

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Putri malu (*Mimosa pudica* L.)



Gambar 1 Tumbuhan Putri Malu

1. Klasifikasi putri malu adalah:

Kingdom : Plantae
Divisi : Angiospermae
Kelas : Dikotil
Ordo : Rosales
Famili : Mimosaceae
Genus : Mimosa
Spesies : *Mimosa pudica* L.

2. Morfologi putri malu

Daun berupa daun majemuk menyirip ganda dua yang sempurna. Jumlah anak daun setiap sirip 5-26 pasang. Helaian anak daun berbentuk memanjang sampai lanset, ujung runcing pangkal membulat, tepi rata, permukaan atas dan bawah licin, panjang 6-16 mm, lebar 1-3mm, berwarna hijau, umumnya tepi daun

berwarna ungu. Jika daun tersentuh akan melipatkan diri, menyirip rangka. Sirip terkumpul rapat dengan panjang 4-5,5cm. Batang bulat, berambut, dan berduri tempel. Batang dan rambut sikat yang miring ke bawah. Akar berupa akar pena yang kuat. Bunga berbentuk bulat seperti bola, bertangkai, berwarna ungu atau merah. Kelopak sangat kecil, bergigi empat, seperti selaput putih. Buah berbentuk polong, pipih, seperti garis. Biji bulat dan pipih.

3. Kandungan kimia

Daun dan akar putri malu mengandung senyawa mimosin, asam pikekolinat, tannin, alkaloid, dan saponin. Selain itu juga mengandung triterpenoid, sterol, polifenol dan flavonoid.

4. Sifat dan khasiat

Rasanya manis, sifatnya dingin, astrigen. Herba putri malu berkhasiat sebagai penenang, peluruh dahak (ekspektoran), peluruh kencing (diuretik), obat batuk (antitusif), penurun demam (antipiretik), hepatoprotektif, dan antiradang. Akar dan biji putri malu dapat berkhasiat sebagai perangsang muntah (Jayani, 2007).

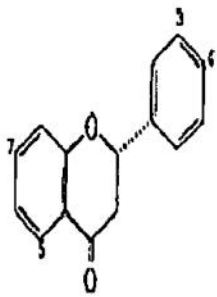
B. Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu kelompok senyawa kompleks alami fenol yang terdapat pada beberapa jenis tumbuhan yang menjadi komponen penting dalam diet manusia, seperti tumbuhan putri malu pada penelitian ini.

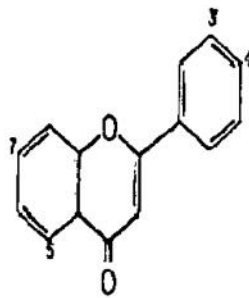
Struktur kimiawi flavonoid terdiri dari dua cincin benzena (A dan C) yang terikat oleh sebuah cincin heterosiklik (B). Golongan flavonoid dibedakan berdasarkan kadar oksidan dan pola substitusi cincin C, selain pada kompleks

individual dalam kelompok yang berbeda pada pola substitusi cincin A dan B (Krizkova *et al*, 2007).

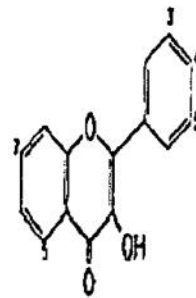
Beberapa struktur flavonoid sebagai berikut:



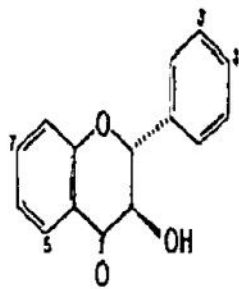
Flavanones



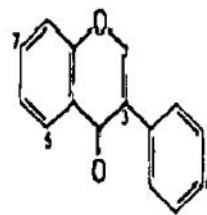
Flavones



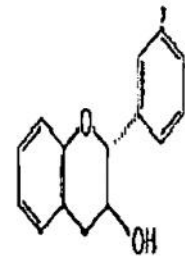
Flavanols



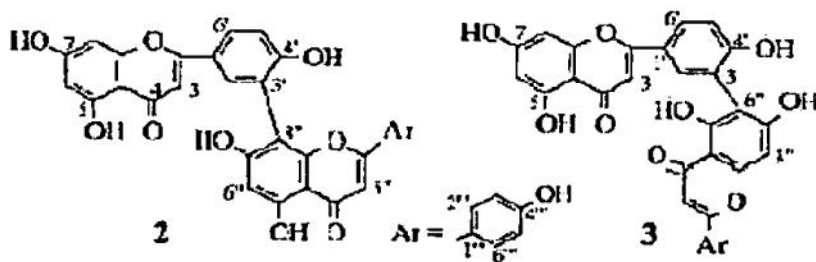
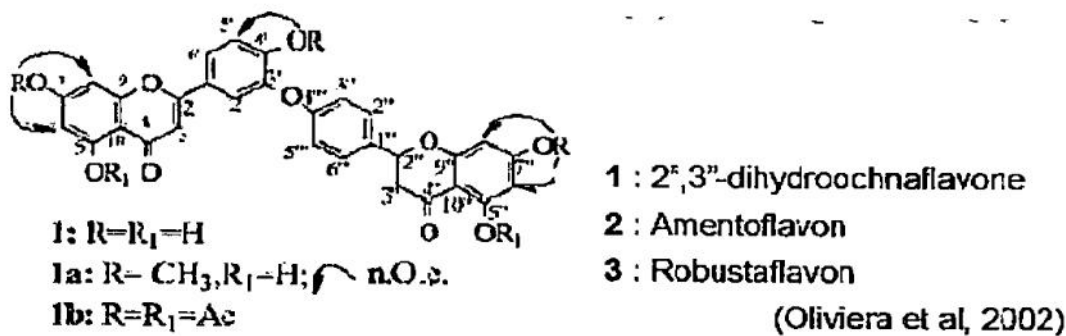
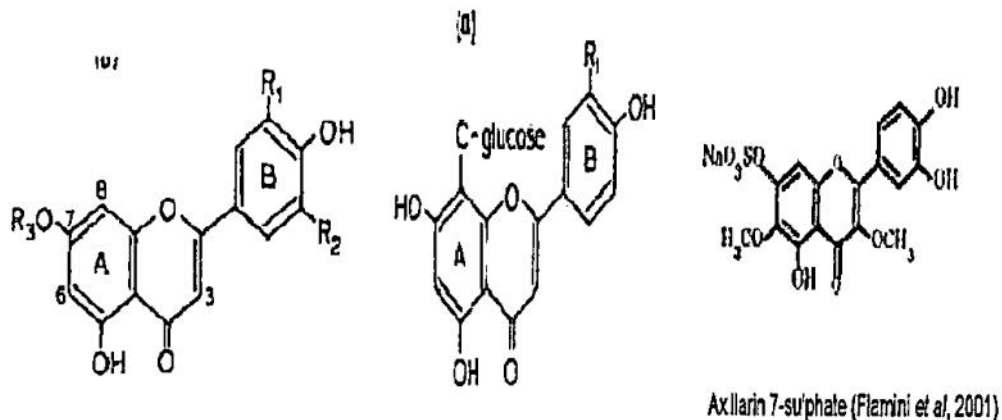
Flavanonol



Isoflavones



Flavan-3-ols



Gambar 2. Struktur Flavonoid

Flavonoid disintesis oleh jalur metabolik fenilpropanoid dimana asam amino fenilalanin digunakan untuk menghasilkan A-coumaroyl-CoA. A-coumaroyl-CoA bergabung dengan malonyl CoA menghasilkan flavonoid. Jalur metabolisme flavonoid berlangsung melalui rangkaian modifikasi enzimatik dari flavanon → dihydroflavanol → antosianin (Flavonoid, 2008).

Flavonoid mempunyai banyak aktivitas biologis, seperti aktivitas modifikasi enzim, reaksi intermediet, pembersih radikal bebas, antioksidan, antibakterial, antimutagenik, dan antiviral. Selain itu, flavonoid juga dapat

mutagenik, pro-oksidan, penghambat enzim, dan juga memacu sitotoksik pada konsentrasi yang tinggi (Krizkova *et al*, 2007).

Flavonoid dengan kandungan luteolin-7 β -glukuronid, luteolin-7 β -D-glukosid, kampferol-3-O-D-galaktosid, friedeline, barurenol pada ekstrak ethanol daun tumbuhan dapat membentuk kompleks antioksidan dan dapat digunakan sebagai aktivitas hepatoprotektif. Penelitian sebelumnya dikatakan bahwa monitoring aktivitas hepatoprotektif dari kompleks flavonoid secara rutin dapat juga berperan sebagai pembersih radikal bebas dan juga memiliki aktivitas anti-lipid peroksidase pada induksi hepatotoksik oleh CCl₄ (Kharpathe *et al*, 2007). Jain *et al*, 2007, juga pernah meneliti tentang efek flavonoid sebagai aktifitas hepatoprotektif.

Salah satu mekanisme dari kompleks flavonoid adalah melalui interaksinya dengan sitokrom P450, monooksigenase metabolisme xenobiotik (ex: obat, karsinogenik). Dalam proses karsinogenesis ini, flavonoid meningkatkan CYP-mediati aktivitas karsinogen dengan menginduksi CYPs atau dengan menstimulasi aktivitas enzimatisnya. Efek beberapa flavonoid pada sitokrom P450 juga tergantung pada aktivitas EROD (*ethoxyresorufin-O-deethylase*) dan MROD (*methoxyresorufin-O-demethylase*) (Krizkova *et al*, 2007).

C. Fungsi Hati

Hati (hepar) merupakan organ dalam yang memegang peranan sangat penting dalam fungsi fisiologis tubuh. Meskipun fungsi fisiologis hati ini sangat beragam, namun masing-masing fungsinya saling terkait satu sama lainnya. Fungsi fisiologis hati yang beraneka ragam tersebut, diantaranya adalah :

1. Sel parenkim hati (hepatosit) yang terdiri dari 60% massa hepar, bertanggungjawab untuk konjugasi bilirubin dan untuk ekskresinya ke dalam saluran empedu.

2. Hati merupakan aktifitas metabolik yaitu:

a. Metabolisme karbohidrat

Dalam metabolisme karbohidrat, hati melakukan fungsi spesifik sebagai berikut (1) menyimpan glikogen, penyimpanan glikogen ini penting untuk mempertahankan kadar glukosa darah, (2) mengubah galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, (3) glukoneogenesis, berfungsi untuk mempertahankan konsentrasi normal glukosa darah karena glukoneogenesis hanya terjadi secara bermakna apabila konsentrasi glukosa darah mulai menurun dibawah normal, (4) membentuk banyak senyawa kimia penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat.

b. Metabolisme lemak

Beberapa fungsi spesifik dalam metabolisme lemak adalah (1) kecepatan oksidasi beta asam lemak yang sangat cepat untuk mensuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, (2) pembentukan sebagian besar lipoprotein, (3) pembentukan sejumlah besar kolesterol dan fosfolipid, dan (4) mengubah sejumlah besar karbohidrat dan protein menjadi lemak.

c. Metabolisme protein

Beberapa fungsi hati dalam metabolisme protein adalah (1) deaminasi asam amino, (2) pembentukan ureum untuk mengeluarkan ammonia dari cairan tubuh, (3) pembentukan protein plasma, (4) inkonversi diantara asam amino

yang berbeda demikian juga dengan ikatan penting lainnya untuk proses metabolisme tubuh (Guyton, 1997).

3. Hati menginaktifasi dan detoksifikasi xenobiotik dan metabolit.

Xenobiotik tidak mempunyai nilai nutrisi (tidak dapat digunakan tubuh untuk energi) dan mempunyai sifat toksik. Xenobiotik terdapat dalam komponen alami makanan dan dapat dibentuk dari farmakologi obat dan berkenaan dengan reaksi obat. Hati adalah bagian tubuh utama transformasi xenobiotik selain ginjal dan saluran intestinal serta degradasi komponen makanan dan obat. Karena substansi tersebut banyak yang bersifat lipofilik sehingga substansi tersebut dioksidasi, dihidrosilasi, dan dihidrolisis oleh enzim pada reaksi fase 1. Reaksi fase 1 akan memperkenalkan golongan hydroxyl atau reaktif lain yang dapat digunakan untuk reaksi konjugasi (reaksi fase 2) (Smith *et al*, 2005).

4. Hati mengekskresikan banyak zat alamiah dan benda asing ke dalam saluran bilier.

5. Hati menyimpan berbagai senyawa, termasuk besi dan vitamin B₁₂ serta vitamin A.

6. Dalam metabolisme steroid hati berperan untuk menginaktifkan dan mengekskresi aldosteron, glukokortikoid, estrogen, progesteron dan testosteron (Price dkk, 2006).

7. Gudang darah dan filtrasi. Sinusoid hati merupakan depot darah yang mengalir kembali dari vena kava, serta aktifitas fagositik sel kupffer membuang bakteri dan debris dari darah (Price dkk, 2006).

Bila hati mengalami kerusakan, maka satu atau lebih fungsi akan melemah dan akan mempengaruhi perubahan metabolisme kimia dalam tubuh.

D. Toksisitas oksigen dan kerusakan akibat radikal bebas

Oksigen adalah senyawa esensial pada kehidupan manusia dan toksik. Manusia tergantung oksigen untuk reaksi oksidasi pada jalur pembentukan adenosin trifosfat (ATP), detoksifikasi dan biosintesis. Tetapi ketika oksigen menerima elektron tunggal, akan berubah menjadi radikal oksigen yang merusak komponen seluler lipid, protein dan DNA.

Radikal adalah kompleks yang mengandung electron tunggal. Biasanya terdapat diluar orbital. Dua molekul oksigen yang tidak berpasangan dalam orbital yang sama. Melalui proses enzimatik dan nonenzimatik di dalam sel, oksigen menerima electron tunggal dari *reactive oxygen species* (ROS). Hal ini akan dijelaskan dibawah ini:

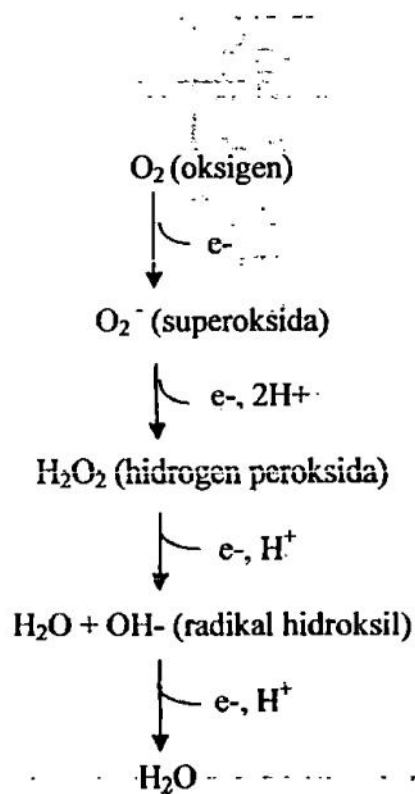
1. Oksigen dan generasi dari ROS(*Reactive Oxygen Species*).

a. Radikal alami O₂

Radikal adalah molekul tunggal yang tidak berpasangan dengan electron di dalam orbital. Sedangkan radikal bebas adalah radikal yang dapat beraktifitas sendiri. Radikal dibentuk dalam aktifitas enzim selama reaksi yang mempunyai reaktifitas sangat tinggi dan menginisiasi rantai reaksi oleh inti electron dari molekul yang berdampingan untuk memenuhi orbital. Tetapi, logam transisi seperti Fe, Cu dan Mo bukan radikal bebas walaupun mempunyai electron tunggal dalam orbital, karena relatif stabil dan tidak menginisiasi rantai elektron serta logam tersebut diikat oleh protein dalam sel.

Oksigen atom merupakan biradikal yang mempunyai 2 elektron tunggal dalam orbital yang berbeda. Elektron ini tidak dapat dalam orbital yang sama sehingga oksigen bersifat toksik. Tetapi elektron O_2 tidak dapat bereaksi secara cepat dengan pasangan elektron ikatan kovalen molekul organik, reaksi elektron tunggal O_2 membutuhkan katalisis.

Oksigen dapat berikatan dengan 4 elektron dengan mereduksi air ketika O_2 menerima satu elektron, superoksida dibentuk. Superoksida masih merupakan radikal bebas karena mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Ketika superoksida menerima satu elektron, superoksida direduksi menjadi hidrogen peroksida dan menjadi tidak radikal. Radikal hidroksil dibentuk setelah satu elektron direduksi.

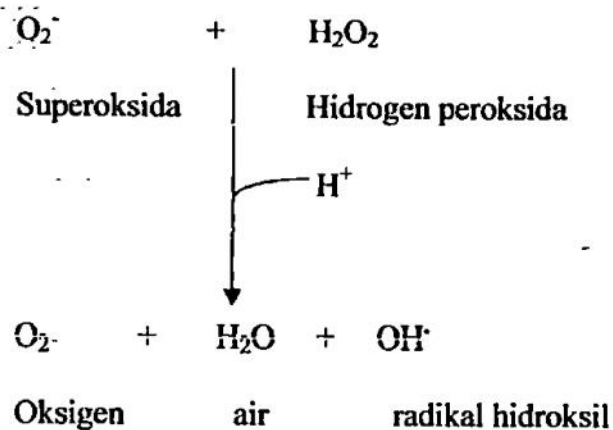


Gambar 3. Pembentukan Alami Radikal O_2

b. Karakteristik dari ROS

ROS adalah oksigen yang mengandung kompleks yang mempunyai reaktifitas yang sangat tinggi atau kompleks yang siap dikonversi menjadi radikal oksigen bebas dalam sel. Metabolit utama O_2 diproduksi oleh satu elektron reduksi dari oksigen (superoksida, H_2O_2 , dan radikal hidroksil).

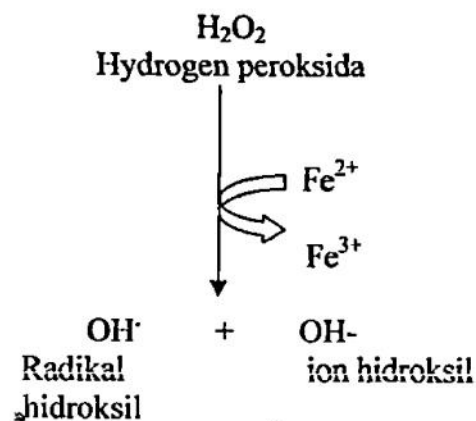
Reaktifitas radikal bebas inti elektron dari kompleks lain melengkapi orbitalnya sendiri. Sehingga menginisiasi reaksi rantai radikal bebas. Radikal hidroksil lebih berikatan kuat dengan ROS dan menginisiasi rantai reaksi yang berbentuk peroksidasi lipid dan radikal organik bebas serta melengkapi kompleks secara langsung. Anion superoksidase mempunyai reaktifitas tinggi tetapi memiliki batas kelarutan lipid. Reaktifitas hidroksil dan radikal hidroperoksi oleh reaksi nonenzimatik dengan hydrogen peroksida dalam reaksi *Haber-Weiss*.



Gambar 4. Reaksi *Haber Weiss*

H_2O merupakan agen pengoksidasi lemah yang diklasifikasikan ke dalam ROS karena dapat menurunkan radikal hidroksi(OH^\cdot). Logam transisi, seperti

Fe^{2+} atau Cu^+ , mengkatalisasi pembentukan radikal hidroksil dari hydrogen peroksida dalam reaksi nonenzimatik *Fenton*. Karena hydrogen peroksida larut dalam lemak sehingga dapat menyebabkan penyebaran melalui membrane dan turunan OH^\cdot yang berada pada bagian yang mengandung Fe^{2+} atau Cu^+ seperti mitokondria.



Gambar 5. Reaksi *Fenton*

c. Sumber utama ROS dalam sel

Oksigen yang dikonsumsi dalam tubuh 3-5 % akan dikonversi menjadi radikal bebas. Beberapa dihasilkan oleh reaksi enzimatik normal dari bagian aktif logam yang mengandung enzim selama reaksi oksidasi. Yang lain, seperti hydrogen peroksida, produk fisiologi lain dioksidasi dalam peroksisom. Obat, radiasi alam, polusi udara dan bahan kimia lain meningkatkan pembentukan radikal bebas. Dalam penelitian ini menggunakan bahan kimia CCl_4 sebagai pembentuk radikal.

2. Reaksi radikal oksigen dengan komponen seluler

Disfungsi seluler dapat disebabkan oleh reaksi radikal bebas dengan lipid, protein, karbohidrat dan DNA.

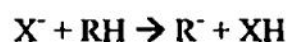
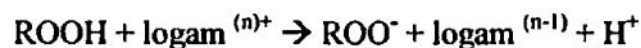
a. Formasi lipid dan radikal peroksi lipid

Rantai reaksi radikal bebas lipid dan lipid peroksidase pada membrane merupakan kontribusi utama dari ROS. Inisiator (seperti radikal hidroksi diproduksi secara local dalam reaksi fenton) memulai rantai reaksi. Inti atom terutama dari ikatan ganda PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) dalam membrane lipid. Rantai reaksi dipropagasi ketika O_2 menambah bentuk radikal peroksi lipid dan peroksidasi lipid. Akhirnya, degradasi lipid terjadi, membentuk produk seperti malondialdehid (dari asam lemak dengan 3 atau lebih ikatan ganda), etana, pentana. *Malondialdehyde* (MDA) terdapat dalam darah dan urin sebagai indicator radikal bebas.

Peroksidasi lipid mengubah molekul tetap atau menyebabkan kerusakan struktur molekul lipid, ditambah dengan destruksi alami peroksidasi membrane lipid (Smith *et al*, 2005).

Peroksidasi lipid ini merupakan reaksi yang berantai yang pada akhirnya akan menghasilkan radikal bebas, berikut keseluruhan reaksi dari peroksidasi lipid :

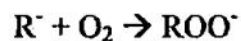
1) Inisiasi



Gambar 6. Tahap Inisiasi (Murray dkk, 2003)

Inisiasi adalah suatu tahap dimana dihasilkan radikal asam lemak. Inisiator-inisiator sel yang paling reaktif, khususnya ROS seperti OH^\cdot yang bergabung dengan atom hydrogen menjadi air (H_2O) dan radikal asam lemak (Lipid Peroxidation, 2008).

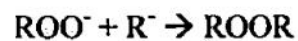
2) Propagasi



Gambar 6 Tahap Propagasi (Murray dkk, 2003)

Radikal asam lemak bukan molekul yang sangat stabil sehingga siap bereaksi dengan molekul O_2 dan menjadi radikal peroksidasi asam lemak. Molekul yang tidak stabil bereaksi dengan asam lemak bebas yang lain untuk menghasilkan radikal asam lemak yang berbeda dan suatu hydrogen peroksida atau sebuah siklus peroksida jika bereaksi dengan molekulnya sendiri (Lipid Peroxidation, 2008).

3) Terminasi



Gambar 8. Tahap Terminasi (Murray dkk, 2003)

Ketika sebuah radikal bereaksi selalu menghasilkan radikal lain yang disebut mekanisme rantai reaksi. Reaksi radikal akan berhenti ketika 2 radikal bereaksi dan menghasilkan jenis nonradikal. Hal ini terjadi hanya pada konsentrasi radikal cukup tinggi bertabrakan. Untuk

mempercepat penghentian dengan menangkap radikal bebas melalui selaput sel, misalnya antioksidan. Antioksidan yang utama adalah alfa, tokoferol dan vitamin E (Lipid Peroxidation, 2008).

b. Protein dan peptid

Protein, asam amino prolin, histidin, arginin, sistein dan metionin adalah lebih peka terhadap serangan radikal hidroksil dan kerusakan oksidatif.

c. DNA

Oksigen merupakan derivat radikal bebas utama yang menyebabkan kerusakan DNA. Ikatan nonspesifik Fe^{2+} dengan DNA mempermudah produksi radikal hidroksil yang menyebabkan perubahan dan pemutusan rantai DNA. Kerusakan ini dapat dikurangi dengan apoptosis sel.

Radikal bebas memperantarai kerusakan sel. Superoksida dan radikal hidroksil menginisiasi lipid peroksidase di dalam sel, mitokondria, nucleus, membran retikulum endoplasma. Peningkatan permeabilitas seluler karena influk Ca^{2+} yang menyebabkan kerusakan mitokondria. Kelompok sistein sulfidril dan residu asam amino dalam protein dioksidasi dan didegradasi. Nucleus, mitokondria dan DNA yang dapat dioksidasi dapat menyebabkan pemutusan rantai dan tipe kerusakan yang lain (Smith *et al*, 2005).

E. CCl_4 (carbon tetrachloride)

1. Metabolisme CCl_4

Karbon tetraklorida dapat masuk ke tubuh melalui traktus respiratorius dengan menghirup udara yang mengandung CCl_4 . Lebih dari 30% akan bereaksi dengan lemak. Karbon tetraklorida juga masuk dalam tubuh melalui traktus

gastrointestinal dengan meminum air yang terkontaminasi dengan CCl_4 serta masuk melalui kulit dalam bentuk cairan karbon tetraklorida maupun dalam bentuk uap walaupun berlangsung lama. Distribusi CCl_4 melalui keseluruhan tubuh dengan konsentrasi tertinggi berada di dalam sel hati, otak, ginjal, otot, lemak, dan juga di dalam darah (Carbon Tetrachloride, 2004).

Karbon tetraklorida dikonversi oleh enzim sitokrom P-450 (terutama CYP2E1) membentuk radikal trikloromethyl reaktif. Kemudian oksidasi CCl_4 yang menghasilkan radikal trikloromethylperoxyl yang lebih reaktif. Radikal tersebut akan membentuk phosgene yang dapat didetoksifikasi oleh reaksi dengan air untuk membentuk karbon dioksida (CO_2) atau dengan glutasi atau siatein. Jika detoksifikasi tersebut terjadi dalam keadaan anaerob akan membentuk kloroform dan juga diklorokarben (Carbon Tetrachloride, 2004).

Ikatan kovalen dengan makromolekul dan lipid peroksidase terjadi melalui metabolik intermediet reaktif dari karbon tetraklorida terutama di dalam radikal *trikloromethylperoxyl*. Karbon tetraklorida dan metabolitnya akan diekskresi terutama melalui exhalasi udara dan sisanya melalui urin dan feses (Carbon Tetrachloride, 2004).

2. Kegunaan

Karbon tetraklorida adalah suatu cairan organik berat, berbau harum manis seperti kloroform. Kebanyakan digunakan chlorofluorocarbon bahan pembakar, bahan pendingin, bahan pembersih kering dan pemadam api, bahan pelarut untuk perekat karet, sabun-sabun, obat pembasmi serangga, dll (Carbon Tetrachloride,

2007). Namun, karena CCl_4 bersifat toksik sehingga berbahaya untuk kesehatan sehingga penggunaannya sebagian besar digantikan oleh pelarut yang lain.

3. Pengaruh bagi kesehatan

- a. Pemaparan akut CCl_4 secara inhalasi dan oral pada dosis tinggi dapat mengakibatkan kerusakan hepar (bengkak, perubahan pada enzim, dan ikterus) dan ginjal (nefritis, nefrosis, proteinuria). Depresi dari saraf pusat telah dilaporkan, dengan gejala sakit kepala, lemah, mual dan muntah.
- b. Pemaparan secara inhalasi dan ingesti CCl_4 pada dosis tinggi dapat menyebabkan edema paru. Pengaruh ini tidak secara langsung akan tetapi oleh karena pengaruh CCl_4 pada ginjal sehingga menyebabkan edema paru akibat perubahan homeostasis (Carbon Tetrachloride, 2007).

4. Kegunaan CCl_4 pada percobaan

Karbon tetrachlorida adalah suatu agen toksik kerusakan hepar yang digunakan dalam percobaan. CCl_4 dimetabolisme dalam system mitokondria *monooksigenase* (P450 2E1). Selama metabolisme, dalam keadaan tidak stabil radikal bebas CCl_3 (*trichloromethyl*) dibentuk dan dengan cepat dikonversi menjadi *trichloromethyl peroxide* (Cl_3COO^-). Radikal bebas ini yang akan menyebabkan peroksidasi asam lemak yang ditemukan dalam fosfolipid yang menyusun membran. Radikal ini menginisiasi reaksi rantai peroksidasi lipid dengan memulai pengambilan ion hydrogen dari PUFA (*polyunsaturated fatty acids*). Peroksidasi lipid yang mengandung PUFA, secara khusus mengganggu struktur membran yang menyebabkan kerusakan sel menjadi berat. Radikal peroksidasi lipid, hidroperoksidasi lipid, pemecahan lipid akan membantu

peroksidasi asam lemak. Akhirnya terjadi penyebaran kerusakan struktur membrane sel dan membran organela intraseluler. Sebagai hasil kronik adalah fibrosis dan sirosis. Lipid peroksidasi adalah mekanisme penting yang dihubungkan dengan CCl₄ (Kuzu *et al*, 2007).

F. MDA (*Malondialdehyde*)

Malondialdehyde (MDA) merupakan hasil peroksidasi lipid utama yang mutagenik dan tumorigenik serta hasil biosintesis prostaglandin (Yujing dkk, 2002).

Malondialdehyde berasal dari asam lemak yang mempunyai 3 atau lebih ikatan ganda yang ikut serta dalam berbagai reaksi kimia dan biologi, termasuk ikatan kovalen dengan protein, RNA dan DNA (Smith dkk, 2005, Yujing dkk, 2003).

Malondialdehyde merupakan hasil peroksidasi lipid utama dimana ROS mendegradasi PUFA. Kompleks ini merupakan aldehyd reaktif dan salah satu jenis elektrofil reaktif yang menyebabkan stress oksidasi dalam sel. Produksi dari aldehyd ini sebagai biomarker tingkat stress oksidatif organik yang terdapat dalam urin dan darah (MDA, 2008, Smith, 2005).

G. Kerangka Konsep

1. Karbon tetraklorida merupakan salah satu agen toksik hepar
2. Salah satu biomarker kerusakan hepar adalah peningkatan kadar MDA
3. Putri malu mempunyai kandungan flavonoid yang diduga berfungsi hepatoprotektif

4. Putri malu diduga berfungsi hepatoprotektif yang dapat menurunkan kadar MDA darah.

H. Hipotesis

Pemberian hepatoprotektif rebusan herba putri malu (*Mimosa pudica* L.) dapat menurunkan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah induksi CCl_4 .