

Radikal Bebas - Sifat dan Peran dalam Menimbulkan Kerusakan/Kematian Sel

Retno Gitawati

Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Departemen Kesehatan RI, Jakarta

PENDAHULUAN

Salah satu penyebab kerusakan sel/jaringan adalah akibat pembentukan radikal bebas. Radikal bebas adalah produk-antara yang terbentuk dalam berbagai proses reaksi dari metabolisme sel^(1,2). Dalam kurun waktu 15 tahun terakhir banyak studi dilakukan untuk mengetahui peran radikal bebas dalam menimbulkan kerusakan sel dan terjadinya bermacam kelainan tubuh. Salah satu radikal bebas yang banyak dipelajari dan dikenal bersifat toksik bagi sel hidup adalah radikal bebas oksigen (superoksida) dan derivatnya (radikal hidroksil). Berbagai proses metabolisme dalam tubuh manusia menghasilkan radikal bebas yang berbal namun dalam keadaan fisiologik tubuh kita memiliki mekanisme proteksi yang menetralkan radikal bebas tersebut, antara lain dengan adanya enzim-enzim yang bersifat *scavenger* terhadap radikal bebas.

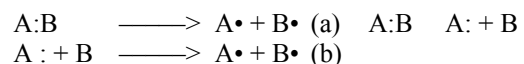
Tulisan ini bermaksud mengulas secara ringkas apa, bagaimana dan mekanisme biokimiawi radikal bebas dalam menimbulkan kerusakan dan kematian sd, dan *scavenger*-nya.

APA DAN BAGAIMANA TERBENTUKNYA RADIKAL BEBAS

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital paling luar^(1,2,3), termasuk di antaranya adalah atom hidrogen, logam-logam transisi dan molekul oksigen. Adanya "elektron-tidak-berpasangan" menyebabkan radikal bebas (diberi simbol R.) secara kimiawi sangat reaktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion) atau tidak bermuatan.

Secara umum, radikal bebas dapat terbentuk melalui salah satu cara sebagai berikut⁽²⁾: (i) melalui absorpsi radiasi (ionisasi, uv, radiasi sinar tampak, radiasi panas), atau (ii) melalui reaksi redoks, dengan mekanisme reaksi fisi ikatan homolitik (a) atau

pemindahan elektron (b):



Pengaruh radiasi ionisasi terhadap materi biologik akan menghasilkan bermacam-macam radikal bebas yang kompleks, terutama radikal hidrogen (H.), hidroksil (OH.), dan elektron, yang siap berinteraksi dengan biomolekul-biomolekul lain yang berdekatan. Energi panas juga dapat menghasilkan radikal bebas. Secara umum, suhu tinggi dibutuhkan untuk memecahkan ikatan kovalen, tetapi beberapa ikatan yang relatif tidak stabil dapat dipecahkan secara homolitik pada suhu 30° – 50°C. Senyawa-senyawa demikian sebagian besar merupakan pencetus (*initiator*) reaksi pembentukan radikal bebas. Zat-zat organik ataupun *xenobiotik* yang terpapar suhu tinggi, misalnya polutan, sampah organik yang dibakar, rokok yang terbakar, menghasilkan campuran berbagai radikal bebas yang kompleks⁽²⁾. Beberapa reaksi redoks penghasil radikal bebas membutuhkan katalisator, biasanya logam transisi atau suatu enzim (metaloenzim atau flavo-protein).

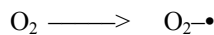
Berbagai proses metabolisme normal dalam tubuh dapat menghasilkan radikal bebas dalam jumlah kecil sebagai produk. antara. Didalam sel hidup radikal bebas terbentuk pada membran plasma dan organel-organel seperti mitokondria, peroksisom, retikulum endoplasmik dan sitosol; melalui reaksi-reaksi enzimatis fisiologik yang berlangsung dalam proses metabolisme⁽⁴⁾. Proses fagositosis oleh sel-sel fagositik termasuk netrofil, monosit, makrofag dan eosinofil, juga menghasilkan radikal bebas, yaitu superoksida (O₂^{-•})⁽¹⁾.

RADIKAL BEBAS OKSIGEN DAN DERIVATNYA

Seperti telah disinggung di atas ada beberapa jenis radikal bebas. Tiga di antaranya diulas lebih lanjut berikut ini:

1) Radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$)

Radikal ini merupakan jenis yang paling banyak: diteliti, dan terbentuk bila 1 molekul O_2 menerima 1 elektron.



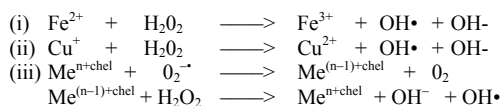
Superoksida bersifat oksidan atau reduktan, dapat bereaksi dengan berbagai substrat biologik. Reaktifitas $O_2^{\bullet-}$ sangat terbatas karena adanya dismutasi spontan yang dapat terjadi pada pH fisiologik, membentuk H_2O_2 dan O_2 . Tetapi dengan terbatasnya reaktifitas $O_2^{\bullet-}$ menyebabkan radikal ini dapat berdifusi dan bereaksi dengan substratnya dalam jarak yang relatif lebih jauh dari tempat asalnya.

2) Hidrogen peroksida

Penambahan 1 elektron pada radikal $O_2^{\bullet-}$ menghasilkan ion peroksida O_2^{2-} yang tidak bersifat radikal, dan pada pH fisiologik akan segera mengalami protonasi membentuk H_2O_2 . Derivat oksigen ini bersifat oksidan kuat tetapi bereaksi lambat dengan substrat organik, dan dianggap toksik pada kadar tinggi. Meskipun bukan radikal bebas, akumulasi H_2O_2 dapat berbahaya bila terdapat bersama-sama dengan logam (Fe, Cu) atau zat-zat kelator (*chelating agents*)^(1,3) karena akan bereaksi membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif. Akumulasi hidroperekسيد secara langsung bersifat toksik dan dapat menginaktivasi enzim-enzim dengan cara oksidasi terhadap residu asam amino (mis. metionin, histidin, sistein, lisin) atau memperantarai reaksi polimerasi.

3) Radikal hidroksil (OH \cdot)

Reaksi fisi homolitik ikatan O-O pada H_2O_2 menghasilkan 2 molekul radikal hidroksil, OH \cdot . Reaksi homolitik ini dapat terjadi karena pengaruh panas atau radiasi ionisasi. Selain itu, radikal hidroksil juga dapat terbentuk dari H dengan adanya ion-ion logam (Fe^{2+}, Cu^+), menurut reaksi Fenton, dan dengan adanya kelator melalui reaksi Haber-Weiss^(1,3,4).



Radikal hidroksil adalah oksidan yang sangat reaktif dan tidak stabil. Ia dapat bereaksi dengan hampir semua substrat biologik. Karena sangat reaktif efek radikal ini hanya berlangsung di daerah yang dekat dengan tempat terbentuknya, dan dalam kondisi fisiologik normal tidak ditemukan radikal hidroksil dalam kadar yang besar.

SIFAT-SIFAT RADIKAL BEBAS

Radikal bebas bersifat sangat reaktif, dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, gugus tiol non-protein, lipid, karbohidrat, nukleotida⁽⁴⁾. Terhadap protein, radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi dan *cross-linking*, sehingga mempercepat terjadinya proteolisis. Pengaruh radikal bebas pada gugus tiol enzim akan menyebabkan antara lain perubahan dalam aktifitas enzim tersebut. Terhadap lipid menyebabkan reaksi peroksidasi yang akan mencetuskan proses otokatalitik yang akan menjalar sam-

pai jauh dari tempat asal reaksi semula. Terhadap nukleotida radikal bebas akan menyebabkan terjadinya perubahan struktur (DNA atau RNA) yang menyebabkan terjadinya mutasi atau sitotoksisitas.

Perusakan sel oleh radikal bebas reaktif didahului oleh kerusakan membran sel⁽²⁾, dengan terjadi rangkaian proses sebagai berikut:

(a) terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen-komponen membran (enzim-enzim membran, komponen karbohidrat membran plasma, sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor;

(b) oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transpor lintas membran terganggu;

(c) reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA = *poly unsaturated fatty acid*). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain dengan mengubah fluiditas, *cross-linking*, struktur dan fungsi membran; dalam keadaan yang lebih ekstrim akhirnya akan menyebabkan kematian sel.

Efek biologik peroksidasi lipid membran bergantung antara lain pada populasi sel yang bersangkutan dan profil asam lemak pada membran fosfolipid. Contoh, membran mitokondria dan mikrosom sensitif terhadap peroksidasi lipid karena kandungan PUFA pada fosfolipid membran cukup tinggi. Umumnya semua membran peka terhadap reaksi peroksidasi lipid dalam derajat yang berbeda-beda.

Kerusakan struktur subseluler secara langsung mempengaruhi pengaturan metabolisme. Sebagai contoh adalah: disrupsi membran lisosom menyebabkan penglepasan enzim-enzim hidrolitik lisosom yang selanjutnya mampu memperantarai pengrusakan intraseluler, dan memperkuat kemampuan radikal bebas dalam menginduksi kerusakan sel⁽⁵⁾.

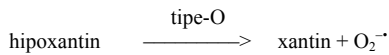
Dalam keadaan normal tubuh kita memiliki mekanisme pertahanan terhadap pengrusakan oleh radikal bebas yang beragam, efisien dan tersebar di berbagai tempat dalam sel. Menurut konsep radikal bebas, kerusakan sel akibat molekul radikal baru dapat terjadi bila kemampuan mekanisme pertahanan tubuh sudah dilampaui atau menurun⁽²⁾.

RADIKAL BEBAS OKSIGEN SEBAGAI MEDIATOR PROSES PATOFISIOLOGIK

Proses patofisiologi yang melibatkan pembentukan radikal bebas dengan terjadinya kerusakan jaringan, banyak dipelajari terutama mengenai iskemia (jantung dan SSP) dan terjadinya proses inflamasi akut. Penyakit-penyakit degeneratif, proses penuaan dan kanker juga banyak dihubungkan dengan terbentuknya radikal bebas oksigen. Pada iskemia SSP, radikal bebas yang terbentuk terutama mempengaruhi lipid membran⁽³⁾. Ditemukan zat-zat yang dapat menghambat pembentukan dan/atau efek radikal bebas, yang diduga dapat pula menghambat kerusakan SSP akibat iskemia, contohnya, antiinflamasi non-steroid dan mannitol⁽³⁾.

Pada iskemia, radikal bebas superoksida terbentuk dari

hipoxantin yang merupakan hasil degradasi ATP. Reaksi ini dikatalisis oleh xantin oksidase (tipe-O), yang merupakan hasil konversi dari xantin dehidrogenase (tipe-D) dan terbentuk pada keadaan patologik (iskemia) karena energi rendah^(6,7).



Proses inflamasi diperantarai oleh sintesis prostaglandin yang dikatalisis oleh siklo-oksigenase. Produk-antara pada tahap sintesis ini adalah terbentuknya radikal bebas⁽³⁾. Selain itu, aktivasi sel-sel fagosit sebagai mekanisme imunologik normal dalam meregulasi proses inflamasi (antara lain dengan merubah permeabilitas vaskuler dan pembentukan faktor-faktor kemotaktik), juga akan menghasilkan radikal bebas oksigen^(1,2).

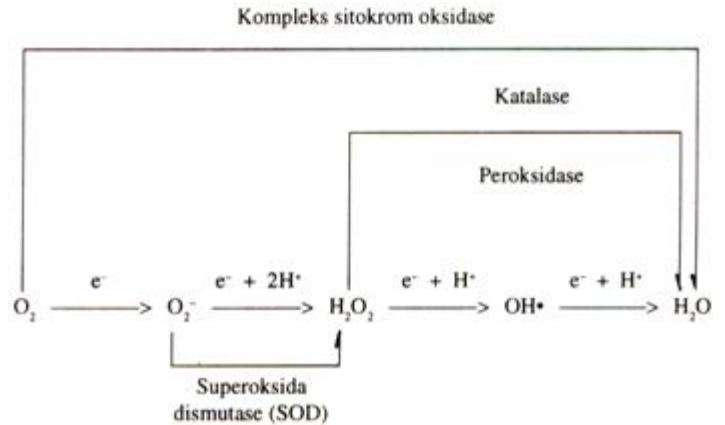
Zat-zat yang dapat bereaksi dengan DNA, sangat potensial bersifat karsinogenik. DNA yang terpapar sistim penghasil radikal bebas oksigen, misalnya radikal hidroksil (OH \cdot) reaktif yang terbentuk dengan adanya ion-ion logam transisi, akan mengalami pemecahan dan degradasi rantai desoksiribos^(1,2). Efek mutagenik radikal superoksida yang terbentuk selama aktivasi sel-sel fagosit pada inflamasi jaringan kronik, dapat mendorong terjadinya sel kanker. Zat-zat kimia karsinogen dapat mengalami aktivasi metabolik menjadi produk-antara radikal bebas, misalnya metabolisme hidrokarbon polisiklik, amin-aromatik dan sebagainya; bila terbentuk dekat dengan DNA, akan bereaksi dengan DNA dan terjadi aktifitas karsinogenik⁽²⁾.

Dengan bertambahnya usia, radikal bebas yang terbentuk selama metabolisme normal dapat merusak DNA dan makromolekul lain sehingga terjadi penyakit-penyakit degeneratif, keganasan, kematian sel-sel vital tertentu, yang pada akhirnya akan menyebabkan proses penuaan dan kematian bagi individu tersebut. Sejenis pigmen (lipofuscin) yang terakumulasi pada semua spesies mammalia sejalan dengan bertambahnya usia, diduga berkaitan dengan terjadinya peroksidasi lipid. Terjadinya katarak pada usia lanjut diduga antara lain karena proses peroksidasi lipid akibat terbentuknya radikal superoksida secara fotokimia oleh efek fotosensitisasi cahaya⁽⁸⁾.

SCAVENGER RADIKAL BEBAS

Scavenger radikal bebas adalah suatu substansi atau molekul yang dapat bereaksi dengan radikal bebas, dan berfungsi menetralkan radikal bebas. *Scavenger* radikal bebas terdapat endogen dalam tubuh kita, maupun berasal dari luar tubuh (eksogen). Komponen-komponen sel, seperti gula, asam amino tak jenuh, asam amino yang mengandung sulfur, asam lemak tak jenuh, dapat bereaksi 'menetralkan' radikal bebas. Produksi reaksi ini akan bersifat kurang toksik terhadap sel dibandingkan radikal bebas semula atau dengan mekanisme pertahanan ini diusahakan mempertahankan kadar radikal bebas terendah yang tidak lagi dapat menyebabkan kerusakan komponen sel.

Scavenger endogen berupa enzim-enzim mikrosom hati seperti katalase, peroksidase, dan superoksida dismutase (SOD), secara fisiologik menetralkan pembentukan dan/atau efek radikal bebas yang terbentuk selama proses metabolisme normal^(5,7) dengan mekanisme sebagai berikut:



Pada keadaan patologik yang antara lain diakibatkan terbentuknya radikal bebas dalam jumlah berlebihan, enzim-enzim yang berfungsi sebagai *scavenger* endogen dapat menurun aktifitasnya, sehingga memperparah keadaan patofisiologik yang telah terjadi.

Beberapa antioksidan dan zat/obat-obat seperti vitamin-E (alfatokoferol), betakaroten, DMTU, allopurinol, kaptopril, manitol, dalam beberapa penelitian dibuktikan mempunyai aktifitas sebagai *scavenger* radikal bebas⁽⁸⁾ antara lain dengan mereduksi radikal bebas menjadi bentuk tidak toksik.

KESIMPULAN

Radikal bebas adalah suatu substansi kimia yang bersifat reaktif karena memiliki "elektron-tidak-berpasangan" pada orbital paling luar; yang paling banyak dipelajari adalah radikal superoksida ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dan radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$). Substansi tersebut mampu merusak berbagai komponen sel sehingga dapat berakibat terjadinya kerusakan bahkan kematian sel dan berbagai kelainan tubuh. Sistim biologik dapat terpapar oleh radikal bebas, baik yang terbentuk endogen sebagai produk antara dalam proses metabolisme sel, maupun eksternal seperti pengaruh radiasi ionisasi dan proses pembakaran berbagai polutan. Meskipun demikian, dalam keadaan fisiologik tubuh memiliki mekanisme proteksi terhadap efek radikal bebas dengan adanya enzim-enzim dan antioksidan yang bersifat *scavenger*.

Berbagai penelitian telah dilakukan terhadap substansi/obat-obat yang diduga memiliki sifat *scavenger* radikal bebas antara lain alfatokoferol (vitamin E), betakaroten, allopurinol, kaptopril dan sebagainya; sebagian dengan tujuan untuk mengetahui mekanisme pengrusakan radikal bebas, sebagian lain dengan tujuan untuk terapi terhadap kelainan-kelainan yang ditimbulkan.

KEPUSTAKAAN

- Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 279: 1-14.
- Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1-15.
- Hess ML, Manson NH. Molecular Oxygen: Friend and Foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1984; 16: 969-85.
- Suyatna FD. Radikal bebas dan iskemia. *Cermin Dunia Kedokt* 1989; 57:

- 25-8.
5. Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery* 1983; 94(3): 407-11.
 6. McCorcFJM. The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. *Surgery* 1983; 94(3): 412-4.
 7. Granger DN, Hoowarth ME, Park DA. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand* 1986; 126, Suppl 548: 57-63.
 8. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 1988; (63(4): 390-408.

