

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Polusi Udara

2.1.1 Definisi Polusi Udara

Polusi udara adalah masuknya zat atau komponen lain ke udara dan/atau berubahnya komposisi udara sehingga kualitasnya berkurang atau tak berfungsi sesuai dengan peruntukannya. Jadi, dikatakan pencemaran udara bila terdapat bahan atau zat-zat yang secara potensial mengubah stabilitas kualitas udara dan melampaui angka batas semestinya. Sebenarnya pencemaran udara dapat berasal dari tiga proses, yaitu atrisi (*attrition*), penguapan (*vaporization*), dan pembakaran (*combustion*). Dari ketiga proses tersebut, pembakaran merupakan proses yang sangat dominan dalam kemampuannya menimbulkan bahan polutan. Jenis pencemar udara primer yang dihasilkan umumnya berupa gas, meliputi CO, NO_x, HC, SO_x dan partikel (Yulaekah, 2007).

2.1.2 Peningkatan Jumlah Kendaraan Bermotor

Kemajuan teknologi bidang otomotif telah memberi manfaat yang sangat besar kepada manusia, manfaat ini terutama di bidang perhubungan darat. Manfaat kendaraan bermotor ini sangat besar dan hal ini menyebabkan manusia berusaha memilikinya terutama sekali untuk kepentingan-kepentingan vital seperti ke kantor, kuliah ataupun bisnis lainnya. Sejak 1986, jumlah kendaraan bermotor di dunia terus bertambah. Berdasarkan hasil penelitian WardAuto 2011, hingga 2010 lalu jumlah kendaraan bermotor di dunia telah mencapai 1,015 miliar unit. Peningkatan jumlah kendaraan bermotor juga terjadi di Indonesia. Data dari Gabungan Industri Kendaraan Bermotor Indonesia

(Gaikindo) dan Asosiasi Industri Sepeda Motor Indonesia (AISI) menunjukkan bahwa jumlah kendaraan bermotor di Indonesia hingga 2010 lalu mencapai 50.824.128 unit, dimana rasio antara jumlah penduduk dengan kendaraan bermotor di Indonesia 1:4,6. Bahkan jumlah kendaraan di Indonesia menempati urutan pertama di kawasan Asia Tenggara karena pada saat yang sama jumlah kendaraan di negara ASEAN lainnya di bawah 26 juta unit. Diperkirakan jumlah kendaraan di Indonesia dalam beberapa tahun terakhir akan terus bertambah 10-15 persen. (Arianto, 2011).

Sebagian besar kendaraan bermotor itu menghasilkan emisi gas buang yang buruk dan dapat mencemari udara di lingkungan. Hal ini bisa dikarenakan perawatan yang kurang memadai, pembakaran yang tak sempurna, ataupun penggunaan bahan bakar dengan kualitas yang kurang baik (misal kadar timbalnya tinggi). Polusi yang ditimbulkan ini sangat berpotensi mengganggu kesehatan karena bahan-bahan berbahaya yang terkandung di dalamnya. Pernah dilaporkan adanya dampak polusi udara terhadap kesehatan di daerah perkotaan di Meuse Valley, Belgia, tahun 1930, Donora, Pennsylvania, tahun 1948, dan London, Inggris, tahun 1952, di mana polusi udara mengakibatkan peningkatan angka mortalitas dan morbiditas yang berakibat pada penurunan produktivitas dan peningkatan pembiayaan kesehatan (Zaini, 2008).

2.1.3 Kandungan Asap Kendaraan dan Efeknya terhadap Kesehatan

Hasil pembakaran bahan bakar fosil merupakan sumber utama pencemaran atau polusi udara, di mana akan menghasilkan polutan berbahaya yang berupa gas (SO_x, NO_x, CO, *Volatile Organic Compounds*) maupun partikulat. Paparan polusi udara ini dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan yang dikaitkan dengan perubahan struktur dan fungsi pada saluran

pernapasan termasuk paru-paru, keterbatasan aktivitas, serta peningkatan angka kunjungan ke rumah sakit dan angka kematian. Efek yang ditimbulkan oleh polutan udara tergantung pada dosis/kadar di udara, lama waktu pemaparan, serta kondisi sistem imun individu yang bersangkutan. Selain itu, ukuran polutan menentukan lokasi depositnya dalam tubuh dan efek terhadap jaringan sekitar (Zaini, 2008). Partikulat tersuspensi (PM atau *Particulate Matter*) diklasifikasikan menjadi tiga macam berdasarkan ukurannya, yaitu *coarse* PM (PM kasar atau PM_{2,5-10}) berukuran 2,5-10 µm, bersumber dari abrasi tanah, debu jalan (debu dari ban atau kampas rem), ataupun akibat agregasi partikel sisa pembakaran. Partikel seukuran ini dapat masuk dan terdeposit di saluran pernafasan bagian atas dan paru-paru. Sedangkan *fine* PM (< 2,5 µm) dan *ultrafine* PM (< 0,1 µm) berasal dari pembakaran bahan bakar fosil (Zaini, 2008). PM_{2,5} bisa terdeposit lebih dalam lagi di paru-paru dan bisa mencapai regio alveolar. Sedangkan *ultrafine* PM massanya sangat kecil dibandingkan *coarse* PM, tetapi sangat mempengaruhi kesehatan karena jumlahnya yang banyak dan area permukaan yang luas. *ultrafine* PM mudah terdeposit di alveoli bahkan dapat masuk ke sirkulasi darah sistemik (WHO, 2004). Anak-anak dan orang tua sangat rentan terhadap polutan ini, sehingga pada daerah dengan polusi udara tinggi morbiditas penyakit pernapasan dan kardiovaskular meningkat signifikan. PM juga dapat memicu inflamasi paru dan sistemik serta menimbulkan kerusakan pada endotel pembuluh darah dan infark miokard. Bahkan paparan polutan ini dalam jangka panjang bisa menyebabkan kanker dan kematian janin (Zaini, 2008).

Di samping itu, NO_x dan SO_x juga merupakan polutan berbahaya hasil pembakaran kurang sempurna dari bahan bakar fosil. NO₂ dan SO₂ juga

mengakibatkan berbagai keluhan di paru-paru yang dinamakan *chronic non specific respiratory disease* (CNSRD) seperti asma. Paparan akut dari SO₂ dan NO₂ dapat menyebabkan radang paru sehingga respon paru kurang permeabel, fungsi paru menurun, dan saluran pernafasan bisa terhambat. NO₂ dan SO₂ menurunkan fungsi paru-paru melalui mekanisme *neural* (*cyclooxygenase pathway, reseptor opioid, neuropeptida substance P*), serta melalui mekanisme *humoral* (peningkatan produksi *IgE* spesifik, GMCSF). Semakin tinggi kadar SO₂ dan NO₂ maka makin tinggi pula jumlah akumulasi sel *eosinofil* dan zat – zat *humoral* reaksi *inflamasi* dalam mukosa bronkus dan mukosa hidung, yang nantinya akan meningkatkan gejala penyakit alergis. SO₂ dan NO₂ dapat merusak, membuat kaku, atau menurunkan kerja silia (rambut getar) sehingga bakteri dan partikel dapat masuk ke alveoli dan meningkatkan penyakit saluran pernafasan termasuk kanker paru (Yulaekah, 2007).

Menurut Zaini (2008) secara umum mekanisme polutan udara dapat menyebabkan gejala penyakit adalah sebagai berikut:

1. Timbulnya reaksi inflamasi paru, misal karena PM atau ozon
2. Terbentuknya radikal bebas atau kondisi stres oksidatif, misal PAH (*polyaromatic hydrocarbons*)
3. Modifikasi ikatan kovalen terhadap protein penting intraseluler seperti enzim dalam tubuh
4. Komponen biologis yang menginduksi inflamasi dan gangguan sistem imunitas tubuh, seperti golongan glukukan dan endotoksin
5. Stimulasi sistem saraf otonom dan nosiroeseptor yang mengatur kerja jantung dan saluran nafas

6. Efek *adjuvant* terhadap sistem imunitas tubuh, misal logam golongan transisi dan DEP (*Diesel exhaust particulate*)
7. Efek *procoagulant* yang dapat mengganggu sirkulasi darah dan memudahkan penyebaran polutan ke seluruh tubuh, misal *ultrafine* PM
8. Menekan fungsi alveolar makrofag pada paru

Berbagai mekanisme tersebut menunjukkan bahwa polutan udara dapat mengganggu sistem tubuh dan membahayakan kesehatan.

2.2 Saluran Pernapasan

2.2.1 Pengertian Pernapasan

Pernapasan (respirasi) adalah peristiwa menghirup udara dari luar yang mengandung O₂ (oksigen) ke dalam tubuh serta menghembuskan udara yang banyak mengandung CO₂ (karbondioksida) sebagai sisa dari oksidasi keluar tubuh. Penghisapan ini disebut inspirasi dan menghembuskan disebut ekspirasi. Pernapasan berfungsi menghubungkan jaringan paru dengan lingkungan luar paru yang berfungsi untuk menyediakan oksigen untuk darah dan membuang karbondioksida.

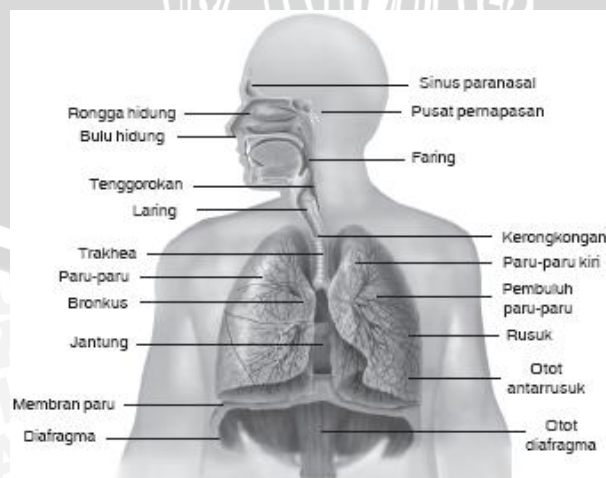
Sistem pernapasan secara umum dibagi menjadi dua:

- a. Bagian konduksi, terdiri dari rongga hidung, nasofaring, orofaring (selain berhubungan dengan udara juga dengan makanan), laring, trachea, bronchus, bronchiolus dan bronchiolus terminalis.
- b. Bagian respirasi, yang berfungsi untuk pertukaran gas antara udara paru dengan darah, terdiri dari bronchiolus respiratorius, duktus alveolaris dan alveolus.

2.2.2 Anatomi Saluran Pernafasan

Saluran pernapasan terdiri dari rongga hidung, rongga mulut, faring, laring, trakea, dan paru. Laring membagi saluran pernapasan menjadi 2 bagian, yakni saluran pernapasan atas dan saluran pernapasan bawah. Pada pernapasan melalui paru-paru atau pernapasan eksternal, oksigen dipungut melalui hidung dan mulut. Pada waktu bernapas, oksigen masuk melalui trakea dan pipa bronchial ke alveoli dan dapat berhubungan erat dengan darah di dalam kapiler pulmonaris.

Hanya satu lapis membran yaitu membran alveoli, memisahkan oksigen dan darah oksigen menembus membran ini dan dipungut oleh hemoglobin sel darah merah dan dibawa ke jantung. Dari jantung, darah dipompa ke dalam arteri untuk didistribusikan ke semua bagian tubuh. Darah meninggalkan paru-paru pada tekanan oksigen 100 mmHg dan pada tingkat ini hemoglobinnya 95%. Di dalam paru-paru, karbon dioksida, salah satu hasil buangan metabolisme menembus membran alveoli, kapiler dari kapiler darah ke alveoli dan setelah melalui pipa bronchial, trakea, dinafaskan keluar melalui hidung dan mulut.



Gambar 2.1 Anatomi dan Fisiologi Saluran Pernafasan (Damjanov,2000)

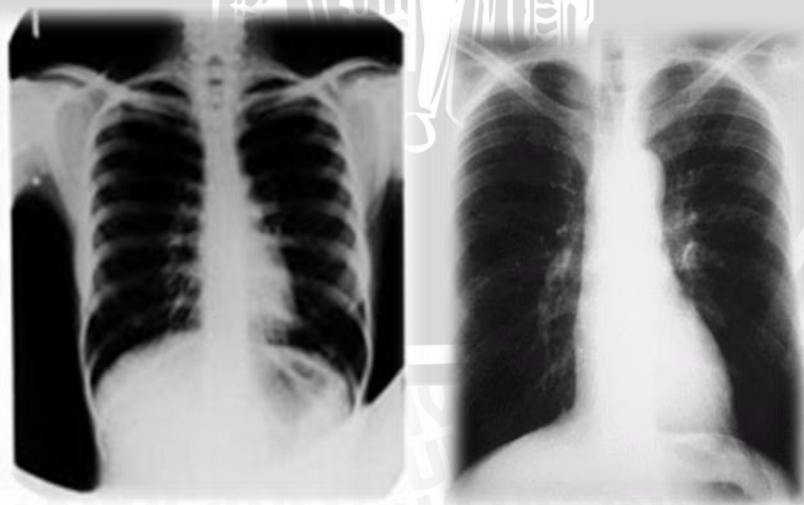
2.2.3 Fungsi Saluran Pernafasan

Pertukaran karbondioksida dan oksigen antara darah dan udara berlangsung di alveolus paru. Pertukaran tersebut diatur oleh kecepatan dan dalamnya aliran udara timbal balik (pernapasan), dan tergantung pada difusi oksigen dari alveoli ke dalam darah kapiler dinding alveoli. Hal yang sama juga berlaku untuk gas dan uap yang dihirup. Paru-paru merupakan jalur masuk terpenting dari bahan-bahan berbahaya lewat udara pada paparan kerja (WHO, 1995). Alat-alat dalam sistem pernapasan manusia meliputi hidung, faring, laring, trakea, bronkus, bronkiolus dan paru-paru. Hidung merupakan organ pernapasan pertama yang dilalui oleh udara luar, udara yang dihirup melalui hidung akan mengalami 3 hal yaitu: dihangatkan, disaring dan dilembabkan yang merupakan fungsi utama selaput lendir respirasi (terdiri dari: *Pseudostratified ciliated columnar epithelium* yang berfungsi menggerakkan partikel-partikel halus ke arah faring sedangkan partikel yang besar akan disaring oleh bulu hidung, *sel goblet* dan kelenjar serous yang berfungsi melembabkan udara yang masuk, pembuluh darah yang menghangatkan udara). Ketiga hal tersebut dibantu oleh *concha*.

2.2.4 Gangguan pada Sistem Pernapasan Akibat Polutan

Jumlah kendaraan bermotor yang terus meningkat akan menimbulkan terjadinya pencemaran udara yang berlebih, zat-zat polutan berbahaya yang terkandung dalam asap kendaraan bermotor diantaranya yaitu berupa gas (SO_x , NO_x , CO , *Volatile Organic Compounds*). Paparan polusi udara ini dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan yang dikaitkan dengan perubahan struktur dan fungsi pada saluran pernapasan termasuk paru-paru, keterbatasan aktivitas, serta peningkatan angka kunjungan ke rumah sakit dan angka kematian.

Penelitian epidemiologi menunjukkan paparan NO₂, SO₂, dan CO dapat meningkatkan angka perawatan rumah sakit dan kematian akibat penyakit kardio-pulmoner (Zaini, 2008). NO₂ dan SO₂ juga mengakibatkan berbagai keluhan di paru-paru yang dinamakan *Chronic Non Spesific Respiratory Disease* (CNSRD) seperti asma. Paparan akut dari SO₂ dan NO₂ dapat menyebabkan radang paru sehingga respon paru kurang permeabel, fungsi paru menurun, dan saluran pernafasan bisa terhambat. NO₂ dan SO₂ menurunkan fungsi paru-paru melalui mekanisme *neural* (*cyclooxygenase pathway*, *reseptor opioid*, *neuropeptida substance P*), serta melalui mekanisme *humoral* (peningkatan produksi *IgE* spesifik, GMCSF). Semakin tinggi kadar SO₂ dan NO₂, maka semakin tinggi pula jumlah akumulasi sel *eosinofil* dan zat – zat *humoral* reaksi *inflamasi* dalam mukosa bronkus dan mukosa hidung, yang nantinya akan meningkatkan gejala penyakit alergi. SO₂ dan NO₂ dapat merusak, membuat kaku, atau menurunkan kerja silia (rambut getar) sehingga bakteri dan partikel dapat masuk ke alveoli dan meningkatkan penyakit saluran pernafasan termasuk kanker paru (Yulaekah, 2007).



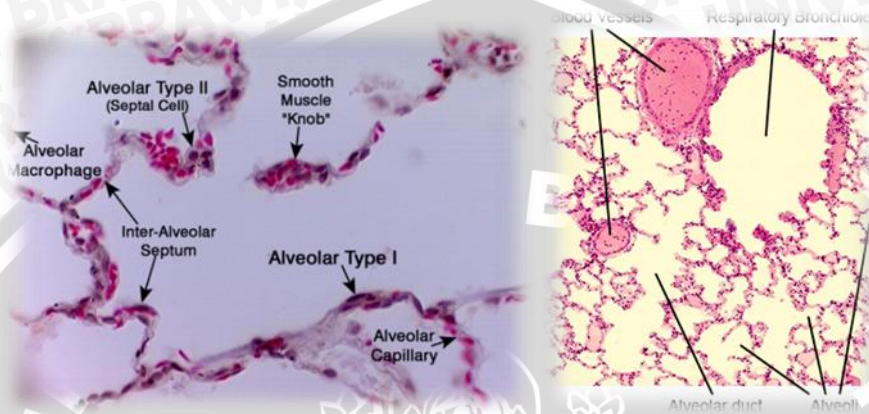
Gambar 2.2 Radiologi Penyakit Paru Obstruktif Kronis

2.2.5 Struktur Histologi Alveoli Paru

Setiap alveolus terdapat pada dinding bronkiolus respiratorius, berupa kantong-kantong kecil. Jumlah alveoli akan bertambah ke arah distal. Epitel dan otot polos pada bronkiolus respiratorius distal tampak sebagai daerah terputus-putus dan kecil diantara muara alveoli. Bagian terminal setiap bronkiolus respiratorius bercabang menjadi beberapa duktus alveolaris. Dinding duktus alveolaris dibentuk oleh sederetan alveoli yang bersebelahan. Sekelompok alveoli bermuara ke dalam sebuah duktus alveolaris disebut sakus alveolaris. Alveoli membentuk parenkim paru dan memperlihatkan gambaran renda-renda halus. Di sini epitel pelapisnya adalah selapis gepeng tanpa sel goblet (Eroschenko, 2003).

Alveolus paru terutama terdiri dari epitel pernapasan dan jaringan elastis. Struktur histologisnya terdiri dari 3 bagian yaitu sel endotel dan kapiler yang merupakan sel dengan jumlah paling banyak. Kemudian sel epitel tipis dan memanjang (sel tipe I) berpautan tepat satu sama lain membentuk suatu lapisan kontinyu dari ruang-ruang alveolar. Sitoplasma tidak mengandung endoplasmic retikulum, tapi mengandung organel lain. Dan yang terakhir yaitu sel alveolar besar (sel tipe II) berbentuk kubis atau bulat, Lebih sedikit dari sel tipe I, biasanya terdapat pada dinding-dinding beberapa alveolus. Alveoli berdekatan memiliki septum interalveolar bersama. Di dalam septum tipis ini, terdapat pleksus kapiler yang ditunjang serat jaringan ikat halus, fibroblas dan sel lain. Karena tipisnya septum interalveolar dan isinya, maka kapiler berdekatan sekali dengan sel-sel gepeng alveoli didekatnya, terpisah dari epitelnya hanya sedikit jaringan ikat itu, pada sediaan rutin jaringan paru, sukar membedakan inti sel gepeng didalam alveoli dengan sel endotel pembuluh darah (kapiler), dan dengan fibroblas di

dalam septum interalveolar. Pada ujung bebas septum interalveolar dan sekitar ujung bebas alveoli terdapat pita sempit otot polos yang merupakan lanjutan lapisan otot bronkiolus respiratorius (Eroschenko, 2003).



Gambar 2.3 Struktur Histologi Alveolus

(Sumber: McLeod, http://mwap.co.uk/path_resp_tract_gas_exchange.html)

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Merupakan juga suatu kelompok bahan kimia dengan reaksi jangka pendek yang memiliki satu atau lebih elektron bebas (Arief, 2007).

Radikal bebas diartikan sebagai molekul yang relatif tidak stabil karena telah kehilangan satu elektron, yang mengorbit berpasangan. Ketidakstabilan ini terjadi karena atom tersebut hanya memiliki satu elektron atau lebih, namun tanpa pasangan. Oleh karena itu, untuk memperoleh pasangan elektron, senyawa ini sangat reaktif. Untuk mengembalikan kestabilan tersebut, radikal bebas tersebut akan bersifat reaktif dalam mencari sebuah elektron dari molekul didekatnya atau melepaskan satu elektron yang tidak mempunyai pasangan.

Partikel atau elektron yang dapat dijadikan pasangan baru tersebut bisa diambil dari DNA, membran sel (selaput sel), membran lisosom (bagian sel yang mengandung enzim hidrolitik), mitokondria (tempat produksi energi sel), enzim-enzim, lemak, protein, serta komponen jaringan lain. Dengan demikian ia akan menciptakan kehancuran molekul di dekatnya tadi (Sauriasari, 2006).

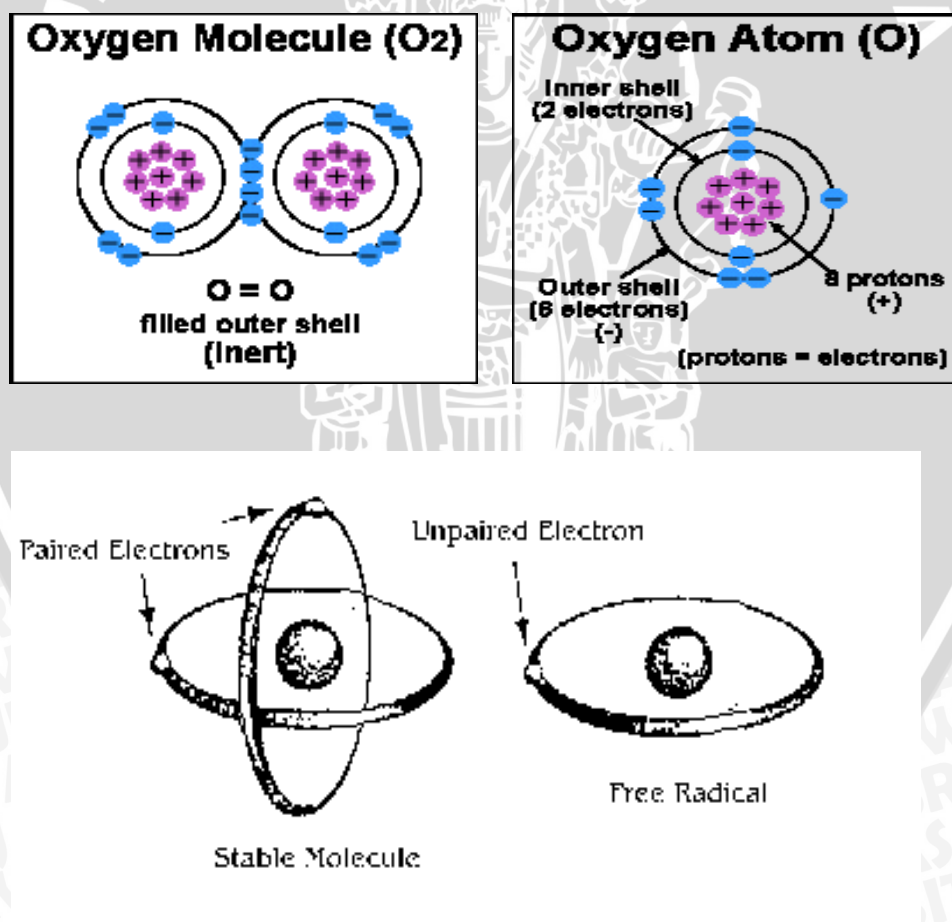
2.3.2 Struktur Kimia Radikal Bebas

Atom terdiri dari nukleus, proton, dan elektron. Jumlah proton (bermuatan positif) dalam nukleus menentukan jumlah dari elektron (bermuatan negatif) yang mengelilingi atom tersebut. Elektron berperan dalam reaksi kimia dan merupakan bahan yang menggabungkan atom-atom untuk membentuk suatu molekul. Elektron mengelilingi atau mengorbit suatu atom dalam satu atau lebih lapisan. Jika satu lapisan penuh, elektron akan mengisi lapisan kedua. Lapisan kedua akan penuh jika telah memiliki 8 elektron dan seterusnya. Gambaran struktur terpenting sebuah atom dalam menentukan sifat kimianya adalah jumlah elektron pada lapisan luarnya. Suatu bahan yang elektron lapisan luarnya penuh tidak akan terjadi reaksi kimia. Karena atom-atom berusaha untuk mencapai keadaan stabilitas maksimum, sebuah atom akan selalu mencoba untuk melengkapi lapisan luarnya yaitu dengan menambah atau mengurangi elektron untuk mengisi maupun mengosongkan lapisan luarnya. Kemudian membagi elektron-elektronnya dengan cara bergabung bersama atom yang lain dalam rangka melengkapi lapisan luarnya.

Atom sering kali melengkapi lapisan luarnya dengan cara membagi elektron-elektron bersama atom yang lain. Dengan membagi elektron, atom-atom tersebut bergabung bersama dan mencapai kondisi stabilitas maksimum untuk membentuk molekul. Oleh karena radikal bebas sangat reaktif, maka mempunyai

spesifitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain, seperti protein, lemak, karbohidrat, dan DNA (Arief, 2007).

Dalam rangka mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan segera berikatan dengan bahan sekitarnya. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektron, zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi kerusakan sel tersebut (Arief, 2007).



Gambar 2.4. Struktur kimia radikal bebas (Arief, 2007)

2.3.3. Tipe Radikal Bebas Dalam Tubuh

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*), termasuk didalamnya adalah triplet ($3O_2$), tunggal (singlet/ 1O_2), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($\cdot OH$), nitrit oksida ($NO\cdot$), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorus ($HOCl$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxy ($LO\cdot$), dan radikal peroksil ($LO_2\cdot$). Radikal bebas yang mengandung karbon ($CCL_3\cdot$) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H ($H\cdot$). Bentuk lain adalah radikal yang mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi glutation menghasilkan radikal thiyl ($R-S\cdot$). Radikal yang mengandung nitrogen juga ditemukan, misalnya radikal fenyl diazine (Arief 2007).

Tabel 2.1 Radikal Bebas Biologis

Kelompok oksigen reaktif	
O_2^-	Radikal Superoksida (<i>Superoxide radical</i>)
$\cdot OH$	Radikal hidroksil (<i>Hydroxyl radical</i>)
$ROO\cdot$	Radikal peroksil (<i>Peroxyl radical</i>)
H_2O_2	Hydrogen peroksida (<i>Hydrogen peroxide</i>)
1O_2	Oksigen tunggal (<i>Singlet oxygen</i>)
$NO\cdot$	Nitrit oksida (<i>Nitric oxide</i>)
$ONOO^-$	Nitrit peroksida (<i>Peroxynitrite</i>)
$HOCl$	Asam hipoklor (<i>Hypochlorous acid</i>)

2.3.4 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas yang ada di tubuh manusia berasal dari 2 sumber:

- a. Sumber endogen
- b. Sumber eksogen

a. Sumber Endogen

1. Autoksidasi

Merupakan produk dari proses metabolisme aerobik. Molekul yang mengalami autoksidasi berasal dari katekolamin, hemoglobin, mioglobin, sitokrom C yang tereduksi, dan thiol. Autoksidasi dari molekul di atas menghasilkan reduksi dari oksigen radikal dan pembentukan kelompok reaktif oksigen. Superoksida merupakan bentukan awal radikal. Ion ferrous (Fe II) juga dapat kehilangan elektronnya melalui oksigen untuk membuat superoksida dan Fe III melalui proses autoksidasi (Arief, 2007).

2. Oksidasi Enzimatik

Beberapa jenis sistem enzim mampu menghasilkan radikal bebas dalam jumlah yang cukup bermakna, meliputi *xanthine oxidase (activated in ischemia-reperfusion)*, *prostaglandin synthase*, *lipooxygenase*, *aldehyde oxidase*, dan *amino acid oxidase*. Enzim *myeloperoxidase* hasil aktivasi netrofil, memanfaatkan hidrogen peroksida untuk oksidasi ion klorida menjadi suatu oksidan yang kuat asam hipoklor (Arief, 2007).

3. Respiratory burst

Merupakan terminologi yang digunakan untuk menggambarkan proses dimana sel fagositik menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar selama fagositosis. Lebih kurang 70-90 % penggunaan oksigen tersebut dapat

diperhitungkan dalam produksi superoksida. Fagositik sel tersebut memiliki sistem *membran bound flavoprotein cytochrome-b-245 NADPH oxidase*. Enzim membran sel seperti NADPH-oxidase keluar dalam bentuk inaktif. Paparan terhadap bakteri yang diselimuti imunoglobulin, kompleks imun, komplemen 5a atau leukotrien dapat mengaktifkan enzim NADPH-oxidase. Aktifasi tersebut mengawali *respiratory burst* pada membran sel untuk memproduksi superoksida. Kemudian H_2O_2 dibentuk dari superoksida dengan cara dismutasi bersama generasi berikutnya dari OH dan HOCl oleh bakteri (Arief, 2007).

b. Sumber eksogen

1. Obat-Obatan

Beberapa macam obat dapat meningkatkan produksi radikal bebas dalam bentuk peningkatan tekanan oksigen. Bahan-bahan tersebut bereaksi bersama hiperoksia dapat mempercepat tingkat kerusakan. Termasuk di dalamnya antibiotika kelompok *quinoid* atau berikatan logam untuk aktifitasnya (nitrofurantoin), obat kanker seperti bleomycin, anthracyclines (adriamycin), dan methotrexate, yang memiliki aktifitas pro-oksidan. Selain itu, radikal juga berasal dari fenilbutazon, beberapa asam mefenamat dan komponen aminosalisilat dari sulfasalasin dapat menginaktivasi protease, dan penggunaan asam askorbat dalam jumlah banyak mempercepat peroksidasi lemak (Arief, 2007).

2. Radiasi

Radioterapi memungkinkan terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radiasi elektromagnetik (sinar X, sinar gamma) dan radiasi partikel (partikel elektron, photon, neutron, alfa, dan beta) menghasilkan radikal primer dengan cara memindahkan energinya pada komponen seluler seperti air. Radikal primer tersebut dapat mengalami reaksi

sekunder bersama oksigen yang terurai atau bersama cairan seluler (Arief, 2007).

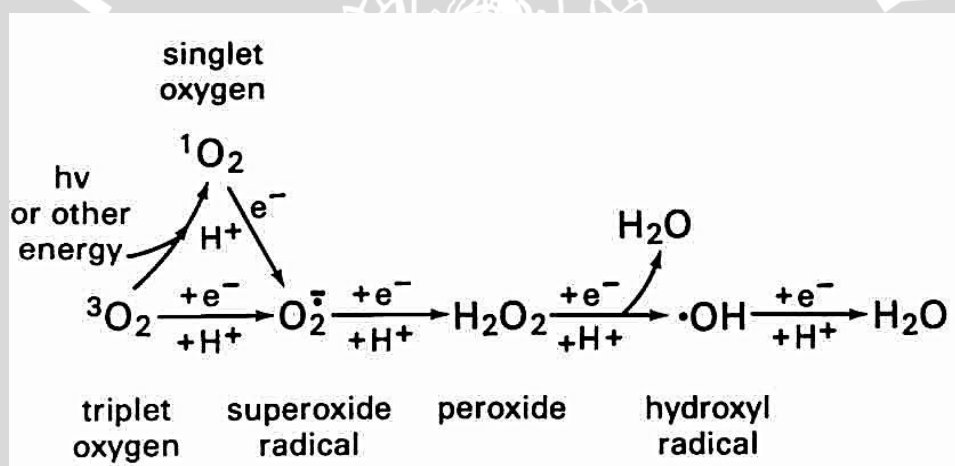
3. Asap rokok

Oksidan dalam rokok mempunyai jumlah yang cukup untuk memainkan peranan yang besar terjadinya kerusakan saluran napas. Telah diketahui bahwa oksidan asap tembakau menghabiskan antioksidan intraseluler dalam sel paru (*in vivo*) melalui mekanisme yang dikaitkan terhadap tekanan oksidan. Diperkirakan bahwa tiap hisapan rokok mempunyai bahan oksidan dalam jumlah yang sangat besar, meliputi aldehida, epoxida, peroxida, dan radikal bebas lain yang mungkin cukup berumur panjang dan bertahan hingga menyebabkan kerusakan alveoli. Bahan lain seperti nitrit oksida, radikal peroksil, dan radikal yang mengandung karbon ada dalam fase gas. Juga mengandung radikal lain yang relatif stabil dalam fase tar. Contoh radikal dalam fase tar meliputi *semiquinone moieties* dihasilkan dari bermacam-macam *quinone* dan *hydroquinone*. Perdarahan kecil berulang merupakan penyebab yang sangat mungkin dari desposisi besi dalam jaringan paru perokok. Besi dalam bentuk tersebut menyebabkan pembentukan radikal hidroksil yang mematikan dari hidrogen peroksida. Juga ditemukan bahwa perokok mengalami peningkatan netrofil dalam saluran napas bawah yang mempunyai kontribusi pada peningkatan lebih lanjut konsentrasi radikal bebas (Arief, 2007).

2.3.5 Pembentukan Radikal Bebas Dalam Sel

Radikal bebas diproduksi dalam sel yang secara umum melalui reaksi pemindahan elektron, menggunakan mediator enzimatik atau non enzimatik. Produksi radikal bebas dalam sel dapat terjadi secara rutin maupun sebagai reaksi terhadap rangsangan. Secara rutin adalah superoksida yang dihasilkan

melalui aktivasi fagosit dan reaksi katalisa seperti ribonukleotida reduktase. Sedang pembentukan melalui rangsangan adalah kebocoran superoksida, hidrogen peroksida dan kelompok oksigen reaktif (ROS) lainnya pada saat bertemunya bakteri dengan fagosit teraktivasi. Pada keadaan normal, sumber utama radikal bebas adalah kebocoran elektron yang terjadi dari rantai transpor elektron, misalnya yang ada dalam mitokondria dan endoplasma retikulum dan molekul oksigen yang menghasilkan superoksida. Dalam kondisi yang tidak lazim seperti radiasi ion, sinar ultraviolet, dan paparan energi tinggi lainnya, dihasilkan radikal bebas yang sangat berlebihan (Arief 2007).



Gambar 2.5 Sistem oksigen aktif (Arief, 2007)

2.3.6 Reaksi Perusakan Oleh Radikal Bebas

Jumlah radikal bebas yang melebihi antioksidan endogen akan membuat radikal bebas bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas.

a. Peroksidasi Lemak

Membran sel kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi. Proses tersebut dinamakan peroksidasi lemak. Hal ini sangat merusak karena merupakan suatu proses berkelanjutan. Pemecahan hidroperoksida lemak sering melibatkan katalisis ion logam transisi (Arief, 2007).

b. Kerusakan Protein

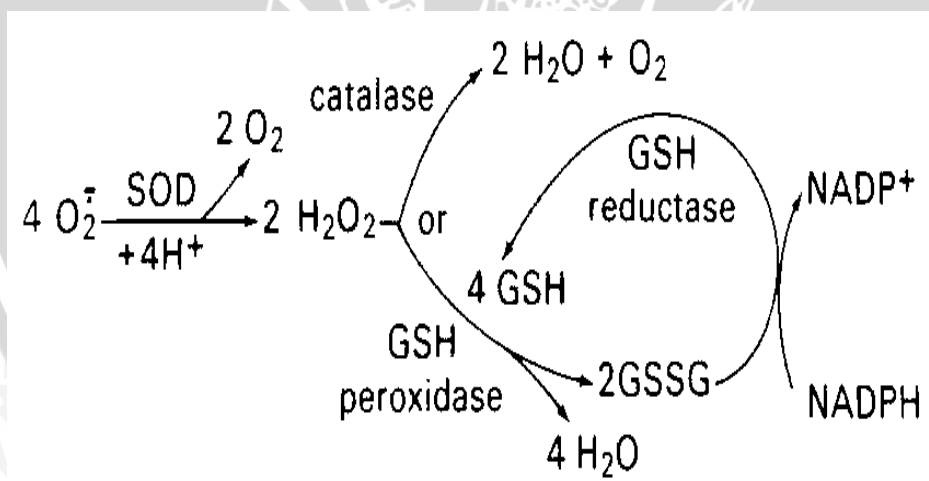
Protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang kecuali bila sangat ekstensif. Hal ini terjadi hanya jika radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein. Salah satu penyebab kerusakan terfokus adalah jika protein berikatan dengan ion logam transisi (Arief 2007) .

c. Kerusakan DNA

Seperti pada protein kecil kemungkinan terjadinya kerusakan di DNA menjadi suatu reaksi berantai, biasanya kerusakan terjadi bila ada lesi pada susunan molekul, apabila tidak dapat diatasi, dan terjadi sebelum replikasi maka akan terjadi mutasi. Radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk di sekitar DNA seperti pada radiasi biologis (Arief 2007). Radikal oksigen dan agen lain yang dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas oksigen seperti radiasi ionisasi, dapat menginduksi beberapa lesi pada DNA yang menyebabkan delesi, mutasi, dan efek genetik letal lainnya (McKersie, 1996).

2.3.7 Pertahanan Sel Terhadap Radikal Bebas

Terdapat mekanisme pertahanan tubuh terhadap efek perusakan suatu bahan teroksidasi kuat. SOD (superoksida dismutase dan katalase) mengkatalisasi dismutasi dari superoksida dan hidrogen peroksida. GSH (glutathion) peroksidase mereduksi peroksida hidrogen dan organik menjadi air dan alkohol. GSH *S-transferase* melakukan pemindahan residu glutathion menjadi metabolit elektrofilik reaktif dari *xenobiotic*. Produksi glutathion teroksidasi (GSSG) direduksi secara cepat oleh reaksi yang menggunakan NADPH yang dihasilkan dari berbagai sistem intraseluler, diantaranya *hexose-monophosphate shunt*. Berbagai isoenzim organel spesifik dari dismutase superoksida juga ditemukan. SOD Zn, Cu merupakan sitoplasmik, sedangkan enzim Zn, Mn mitokondrial. Isoenzim ini tidak ditemukan dalam cairan ekstraseluler (Arief, 2007).



Gambar 2.6 Enzim-Enzim Pertahanan Antioksidan (Arief, 2007)

Pertahanan antioksidan kimiawi bagai pedang bermata dua. Pertama, saat bahan tereduksi menjadi radikal maka derivat radikalnya juga terbentuk. Sehingga, jika suatu radikal sangat tidak stabil, reaksi radikal berantai mungkin akan berlanjut. Kedua, bahan tereduksi dapat mereduksi oksigen menjadi

superoksida atau peroksida merupakan radikal hidroksil dalam reaksi auto-oksidasi. Ascorbat dan asam urat dapat berfungsi sebagai anti oksidan, ikut serta secara langsung dalam auto-oksidasi, baik melalui reduksi aktifator oksigen lain seperti rangkaian logam transisi atau quinone, atau bertindak sebagai kofaktor enzim. Proses tersebut dapat melibatkan kemampuan askorbat untuk depolimerisasi DNA, hambatan Na^+/K^+ ATPase otak, potensiasi toksisitas paraquat, dan sebagai mediator peroksidasi lemak. Juga mempunyai kontribusi kelainan patofisiologi dari metabolisme purin. Sifat yang sesungguhnya campuran pro atau antioksidan untuk bahan pereduksi khusus adalah integrasi kompleks dari beberapa faktor (Arief 2007).

2.4 Stres Oksidatif

Tekanan oksidatif (*oxidative stress*) merupakan keadaan dimana tingkat oksigen reaktif intermediate (ROI) yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas dalam tubuh yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu (Arief, 2007).

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002).

2.5.2 Cara Kerja Antioksidan

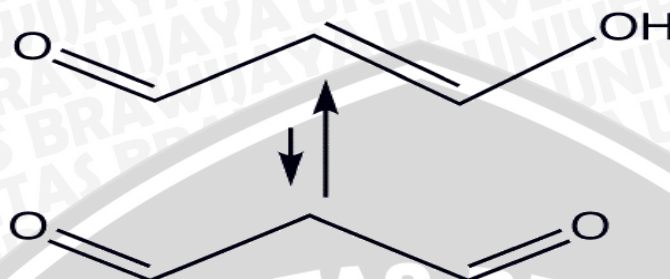
Secara umum cara kerja antioksidan adalah dengan menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak sendiri terdiri dari tiga tahap utama, yaitu inisiasi,

propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen. Tahap selanjutnya yaitu propagasi dimana radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi yang lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru. Hidroperoksida yang terbentuk sifatnya tidak stabil dan akan terdegradasi menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek, seperti aldehida dan keton. Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak ini segera setelah terbentuk. Berbagai macam antioksidan yang ada mempunyai mekanisme kerja dan kemampuan yang sangat bervariasi (Kumalaningsih, 2006).

2.5.3 Jenis Antioksidan

Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Dalimartha dan Soedibyo, 1999). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Rohdiana, 2001; Sunarni, 2005). Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksida lipid pada makanan. Meningkatnya minat untuk mendapatkan antioksidan alami terjadi beberapa tahun terakhir ini. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya (Sunarni, 2005).

2.6 MDA (Malondialdehyde)



Gambar 2.7 Struktur Kimia Dari Malondialdehyde (Nair, 2008)

Nama IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*): propanedial. Struktur kimia yaitu $\text{CH}_2(\text{CHO})_2 \rightarrow \text{HCOCH}=\text{CH}-\text{CHO}$. Malondialdehid merupakan suatu senyawa organik yang memiliki formula $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Sifatnya yang reaktif terjadi secara alami dan malondialdehyde merupakan suatu *marker* untuk stress oksidatif dalam tubuh organisme. Di dalam tubuh makhluk hidup, termasuk manusia, ROS (*reactive Oxygen Species*) mendegradasi asam lemak *Polyunsaturated* menghasilkan malondialdehyde. Senyawa ini adalah aldehid yang reaktif menyebabkan stres yang sifatnya toksik terhadap sel dan membentuk *advanced Glycation Endproducts* (AGE). Malondialdehyde juga memiliki sifat mutagenik (Nair, 2008). Malondialdehyde bereaksi dengan deoksiadenosin dan deoksiguanosin pada DNA membentuk DNA *adducts*, salah satunya M1G yang bersifat mutagenik. Gugus Guanidin dari residu arginin terkondensasi oleh MDA dan menghasilkan 2-amonipiridin. MDA dan *thiobarbiturate reactive substance* (TBARS) yang lainnya akan menghasilkan gambaran derivat merah yang dapat dilihat secara spektrofotometer (marnett, 1999).

Peroksidasi lemak yang dimaksud adalah degradasi oksidatif dari lemak yang merupakan suatu proses dimana radikal bebas mengambil elektron dari membran sel lemak yang mengakibatkan kerusakan sel. Proses ini terjadi melalui mekanisme rantai reaksi radikal bebas dan paling sering mengenai asam lemak *polyunsaturated* karena terdiri ikatan ganda yang multipel di antaranya yang terletak antara gugus metilen-CH₂ yang memiliki hidrogen reaktif (McKersie, 1996). Peroksidasi lemak akibat reaksi antara lemak *polyunsaturated* dengan radikal bebas oksigen telah diteliti secara ekstensif karena terjadinya reaksi ini mengakibatkan bau tengik dan perubahan bau dan rasa lainnya yang tidak diinginkan pada makanan. Peroksidasi lipid terjadi dalam 3 tahapan: inisiasi, propagasi, dan terminasi (McKersie, 1996).

1. Tahap Inisiasi

Tahap inisiasi adalah tahap dimana radikal asam lemak terbentuk. Pencetus yang paling berperan pada terjadinya tahapan inisiasi pada makhluk hidup adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS), seperti OH⁻, dimana ROS akan mengambil atom H dari asam lemak *unsaturated* untuk membentuk air (H₂O) dan suatu radikal asam lemak (Farlex, 2007).

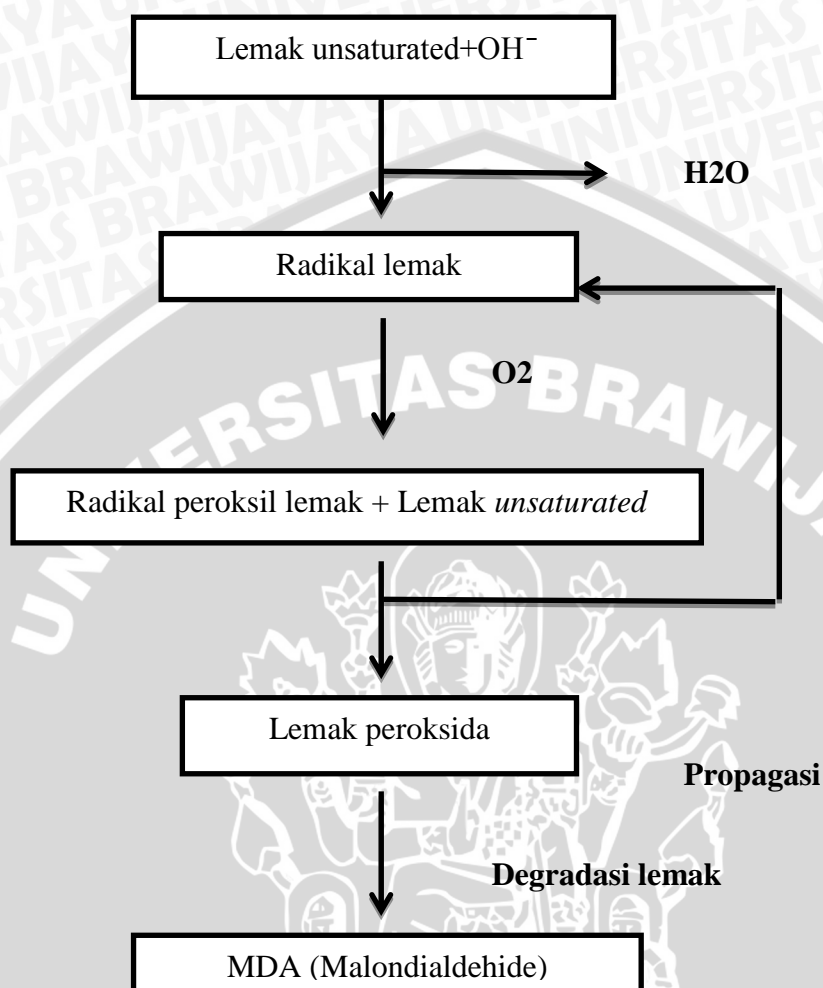
2. Tahap Propagasi

Radikal asam lemak merupakan molekul yang sifatnya tidak stabil. Karena sifatnya yang tidak stabil tersebut, radikal asam lemak dengan mudah bereaksi terhadap molekul oksigen. Reaksi asam lemak dengan molekul oksigen ini akan membentuk radikal peroksil asam lemak. Radikal peroksil asam lemak ini juga merupakan suatu spesies yang tidak stabil yang kemudian akan bereaksi dengan asam lemak yang lain membentuk radikal asam lemak yang lain dan hidrogen peroksida atau siklik peroksida bila radikal peroksil asam lemak ini

bereaksi terhadap dirinya sendiri. Siklus ini akan berlanjut dengan munculnya radikal asam lemak yang lain tersebut yang akan bereaksi dengan cara yang sama seperti yang telah dijelaskan. Jadi, pada saat suatu radikal hidroksil bereaksi terhadap suatu asam lemak *unsaturated* membentuk radikal asam lemak, radikal asam lemak yang terbentuk akan membentuk radikal asam lemak yang selanjutnya. Pembentukan radikal asal lemak yang terus-menerus ini mengakibatkan proses ini disebut dengan mekanisme reaksi berantai (Farlex,2007).

3. Tahap Terminasi

Tahap terminasi meliputi tahapan dimana reaksi radikal yang sifatnya berupa reaksi berantai ini terhenti. Reaksi radikal terhenti apabila terdapat dua radikal yang bereaksi yang menghasilkan spesies bersifat non-radikal. Hal ini terjadi apabila konsentrasi spesies radikal cukup tinggi untuk kemungkinan terjadi dua radikal yang saling bertabrakan. Tahap terminasi ini juga dapat terjadi akibat peran beberapa molekul tubuh makhluk hidup yang dapat menangkap radikal bebas sehingga dapat melindungi membran sel terhadap kerusakan akibat radikal bebas. Salah satu antioksidan yang penting adalah alfa-tokoferol, biasa dikenal sebagai vitamin E. Antioksidan lain yang dibuat oleh tubuh sendiri adalah berupa enzim *superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan peroksidase (Farlex, 2007).



Gambar 2.8 Mekanisme Peroksidasi Lipid dan Pembentukan MDA (Farlex,2007)

Di antara produk degradasi lemak peroksida adalah aldehyd, seperti malondialdehide, dan hidrokarbon, seperti etan dan etilen, yang merupakan produk akhir peroksidasi lemak yang biasa diukur (Mckersie, 1996).

Ada beberapa diagnostik tes yang tersedia untuk menghitung jumlah produk akhir dari peroksidasi lemak, terutama malondialdehide. Metode yang paling sering dipakai adalah metode *thiobarbiturate reactive substances* (TBARS) (Mckersie, 1996).

2.7 Kacang Tunggak

2.7.1 Taksonomi Kacang Tunggak

Klasifikasi *Vigna unguiculata* L. menurut nomenklatur adalah

Superregnum	: Eukaryota
Regnum	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Magnoliopsida
Subclassis	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Familia	: Fabaceae
Subfamilia	: Faboidea
Tribus	: Phaseoleae
Subtribus	: Phaseolinae
Genus	: <i>Vigna</i>
Species	: <i>Vigna unguiculata</i>
Subspecies	: <i>Vigna unguiculata subsp. unguiculata</i> (Imrie, 2004).



Gambar 2.9 Tanaman Kacang tunggak

2.7.2 Morfologi Kacang Tunggak

Kacang tunggak, di beberapa daerah lebih dikenal dengan nama kacang tolo atau kacang dadap. Kacang tunggak memiliki ciri polong nya tegak ke atas dan kaku. Tanaman kacang tunggak merupakan tanaman herbal, lemah, tumbuh tegak setinggi 15-80 cm setiap tahunnya. Daunnya agak kasar, melekat pada tangkai daun yang agak panjang, dengan posisi daun bersusun tiga. Daunnya selalu berganti, memiliki petiole dengan panjang 5-25 cm. Bagian lateral daunnya asimetris, sedangkan bagian daun tengahnya simetris. Bunga berbentuk seperti

kupu kupu, terletak pada ujung tangkai yang panjang. Buah kacang tunggak berukuran kurang lebih 10 cm, berbentuk polong, berwarna hijau, dan kaku. Biji kacang tunggak berbentuk bulat panjang, agak pipih dengan ukuran 4mm-6mm x 7mm-8mm, dan berwarna kuning kecoklatan (Rukmana, 2000).



Gambar 2.10 Biji Kacang Tunggak (Febrianindya, 2011)

2.7.3 Penyebaran Pertumbuhan Kacang Tunggak

Kacang tunggak merupakan salah satu hasil panen kacang kacangan yang penting di daerah tropis *semi-arid* yang meliputi Asia, Afrika, Eropa Selatan, Amerika Tengah dan Amerika Latin. Kacang tunggak berasal dari Afrika yang kemudian penyebarannya meluas ke Asia, di antaranya Thailand dan India. Kerabat dekat tanaman kacang tunggak ditemukan pula di Abbissinia, Eritrean, dan Somalia. Saat ini, penanaman kacang tunggak telah meluas ke daerah daerah tropis dan subtropis. (Rukmana, 2000).

Kacang tunggak merupakan sumber protein penting pada sebagian besar negara berkembang. Secara kimiawi, kacang tunggak yang matur mengandung 23% protein, 60% karbohidrat, dan 2% lemak. Kacang tunggak mengandung asam amino lisin dalam jumlah besar, namun seperti jenis kacang-kacangan lainnya, hanya mengandung sedikit asam amino metionin dan sistin. Selain untuk konsumsi manusia, seluruh bagian tanaman kacang tunggak juga dapat digunakan untuk makanan ternak dan untuk pengembangan tanah. (Fageria, 2002).

Kacang tunggak merupakan tanaman yang tahan terhadap kekeringan dan musim panas. Ia juga memiliki kemampuan untuk mengikat nitrogen dari udara melalui nodul akarnya, dan dapat tumbuh dengan baik pada tanah kering dengan campuran 85% pasir yang mengandung bahan organik kurang dari 0.2% dan kandungan fosfor yang rendah (Imrie, 2004).

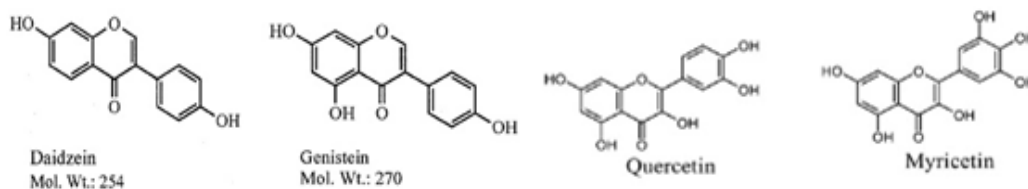
2.7.4 Kandungan Kacang Tunggak

Kacang tunggak mengandung sejumlah nutrisi yang dibutuhkan tubuh, yaitu protein 23 %, karbohidrat yang tinggi 60 %, dan lemak 2%. Kacang tunggak juga mengandung asam amino lisin dalam jumlah besar, tapi hanya mengandung asam amino metionin dan sistin dalam jumlah sedikit (Fageria *et al.*, 2002).

Tabel 2.2 Kandungan Gizi Tiap 100 G Biji Kacang Tunggak (Rukmana, 2000)

No	Kandungan Gizi	Banyaknya
1.	Kalori	342,00 Kal
2.	Protein	22,90 g
3.	Lemak	1,40 g
4.	Karbohidrat	61,60 g
5.	Kalsium	77,00 g
6.	Fosfor	449,00 mg
7.	Zat Besi	6,50 mg
8.	Vitamin A	30,00 SI
9.	Vitamin B1	0,92 mg
10.	Vitamin C	2,00 mg
11.	Air	11,00 g
12.	Bagian yang dapat dimakan	100%

Selain itu, biji kacang tunggak juga memiliki kandungan senyawa-senyawa *flavonoid* seperti turunan *flavon*, golongan *flavonol* (*quercetin*, *kaempferol*, dan *myricetin*) dan turunan isoflavon (*genistein* dan *daidzein*). Pada subspecies kacang tunggak yaitu *Vigna unguiculata subs. unguiculata* (*black eyed pea*) mengandung jumlah *genistein* sebesar 16,9 $\mu\text{g/g}$, kadar *kaempferol* sebesar 20,3 $\mu\text{g/g}$ dan juga mengandung kadar *myricetin* sebesar 51,3 $\mu\text{g/g}$ dan *quercetin* sebesar 412,5 $\mu\text{g/g}$ (Wang, 2006). Struktur kimia beberapa kandungan flavonoid dari kacang tunggak ditunjukkan Gambar 2.7.



Gambar 2.11 Struktur Kimia Beberapa Flavonoid dalam Kacang Tunggak

(Wu, 1999 dan Strobel, 2005)

2.7.5 Manfaat Kacang Tunggak Sebagai Antioksidan

Senyawa flavonoid dalam kacang tunggak berfungsi sebagai anti oksidan, seperti genistein, daidzein, kaempferol, dan quercetin. Genistein sendiri merupakan salah satu antioksidan yang kuat. Sebagai antioksidan genistein dapat menurunkan kadar lipid peroksidase dan meningkatkan enzim *superoxide dismutase*. Dilaporkan juga bahwa genistein memiliki sifat antioksidan yang disebabkan sifat reaktif terhadap radikal bebas sehingga dapat menghambat perkembangan sel kanker pada fase promosi (Pawiroharsono, 2001). Selain itu, genistein mempunyai efek menekan ekspresi mRNA molekul-molekul proinflamasi, seperti TNF- α , MCP-1, dan ICAM-1 pada sel-sel endotel mikrovaskular otak yang terinduksi hemolisis, meskipun tidak berefek terhadap ekspresi VCAM-1 (Lu *et al.*, 2009). Suplementasi genistein tinggi 598 mg/kg pakan pada tikus yang dilatih berlari selama 4 minggu dapat meningkatkan SOD dari 0,08 menjadi 0,091 U/mg protein RBC. Genistein secara *in vitro* menghambat pertumbuhan dan penyebaran sel kanker prostat yang bergantung ataupun tidak bergantung pada androgen (Winarsi, 2007).

2.7.6 Mekanisme Kerja Antioksidan Kacang Tunggak

Kandungan kacang tunggak yang penting untuk mencegah peningkatan radikal bebas dalam tubuh yaitu kandungan flavonoidnya terutama genistein dan quercetin. Genistein merupakan fitoestrogen dengan efek antioksidan kuat yang dapat mencegah proses oksidasi dari radikal bebas. Dalam banyak penelitian yang telah dilakukan sifat estrogenik genistein telah terbukti, dan telah dinyatakan pula bahwa diantara banyak jenis isoflavon, genistein mempunyai aktivitas estrogenik paling kuat. Dalam peranannya sebagai antioksidan, genistein merupakan antioksidan yang kuat (Phytochemicals, 2008).

2.7.6.1 Mekanisme Kerja Genistein

Kerja genistein (isoflavon) sebagai antioksidan adalah menangkap radikal bebas, yaitu dengan cara mengubah O_2^- (ion superoksida yang merupakan metabolit terinduksi) yang dikatalis oleh reaksi dismutasi.

1) Farmakokinetik

Genistein dengan cepat diabsorpsi. Pada dosis tertinggi yang diberikan (300 mg) laju absorpsi usus nampak terbatas (Ullmann U. Et al, 2008). Pada penelitian ini, yang menggunakan tikus sebagai subyek percobaan, menunjukkan pola dua puncak pada diagram konsentrasi plasma dibandingkan waktu. Hal ini diduga disebabkan oleh sirkulasi enterohepatik (Joshi *et al.*, 2007). Waktu paruh rata rata dari 40 sukarelawan dan pemberian dosis 30-300mg adalah 7,7-10,2 jam (Ullman *et al.*, 2008). Konsentrasi maksimum dalam plasma darah tercapai dalam waktu 4 sampai 6 jam setelah pemberian (Ullmann *et al.*, 2008). Pada penelitian lain, konsentrasi maksimum dalam plasma tercapai dalam waktu 4 sampai 8 jam setelah pemberian (Joshi *et al.*, 2007).

Metabolit genistein yang telah diabsorpsi mengalami siklus enterohepatik dan dapat diekskresikan melalui empedu, didekonjugasi oleh flora usus, direabsorpsi, dan direkonjugasi oleh liver, dan diekskresikan dalam urine. Lignan dan isoflavon dapat diukur dalam urin, plasma, feses, semen, empedu, saliva, dan ASI. Metabolisme genistein terutama ditentukan oleh flora usus, penggunaan antibiotik, serta penyakit usus dan jenis kelamin (Murkise *et al.*, 1998).

Pada suatu penelitian yang menggunakan genistein sintetik yang dimurnikan mencapai konsentrasi 99,4%, menyatakan bahwa genistein aman dikonsumsi berdasarkan jarak dosisnya yang lebar. Hal ini dibuktikan bahwa pada pemberian dosis oral tunggal 30, 60, 150, atau 300 mg yang diberikan pada 40 sukarelawan yang sehat, tidak terjadi efek samping pada pemberian dosis manapun. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan signifikan pada tanda-tanda vital, EKG, dan tanda-tanda laboratorium klinis (Ullmann *et al.*, 2008).

2) Farmakodinamik

Kandungan kacang tunggak yang paling penting sebagai antioksidan adalah genistein. Dimana genistein merupakan salah satu antioksidan kuat yang mampu mencegah proses oksidasi dari radikal bebas sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan sel. Mekanisme kerjanya secara langsung melalui penangkapan radikal bebas, yaitu dengan mengubah O₂⁻ (ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi) yang dikatalisa reaksi dismutasi (Challem, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah ada, diketahui bahwa genistein bekerja melalui dua jalur, yaitu dengan perantara reseptor estrogen (jalur

estrogenik) dan yang tidak diperantarai reseptor estrogen (jalur non-estrogenik). Mekanisme kerja genistein melalui jalur estrogenik dapat menimbulkan efek antioksidan, estrogenik, dan antiestrogenik. Sedangkan jalur non-estrogenik berupa inhibisi kanker (Challem, 2005).

a. Jalur Estrogenik

Jalur estrogenik dilalui genistein dengan kemampuannya mengikat reseptor estrogen. Dari banyak penelitian telah dibuktikan bahwa genistein mampu mengikat reseptor estrogen paling kuat dibandingkan anggota fitoestrogen lain. Genistein memiliki kekuatan mengikat reseptor estrogen sekitar 1/100 kali kemampuan estradiol, dibandingkan daidzein yang kemampuannya hanya sekitar 1/1000 kali kemampuan estradiol. Estradiol sendiri merupakan salah satu jenis dari estrogen (Ganora, 2008). Kemampuan ini dikarenakan strukturnya mirip dengan estrogen endogen manusia. Hal ini menunjukkan efek estrogenik dari genistein (Adams, 2005).

Sebenarnya efek antioksidan dari genistein bisa ditunjukkan melalui mekanisme kerjanya secara langsung melalui reaksi kimia dengan radikal bebas, yaitu dengan mengubah O_2^- (ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi) yang dikatalisa reaksi dismutasi. Hal ini dikarenakan adanya gugus hidroksil pada struktur fenolik genistein yang merupakan reduktor kuat. Posisi gugus hidroksil ini menentukan aktivitas antioksidan genistein (Kintono, 2010).

Efek antioksidan juga dimiliki genistein melalui pengikatannya terhadap reseptor estrogen. Reseptor estrogen spesifik terdiri dari 2 jenis, yaitu reseptor estrogen α (ER α) dan reseptor estrogen β (ER β) yang memediasi aksi estrogen dan isoflavon dalam jalur yang saling berlawanan. ER α , reseptor pertama yang ditemukan, terdapat di saluran reproduksi wanita, kelenjar mammae, hipotalamus,

sel endotel, dan otot polos vaskular. ER β diekspresikan karena distribusi jaringan yang sedikit berbeda, dengan ekspresi terbanyak pada prostat dan ovarium, serta sedikit pada paru-paru, otak, dan sistem vaskular (Gilman *et.al*, 2007). Pada saat estrogen mengikat ER α , gen yang menginduksi proliferasi sel teraktivasi. Sebaliknya, proliferasi sel diinhibisi oleh aktivitas ER β (Adams, 2005).

Penelitian yang dilakukan Borrás *et al.* (2006) menunjukkan bahwa efek antioksidan genistein lebih dikarenakan *up*-regulasi ekspresi gen antioksidan endogen yang melibatkan aktivasi *extracellular-signal regulated kinase* (ERK1/2) dan *nuclear factor κ B* (NF κ B). Mekanisme kerja klasik dari estrogen dan isoflavon fitoestrogen (seperti genistein) melibatkan reseptor estrogen intrasel. Kompleks hormon-reseptor ini akan berikatan dengan *estrogen response element* (ERE) spesifik pada region promotor dari gen tertentu yang *estrogen-responsive* sehingga menyebabkan aktivasi transkripsional gen target tersebut. Di sisi lain, aktivasi gen target oleh estrogen juga dimediasi oleh faktor transkripsi lain yang independen ERE, seperti *activating protein* (AP)-1 dan NF κ B.

Dari penelitian Borrás *et al.* (2006) pada sel MCF-7 (sel kanker payudara manusia) diketahui bahwa genistein dengan konsentrasi rendah (0,5 μ M) mampu meningkatkan kemampuan antioksidan dalam sel melalui jalur pensinyalan yang diawali dengan ikatan terhadap reseptor ER β dalam nukleus. Pada konsentrasi yang cukup isoflavon dapat secara kompetitif mengikat reseptor ER β . Hal inilah yang membuat genistein berefek antiestrogenik. Genistein merupakan isoflavon yang mengikat ER β dengan afinitas lebih tinggi dibanding ER α . Gilman *et. al.* (2007) menyatakan bahwa genistein berikatan dengan ER β dengan afinitas 5 kali lebih besar daripada ER α dengan perbandingan kedua reseptor mengikat estradiol dengan afinitas yang sama. Proses ini kemudian diikuti oleh fosforilasi

cepat ERK1/2 dan translokasi NF κ B ke nukleus. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya subunit p50 pada kompleks NF κ B di nukleus. Translokasi dari NF κ B ini sejalan dengan aktivasi ERK1/2, sehingga bila aktivasi ERK1/2 dihambat maka tidak terjadi pula translokasi NF κ B. Translokasi NF κ B ke nukleus pada akhirnya menyebabkan transaktivasi ekspresi MnSOD (suatu antioksidan). Peningkatan ekspresi mRNA MnSOD ini dapat menurunkan produksi ROS sehingga mengurangi tingkat peroksidasi intraselular (Borras *et al.*, 2006). Proses ini digambarkan pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Mekanisme Kerja Antioksidan Genistein Dalam Sel

Selain mengaktivasi reseptor estrogen α atau reseptor estrogen β , genistein mempunyai efek lain dalam hal mempengaruhi sintesa estrogen dan degradasinya. Genistein menghambat aktivitas beberapa enzim yang berpartisipasi dalam metabolisme estrogen. Genistein menghambat enzim yang memecah estrogen, seperti enzim sitokrom P450 (CYP450), dimana efeknya adalah meningkatkan kadar estrogen dalam tubuh (Adams, 2005).