia	-
Pengemulsi nabati	Lemak nabati, lemak hewani	Sumber lemak hewani
Pengawet :		
Kalium sorbat	Bahan kimia	Bahan penolong
Natrium metabisulfit	Bahan kimia	Bahan penolong

Sumber : (LPPOM MUI, 2012; LPPOM MUI, 2013; LPPOM MUI, 2015).

Adapun dokumen yang dibutuhkan untuk sertifikasi halal produk sambal pabrikan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Dokumen yang Dibutuhkan untuk Sertifikasi Halal Sambal Pabrikan

Bahan	Kebutuhan Dokumen
Cabai rawit	-
Cabai merah	-
Rempah-rempah	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
Minyak Goreng	Sertifikat halal
Tomat	-
Terasi	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
Bawang putih	-
Tepung jagung	-
Air	-
Gula pasir	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
	Jika menggunakan karbon aktif :
	1) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis jika bahan berasal dari tanaman atau batu bara
	2) Sertifikat halal jika bahan berasal dari hewan
	Jika menggunakan resin penukar ion :
	1) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
	2) Jika menggunakan gelatin, maka perlu sertifikat halal untuk gelatin
Garam dan yodium	-
Penguat rasa :	
• MSG	1) Sertifikat halal 2) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis yang menyebutkan sumber mikroba dan semua bahan yang digunakan
• Dinatrium inosinat	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
• Guanilat	1) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis yang menyebutkan sumber mikroba dan semua bahan yang digunakan 2) Sertifikat halal jika menggunakan bahan aditif/penolong yang kritis
Cuka	-
Pengemulsi nabati	1) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis yang menyebutkan sumber mikroba dan semua bahan yang digunakan 2) Sertifikat halal jika ada penambahan lemak hewan
Pengawet :	
Kalium sorbat	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
Natrium metabisulfit	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis

Sumber : (LPPOM MUI, 2012; LPPOM MUI, 2013; LPPOM MUI, 2015)

Titik Kritis Kehalalan Sambal Rumahan

Titik kritis kehalalan sambal rumahan disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Titik Kritis Kehalalan Sambal Rumahan

Bahan	Sumber bahan baku	Titik kritis
Cabai rawit	Tanaman	-
Cabai merah	Tanaman	-
Bawang merah	Tanaman	Bahan penolong (pelarut), bahan tambahan (pengisi)
Bawang putih	Tanaman	
Minyak Goreng	Tanaman	Bahan penolong (<i>Refining/bleaching agent</i>)
Tomat	Tanaman	-
Terasi		
Air	Air	-
Garam	Garam, Yodium	-
Gula pasir	Tanaman	Bahan penolong (resin penukar ion, <i>bleaching earth</i>)
Gula merah	Tanaman	-
Penguat rasa :		
• MSG	Produk mikrobial	- Media fermentasi (molases, pepton, yeast extract, dll), antifoam. - Bahan penolong (Karbon aktif dan resin)

Adapun dokumen yang dibutuhkan untuk sertifikasi halal produk sambal rumahan disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Dokumen yang Dibutuhkan untuk Sertifikasi Halal Sambal Rumahan

Bahan	Kebutuhan Dokumen
Cabai rawit	-
Cabai merah	-
Bawang merah	-
Bawang putih	-
Minyak Goreng	Sertifikat halal
Tomat	-
Terasi	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
Air	-
Gula pasir	Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
	Jika menggunakan karbon aktif :
	1) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis jika bahan berasal dari tanaman atau batu bara
	2) Sertifikat halal jika bahan berasal dari hewan
	Jika menggunakan resin penukar ion :
	1) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis
	2) Jika menggunakan gelatin, maka perlu sertifikat halal untuk gelatin
Gula merah	-
Garam dan yodium	-
Penguat rasa :	
• MSG	1) Sertifikat halal
	2) Diagram alir proses dan/atau spesifikasi teknis yang menyebutkan sumber mikroba dan semua bahan yang digunakan

Sumber : (LPPOM MUI, 2012; LPPOM MUI, 2013; LPPOM MUI, 2015)

Beberapa bahan yang tergolong kedalam kategori kritis diantaranya adalah minyak goreng, gula pasir, dan monosodium glutamat (MSG). Minyak goreng merupakan minyak yang digunakan untuk menggoreng. Minyak goreng dapat berasal dari minyak nabati dan/atau minyak hewani yang dalam proses pembuatannya dapat melibatkan bahan pemucat berupa *bleaching earth* atau arang aktif serta penambahan antioksidan. Mengingat kemungkinan adanya penggunaan bahan kritis, maka persyaratan bahan ini adalah Sertifikat Halal (LPPOM MUI 2012).

Gula pasir adalah pemanis yang diproduksi dari tebu atau bit. Titik kritisnya terletak pada proses rafinasi (pemurnian) yang melibatkan bahan penolong resin penukar ion atau bahan pemucat. Prosesnya seringkali melibatkan tahap penghilangan warna menggunakan karbon aktif. Karbon aktif dapat berasal dari tanaman, batu bara, atau hewan. Jika karbon aktif berasal dari tulang hewan, sumbernya haruslah berasal dari hewan halal dan disembelih sesuai dengan syariat Islam (LPPOM MUI 2012).

Monosodium glutamat (MSG). merupakan garam sodium (natrium) dari asam glutamat. Bahan ini digunakan sbagai penegas rasa. Asam glutamat secara komersial diproduksi melalui proses mikrobial dari bahan-bahan lain sebagai aditif/penolong. Sebagai produk mikrobial, titik kritis kemungkinan dapat berasal dari 1) sumber komponen media yang digunakan untuk penanaman mikroba, mulai dari penyegaran kultur, perinokulum, hingga media fermentasi produk, 2) sumber bahan penolong proses, seperti senyawa antibusa (*antifoam*), bahan pemanen spora yang kadangkala menggunakan surfaktan, bahan pemecah sel untuk mengeluarkan produk intraseluler, karbon aktif dan resin penukar ion, 3) adanya penambahan bahan tambahan pada produk akhir; seperti bahan pelapis, bahan pengisi, bahan pengatur pH, dan lain-lain (LPPOM MUI 2012).

KESIMPULAN

Capsaicin pada cabai yang menjadi bahan baku sambal memiliki kemampuan sebagai

antiaterosklerosis, yaitu secara signifikan menurunkan tingkat oksidasi LDL plasma sebesar 28.7% dan 20.9%. P9 dan P10 merupakan ekstrak yang paling efektif dalam mencegah pertumbuhan sel kanker, dengan kemampuan penghambatan 70% dari pertumbuhan sel pada tikus percobaan. Selain itu, juga diketahui bahwa *capsaicin* tidak mengganggu keberadaan sel normal/sel non-tumorigenik. Perbedaan varietas cabai dapat mempengaruhi efektivitas penghambatan terhadap LDL teroksidasi dan sel tumor. Konsentrasi capsaicin yang memiliki aktivitas menghambatan kanker dan aterosklerosis adalah sebesar 0,015% atau dapat didefinisikan sebagai 1.500.000 µg capsaicin/g cabai. Nilai ini setara dengan 353,02 gram/hari/bb tikus, dengan *lethal dose* 47,2 mg/kg bb tikus/hari. Titik kritis kehalalan sambal dapat dilihat dari sumber bahan baku, bahan tambahan, maupun bahan penolong. Umumnya sambal rumahan terbuat dari bahan-bahan dengan kategori tidak beresiko terhadap kehalalan sambal. Terkecuali jika ada penambahan bahan tambahan seperti MSG dan gula pasir yang perlu dicermati kehalalannya. Sedangkan pada sambal pabrikan terdapat cukup banyak titik kritis yang perlu dicermati terutama pada bahan tambahan dan bahan penolong yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams MR, JR Kaplan, DR Kornitnik, dan TB Clarkson. 1985. Ovariectomy, social status, and atherosclerosis in cynomolgus monkeys. *Atherosclerosis* 5:1992-200.
- Al Othman ZA, YBH Ahmed, MA Habila, dan AA Ghafar. 2011. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in capsicum fruit samples using high performance liquid chromatography. *J Molecules* 16:8919-8929.
- Arul. 2012. Gambar Sambal <http://www.google.co.id/imgres?q=sambal> [diunduh pada :27Juni 2012]
- Asni N dan D Novalinda. 2010. Teknologi Pengolahan Saus Cabai Berkualitas dan Keamanan Pangannya Ditingkat Petani Provinsi Jambi. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Jambi.
- Atom. 2015. Gambar Sambal Botol <http://www.sambalburudy.com/>. [diunduh pada 10 Maret 2015]
- Bernatchez PN, S Soker, dan MG Sirois. 1999. Vascular endothelial growth factors effect on endothelial cell proliferation, migration, and platelet-activating factor synthesis is FLK-1-1 dependent. *J Biol Chem* 274:31047-54.
- Conti M, CP Morand, P Levillain, dan A Lemonniera. 1991. Improved fluorometric determination of malondialdehyde. *Journal Clinical Chemistry* 37: 1273-1275.
- D Dan, A Ahmad, H Yang, dan FH Sarkar. 2011. Tumor Cell Growth Inhibition Is Correlated With Levels of Capsaicin Present in Hot Peppers. *Nutrition and Cancer* 63(2), 272-281.
- Franke A, W Lante, E Kurig, LG Zoller, C Weinholt, dan A Markewitz. 2006. Is interferon gamma suppression after cardiac surgery caused by a decreased interleukin-12 synthesis?. *Ann Thorac Surg* 82(1):103-109.
- Grundy SM. 1986. Cholesterol and coronary heart diseases. *J Am Med Assoc* 256, 2849-2858.
- Hanai J, M Dhanabal, SA Karumanchi, C Albanese, M Waterman, dan B Chan. 2002. Eudostation causes G1 arrest of endothelial cellsthrough inhibition of cyclin D1. *J Biol Chem* 277:16464-9.
- Han SS, YS Keum, SK Chun, dan YJ Surh. 2002. Suppression of phorbol ester-induced NF-κB activation by capsaicin in cultured human promyelocytic leukemia cells. *Arch Pharma Res* 25:475-9.
- Hansson GK. 2005. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *Atherosclerosis Thromb Vasc Biol* 35:1685-1695.
- Hansson GK. 2009. Atherosclerosis-an immune disease: the Atnitschove lecture 2007 *Atherosclerosis*, 202(1):2:10.
- Hansson GK. 2009. Atherosclerosis-an immune disease. Transforming growth

- factor- β 1 inhibits macrophage cholesteryl ester accumulation induced by native and oxidized VLDL remnants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 21:2011-2018.
- Kawada T, T Watanabe, T Takaishi, T Tanaka, dan K Iwai. 1986. Capsaicin-induced beta-adrenergic action on energy metabolism in rats: influence of capsaicin on oxygen consumption, the respiratory quotient, and substrate utilization. *Proc Soc Exp Biol Med* 183:250-256.
- Kawada T, S Sakabe, T Watanabe, M Yamamoto, dan K Iwai. 1988. Some pungent principles of spices cause the adrenal medulla to secrete catecholamine in anesthetized rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 188:229-233.
- Kempaiah RK dan K Srinivasan. 2004a. Influence of dietary curcumin, capsaicin and garlic on the antioxidant status of red blood cells and liver in high fat fed rats. *Ann Nutr Metab* 48, 314-320.
- Kempaiah RK dan K Srinivasan. 2004. Antioxidant status of red blood cells and liver in hypercholesterolemic rats fed hypolipidemic spices. *Int J Vitam Nutr Res* 74,199-208.
- Kundu JK dan YJ Surh. 2009. Molecular basis of chemoprevention with dietary phytochemicals: Redox-regulated transcription factors as relevant targets, *Phytochemistry Rev* 8:333-47.
- [LPPOM MUI] Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-Obatan dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia. 2012. HAS 23201: Persyaratan Bahan Pangan Halal. Jakarta (ID) : LPPOM MUI.
- [LPPOM MUI] Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-Obatan dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia. 2013. SK41/Dir/LPPOM MUI/XI/13 tentang Revisi Kategori Produk Perusahaan Pendaftar Sertifikat Halal MUI dan Proses Sertifikasi Halal MUI Berdasarkan Tingkat Kritis Bahan dan Tingkat Kesulitan Penelusuran Kehalalannya.
- [LPPOM MUI] Lembaga Pengkajian Pangan, Obat-Obatan dan Kosmetika Majelis Ulama Indonesia. 2015. HAS 23102: Pedoman Pemenuhan Kriteria Sistem Jaminan Halal di Restoran. Jakarta (ID) : LPPOM MUI.
- Manjunatha H dan K Srinivasan. 2006. Protective effect of dietary curcumin and capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein, iron-induced hepatotoxicity and carrageenan-induced inflammation in experimental rats. *FEBS Journal* 273:4528-4537.
- Miyagi Y, Miwa K, Inoue H. 1997. Inhibition of low density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice. *Am J Cardiol* 80, 1627-1631.
- Naidu KA dan NB Thippeswamy. 2002. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by active principles from spices. *Mol Cell Biochem* 229, 19-23.
- Oyagbemi AA, AB Saba, dan OI Azeez. 2010. Review Article : Capsaicin: A novel chemopreventive molecule and its underlying molecular mechanisms of action. *Indian Journal of Cancer* 47:53-58
- Rafisi VA dan Khacharudian. 1992. The Inhibition of low density lipoprotein oxidation by 17 β -Estradiol. *Metabolism*. 41(10):1110-1114.
- Reddy ACP dan BR Lokesh. 1994. Alterations in lipid peroxidation in rat liver by dietary n)3 fatty acids: modulation of antioxidant enzymes by curcumin, eugenol and vitamin E. *J Nutr Biochem* 5, 181-188.
- Riemersma RA. 1994. Epidemiology and the role of antioxidant in preventing coronary heart disease. A Brief overview. *Proc. Nutr. Soc.* 53: 59-65.
- Stamler J, D Wentworth, dan JD Neaton. 1986. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? *J Am Med Assoc* 256, 2823-2828.
- Sulistiyani dan RW St Clair. 1991. The method of isolation of primary cells and their subculture influence the expression of LDL receptor on Pigeon and chicken embryo cells in culture. *Arterioscler*. 91:123-135.
- Surh YJ, SS Han, YS Keum, HJ Seo, dan SS Lee. 2000. Inhibitory effects of curcumin and capsaicin on phorbol ester-induced activation of eukaryotic transcription

- factors, NF-Kappa and AP-1. *Biofactors* 12C:107-12.
- Susmiati T, Sulistiyani, D Sajuthi, dan LK Darusman. 2010. Extract of curcuminoid Temumanangga (curcuma mangga) in inhibition oxidation reaction of low density lipoprotein by macrophage). *Forum Pascasarjana* 33-1:25-34.
- Yoshioka M, S St-Pierre, M Suzuki, dan A Tremblay. 1998. Effects of red pepper added to high-fat and high-carbohydrate meals on energy metabolism and substrate utilization in Japanese women. *Br J Nutr* 80:503-510.
- Yoshioka M, S St-Pierre, V Drapeau, I Dionne, E Doucet, M Suzuk, dan A Tremblay. 2000. Effects of red pepper on appeti⁰¹³ energy intake. *Br J Nutr* 82:115-123.
- Yun TK . 1999. Update from Asia: Asianstudy on cancer chemoprevention. *Ann NY Acad Sci* 889:157-92.
- William. 2000. Capsaicin Stucture. <http://www.chez-williams.com> [diunduh pada :27Juni 2012].