

**KAJIAN KESAN PRODUK-PRODUK YANG
MENGANDUNGI *EURYCOMA LONGIFOLIA*
TERHADAP METABOLISME DRUG DALAM HATI
TIKUS**

ZAINAH BINTI ADAM

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA
2003**

**KAJIAN KESAN PRODUK-PRODUK YANG
MENGANDUNGI *EURYCOMA LONGIFOLIA*
TERHADAP METABOLISME DRUG DALAM
HATI TIKUS**

Oleh

ZAINAH BINTI ADAM

Tesis yang diserahkan untuk memenuhi
keperluan bagi Ijazah Sarjana Sains

Jun 2003

Penghargaan

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan sekalian alam, selawat dan salam ke atas Junjungan Besar Rasulullah SAW, para sahabat dan keluarga baginda. Setinggi-tinggi kesyukuran kepada Allah SWT kerana memberi kekuatan kepada saya untuk menyiapkan projek ini. Pertama sekali, saya ingin mengucapkan setinggi-tinggi terima kasih kepada penyelia projek, Prof Madya Dr Abas Hj Hussin dan penyelia bersama projek, Dr Rusliza Basir di atas segala bantuan, bimbingan dan tunjuk ajar di dalam melaksanakan projek ini. Terima kasih yang teramat juga kepada Profesor Chan Kit Lam yang telah memberikan sampel untuk melengkapkan kajian ini. Saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pensyarah Pusat Pengajian Sains Farmasi, En. Rosli, En. Adnan, Uncle Wan, Sue Hay, Tan Chong Yee, Nor Aziyah, Ossama dan Atif serta semua yang terlibat secara langsung atau tidak langsung dalam menjayakan projek ini. Semoga sumbangan ikhlas anda semua akan diberkati Allah SWT. Setinggi-tinggi terima kasih kepada pihak National Science Fellowship, Kementerian Sains, Teknologi dan Alam Sekitar yang telah menaja saya untuk menjalankan projek ini dan kepada pihak Universiti Sains Malaysia di atas kemudahan yang disediakan seperti makmal, perpustakaan, pusat komputer dan prasarana lain yang telah digunakan untuk menjalankan projek ini. Terima kasih juga kepada Institut Pengajian Siswazah di atas segala panduan dan bantuan dalam menguruskan projek ini. Terakhir dan teristimewa; kepada suami tersayang, mak, abah, along, Liza, ateh dan adik terima kasih di atas segala sokongan dan kasih sayang yang diberikan. Kalian adalah istimewa dan semoga Allah SWT akan memberkati kalian di dunia dan akhirat.

JADUAL KANDUNGAN	Muka surat
Penghargaan	ii
Jadual Kandungan	iii
Senarai Rajah	ix
Senarai Jadual	x
Senarai Kata Singkat	xviii
Abstrak	xxii
Abstract	xxiii
1.0 PENGENALAN	
1.1 Pengenalan kepada perubatan alternatif/komplimentari	1
1.1.1 Penggunaan perubatan alternatif/komplimentari di Malaysia	2
1.1.2 Contoh-contoh perubatan alternatif/komplimentari	5
1.1.2.1 Akupunktur	5
1.1.2.2 Kiropraktik	5
1.1.2.3 Homeopati	6
1.1.3 Penggunaan herba sebagai salah satu perubatan alternatif	6
1.1.3.1 Penggunaan herba di peringkat global	6
1.1.3.2 Penggunaan herba di Malaysia	7
1.1.4 Tongkat Ali sebagai salah satu ubatan herba	10
1.1.4.1 Morfologi tumbuhan Tongkat Ali	10
1.1.4.2 Khasiat-khasiat Tongkat Ali	11
1.1.4.3 Kandungan kimia Tongkat Ali	12
1.1.4.4 Tongkat Ali di pasaran	15
1.2 Langkah-langkah dalam kitaran drug	15

1.2.1	Metabolisme drug	16
1.2.2	Metabolisme fasa I	17
1.2.3	Metabolisme fasa II	18
1.2.4	Sitokrom P450 (CYP)	19
1.2.5	Tatanama CYP	20
1.3	Faktor-faktor yang mempengaruhi metabolisme drug	22
1.3.1	Faktor-faktor dalaman	22
1.3.1.1	Umur	22
1.3.1.2	Jantina	25
1.3.1.3	Penyakit	26
1.3.2	Faktor luaran	30
1.4	Interaksi herba-drug	32
1.4.1	Interaksi farmakokinetik	32
1.4.2	Interaksi farmakodinamik	36
1.4.3	Contoh-contoh interaksi herba-drug	37
1.5	Aminopirin	38
1.5.1	Assai aktiviti aminopirin N-demetilase	40
1.6	Transduksi isyarat dalam metabolisme drug	43
1.6.1	Protein G	44
1.6.2	Sistem pengutus kedua	45
1.6.2.1	Pengutus kedua jenis nukleotida siklik	45
1.6.2.2	Pengutus kedua jenis lipid	46
1.6.2.3	Pengutus kedua jenis ion kalsium	47
1.6.3	Tindakbalas terhadap isyarat	48

1.7	Penggunaan kajian <i>in vitro</i> dalam memahami metabolisme drug, kaitannya dengan metabolisme <i>in vivo</i> dan pengunjuran data daripada kajian haiwan kepada manusia	49
1.8	Objektif kajian	51
2.0	KAEDAH PERCUBAAN	
2.1	Haiwan percubaan	52
2.1.1	Haiwan yang digunakan	52
2.1.2	Aruhan diabetik menggunakan streptozotosin (STZ)	52
2.2	Senarai alat-alat yang digunakan	53
2.3	Senarai bahan-bahan kimia yang digunakan	53
2.4	Penyediaan larutan-larutan uji dan bahan-bahan keperluan kajian	56
2.4.1	Penyediaan larutan stok	56
2.4.2	Larutan-larutan yang disediakan setiap hari	57
2.4.3	Penyediaan produk-produk dan sebatian tulin	57
2.5	Penyediaan sel hepatosit daripada tikus	58
2.5.1	Pengiraan bilangan sel hepatosit	60
2.6	Penyediaan keluk piawai formaldehid	60
2.7	Pengoptimuman kepekatan aminopirin, bilangan sel hepatosit dan masa pengeraman untuk assai aminopirin	61
2.8	Kesan <i>in vitro</i> 22 produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i> dan dua sebatian asli (eurikomanon dan 9-metoksikantin-6-on) ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh faktor jantina, umur dan penyakit (diabetis)	61
2.9	Kesan <i>in vitro</i> produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma</i>	63

	<i>longifolia</i> dan sebatian asli ke atas metabolisme aminopirin dalam kehadiran perencat dan perangsang sistem transduksi isyarat	
2.10	Kesan <i>in vivo</i> Euryco ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantung, umur dan penyakit (diabetis)	65
2.11	Penentuan aktiviti aminopirin N-demetilase	66
2.12	Analisis data	67
3.0	KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN	
3.1	Penyediaan keluk piawai formaldehid	68
3.2	Kesan <i>in vitro</i> 22 produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i> , eurikomanon dan 9-metoksikantin-6-on ke atas metabolisme aminopirin	69
3.2.1	Kesan dos-gerakbalas produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i> ke atas metabolisme aminopirin	70
3.2.2	Pengaruh penyakit (diabetis) ke atas metabolisme aminopirin dengan kehadiran produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	105
3.2.3	Pengaruh jantung ke atas metabolisme aminopirin dengan kehadiran produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	125
3.2.4	Pengaruh umur ke atas metabolisme aminopirin dengan kehadiran produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	145
3.3	Kesan <i>in vitro</i> produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i> ke atas metabolisme aminopirin dalam kehadiran perencat	178

atau perangsang sistem transduksi isyarat	
3.3.1 Dalam kehadiran 3-Isobutil-1-metilxantin (IBMX)	183
3.3.2 Dalam kehadiran genistein	184
3.3.3 Dalam kehadiran furafilin	184
3.3.4 Dalam kehadiran forbol-12 β -miristat-13 α -asetat (PMA)	186
3.3.5 Dalam kehadiran asid okadaik	187
3.3.6 Dalam kehadiran trifluoperazin	188
3.3.7 Dalam kehadiran KT5720	189
3.3.8 Dalam kehadiran KT5823	190
3.4 Kesan <i>in vivo</i> Euryco ke atas metabolisme aminopirin	193
3.5 Perbezaan kesan <i>in vivo</i> dan <i>in vitro</i> Euryco ke atas metabolisme aminopirin	197
4.0 KESIMPULAN DAN CADANGAN	
4.1 Kesimpulan am	200
4.2 Cadangan untuk kajian selanjutnya	203
RUJUKAN	205
LAMPIRAN-LAMPIRAN	
LAMPIRAN A Maklumat mengenai produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i> (seperti yang tercatat pada bungkusannya)	213
LAMPIRAN B Contoh bacaan glukosa darah dalam tikus normal dan tikus diabetik	222

LAMPIRAN C	Struktur molekul eurikomanon dan 9-metoksikantin-6-on	223
LAMPIRAN D	Carta aliran kajian kesan produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i> terhadap metabolisme aminopirin	224
LAMPIRAN E	Kajian kesan <i>in vivo</i> Euryco ke atas metabolisme aminopirin; Jadual pembahagian kumpulan dan subkumpulan mengikut dos rawatan Euryco	225
LAMPIRAN F	Lata transduksi isyarat dalam proses fosforolasi sitokrom P450	226
LAMPIRAN G	Pokok Tongkat Ali	227
LAMPIRAN H	Gambarajah teknik perfusi kolagenase melalui vena portal	228
LAMPIRAN I	Gambar produk-produk yang mengandungi Tongkat Ali yang digunakan dalam kajian	229
LAMPIRAN J	Aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Madu Pasak Bumi secara <i>in vitro</i> dalam unit nmol/min/juta sel	230

SENARAI RAJAH

Rajah	Muka surat	
1.1	Konstituen-konstituen <i>Eurycoma longifolia</i> dan lintasan biosintetiknya	13
1.2	Struktur-struktur kuasinoid daripada <i>Eurycoma longifolia</i>	14
1.3	Proses N-demetilasi aminopirin dan penentuan kalorimetrik formaldehid	41
1.4	Struktur aminopirin dan metabolit serta laluan dalam metabolismenya	42
1.5	Kitar pengaktifan dan pendeaktifan protein G yang terlibat dalam pengisyaratan transmembran	44
3.1	Keluk piawai formaldehid	68
3.2	Laluan IBMX sebagai analog cAMP dalam laluan transduksi isyarat	183
3.3	Mekanisme perencatan tirosin kinase oleh genistein	184
3.4	Mekanisme perencatan isoenzim CYP1A2 oleh furafilin	185
3.5	Mekanisme pengaktifan protein kinase C oleh PMA	186
3.6	Mekanisme tindakan asid okadaik terhadap laluan fosfatase di dalam sistem transduksi isyarat	188
3.7	Mekanisme perencatan pembentukan kalmodulin aktif oleh trifluoperazin	189
3.8	Mekanisme tindakan KT5720 dalam laluan protein kinase A	190
3.9	Mekanisme tindakan KT5823 dalam laluan protein kinase G	191

SENARAI JADUAL

Jadual		Mukasurat
1.1	Jenis-jenis tindakbalas yang dimungkinkan oleh MFOS	17
1.2	Jenis-jenis tindakbalas konjugasi	19
1.3	Superfamili gen sitokrom P450	21
1.4	Antara sitokrom P450 manusia yang telah dicirikan	21
1.5	Contoh-contoh sitokrom P450 dan substrat	22
1.6	Kesan diabetes ke atas paras sitokrom P450	27
1.7	Kesan diabetes ke atas tindakbalas yang dimungkinkan oleh sitokrom P450	29
2.1	Maklumat ringkas mengenai produk-produk yang digunakan (seperti yang tertera di label produk)	55
3.1	Bacaan absorbans formaldehid pada 414nm	68
3.2	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Tongkat Ali Orang Kampung secara <i>in vitro</i>	71
3.3	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Jamu Kapsul Super Tenaga secara <i>in vitro</i>	72
3.4	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran <i>Eurycoma longifolia</i> (BZ) secara <i>in vitro</i>	73
3.5	Peratus Aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Jamu Kapsul Tongkat Ali Herbanika Suria secara <i>in vitro</i>	74
3.6	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Suria Jamu Kapsul Tongkat Ali secara <i>in vitro</i>	75
3.7	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Jamu Kapsul Sumatera secara <i>in vitro</i>	76
3.8	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Kapsul Tongkat Ali secara <i>in vitro</i>	77
3.9	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Kapsul Maajun Tongkat Ali secara <i>in vitro</i>	78
3.10	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Maajun Pusaka Pulau Tongkat Ali secara <i>in vitro</i>	82
3.11	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Pasagin	83

	<i>secara in vitro</i>	
3.12	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Madu Pasak Bumi secara <i>in vitro</i>	84
3.13	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Minuman Warisan Tongkat Ali secara <i>in vitro</i>	85
3.14	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Jamu Pil Tongkat Ali secara <i>in vitro</i>	86
3.15	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Extra Primex secara <i>in vitro</i>	87
3.16	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Kapsul Jin Ta Harmoni secara <i>in vitro</i>	88
3.17	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Jamu Tongkat Ali Hitam secara <i>in vitro</i>	89
3.18	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Maajun Viagra Istimewa secara <i>in vitro</i>	92
3.19	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Srong Pas secara <i>in vitro</i>	93
3.20	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Capsule Tongkat Ali Plus secara <i>in vitro</i>	94
3.21	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Herbanika Tongkat Ali secara <i>in vitro</i>	95
3.22	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase di bawah pengaruh Novita Kapsul secara <i>in vitro</i>	96
3.23	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran Euryco secara <i>in vitro</i>	97
3.24	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran eurikomanon secara <i>in vitro</i>	98
3.25	Peratus aktiviti aminopirin N-demetilase dalam kehadiran 9-metoksikantin-6-on secara <i>in vitro</i>	99
3.26	Kesan <i>in vitro</i> Euryco ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	113
3.27	Kesan <i>in vitro</i> Novita kapsul ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	113

3.28	Kesan <i>in vitro</i> Herbanika Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	113
3.29	Kesan <i>in vitro</i> Capsule Tongkat Ali Plus ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	114
3.30	Kesan <i>in vitro</i> Srong Pas ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	114
3.31	Kesan <i>in vitro</i> Maajun Viagra Istimewa ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	114
3.32	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Tongkat Ali Hitam ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	115
3.33	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Jin Ta Harmoni ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	115
3.34	Kesan <i>in vitro</i> Extra Primex ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	115
3.35	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Pil Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	116
3.36	Kesan <i>in vitro</i> Minuman Warisan Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	116
3.37	Kesan <i>in vitro</i> Madu Pasak Bumi ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	116
3.38	Kesan <i>in vitro</i> Pasagin ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	117
3.39	Kesan <i>in vitro</i> Maajun Pusaka Pulau Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	117
3.40	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Maajun Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	117
3.41	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	118
3.42	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Sumatera ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	118
3.43	Kesan <i>in vitro</i> Suria-Jamu Kapsul Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	118
3.44	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Tongkat Ali Herbanika Suria ke atas	119

	metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	
3.45	Kesan <i>in vitro</i> Eurycoma longifolia (BZ) ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	119
3.46	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Super Tenaga ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	119
3.47	Kesan <i>in vitro</i> Tongkat Ali Orang Kampung ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	120
3.48	Kesan <i>in vitro</i> eurikomanon ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	120
3.49	Kesan <i>in vitro</i> 9-metoksikantin-6-on ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh penyakit (diabetis)	120
3.50	Ringkasan pengaruh diabetis ke atas aktiviti AP N-Dase dalam haiwan betina dengan kehadiran produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	121
3.51	Ringkasan pengaruh diabetis ke atas aktiviti AP N-Dase dalam haiwan jantan dengan kehadiran produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	122
3.52	Kesan <i>in vitro</i> Euryco ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	133
3.53	Kesan <i>in vitro</i> Novita Kapsul ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	133
3.54	Kesan <i>in vitro</i> Herbanika Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	133
3.55	Kesan <i>in vitro</i> Capsule Tongkat Ali Plus ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	134
3.56	Kesan <i>in vitro</i> Srong Pas ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	134
3.57	Kesan <i>in vitro</i> Maajun Viagra Istimewa ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	134
3.58	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Jin Ta Harmoni ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	135
3.59	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Tongkat Ali Hitam ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	135

3.60	Kesan <i>in vitro</i> Extra Primex ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	135
3.61	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Pil Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	136
3.62	Kesan <i>in vitro</i> Minuman Warisan Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	136
3.63	Kesan <i>in vitro</i> Madu Pasak Bumi ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	136
3.64	Kesan <i>in vitro</i> Pasagin ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	137
3.65	Kesan <i>in vitro</i> Maajun Pusaka Pulau Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	137
3.66	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Maajun Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	137
3.67	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	138
3.68	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Sumatera ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	138
3.69	Kesan <i>in vitro</i> Suria-Jamu Kapsul Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	138
3.70	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Tongkat Ali Herbanika Suria ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	139
3.71	Kesan <i>in vitro</i> Eurycoma longifolia (BZ) ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	139
3.72	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Super Tenaga ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	139
3.73	Kesan <i>in vitro</i> Tongkat Ali Orang Kampung ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	140
3.74	Kesan <i>in vitro</i> eurikomanon ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	140
3.75	Kesan <i>in vitro</i> 9-metoksikantin-6-on ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh jantina	140
3.76	Ringkasan pengaruh jantina ke atas aktiviti AP N-Dase dalam	141

	haiwan normal dengan kehadiran produk-produk yang mengandung <i>Eurycoma longifolia</i>	
3.77	Ringkasan pengaruh jantina ke atas aktiviti AP N-Dase dalam haiwan diabetik dengan kehadiran produk-produk yang mengandung <i>Eurycoma longifolia</i>	142
3.78	Kesan <i>in vitro</i> Euryco ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	162
3.79	Kesan <i>in vitro</i> Novita Kapsul ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	162
3.80	Kesan <i>in vitro</i> Herbanika Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	163
3.81	Kesan <i>in vitro</i> Capsule Tongkat Ali Plus ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	163
3.82	Kesan <i>in vitro</i> Srong pas ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	164
3.83	Kesan <i>in vitro</i> Maajun Viagra Istimewa ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	164
3.84	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Tongkat Ali Hitam ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	165
3.85	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Jin Ta Harmoni ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	165
3.86	Kesan <i>in vitro</i> Extra Primex ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	166
3.87	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Pil Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	166
3.88	Kesan <i>in vitro</i> Minuman Warisan Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	167
3.89	Kesan <i>in vitro</i> Madu Pasak Bumi ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	167
3.90	Kesan <i>in vitro</i> Pasagin ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	168
3.91	Kesan <i>in vitro</i> Maajun Pusaka Pulau Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	168

3.92	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Maajun Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	169
3.93	Kesan <i>in vitro</i> Kapsul Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	169
3.94	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Sumatera ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	170
3.95	Kesan <i>in vitro</i> Suria-Jamu Kapsul Tongkat Ali ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	170
3.96	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Tongkat Ali Herbanika Suria ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	171
3.97	Kesan <i>in vitro</i> <i>Eurycoma longifolia</i> (BZ) ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	171
3.98	Kesan <i>in vitro</i> Jamu Kapsul Super Tenaga ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	172
3.99	Kesan <i>in vitro</i> Tongkat Ali Orang Kampung ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	172
3.100	Kesan <i>in vitro</i> eurikomanon ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	173
3.101	Kesan <i>in vitro</i> 9-metoksikantin-6-on ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh umur	173
3.102	Ringkasan pengaruh umur ke atas aktiviti AP N-Dase dalam haiwan normal dengan kehadiran produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	174
3.103	Ringkasan pengaruh umur ke atas aktiviti AP N-Dase dalam haiwan diabetik dengan kehadiran produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	175
3.104	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran IBMX dan produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	179
3.105	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran genistein dan produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	179
3.106	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran furafilin dan produk-produk yang mengandungi <i>Eurycoma longifolia</i>	180
3.107	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran PMA dan produk-	180

	produk yang mengandung <i>Eurycoma longifolia</i>	
3.108	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran asid okadaik dan produk-produk yang mengandung <i>Eurycoma longifolia</i>	181
3.109	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran trifluoperazin dan produk-produk yang mengandung <i>Eurycoma longifolia</i>	181
3.110	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran KT5720 dan produk-produk yang mengandung <i>Eurycoma longifolia</i>	182
3.111	Peratus aktiviti AP N-Dase dalam kehadiran KT5823 dan produk-produk yang mengandung <i>Eurycoma longifolia</i>	182
3.112	Kesan dos-gerakbalas pemberian Euryco secara <i>in vivo</i> terhadap metabolisme aminopirin	193
3.113	Kesan <i>in vivo</i> Euryco terhadap aktiviti AP N-Dase di bawah pengaruh penyakit	194
3.114	Kesan <i>in vivo</i> Euryco terhadap aktiviti AP N-Dase di bawah pengaruh jantina	194
3.115	Kesan <i>in vivo</i> Euryco terhadap aktiviti AP N-Dase di bawah pengaruh umur	194

SENARAI KATA SINGKAT

AA	4-amino antipirin
AAA	4-asetilamino antipirin
Ach	asetalkolin
ADP	adenosina difosfat
AM-OH	3-hidroksimetil2-metil-dimetilamino-1-fenil-3-pirazolin-on
AMP	adenosina monofosfat
AP N-Dase	aminopirin N-demetilase
ATP	adenosina trifosfat
BBB	penghalang darah otak
Ba(OH) ₂	barium hidroksida
BDD	betina dewasa diabetik
BDN	betina dewasa normal
BMD	betina muda diabetik
BMN	betina muda normal
BTD	betina tua diabetik
BTN	betina tua normal
°C	darjah selsius
Ca ²⁺	ion kalsium
CaCl ₂	kalsium klorida
cAMP	adenosina monofosfat siklik
CaM	kalmodulin
cGMP	guanosina monofosfat siklik
cNMP	nukleotida monofosfat siklik
CO ₂	karbon dioksida
CTAP	Capsule Tongkat Ali Plus
CYP	sitokrom P450
Da	dalton
DAG	diasilgliserol
DMSO	dimetilsulfoksida
DR	tikus diabetik
FAA	4-formilamino antipirin

g	gram
GH	hormon tumbesaran
G.I.T.	laluhan gastrousus
GTP	guanosina trifosfat
HBSS	Hank's Balance Salt Solution
HCl	asid hidroklorik
HPLC	kromatografi cecair prestasi tinggi
HTA	Herbanika Tongkat Ali
IBMX	3-isobutil-1-metilxantin
IC ₅₀	nilai yang menunjukkan perencatan 50%
IP ₃	inositol trifosfat
IP ₄	inositol-1, 3,4,5-tetrakifosfat
JDD	jantan tua diabetik
JDN	jantan tua normal
JKS	Jamu Kapsul Sumatera
JKST	Jamu Kapsul Super Tenaga
JKTAHS	Jamu Kapsul Tongkat Ali Herbanika Suria
JMD	jantan muda diabetik
JMN	jantan muda normal
JPTA	Jamu Pil Tongkat Ali
JTAH	Jamu Tongkat Ali Hitam
JTD	jantan tua diabetik
JTN	jantan tua normal
K	kalium
KJTH	Kapsul Jin Ta Harmoni
KMTA	Kapsul Maajun Tongkat Ali
KTA	Kapsul Tongkat Ali
KCl	kalium klorida
kg	kilogram
KH ₂ PO ₄	kalium dihidrogenfosfat
L	liter
m	meter
MAA	4-metilamino antipirin
M	molar

MFOS	sistem oksidase berbagai fungsi
mg	milligram
MgCl ₂	magnesium klorida
MgSO ₄	magnesium sulfat
9-MK-6-on	9-metoksikantin-6-on
M	molar
ml	mililiter
mm	milimeter
mM	milimolar
mm ³	milimeter padu
mmol	milimol
MPB	Madu Pasak Bumi
MPPTA	Maajun Pusaka Pulau Tongkat Ali
MVI	Maajun Viagra Istimewa
MWTA	Minuman Warisan Tongkat Ali
Na	natrium
NaCl ₂	natrium klorida
NADH	nikotinamida adenina dinukleotida (terturun)
NADPH	nikotinamida adenina dinukleotida fosfat (terturun)
NaHCO ₃	natrium hidrogen karbonat
Na ₂ HPO ₄	dinatrium hydrogen fosfat
NaOH	natrim hidroksida
NMP	nukleotida monofosfat
NR	tikus normal
O ₂	oksigen
Pb	plumbum
PDE	fosfodiesterase
PIP ₂	fosfatidil inositoldifosfat
PKA	protein kinase A
PKG	protein kinase G
PLC	fosfolipase C
PMA	forbol-12β-miristat-13α-asetat
PPA2	fosfatase A2

ppm	bahagian per juta
PTM	perubatan tradisional melayu
RM	Ringgit Malaysia
rpm	round per minute
SD	Sprague Dawley
s.d.	sisihan piawai
SER	retikulum endoplasmik licin
SM	sebelum masehi
sm	sentimeter
S-JKTA	Suria-Jamu Kapsul Tongkat Ali
STZ	Streptozotosin
TAOK	Tongkat Ali Orang Kampung
TCM	Perubatan tradisional cina
TM	Tahun Masehi
US\$	United State dolar
ZnSO ₄	Zink sulfat
μg	mikrogram
μl	mikroliter
μM	mikromolar

ABSTRAK

Eurycoma longifolia atau Tongkat Ali digunakan secara tradisional untuk merawat malaria, ulser, keletihan dan demam. Tumbuhan ini juga didakwa mempunyai kesan afrodisiak untuk lelaki. Penggunaan bersama Tongkat Ali dengan drug moden boleh mewujudkan potensi interaksi herba-drug. Objektif kajian ini adalah untuk mengkaji kesan *in vitro* dan *in vivo* sebanyak 22 produk yang mengandungi *Eurycoma longifolia* dan 2 sebatian tulin ke atas metabolisme aminopirin di bawah pengaruh faktor penyakit (diabetis), jantina dan umur serta mekanisme di peringkat molekul tindakan produk-produk ini dan 2 sebatian tulin tersebut terhadap aktiviti aminopirin N-demetilase (AP N-Dase). Daripada kajian ini, didapati kesemua produk berpotensi mengubah metabolisme aminopirin sama ada meningkatkan atau mengurangkan aktiviti AP N-Dase. Produk-produk ini juga berupaya untuk mengubah pengaruh penyakit (diabetis), jantina dan umur ke atas metabolisme aminopirin. Kajian *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan yang Euryco meningkatkan dengan signifikan aktiviti AP N-Dase. Persamaan ini mencadangkan yang Euryco mempunyai kesan secara langsung terhadap aktiviti AP N-Dase hati. Di bawah pengaruh penyakit (diabetis), jantina dan umur, didapati wujud perbezaan aktiviti AP N-Dase antara kesan *in vitro* dan *in vivo* Euryco. Keputusan ini mencadangkan berlaku interaksi antara Euryco dengan sistem fisiologi tubuh dan interaksi ini adalah bergantung kepada penyakit (diabetis), jantina dan umur. Dalam kajian mekanisme di peringkat molekul, didapati tindakan produk-produk ini terhadap aktiviti AP N-Dase adalah melalui lintasan pengutus kedua yang berlainan iaitu lintasan tirosin kinase, lintasan protein kinase yang bergantung kepada kalmodulin serta lintasan yang diperantarakan oleh protein kinase A dan protein kinase G.

ABSTRACT

Eurycoma longifolia or Tongkat Ali is used traditionally in the treatment of malaria, ulcer, fatigue and fever. This plant has also been claimed to have aphrodisiac property in men. Concurrent use of *Eurycoma longifolia* with modern drugs may have the potential to cause herb-drug interactions. The objective of this study is to investigate the *in vitro* and *in vivo* effect of 22 *Eurycoma longifolia*-containing products and 2 pure compounds on aminopyrine metabolism under the influence of disease (diabetes), gender and age and to elucidate the molecular mechanism of the action of these products and pure compounds on aminopyrine N-demethylase (AP N-Dase) activity. From the study, we found that all products have the potential to influence aminopyrine metabolism by either increasing or decreasing AP N-Dase activity. These products also have the ability to alter the effects of diabetes, gender and age on aminopyrine metabolism. Euryco, both *in vitro* and *in vivo*, caused significant increment in AP N-Dase activity. This suggests that Euryco has direct effects on liver AP N-Dase activity. Under the influence of disease (diabetes), gender and age, we found that the aminopyrine N-demethylase activity *in vitro* was different from *in vivo*. This suggests that, interactions occur between Euryco and the physiological system of the body and these interactions are dependent on disease (diabetes), gender and age. In the molecular mechanism study, we found that the action of *Eurycoma longifolia*-containing products on AP N-Dase activity involved different second messenger pathways, including the tyrosine kinase pathway, the calmodulin-dependent protein kinase pathway and the pathways mediated by protein kinase A and protein kinase G.

1.0 PENGENALAN

1.1 Pengenalan kepada perubatan alternatif/komplimentari

Perubatan alternatif/komplementari adalah cabang perubatan selain daripada perubatan moden (alopati). *Federal Office of Alternative Medicine* mentakrifkan perubatan alternatif/komplementari sebagai rawatan atau penjagaan kesihatan yang tidak diajar secara rasmi di sekolah perubatan, tidak digunakan di hospital dan tiada polisi insurans yang melindungi penggunaannya. Perubatan alternatif/komplementari menggunakan hasil semulajadi seperti tumbuhan, haiwan dan mineral dalam kaedah perawatannya (Meinhard *et al.*, 1998).

Kini, perubatan alternatif telah menjadi popular dan penggunaannya telah meningkat di seluruh dunia. Peralihan kepada penggunaan perubatan alternatif walaupun perubatan moden adalah lebih canggih dan mudah didapati mungkin disebabkan oleh beberapa faktor. Antaranya ialah perubatan moden tidak mendatangkan kesan seperti yang diharapkan. Tambahan pula, kesan sampingan dari perubatan moden yang buruk seperti muntah-muntah dan sakit kepala. Generasi baru telah didedahkan kepada perubatan alternatif dalam penjagaan kesihatan mahupun rawatan penyakit. Ini terbukti dengan wujudnya kursus-kursus perubatan alternatif seperti akupunktur dan kiropraktik. Bagi negara mundur dan membangun, perubatan alternatif menjadi pilihan utama kerana kos yang murah dan lebih mudah didapati berbanding perubatan moden (Moyad, 2001). Seperti perubatan moden, perubatan alternatif boleh mendatangkan kebaikan dan juga tidak terlepas dari kesan sampingan yang merbahaya, tambahan pula literatur saintifik berkenaan perubatan alternatif masih kurang. Usaha ke arah mewujudkan sistem perubatan alternatif yang selamat masih memerlukan pelaburan yang besar dari segi tenaga dan kewangan. Kerjasama daripada

pelbagai pihak seperti kerajaan, ahli akademik dan badan korporat mungkin boleh mendatangkan hasil yang bermanfaat kepada pengguna.

1.1.1 Penggunaan perubatan alternatif/komplimentari di Malaysia

Di Malaysia, perubatan alternatif/komplimentari ditakrifkan seperti berikut:

1. Perubatan tradisional, iaitu amalan yang berdasarkan kepada kumpulan etnik yang diwarisi termasuk Perubatan Tradisional Melayu, Perubatan Tradisional Cina, Perubatan Tradisional India dan lain-lain.
2. Perubatan komplimentari, iaitu amalan yang merangkumi aspek falsafah penyembuhan yang boleh melengkapkan sistem penjagaan kesihatan kebangsaan. Contohnya seperti homeopati, aromaterapi, kiropraktik dan refleksologi.

Perubatan Tradisional Melayu (PTM) merupakan kaedah perawatan penyakit yang diwarisi turun-temurun yang berasaskan kepada penggunaan tumbuhan, haiwan dan mineral seperti garam. Teknik dalam PTM berubah dari masa ke semasa berdasarkan perkembangan agama dan cara hidup serta kepercayaan sesuatu komuniti. Dalam PTM, penyakit ditakrifkan sebagai rungutan-rungutan yang melibatkan perubahan fizikal atau psikologi yang dikategorikan sebagai peralihan daripada keadaan sihat kepada keadaan tidak sihat. Terdapat dua jenis penyakit iaitu penyakit fizikal dan penyakit jiwa (melibatkan unsur ghaib). Kaedah rawatan biasanya melibatkan penggunaan jampi dan mentera selain penggunaan akar-akar kayu atau tumbuhan sebagai bahan untuk pemulihan. Rawatan bagi penyakit fizikal dan jiwa adalah berlainan dari segi teknik dan bahannya. Pengamal-pengamal PTM dikenali sebagai *pawang*, *bomoh*, *dukun*, *bidan* dan *tukang urut*. *Pawang* dan *bomoh* adalah orang yang dihormati dalam sesuatu komuniti kerana kebolehannya untuk merawat

penyakit. Sehingga kini, *pawang* dan *bomoh* masih wujud dalam masyarakat Melayu dan khidmat mereka masih diperlukan terutama dalam mengubati penyakit-penyakit yang melibatkan unsur ghaib.

Perubatan Tradisional Cina (PTC) merupakan perubatan klasik Cina yang menggunakan bahan hasil semulajadi seperti tumbuhan (>2000 spesies), tisu haiwan dan mineral sebagai komponen ubatan (Critchley *et al.*, 2000). Preskripsi dilakukan oleh pengamal PTC dan selalunya terdiri daripada beberapa jenis herba yang perlu dididihkan sebelum diminum. Antara kaedah perawatan lain dalam PTC termasuklah akupunktur, urutan, plaster berubat dan mandi wap (Critchley *et al.*, 2000). PTC berasaskan kepada kepercayaan kepada lima elemen iaitu api, tanah, logam, air dan kayu di mana hubungan badan manusia dengan alam sekitar adalah berkait rapat. Dalam PTC, penyakit adalah disebabkan oleh faktor dalaman dan luaran dan ditakrifkan sebagai gangguan keseimbangan badan (keseimbangan *yin* dan *yang*) dan rawatan adalah bertujuan untuk membetulkan gangguan elemen-elemen badan ini (Critchley *et al.*, 2000).

Perubatan Tradisional India, Ayurveda (Science of Life) bermula di India 2000 tahun dahulu. Falsafah perubatan Ayurveda adalah kepercayaan kepada lima elemen iaitu eter, angin, air, tanah dan api yang menjadi unsur asas bagi semua kehidupan. Menurut Ayurveda, terdapat tiga *doshas* iaitu *kapha*, *pitta* dan *vata*. Setiap *doshas* terdapat pada organ yang spesifik di dalam badan dan berkait rapat dengan dua daripada elemen ayurveda. Kombinasi *doshas* ini dalam pelbagai nisbah membentuk sepuluh jenis badan yang akan menerangkan fizikal dan emosi seseorang. Pengamal Ayurveda akan meramal *tridoshas* (kombinasi tiga *doshas*) individu dan akan memberi nasihat tentang corak pemakanan, senaman, cara hidup dan jenis terapi untuk menjadikan *tridosha* seimbang. Ketakseimbangan *doshas* akan menyebabkan penyakit.

Perubatan Ayurveda terdiri daripada berbagai jenis rawatan iaitu cadangan pemakanan, urutan, ubatan herba, meditasi dan teknik pernafasan dalam yoga. Ia juga menekankan kesihatan minda selain tubuh dan juga keseimbangan tenaga.

Satu lagi perubatan tradisional yang popular di Malaysia ialah Perubatan Unani yang berasal dari Timur Tengah. Kaedah perubatan Unani adalah berasaskan kepada pengajaran Hippocrates (466-377 SM) yang diperkembangkan oleh Galen (131-210 TM) dan diteruskan oleh ahli perubatan Arab, Avicenna atau Ibn Sina (980-1037 TM) yang merupakan tokoh perubatan agung Unani. Perubatan Unani menggunakan tumbuhan, haiwan dan bahan galian sebagai sumber ubat. Unani menganjurkan aspek penyembuhan dan pencegahan melalui pelbagai terapi seperti urutan, senaman, pengawalan pemakanan, penggunaan ubatan herba serta teknik pembedahan.

Terdapat lima badan payung perubatan alternatif/komplimentari yang bertanggungjawab terhadap perkembangan industri ini di Malaysia iaitu Persekutuan Perubatan Tradisional Melayu Malaysia (PUTRAMAS), Federation of Chinese Physicians and Medicine Dealers Association of Malaysia (FCPMDAM), Pertubuhan Perubatan Tradisional India Malaysia (PEPTIM), Malaysian Society for Complementary Therapies (MSCT) dan Majlis Perubatan Homeopati Malaysia (MPHM). Semua pengamal perubatan alternatif/komplimentari di Malaysia sama ada tempatan atau dari luar negara mestilah berdaftar dengan badan payung yang berkaitan dengan amalan yang dijalankan sebelum boleh beroperasi. Jenis-jenis perubatan alternatif/komplimentari yang popular adalah akupunktur, kiropraktik, homeopati, herba dan refleksologi.

1.1.2 Contoh-contoh perubatan alternatif/komplementari

1.1.2.1 Akupunktur

Akupunktur merupakan salah satu daripada cabang Perubatan Tradisional Cina. Falsafah kesihatan akupunktur adalah keseimbangan atau keharmonian tenaga semulajadi. Ketakseimbangan tenaga akan menyebabkan lebihan atau kekurangan tenaga hidup dalam organ yang akan menyebabkan penyakit jika tidak dibetulkan. Tenaga hidup, *qi*, dipercayai bertiup di dalam badan pada laluan yang dipanggil *meridians* yang menghubungkan permukaan luar kepada organ dalaman. Akupunktur adalah rawatan *redirecting* dan menyeimbangkan tiupan tenaga. Pengamal akupunktur akan memasukkan jarum halus pada kulit melalui titik di sepanjang *meridians*. Ada pengamal yang menggunakan tekanan, haba, sedutan atau tenaga elektromagnetik untuk merangsang titik-titik di sepanjang *meridians* ini. Antara penyakit yang boleh dirawat melalui akupunktur adalah sakit tulang belakang, sakit leher, sakit sendi lutut, batu ginjal, gangguan haid dan angina kronik (Jonas *et al.*, 1998).

1.1.2.2 Kiropraktik

Mengikut falsafah dalam perubatan kiropraktik, kesihatan merupakan keseimbangan pada sistem saraf dan sistem otot rangka. Penyakit adalah gangguan fungsi saraf yang berpunca daripada kesilapan dalam susunan (*misalignment*) pada ruas tulang belakang. Untuk membetulkannya, ahli kiropraktik akan menggunakan teknik pembetulan manual tanpa pembedahan untuk menghilangkan tekanan pada saraf. Antara penyakit yang boleh dirawat melalui kaedah kiropraktik adalah kesakitan pada leher, bahu, lengan, bahagian belakang, kepala, pinggang, lutut dan kaki (Jonas *et al.*, 1998).

1.1.2.3 Homeopati

Perubatan homeopati ditemui pada awal abad ke-19 oleh pengamal perubatan German bernama Samuel Hahnemann yang berasaskan kepada dua ide. Pertama ialah *like cures like* (Law of Similars). Hahnemann berpendapat bahawa sebatian semulajadi yang dihasilkan dalam orang sihat boleh menjadi penawar kepada orang sakit. Kedua adalah *less is more* (Law of Infinitesimals). Hahnemann mengambil satu bahagian daripada sebatian semulajadi yang menjadi punca simptom dan dipercayai boleh menjadi penawar, lalu dicampurkan dengan sembilan bahagian air atau alkohol dan digoncang dengan kuat. Proses ini diulang beberapa kali. Beliau percaya bahawa semakin cair larutan, semakin berkesan ubat itu. Beliau berpendapat, walaupun larutan tidak lagi mempunyai molekul atau bahan aktif, larutan itu masih mempunyai 'imprint' atau 'message'. Falsafah perubatan homeopati adalah penyembuhan secara sistem terapeutik menggunakan tumbuhan, haiwan dan produk mineral dalam dos yang kecil untuk merangsang sistem pertahanan badan semulajadi pesakit. Homeopati merawat pelbagai penyakit kronik dan akut melalui kaedah fizikal dan emosi. Kaedah rawatan homeopati adalah berbeza untuk setiap individu, maka dua orang yang mempunyai penyakit yang sama mungkin akan melalui kaedah rawatan yang berbeza. Antara penyakit yang boleh dirawat melalui homeopati adalah seperti diabetis, migrain, gangguan pra-haid dan lain-lain (Jonas *et al.*, 1998).

1.1.3 Penggunaan herba sebagai salah satu perubatan alternatif

1.1.3.1 Penggunaan herba di peringkat global

Herba merupakan satu perubatan alternatif yang popular. Dianggarkan kira-kira 30,000 spesies tumbuhan telah digunakan dalam bidang perubatan di seluruh dunia (Philipson, 1993). Setiap negara mempunyai teknik perubatan tradisional yang

tersendiri. Bagi kebanyakan negara membangun, tumbuhan masih memainkan peranan dalam penjagaan kesihatan awal. Bagi negara maju seperti Amerika Syarikat dan Eropah, kaedah perubatan tertumpu kepada produk farmaseutikal manakala penggunaan produk herba adalah kurang. Secara global, industri farmaseutikal dunia dijangka berkembang sebanyak 6% manakala perubatan herba pula dijangka berkembang sebanyak 10-20% di kebanyakan negara. China merupakan pengeluar bahan mentah industri herba yang terbesar dan diikuti oleh India. Di China, kira-kira 6000 spesies tumbuhan herba yang bernilai ubatan diproses menjadi 3000 sediaan yang berdaftar. India pula mempunyai 7500 spesies tumbuhan herba yang bernilai ubatan dan sebanyak 5000 spesies telah dikomersilkan dengan pulangan sebanyak US\$250 juta (RM950 juta). India menguasai pasaran herba di Eropah sebanyak 12%. Jualan bahan mentah untuk ubatan herba, vitamin dan mineral di seluruh dunia bernilai US\$8 bilion (RM30.4 bilion) dan penggunaannya secara global dianggarkan bernilai US\$40 bilion (RM152 bilion). Pengguna terbesar produk herba adalah Jerman diikuti oleh China, Jepun, Amerika Syarikat, Perancis, Itali, England dan Sepanyol. Di Amerika Syarikat, penggunaan produk herba dianggarkan bernilai US\$1.3 bilion (RM4.9 bilion) pada tahun 1992 dan meningkat kepada US\$4 bilion (RM15.2 bilion) pada tahun 1998 manakala di Eropah ianya bernilai US\$6 bilion (RM22.8 bilion) (The Star, 1999).

1.1.3.2 Penggunaan herba di Malaysia

Penggunaan tumbuhan sebagai bahan perubatan di Malaysia telah bermula sejak dulu lagi dan menjadi tradisi sehingga hari ini. Walaupun telah wujud perubatan moden yang meluas dan diiktiraf, namun masyarakat Malaysia masih menggunakan herba sebagai satu kaedah perubatan terutamanya dalam masyarakat luar bandar. Malaysia yang terdiri dari berbagai kaum mempunyai berbagai jenis perubatan tradisional yang berasaskan herba yang diwarisi dari generasi terdahulu. Kini, penggunaan tumbuhan

herba sebagai ubatan telah dikomersilkan dengan wujudnya syarikat-syarikat yang mengeluarkan produk herba.

Malaysia ialah sebuah negara yang kaya dengan hasil hutan semulajadi. Dianggarkan terdapat 8000 spesies tumbuhan berbunga di Malaysia dan daripada jumlah ini, 1200 spesies telah dikenal pasti mempunyai nilai ubatan di mana 60 spesies merupakan herba yang biasa digunakan sebagai ubat (Ahmad, 1996). Berdasarkan data ini, Malaysia berpotensi untuk menjadi pengeluar produk herba utama dunia sejajar dengan hasrat kerajaan untuk menjadi pengeluar herba mentah utama dunia pada tahun 2010. Penanaman herba secara besar-besaran telah dilakukan oleh syarikat-syarikat pengeluar produk herba seperti Nona Roguy, Global Herba, Nasuha Enterprise, Perlis Essential Oil, Ratna Niaga dan lain-lain (The Star, 1999).

Pada tahun 1997, penggunaan produk herba di Malaysia dianggarkan kira-kira RM2 bilion manakala penggunaan produk farmaseutikal dari barat bernilai RM900 juta. Kebanyakan produk herba diimport dari China dan Indonesia. Mengikut perangkaan Bahagian Farmasi Kementerian Kesihatan Malaysia, sehingga Disember 1998, kerajaan telah mengeluarkan lesen kepada 88 buah syarikat pengeluar ubat-ubatan tradisional (Utusan Malaysia, 1999). Kerajaan mewajibkan pengeluar ubatan herba untuk mengikuti Amalan Pengilangan Baik (GMP) dan proses pengeluaran herba mestilah mematuhi spesifikasi yang telah ditetapkan sebagai syarat untuk mendaftarkan produk. Kerajaan Malaysia kini sedang menjalankan aktiviti pendaftaran dan perlesenan produk-produk herba yang berada di pasaran dari tahun 1991 hingga 1999 (Chan, 1998). Ini adalah untuk memastikan produk-produk herba ini selamat digunakan dan terjamin mutu serta efikasinya.

Sehingga 31 Disember 1999, sebanyak 18768 produk herba telah menjalani proses pendaftaran. Dari jumlah ini, 7966 daripadanya didaftarkan, 8975 ditolak, 1613

dibatalkan manakala 214 lagi masih dalam proses pengesahan (Drug Control Authority, 2000). Salah satu sebab penolakan adalah berdasarkan ujian mikrob, ujian kekerasan tablet dan ujian logam berat (arsenik, plumbum dan raksa). Kandungan logam berat mestilah berada di bawah had yang dibenarkan (Pb < 10ppm, arsenik < 5ppm dan raksa < 0.5ppm), kontaminasi mikrob juga tidak boleh melepasi had yang ditetapkan iaitu *E.coli* tidak boleh melebihi 10 sel per gram dan *Salmonella* tidak boleh wujud sama sekali. Ujian disintegrasi, disolusi dan kestabilan formulasi (tablet, ekstrak, pil, kapsul dan cecair) juga mesti dijalankan.

Pepiawaian herba juga adalah penting untuk memastikan keseragaman bahan kimia dan konstituen aktif dari ekstrak setiap kelompok. Ini adalah untuk mengurangkan perbezaan kandungan bahan aktif antara kelompok dan supaya produk dari kelompok yang berlainan akan mempunyai kesan terapeutik yang sama serta menunjukkan kesan ulang yang sama. Pepiawaian herba perlu dilakukan sekiranya herba mengandungi:

1. bahan aktif yang kesan keseluruhannya adalah untuk produk yang telah disiapkan.
2. bahan aktif dengan kepekatan yang sangat rendah dan sukar diasingkan.
3. bahan aktif yang masih tidak dikenali.

(Chan, 1998)

Kajian pepiawaian boleh menentukan kandungan bahan aktif setiap kelompok. Antara faktor yang boleh mempengaruhi kandungan bahan aktif herba adalah seperti kawasan ia diperolehi, masa ia dituai dan bahagian pokok yang digunakan. Jadi, untuk memastikan keseragaman mutu dan efikasi setiap kelompok produk herba, adalah penting untuk menyeragamkan sumber bahan mentah, masa penuaian, bahagian pokok yang digunakan dan prosedur pengeluaran bagi setiap kelompok (Chan, 1998).

Ketulinan produk herba juga boleh dicemari dengan pencampurpalsuan oleh pengeluar yang tidak beretika. Contohnya penambahan steroid, antiinflamasi bukan steroid, antihistamina dan antiasma (Chan, 1998). Selain daripada itu, pencemaran boleh berlaku melalui penggunaan racun makhluk perosak. Kesemua peraturan yang ditetapkan bertujuan supaya produk-produk herba yang berada di pasaran mematuhi spesifikasi yang ditetapkan untuk memastikan keselamatan, kualiti dan efikasi dalam penggunaannya oleh masyarakat.

1.1.4 Tongkat Ali sebagai salah satu ubatan herba

Eurycoma longifolia Jack dari famili Simaroubaceae juga dikenali sebagai Tongkat Ali, Bedara Pahit, Penawar Pahit, Bedara Putih, Bedara Merah, Hempedu Pahit, Payung Ali, Tongkat Baginda, Muntah Bumi, Petala Bumi, Akar Jangat Semang, Tongkat Rasul dan Setunjang Bumi. Di Indonesia tumbuhan ini dikenali sebagai Pasak Bumi manakala di Thailand ia dikenali sebagai Plalaiphuak. Di Malaysia, *Eurycoma longifolia* Jack sangat popular dengan nama Tongkat Ali. Ia tumbuh di kawasan hutan hijau primer dan sekunder sebagai tumbuhan lapisan bawah. Selalunya ia terdapat di tanah tinggi berpasir yang mencapai ketinggian sehingga 700 meter. Di Malaysia, taburannya secara meluas tidak diketahui tetapi terdapat di hampir seluruh negeri di Semenanjung Malaysia. Kini, pokok Tongkat Ali tulen yang tumbuh melata semakin sukar diperolehi kerana tiada usaha penanaman semula dilakukan. Menyedari hakikat ini, penanaman semula Tongkat Ali secara besar-besaran telah dilakukan oleh Lembaga Kemajuan Kelantan Selatan (Kesedar) yang melibatkan penggunaan tanah seluas 23.5 hektar di pinggir lebuhraya Gua Musang-Kuala Lipis (Berita Harian, 2000).

1.1.4.1 Morfologi Tongkat Ali

Tongkat Ali merupakan pokok renik yang sederhana besar dan boleh mencapai ketinggian sehingga 10m. Batangnya tidak bercabang, hanya terdapat tangkai-tangkai daun serta parut tangkai daun yang besar mengelilingi batang pokok. Daunnya adalah dari jenis pinat dan tangkai daun boleh mencapai sehingga 1m panjang. Setiap tangkai boleh mempunyai 30-40 helai pina dan setiap pina berukuran 5-20sm panjang, 1.5-6sm lebar. Permukaan atas daun berwarna hijau gelap manakala permukaan bawah berwarna hijau muda. Kedua-dua belah permukaan daun kelihatan licin. Tangkai daun berwarna perang kemerahan dan bunga terdapat diujung pucuk (axil) (Jaganath and Ng, 2000).

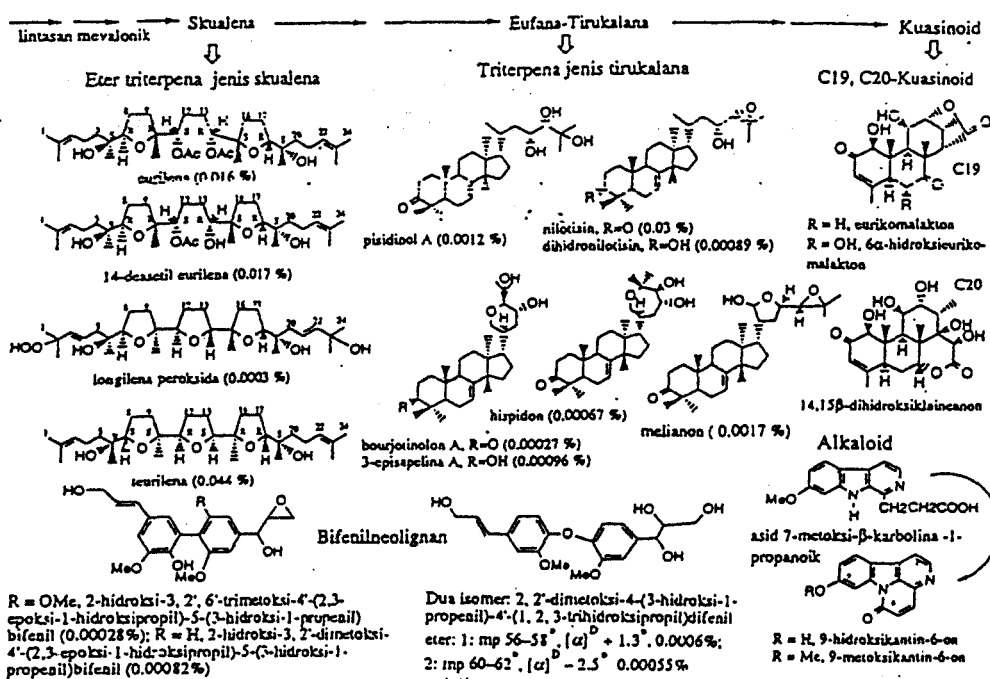
Tongkat Ali mempunyai bunga jantan dan hermafrodit (biseks) pada pokok yang berasingan. Bunganya berbentuk jambak dan berwarna merah. Jambak, tangkai bunga, kaliks dan sepal diliputi rerambut halus. Braktea berbentuk tiga segi kecil, 1mm panjang. Petal mempunyai rerambut halus pada kedua-dua belah permukaan, berbentuk lanseolat ke obovat atau obovat-oblong, 44.5mm panjang dan 2-3mm lebar. Bunga adalah jenis biseksual. Bunga betina mempunyai stamen yang lebih besar tetapi mandul manakala bunga jantan mempunyai pistil yang mandul. Stamen selalunya lebih panjang daripada kaliks. Staminoid (stamen yang mandul) mempunyai panjang 0.25mm pada bunga betina manakala 2mm pada bunga jantan. Stilus agak panjang dan bersambung dengan stigma yang mempunyai 5-6 cuping (lobus). Kedudukannya adalah 1 mm dari ovari. Buahnya berbentuk bujur 15-20mm, berwarna merah serta mempunyai isi luar yang nipis tetapi lembut, manakala biji mempunyai kulit yang keras. Akarnya jenis tunjang, panjang dan lurus, berwarna putih kekuningan serta mempunyai tekstur dalaman yang padat. Akarnya mempunyai rasa yang sangat pahit. (Jaganath and Ng, 2000).

1.1.4.2 Khasiat-khasiat Tongkat Ali

Antara khasiat-khasiat Tongkat Ali adalah sebagai agen antimalaria (Chan *et al.*, 1986), antiulser, ubat meroyan (Burkill and Hanif, 1930), antipiretik, sebagai tonik untuk menguatkan badan, penawar sakit pinggang dan gusi berdarah, menambah selera makan serta meningkatkan prestasi pencernaan. Selain daripada itu, Tongkat Ali juga terkenal dengan aktiviti afrodisiak dalam kajian awal menggunakan haiwan (Ang *et al.*, 1997).

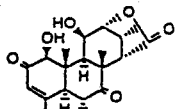
1.1.4.3 Kandungan kimia Tongkat Ali

Tongkat Ali dalam bentuk serbuk adalah berwarna putih kuning, berbau dan mempunyai rasa pahit yang disebabkan oleh satu siri kuasinoid iaitu eurikomalakton, 6 α -hidroksieurikomalakton, 6-hidroksi-5,6-dehidroeurikomalakton, 5,6-dehidroeurikomalakton, 14,15 β -dehidroksiklaineanon, 11-dehidroklaineanon, longilakton, eurikomanon, eurikomanol, eurikommanol-2-O- β -D-glukopiranosida, 13 β ,18-dehidroeurikomanon, 13,18 β -dihidroeurikomanol dan eurilakton (rajah 1.2). Kuasinoid-kuasinoid ini telah dikaji untuk aktiviti antimalaria *Plasmodium falciparum* (isolat K-1 dari Thailand) yang rintang terhadap klorokuina dan kuinina. Beberapa kuasinoid didapati mempunyai aktiviti yang lebih baik berbanding klorokuina (Chan, 1998). Kuasinoid, skualena terbitan tirukalana dan bifenilneolignan didapati sitotoksik terhadap sel kanser (Kardono *et al.*, 1991) selain mempunyai kesan antipiretik dan antiulser (Chan, 1998). Konstituen lain yang terdapat dalam Tongkat Ali adalah eter triterpena jenis skualena, bifenilneolignan, terpena jenis tirukalana, alkaloid kantin-6-on dan β -karbolina, (rajah 1.1).

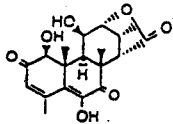


Rajah 1.1: Konstituen-konstituen *Eurycoma longifolia* dan lintasan biosintetiknya

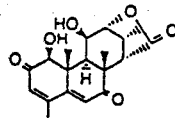
(Chan, 1998)



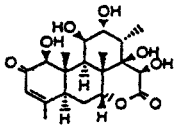
R = H, eurykomalakton
R = OH, 6 α -hidroksieurykomalakton



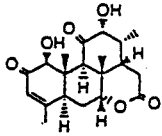
6-hidroksi-5,6-dehidroeurikomalakton



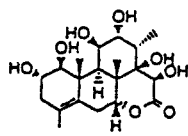
5,6-dehidroeurikomalakton
hasil: 2 mg/4,5 kg batang



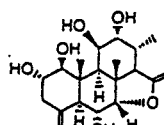
14,15 β -dihidroksiklineanon



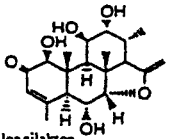
11-dehidroklineanon
hasil: 12 mg/4,5 kg batang



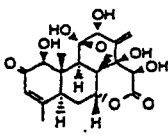
hasil: 0.036 % daripada ekstrak n-BuOH



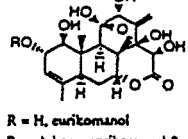
hasil: 0.44 % daripada ekstrak n-BuOH



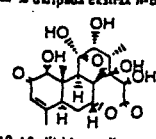
longilakton
hasil: 18 mg/4,5 kg batang



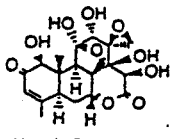
eurikomanon



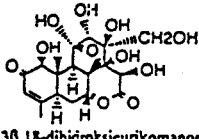
R = H, eurykomanol
R = glukosa, eurykomanol-2-O- β -D-glukopiranosida



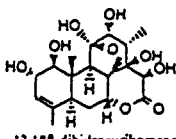
13 β ,18-dihidroeurikomanon
[pasakbumin-C]



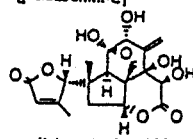
pasakbumin-B, hasil: 0.03%



13 β ,18-dihidroksieurykomanon
[pasakbumin-D]



13,18 β -dihidroeurikomanol



eurilakton, hasil: 0.035 %
daripada ekstrak n-BuOH

Rajah 1.2: Struktur-struktur kuasinoid daripada *Eurycoma longifolia*

(Chan, 1998)

1.1.4.4 Tongkat Ali di pasaran

Produk herba yang mengandungi Tongkat Ali di pasaran wujud secara tunggal ataupun campuran dengan berbagai herba lain. Kebanyakan produk-produk ini dihasilkan di Malaysia dan ada juga yang diimport dari Indonesia seperti Madu Pasak Bumi dan Pasagin. Antara produk hasil tempatan yang terkenal adalah seperti Euryco, Tongkat Ali Orang Kampung dan Eurycoma longifolia (BZ), Jamu Kapsul Super Tenaga dan lain-lain (*rujuk lampiran A*). Produk herba Tongkat Ali ini boleh didapati di farmasi ataupun di kedai ubat tradisional. Kebanyakan produk telah didaftarkan oleh Bahagian Farmasi Kementerian Kesihatan Malaysia. Namun begitu, masih banyak lagi produk herba yang mengandungi Tongkat Ali yang tidak berdaftar berada di pasaran. Penggunaan produk yang tidak berdaftar ini boleh mendatangkan bahaya kepada pengguna kerana kandungan bahan aktifnya tidak dipiawaikan. Tambahan pula keselamatan, kualiti dan efikasinya tidak terjamin kerana tidak melalui ujian mikrob, ujian kekerasan tablet dan ujian logam berat.

1.2 Langkah-langkah dalam kitaran drug

Drug yang masuk ke dalam badan akan melalui beberapa proses iaitu penyerapan, penyebaran, metabolisme dan penyingkiran. Penyerapan adalah proses pergerakan drug dari tapak pengambilan ke dalam aliran darah melalui tisu. Penyerapan bergantung kepada cara drug diambil. Drug yang khas untuk kegunaan luar biasanya tidak diserap dan tindakan terapeutiknya dilihat di tempat ia digunakan sahaja. Drug yang diambil secara oral seperti tablet, kapsul dan cecair akan dilarutkan oleh cecair badan (air liur, jus gastrik dan cecair tisu) sebelum diserap ke dalam aliran darah. Kehadiran makanan boleh mempengaruhi kadar serapan. Drug yang diambil secara sedutan akan diserap ke dalam mukus membran, ke alveoli dan terus ke kapilari. Drug

yang diambil secara suntikan intradermal, subkutan dan intraotot akan diserap dari tisu badan terus ke kapilari darah manakala drug yang diambil secara suntikan intravena tidak melalui proses penyerapan kerana pengambilannya terus ke dalam aliran darah (Susan, 1999).

Penyebaran adalah proses pergerakan drug ke tapak sasaran melalui sistem peredaran darah. Di tapak sasaran, drug akan berinteraksi dengan reseptor dan menghasilkan kesan. Satu kawasan yang sukar ditembusi oleh drug ialah sistem saraf pusat. Tisu-tisu otak dilindungi oleh satu sistem yang dipanggil 'penghalang darah otak'. Drug seperti morfin dan antihistamin boleh menembusi 'penghalang darah otak' ini dan menghasilkan kesan seperti euforia dan rasa mengantuk. Metabolisme adalah proses penukaran drug ke bentuk yang akan mendatangkan kesan terapeutik ataupun ke bentuk yang boleh disingkirkan dari badan. Proses metabolisme ini akan dibincangkan dengan lebih lanjut di bahagian 1.2.1.

Proses penyingkiran drug adalah penting untuk mengeluarkan drug atau metabolit tak aktif ataupun drug aktif yang tidak dimetabolismekan. Organ yang terlibat dalam proses penyingkiran drug adalah ginjal dan paru-paru (Susan, 1999).

1.2.1 Metabolisme drug

Metabolisme drug juga dikenali sebagai biotransformasi kerana drug akan ditukarkan dari bentuk asal yang aktif ke bentuk yang kurang atau tidak aktif. Proses biotransformasi ini diperantarakan oleh enzim yang terdapat di dalam retikulum endoplasmik sel hati, ginjal, paru-paru dan usus kecil. Metabolisme drug terbahagi kepada dua fasa, iaitu fasa I (tindakbalas pemfungsian) dan fasa II (tindakbalas konjugatif). Fasa I adalah peringkat penyediaan molekul drug untuk tindakbalas fasa II iaitu semasa fasa I, kumpulan berfungsi akan dihasilkan pada molekul drug yang akan berperanan sebagai tapak konjugasi enzim pada fasa II. Fasa II merupakan laluan

detoksifikasi drug yang sebenar di mana hasil produk akhir adalah sebatian tidak toksik yang boleh disingkirkan melalui ginjal atau hempedu.

1.2.2 Metabolisme fasa I

Metabolisme fasa I melibatkan proses-proses seperti **pengoksidaan, penurunan, hidrolisis, hidrasi** dan lain-lain. Proses pengoksidaan terbahagi kepada dua iaitu yang melibatkan sistem oksidase pelbagai fungsi (MFOS) yang juga dikenali sebagai sitokrom P450 (CYP) dan proses pengoksidaan yang tidak melibatkan MFOS (Gibson and Skett, 1986).

Jadual 1.1: Jenis-jenis tindakbalas yang dimungkinkan oleh MFOS

Tindakbalas	Substrat
Hidroksilasi aromatik	Lignokain
Hidroksilasi alifatik	Pentobarbiton
N-dealkilasi	Diazepam
O-dealkilasi	Kodein
S-dealkilasi	6-metiltiopurin

(Gibson and Skett, 1986)

Kesemua tindakbalas tersebut memerlukan kehadiran oksigen dan NADPH. Tindakbalas dimulakan dengan kemasukan atom oksigen ke dalam molekul drug menghasilkan metabolit terhidroksi serta molekul air. Proses pengoksidaan yang tidak melibatkan CYP pula melibatkan enzim seperti alkohol dehidrogenase yang memangkinkan pengoksidaan alkohol; aldehyd dehidrogenase memangkinkan pengoksidaan aldehyd; xantin oksidase memetabolismekan drug yang mengandungi xantin (kafein, teofilin dan teobromin) dan aromatase yang memetabolismekan xenobiotik yang mengandungi asid sikloheksena karboksilik kepada asid benzoik (Gibson and Skett, 1986).

Tindakbalas **penurunan** hepatic memerlukan NADPH tetapi direncat dengan kehadiran oksigen, bertentangan dengan pengoksidaan MFOS yang memerlukan

oksigen. Antara bahan-bahan yang melalui tindakbalas penurunan hepatic adalah seperti sebatian-azo, sebatian-nitro, epoksida, sebatian gelang heterosiklik dan hidrokarbon berhalogen. Tindakbalas **hidrolisis** melibatkan sebatian-sebatian seperti ester, amida, hidrazida dan karbamat. Ia memerlukan penambahan molekul air yang akan menyebabkan sebatian terasosiasi di akhir tindakbalas. Tindakbalas **hidrasi** pula melibatkan sebatian epoksida yang dimangkinkan oleh epoksida hidratase menghasilkan dihidrodiol. Tindakbalas ini berbeza daripada hidrolisis di mana penambahan molekul air tidak akan menyebabkan sebatian terasosiasi. Dalam kebanyakan tindakbalas fasa I, produk akhir akan mengandungi kumpulan berfungsi seperti $-OH$, $-NH_2$, $-SH$ dan $-COOH$ yang akan ditindakkan oleh enzim-enzim dalam fasa II (Gibson and Skett, 1986).

1.2.3 Metabolisme fasa II

Metabolisme fasa II merupakan proses konjugasi yang melibatkan berbagai kumpulan enzim yang akan menghasilkan produk larut air yang boleh disingkirkan melalui urin atau hempedu. Dengan kata lain, metabolisme fasa II sebenarnya adalah proses penyediaan drug untuk penyingkiran. Laluan utama dalam proses konjugasi adalah glukuronidasi (konjugasi dengan asid α -D-glukuronik). Glukuronidasi merupakan proses konjugasi utama kerana terdapat banyak kofaktor untuk proses ini iaitu asid UDP-glukuronik yang banyak terdapat di sitoplasma kebanyakan sel di dalam badan. Selain glukuronidasi, terdapat juga tindakbalas-tindakbalas konjugasi lain yang berlaku dalam fasa II yang melibatkan enzim serta kumpulan-kumpulan berfungsi yang tertentu (Jadual 1.2) (Gibson and Skett, 1986).

Jadual 1.2: Jenis-jenis tindakbalas konjugasi

Tindakbalas	Enzim	Kumpulan berfungsi
Glukuronidasi	UDP-glukuroniltransferase	-OH, -COOH, -NH ₂ , -SH
Glikosidasi	UDP-glikosiltransferase	-OH, -COOH, -SH
Metilasi	Metiltransferase	-OH, -NH ₂
Asetilasi	Asetiltransferase	-NH ₂ , SO ₂ NH ₂ , -OH,
Konjugasi glutation	Glutation-S-transferase	Epoksida, halida organik

(Gibson and Skett, 1986)

1.2.4 Sitokrom P450 (CYP)

Sitokrom P450 (CYP) ialah sistem enzim yang terlibat dalam metabolisme pengoksidaan drug, karsinogen kimia, mutagen dan lain-lain xenobiotik yang masuk ke dalam badan. Enzim ini juga terlibat dalam metabolisme sebatian endogenus seperti steroid, asid lemak, prostaglandin, leukotrien dan amin biogenik. Enzim ini dikenali sebagai sistem oksidase pelbagai fungsi (MFOS), terdapat pada retikulum endoplasmik sel hati (paling banyak), ginjal, paru-paru, otak dan usus kecil. Tindakbalas MFOS adalah seperti berikut:



RH mewakili drug, ROH mewakili metabolit teroksida dan keseluruhan tindakbalas dimungkinkan oleh CYP. Semasa tindakbalas MFOS, satu atom dari molekul oksigen bergabung dengan substrat, RH membentuk metabolit terhidroksi, ROH manakala satu lagi atom oksigen diturunkan kepada air, H₂O (Gibson and Skett, 1986).

CYP merupakan komponen oksidase penghujung dalam sistem pengangkutan elektron yang bertanggungjawab terhadap tindakbalas pengoksidaan drug. Ia dikelaskan sebagai hemeprotein (protein yang mengandungi hem) dan mempunyai zat besi protoporfirin IX sebagai kumpulan prostetik. Kumpulan hem ini tidak terikat secara kovalen kepada apoprotein. Enzim ini mempunyai berat molekul lebih kurang 45000-55000 Dalton. Ia dinamakan sitokrom P450 kerana pigmen terturunnya

menunjukkan penyerapan cahaya ultraungu maksimum pada 450 nm selepas terikat kepada karbon monoksida (Gibson and Skett, 1986).

1.2.5 Tatanama CYP

CYP dipercayai wujud dalam pelbagai isoenzim. Dengan berkembangnya teknik biologi molekul, pengasingan dan penturutan gen cDNA yang mengkod isoenzim-isoenzim CYP dapat dilakukan dan melalui kaedah ini pengkelasan telah berjaya dilakukan. Pengkelasan ini adalah berdasarkan persamaan turutan gen yang hadir pada famili dan sub-famili CYP. Isoenzim dalam famili yang sama mesti mempunyai persamaan turutan gen yang lebih dari 40%. Famili gen ini akan seterusnya dibahagikan kepada sub-famili jika persamaan dalam turutan gen adalah 70% atau lebih. CYP terdiri dari 13 famili gen di mana dua adalah dari bakteria, dua dari yis, satu serangga dan lapan dari famili vertebrata, (Gonzalez., 1989). Famili 1 hingga 4 dikodkan untuk enzim yang terdapat dalam hati dan beberapa enzim yang berada di luar tisu hati. Famili selebihnya pula dikod untuk CYP yang terlibat dalam laluan biosintesis steroid di mana gen-gen ini terdapat dalam lokasi spesifik di luar tisu hati, (Gonzalez, 1989). CYP mitokondria yang menggunakan adrenodoksin dan adrenodoksin reduktase sebagai pembawa elektron termasuk dalam famili 11. Enzim ini dihasilkan dalam korteks adrenal dan juga terlibat dalam biosintesis steroid. Terdapat juga beberapa CYP yang telah dikenal pasti tetapi cDNA atau gennya belum diklon lagi. Antaranya adalah seperti kolesterol hidroksilase hepatic dan estrogen 2-hidroksilase dalam otak tikus, (Gonzalez, 1989).

Jadual 1.3: Superfamili gen sitokrom P450

Famili	Subfamili
P4501	P4501A1, P4501A2
P4502 – subfamili P4502A	P4502A1, P4502A2
– subfamili P4502B	P4502B1, P4502B2
– subfamili P4502C	P4502C1, P4502C2, P4502C3, P4502C4, P4502C5, P4502C6, P4502C7, P4502C8, P4502C9, P4502C10, P4502C11
– subfamili P4502D	P4502D1, P4502D2
– subfamili P4502E	P4502E1, P4502E2
P4503	P4503A1, P4503A2
P4504	P4504A1

(Gonzalez, 1989)

Jadual 1.4: Antara sitokrom P450 manusia yang telah dicirikan

Sitokrom P450	Peringkat pencirian	Tapak ekspresi
1A1	cDNA, gen	Tisu luar hati primer
1A2	Protein, cDNA, gen	Hati
2A6	Protein, cDNA	Hati
2B6	CDNA	Hati
2C8	Protein, cDNA	Hati
2C9	(protein) cDNA	Hati
2C10	(protein) cDNA	Hati
2C18	cDNA	Hati
2C19	cDNA	Hati
2D6	Protein, cDNA, gen	Hati
3A4	Protein, cDNA	Hati, beberapa tisu luar hati

(Guengerich, 1992)

CYP dalam manusia wujud dalam berbagai jenis atau isoenzim yang kebanyakannya telah diasingkan dari berbagai tisu. Hingga kini, lebih kurang 31 isoenzim CYP manusia telah diketahui (Guengerich, 1992). Setiap isoenzim memetabolismekan substrat yang berbeza. Terdapat juga isoenzim yang memetabolismekan lebih daripada satu substrat dan juga substrat yang dimetabolismekan oleh lebih daripada satu isoenzim.

Jadual 1.5: Contoh-contoh sitokrom P450 dan substrat

Isoenzim CYP	Substrat
1A1	Hidrokarbon polisiklik
1A2	Arilamin, fenacetin, arilamida
2A6	Koumarin, 7-etoksikoumarin
2C8, 9, 10	Tolbutamid, heksobarbital
2C18	Mefenitoin
2D6	Debrisoquin
2E1	Etanol, N-nitrosodialkilamin
3A3, 4, 5, 7	Dihidropiridin, beberapa steroids, siklosporin,
11A1	Kolesterol

(Guengerich, 1992)

1.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi metabolisme drug

Paras enzim metabolisme drug dipengaruhi oleh beberapa faktor, sama ada faktor dalaman seperti umur, latarbelakang genetik, penyakit dan jantina mahupun faktor luaran seperti pemakanan dan pendedahan kepada persekitaran seperti bahan kimia (Shapiro, 1995).

1.3.1 Faktor dalaman

1.3.1.1 Umur

Banyak kajian telah menunjukkan bahawa metabolisme drug dalam hati merosot dengan pertambahan umur. Kato *et al.* (1964) melaporkan bahawa keupayaan metabolisme drug berkurang dengan bertambahnya umur. Dalam kajiannya, beliau mendapati tikus yang baru lahir mempunyai keupayaan metabolisme drug yang sangat rendah. Keupayaan maksimum dilihat pada tikus berumur 30 hari dan menurun secara perlahan-lahan dengan meningkatnya umur. Tikus berumur 150 hari pula mempunyai keupayaan memetabolisme drug 50% kurang dari tikus 30 hari. Reidernberg (1980) menyatakan bahawa kadar metabolisme drug pada tikus tua adalah separuh atau dua

pertiga berbanding tikus dewasa. Walau bagaimanapun, pendapat ini masih kabur kerana perbezaan interindividu dalam populasi tua adalah tinggi serta tiada bukti yang menyokong.

O'Malley *et al.* (1971) dalam kajian mereka yang menggunakan antipirin pada sekumpulan subjek berumur antara 25-80 tahun, melaporkan peningkatan pada setengah hayat plasma antipirin sebanyak 30% pada subjek tua. Oleh kerana antipirin melalui biotransformasi di dalam hati, mereka telah mencadangkan bahawa metabolisme antipirin di dalam hati adalah dipengaruhi oleh umur. Penurunan keupayaan untuk memetabolisme drug pada tikus tua ini mungkin disebabkan oleh kemerosotan kandungan MFOS di dalam hati tikus (Kamataki *et al.*, 1985). Greenblatt *et al.* (1982) menyatakan penurunan metabolisme drug hepatic pada usia tua adalah disebabkan oleh pengurangan aliran darah dan isipadu hati. Penurunan sebanyak 40% aliran darah dan isipadu hati ini menyebabkan penurunan metabolisme drug yang mempunyai ciri-ciri pergantungan kepada aliran darah hati. Ada juga penyelidik yang berpendapat bahawa perubahan aktiviti MFOS di usia tua adalah disebabkan oleh faktor luaran hati seperti pengaruh hormon steroid. Rikans and Notley (1982) menyatakan bahawa perubahan aktiviti MFOS diusia tua mungkin disebabkan oleh kehilangan retikulum endoplasmik licin (SER) pada membran yang menjadi lokasi utama MFOS. Dalam kajian, mereka mendapati berlaku penurunan sebanyak 45% dalam kandungan SER pada tikus tua berbanding tikus dewasa. Pengurangan SER akan mengurangkan kuantiti MFOS dan akan mengurangkan aktivitinya.

Ada penyelidik yang melaporkan bahawa perubahan aktiviti MFOS di usia tua adalah akibat modifikasi *post-translasi* yang menyebabkan pengurangan sintesis protein. Dillela *et al.* (1981) melaporkan pengurangan *translatable* mRNA yang mengkod protein LM₂ pada hati amab sebelum dan selepas pengaruhan pentobarbiton. Bitar and

Weiner (1983) pula melaporkan penurunan aktiviti asid γ -aminolevulinik sintase selari dengan peningkatan aktiviti hem oksigenase dalam hati tikus tua. Penurunan sintesis dan peningkatan katabolisme hem ini menyebabkan pengurangan 30% kandungan hem mikrosom dan menjejaskan aktiviti MFOS.

Perubahan aktiviti MFOS pada usia tua juga bergantung kepada substrat (Rikans and Notley, 1982). Mereka mendapati bahawa CYP daripada tikus tua tidak berupaya dalam metabolisme benzfetamin dan anilin tetapi berupaya dalam metabolisme nitroanisol. Pemerhatian ini disokong oleh McMartin *et al.* (1980) yang berpendapat bahawa penuaan mempengaruhi CYP individu dalam cara yang berlainan. Rikans and Notley (1982) berpendapat bahawa kespesifikan substrat ini mungkin dipengaruhi oleh kandungan fosfolipid di dalam hati. CYP yang berlainan mungkin memerlukan jumlah fosfolipid yang berbeza untuk aktiviti yang maksimum. Dalam kajian yang menggunakan tikus Fisher, Rikans and Notley (1982) mendapati bahawa tikus tua mempunyai peratus asid lemak rantai panjang (18 karbon atau lebih) yang tinggi serta nisbah asid lemak tepu kepada asid lemak tak tepu yang tinggi berbanding tikus dewasa. Perbezaan ini menyebabkan perubahan kebendaliran membran yang memberi kesan kepada enzim yang terikat pada membran seperti CYP reduktase dan juga CYP di dalam MFOS. Perubahan kebendaliran ini akan mengubah pergerakan dan interaksi jujuk-jujuk MFOS di dalam domain lipid yang akan menyebabkan efikasinya berkurang. James *et al.* (1981) melaporkan CYP disebarkan pada lokasi yang berbeza di dalam lobus hati, iaitu CYP tertentu terdapat pada lokasi yang tertentu. Penuaan menyebabkan kemerosotan sesetengah kawasan hati yang akan menyebabkan fungsi CYP di bahagian ini terjejas. Dengan ini, kespesifikan substrat di usia tua juga dipengaruhi oleh kehilangan fungsi sesetengah bahagian hati akibat penuaan.