

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Kelor (*Moringa oleifera*)

2.1.1 Tinjauan Umum Kelor (*Moringa oleifera*)

Kelor merupakan tanaman yang berasal dari kawasan Himalaya dan India, kemudian menyebar ke kawasan di sekitarnya hingga ke benua Afrika dan Asia barat. Di kawasan Afrika, tanaman kelor digunakan untuk program pemulihan tanah yang kering dan gersang karena tanaman kelor mudah tumbuh pada tanah yang kering dan gersang (Aliya, 2006).

Kelor termasuk jenis tumbuhan perdu yang dapat tumbuh tegak hingga setinggi 7-11 meter dan mempunyai umur panjang (perennial). Kelor dapat berkembang biak pada daerah yang mempunyai ketinggian tanah 300-500 meter di atas permukaan laut (Winarti, 2010).

2.1.2 Taksonomi Kelor (*Moringa oleifera*)

Kelor (*Moringa oleifera*) yang berasal dari keluarga *Moringaceae* ini memiliki tingkatan taksonomi sebagai berikut (Tilong, 2011):

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Brassicales

Suku : Moringaceae
Genus : Moringa
Spesies : *Moringa oleifera*

2.1.3 Morfologi Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Batang tanaman kelor (*Moringa oleifera*) adalah berkayu (lignosus), tegak, berwarna putih kotor, kulit tipis, permukaan kasar, percabangan simpodial, arah cabang tegak atau miring, cenderung tumbuh lurus dan memanjang. Morfologi tentang batang tanaman kelor (*Moringa oleifera*) disajikan dalam gambar 2.1 berikut ini:



Gambar 2.1 Batang tanaman kelor (*Moringa oleifera*) (Dokumen pribadi, 2013).

Daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan daun majemuk, bertangkai panjang, tersusun berseling, beranak daun gasal (*imparipinnatus*), helai daun saat muda berwarna hijau muda. Gambaran morfologi daun (*Moringa oleifera*) disajikan dalam gambar 2.2 berikut ini (Yulianti, 2008):



Gambar 2.2. Daun *Moringa oleifera* (Dokumen pribadi, 2013).

Buah berbentuk panjang bersegi tiga, panjang 20 - 60 cm; buah muda berwarna hijau, setelah tua menjadi cokelat. Biji berbentuk bulat dan berwarna coklat kehitaman. Tanaman kelor ini berbuah setelah berumur 12 - 18 bulan. Berikut ini adalah gambar 2.3 dan 2.4 tentang morfologi buah kelor (*Moringa oleifera*):



Gambar 2.3 Buah kelor yang masih segar (Dokumen pribadi, 2013).



Gambar 2.4 Buah kelor yang sudah dikeringkan (Wikipedia, 2013).

Akar tanaman kelor berbentuk akar tunggang dan berwarna putih (Mustafa, 2003). Morfologi akar kelor (*Moringa oleifera*) disajikan dalam gambar 2.5 berikut ini:



Gambar 2.5 Akar tanaman kelor (*Moringa oleifera*) (Wikipedia, 2013).

2.1.4 Kandungan Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tanaman yang daunnya dapat digunakan untuk mengatasi malnutrisi, terutama untuk balita dan ibu menyusui. Daunnya dapat dikonsumsi dalam kondisi segar, dimasak, atau disimpan dalam bentuk tepung selama beberapa bulan tanpa pendinginan dan dilaporkan tanpa terjadi kehilangan nilai nutrisi (Winarti, 2010).

Tiap bagian dari tanaman *Moringa oleifera* memiliki kandungan bahan yang berbeda. Daun *Moringa oleifera* memiliki nilai nutrisi yang cukup besar, terutama daun yang sudah dikeringkan dan dibuat tepung. Hal ini disebabkan karena pengurangan kadar air yang terdapat dalam daun *Moringa oleifera* (Ogbe, 2011).

Daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung berbagai macam zat diantaranya adalah protein 27,51%, serat 19,25%, lemak 2,23%, kadar air 76,53%, karbohidrat 43,88% dan kalori 305,62 kal/g. Selain zat tersebut, daun kelor juga mengandung

berbagai macam senyawa. Diantara berbagai senyawa tersebut, ada beberapa jenis vitamin yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan (Winarti, 2010).

Secara umum antioksidan dikelompokkan menjadi 2 yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis merupakan antioksidan yang disintesis dalam tubuh, yang termasuk antioksidan enzimatis antara lain glutathione peroxidase (GSH-Px), superoksida dismutase (SOD), dan katalase. Aktivasi antioksidan enzimatis tersebut memerlukan mineral seperti Cu, zinc dan Fe (Ernawati, 2009). Sedangkan antioksidan non-enzimatis adalah senyawa antioksidan yang terdapat dalam sayur dan buah, seperti vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin E dan flavonoid. Selain kandungan vitamin yang telah disebutkan di atas, kandungan kelor (*Moringa oleifera*) lainnya adalah beberapa mineral penting yang dibutuhkan oleh tubuh (Sunita, 2004).

2.1.4.1 Vitamin

Ada bermacam-macam jenis vitamin yang terdapat dalam kandungan daun kelor (*Moringa oleifera*). Berikut ini adalah macam-macam vitamin yang terkandung dalam daun kelor (*Moringa oleifera*) (Winarti, 2010).

Tabel 2.1. Kandungan vitamin pada daun kelor (*Moringa oleifera*)

Jenis Vitamin	Kandungan vitamin (mg / 100 gram bubuk daun <i>Moringa oleifera</i>)
Vitamin A – β karoten	16,3
Vitamin B kompleks – kolin	423
Vitamin B1 – thiamin	2,6
Vitamin B2 – riboflavin	20,5
Vitamin B3 – asam nikotinat	8,2
Vitamin C – asam askorbat	17,3
Vitamin E – tocopherol asetat	113

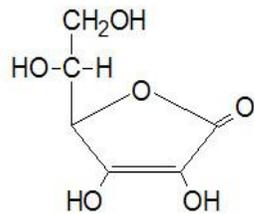
Sumber: Winarti (2010)

Kandungan senyawa vitamin seperti yang dicantumkan dalam tabel 2.1 di atas, ada senyawa yang berperan memperbaiki sistem sirkulasi yaitu vitamin A, vitamin C, dan vitamin E. Penjelasan diuraikan sebagai berikut:

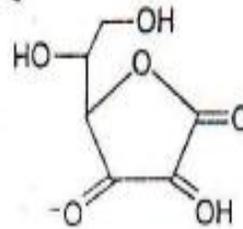
2.1.4.1.1 Vitamin C (Asam Askorbat)

Vitamin C (asam askorbat) adalah rantai 6 karbon lakton yang dibentuk dari glukosa dalam hepar pada sebagian besar spesies mamalia. Manusia dan sebagian kecil spesies yang lain tidak dapat mensintesis asam askorbat. Vitamin C sangat penting pada banyak fungsi fisiologis, diantaranya adalah fungsi antioksidan dalam melindungi sel bersama α -tokoferol, glutathion tereduksi (GSH), dan faktor-faktor yang lain (Sareharto, 2010).

Vitamin C merupakan vitamin yang larut dalam air dan memiliki rumus kimia $C_6H_8O_6$. Keberadaannya banyak terdapat pada buah dan sayur yang salah satunya pada *Moringa oleifera*



Gambar 2.6. Struktur kimia vitamin C (asam askorbat) (Guyton, 2007).

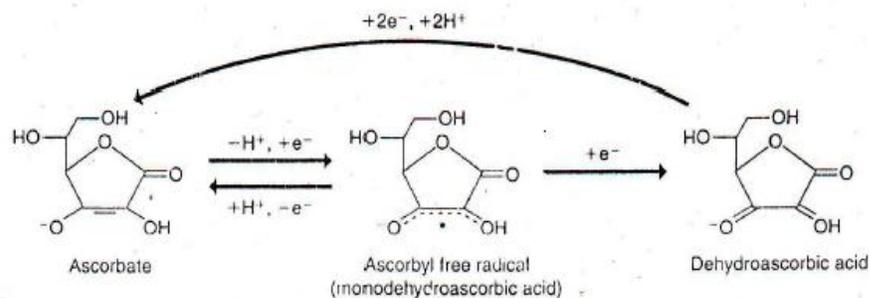


Gambar 2.7 Struktur kimia vitamin C (asam dehidroaskorbat) (Guyton, 2007).

Vitamin C bersifat tidak stabil apabila berada pada suhu panas dan pada pH. Vitamin C mempunyai 2 bentuk yaitu asam askorbat (bentuk reduksi) dan asam dehidroaskorbat (bentuk oksida) netral atau alkali, akan tetapi bersifat stabil pada suasana asam dan selama penyimpanan sementara dalam keadaan dingin dan segar (Nelma, 2008). Pada tingkat molekuler, absorpsi asam askorbat terjadi melalui proses *uptake* yang melewati dua mekanisme. Pertama yaitu melibatkan transport aktif Na dan yang kedua adalah melalui proses yang melibatkan transport dari asam *dehidroaskorbat* melalui satu atau lebih transporter glukosa. Asam *dehidroaskorbat* cepat tereduksi intraseluler menjadi asam askorbat, kemungkinan oleh *glutaredoksin reduktase* dan mungkin secara kimiawi oleh glutathion tereduksi (GSH) (Sarehart, 2010).

Asam askorbat mudah terdeteksi dalam plasma dan mudah melepaskan elektron karena oksidasi monovalen reversibel menjadi radikal askorbil yang berperan dalam sistem redoks biokimia. Sedangkan *dehidroaskorbat* tidak terdeteksi dalam plasma, dan terbentuk sementara oleh oksidasi asam askorbat secara ekstraseluler. Fungsi metabolik asam askorbat adalah sebagai kofaktor enzim klasik (*hydroxylating enzymes*), agen protektif (sebagai hidroksilase pada biosintesis kolagen), dan sebagai radikal askorbil dalam reaksi dengan metal ion transisi (Guyton, 2007).

Peran vitamin C sebagai senyawa antioksidan non-enzimatis adalah dengan cara mendonorkan elektron (oksidasi) pada radikal oksigen seperti superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksil, radikal sulfur, dan radikal nitrogen-oksigen yang dapat menghambat proses metabolisme tubuh (Astuti, 2009). Proses donor elektron tersebut terjadi melalui suatu reaksi redoks pada asam askorbat. Hal tersebut akan dijelaskan pada gambar 2.8 berikut:



Gambar 2.8 Reaksi redoks asam askorbat (Gallagher, 2004)

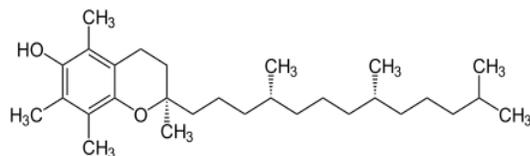
Penjelasan dari gambar di atas akan diuraikan sebagai berikut. Oksidasi vitamin C (dalam bentuk asam askorbat) akan menghasilkan radikal bebas askorbil.

Radikal askorbil ini akan dioksidasi hingga terbentuk asam dehidro-L-askorbid. Hidrolisis asam dehidroaskorbat menghasilkan asam 2,3-diketo-L-glukonat dimana akan mengalami dekarboksilasi menjadi CO_2 (Gallagher, 2004).

Asam askorbat dapat bereaksi dengan zat toksik, SOR anion superoksida (O_2^-) dan radikal hidroksil (OH). Reaksi tersebut sangat penting pada semua sel-sel aerobik, yang harus bertahan melawan toksisitas berbagai elemen yang mengandalkan terminal penerima elektron untuk produksi energi melalui enzim rantai respirasi. Reaksi inilah yang merupakan dasar dari sebagian besar fungsi biologis esensial asam askorbat (Guyton, 2007).

2.1.4.1.2 Vitamin E (Tokoferol)

Vitamin E merupakan nama umum untuk semua metil-tokol. Vitamin E terdiri atas 2 kelas substansi aktif biologis yaitu tokoferol dan tokotrienol, akan tetapi yang terpenting adalah α -tokoferol. Vitamin E memiliki rumus kimia $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$. Struktur kimia vitamin E (α -tokoferol) disajikan pada gambar 2.9 berikut ini (Winarti, 2010):



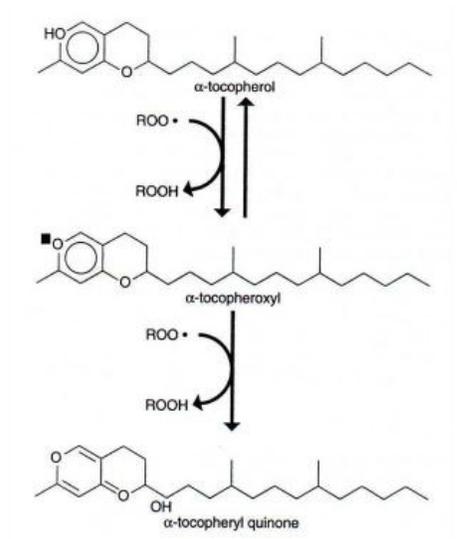
Gambar 2.9. Struktur kimia vitamin E (α -tokoferol) (Winarti, 2010)

Ada beberapa sifat yang dimiliki oleh vitamin E (α -tokoferol) yaitu larut dalam lemak, stabilitas kimianya mudah berubah akibat pengaruh berbagai zat alami

seperti garam-garam besi, tidak mempunyai protein pembawa yang spesifik dalam plasma, dan mampu bergabung ke dalam kilomikron, yang secara cepat berpindah ke lipoprotein plasma dengan cara berikatan tidak spesifik (Sareharto, 2010).

Masuknya vitamin E ke dalam sel dapat terjadi melalui proses mediasi reseptor (LDL membawa vitamin ini ke dalam sel) atau melalui proses yang dibantu oleh lipoprotein lipase dengan cara vitamin E dilepaskan dari kilomikron dan VLDL. Di dalam sel, transpor intraseluler dari tokoferol membutuhkan protein pengikat tokoferol intraseluler. Vitamin E pada sebagian besar sel-sel non adiposa terdapat pada membran sel (Guyton, 2007).

Vitamin E merupakan antioksidan larut lemak dalam sel. Berada pada bagian lemak dalam membran sel, melindungi fosfolipid *unsaturated* dalam membran dari degradasi oksidatif terhadap oksigen reaktif spesies yang tinggi dan radikal bebas yang lain. Vitamin E mempunyai kemampuan untuk mengurangi radikal bebas menjadi metabolit yang tidak berbahaya dengan memberikan gugus hidrogennya (Rahayu, 2010). Dalam fungsinya sebagai antioksidan vitamin E mengalami oksidasi primer menjadi tocopherylquinone. Prosesnya dengan membentuk radikal *tocopheroxyl* semi stabil terlebih dahulu (lihat gambar 2.10).



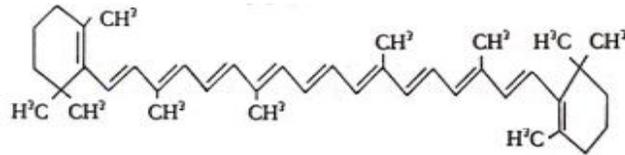
Gambar 2.10 Mekanisme vitamin E untuk mengurangi radikal-radikal bebas menjadi metabolit yang tidak berbahaya dengan memberikan gugus hidrogennya.

Oksidasi monovalen tokoferol menjadi radikal *tocopheroxyl* adalah reaksi yang dapat kembali, tetapi proses oksidasi selanjutnya satu arah. *Tocopherylquinone* tidak mempunyai aktivitas vitamin E, produksinya menggambarkan katabolisme dan hilangnya vitamin dari sistem. *α-tocopherylquinone* dapat tereduksi menjadi *α-tocopherylhydroquinone*, yang dapat terkonjugasi dengan asam glukoronat disekresikan dalam empedu, dan kemudian diekskresikan dalam feses, ini merupakan jalur eliminasi dari vitamin E (Gallagher, 2004).

2.1.4.1.3 Vitamin A (β-karoten)

Vitamin A (β-karoten) sebagai salah satu senyawa penyusun karotenoid. Karotenoid merupakan kelompok pigmen pada sayuran dan buah-buahan. Senyawa karotenoid terdapat dalam kloroplas, terutama pada bagian permukaan atas daun.

Rumus kimia vitamin A adalah $C_{20}H_{30}O$ dan struktur kimianya disajikan pada gambar 2.11 berikut ini (Winarti, 2010)



Gambar 2.11. Struktur kimia β -karoten (Winarti,2010)

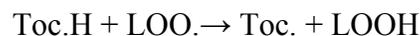
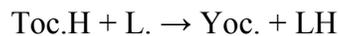
Senyawa β -karoten mampu berperan untuk menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas. β -karoten dapat menangkap O_2 karena adanya 9 ikatan rangkap pada rantai karbonnya. Energi untuk reaksi ini dibebaskan dalam bentuk panas sedemikian rupa sehingga sistem regenerasi tidak diperlukan (Rudianto, 2010).

β -karoten bereaksi dengan senyawa radikal peroksil membentuk radikal karoten peroksil dan kemudian membentuk karoten peroksida. Kedua produk tersebut merupakan hasil reaksi oksidasi yang bersifat oksidan inaktif. Mekanisme dari pernyataan tersebut dimulai dari β -karoten bertindak sebagai penangkap radikal peroksil (ROO^*) yang akan digenerasi menjadi $ROOH$ (Rudianto, 2010).

Senyawa hasil regenerasi radikal peroksil bersifat lebih stabil sehingga menjadi kurang reaktif untuk melakukan reaksi propagasi. Stabilitas radikal peroksil tersebut dapat mengurangi laju reaksi propagasi pada proses autooksidasi lipid pada membran sel, terutama pada membran plasma eritrosit (Winarti, 2010).

2.1.4.1.4 Kerja Sinergis Antara Vitamin A, Vitamin C dan Vitamin E

Vitamin C (asam askorbat), vitamin A (beta karoten), dan vitamin E (tokoferol) bertindak sebagai antioksidan pemutus reaksi rantai oksidasi dengan cara yang berbeda. Sebagai contoh, vitamin C yang bersifat hidrofilik akan menunjukkan perannya di sitosol dan cairan ekstrasel. Sedangkan vitamin A dan vitamin E yang bersifat lipofilik akan berperan pada membrane sel. Mekanisme yang menunjukkan kerja dari ketiga vitamin tersebut dapat dilihat terkait dengan sifatnya. Vitamin E yang bersifat lipofilik akan bereaksi dengan oksidan yang ada di membran. Reaksi yang dihasilkan adalah sebagai berikut (Lucida, 2008):



Berdasarkan reaksi yang terjadi diatas menunjukkan bahwa radikal vitamin E (Toc.) tidak terlalu reaktif karena terjadinya peristiwa resonansi. Vitamin E hanya dapat berperan bila tekanan oksigennya tinggi. Pada tekanan oksigen yang rendah peran vitamin E digantikan oleh beta karoten agak stabil karena adanya resonansi dalam molekulnya (Chandra, 2007). Dengan demikian peroksidasi lipid dapat dikurangi untuk mencapai homeostasis.

Jika di dalam sel sudah terpapar dengan vitamin C, maka vitamin C akan berperan mengikat oksidan yang dihasilkan oleh peristiwa terganggunya permeabilitas membrane sel sebelumnya. Dengan pola seperti ini, maka oksigen reaktif (O) dapat menjadi stabil.

2.1.4.2 Mineral

Selain kandungan vitamin yang telah diuraikan di atas, kandungan lain dari kelor (*Moringa oleifera*) adalah beberapa mineral penting yang dibutuhkan oleh tubuh. Kandungan mineral tersebut disebutkan pada tabel 2.2 berikut ini:

Table 2.2. Kandungan mineral daun kelor (*Moringa oleifera*)

Jenis Mineral	Kandungan mineral (mg / 100 gram bubuk daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>))
Ca	2,003
Mg	368
P	204
K	1,324
Cu	0,6
Fe	28,2
S	870

Sumber: Winarti (2010)

Dari berbagai macam kandungan mineral yang terdapat pada daun kelor (*Moringa oleifera*) tersebut, ada beberapa yang berperan dalam memperbaiki sistem sirkulasi antara lain zat besi (Fe). Sementara itu, mineral yang berperan sebagai kofaktor dalam bekerja sama dengan vitamin C adalah Fe dan Cu (Silaen, *et al.*, 2008). Berikut ini adalah penjelasan dari mineral Fe dan Cu:

2.1.4.2.1 Mineral Fe (Zat Besi)

Besi merupakan salah satu logam transisi periode keempat golongan VIII B yang mudah ditempa, mudah dibentuk, berwarna putih perak dan mudah dimagnetisasi pada suhu normal. Dalam sistem periodik unsur, besi mempunyai nomor atom 26 dan massa atomnya 55,847. Dalam bentuk senyawa, besi mempunyai bilangan oksidasi +2 dan +3 (Winarti, 2010).

Besi membentuk dua macam garam penting yaitu garam besi (II) atau *ferro* yang diturunkan dari besi (II) oksida (FeO) dan garam besi (III) atau *ferri*. Ion Fe^{2+} merupakan zat pereduksi yang kuat dan mudah dioksidasi menjadi besi (III) pada suasana netral atau basa. Sementara itu ion Fe^{3+} jika tereduksi, akan menjadi besi (II) (Ogbe, 2009).

Ion Fe^{2+} memiliki peran penting dalam proses mempertahankan keseimbangan homeostatis tubuh terutama pada proses pembentukan heme. Besi akan berikatan dengan *protoporphirin* yang dikatalisis oleh enzim *ferrokelatase* untuk membentuk heme. Apabila Fe dalam jumlah yang sedikit, atau jika Fe tidak berikatan dengan *protoporphirin*, maka proses pembentukan heme akan terhambat dan akibatnya adalah eritrosit menjadi kekurangan heme (Ogbe, 2009).

2.1.4.2.2 Mineral Cu

Tembaga merupakan unsur esensial yang bila kekurangan dapat menghambat pertumbuhan dan pembentukan hemoglobin. Tembaga sangat dibutuhkan dalam proses metabolisme, pembentukan hemoglobin, dan proses

fisiologis dalam tubuh hewan (Ahmed, 2002). Tembaga ditemukan dalam protein plasma, seperti seruloplasmin yang berperan dalam pembebasan besi dari sel ke plasma (Arifin, 2008).

Tembaga merupakan komponen dari protein darah, antara lain eritrokuprin, yang ditemukan dalam eritrosit (sel darah merah) yang berperan dalam metabolisme oksigen (Darmono, 2001). Selain ikut berperan dalam sintesis hemoglobin, tembaga merupakan bagian dari enzim-enzim dalam sel jaringan. Tembaga berperan dalam aktivitas enzim pernapasan, sebagai kofaktor bagi enzim tirosinase dan sitokrom oksidase. Tirosinase mengkristalisasi reaksi oksidasi tirosin menjadi pigmen melanin (pigmen gelap pada kulit dan rambut). Sitokrom oksidase, suatu enzim dari gugus heme dan atom-atom tembaga, dapat mereduksi oksigen (Sharma, 2003).

2.2 Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1 Tinjauan Umum Mencit (*Mus musculus*)

Hewan coba adalah hewan yang dikembangbiakkan untuk digunakan sebagai hewan uji dalam suatu percobaan. Penggunaan hewan coba telah banyak digunakan dalam penelitian di bidang biomedis, biologi dan farmasi yang dapat memberikan kontribusi terhadap kesehatan dalam upaya meningkatkan kesejahteraan manusia (Nelma, 2008). Berbagai hewan coba mulai dikembangkan untuk mendukung kegiatan penelitian kesehatan, salah satunya adalah mencit (*Mus musculus*) (Malole dan Promono, 1989).

Mencit dapat hidup mencapai umur 1-3 tahun tetapi terdapat perbedaan usia dari berbagai galur terutama berdasarkan kepekaan terhadap lingkungan dan penyakit. Selama hidupnya, mencit mampu beranak selama 7-18 bulan dan menghasilkan anak rata-rata 6-10 anak (Malole dan Promono,1989).

Perlakuan yang baik akan memudahkan penanganan dalam pemeliharaan mencit. Mencit sering digunakan sebagai hewan model karena harganya murah, cepat berkembang biak seperti yang telah diuraikan di atas, interval kelahirannya pendek, jumlah anak per kelahirannya tinggi (Agus, 2008). Selain itu juga digunakan untuk mempelajari penelitian yang bersifat kuantitatif (Suardi, 2006). Hal tersebut karena sifat anatomi dan fisiologinya terkarakterisasi dengan baik (Agus, 2008).

2.2.2 Taksonomi Mencit (*Mus musculus*)

Mencit digolongkan ke dalam Ordo Rodentia (hewan pengerat), Famili Muridae dari kelompok mamalia (hewan menyusui) (Priyambodo,1995). Klasifikasi mencit (*Mus musculus*) menurut Jasin (1984) dan Boolootion (1991) adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mammalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Genus : Mus

Spesies : *Mus musculus*

2.2.3 Morfologi mencit (*Mus musculus*)

Malole dan Promono (1989) menyatakan bahwa mencit memiliki bulu berwarna putih, mata berwarna merah dan kulit berpigmen. Biasanya memiliki berat badan mencapai 18-20 gram pada umur 4 minggu dan 30-40 gram pada umur enam bulan. Gambaran morfologi mencit disajikan dalam gambar berikut:

Morfologi mencit tersebut disajikan pada gambar 2.12 berikut ini:



Gambar 2.12. Mencit (*Mus musculus*)

2.3 Sistem Sirkulasi Pada Mencit (*Mus musculus*)

2.3.3 Darah

Darah adalah jaringan hidup yang bersirkulasi mengelilingi seluruh tubuh dengan perantara jaringan arteri, vena dan kapilaris, yang membawa nutrisi, oksigen, antibodi, panas, elektrolit dan vitamin ke jaringan seluruh tubuh. Darah

terdiri dari 2 komponen besar yaitu plasma darah (terdiri dari air dan zat terlarut) dan sel-sel darah (terdiri dari eritrosit, leukosit dan trombosit). Masing-masing sel darah memiliki fungsi yang khusus (Retnaningati, 2010).

2.3.3.1 Plasma Darah

Plasma darah merupakan bagian darah yang encer dan berwarna kekuning-kuningan. Hampir 90% dari plasma darah terdiri atas air dan sekitar 10% terdiri atas zat-zat lain seperti fibrinogen yang berfungsi dalam pembekuan darah. Zat makanan seperti asam lemak, glukosa, mineral, dan vitamin. Hormon yaitu suatu zat yang dihasilkan oleh kelenjar tubuh. Antibodi yang berfungsi untuk pertahanan tubuh dari serangan penyakit dan racun. Protein darah (albumin dan globulin) yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan cairan dalam tubuh dan garam-garam mineral (garam kalsium, kalium, natrium, dan lain-lain) yang berguna untuk metabolisme tubuh (Juwita, 2008).

2.3.3.2 Sel-sel Darah

Sel-sel darah merupakan bagian komponen darah yang terdiri dari 3 macam sel yaitu sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Eritrosit berfungsi untuk mengangkut O₂ dari paru-paru ke seluruh jaringan dan sel dalam tubuh serta CO₂ dari seluruh tubuh menuju paru-paru. Leukosit berfungsi sebagai pertahanan tubuh dengan menghasilkan antibodi. Sedangkan trombosit merupakan sel darah yang berfungsi dalam proses pembekuan darah (Juwita, 2008).

Pada kelompok mamalia, darah cenderung berwarna merah. Hal ini dikarenakan eritrositnya mengandung suatu senyawa yang disebut hemoglobin. Senyawa hemoglobin ini berperan penting sebagai pengikat oksigen yang akan diedarkan ke seluruh bagian tubuh (Retnaningati, 2010).

2.3.4 Eritrosit

2.3.4.1 Tinjauan Umum Eritrosit

Eritrosit (sel darah merah) merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi untuk mengangkut oksigen karena mengandung hemoglobin. Secara keseluruhan isi sel darah merah merupakan substansi koloidal yang homogen, sehingga sel ini bersifat elastis dan lunak (Subowo, 2002).

Sel darah merah dibatasi oleh membran plasma yang bersifat semipermeabel dan berfungsi untuk mencegah agar koloid yang dikandungnya tetap di dalam. Tekanan osmosis di luar sel darah merah haruslah sama dengan tekanan di dalam sel darah merah agar terdapat keseimbangan (Subowo, 2002).

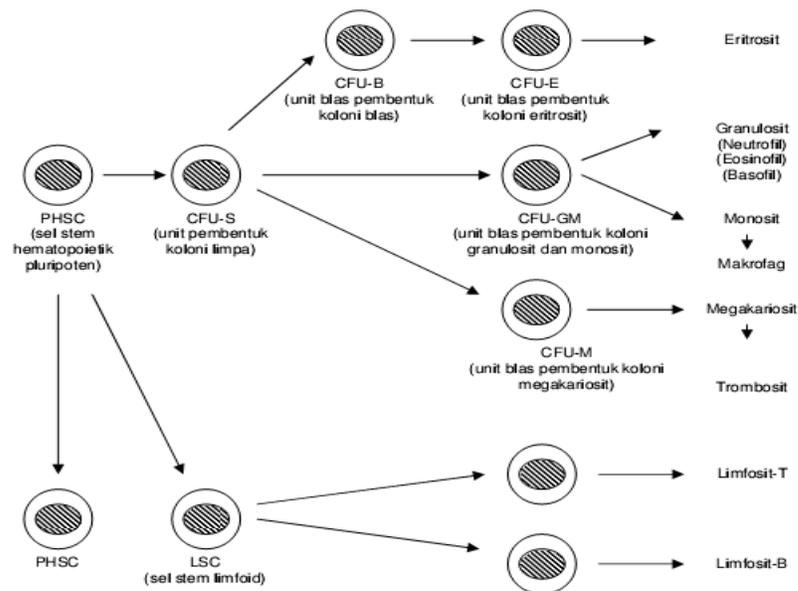
Membran plasma pada sel darah merah dapat mengalami kerusakan, sehingga tidak dapat melakukan fungsinya. Jenis kerusakan dapat beraneka ragam, salah satunya adalah karena terkena senyawa kimia yang berbahaya seperti logam berat timbal (Juwita, 2008).

2.3.4.2 Morfologi Eritrosit

Eritrosit normal menciit berbentuk cakram dengan ukuran diameter 5- μm . Sel eritrosit yang masih muda berukuran lebih besar daripada eritrosit dewasa (Bijanti, 1997). Eritrosit ini diproduksi di dalam sumsum tulang. Jumlah eritrosit ditentukan oleh proses yang terjadi selama eritropoesis (biosintesis pembentukan eritrosit) , dan jumlah normal eritrosit pada menciit jantan adalah antara 7,9 hingga 11,62 juta sel/ mm^3 (Elsbieta, *et al.*, 2009).

2.3.4.3 Biosintesis Eritrosit

Pembentukan sel darah merupakan suatu proses yang berkelanjutan. Proses tahapan pembentukan sel darah secara umum diuraikan pada gambar 2.13 sebagai berikut (Guyton dan Hall, 1997) :

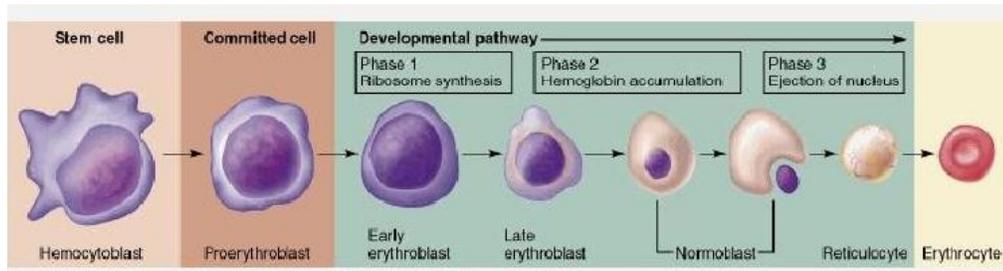


Gambar 2.13. Pembentukan berbagai sel darah tepi yang berbeda-beda dari *stem cells* hematopoetik pluripoten asal dalam sumsum tulang

Pada sumsum tulang, terdapat sel-sel stem hemopoietik pluripoten, yang merupakan asal dari seluruh sel-sel dalam darah, kemudian terbentuk suatu jalur sel khusus yang dinamakan *stem cells committed*, sebagai unit pembentuk koloni atau yang disebut *Coloni Form Unit (CFU)*. *Stem cells committed* yang menghasilkan eritrosit disebut unit pembentuk koloni eritrosit yang disingkat menjadi CFU-E (Watson, 2002).

Pertumbuhan dan reproduksi sel stem diatur oleh bermacam-macam protein yang disebut penginduksi pertumbuhan, salah satunya adalah *interleukin-3*. Penginduksi pertumbuhan akan memicu pertumbuhan tetapi tidak membedakan sel-sel (sel-selnya belum terdiferensiasi atau semua bentuk selnya sama). Protein ini bekerja hanya sampai pada tahapan terbentuknya CFU-E saja. Protein lain yang berfungsi memicu diferensiasi sel disebut penginduksi diferensiasi. Masing-masing dari protein ini akan menghasilkan satu tipe sel stem untuk berdiferensiasi menuju tipe akhir pada sel darah dewasa (Subowo, 2002).

Proses diferensiasi terjadi melalui beberapa tahap. Tahap awal, sel pertama yang termasuk dalam rangkaian sel darah merah adalah proeritroblas yang akan membelah membentuk basofil eritroblas. Basofil eritroblas dapat dipulas dengan zat warna basa, dan sel ini mampu mengakumulasi hemoglobin dalam jumlah sedikit (Sisila, 2007). Skemanya disajikan pada gambar 2.14 berikut ini (Bell, 2002):



Gambar 2.14. Tahapan pembentukan eritrosit (Bell, 2002)

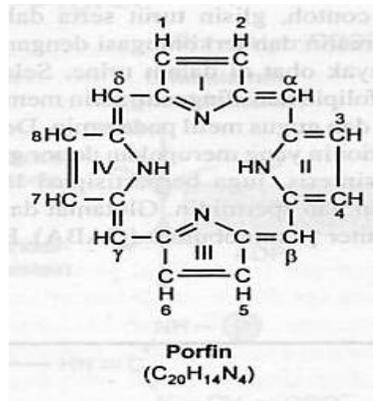
Ketika eritroblas mengandung hemoglobin sebanyak 34%, maka nukleus akan memadat dan mengecil serta keluar dari sel sehingga membuat depresi pada bagian pusat sel (mengakibatkan sel berbentuk cekung). Tahapan tersebut merupakan tahapan normoblas. Pada tahap retikulosit, retikulum endoplasma direabsorpsi dan sel masih mengandung sedikit bahan basofilik yang secara normal akan menghilang dan kemudian sel menjadi eritrosit matur (Guyton dan Hall, 1997). Eritrosit yang telah matur akan disimpan di limpa dan akan dikeluarkan ke sistem sirkulasi sebagaimana yang dibutuhkan (Bell 2002). Pada eritrosit normal yang telah matur, kadar hemoglobin pada menciit berkisar antara 13,6 hingga 16,9 gr/dl (Elsbieta, *et al.*, 2009).

2.3.5 Hemoglobin

2.3.5.1 Tinjauan Umum Hemoglobin

Hemoglobin merupakan suatu protein pengangkut oksigen yang berada di dalam eritrosit dan memiliki lambang (Hb). Kadar normal hemoglobin pada Hemoglobin merupakan gabungan dari gugus heme dan globin (Adriani, 2010).

Hemoglobin terdiri atas 4 molekul porfirin, ion Fe^{2+} , *glycyne*, dan gugus samping metal, vinil serta propionil. Berikut ini adalah gambar dari struktur kimia molekul porpirin:

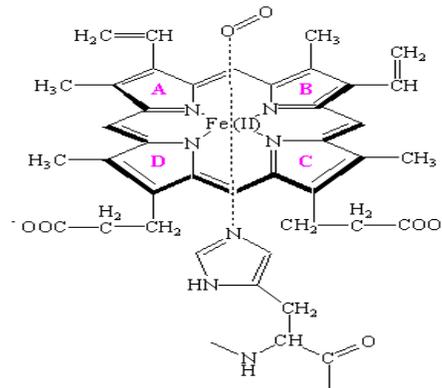


Gambar 2.15 Struktur kimia molekul porpirin (Adriani,2010)

Masing-masing porfirin mampu mengikat satu molekul oksigen, sehingga satu molekul hemoglobin dapat mengikat 4 molekul oksigen. Ikatan ini bukan ikatan reaksi tetapi hanya asosiasi yang jauh lebih longgar sehingga mudah dilepas kembali. Ikatan ini bergantung pada tekanan parsial oksigen dalam darah, semakin tinggi tekanan parsial oksigen maka semakin banyak oksigen yang dapat diikat. Sintesis hemoglobin terjadi dalam 2 tahap biosintesis yaitu sintesis heme dan sintesis globin (Adriani, 2010).

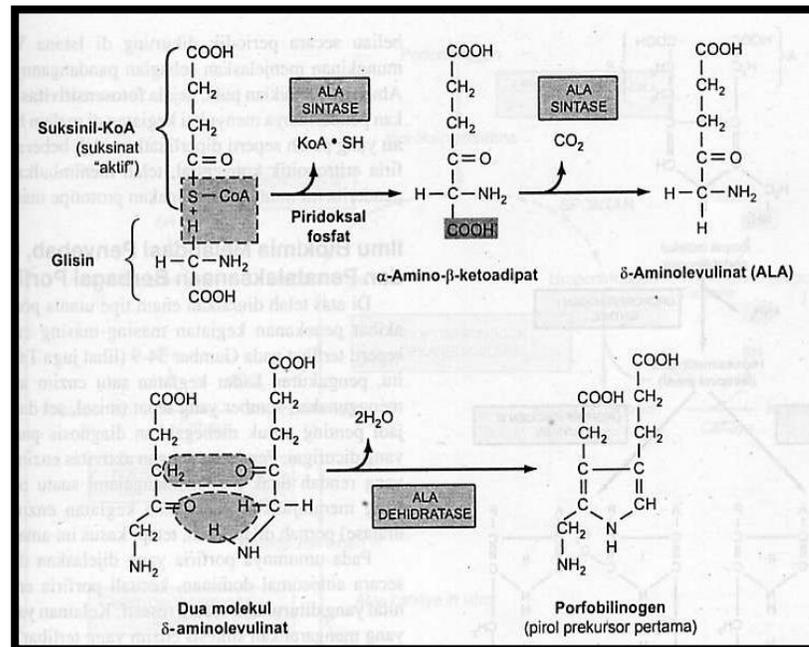
2.3.5.2 Biosintesis Heme

Heme disintesis di dalam mitokondria sedangkan penggabungannya dengan globin terjadi dalam sitoplasma eritrosit yang sedang berkembang. Struktur kimia heme diuraikan pada gambar 2.16 sebagai berikut (Flora, 2004):



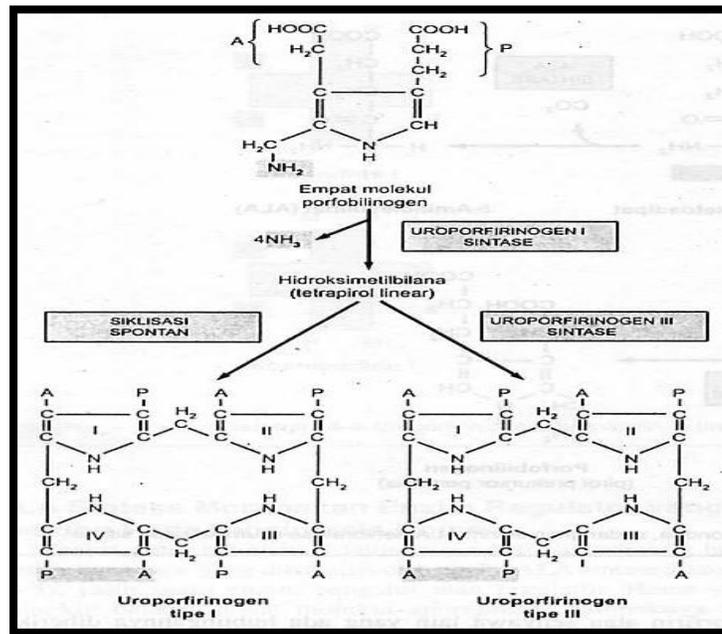
Gambar 2.16. Struktur kimia heme

Mekanisme sintesis hemoglobin diawali dengan terbentuknya kondensasi antara suksinil Ko-A dan glisin untuk membentuk asam *aminilevulinat* (ALA) yang dikatalisis oleh enzim mitokondria *aminolevulinat sintase*, kemudian meninggalkan mitokondria secara difusi pasif dan masuk dalam sitoplasma. Keberadaannya dalam sitoplasma, 2 molekul asam *aminolevulinat* bersatu membentuk *porfobilinogen* dengan bantuan enzim *aminolevulinat dehidrase*. Enzim *aminolevulinat dehidrase* (ALAD) ini menentukan berlanjutnya biosintesis heme karena apabila kinerja enzim ini terhambat (mengalami oksidasi pada gugus SH) maka biosintesis akan terhenti dan tidak dapat dilanjutkan lagi. Skemanya akan disajikan pada gambar 2.17 berikut ini.

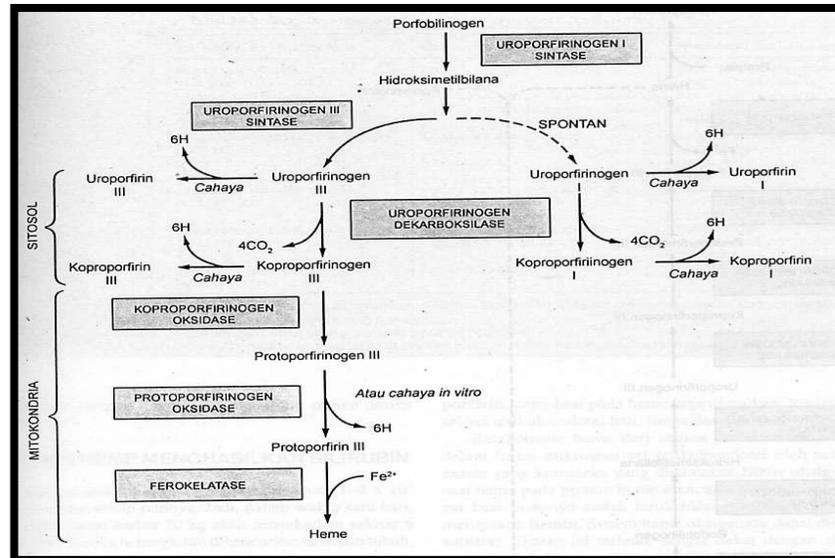


Gambar 2.17 Biosintesis porfobilinogen. Enzim ALA sintase terdapat di mitokondria, sedangkan enzim ALA dehidrase (ALAD) ada pada sitosol.

Mekanisme selanjutnya adalah 4 molekul *porfobilinogen* mengalami kondensasi membentuk *uroporfirinogen* yang dikatalisis oleh enzim *uroporfirinogen dekarboksilase* menjadi *koproporfirinogen III*, lalu membentuk *protoporfirinogen III* (gambar 2.18 dan gambar 2.19). *Protoporfirinogen III* dioksidasi oleh enzim *protoporfirinogen oksidase* menghasilkan *protoporphyrin III*. Oksidasi ini menghasilkan sistem ikatan rangkap terkonjugasi yang merupakan ciri khas porfirin. *Uroporfirinogen tipe I, III*, dan *koproporfirinogen* juga dapat dioksidasi oleh porfirin (Suciani, 2007).



Gambar 2.18 Konversi porfobilinogen menjadi uroporpbilinogen.



Gambar 2.19 Tahapan pada biosintesis derivat porpirin dari porpobilinogen.

Tahap selanjutnya (gambar 2.19) adalah terjadinya insersi ion Fe (dalam bentuk ferro) ke dalam cincin porfirin dari *protoporfirin*. Proses tersebut dikatalisis

oleh enzim *ferokelatase* untuk menghasilkan heme. Proses ini terjadi di dalam mitokondria. Setelah molekul heme terbentuk maka heme akan di keluarkan dari mitokondria menuju sitosol untuk bergabung dengan rantai globin (Adriani, 2010).

Rangkaian proses biosintesis heme tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu ketersediaan komponen-komponen penyusun heme (suksinil Ko-A, glisin, mRNA transkripsi dan Fe) dan kinerja enzim (ALA sintetase, d-ALAD, PB aminase, ferokelatase dan lainnya) yang maksimal. Apabila salah satu dari faktor tidak terpenuhi, maka proses biosintesis akan terhambat atau bahkan tidak berjalan. Sebagai akibatnya, maka akan menurunkan kadar hemoglobin dalam eritrosit (Patrick, 2006).

2.3.5.3 Biosintesis Globin

Globin adalah sub-unit protein yang berbentuk globular (bulatan) yang menyusun molekul hemoglobin. Rantai protein globin terdiri dari 2 jenis yaitu rantai alfa dan non-alfa (rantai gamma). Kedua jenis rantai tersebut ada pada janin, setelah proses kelahiran maka rantai non-alfa akan berdiferensiasi lagi menjadi non-alfa (rantai beta) (Allisa, 2008).

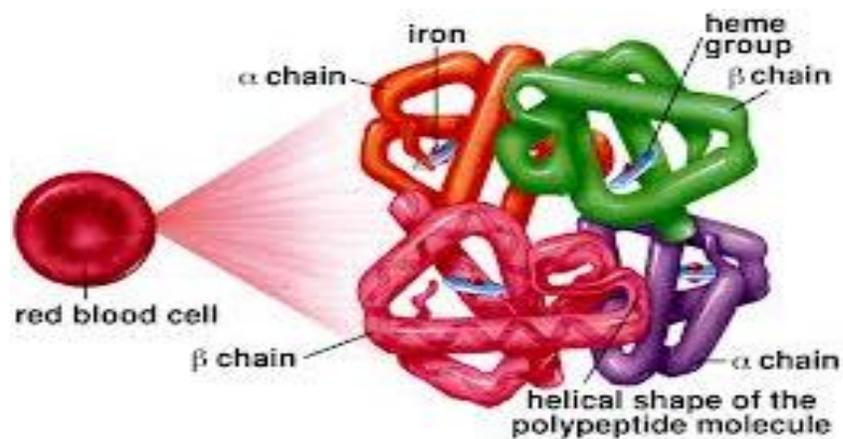
Biosintesis globin dimulai dari DNA yang berada di dalam sel induk penghasil eritrosit (retikulosit). Bagian DNA yang menyimpan informasi untuk pembentukan globin tersebut adalah gen globin. Gen-gen yang mengkode rantai alfa globin berada pada kromosom 16 sedangkan gen-gen yang mengkode rantai non-alfa globin berada pada kromosom 11.

Pada awal proses, gen globin akan diterjemahkan menjadi suatu untaian molekul yang disebut mRNA dalam proses transkripsi. Proses tersebut terjadi di dalam nukleus sel retikulosit. Selanjutnya, mRNA akan keluar dari nukleus menuju sitoplasma dan akan diterima oleh ribosom. Ribosom ini akan memproses kode informasi yang dibawa oleh mRNA untuk proses penggabungan bahan-bahan yang pembuatan globin (proses translasi). Globin yang dihasilkan oleh ribosom masih belum sempurna dan akan dikirim ke badan golgi. Di badan golgi ini, globin mengalami proses penyempurnaan hingga membentuk globin yang utuh (Cahyani, 2004).

2.3.5.4 Penggabungan Heme dan Globin

Rantai globin digabungkan oleh ribosom sitoplasmik. Hasil akhirnya adalah molekul globin yang tetramer yaitu dua rantai alfa globin dan dua rantai non-alfa globin. Penggabungan molekul hemoglobin ini berlaku di sitoplasma sel. Dua rantai globin yang berbeda (masing-masing dengan molekul heme individu) bergabung untuk membentuk hemoglobin. Kombinasi dari dua rantai alfa dan dua rantai non-alfa menghasilkan molekul hemoglobin lengkap (total empat rantai per molekul). Kombinasi dari dua rantai alfa dan dua rantai gamma bentuk “janin” hemoglobin, disebut “hemoglobin F”. Hal ini hanya berlaku ketika individu masih mengalami fase janin. Kombinasi dari dua rantai alfa dan dua rantai beta bentuk “dewasa” hemoglobin, juga disebut “hemoglobin A”. kejadian tersebut berlangsung ketika suatu individu sudah terlahir (Hillman, 2005).

Pasangan dari satu rantai alfa dan satu non-alpha rantai menghasilkan dimer hemoglobin (dua rantai). Dimer hemoglobin tidak efisien memberikan oksigen, namun. Dua dimer bergabung untuk membentuk tetramer hemoglobin, yang merupakan bentuk fungsional hemoglobin. Karakteristik biofisik kompleks tetramer hemoglobin memungkinkan kontrol serapan oksigen di paru-paru dan meriliskan oksegen di jaringan yang diperlukan untuk mempertahankan kehidupan (Rinder, 2005). Jadi, masing-masing rantai globin akan berikatan dengan molekul heme yang mengandung atom besi. Sehingga dalam satu molekul tetramer hemoglobin (terdiri dari 4 rantai globin yang masing-masing berikatan dengan heme) memiliki kemampuan mengikat 4 oksigen (Cahyani, 2004). Gambaran struktur hemoglobin disajikan pada gambar 2.20 berikut:



Gamba 2.20 Struktur molekul hemoglobin (Wikipedia, 2013).

2.4 Timbal

2.4.1 Tinjauan Umum Timbal

Timbal merupakan logam berat terbanyak di alam. Istilah logam berat digunakan karena timbal mempunyai densitas (rapatan) yang sangat tinggi ($11,34 \text{ g/cm}^{-3}$). Hal ini jauh melebihi densitas tertinggi logam transisi pertama yaitu $8,92 \text{ g/cm}^{-3}$ untuk tembaga (Sugiyarto, 2010).

Timbal adalah sebuah unsur yang biasanya ditemukan dalam batu-batuan, tanah, tumbuhan dan hewan. Unsur kimia ini bersifat racun dan banyak digunakan dalam pembuatan barang-barang seperti batu baterai, cat, plastik pembungkus kabel, kertas perak, pipa air, pestisida, bahan amunisi, bahan bakar bensin, dan lain-lain (SNI,2009). Penggunaan timbal dalam berbagai industri dan bahan bakar menyebabkan sumber utama pencemaran timbal adalah industri pengolahan biji timbal, industri baterai, industri pengolahan dan pengeksrak logam, serta asap kendaraan bermotor. Partikel timbal (residu hasil industri dan asap kendaraan) di udara dapat berpindah tempat dalam jarak yang cukup jauh (Pengkajian Baku Mutu, 1999).

2.4.2 Sifat Fisika dan Kimia Timbal

Timbal merupakan kelompok logam bergolongan IV-A, mempunyai berat atom 207,21, berat jenis 11,34, memiliki nama latin *Plumbum* dengan lambang (Pb) dan nama dalam bahasa Inggrisnya adalah *Lead* (Zeinz, 1994). Timbal mempunyai

konfigurasi elektron $[_{54}\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2 6p^2$ (Pengkajian Baku Mutu, 1999). Ukuran partikel timbal di udara adalah $1 \mu\text{m}$, tidak dapat didegradasi (penguraian) dan tidak dapat dihancurkan, hal ini dikarenakan timbal (Pb) adalah sebuah unsur (Pengkajian Baku Mutu, 1999). Timbal bersifat lunak dan berwarna biru atau silver abu-abu dengan kilau logam, nomer atomnya adalah 82, mempunyai titik leleh $327,4^\circ\text{C}$ dan titik didih 1620°C .

Timbal pada umumnya dapat membentuk senyawa-senyawa dengan tingkat oksidasi +2 dan +4 (Sugiyarto, 2010). Sebanyak 95 % senyawa yang terbentuk oleh timbal bersifat anorganik (membentuk garam anorganik yang kurang larut dalam air), dan selebihnya berbentuk senyawa timbal organik seperti Tetraethyllead (TEL), Tetramethyllead (TML), timbal oksida (PbO), timbal korida (PbCl₂), timbal asetat (Pb(CH₃COO)₂) dan lain-lain. Senyawa tersebut mudah larut dalam pelarut organik, misalnya dalam lipid (Tyas,1998).

Logam timbal mampu berinteraksi dengan berbagai macam enzim sehingga menyebabkan hampir seluruh organ tubuh manusia dan hewan rentan terkena dampak buruk timbal (WHO, 1999). Hal ini karena timbal dapat terakumulasi dalam jaringan dan organ tubuh (Pengkajian Baku Mutu, 1999).

2.4.3 Distribusi dan Penyimpanan Timbal Dalam Tubuh

Timbal (dalam senyawa timbal asetat) yang telah diabsorpsi dari usus halus (terurai menjadi timbal dan asam asetat) akan diangkut ke berbagai organ tubuh oleh darah, sebanyak 95% timbal dalam darah diikat oleh eritrosit dan akan diedarkan ke

seluruh tubuh. Timbal dalam plasma berbentuk ion timbal yang dapat berdifusi ke sel tubuh lainnya (Ardiyanto, 2007).

Tempat penyimpanan timbal antara lain sumsum tulang, sistem syaraf, ginjal, hati, tulang, kuku, rambut dan gigi (Ardiyanto, 2007). Darah sebagai sarana distribusi timbal, menyebabkan eritrosit mengalami perubahan pada volume dan morfologinya. Hal itu merupakan ciri khas keracunan timbal (Purnomo, 2007).

2.4.4 Ekskresi Timbal

Ekskresi timbal dapat terjadi melalui beberapa cara yaitu melalui ginjal dan saluran cerna. Ekskresi timbal melalui urin adalah sebesar 75 –80%, melalui feces 15% dan lainnya melalui empedu, keringat, rambut, dan kuku (Ardiyanto, 2007).

Pada umumnya ekskresi timbal berjalan sangat lambat. Hal tersebut dikarenakan timbal memiliki waktu paruh di dalam darah selama 25 hari. Adanya waktu paruh dalam darah yang hanya selama 25 hari ini menyebabkan ekskresi timbal berjalan dengan lambat. Hal tersebut mengakibatkan timbal mudah terakumulasi dalam darah dan akan mempengaruhi homeostasis fisiologi dalam tubuh, khususnya adalah mengganggu kestabilan membran eritrosit dan biosintesis hemoglobin dengan cara menghambat enzim-enzim yang berperan dalam proses tersebut (Patrick, 2006).

2.4.5 Dampak Timbal (Dalam Senyawa Timbal Asetat)

Akumulasi timbal dalam tubuh dapat menyebabkan gangguan terhadap berbagai sistem dalam tubuh. Hal ini terjadi karena adanya keracunan timbal. Ukuran keracunan ditentukan oleh kadar dan lamanya pemaparan senyawa timbal asetat. Keracunan dapat dibagi menjadi dua yaitu keracunan akut dan keracunan kronis yang disebabkan oleh adanya kadar timbal yang berlebih (melebihi ambang batas) (Fauzi, 2005).

Besarnya ambang batas tergantung pada jenis masing-masing individu (Ardiyanto, 2005). Ambang batas untuk letal dosis timbal pada mencit adalah sebesar 592,9 mg/kg berat badan (SNI, 2009). Pemberian timbal asetat sebesar 266,66 mg/kg berat badan pada penelitian yang dilakukan oleh Barber (2011) mampu menurunkan kadar hemoglobin sebesar 2,5 gr/dl dan menurunkan jumlah eritrosit sebesar 73×10^5 sel/mm³. Terjadinya penurunan kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit tersebut dikarenakan jumlah timbal yang berlebih dalam tubuh mencit tersebut mengakibatkan munculnya radikal bebas (ROS) (Ardiyanto, 2005).

Radikal bebas adalah atom, molekul, atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan dan memiliki sifat yang sangat reaktif serta tidak stabil (Winarti, 2010). Tidak stabilnya molekul radikal bebas menyebabkan molekul ini mudah mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada di sekitarnya (Suciani, 2007). Materi yang diikat oleh molekul radikal bebas pada umumnya adalah molekul besar seperti lipid, protein maupun DNA. Apabila hal

tersebut terjadi, maka akan menyebabkan kerusakan sel dan menurunkan jumlah produksi sel, salah satu contohnya adalah sel darah merah (eritrosit) (Winarti,2010).

Timbal dapat memicu adanya radikal bebas karena timbal merupakan logam berat yang dapat terakumulasi dalam tubuh. Semakin banyak timbal yang terakumulasi maka homeostasis dalam tubuh akan terganggu karena timbal memiliki electron yang tidak berpasangan sebanyak 2 hingga 4. Oleh karena itu dapat meningkatkan oksidasi dalam tubuh salah satunya pada darah merah (eritrosit) (Pinho, 2012).

Kerusakan sel darah merah (eritrosit) yang disebabkan oleh efek radikal bebas (ROS) terjadi oleh adanya gangguan terhadap proses biosintesis yang terjadi dalam sel tersebut atau gangguan langsung terhadap membran sel. Gangguan pada proses biosintesis terjadi pada biosintesis heme yang diakibatkan oleh timbulnya hambatan (inhibisi) pada kinerja enzim-enzim yang berperan dalam biosintesis tersebut, salah satunya adalah enzim d-ALAD (Patrick, 2006).

Akibat adanya gangguan biosintesis heme, maka eritrosit akan kekurangan kandungan hemoglobin. Selain itu, gangguan langsung pada membran sel menyebabkan penurunan (kurang stabil) permeabilitas membran karena radikal bebas dapat mengoksidasi lipid dan protein integral yang menjadi salah satu komponen membran. Membran yang dimaksud adalah membran milik sel darah merah (eritrosit) dan juga membran mitokondria (sebagai tempat biosintesis heme). Kedua hal tersebut (gangguan biosintesis hemoglobin dan membran eritrosit) akan menyebabkan menurunnya metabolisme tubuh hewan model (mencit) (Patrick, 2006).

Adanya dampak negatif yang ditimbulkan oleh paparan timbal tersebut merupakan suatu ujian yang Allah SWT berikan pada umat manusia. Hal ini tersaji dalam surat Muhammad ayat 31 berikut:

وَلَنَبْلُوَنَّكُمْ حَتَّىٰ نَعْلَمَ الْمُجَاهِدِينَ مِنَ الصَّابِرِينَ وَنَبْلُوَنَّكُمْ حَتَّىٰ نَعْلَمَ الْمُجَاهِدِينَ مِنَ الصَّابِرِينَ وَنَبْلُوَنَّكُمْ حَتَّىٰ نَعْلَمَ الْمُجَاهِدِينَ مِنَ الصَّابِرِينَ وَنَبْلُوَنَّكُمْ حَتَّىٰ نَعْلَمَ الْمُجَاهِدِينَ مِنَ الصَّابِرِينَ

“Dan sesungguhnya Kami benar-benar akan menguji kalian agar Kami mengetahui orang-orang yang berjihad dan bersabar diantara kalian.”
(Q.S.Muhammad:31).

Kata *almujaahidiin* di atas yang memiliki arti *orang-orang yang berjihad* dalam kitab Tafsir al-Mishbah karya Shihab (2003) ditafsirkan sebagai orang-orang yang berjuang dijalan Allah SWT. Perjuangan yang dilakukan dalam kajian ini adalah berjuang untuk mempelajari dan mencari penyebab penyakit atau gangguan yang terjadi di dalam tubuh. Selain itu, kata *almushobiriin* dalam kitab Tafsir al-Qurthubi karya Qurthubi (2009) memiliki arti *orang-orang yang bersabar* ditafsirkan sebagai orang-orang yang berserah diri. Maksud dari kedua kata tersebut adalah bahwa setiap hal negatif yang muncul dalam kehidupan manusia, baik berupa penyakit atau yang lainnya adalah bagian dari ujian yang Allah SWT berikan.

Hadirnya ujian dimaksudkan agar manusia selalu berusaha untuk berjuang mempelajarinya sehingga akan menemukan arti kebesaran dan kekuasaan Allah SWT. Hal tersebut dikarenakan agar manusia berfikir bahwa Allah SWT maha besar dan maha berkuasa sehingga hal yang kecil berupa timbal (tidak terlihat oleh mata) dapat menyebabkan gangguan metabolisme dalam darah. Oleh karena itu manusia disuruh untuk bersabar dalam menghadapi ujian tersebut. Sikap sabar dapat

dilaksanakan dengan cara berusaha mencari solusi untuk mengobati ataupun mencegah timbulnya gangguan tersebut.

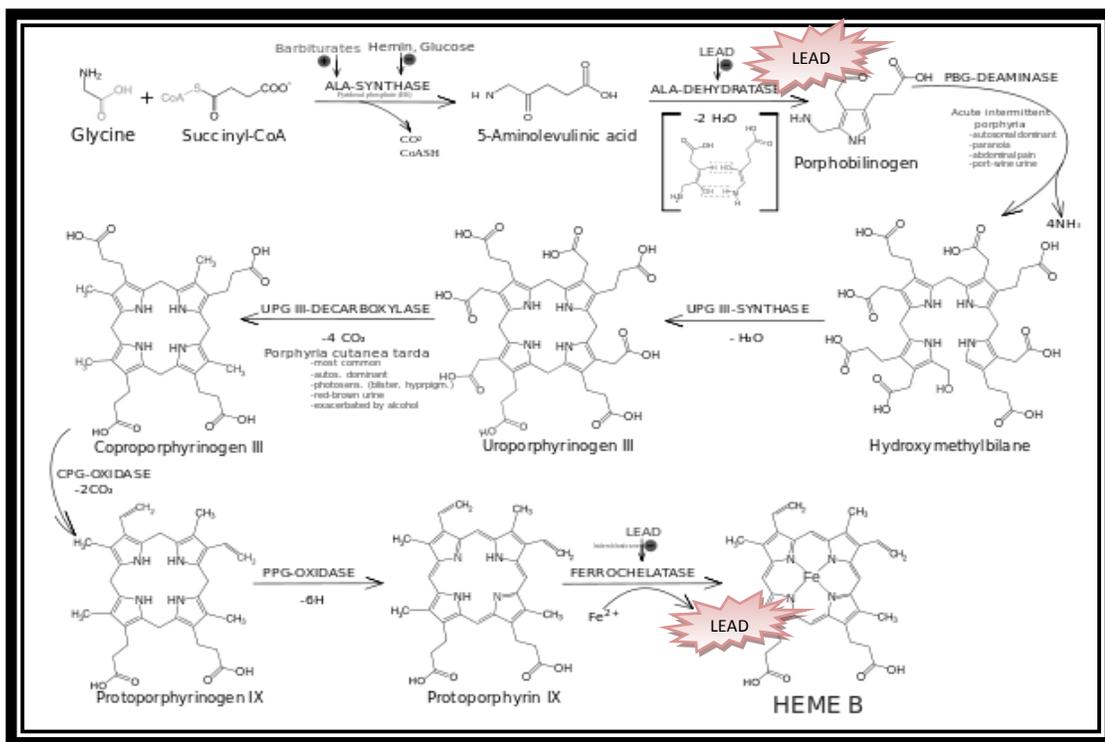
2.5 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Kadar Enzim d-ALAD, Kadar Hemoglobin dan Eritrosit Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Dipapar Timbal Asetat

Adanya paparan timbal yang berlebih akan menyebabkan terganggunya homeostasis dalam tubuh. Salah satu homeostasis yang mudah terganggu adalah sistem sirkulasi, yang dalam hal ini melibatkan eritrosit dan hemoglobin. Hal yang menyebabkan terganggunya sistem sirkulasi adalah adanya gangguan pada eritrosit (menyebabkan menurunnya jumlah eritrosit dan perubahan morfologi eritrosit) dan biosintesis hemoglobin (menyebabkan penurunan kadar enzim d-ALAD yang menyebabkan penurunan kadar hemoglobin dan gangguan kinerja enzim ferokelatase) (Ercal, 2001).

Hemoglobin disintesis dalam tahapan yang cukup kompleks. Gangguan sintesis hemoglobin akibat paparan timbal dapat terjadi dalam 2 jalur. Jalur pertama adalah terjadinya autooksidasi pada hemoglobin. Jalur kedua adalah penghambatan katalisis enzim selama proses sintesis berlangsung. Ada dua jenis enzim yang mudah terganggu oleh keberadaan timbal, enzim tersebut adalah dALAD dan enzim ferokelatase (Ercal, 2001).

Enzim d-ALAD merupakan suatu enzim yang mengandung ikatan *sulphydril* (gugus SH). Timbal akan berikatan dengan gugus SH pada dALAD sehingga

menyebabkan enzim ini tidak aktif (Ercal, 2001). Tidak aktifnya enzim dALAD terjadi karena ikatan antara timbal dengan gugus SH akan mengakibatkan pembentukan intermediat *porphobilinogen* dan reaksi ini tidak dapat dilanjutkan (terputus). Adanya proses tersebut menyebabkan peningkatan asam ALA dalam darah. Sementara itu enzim ferokelatase merupakan enzim yang berperan untuk mengkatalisis ikatan antara ion Fe dengan *protoporphirin*. Timbal akan menghambat keterlibatan enzim ferokelatase sehingga menghambat insersi ion ferro (Fe^{2+}) ke dalam *protoporphyrin* (Suciani, 2007). Skema gangguan enzim d-ALAD dan ferokelatase dalam proses sintesis hemoglobin akibat oksidasi oleh timbal diuraikan dalam gambar 2.21 berikut ini:



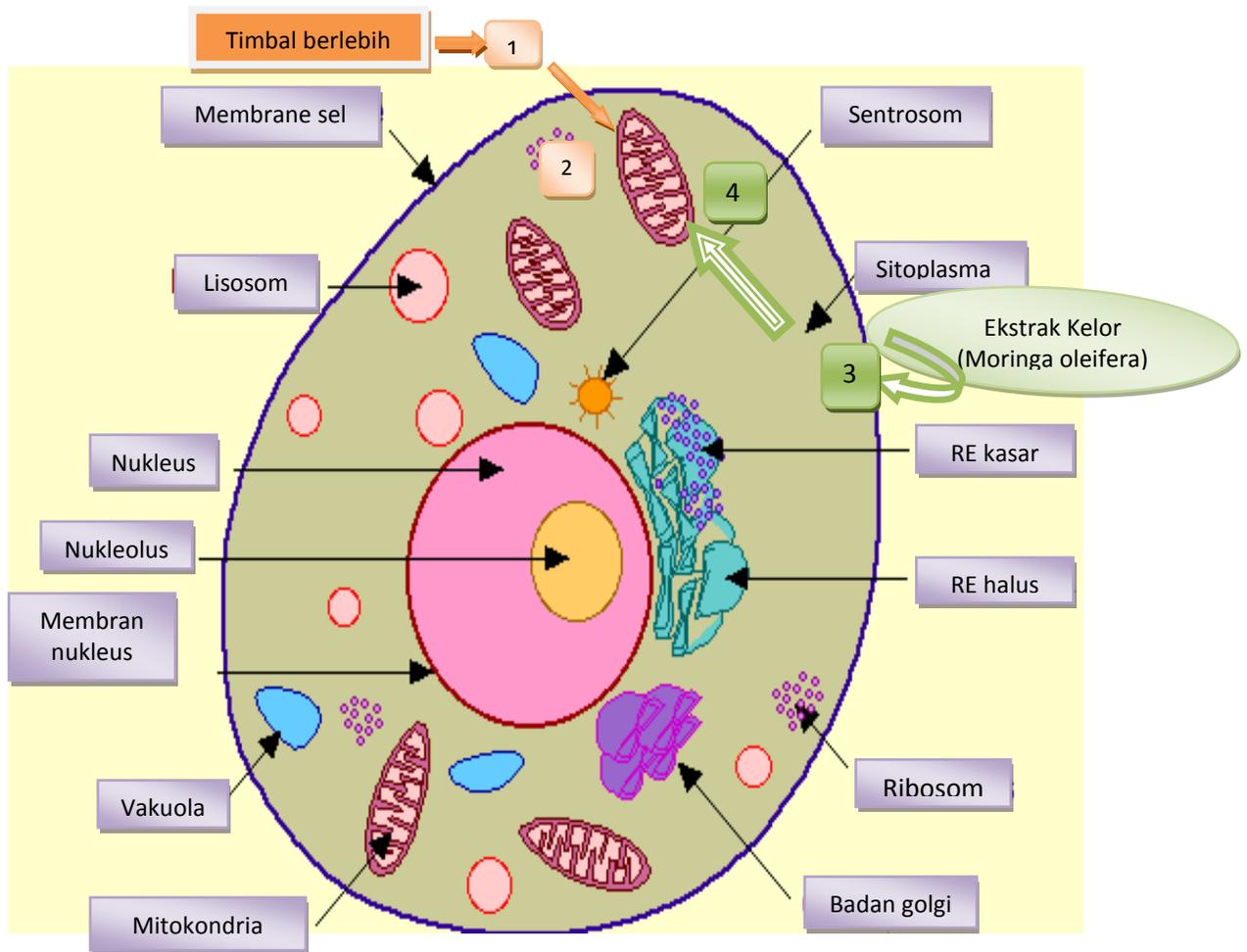
Gambar 2.21. Skema gangguan sintesis hemoglobin akibat paparan timbal

Selain terjadinya gangguan pada proses biosintesis hemoglobin, efek radikal bebas akibat timbal juga mengakibatkan terjadinya gangguan terhadap eritrosit. Gangguan eritrosit akibat paparan timbal dapat terjadi karena adanya oksidasi lipid pada membran eritrosit. Faktor penyebabnya adalah adanya radikal bebas (oksidan) yang berlebih (Patrick, 2006).

Oksidan merupakan senyawa penerima elektron (senyawa yang dapat menarik elektron). Beberapa oksidan kuat (ROS) bisa dihasilkan selama proses metabolisme dalam sel darah maupun sel tubuh lainnya. Oksidan kuat ini adalah ion superoksid (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil (OH), radikal peroksil (HOO) dan singlet oksigen (O). Radikal tersebut merupakan molekul yang reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid dan molekul lainnya untuk mengubah strukturnya serta menimbulkan kerusakan sel maupun jaringan (Nelma, 2008).

Kerusakan pada sel eritrosit dikarenakan membran plasmanya memiliki fosfolipid dengan kadar yang tinggi sehingga menyebabkan eritrosit sangat rentan terhadap ROS. Ini karena terjadi oksidasi lipid (lipid peroksidase) pada membran eritrosit. Membran yang rusak tersebut akan menyebabkan perubahan fluiditas dan penurunan integritas membran, sehingga dapat menyebabkan perubahan morfologi eritrosit (Hayati, 2006). Hal ini didukung oleh penelitian Astuti (2009) yang melaporkan perubahan struktur membran sel dapat mengubah kestabilan dan fungsi membran dalam hal transport molekul dan ion.

Berdasarkan keterangan di atas, maka perlu dilakukan suatu perbaikan. Salah satu langkah yang perlu dilakukan adalah dengan pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*). Hal tersebut didasarkan dari berbagai penelitian (telah diuraikan di bab 1) bahwa pemberian ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) memberikan pengaruh berupa perbaikan sistem sirkulasi. Perbaikan tersebut berupa peningkatan kadar enzim d-ALAD, kadar hemoglobin, jumlah dan morfologi eritrosit menciit yang telah dipapar dengan menggunakan timbal asetat (Ercal, 2001). Hal tersebut terjadi karena kandungan vitamin A, vitamin C dan vitamin E yang terkandung dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) berperan sebagai senyawa antioksidan dengan cara memberikan donor elektron pada senyawa oksidan yang mengganggu permeabilitas membran pada eritrosit dan gangguan biosintesis hemoglobin. Berbagai macam vitamin tersebut akan bekerja secara sinergis dalam menetralkan radikal bebas dalam darah. Selain kandungan vitamin tersebut, kandungan mineral yang terkandung (mineral Fe dan Cu) juga memiliki peran penting yaitu sebagai kofaktor bagi vitamin tersebut di atas. Peta konsepnya disajikan dalam gambar berikut ini



Keterangan :

1. Timbal berlebih dalam darah akan menyebabkan terbentuknya ROS yang mengoksidasi fosfolipid di membran eritrosit. Hal tersebut menyebabkan menurunnya permeabilitas membran sehingga proses transport molekul dan ion menjadi tidak stabil. Akibatnya adalah terjadi perubahan morfologi eritrosit.

2. Timbal masuk ke dalam mitokondria dan mengganggu kinerja enzim d-ALAD (berikatan dengan gugus SH yang terdapat pada enzim d-ALAD) dalam biosintesis heme. Akibatnya akan terjadi penurunan sintesis heme karena apabila enzim d-ALAD terganggu maka proses biosintesis heme tidak dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya. Hal ini akan mengakibatkan menurunnya kadar hemoglobin dalam darah.
3. Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) yang diberikan mengandung antioksidan alami seperti vitamin A, vitamin C dan vitamin E yang akan bekerja secara sinergi untuk mengurangi oksidasi berlebih pada membran eritrosit . Sehingga kestabilan permeabilitas membran dapat tercapai kembali.
4. Kandungan vitamin dan mineral yang terdapat pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) akan masuk ke dalam mitokondria dan mengurangi terjadinya oksidasi pada enzim d-ALAD. Sehingga proses biosintesis heme dapat berlanjut hingga terbentuk heme yang sempurna. Dengan demikian maka homeostasis fisiologis dalam sistem sirkulasi dapat terjadi.

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat aktif dari bagian tanaman ataupun hewan. Zat-zat aktif tersebut terdapat di dalam sel sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Harbone,1987).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam tersebut. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut. Proses perpindahannya mulai terjadi pada lapisan permukaan kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone,1987).

Pada penelitian ini akan digunakan metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Metode maserasi adalah salah satu teknik ekstraksi yang dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan pelarut 75 bagian, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, sambil diaduk sesekali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut. Proses ekstraksi diakhiri setelah pelarut tidak berwarna lagi, lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang tidak bercahaya, setelah dua hari lalu endapan dipisahkan (Dirjen POM, 1986).

Hal tersebut di atas dikarenakan penelitian ini akan membuat ekstrak kasar, sehingga kandungan senyawa aktif yang diambil akan beragam antara lain vitamin A, vitamin C, vitamin E dan beberapa mineral seperti Fe dan Cu. Etanol digunakan untuk melisiskan dinding sel daun kelor (*Moringa oleifera*) dan melarutkan kandungan vitamin E serta vitamin A yang bersifat nonpolar, sementara itu aquadesnya berfungsi sebagai pelarut bagi vitamin C. Alat-alat dan teknik yang digunakan juga cukup sederhana sehingga memudahkan pelaksanaan ekstraksi. Hasil akhir dari ekstraksi maserasi akan dievaporasi sehingga akan didapatkan ekstrak kasar daun *Moringa olifera* tanpa campuran etanol dalam larutan ekstraksi (Harbone,1987).

2.7 Metode Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektrofotometri ultraviolet, cahaya tampak, infra merah dan serapan atom. Jangkauan panjang gelombang untuk daerah ultraviolet adalah 190-380 nm, daerah cahaya tampak 380-780 nm, daerah infra merah dekat 780-3000 nm dan daerah infra merah 2,5-40 μm atau 4000-250 cm^{-1} (Sirait, 2009).

Radiasi ultra violet dan sinar tampak diabsorpsi oleh molekul organik aromatik, molekul yang mengandung elektron-n, menyebabkan transisi electron di orbital terluarnya dari tingkat energi elektron dasar ke tingkat energi elektron tereksitasi lebih tinggi. Besarnya serapan radiasi tersebut sebanding dengan banyaknya molekul yang mengabsorpsi sehingga dapat digunakan untuk analisis secara kuantitatif (Sirait, 2009).

Penggunaan utama spektrofotometri adalah dalam analisis kuantitatif suatu molekul. Apabila dalam alur spektrofotometer terdapat senyawa yang mengabsorpsi radiasi, maka akan terjadi pengurangan radiasi yang mencapai detektor. Parameter kekuatan energy radiasi khas yang diabsorpsi oleh molekul adalah absorban (A) yang dalam batas konsentrasi rendah nilainya sebanding dengan banyaknya molekul yang mengabsorpsi radiasi dan merupakan dasar analisis kuantitatif. Penentuan kadar senyawa organik yang mempunyai gugus khromofor dan mengabsorpsi radiasi ultraviolet-cahaya tampak, penggunaannya cukup luas (Sirait, 2009).

Berdasarkan uraian di atas, maka spektrofotometer yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis spektrofotometer cahaya tampak. Hal tersebut dikarenakan peneliti menggunakan panjang gelombang absorpsi 540 nm untuk pengamatan kadar hemoglobin (Bijanti, 2002) dan menggunakan panjang gelombang absorpsi 555 nm untuk pengamatan kadar enzim d-ALAD (Nelma, 2008).

Metode pengukuran kadar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode pendekatan merupakan suatu analisis kuantitatif yang membandingkan serapan konsentrasinya diketahui dengan serapan sampel. Konsentrasi sampel dapat dihitung melalui rumus perbandingan $C = A_s \cdot C_b / A_b$ dimana A_s = serapan sampel, A_b = serapan standar, C_b = konsentrasi standar dan C = konsentrasi sampel (Nelma, 2008).

Metode pendekatan ini didasarkan pada cara analisis kuantitatif data pengamatan sampel yaitu membandingkan konsentrasi serapan sampel dengan blanko (berisi pelarut saja). Hasil perbandingan tersebut akan menunjukkan konsentrasi sampel yang diuji. Pada pengukuran kadar hemoglobin, sampel yang diuji akan dilarutkan dalam larutan Drabskin sehingga pelarut yang diisikan pada blanko adalah pelarut Drabskin (Bijanti, 2002). Sedangkan pada pengukuran kadar enzim d-ALAD, sampel yang diuji akan dilarutkan dalam larutan Erlich sehingga pelarut yang diisikan pada blanko adalah pelarut Erlich (Nelma, 2008).

Analisis kuantitatif dengan cara ini dilakukan dengan membandingkan serapan konsentrasinya diketahui dengan serapan sampel. Konsentrasi sampel dapat dihitung melalui rumus perbandingan $C = A_s \cdot C_b / A_b$ dimana A_s = serapan sampel, A_b = serapan standar, C_b = konsentrasi standar dan C = konsentrasi sampel (Nelma, 2008).