



LAPORAN PENELITIAN
ILMU PENGETAHUAN DASAR
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS DALAM SISTEM MOLEKULER DAN SELULER SARI AIR RIMPANG TANAMAN OBAT ZINGIBERACEAE



Peneliti :

Dr. WAHJO DYATMIKO, Apt.
Dr. MULJA HADI SANTOSA, Apt.
Drs. ACHMAD FUAD HAFID, M.S., Apt.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar
DIP Nomor : 015 /XXIII/4/--/1999 Tanggal 1 April 1999
Kontrak Nomor : 019/P2IPD/DPPM/VI/1999
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud
Nomor Urut : 4

PUSAT PENELITIAN OBAT TRADISIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Januari, 2000

3000 142 00 3141

IR- Perpustakaan Universitas Airlangga



1. FREE RADICALS.

2. PLANTS, MEDICINAL

IR- Perpustakaan Universitas Airlangga

KKB

KK-2B

541.224

Dya

a-2.



LAPORAN PENELITIAN
ILMU PENGETAHUAN DASAR
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS DALAM SISTEM MOLEKULER DAN SELULER SARI AIR RIMPANG TANAMAN OBAT ZINGIBERACEAE



014200141

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Peneliti :

Dr. WAHJO DYATMIKO, Apt.
Dr. MULJA HADI SANTOSA, Apt.
Drs. ACHMAD FUAD HAFID, M.S., Apt.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar
DIP Nomor : 015 /XXIII/4/-/1999 Tanggal 1 April 1999
Kontrak Nomor : 019/P2IPD/DPPM/VI/1999
Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud
Nomor Urut : 4

3000 142 00 3141

PUSAT PENELITIAN OBAT TRADISIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Januari, 2000



UNIVERSITAS AIRLANGGA LEMBAGA PENELITIAN

Kampus C : Jl. Mulyorejo - Telp.(031) 5995246 - 48, Fax.(031) 5995246 Surabaya 60115

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN DASAR

1. a. Judul Penelitian : Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Dalam Sistem Molekuler dan Seluler Sari Air Rimpang Tanaman Obat Zingiberaceae
- b. Kategori Penelitian : I/II/III *
2. Kepala Proyek Penelitian
 - a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Wahjo Dyatmiko, Apt.
 - b. Jenis Kelamin : Laki-laki
 - c. Pangkat/Gol. Dan NIP. : Lektor/IV-a ; 130 541 815
 - d. Jabatan Fungsional : Staf Pengajar
 - e. Fakultas/Jurusan : Fakultas Farmasi
 - f. Universitas : Universitas Airlangga
 - g. Bidang Ilmu yang diteliti : Bioaktivitas Bahan Alam
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 (tiga) orang
4. Lokasi Penelitian : Universitas Airlangga
5. Bila Penelitian ini merupakan kerjasama Kelembagaan sebutkan :
 - a. Nama Instansi : ----
 - b. Alamat : ----
6. Jangka waktu Penelitian : 5 (lima) bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 13.000.000,- (tigabelas juta rupiah)

Surabaya, 15 Pebruari 2000

Mengetahui :
Kapuslit Obat Tradisional

Dr.Wahjo Dyatmiko, Apt.
NIP. 130 541 815

Ketua Peneliti

Dr.Wahjo Dyatmiko, Apt.
NIP. 130 541 815

Menyetujui :
Ketua Lembaga Penelitian UNAIR,



Pro.Dr. Noor Cholies Zaini †
NIP. 130 355 372

RINGKASAN

AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS DALAM SISTEM MOLEKULER DAN SELULER SARI AIR RIMPANG TANAMAN OBAT ZINGIBERACEAE

Wahjo Dyatmiko, Mulja Hadi Santosa, Achmad Fuad Hafid

Pebruari 2000, 58 halaman

Radikal bebas sebagai molekul antara (intermediate) dalam jumlah berlebihan di dalam tubuh sangat berbahaya, reaktif pada makromolekul sel terutama jika mekanisme pertahanan tubuh menurun, yang akhirnya erat sekali dengan patogeneis banyak penyakit. Mekanisme penangkapan radikal bebas dapat menjadi bioaktivitas obat atau obat tradisional yang selama ini belum banyak terungkap. Untuk itu penelitian dasar terhadap mekanisme kerja sari tanaman obat familia *Zingiberaceae* (*Curcuma* spp. dan *Zingiber* spp.), terpilih untuk diteliti karena rimpangnya banyak digunakan oleh masyarakat sebagai jamu untuk menjaga kesehatan, terapi inflamasi dan lain-lain.

Penelitian dasar ini dilakukan perihal aktivitas penangkapan radikal bebas pada tingkat molekuler dan seluler, dengan permasalahan apakah sari air rimpang tanaman obat familia *Zingiberaceae* mempunyai bioaktivitas penangkap radikal bebas, yaitu apakah mempunyai (i) aktivitas antiradikal bebas DPPH serta (ii) bioaktivitas anti-peroksida-lipid dalam sistem homogenat hepar tikus dan (iii) dalam sistem kultur hepatosit tikus, menggunakan zat pencetus radikal bebas hidroksi, tersier butil hidroperoksid (t-BHP) dengan parameter derajat terbentuknya MDA dengan pereaksi "thiobarbituric acid" secara spektrofotometri fluoresensi (TBARS), Untuk rimpang *Curcuma* spp. diuji dalam bentuk perasan dan infus rimpang segar, sedangkan untuk *Zingiberaceae* diuji dalam bentuk minyak atisiri dan ekstrak metanolnya.

Semua perasan dan infus rimpang *Curcuma* spp (Temulawak, Kunyit, Temuireng dan Temugiring) yang diuji mempunyai aktivitas antiradikal DPPH, dan yang paling poten adalah perasan kunyit (1000-2000 ppm). Semua ekstrak metanol rimpang *Zingiber* spp. (Jahe, Bengle, Lempuyang pahit-wangi-gajah)

mempunyai aktivitas lebih besar dari minyak atsirinya (aktivitas kecil) dan aktivitas paling poten adalah pada jahe (62,67 – 150,40 ppm)

Semua perasan dan infus *Curcuma* spp. mempunyai bioaktivitas antiperoksidalipid pada sistem homogenat hepar, dan yang paling paling poten adalah Temulawak (infus dan perasan). Ekstrak metanol dan minyak atsiri Jahe dan Lempuyang (pahit, wangi, gajah) mempunyai aktivitas antiperoksidalipid potensial, sedangkan bengle relatif lebih kecil

Curcuma spp. mempunyai bioaktivitas antiperoksidalipid sistem kultur hepatosit pada konsentrasi tinggi (lebih dari 100.000 ppm), kecuali perasan Kunyit (50.000-100.000 ppm) *Curcuma* spp. mempunyai bioaktivitas antiperoksidalipid pada pada konsentrasi tinggi (lebih dari 100.000 ppm), kecuali perasan Kunyit (50.000-100.000 ppm)

Pada *Curcuma* spp., bentuk sari air panas (infus) \geq aktivitasnya dari sari dingin (perasan) sedangkan pada *Zingiber* spp., bentuk ekstrak metanol \geq dari minyak atsirinya. Konsentrasi aktif bahan uji pada DPPH < Homogenat, dan khusus pada *Curcuma* spp. konsentrasi aktif pada Homogenat \leq Hepatosit.

Pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada 3 menit dan 60 menit dapat memprediksi apakah aktivitas besar dan spontan atau lambat namun meningkat. Perlu dilanjutkan untuk mengetahui kinetika kecepatan aktivitas sebagai parameter pelengkap. Konsentrasi aktif bahan uji pada DPPH < Homogenat < Hepatosit.

Diharapkan hasil penelitian dapat memberikan landasan iptek dasar bioaktivitas tanaman obat familia *Zingiberaceae* sebagai penangkap radikal bebas beserta prospek fitofarmasinya, sehingga penelitian dan pengembangan selanjutnya dari aspek formulasi dan validasi keamanan dan bioaktivitas dapat dilanjutkan dengan lebih terarah orientasi produk obat jadi yang disertai informasi landasan ilmiah kemanfaatannya kepada masyarakat.

Pusat Penelitian Obat Tradisional – Lembaga Penelitian Universitas Airlangga

Kontrak nomor : 19/P2IPD/DPPM/VI/1999

Ditbinlitabmas – Ditjen Dikti

SUMMARY

AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS DALAM SISTEM MOLEKULER DAN SELULER SARI AIR RIMPANG TANAMAN OBAT ZINGIBERACEAE

FREE RADICAL SCAVENGER ACTIVITY ON MOLECULAR AND CELLULAR SYSTEM OF AQUEOUS EXTRACT OF ZINGIBERACEAE MEDICINAL PLANTS

Wahjo Dyatmiko, Mulja Hadi Santosa, Achmad Fuad Hafid

Pebruari 2000, 58 pages

As an intermediate molecule, free radical in abundant amount is very dangerous, it is reactive to cell macromolecules especially if the defense mechanism of the body is low and hence closely related to pathogenesis of some diseases. Free radicals scavenger mechanism could be the bioactivity of drug or traditional medicines that are not adequately revealed yet. For that reason, the basic study on the mechanism of juice of some traditional medicines from *Zingiberaceae* family (*Curcuma* spp. and *Zingiber* spp.) were chosen to be studied because their rhizomes are widely used by citizens as "jamu" to promote their health, as therapeutical agent to cure inflammation and other.

This research studied the free radicals scavenger activity on the molecular and cellular levels, to revealed whether aqueous juice of rhizomes of plants from *Zingiberaceae* family possess the free radicals scavenger bioactivity, namely : (i). Anti-DPPH free radical activity, (ii) lipid antiperoxide bioactivity by using rat's liver homogenate system, and (iii) in rat's hepatocyt culture system by using hydroxy-free-radicals initiation agent – tertiary butylhydroperoxyde (t-BHP) with the degree of MDA formation by "thiobarbituric acid" reagent as the parameter using flourescence spectrophotometry (TBARS). The *Curcuma's* rhizome were examined as the juice form whilst for rhizome of *Zingiberaceae* plants were determined in the form of its volatile oil and methanolic extract.

Both the juice and infusion of all *Curcuma* spp. rhizomes (Temulawak, Kunyit, Temuireng and Temugiring) examined showed the DPPH anti-free radicals activity and the most potent was the juice of tumeric (1000-2000 ppm). Methanolic extract of the rhizomes of all *Zingiber* spp. (Ginger, Bengle, Lempuyang Pahit,

Lempuyang Wangi and Lempuyang Gajah) showed higher activity than their volatile oil and the potent activity showed by ginger (62.67-150.40 ppm).

All of the juice and infusum of *Curcuma* spp. possess lipid antiperoxide bioactivity on liver homogenate system and the most potent was Temulawak (both juice and infusion). Methanolic extract and volatile oil of Ginger and Lempuyang (all species studied) possess potential lipid antiperoxide activity whilst Bengle showed less activity.

Curcuma spp. possesses lipid antiperoxide bioactivity on hepatocyte culture system only on higher concentration (> 100,000 ppm), except Tumeric juice (50,000-100,000 ppm). *Curcuma* spp. possess lipid antiperoxide bioactivity on high concentration (> 100,000 ppm) except the juice of Tumeric on 50,000 – 100,000 ppm.

Activity of the infusion of *Curcuma* spp. was higher than the juice whilst on *Zingiberaceae* plants its methanolic extracts showed higher activity than its volatile oil. Active concentration of material tested on DPPH was lesser than in homogenate system, and special case found on *Curcuma* spp. where active concentration on homogenate system was lesser than in hepatocyte.

DPPH anti free-radical measurement on 3 and 60 minutes could predict whether the activity was high and spontaneous or slow but continuously increased. This study should be continued to discover the kinetic of rate of activity as supplement parameters. Active concentration of testing material on DPPH < Homogenate < Hepatocyte systems.

These results is expected to build scientific base of the bioactivity of *Zingiberaceae* medicinal plants as the free radical scavenger including its phytopharmaceutical prospects, hence the subsequent researches and developments from its formulation, safety and bioactivity can be conducted with more final product orientation completed with scientific-base information on its beneficiary to the citizens.

Center Research of Traditional Medicine – Research Institute of Airlangga University

Contract no. : 19/P2IPD/DPPM/VI/1999

Ditbinlitabmas – Ditjen Dikti

KATA PENGANTAR

Kami tim peneliti mengucapkan syukur Alhamdulillah kepada Tuhan Yang Maha Esa karena kami telah berhasil menyelesaikan proyek penelitian ini. Tanpa ijin Allah subhanallah wa ta'ala, tidak mungkin kami dapat memperoleh sedikit tambahan ilmu dan pengetahuan yang bermanfaat dalam penelitian ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada pihak yang telah memberikan, menyalurkan dan ikut mengurus dana keuangan penelitian, sehingga uang dapat sampai kepada kami semuanya. Dengan dana ini kami berhasil satu langkah lagi dalam rangkaian usaha pengembangan metoda alternatip untuk percobaan hewan dari tingkat molekuler sampai seluler, yang kali ini untuk aplikasi uji bioaktivitas penangkapan radikal bebas tanaman obat Indonesia, khususnya rimpang tanaman *Zingiberaceae*.

Terima kasih pula kami sampaikan pada sejawat di Kebun Raya Purwodadi yang telah ikut memberikan bantuan bahan tanaman kepada kami. Demikian pula kepada sejawat di Laboratorium Perhewan ITB, yang menyediakan hewan percobaan. Kepada para mahasiswa skripsi (Huda, Idha, Kholis, Wawan, Habib, Arin, Arie, Harimurti, Ardiani, Muktapa, Wahyudi) di laboratorium Fitokimia kami sampaikan pula terima kasih sebesar-besarnya atas bantuannya ikut menyelesaikan penelitian ini dalam kerangka penerapan paradigma "research based education" di Jurusan Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Penelitian ini masih akan berlanjut, kami senantiasa bersedia berkomunikasi dengan para sejawat yang sebidang ilmu ataupun kami bersedia menerima kritik dan saran demi berlanjutnya program penelitian di Puslit Obat Tradisional umumnya, khususnya bidang percobaan alternatip untuk percobaan hewan, yaitu bioaktivitas tingkat seluler-molekuler khususnya.

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

BAB	ISI	HALAMAN
	RINGKASAN	i
	SUMMARY	iii
	KATA PENGANTAR	v
	DAFTAR ISI	vi
	DAFTAR GAMBAR	vii
	DAFTAR TABEL	ix
I	PENDAHULUAN	1
II	TINJAUAN PUSTAKA	
	2.1. Radikal bebas	5
	2.2. "Antioxidants and Free radicals scavenger"	15
	2.3. Prospek pemanfaatan rimpang tanaman <i>Zingiberaceae</i>	17
	2.4. Rancangan percobaan antiradikal bebas	19
III	TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	22
IV	METODE PENELITIAN	
	4.1 Bahan penelitian	24
	4.2 Peralatan penelitian	25
	4.3 Penyediaan bahan uji dan rancangan uji bioaktivitas	25
	4.4 Prosedur percobaan	
	4.4.1 Uji bioaktivitas antiradikal bebas DPPH	26
	4.4.2 Uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada sistem homogenat hepar tikus	28
	4.4.3 Uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada sistem kultur hepatosit tikus	29
V	HASIL DAN PEMBAHASAN	
	5.1. Hasil uji bioaktivitas antiradikal DPPH	36
	5.2. Hasil uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus	44
	5.3. Hasil uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada kultur hepatosit tikus	
	5.4. Pembahasan integratif hasil uji bioaktivitas molekuler dan seluler	49
VI	KESIMPULAN DAN SARAN	
	6.1 Kesimpulan	56
	6.2 Saran	57
VII	DAFTAR PUSTAKA	58
	LAMPIRAN	
	1. DATA UJI DPPH DAN PENGOLAHAN STATISTIK	
	2. DATA UJI PADA HOMOGENAT HEPAR TIKUS DAN PENGOLAHAN STATISTIK	
	3. DATA UJI PADA KULTUR HEPATOSIT TIKUS DAN PENGOLAHAN STATISTIK	

DAFTAR GAMBAR

NO	GAMBAR	Hal
1.	Skema kerangka konseptual penelitian terhadap bahan rimpang tanaman Zingiberaceae terkait dengan antiradikal bebas, molekuler dengan uji-DPPH, sistem homogenat hepar dan kultur hepatosit tikus.	4
2.	Sifat radikal bebas dan beberapa contoh jenis radikal bebas yang umum dikenal dalam ilmu kimia dan biokimia	10
3.	Skema perbedaan mekanisme terbentuknya radikal bebas, secara fisika, kimia dan biologi.	11
4.	Bahaya radikal bebas pada sistem biologis, yaitu makromolekul sel, mekanisme kerusakan serta kaitannya dengan timbulnya penyakit.	12
5.	Mekanisme pertahanan (keseimbangan) dalam sistem biologis dengan terbentuknya radikal bebas	13
6.	Keseimbangan dalam sistem seluler (contoh: hepatosit) antara serangan metabolit reaktif dengan mekanisme pertahanan oleh internal/endogen dan oleh bahan eksternal/ antioksidan/ antiradikal-bebas/ inhibitor enzim	14
7.	Reaksi penangkapan radikal bebas oleh senyawa metabolit sekunder tanaman dan keterkaitannya dengan berbagai jenis reaksi antioksidasi (reduksi)	16
8.	Beberapa senyawa metabolit sekunder tanaman Zingiberaceae yang dari strukturnya dapat diperhitungkan dapat menangkap radikal bebas dengan reaksi donor hidrogen radikal atau akseptor radikal bebas.	18
9.	Prepektip rancangan percobaan antiradikal bebas mulai molekuler sampai tingkat in vivo (hewan percobaan)	20
10.	Skematik rancangan percobaan antiradikal DPPH secara spektrofotometri fluoresensi	32
11.	Skematik rancangan percobaan antiperoksidalipid pada sistem homogenat hepar tikus	33
12.	Skematik metoda pengukuran "TBARS" secara spektrofotometri fluoresensi	34
13.	Skematik rancangan percobaan antiperoksidalipid pada sistem kultur hepatosit tikus	35
14.	Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 3 menit dari sari rimpang (perasan dan infus) <i>Curcuma spp.</i>	38
15.	Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 60 menit dari sari rimpang (perasan dan infus) <i>Curcuma spp.</i>	39
16.	Presentasi perbandingan bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 3 dan 60 menit dari sari rimpang (perasan dan infus) <i>Curcuma spp.</i> (saji ulang Gambar-14 dan -15)	40

DAFTAR GAMBAR**(lanjutan)**

NO	GAMBAR	Hal
17.	Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 3 menit dari sari rimpang (minyak atsiri dan ekstrak metanol) Zingiber spp.	41
18.	Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 60 menit dari sari rimpang (minyak atsiri dan ekstrak metanol) Zingiber spp.	42
19.	Presentasi perbandingan bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 3 dan 60 menit dari sari rimpang (perasan dan infus) Curcuma spp. (saji ulang Gambar-14 dan -15)	43
20.	Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiperoksidalipid dengan pencetus BHP pada sistem homogenat hepar tikus dari sari rimpang (perasan dan infus) Curcuma spp.	46
21.	Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiperoksidalipid dengan pencetus BHP pada sistem homogenat hepar tikus dari sari rimpang (minyak atsiri dan ekstrak metanol) Zingiber spp.	47
22.	Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiperoksidalipid dengan pencetus BHP pada sistem kultur hepatosit tikus dari sari rimpang (perasan dan infus) Curcuma spp.	48
23.	Presentasi bargraf integratip hasil pengujian Curcuma spp	54
24.	Presentasi bargraf integratip hasil pengujian Zingiber spp	55

DAFTAR TABEL

NO	TABEL	Halaman
5(1)	Ringkasan hasil pengujian untuk melihat rentang konsentrasi aktiv antiradikal bebas pada sistem DPPH, Homogenat dan hepatosit untuk <i>Curcuma</i> spp.	49
5(2)	Ringkasan hasil pengujian untuk melihat rentang konsentrasi aktiv antiradikal bebas pada sistem DPPH, Homogenat dan hepatosit untuk <i>Zingiberacea</i> spp.	50
5(3)	Ringkasan hasil pengujian untuk melihat pengaruh bentuk sediaan terhadap aktivitas antiradikal bebas	51
5(4)	Ringkasan hasil pengujian untuk melihat pengaruh bentuk sediaan terhadap aktivitas antiradikal bebas	52
5(5)	Ringkasan hasil penelitian dikelompokkan sesuai aspek bahan uji dan aspek metoda uji.	53

BAB I

PENDAHULUAN

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau ion yang mempunyai konfigurasi elektron tak berpasangan, di alam dapat terbentuk melalui proses fisika atau kimia dan bahkan terbentuk secara normal dalam sistem biologis sebagai kondisi fisiologi, misalnya fungsi fagositosis, metabolisme asam arakidonat dan fungsi terkait faktor relaksasi endotelial (NO). Kondisi patologis dan toksisitas berkaitan dengan reaksi radikal bebas yang berimplikasi terhadap banyak penyakit [1].

Walaupun ada mekanisme antioksidan atau antiradikal bebas secara normal endogenik dalam tubuh, namun bidang penemuan obat dan bahan makanan-minuman untuk penangkal radikal bebas tetap berlanjut, termasuk dari sumber bahan alam terutama dari tanaman. Skrining zat aktif penangkap radikal bebas dapat menggunakan berbagai model pengujian mulai dari tingkat hewan coba sampai seluler-molekuler dan bahkan sampai dengan simulasi model reaksi kimia [2].

Penelitian dasar aktivitas penangkapan radikal bebas banyak terkait dengan landasan terapi kuratif berbagai penyakit dan landasan terapi preventif terhadap berbagai bahaya toksisitas dan proses penuaan [3-7]. Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat diuji melalui percobaan dari tingkat molekuler dan seluler sampai tingkat in vivo pada hewan coba.

Tahapan penelitian awal antiradikal (skrining) dapat dilakukan secara reaksi kimia atau molekuler dengan tersedianya senyawa radikal



bebas yang stabil, seperti Difenilpicrilhidrazil hidrat (DPPH). Peredaman warna ungu merah (puncak absorbansi pada 517 nm) dikaitkan dengan kemampuan sebagai antiradikal bebas (free radical scavanger). Metoda tersebut telah dibuktikan untuk skrining aktivitas bahan alam (ekstrak tanaman) [8-12] dan dapat dikaitkan dengan percobaan tingkat seluler dengan antihepatotoksik [13]. Metabolit sekunder tanaman yang umumnya dilaporkan mempunyai aktivitas antiradikalbebas adalah golongan polifenol (flavonoida, tanin) [14].

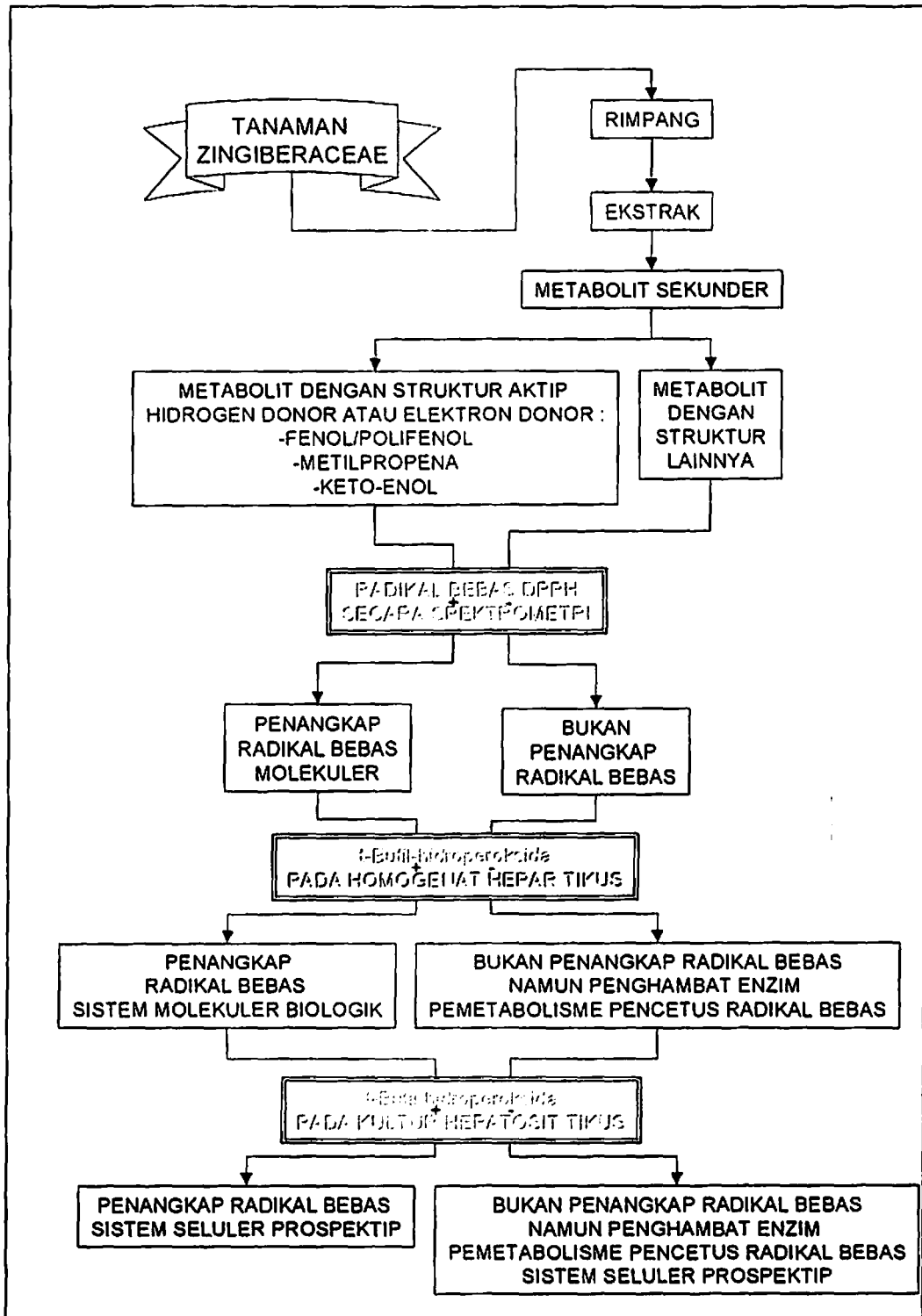
Percobaan tingkat subseluler, misalnya sistem uji homogenat hepar dapat dianggap sebagai awal penelitian tingkat biologis, sebelum tingkat seluler dengan kultur hepatosit [15-18]. Model homogenat hepar tikus dan kultur hepatosit tikus menggunakan zat pencetus radikal bebas hidroksi, yaitu *tersier butil hidroperoksid* (t-BHP). Aktivitas biologis (bioaktivitas) antiradikal bebas diperhitungkan sebagai peredaman terbentuknya MDA melalui rekasi dengan "thiobarbituric acid" yang diamati secara spektrofotometri fluoresensi. Kaitan antar aktivitas dalam berbagai tingkatan percobaan tersebut perlu juga dibahas untuk analisis prospek pengembangan bahan prospektip untuk percobaan tingkat in vivo dan seterusnya sampai percobaan pada manusia.

Berdasarkan latar belakang etnomedisin (obat tradisional) penggunaan rimpang tanaman obat familia Zingiberaceae oleh masyarakat dalam banyak formula jamu (obat Tradisional) yang terkait dengan khasiat menjaga kesehatan, menyembuhkan penyakit serta sebagai bahan minuman kesehatan [19] dan kandungan minyak atsiri [20], serta alasan

pentingnya mengungkap mekanisme kerja (bioaktivitas) kandungan zat berkhasiat didalamnya sampai tingkat seluler dan molekuler, maka dapat diajukan permasalahan penelitian sebagai kalimat tanya berikut ini :

Apakah sari rimpang tanaman obat familia Zingiberaceae mempunyai bioaktivitas penangkap radikal bebas dalam sistem molekuler dan seluler, yaitu aktivitas antiradikal bebas DPPH dan antiperoksida lipid dalam sistem homogenat hepar tikus serta sistem kultur hepatosit tikus dengan parameter derajat terbentuknya MDA dengan pereaksi "thiobarbituric acid" secara spektrofotometri fluoresensi (TBARS) ? Bagaimana aktivitas tersebut berbeda pada percobaan molekuler (DPPH dan homogenat) dan seluler (kultur hepatosit).

Aktivitas radikal bebas dengan berbagai metoda (tingkatan percobaan molekuler-seluler) merupakan dasar ilmiah bioaktivitasnya sebagai antiradikal bebas ataukah sebagai bahan aktif dengan mekanisme lain sehingga bersifat proteksi terhadap serangan bahan kimia/obat yang menyebabkan awal kerusakan sel atau mutasi onkogenik, lihat kerangka konseptual pada Gambar-1. Hasil penelitian juga dapat terkait dengan dukungan ilmiah landasan pemanfaatannya oleh masyarakat, yaitu untuk menjaga kesehatan dan terapi berberapa penyakit seperti inflamasi (radang). Dengan demikian penelitian dasar ilmiah sebagai penangkap radikal bebas secara molekuler dan seluler merupakan hal dasar penting untuk penelitian selanjutnya dalam penelitian dan pengembangan produk obat tradisional dari bahan rimpang Zingiberaceae.



Gambar-1 Skema kerangka konseptual penelitian terhadap bahan rimpang tanaman Zingiberaceae terkait dengan antiradikal bebas, molekuler dengan uji-DPPH, sistem homogenat hepar dan kultur hepatosit tikus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radikal bebas

2.1.1. Difinisi dan jenis radikal bebas

Difinisi umum radikal bebas adalah senyawa berupa molekul netral atau ion yang mempunyai elektron tak-berpasangan. Pada Gambar-2 secara skematik dapat diterangkan sifat fisika dan kimia radikal bebas beserta contoh-contohnya. Ringkasan informasi meliputi beberapa hal sebagai berikut [1] :

- (1) Reaksi radikal bebas : dua radikal bebas bersatu terbentuk ikatan molekul, radikal bebas mengikatkan diri pada molekul dengan ikatan alkena tetap membentuk radikal baru (adisi), radikal bebas menarik hidrogen (radikal) dari suatu molekul membentuk radikal bebas baru dan seterusnya.
- (2) Transfer elektron : dua molekul dapat bereaksi saling membentuk dua radikal bebas karena satu molekul dapat melepas elektron dan yang satu dapat menerima elektron.
- (3) Electrone state : energi (foton) yang cukup untuk suatu elektron tereksitasi membentuk situasi (state) triplet dimana satu elektron dapat lepas (atau diserap oleh molekul akseptor) terbentuk dua radikal bebas atau satu elektron yang tertinggal tak berpasangan siap menerima elektron sehingga kembali menjadi netral sedangkan molekul akseptor menjadi radikal bebas.
- (4) Sifat radikal bebas : Radikal bebas bersifat reaktif, dapat bereaksi sendiri atau dimerisasi, menerima elektron sehingga kembali mempunyai elektron yang berpasangan, ada yang stabil dan yang berstatus zat antara (intermediate) dalam reaksi berantai (chain reaction) serta terkait dengan reaksi auto-oksidasi dalam sistem biologis.

Jenis radikal bebas ditinjau dari unsur intinya dibedakan antara 4 jenis, yaitu :

- (1) nitrogen (N) : radikal nitrosid,
- (2) sulfur (S) : radikal sulfida,
- (3) oksigen (O) : radikal hidrosil, superoksida, peroksida dan hidroperoksida.
- (4) karbon (C) : radikal metil, alkil.

2.1.2. Terbentuknya radikal bebas

Pada Gambar-3 dijelaskan secara skematik bagaimana dapat terbentuk radikal bebas di alam, yaitu dibedakan antara 3 proses [1], yaitu :

- (1) Secara fisika : radiasi sinar ultra violet, radiasi sinar pengion (ionization radiation), radio-hidrolisis (water radiolysis), paparan getaran ultrasonik atau paparan mekanik.
- (2) Secara kimia : termolisis (thermolysis), proses reduksi-oksidasi (redox process), kejadian subsekuen (subsequent events).
- (3) Secara biologi : fagositosis, metabolisme eikosanoida, faktor relaksasi endotalia (NO)

Dengan radiasi UV, terbentuk radikal bebas dengan 3 cara, yaitu (1) terbentuknya dua radikal (2) terbentuk kation radikal (3) terbentuk radikal dengan menerima proton dari molekul yang ikut menjadi radikal (alkil).

Secara kimia, termolisis tidak terjadi pada kondisi biologis dan hanya terjadi pada preparasi makanan dengan pemanasan, sebagai contoh terbentuknya radikal alkil bila senyawa "azo" ($R-N=N-R$) dipanaskan mengeluarkan N_2 . Reaksi redoks dijelaskan sebagai terjadinya transfer elektron yang mirip pada reaksi transfer hidrogen yang berjalan cepat dan umum terjadi pada proses biologis seperti fotosintesis. Aspek yang berpengaruh adalah potensial ionisasi dan afinitas elektron. Sebagai contoh yaitu terbentuknya radikal hidroksi bila larutan fero (Fe^{2+}) dengan hidrogenperoksida, akan terbentuk radikal hidroksi. Subsekuen dapat diberikan contoh pada reaksi biokimia sel, yaitu serangan hidroksi radikal pada DNA sehingga abstraksi hidrogen atom terbentuk radikal gula dan terjadi adisi pada basaintinya (hydroxy adduct).

Proses biologis seperti fagositosis, yaitu fungsi menghancurkan bahan asing yang diendositosis dan bergabung dengan fagosom dimana terjadi reaksi destruksi melibatkan reaksi radikal bebas. Bermula dari oksigen teroksidasi enzimatis membentuk superoksida radikal, yang bereaksi enzimatis lanjut dengan ion proton membentuk hidrogenperoksida. H_2O_2 inilah

yang bereaksi dengan ion klorida membentuk senyawa hipoklorida yang bertanggungjawab terhadap oksidasi molekul biologis yang menyebabkan terbunuhnya bakteri.

2.1.3. Bahaya dan penangkal radikal bebas pada sistem biologis

Radikal bebas di dalam sel reaktif dan bersifat merusak terhadap makromolekul, yaitu protein (peptida), lipida tak jenuh dan bahan genetik (DNA-RNA). Pada Gambar-4 secara skematik dapat dilihat hubungan sifat radikal bebas dengan akibat yang ditimbulkan pada makromolekul sel, dan berikut ini dikutip dengan penjelasannya sebagai berikut [1]:

- (1) Protein : agregasi dan ikatan silang, fragmentasi dan terurai serta modifikasi struktur gugu tiol. Hal yang sedemikian dapat berakibat lanjut pada modifikasi transport ion, peningkatan influks kalsium dan modifikasi aktivitas enzim.
- (2) Lipida tak jenuh : hilangnya ikatan tak jenuh dan terbentuknya metabolit reaktif (MDA dll.). Hal yang sedemikian dapat berakibat lanjut menyebabkan perubahan fluiditas lipida, permeabilitas membran dan pengaruh pada ikatan enzim pada membran.
- (3) DNA-RNA : kerusakan basa inti, putusnya rantai dan terbukanya cincin ribosa. Hal yang sedemikian dapat berakibat lanjut menyebabkan mutasi, kesalahan translasi dan hambatan biosintesis protein.

Perubahan fungsi dan kerusakan struktural makromolekul sel dapat menjadi kausal primer atau sekunder berbagai gangguan dan penyakit bukan infeksi, yaitu penyakit metabolisme dan penyakit genetik.. Kalau akibat radikal bebas dapat di analogikan dengan kondisi "oxidative stress", maka jika ditelusuri dari publikasi terakhir dilaporkan dapat terkait dengan penyakit "degenerative neurological", "acute prncreatitis", "atherosclerosis" dan "Parkinson's disease",

Timbulnya radikal bebas secara biologis, dapat disebabkan dari dua peristiwa sebagai berikut : (**Gambar-5**)

- (1) secara normal, yaitu pada proses/fungsi fagositosis, metabolisme (degradasi) eikosanoida serta radikal nitroksid sebagai faktor relaksasi turunan endotel.
- (2) akibat dari bahan eksogenik baik langsung atau akibat dari metabolisme, yaitu makanan-minuman serta bahan tambahannya, obat dan polutan.

Penangkalan terhadap radikal bebas termasuk bahaya yang ditimbulkannya, dapat diklasifikasikan menjadi 3 kelompok, yaitu sebagai berikut :

- (1) Pertahanan dalam sel yang diperankan oleh enzim-enzim, yaitu superoksid dismutase, glutathion peroksidase (glutathion transferase) dan katalase.
- (2) Pertahanan luar sel, yang diperankan oleh banyak senyawa, yaitu transferin, albumin, bilirubin, asam urat dll.
- (3) Pertahanan perolehan dari makanan-minuman, yaitu yang dikelompokkan sebagai senyawa antioksidan atau senyawa penangkap radikal bebas.

Pada **Gambar-6** secara skematik digambarkan bagaimana serangan reaktif radikal bebas dalam sistem seluler hepatosit (sel parenkim hepar) dan mekanisme daya pertahanan seluler untuk menangkalnya.

Dengan lingkup perhatian pada organ hepar (**Gambar-6**), khususnya sel hepatosit, ditulis bahwa kerusakan hepar dapat disebabkan oleh timbulnya tiga senyawa, yaitu :

- (1) senyawa elektrofilik,
- (2) radikal bebas dan
- (3) "ROS" (reactive oxygen species).

Penangkalan terhadap tiga senyawa tersebut pada prinsipnya sama berdasar reaksi umum reduksi (antioksidasi atau penerimaan elektron). Namun demikian secara konseptual, tambahan senyawa dari luar tubuh

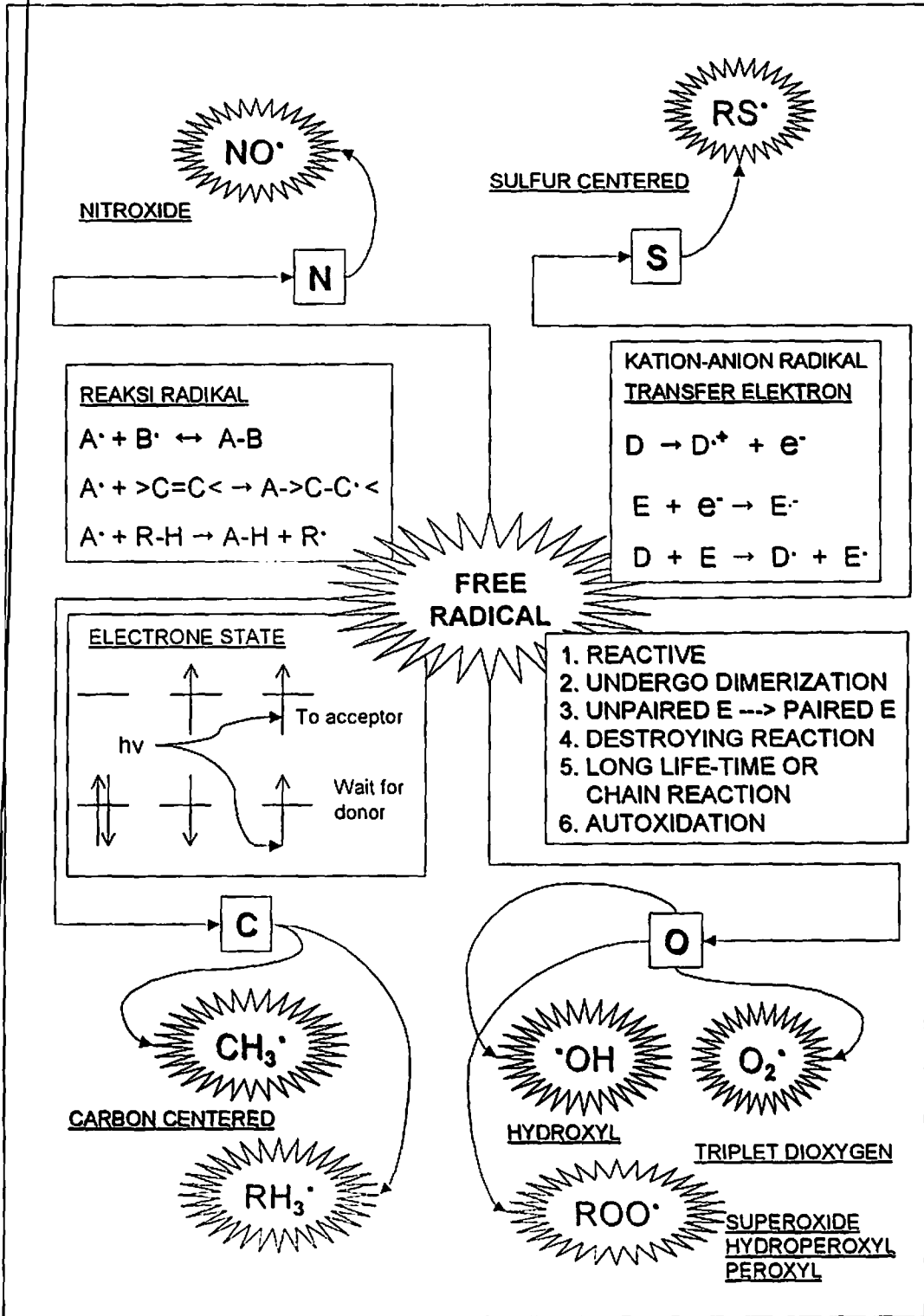
sebagai makanan-minuman atau obat tidak hanya berupa zat antioksidan (dan/atau penangkap radikal bebas), namun juga berupa senyawa yang dapat menghambat-mencegah terbentuknya radikal bebas, yaitu :

- (1) Hambatan enzim pemetabolisme, sehingga adanya zat asing (obat dan polutan kimiawi) yang dimetabolisme dengan proses memungkinkan terbentuknya "intermediate" reaktif seperti radikal bebas dapat dicegah atau dikurangi.
- (2) Meningkatkan aktivitas (dan ekspresi) enzim penangkal radikal bebas sehingga kadar GSH bertambah atau
- (3) Meningkatkan enzim repair (AGT), yaitu enzim yang akan dapat melepaskan (mentrasfer pada dirinya sendiri) radikal metil yang terlanjur menempel (adduct) pada basa inti (guanin) sehingga dapat terjadi mutasi dan karsinogenesis. Jika enzim ini ekspresinya meningkat untuk tujuan substitusi atau induktip maka mutasi sebagai bahaya akhir dari radikal metil dapat dicegah berlanjut.

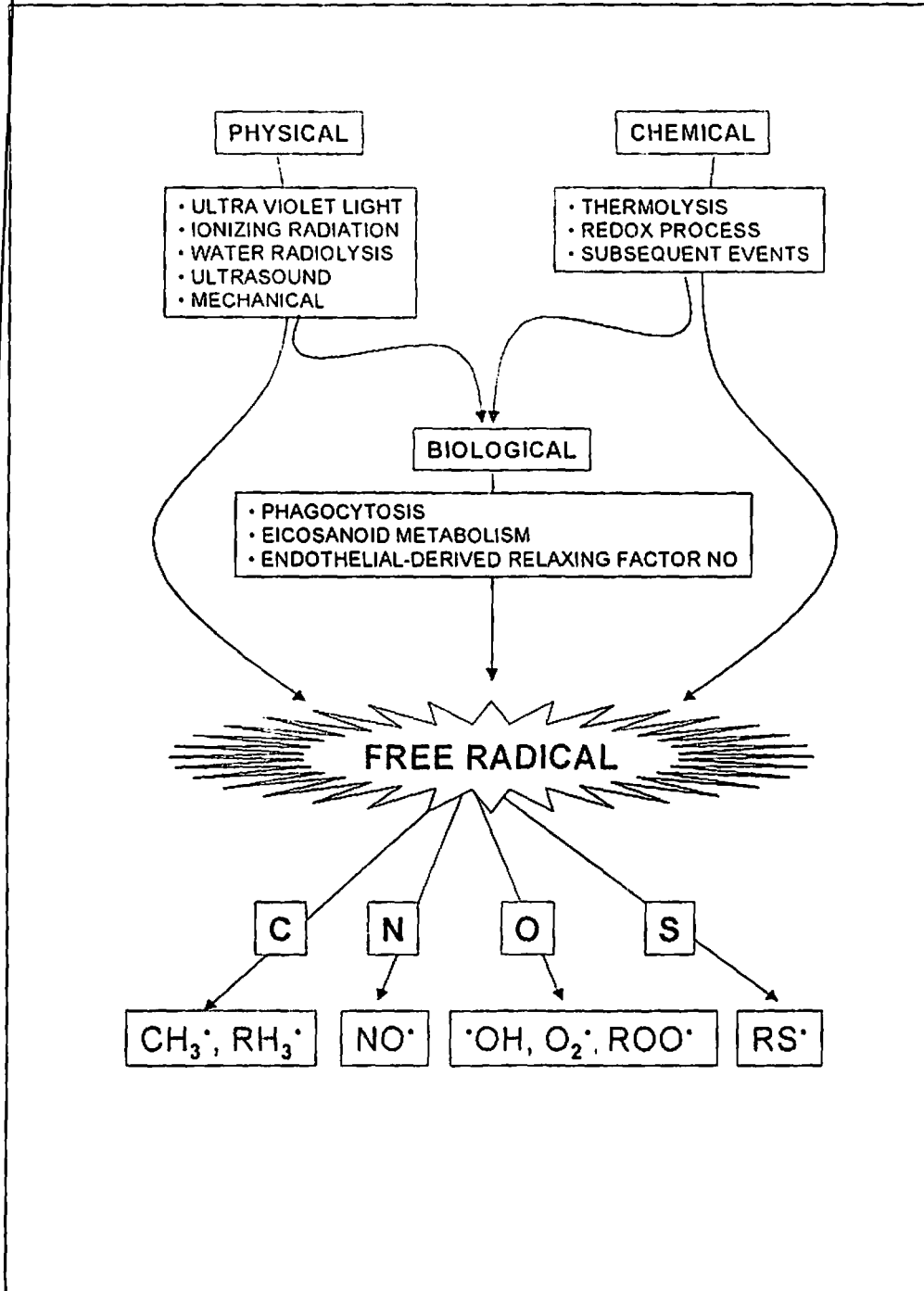
Dengan tiga jenis konsep penangkalan radikal bebas dapat dicegah terjadinya mutasi genetik, perubahan struktur dan fungsi sel sehingga tidak berlanjut kejadian/proses kerusakan sel sebagai berikut :

- (1) nekrosis, keruksakan (toksisitas) yang lebih banyak kondisi tidak normal
- (2) apoptosis, kematian sel yang terprogram (mekanisme normal)
- (3) karsinogenesis dan : inisiasi terbentuknya tumor (kanker)
- (4) penyakit metabolisme : gangguan proses metabolisme seluler.

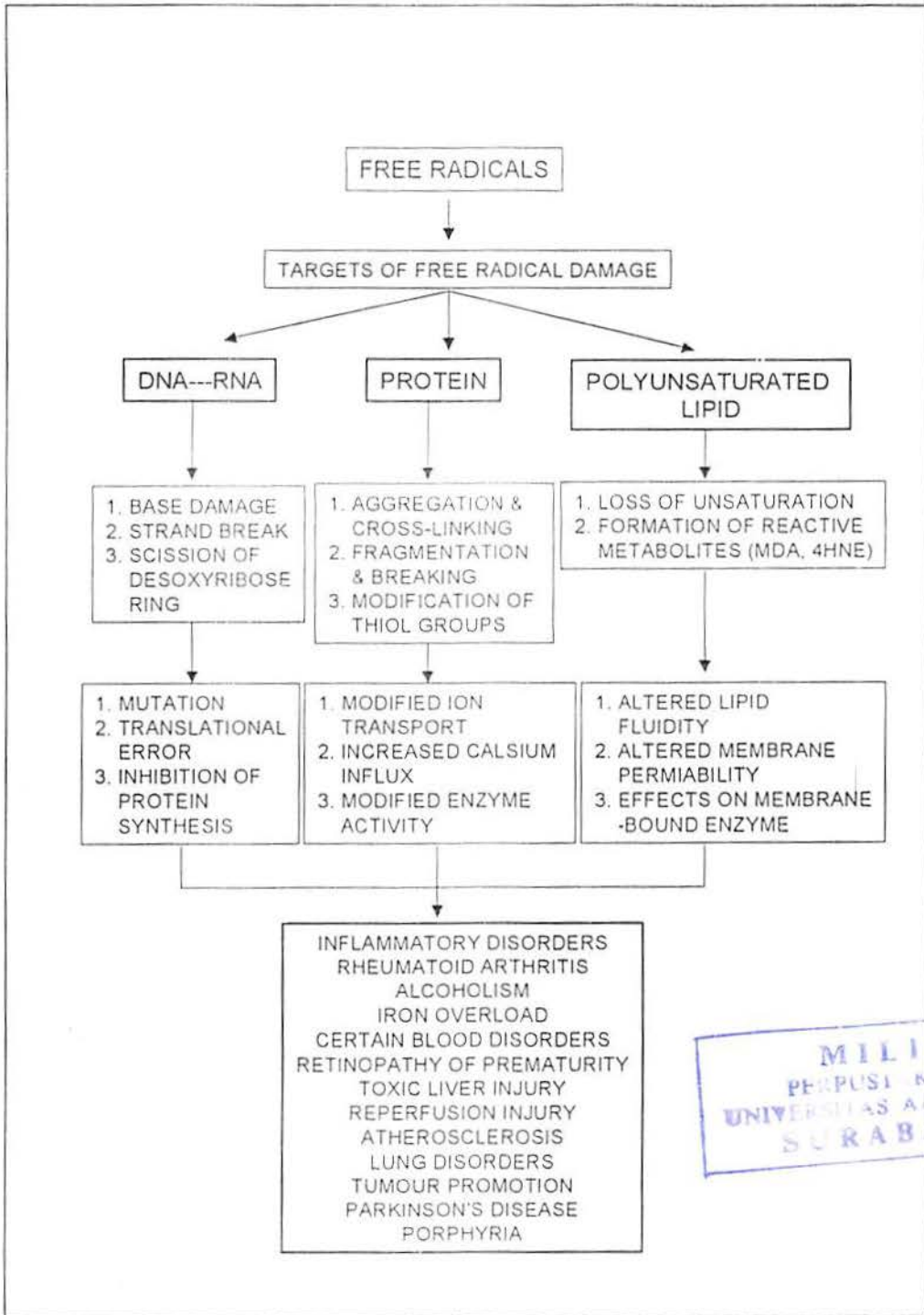
Dalam banyak hal penangkalan diri sel terhadap bahaya radikal bebas terkait dengan kemampuan ekspresi gen sampai eksistensi protein struktural dan fungsional yang penting dalam kehidupan normal sel. Dalam kaitan hal sedemikian maka peranan zat eksogen sebagai obat preventip sangat berperanan untuk terapi kondisi tubuh yang kurang normal ekspresi genetiknya atau penyakit kelainan genetik.



Gambar-2 Sifat radikal bebas dan beberapa contoh jenis radikal bebas yang umum dikenal dalam ilmu kimia dan biokimia

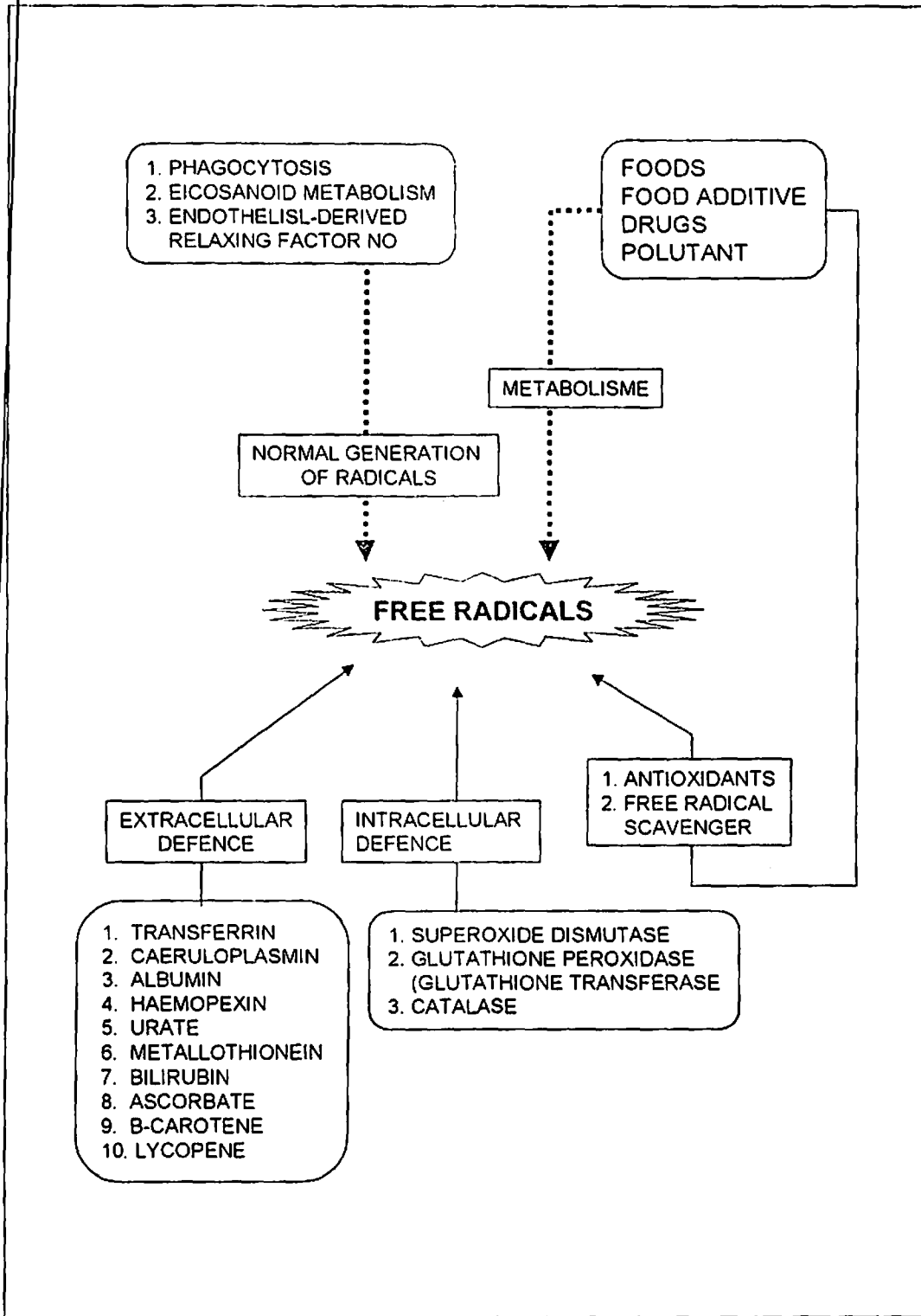


Gambar-3 Skema perbedaan mekanisme terbentuknya radikal bebas, secara fisika, kimia dan biologi.

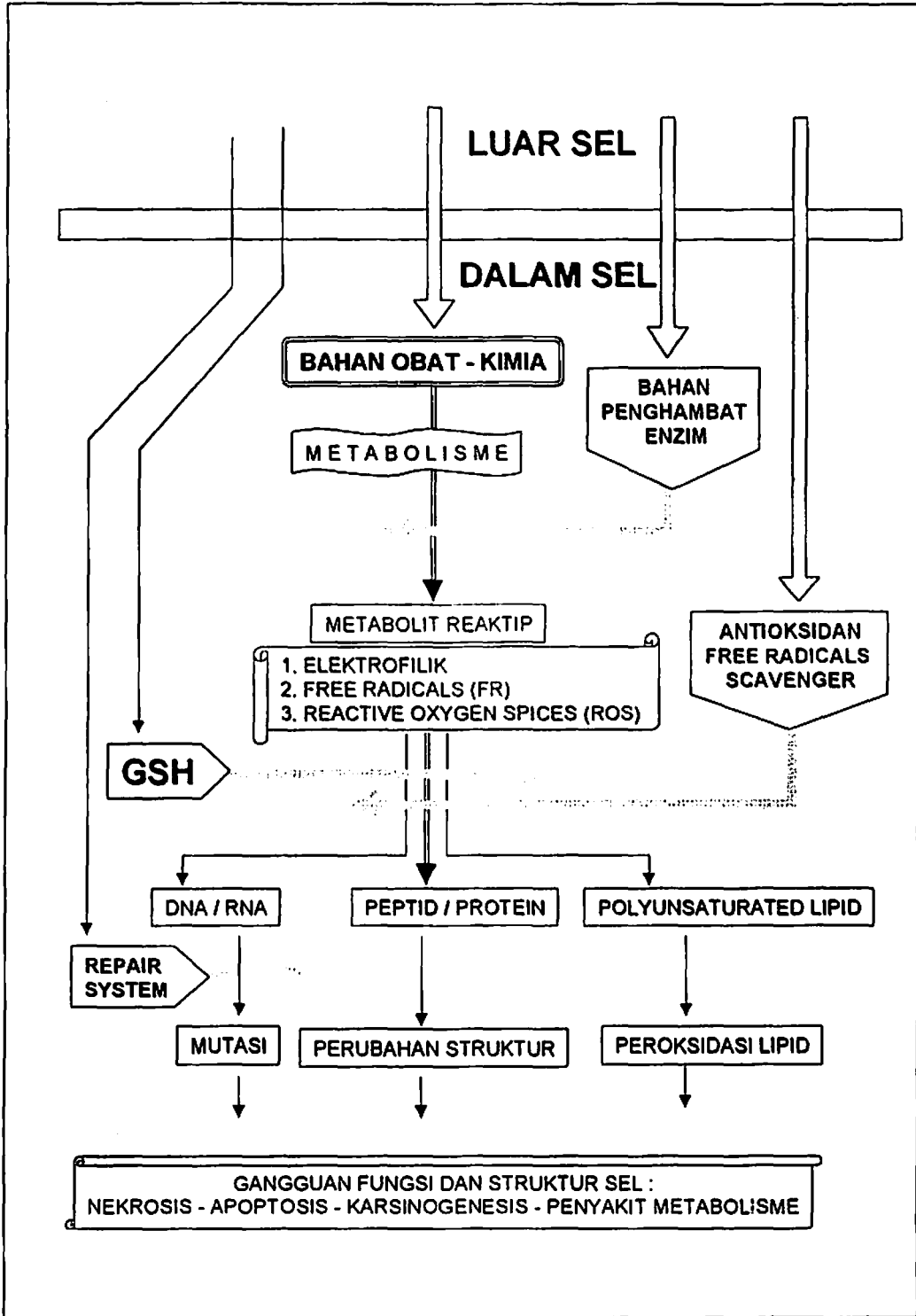


MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Gambar-4 Bahaya radikal bebas pada sistem biologis, yaitu makromolekul sel, mekanisme kerusakan serta kaitannya dengan timbulnya penyakit.



Gambar-5 Mekanisme pertahanan (keseimbangan) dalam sistem biologis dengan terbentuknya radikal bebas



Gambar-6 Keseimbangan dalam sistem seluler (contoh: hepatosit) antara serangan metabolit reaktif dengan mekanisme pertahanan oleh internal/endogen dan oleh bahan eksternal/ antioksidan/ antiradikal-bebas/ inhibitor enzim

2.2. "Antioxidants and Free radicals scavenger"

2.2.1. Reaksi oksidasi dan reaksi radikal bebas

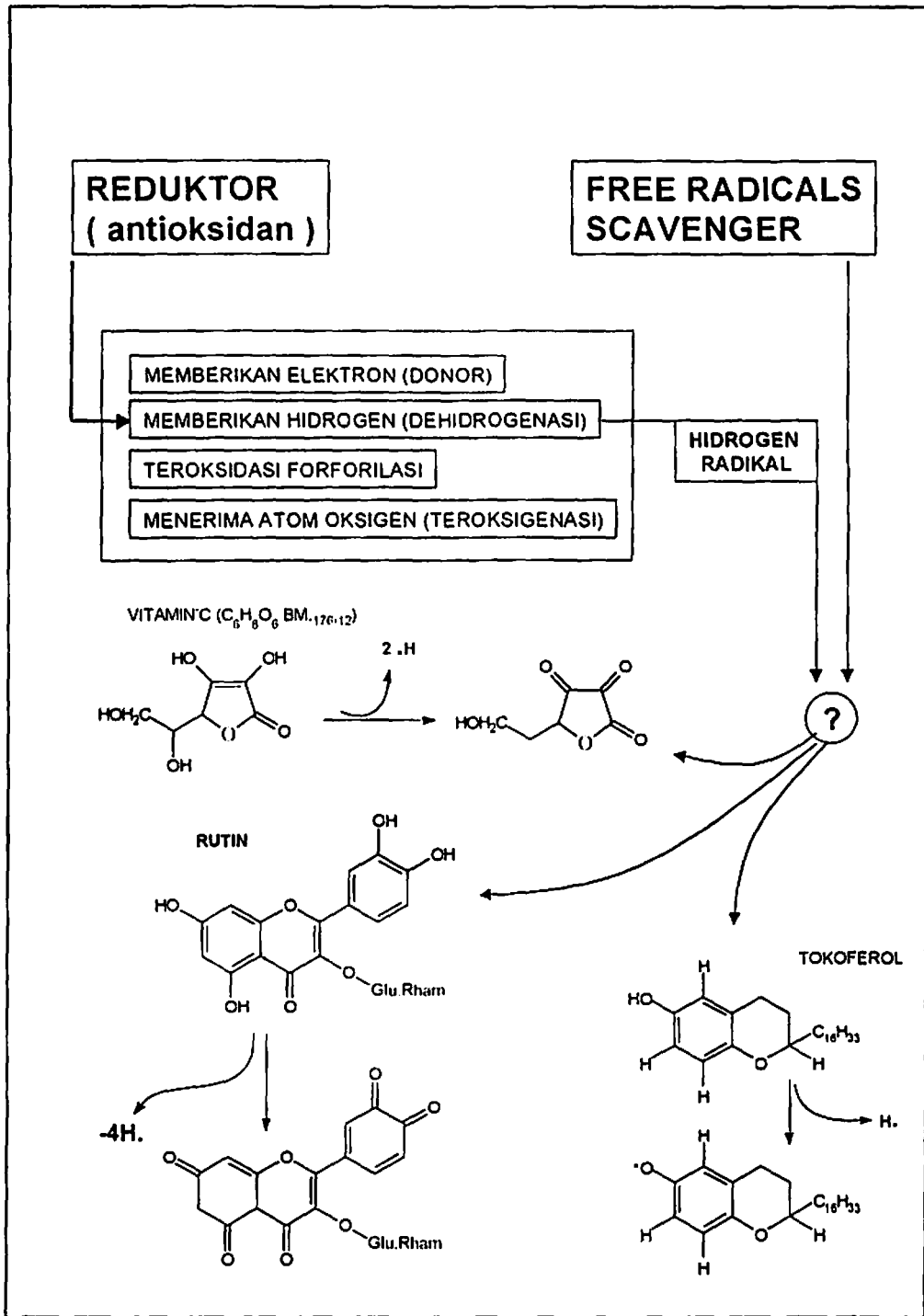
Permasalahan kerancuan antara reaksi reduksi (antioksidan) dan reaksi penangkapan radikal bebas, dapat diterangkan terlebih dahulu bahwa reaksi reduksi-oksidasi secara biokimia dapat dibagi menjadi empat, yaitu sebagai berikut : (lihat Gambar-7)

- (1) elektron donor (reduktor) dan elektron akseptor (Oksidator).
- (2) Hidrogenasi (reduksi) dan dehidrogenasi (oksidasi).
- (3) Oksidasi-reduksi fosforilasi.
- (4) Menerima (teradisi) atom oksigen (teroksidasi).

Terhadap empat hal tersebut, maka yang paling sesuai dengan reaksi radikal bebas adalah hidrogenasi, atom hidrogen tidak lain satu elektron dan satu proton, sehingga dapat diterima pula konsep elektron akseptor. Artinya senyawa radikal bebas dapat berupa senyawa yang dapat memberikan atom hidrogen (radikal hidrogen atau elektronnya) kepada radikal bebas sehingga tertangkal, sedangkan senyawa semula berubah menjadi struktur yang lebih stabil (tanpa elektron tak-berpasangan), yaitu terbentuknya satu ikatan rangkap baru dan menjadi susunan terkonyugasi (yang lebih stabil).

2.2.2. Senyawa penangkap radikal bebas

Pada Gambar-7 pula ditampilkan sebagai contoh reaksi yang terjadi pada rutin, vitamin-C dan tokoferol, sebagai penangkap radikal bebas sesuai dengan difini hidrogen donor, dan sebagai hasilnya masing masing memberikan 2 sampai 4 atom hidrogen dengan perubahan struktur yang lebih stabil. Pada rutin dan vitamin-C terbentuk struktur lakton stabil sedemikian pada struktur-cincinnya dengan ikatan rangkap terkonyugasi.



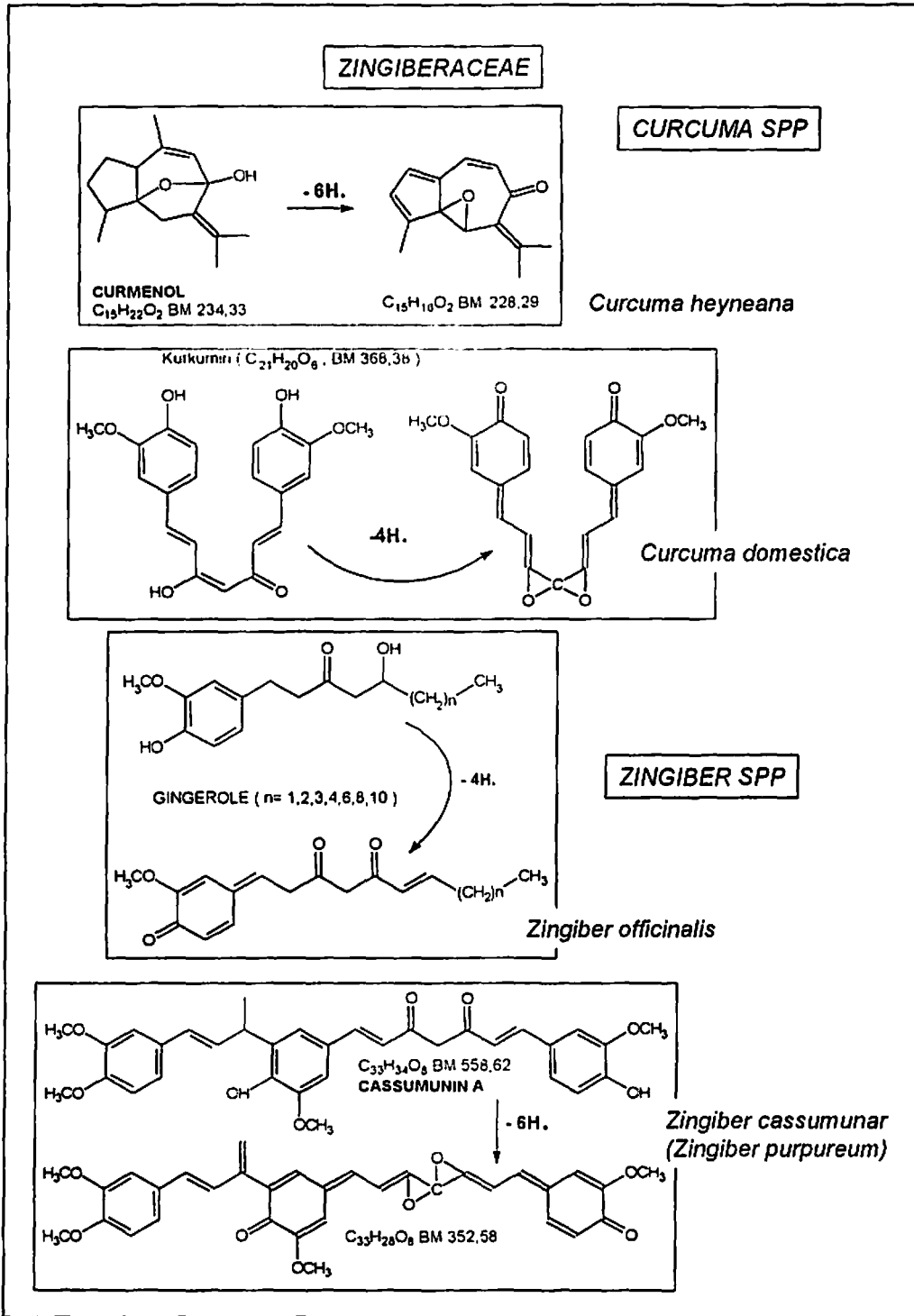
Gambar-7 Reaksi penangkapan radikal bebas oleh senyawa metabolit sekunder tanaman dan keterkaitannya dengan berbagai jenis reaksi antioksidasi (reduksi)

2.1. Prospek pemanfaatan rimpang tanaman Zingiberaceae

Prospek Zingiberaceae dipandang latar belakang fitokimia dan bioaktivitas terkait antiradikal bebas dapat ditampilkan seperti pada Tabel2(1) serta Gambar-9. Tidak semua jenis mempunyai prospek,

Tabel-2.(1) Prospek pemanfaatan rimpang tanaman Zingiberacea dari aspek fitokimia (kandungan komponen utama) dan bioaktivitas terkait dengan antiradikal bebas

NO	NAMA ILMIAH (LATIN)	Nama Daerah Komponen prospektip Dan bioaktivitasnya terkait antiradikal bebas
1.	<i>Curcuma domestica</i>	Kunyit
	Fitokimia	Kurkuminoid, Turmeron
	Bioaktivitas	Hepatoprotektip, imunomodulasi (antiinflamasi)
2.	<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	Temu-lawak
	Fitokimia	Kurkuminoid, Kurkumen, Xantorizol
	Bioaktivitas	Hepatoprotektip, imunomodulasi (antiinflamasi)
3.	<i>Curcuma aeruginosa</i>	Temu-ireng
	Fitokimia	Seskuiterpenlakton
	Bioaktivitas	Imunomodulasi
4.	<i>Curcuma heyneana</i>	Temu-giring
	Fitokimia	Seskuiterpenlakton
	Bioaktivitas	??
5.	<i>Zingiber officinalis</i>	Jahe
	Fitokimia	Zingiberen, zingerol.
	Fitokimia	Antiinflamasi
6.	<i>Zingiber cassumunar</i>	Bengle
	Fitokimia	Kasumunin
	Bioaktivitas	Hepatoprotektip, imunomodulasi (antiinflamasi)
7.	Bioaktivitas	Lempuyang wangi
	Fitokimia	
	Fitokimia	
8.	Bioaktivitas	Lempuyang gajah
	Fitokimia	
	Bioaktivitas	
9.	<i>Zingiber amaricum</i>	Lempuyang pahit
	Fitokimia	
	Fitokimia	
10.	Bioaktivitas	Laos
	Fitokimia	Asetoksikavikolasetat dan ester kavikol
	Bioaktivitas	Imunomodulasi
11.	<i>Kaempheria pandurata</i>	Temu-kunci
	Fitokimia	Pinostrobin, pinosembrin
	Bioaktivitas	Antiinflamasi
12.	<i>Kaempheria galanga</i>	Kencur
	Fitokimia	p-metoksisinamat, etil ester sinamat
	Bioaktivitas	Antiinflamasi



Gambar-8 Beberapa senyawa metabolit sekunder tanaman Zingiberaceae yang dari strukturnya dapat diperhitungkan dapat menangkap radikal bebas dengan reaksi donor hidrogen radikal atau akseptor radikal bebas.

2.4. Rancangan percobaan antiradikal bebas

Sebagaimana rancangan percobaan untuk aktivitas yang lain, maka untuk aktivitas antiradikal bebas mempunyai spektrum yang sama (untuk jelasnya dapat dilihat pada **Gambar-9**), yaitu :

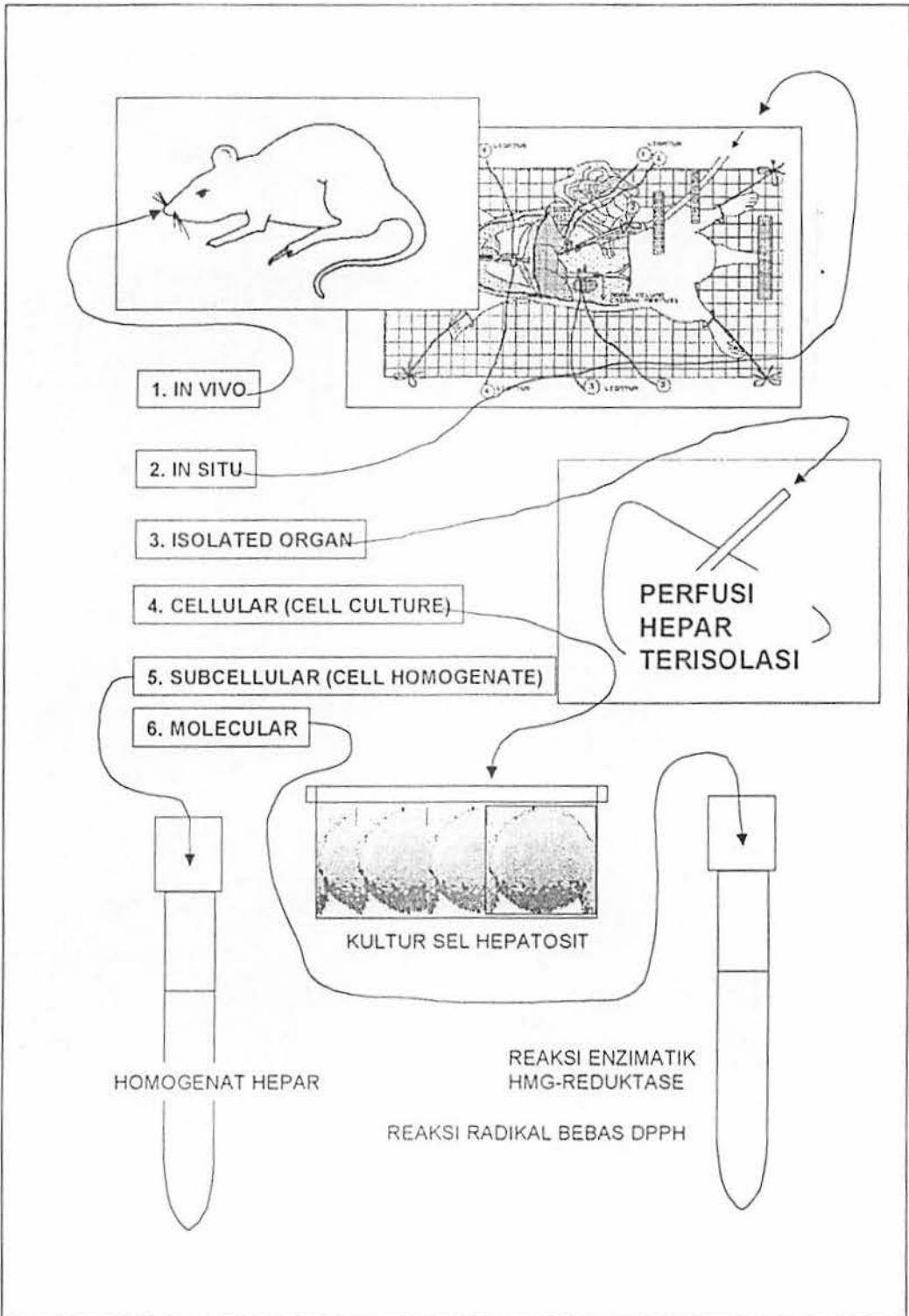
- (1) Rancangan percobaan tingkat molekuler (reaksi kimia dan biokimia)
- (2) Rancangan percobaan tingkat subseluler (homogenat sel)
- (3) Rancangan percobaan tingkat seluler (kultur sel)
- (4) Rancangan percobaan tingkat organ terisolasi
- (5) Rancangan percobaan in situ (hewan percobaan teranestesi)
- (6) Rancangan percobaan in vivo (hewan percobaan hidup)

Rancangan percobaan tingkat molekuler (reaksi kimia)

Justru pada tingkat molekuler, yaitu reaksi kimia atau biokimia inilah yang paling sederhana yang dapat dilakukan untuk memahami lebih dasar mekanisme dan potensi antiradikal bebas bahan uji. Dengan menggunakan radikal bebas yang stabil, artinya tersedia dalam bentuk kristal tertimbang untuk dilarutkan dan masih tetap dalam bentuk radikal bebas, maka dapat dirancang berbagai uji antiradikal bebas sesuai dengan jenis radikal yang digunakan, misalnya DPPH

Rancangan percobaan tingkat subseluler (homogenat sel)

Penggunaan sistem subseluler dianggap lebih melengkap setahap dari reaksi biokimia, karena sistem lebih lengkap dipreparsi dari hewan hidup, namun struktur selnya sudah tidak lengkap, semua isi sel bercampur tidak lagi pada posisinya. Untuk uji antiradikal bebas digunakan penginduksi bahan yang jika termetabolisme baru melepas radikal bebas dan langsung dapat berreaksi terhadap berbagai makromolekul sel yang menjadi sasarannya. Homogenat hepar tikus sering kali digunakan dengan parameter khusus kerusakan terhadap lipida yaitu terbentuknya peroksidalipid sampai akhirnya menjadi MDA (malondialdehid) yang dapat ditentukan dengan peraksi TBA (thiobarbituric acid) secara spektrofotometri.



Gambar-9 Prepektip rancangan percobaan antiradikal bebas mulai molekuler sampai tingkat in vivo (hewan percobaan)

Rancangan percobaan tingkat seluler (kultur sel)

Dengan menggunakan sel dalam sistem kultur (in vitro) maka aspek struktur sel hampir seluruhnya dapat disimulasi. Membran plasma masih "intake" sehingga hanya bahan uji yang permiabel (dapat masuk sel) dapat berfungsi/bekerja menangkap radikal bebas, walaupun pada uji sebelumnya pada tingkat homogenat atau molekuler, semuanya mempunyai aktivitas antiradikal bebas.

Rancangan percobaan tingkat in vivo (hewan percobaan)

Percobaan in vivo merupakan langkah lanjutan dari tingkat seluler dengan harapan dapat diketahui lebih jauh aspek farmakokinetik bahan uji, mulai absorpsi, distribusi, metabolisme sampai ekskresi. Aspek tersebut sudah melangkah jauh pada rancangan formulasi dan rekayasa kimia agar bahan uji tetap aktif jika diberikan secara per-oral sebagai cara penggunaan yang umum. Bagaimana evaluasi antiradikal bebas, ada dua cara, yaitu :

- (1) Mengukur sifat protektip dari hasil sifat reaktip bahan penginduksi radikal (yang diikutkan dalam rancangan percobaan) pada organ tertentu seperti hepar (peroksidalipid), pembuluh darah (atherosklerosis) atau serum (SGOT/SGPT).
- (2) Mengukur kemampuan antiradikal-bebas (penangkapan) serum hewan coba tanpa pemberian zat penginduksi radikal bebas. Serum tikus dipreparasi-diambil dari hewan coba, kemudian kemampuannya diukur dengan mereaksikan dengan radikal bebas seperti DPPH. Dengan cara ini dapat dikehui bagaimana kinetika daya antiradikal bebas selama beberapa jam setelah pemberian bahan uji.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan

Aktivitas antiradikal bebas dari rimpang tanaman obat familia Zingiberaceae yang banyak digunakan sebagai jamu oleh masyarakat Indonesia, akan dapat menjadi dasar ilmiah yang dapat terkait dengan pemanfaatannya oleh masyarakat, yaitu untuk menjaga kesehatan dan terapi berberapa penyakit seperti inflamasi (radang), penyakit aterosklerosis dan landasan terapi preventip terhadap berbagai bahaya toksisitas dan proses penuaan dsb. Dengan demikian penelitian dasar ilmiah sebagai penangkap radikal bebas secara molekuler dan seluler merupakan hal dasar penting untuk penelitian selanjutnya dalam penelitian dan pengembangan produk obat tradisional dari bahan rimpang Zingiberaceae.

Tujuan Umum :

Melakukan penelitian dasar pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas sari rimpang tanaman obat familia Zingiberaceae melalui percobaan molekuler dan seluler.

Tujuan Khusus :

Menjawab permasalahan apakah sari air rimpang tanaman obat familia Zingiberaceae mempunyai bioaktivitas penangkap radikal bebas dalam sistem molekuler dan seluler, yaitu

- (1) apakah mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH dan aktivitas anti-peroksida-lipid dalam sistem homogenat hepar tikus serta sistem kultur hepatosit tikus dengan parameter derajat terbentuknya MDA dengan pereaksi "thiobarbituric acid" secara spektrofotometri fluoresensi (TBARS) ?, dan
- (2) bagaimana kaitan aktivitas tersebut dengan jenis tingkatan percobaan molekuler dan seluler ?

Secara khusus pula dalam penelitian ini obyek penelitian dipilih/dibatasi bahan uji hanya pada sebagian/beberapa contoh rimpang tanaman Zingiberacea yang banyak digunakan sebagai komponen dalam formula jamu Indonesia, yaitu yang tertera pada tabel sebagai berikut :

NO	NAMA ILMIAH TANAMAN	NAMA INDONESIA
1.	<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	Temu-lawak
2.	<i>Curcuma domestica</i>	Kunyit
3.	<i>Curcuma aeruginosa</i>	Temu-ireng
4.	<i>Curcuma heyneana</i>	Temu-giring
5.	<i>Zingiber officinalis</i>	Jahe
6.	<i>Zingiber cassumunar</i>	Bengle
7.	<i>Zingiber amaricum</i>	Lempuyang pahit
8.	<i>Zingiber aromaticum</i>	Lempuyang wangi
9.	<i>Zingiber zerumbet</i>	Lempuyang gajah

3.2. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini secara umum dapat bermanfaat bagi pengembangan metoda alternatif percobaan hewan (in vivo) untuk penelitian antiradikal bebas dan secara khusus memberikan manfaat sebagai berikut :

“ memberikan konfirmasi ilmiah bahwa sari air rimpang tanaman obat familia Zingiberaceae mempunyai prospek bioaktivitas sebagai penangkap radikal bebas dalam sistem molekuler dan seluler, sehingga dapat menjadi dasar penunjang keterkaitannya dengan khasiat pada pemanfaatannya sebagai jamu (obat tradisional) untuk menjaga kesehatan, menyembuhkan penyakit serta berguna sebagai minuman kesehatan “.



BAB IV

METODA PENELITIAN

4. 1. **Bahan penelitian**

Hewan Percobaan :

Tikus putih (*Ratus Novergicus*) betina galur Wistar, yang awalnya diperoleh dari Laboratorium Perhewan, FMIPA - ITB. Hewan, waktu dipesan berumur 3 bulan lalu diadaptasikan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Airlangga selama paling sedikit 2 minggu, kemudian dikembangbiakkan (*breeding*). Tikus digunakan yang telah beratnya antara 150 – 200 gram.

Bahan Kimia :

Secara umum disebutkan bahwa bahan kimia anorganik yang digunakan dari merek E. Merck dan bahan lain yang khusus untuk kultur sel diperoleh dari Sigma dengan derajat "culture tested". Bahan-bahan penting yang digunakan dalam penelitian antara lain sebagai berikut :

- (1) Media perfusi hepar, yang komposisinya pada Lampiran-1.
- (2) Media disintegrasi hepar, yang komposisinya pada Lampiran-1.
- (3) Larutan dasar Seglen untuk pensuspensi sel pada Lampiran-2.
- (4) Media (serbuk) kultur William Modified Eagle (WME) + HEPES 25mM
- (5) Antibiotik-antimikotik [Pen-strep-Amphoter], (Sigma)
- (6) Larutan tripan biru 0,4 % dalam larutan NaCl 0,9 %.
- (7) Foetal Bovine Serum (FBS) (Flow Lab.).
- (8) DPPH (Diphenylpicril hidrazil, Sigma)
- (9) TBA (Thiobarbituric acid, Sigma)
- (10) BHP (butylhydroperoxide, Sigma)

Bahan tanaman Zingiberaceae

Rimpang tanaman Zingiberacea diperoleh dari daerah di sekitar Kebun Raya Purwodadi Lawang Jawa Timur dan diidentifikasi disana, langsung dicuci bersih, disimpan dingin, selanjutnya di-iris-iris setebal 0,5 cm untuk diproses-digunakan sebagai bahan segar.

4.2. Peralatan penelitian

- (1) Seperangkat alat operasi (pembedahan) hewan tikus.
- (2) pH meter (Digital pH-meter)
- (3) Hemasitometer (Neubauer Chamber)
- (4) Mikroskop biasa (lampu W)
- (5) Penangas air termostat suhu 37°C.
- (6) Pompa peristaltik (0 - 50 ml/menit)
- (7) Pemusing (Sentrifuge: Medifuge Herraus Sepatech 0 - 3000 g)
- (8) Spektrofotometer UV-Vis-NIR (Shimadzu 265)
- (9) Spektromfotometer fluoresensi (Hitachi)
- (10) Pipet variabel otomatis (Socorex dan Brand "micropipet")
- (11) Bejana kultur : Petri plastik diameter 35 mm (Nunclon)
- (12) Inkubator kultur sel (Heraus, CO₂ incubator , 3 rak 60X60 cm)

4.3. Penyediaan bahan uji dan rancangan uji bioaktivitas

(1) Pembuatan sediaan uji

Bahan rimpang tanaman Zingiberaceae dalam penelitian ini diuji sebagai bentuk sari air (sediaan uji) dalam pengertian pembuatannya ataupun penambahan dalam sistem uji dilarutkan (solubilizing) di air atau larutan yang sesuai. Berikut ini cara pembuatan sediaan uji :

Perasan air

Bahan rimpang segar dihancurkan dengan bantuan air sejumlah 10 kali bahan, kemudian dilakukan filtrasi-peras dengan kasa nilon 50 um dan filtrat akhir ditambah air untuk mendapatkan ekuivalensi kepekatan 10%.

Infus

Bahan rimpang segar dihancurkan dengan bantuan air sejumlah 10 kali bahan, kemudian dipanaskan pada panci infus selama 15 menit, akhirnya setelah dingin dilakukan filtrasi-peras dengan kasa nilon 50 um dan ditambah air secukupnya sampai diperoleh ekuivalensi kepekatan 10%.

Minyak atsiri

Bahan rimpang segar di-iris-iris tipis (0,5 cm) langsung dimasukkan kedalam bejana destilasi uap air. Minyak atsiri diperoleh dari hasil pemisahan langsung

(tanpa ekstraksi dengan pelarut organik, misalnya eter) dari destilat yang dikumpulkan selama 6 jam, kemudian dikeringkan dengan Na_2SO_4 exiccatus, simpan dingin terlindung cahaya.

Fraksi metanol (sari metanol residu destilasi untuk isolasi minyak atsiri)

Residu proses destilasi uap air (irisan rimpang) untuk isolasi minyak atsiri, segera dikeringkan diruangan dengan udara mengalir. Setelah kering, menjadi simplisia, diserbuk untuk selanjutnya dilakukan ekstraksi maserasi-perkolasi dengan pelarut metanol. Perkolat 10 kali bahan diuapkan pelarutnya pada tekanan rendah dengan rotari evaporator sampai sebagai bentuk ekstrak kering-kental tertimbang untuk percobaan uji bioaktivitas.

(2) Rancangan bahan untuk uji bioaktivitas

Bahan uji yang berupa perasan dan infus langsung dapat diencerkan dengan air (atau larutan dapar/media) untuk pengenceran sampai diperoleh konsentrasi tertentu dalam sistem uji, sedangkan untuk minyak atsiri dan ekstrak metanol residu destilasi masih diperlukan tahapan penglarutan (solubilizing) dengan DMSO secukupnya dengan batasan perhitungan akhir maksimal 1% dalam sistem uji.

4.4. Prosedur penelitian

4.4.1. Uji bioaktivitas antiradikal bebas DPPH

Cara kerja pengujian dilakukan sebagai berikut.

- (1) Siapkan larutan radikal bebas DPPH dibuat 0,004% dalam Etanol (perekasi/standar). Buat spektra absorpsi sinar tampak (360–720 nm) DPPH, dimana larutan blanko dan larutan DPPH yang diukur adalah pelarut dengan komposisi 4 ml etanol yang mengandung 100 μl air (atau pelarut ekstrak yang sesuai). Kemudian juga dicatat adsorban pada 497 – 517 – 537 nm untuk DPPH. Gunakan kuvet gelas (quartz) 10 mm.
- (2) Pengukuran antiradikal bebas untuk bahan uji: Sebagai orientasi, pipet 100 μl sari air (konsentrasi tertentu) ke dalam kuvet, tambahkan (reaksikan) larutan DPPH ad 4 ml (+ 3,900 ml), aduk rata dengan pipet, segera dibuat spektra sinar visible (360 – 720 nm) dikertas spektra (DPPH) yang sama untuk dianalisa (dideteksi)

apakah masih ada jelas kurva puncak normal (sigmoid) antara 497nm sampai 537nm (puncak 517 nm), atau secara cepat dapat diamati apakah masih nampak warna merah ungu dari DPPH. Jika demikian maka rancang percobaan sebenarnya, dapat dilanjutkan tahap berikutnya.

- (3) Dengan cara orientasi seperti ad.(2), buatlah dan ukurlah 4 – 5 jenis larutan ekstrak yang berbeda konsentrasi sehingga hasilnya masih nampak warna merah ungu DPPH. Pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-3 setelah pelarutan (reaksi) dibaca absorbansi pada 497-517-537 nm dan sekali lagi pada menit ke-60 (1jam).

Perhitungan kapasitas antiradikal bebas DPPH diukur dari peredaman warna ungu merah dari DPPH, yaitu puncak 517 nm (Absorban Hitung). Untuk itu digunakan perhitungan berdasar 3 panjang gelombang yaitu 497-517-537 nm sebagai berikut :

$$\text{Absorban Hitung 517 nm} = A_{517} \cdot \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

Perhitungan kapasitas antiradikal bebas sebagai prosen peredaman absorbansi pada puncak 517 nm menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ PEREDAMAN DPPH} = \left[1 - \frac{\text{Absorban hitung bahan uji}}{\text{Absorban hitung DPPH}} \right] 100\%$$

Hasil perhitungan dengan nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran bahan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya.

Untuk analisis data perbandingan aktivitas digunakan terminologi konsentrasi peredaman 50% (EC_{50} = effective concentration, 50%) atau pada prosentase lainnya.

4.4.2. Uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada sistem homogenat hepar tikus

Pelaksanaan pengujian seperti diuraikan skematis pada **Gambar- 11** dibagi atas 3 tahapan, sebagai berikut :

(1) Preparasi homogenat hepar tikus

Tikus dipersiapkan, dilakukan anestesi dengan eter qs. Dilakukan pembedahan membuka rongga peritoneal, kemudian dilakukan perfusi melalui vena porta dengan larutan PBS (dan pemotongan vena cava inferior sampai hepar memucat. Setelah itu segera dilakukan isolasi hepar tikus untuk ditimbang, dan dilakukan penghancuran (homogenisasi) hepar dengan alat homogenizer pada temperatur dingin (air es) dengan penambahan PBS dingin secukupnya sampai total volume PBS (ml) 19 kali berat hepar (gram), simpan dingin sebelum digunakan percobaan selanjutnya.

(2) Inkubasi bahan uji dalam model percobaan homogenat hepar tikus. Disediakan tabung reaksi bertutup 5 ml untuk rancangan percobaan komposisi sebagai berikut ini :

0,5 ml homogenat hepar tikus

25 ul larutan BHP 1 % dalam PBS (phospat buffer solution)

0,5 ml larutan bahan uji dalam PBS

2,225 larutan PBS

Jumlah total sistem inkubasi adalah 3,250 ml, dan komposisi tersebut adalah untuk kode perhitungan sebagai TBARS-1

TBARS-2 : seperti TBARS-1 namun bahan uji diganti PBS

TBARS-3 : seperti TBARS-1 namun tanpa BHP

TBARS-4 : seperti TBARS-1 namun tanpa BHP, bahan uji diganti PBS

Inkubasi dilakukan pada temperatur 37,0 °C selama 15 menit. Untuk masing-masing rancangan dilakukan replikasi percobaan 3 kali.

(3) Pengukuran "TBARS" pada hasil inkubasi secara spektrofotometri fluoresensi. (Gambar-12)

Disediakan tabung reaksi bertutup 10 ml untuk rancangan pengukuran TBARS (reaksi MDA=TBA) dengan komposisi sebagai berikut ini :

1,3 ml hasil inkubasi

0,1 ml larutan SDS 10% dalam aquadestilata

0,8 ml HCl 0,225 N

0,1 ml larutan TBA 1 % dalam aquadestilata

Reaksi dalam tabung tertutup dilakukan pada temperatur 95 °C selama 90 menit, kemudian dinginkan untuk tahapan berikutnya.

Setelah reaksi MDA+TBA, selanjutnya dilakukan tahapan ekstraksi dengan penambahan n-butanol 4 ml dan dikocok (vortex) selama 2 menit , akhirnya biarkan sampai terjadi pemisahan butanol dilapisan atas, untuk diukur secara spektrofotometri fluoresensi. Diawali dengan menentukan panjang gelombang maksimum eksitasi dan emisi, kemudian dilakukan pengukuran fraksi/ekstrak butanol semua hasil inkubasi berbagai rancangan TBARS-1 s/d TBARS-4 dan replikasinya, serta kemudian data intensitas fluoresensinya langsung dimasukkan rumus dengan dasar perhitungan yang relatip (tanpa satuan).

Rumus perhitungan bioaktivitas antiperoksidalipid, sebagai daya proteksi terhadap pembentukan MDA pada homogenat hepar tikus karena pemicu BHP, adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ ANTIPEROKSIDALIPID} = \left[1 - \frac{\text{TBARS-1} \dots \text{TBARS-3}}{\text{TBARS-2} \dots \text{TBARS-4}} \right] 100\%$$

4.4.3. Uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada sistem kultur hepatosit tikus

Pelaksanaan pengujian seperti diuraikan skematis pada Gambar-13 dibagi atas 3 tahapan, sebagai berikut :

(1) Preparasi sel hepatosit tikus

Disiapkan tikus, kemudian dianestesi dengan eter dan difiksasi dimeja operasi hewan. Pembukaan rongga peritoneal sampai nampak jelas vena porta. Pemasangan ligatur pada vena porta dan vena cava inferior. Pemasukan kanula (aliran larutan Seglen-Perfusi dengan komposisi lihat lampiran)) kedalam vena porta dan ligatur diikat-difiksir, dan vena cava inferior dibawah ligatur dirobek-gunting, cairan perfusi keluar dari situ. Selanjutnya dibuka rongga dada sehingga nampak jelas atrium dan jalur vena cava superior. Pemasangan ligatur pada vena tersebut. Pemasukan kanula dari atrium masuk ke vena cava superior, ligatur diikat-difiksir. Akhirnya jika ligatur pada vena cava inferior (pada rongga peritoneal) diikat-tutup, maka aliran perfusi mengalir keluar melalui kanula pada atrium dan terbentuklah jalur perfusi resirkulasi, masuk vena porta dan keluar atrium. Kemudian cairan perfusi diganti dengan larutan Seglen-Disintegrasi (komposisi lihat lampiran). Setelah 40 menit, hepar telah terdisintegrasi, hepar diisolasi, masukan kedalam media kultur (WME), dirobek-robek selaputnya sambil dikocok-kocok pelan, sehingga sel hepatosit akan tersuspensikan. Hasil disintegrasi, disaring dengan kasa nilon 50 um, sehingga didapat hanya sel bebas dari dibris dan jaringan sisa. Suspensi hepatosit tikus dicuci dengan media WME dengan cara tambah media dan didekantasi setelah 5 menit, 3 kali sehingga didapat sel dengan vitalitas maksimum. Jumlah sel per ml dan viytalitas ditentukan dengan pewarnaan tripan biru dalam Neubauer-Chamber secara mikroskopis, siap untuk percobaan kultur.

(2) Inkubasi bahan uji dalam kultur hepatosit tikus

Kultur hepatosit tikus untuk percobaan inkubasi bahan uji dirancang dengan komposisi sebagai berikut :

Media WME (dengan penambahan dapat HEPES 0,25 mM)

Serum tikus 10 %

Larutan bahan uji 0,1 ml (pengenceran dalam media WME)

30 ul/2 ml kultur larutan BHP 0,5 % dalam media WME

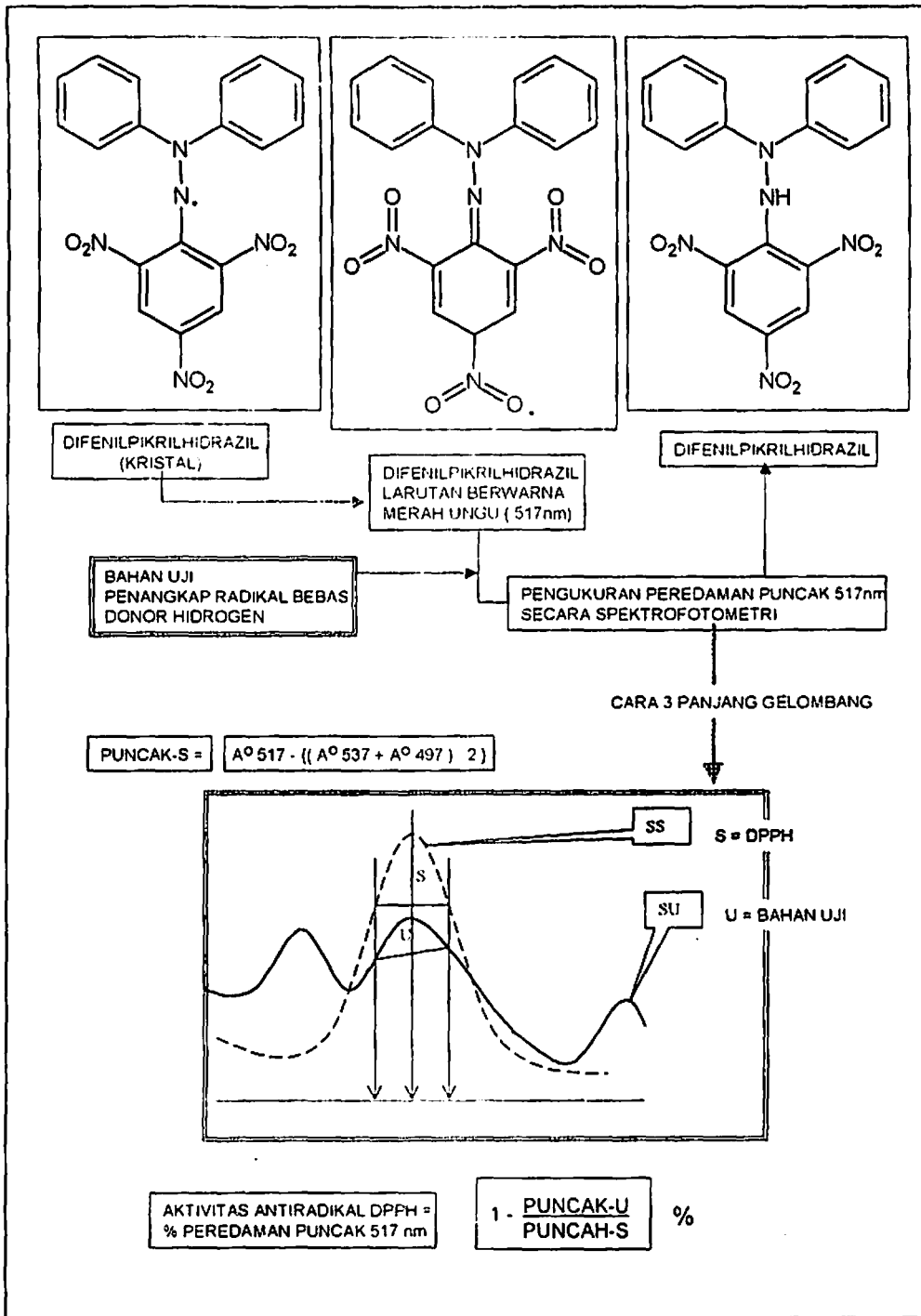
Total volume kultur 2,0 ml pada bejana petri diameter 2,5 cm

Rancangan percobaan disusun analogi seperti pada metoda dengan homogenat hepar tikus (ad.4.4.2.)

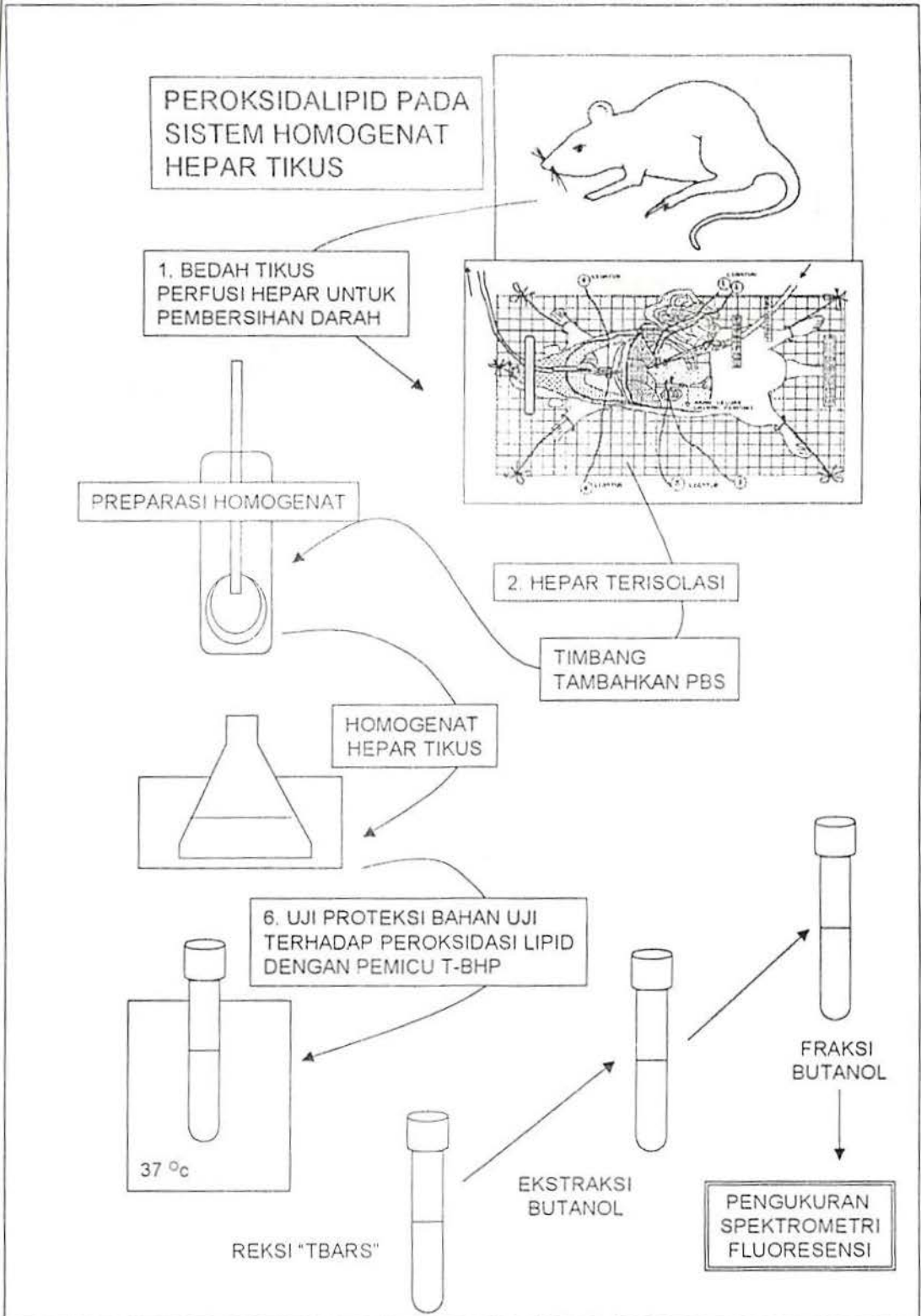
Kultur dilakukan pada dalam inkubator CO₂ pada temperatur 37 °C selama 15 menit. Kemudian kultur dihentikan segera dengan memindahkan kedalam tabung reaksi pada temperatur dingin air-es, untuk selajutnya dilakukan pengukuran TBARS secara spektrofotometri fluoresensi.

(3) Pengukuran "TBARS" pada hasil kultur hepatosit tikus secara spektrofotometri fluoresensi.

Pengukuran dilakukan secara analogi seperti pada metoda percobaan homogenat hepar tikus (ad.4.4.2.)

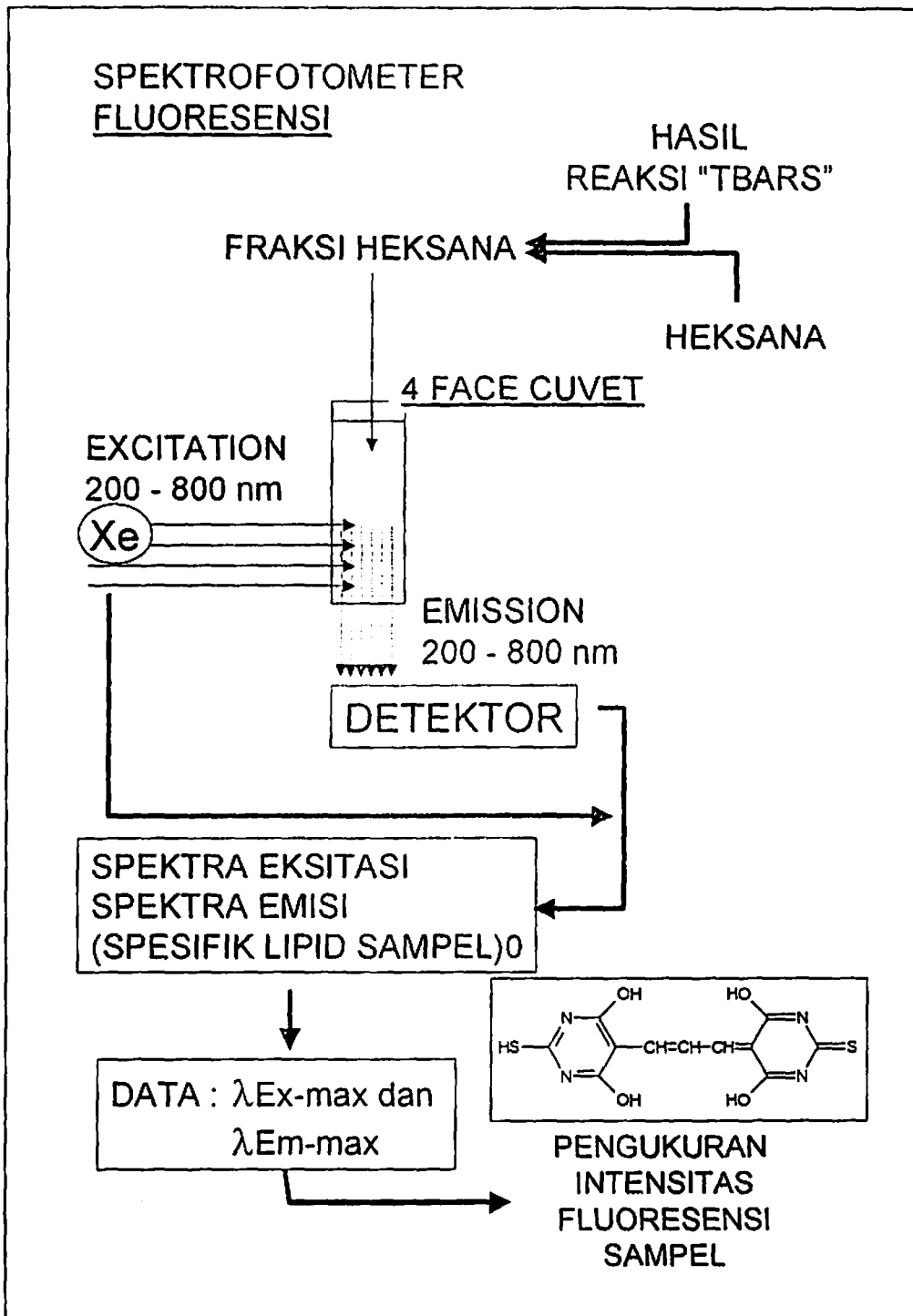


Gambar- 10 Skematik rancangan percobaan antiradikal DPPH secara spektrofotometri fluoresensi

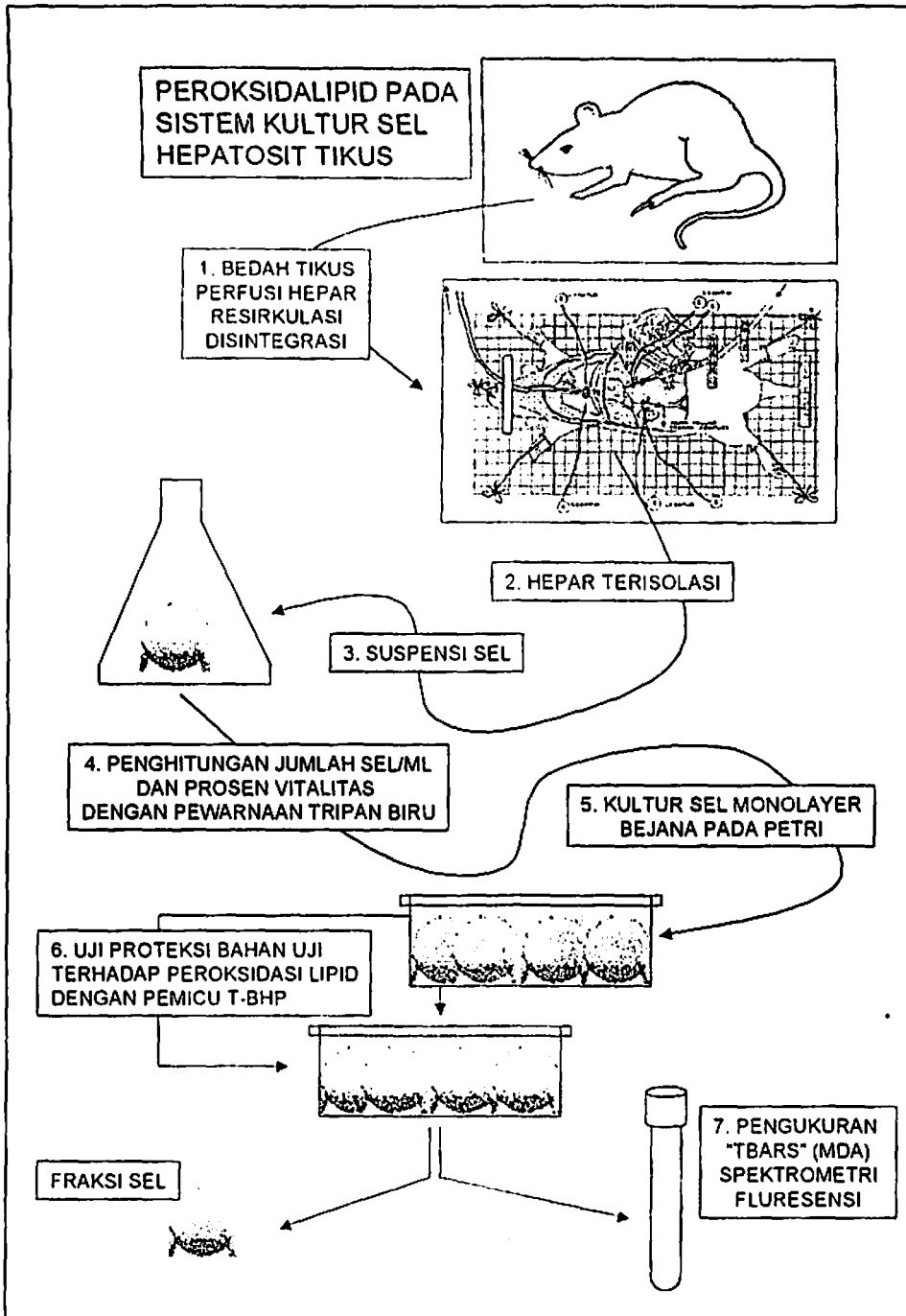


Gambar-11 Skematik rancangan percobaan antiperoksidalipid pada sistem homogenat hepar tikus





Gambar- 12 Skematik metoda pengukuran "TBARS" secara spektrofotometri fluoresensi



Gambar-13 Skematik rancangan percobaan antiperoksidalipid pada sistem kultur hepatosit tikus

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil uji bioaktivitas antiradikal DPPH

Dalam percobaan pengujian aktivitas antiradikal bebas DPPH dilakukan terhadap bahan uji pada sedemikian banyak konsentrasi sehingga diperoleh hasil 5 jenis konsentrasi yang besarnya %-aktivitas berada diantara 10% sampai 100%, dengan pengecualian bahwa jika konsentrasi sudah sedemikian besar tidak mencapai 10% atau jika konsentrasi diperbesar lagi diperoleh hasil yang tidak logis, misalnya sampai 10.000 ppm setara berat tertimbang (minyak atisir dan ekstrak Zingiberaceae). Hasil pengujian dipresentasikan sebagai diagram balok (bar-graph) untuk diperbandingkan, yaitu pada **Gambar-14, -15, -16** untuk *Curcuma spp.* Dan **Gambar-17, -18, -19** untuk Zingiberaceae.

Curcuma spp.

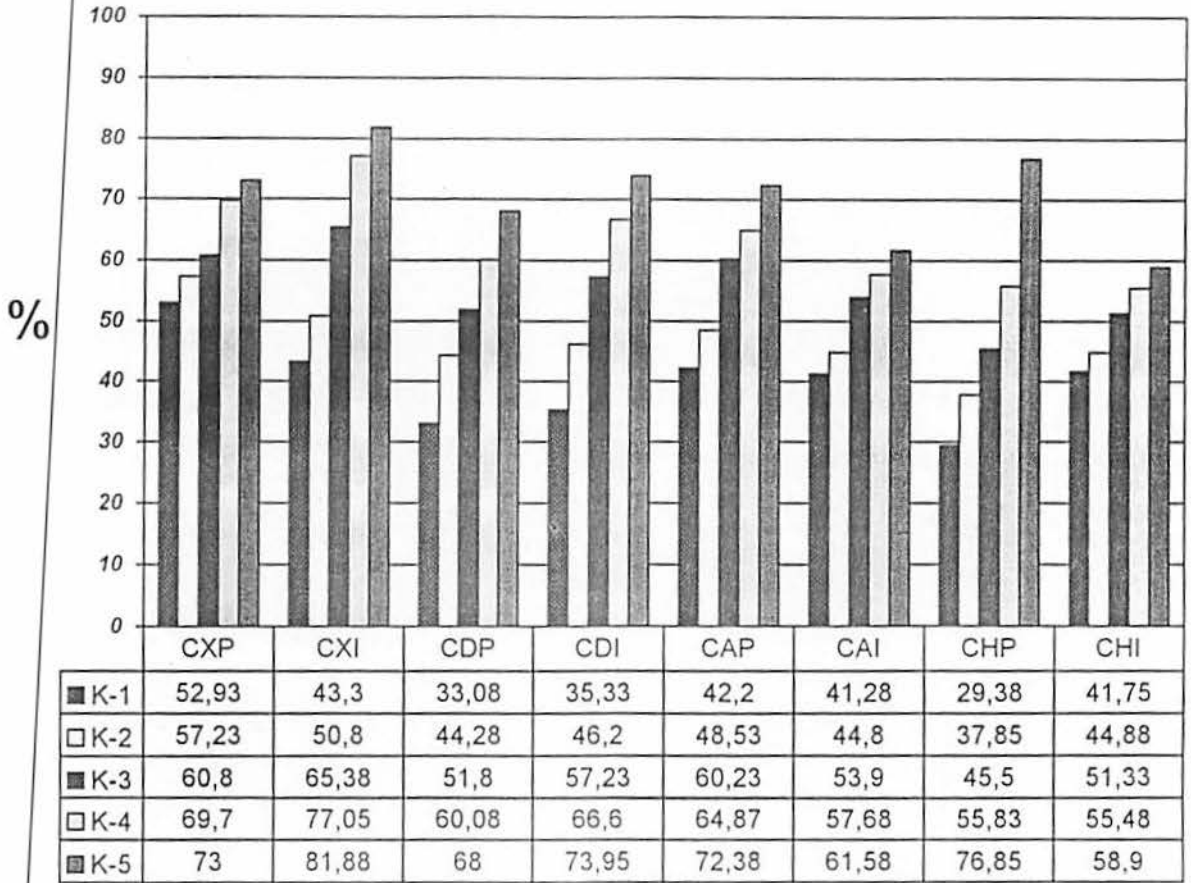
Pada **Gambar-14** nampak bahwa semua *Curcuma spp* menunjukkan aktivitas antiradikal bebas, namun harus dilihat berapa konsentrasinya untuk diperbandingkan pengaruh bentuk sediaan infus dengan perasan dan antar *Curcuma spp.* Sari yang paling besar aktivitasnya adalah perasan Kunyit (pada 1.000 – 2.000 ppm) yang masih lebih besar dari infusnya (4.000 – 8.000 ppm). Sari yang paling kecil (kurang kuat dibanding lainnya) adalah perasan Temugiring (55.000 – 75.000 ppm). Gejala bahwa infus lebih kuat dari perasan ada pula pada Temuireng. Pada Temulawak aktivitas perasan sama dengan infusnya. Besarnya aktivitas pada 3 menit (segera setelah pencampuran bahan uji pada larutan DPPH) tersebut pada umumnya semua meningkat setelah mencapai 60 menit, lihat **Gambar-15**. Pada **Gambar-16** (gabungan **Gambar-14** dan **Gambar-15**) lebih jelas digambarkan dengan arah anak panah. Untuk memperbandingkan kecepatan meningkatnya aktivitas dari 3 menit sampai 60 menit perlu dilakukan penelitian lanjutan. Secara sekilas diperbandingkan antara **Gambar-13** dan **Gambar-14** dapat dipilih konsentrasi minimal (diantara 5 konsentrasi) yang mencapai sudah mencapai aktivitas 100% atau mendekati 100%. Nampak bahwa kecepatan reaksi peningkatan aktivitas terbesar pada infus Temugiring, namun bukan berarti infus tersebut mempunyai aktivitas besar. Infus Temugiring diduga justru mempunyai aktivitas yang tidak spontan. Dengan

demikian sebaliknya bahwa Temulawak dan Kunyit memang mempunyai aktivitas besar dan sponta, tidak ada beda lagi antara 3 menit dan 60 menit.

Zingiber spp.

Pada **Gambar-17** nampak bahwa empat (4) minyak atsiri (Jahe dan 3 Lempuyang, wangi-pahit-gajah) praktis tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH, sedangkan minyak atsiri Bengle mempunyai aktivitas (250 – 1000 ppm), namun masih lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak metanol dari residu destilasi-nya (100 – 300 ppm). Ekstrak metanol yang lain semuanya mempunyai aktivitas dan yang terbesar adalah ekstrak metanol Jahe (60 – 150 ppm). Aktivitas ekstrak metanol Jahe dapat ditelusuri dari zat kandungan gingerol, yaitu suatu fenol yang tidak menguap dan berasa pedas serta menjadi landasan bioaktivitas antireumatik. Bagaimana dengan aktivitas setelah 60 menit (**Gambar-18**), tentu saja semua ekstrak metanol aktivitasnya meningkat dan yang tercepat adalah pada Jahe. Termasuk juga bahwa minyak atsiri Jahe dan Bengle juga meningkat (namun tetap lebih lemah dari ekstrak metanol-nya) sedangkan minyak Lempuyang tidak meningkat berarti. Peningkatan aktivitas dari 3 menit ke 60 menit dapat dilihat pada **Gambar-19** yang merupakan gabungan **Gambar-17** dan **Gambar-18** dengan melihat arah anak panah untuk masing masing species Curcuma.

**AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS DPPH 3 MENIT CURCUMA SPP
(DALAM % = PEREDAMAN ABSORBAN DPPH)**

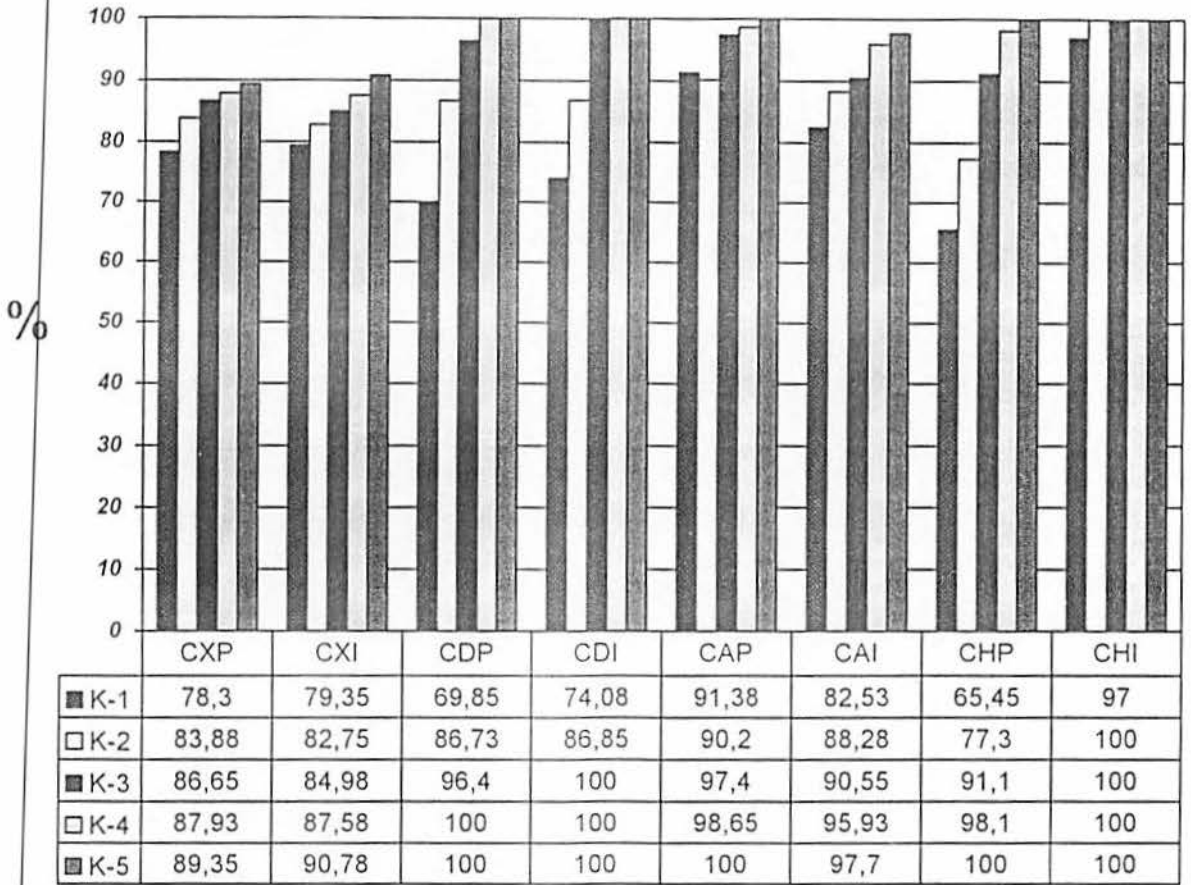


KETERANGAN GAMBAR

		KONSENTRASI (ppm)				
		K-1	K-2	K-3	K-4	K-5
Perasan Temu Lawak	CXP	5.000	7.500	10.000	12.500	15.000
Infus Temu Lawak	CXI	5.000	7.500	10.000	12.500	15.000
Perasan Kunyit	CDP	1.000	1.250	1.500	1.750	2.000
Infus Kunyit	CDI	4.000	5.000	6.000	7.000	8.000
Perasan Temu Ireng	CAP	15.000	20.000	25.000	30.000	35.000
Infus Temu ireng	CAI	12.500	15.000	17.500	20.000	22.500
Perasan Temu Giring	CHP	35.000	45.000	55.000	65.000	75.000
Infus Temu Giring	CHI	55.000	60.000	35.000	70.000	75.000

Gambar-14 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 3 menit dari sari rimpang (perasan dan infus) Curcuma spp.

**AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS DPPH 60 MENIT CURCUMA SPP
(DALAM % = PEREDAMAN PUNCAK ABSORBAN DPPH)**

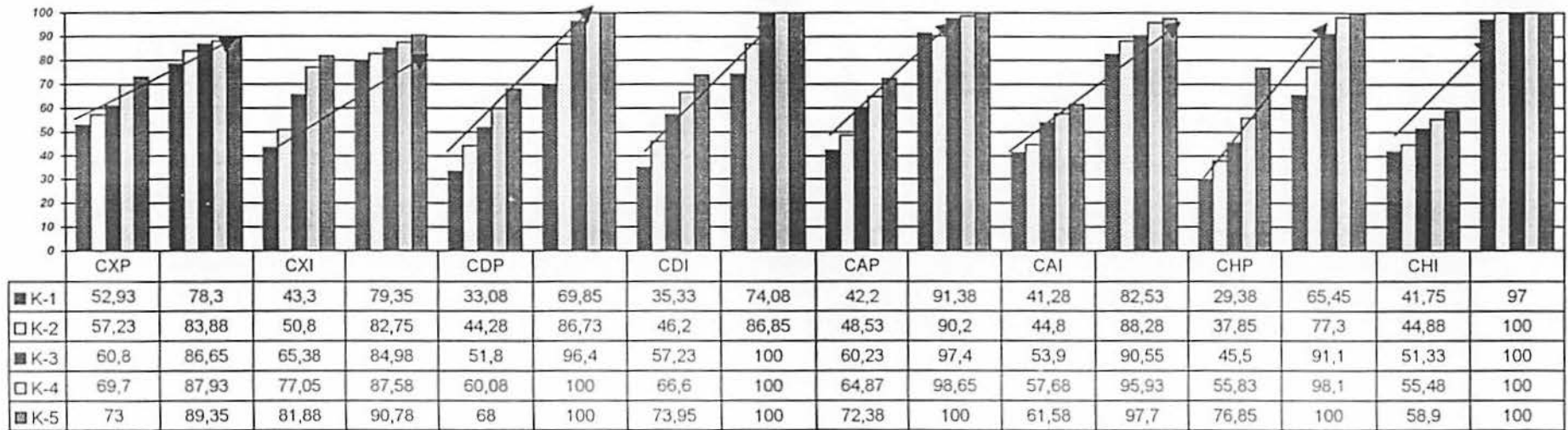


KETERANGAN GAMBAR

		KONSENTRASI (ppm)				
		K-1	K-2	K-3	K-4	K-5
Perasan Temu Lawak	CXP	5.000	7.500	10.000	12.500	15.000
Infus Temu Lawak	CXI	5.000	7.500	10.000	12.500	15.000
Perasan Kunyit	CDP	1.000	1.250	1.500	1.750	2.000
Infus Kunyit	CDI	4.000	5.000	6.000	7.000	8.000
Perasan Temu Ireng	CAP	15.000	20.000	25.000	30.000	35.000
Infus Temu ireng	CAI	12.500	15.000	17.500	20.000	22.500
Perasan Temu Giring	CHP	35.000	45.000	55.000	65.000	75.000
Infus Temu Giring	CHI	55.000	60.000	35.000	70.000	75.000

Gambar-15 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 60 menit dari sari rimpang (perasan dan infus) Curcuma spp.

AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS DPPH
 PADA 33 DAN 60 MENIT CURCUMA SPP
 IR-Perpustakaan Universitas Arifadonga
 (DALAM % = PEREDAMAN ABSORBAN DPPH)

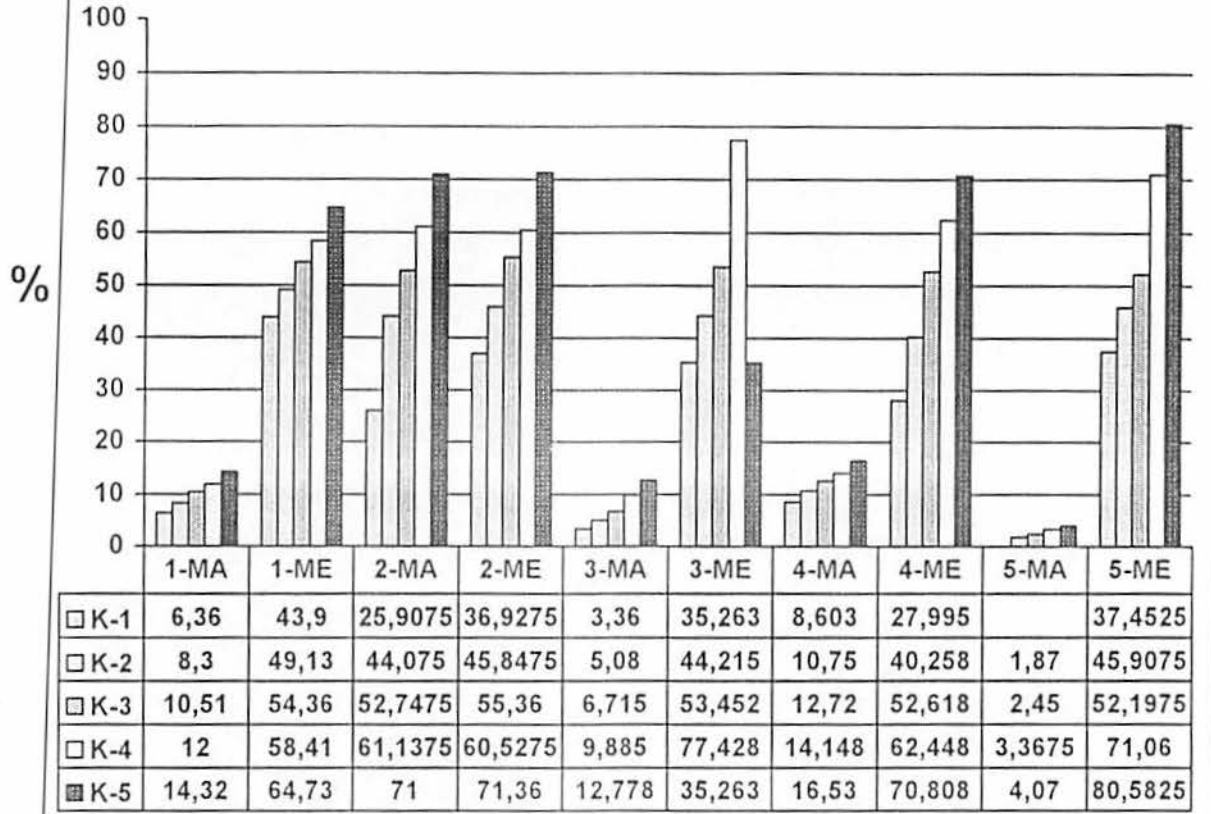


KETERANGAN GAMBAR

		KONSENTRASI (ppm)				
		K-1	K-2	K-3	K-4	K-5
Perasan Temu Lawak	CXP	5.000	7.500	10.000	12.500	15.000
Infus Temu Lawak	CXI	5.000	7.500	10.000	12.500	15.000
Perasan Kunyit	CDP	1.000	1.250	1.500	1.750	2.000
Infus Kunyit	CDI	4.000	5.000	6.000	7.000	8.000
Perasan Temu Ireng	CAP	15.000	20.000	25.000	30.000	35.000
Infus Temu ireng	CAI	12.500	15.000	17.500	20.000	22.500
Perasan Temu Giring	CHP	35.000	45.000	55.000	65.000	75.000
Infus Temu Giring	CHI	55.000	60.000	35.000	70.000	75.000

Gambar-16 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 33 menit dibandingkan dengan 60 menit dari sari rimpang (perasan dan infus) Curcuma spp.

AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS DPPH 3 MENIT ZINGIBER SPP
(DALAM % = PEREDAMAN PUNCAK ABSORBAN DPPH)



KETERANGAN GAMBAR

MA : Minyak atsiri

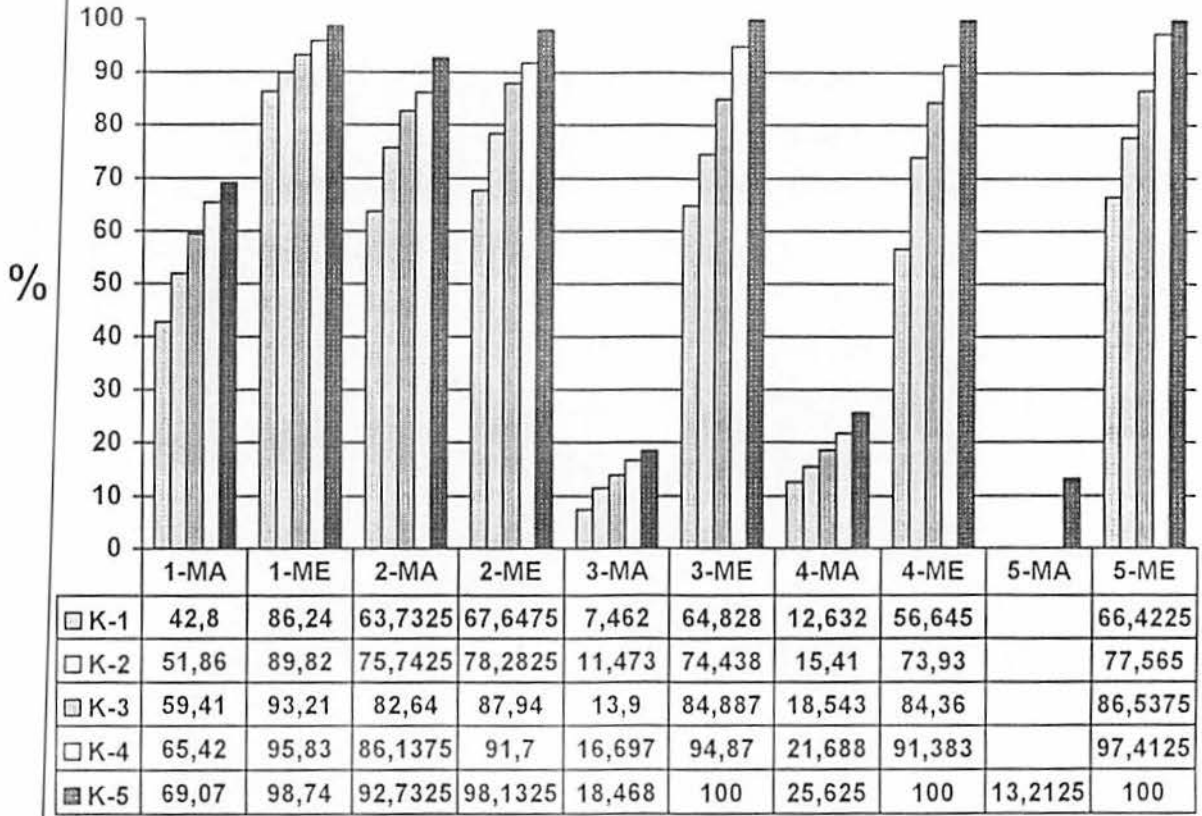
ME : Fraksi Metanol

KONSENTRASI (ppm)

		K-1	K-2	K-3	K-4	K-5
Jahe	1-MA	5333,3	7333,3	9333,3	11333,3	13333,3
Jahe	1-ME	62,67	81,47	100,27	119,07	150,40
Bengle	2-MA	250	500	625	750	1000
Bengle	2-ME	100	150	200	250	300
Lempuyang Pahit	3-MA	1.010	2.690	4.380	6.060	7.070
Lempuyang Pahit	3-ME	126	210	294	420	630
Lempuyang Wangi	4-MA	3.350	5.025	6.700	8.375	10.050
Lempuyang Wangi	4-ME	180	370	560	750	930
Lempuyang Gajah	5-MA		3567	6242	7133	10.000
Lempuyang Gajah	5-ME	252	378	504	756	1008

Gambar-17 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 3 menit dari sari rimpang (minyak atsiri dan ekstrak metanol) Zingiber spp.

AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS DPPH 60 MENIT ZINGIBER SPP
(DALAM % = PEREDAMAN PUNCAK ABSORBAN DPPH)



KETERANGAN GAMBAR

MA : Minyak atsiri
ME : Fraksi Metanol

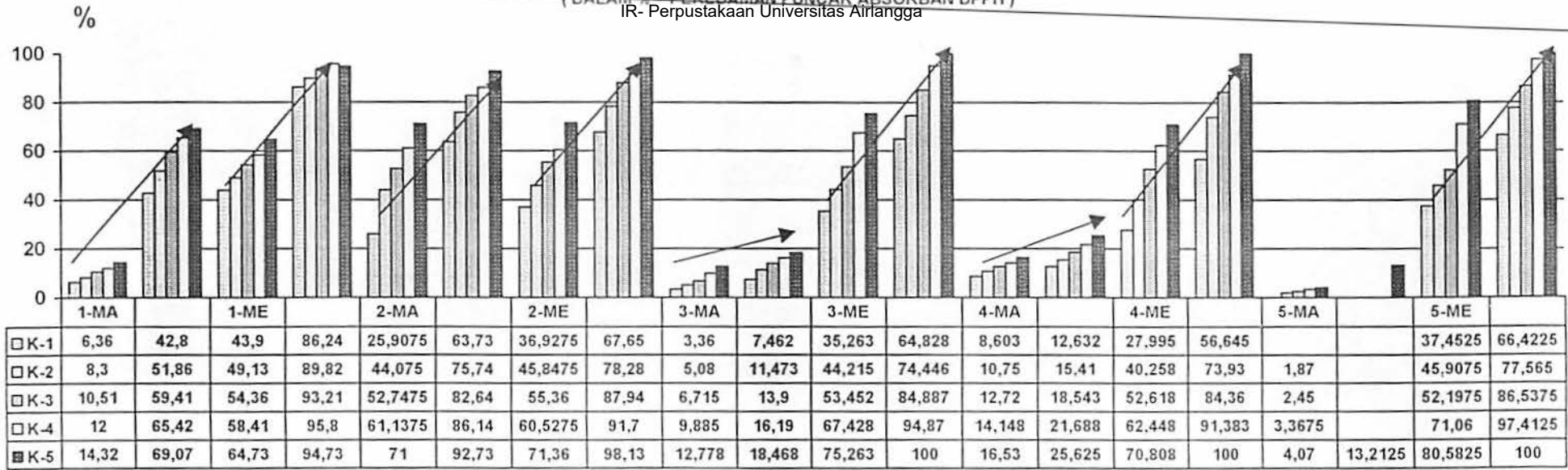
		KONSENTRASI (ppm)				
		K-1	K-2	K-3	K-4	K-5
Jahe	1-MA	5333,3	7333,3	9333,3	11333,3	13333,3
Jahe	1-ME	62,67	81,47	100,27	119,07	150,40
Bengle	2-MA	250	500	625	750	1000
Bengle	2-ME	100	150	200	250	300
Lempuyang Pahit	3-MA	1.010	2.690	4.380	6.060	7.070
Lempuyang Pahit	3-ME	126	210	294	420	630
Lempuyang Wangi	4-MA	3.350	5.025	6.700	8.375	10.050
Lempuyang Wangi	4-ME	180	370	560	750	930
Lempuyang Gajah	5-MA					10.000
Lempuyang Gajah	5-ME	252	378	504	756	1008

Gambar-18 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 60 menit dari sari rimpang (minyak atsiri dan ekstrak metanol) Zingiber spp.

AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS DPPH PADA 3 DAN 60 MENIT ZINGIBER SPP

(DALAM % = PEREDAMAN PUNCAK ABSORBAN DPPH)

IR- Perpustakaan Universitas Airlangga



KETERANGAN GAMBAR

MA : Minyak atsiri

ME : Fraksi Metanol

KONSENTRASI (ppm)

		K-1	K-2	K-3	K-4	K-5
Jahe	1-MA	5333,3	7333,3	9333,3	11333,3	13333,3
Jahe	1-ME	62,67	81,47	100,27	119,07	150,40
Bengle	2-MA	250	500	625	750	1000
Bengle	2-ME	100	150	200	250	300
Lempuyang Pahit	3-MA	1.010	2.690	4.380	6.060	7.070
Lempuyang Pahit	3-ME	126	210	294	420	630
Lempuyang Wangi	4-MA	3.350	5.025	6.700	8.375	10.050
Lempuyang Wangi	4-ME	180	370	560	750	930
Lempuyang Gajah	5-MA		3567	6242	7133	10.000
Lempuyang Gajah	5-ME	252	378	504	756	1008

Gambar-19 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada reaksi 3 menit dibandingkan dengan 60 menit dari sari rimpang (minyak atsiri dan ekstrak metanol) Zingiber spp.

2. Hasil uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus

Dalam percobaan pengujian aktivitas antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus dilakukan terhadap bahan uji pada sedemikian banyak konsentrasi sehingga diperoleh hasil 5 jenis konsentrasi yang besarnya %-aktivitas berada diantara 10% sampai 100% (seperti pada bab.5.1, pada antiradikal bebas DPPH), dengan pengecualian bahwa jika konsentrasi sudah sedemikian besar tidak mencapai 10% atau jika konsentrasi diperbesar lagi diperoleh hasil yang tidak logis, misalnya sampai 2.000 ppm setara berat tertimbang (minyak atisir dan ekstrak Zingiberaceae) dan 250.000 ppm (infus dan perasan *Curcuma* spp.). Hasil pengujian dipresentasikan sebagai diagram balok (bar-graph) untuk diperbandingkan, yaitu pada **Gambar-20** untuk *Curcuma* spp. Dan **Gambar-21** untuk Zingiberaceae.

Bioaktivitas antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus perasan dan infus rimpang *Curcuma* spp. nampak seperti dipresentasikan pada **Gambar-20**, dan antara keduanya, infus dan perasan tidak nampak jauh berbeda pada semua species. Semuanya tidak mencapai lebih dari 50 %, kecuali perasan temulawak (75.000 ppm) dan infus Temuireng (250.000 ppm).

Minyak atsiri dan ekstrak rimpang Zingiberacea juga mempunyai bioaktivitas antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus seperti dipresentasikan pada **Gambar-21**. Besarnya bioaktivitas juga hampir sama dengan pada *Curcuma* spp. dan tidak dapat mencapai diatas 50%, pada konsentrasi yang relatif lebih kecil. Pada konsentrasi yang lebih besar, selama percobaan orientasi justru menyebabkan hasil yang tidak logis, dalam pengukuran fluoresensi "MDA" dengan pereaksi "TBARS" memberikan angka yang negatif. Interpretasi gejala yang sedemikian disimpulkan bahwa pada konsentrasi yang lebih besar menyebabkan kondisi merusak (toksik) sistem biologis homogenat hepar, misalnya rusaknya enzim pemetabolisme sehingga t-BHP sebagai pemicu (penginduksi) peroksidalipid tidak menunjukkan angka yang besar. T-BHP akan memicu peroksidalipid setelah melepas radikal hidroksi melalui proses metabolisme. Jadi jika bahan uji menyebabkan hambatan enzim pemetabolisme maka model percobaan sudah tidak pada kondisi terpakai dan perhitungan dapat menyebabkan angka negatif, karena bahan uji sendiri sudah toksik menyebabkan peroksidalipid melalui mekanisme yang lain. Gejala jika konsentrasi diperbesar maka justru bioaktivitas menurun nampak pada minyak

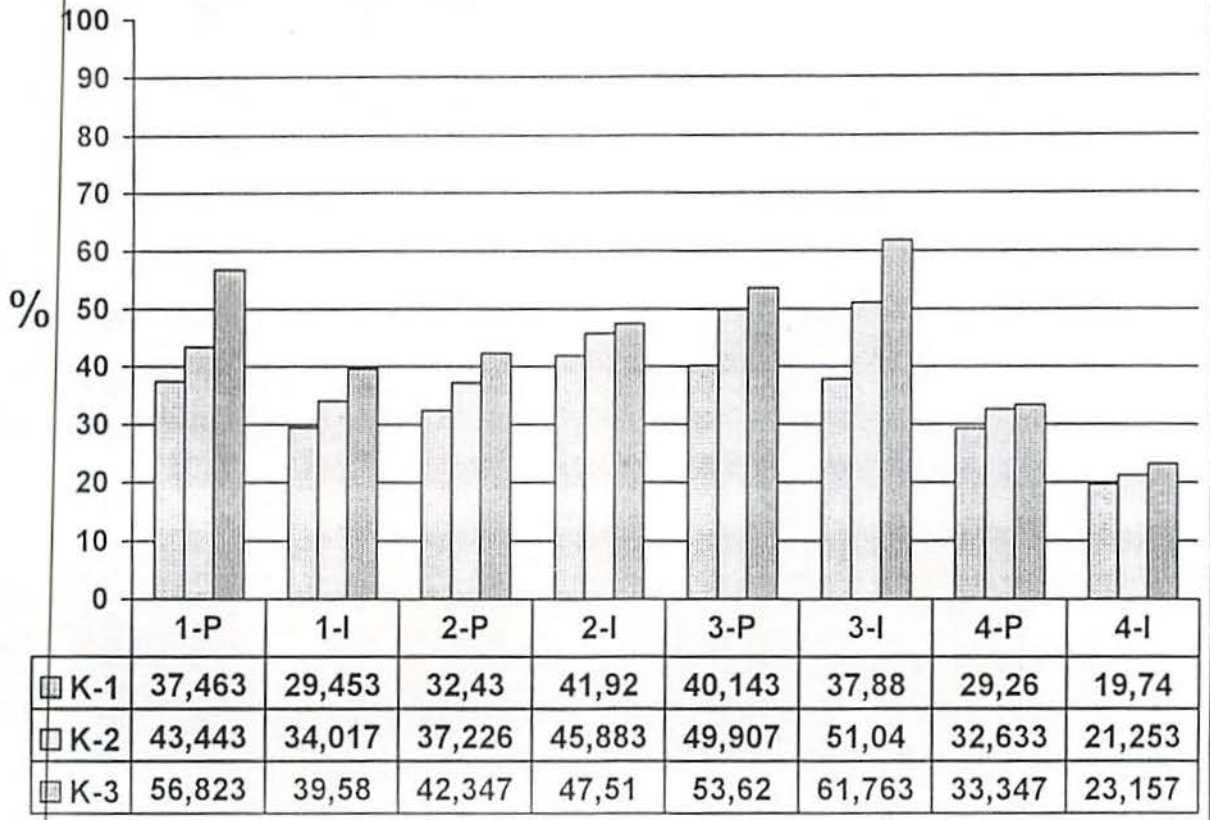
dan ekstrak Jahe. Penelitian harus dilanjutkan dengan bahan uji yang lebih selektif yaitu dilakukan pemisahan atau fraksinasi terlebih dahulu, bukan pada bahan uji minyak atisiri atau ekstrak metanolnya yang jelas mengandung banyak komponen. Komponen yang tidak aktif namun jumlah besar memang dapat menyebabkan rusaknya struktur biologis sistem homogenat hepar dan dapat menyebabkan hasil perhitungan yang "false" negatif. Secara umum semua bahan uji mempunyai prospek untuk diteliti lebih lanjut sebagai antiperoksidalipid, terutama pada Jahe (12 ppm) dan Bengle (2000 ppm) yang bioaktivitasnya dapat mencapai sekitar 50%.

5.3 Hasil uji bioaktivitas antiperoksidalipid pada kultur hepatosit tikus

Hasil pengujian bioaktivitas antiperoksidalipid pada sistem kultur hepatosit dipresentasikan pada **Gambar-22** dan dapat disimpulkan bahwa semuanya mempunyai bioaktivitas namun dibawah 50% walaupun konsentrasi ditingkatkan sampai 200.000 ppm. Dapat juga ditunjukkan bahwa infus Temulawak relatif mempunyai konsentrasi yang lebih besar pada konsentrasi 100.000 – 150.000 ppm mempunyai bioaktivitas antara 40 – 50%.

Terhadap sari rimpang Zingiberaceae tidak dilakukan pengujian karena pertimbangan waktu dan melihat hasilnya pada pengujian pada homogenat menunjukkan hasil yang kurang prospektif dan ada dugaan dapat lebih menyebabkan kerusakan sistem uji biologis. Pembahasan bagaimana membandingkan bioaktivitas pada sistem invitro molekuler (antiradikal bebas DPPH) dan bioaktivitas pada tingkat seluler (homogenat dan kultur hepatosit) dibahas pada bab berikutnya (bab.5.4.).

**BIOAKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID (%HAMBATAN MDA=TBARS)
CURCUMA SPP PADA HOMOGENAT HEPAR TIKUS**



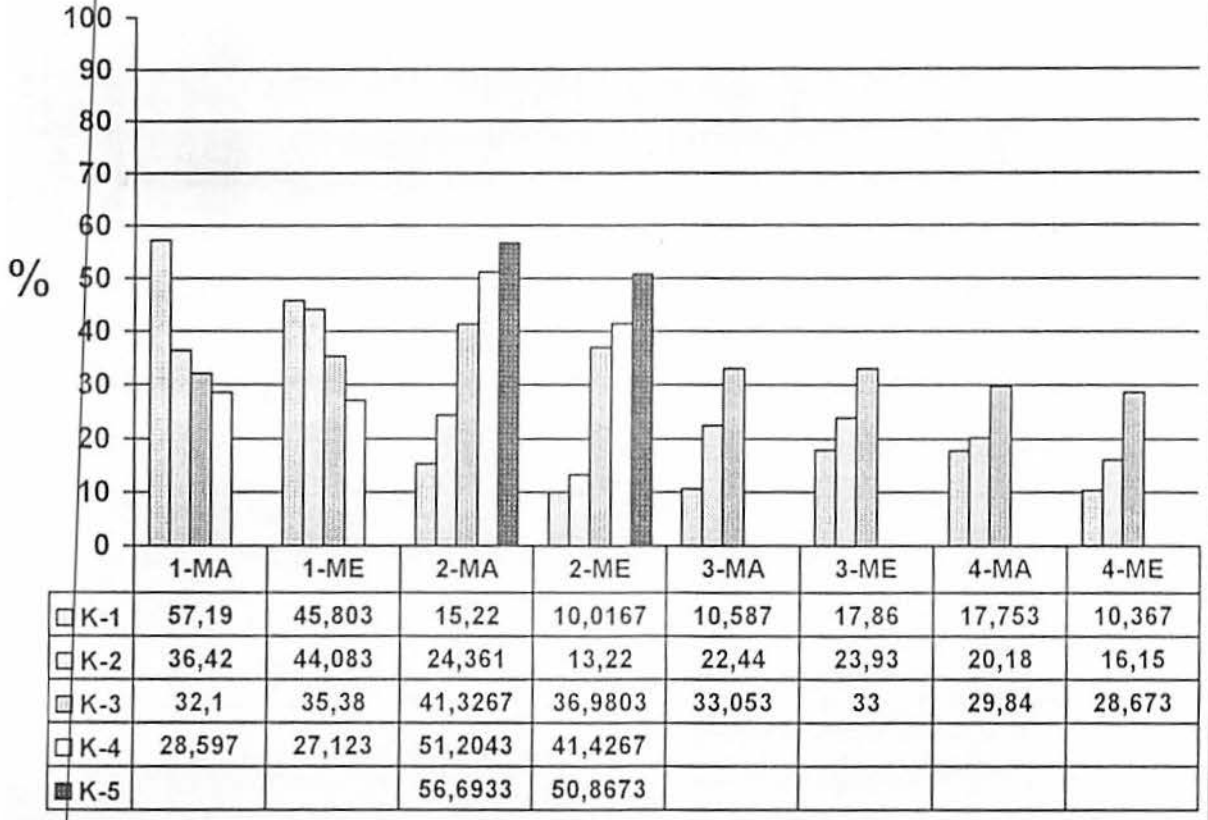
KETERANGAN

		KONSENTRASI (ppm)		
		K-1	K-2	K-3
1-P	Perasan Temu Lawak	25.000	50.000	75.000
1-I	Infus Temu Lawak	25.000	50.000	75.000
2-P	Perasan Kunyit	75.000	100.000	125.000
2-I	Infus Kunyit	75.000	100.000	125.000
3-P	Perasan Temu Ireng	175.000	200.000	250.000
3-I	Infus Temu ireng	175.000	200.000	250.000
4-P	Perasan Temu Giring	200.000	225.000	250.000
4-I	Infus Temu Giring	200.000	225.000	250.000

Gambar-20 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiperoksidalipid dengan pencetus BHP pada sistem homogenat hepar tikus dari sari rimpang (perasan dan infus) *Curcuma spp.*



BIOAKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID (% HAMBATAN MDA=TBARS)
ZINGIBER SPP PADA HOMOGENAT HEPAR TIKUS

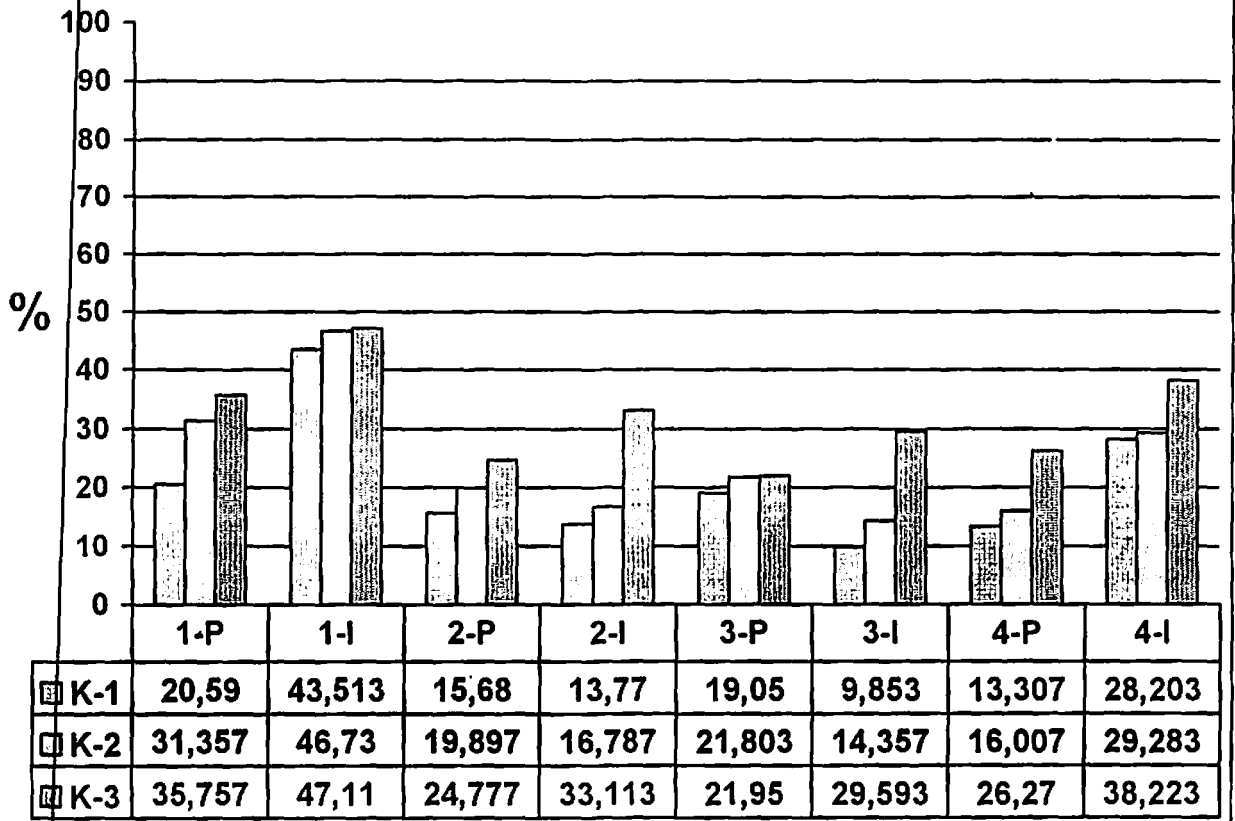


KETERANGAN GAMBAR

		KONSENTRASI (ppm)				
		K-1	K-2	K-3	K-4	K-5
MA : Minyak atsiri						
ME : Fraksi Metanol						
Jahe	1-MA	12	30	60	120	
Jahe	1-ME	14	35	70	140	
Bengle	2-MA	125	250	500	1000	2000
Bengle	2-ME	125	250	500	1000	2000
Lempuyang Pahit	3-MA	25	50	100		
Lempuyang Pahit	3-ME	10	25	50		
Lempuyang Wangi	4-MA	10	25	50		
Lempuyang Wangi	4-ME	10	25	50		

Gambar-21 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiperoksidalipid dengan pencetus BHP pada sistem homogenat hepar tikus dari sari rimpang (minyak atsiri dan ekstrak metanol) Zingiber spp.

**BIOAKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID (%HAMBATAN MDA=TBARS)
CURCUMA SPP PADA KULTUR HEPATOSIT TIKUS**



KETERANGAN		KONSENTRASI (ppm)		
		K-1	K-2	K-3
1-P	Perasan Temu Lawak	100.000	125.000	150.000
1-I	Infus Temu Lawak	100.000	125.000	150.000
2-P	Perasan Kunyit	50.000	75.000	100.000
2-I	Infus Kunyit	100.000	125.000	150.000
3-P	Perasan Temu Ireng	100.000	125.000	150.000
3-I	Infus Temu ireng	100.000	125.000	150.000
4-P	Perasan Temu Giring	200.000	225.000	250.000
4-I	Infus Temu Giring	200.000	225.000	250.000

Gambar-22 Presentasi bargraf hasil pengukuran aktivitas antiperoksidalipid dengan pencetus BHP pada sistem kultur hepatosit tikus dari sari rimpang (perasan dan infus) *Curcuma spp.*

4.4 Pembahasan integratip hasil uji bioaktivitas molekuler dan seluler

Hasil pengujian antiradikal bebas pada sistem DPPH, Homogenat dan hepatosit untuk dapat dianalisis secara integratip untuk melihat potensi masing-masing, melihat pengaruh bentuk sediaan terhadap aktivitasnya, serta melihat perbandingan antar sistem uji.

Curcuma spp.

Pada Tabel.5.(1) dan Gambar-23 dapat dilihat perbandingan konsentrasi aktif masing-masing bahan uji setiap Curcuma spp. dan selain itu dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

- (1) Pada pengujian antiradikal DPPH, konsentrasi aktif terkecil terjadi pada perasan kunyit, artinya paling potent/prospektip.
- (2) Pada pengujian antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus, konsentrasi terkecil terjadi Temulawak baik perasan maupun infusnya, artinya bahwa keduanya paling poten/prospektip.
- (3) Pada pengujian antiperoksidalipid pada kultur hepatosit, konsentasi terkecil terjadi pada perasan kunyit, artinya paling poten/prospektip.

Tiga kesimpulan tersebut masih dapat dikaitkan dengan kandungan kurkuminoid dan bahkan apakah kurkumin atau desmetoksi-kurkumin, perlu diteliti lebih lanjut.

Tabel : 5.(1) Ringkasan hasil pengujian untuk melihat rentang konsentrasi aktif antiradikal bebas pada sistem DPPH, Homogenat dan hepatosit untuk Curcuma spp.

	Curcuma spp	RENTANG KONSENTRASI AKTIP (ppm)		
		DPPH	HOMOGENAT	HEPATOSIT
1	Perasan Temu Lawak	5.000-15.000	25.000-75.000	100.000-150.000
			terkecil	
	Infus Temu Lawak	5.000-15.000	25.000-75.000	100.000-150.000
			terkecil	
Perasan dan infus mempunyai aktivitas antiperoksida lipid terbesar (diantara Curcuma spp.), dan pada dua sari tersebut aktivitas DPPH > Homogenat > Hepatosit				
	Perasan Kunyit	1.000-2.000	75.000-125.000	50.000-100.000
		terkecil		terkecil
	Infus Kunyit	4.000-8.000	75.000-125.000	100.000-150.000
Pada perasan dan infus, aktivitas DPPH > Homogenat. Aktivitas pada infus hepatosit < homogenat, sedangkan perasan pada Hepatosit > Homogenat				
3	Perasan Temu Ireng	15.000-35.000	175.000-250.000	100.000-150.000
	Infus Temu ireng	12.500-22.500	175.000-250.000	100.000-150.000
Pada perasan dan infus, aktivitas DPPH > Homogenat , sedangkan pada Hepatosit > Homogenat				
4	Perasan Temu Giring	35.000-75.000	200.000-250.000	200.000-250.000
	Infus Temu Giring	55.000-75.000	200.000-250.000	200.000-250.000
Pada perasan dan infus, aktivitas DPPH > Homogenat Sedangkan pada Hepatosit = homogenat				

Zingiber spp.

Pada Tabel.5.(2) dan Gambar-24 dapat dilihat perbandingan konsentrasi aktif untuk bahan uji Zingiber spp. Dari tabel tersebut dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

- (1) Pada pengujian antiradikal bebas DPPH, konsentrasi aktif terkecil terjadi pada ekstrak metanol Jahe, artinya paling poten/prospektip.
- (2) Pada pengujian antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus, konsentrasi terkecil pada ekstrak metanol dan minyak atsiri dari Jahe dan Lempuyang (pahit dan wangi), artinya keduanya lebih poten/prospektip. Sedangkan Bengle relatif kurang poten/prospektip.

Jika dilihat dari bahan ekstrak metanol Jahe, kesimpulan tersebut dapat saja dikaitkan dengan kemungkinan kandungan gingerol yang memang dilaporkan bioaktif untuk antiinflamasi. Untuk bahan yang lain dalam Zingiber spp., justru menjadi perhatian untuk penelitian fitokimia lanjutan

Tabel : 5.(2) Ringkasan hasil pengujian untuk melihat rentang konsentrasi aktif antiradikal bebas pada sistem DPPH, Homogenat dan hepatosit untuk Zingiberacea spp.

	Zingiber spp		RENTANG KONSENTRASI AKTIP (ppm)	
			DPPH	HOMOGENAT
1	Jahe	Minyak atsiri	5333,3 – 13.333,3	12 – 120
	Jahe	Ekstrak metanol	62,67 – 150,40	14 – 140
			terkecil	
Ekstrak metanol mempunyai aktivitas antiradikal DPP paling poten, sedangkan minyak atsirinya aktif pada konsentrasi ± 100 kalinya, namun aktif pula pada sistem homogenat seperti ekstrak metanol.				
2	Bengle	Minyak atsiri	250 – 1000	125 – 2.000
	Bengle	Ekstrak metanol	100 – 300	125 – 2.000
	Minyak atsiri dan ekstrak metanolnya relatif mempunyai potensi yang sama pada uji-DPPH dan homogenat.			
3	Lempuyang pahit	Minyak atsiri	1.010 – 7.010	25 – 100
	Lempuyang pahit	Ekstrak metanol	126 – 630	10 - 50
	Ekstrak metanol mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH sedangkan minyak atsirinya aktif pada konsentrasi 10 kali lebih besar. Minyak atsiri dan ekstrak metanolnya relatif mempunyai potensi yang sama pada uji-homogenat.			
4	Lempuyang wangi	Minyak atsiri	3.350 – 10.050	10 – 50
	Lempuyang wangi	Ekstrak metanol	180 – 930	10 - 50
	Ekstrak metanol mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH, sedangkan minyak atsirinya aktif pada konsentrasi ± 15 kali lebih besar. Minyak atsiri dan ekstrak metanolnya relatif mempunyai potensi yang sama pada uji- homogenat.			
5	Lempuyang gajah	Minyak atsiri	3.567 – 10.000	
	Lempuyang gajah	Ekstrak metanol	378 – 1.008	
	Ekstrak metanol mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH, sedangkan minyak atsirinya aktif pada konsentrasi ± 10 kali lebih besar.			

CATATAN :

Pada Zingiberacea belum dilakukan uji pada sistem kultur hepatosit.
Sari lempuyang gajah belum diuji aktivitasnya pada homogenat hepar.

Pada Tabel.5.(3) dapat dilihat perbandingan pengaruh bentuk sediaan terhadap aktivitas antiradikal bebas. Berdasarkan tabel dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

- (1) Curcuma spp. : Pada sistem kultur hepatosit, perasan Temulawak dan Temugiring. mempunyai aktivitas lebih kecil dari pada di homogenat. Sedangkan pada Kunyit dan Temuireng sebaliknya.
- (2) Zingiber spp. : Ekstrak metanol mempunyai aktivitas DPPH lebih besar dari pada minyak atsiri-nya. Sedangkan pada homogenat umumnya sama atau lebih besar.

Tabel : 5.(3) Ringkasan hasil pengujian untuk melihat pengaruh bentuk sediaan terhadap aktivitas antiradikal bebas

PENGARUH BENTUK SEDIAAN PADA AKTIVITAS ANTIDARDIKAL BEBAS			
PERASAN BANDING INFUS			
CURCUMA SPP	DPPH	HOMOGENAT	HEPATOSIT
Temulawak	SAMA	BESAR	KECIL
Kunyit	BESAR	SAMA	BESAR
Temuireng	KECIL	SAMA	BESAR
Temugiring	KECIL	BESAR	KECIL
Catatan			
EKSTRAK METANOL BANDING MINYAK ATSIRI			
ZINGIBER SPP	DPPH	HOMOGENAT	HEPATOSIT
Jahe	BESAR	SAMA	Belum ada data
Bengle	BESAR	SAMA	
Lempuyang pahit	BESAR	BESAR	
Lempuyang wangi	BESAR	SAMA	
Lempuyang gajah	BESAR		
Catatan	NA : Not Available Minyak atsiri relatif tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH		

Pada Tabel.5.(4) dapat dilihat perbandingan antar sistem pengujian molekuler dan seluler.

Untuk Curcuma spp. , sebagai berikut

- (1) Konsentrasi aktivitas antiradikalbebas DPP lebih kecil pada semua bahan uji Curcuma spp. Artinya bahwa aktivitas pada homogenat lebih kecil. dari pada kemampuannya menangkap radikal DPPH.
- (2) Konsentrasi aktif pada kultur hepatosit relatif sama dengan aktivitas pada homogenat terjadi pada bahan Kunyit dan Temugiring. Pada Temu ireng,

konsentrasi aktif pada hepatosit lebih kecil (lebih aktif) dari pada homogenat. Pada Temu lawak, konsentrasi aktif pada hepatosit lebih besar (kurang aktif) dari pada homogenat.

Untuk Zingiber spp., sebagai berikut :

- (1) Konsentrasi aktif minyak atsiri pada DPPH lebih besar dari pada homogenat untuk Jahe dan Lempuyang (pahit dan wangi), artinya minyak atsiri lebih tidak aktif dari pada di homogenat. Sedangkan pada Bengle sama aktif pada DPPH dan homogenat.
- (2) Konsentrasi aktif ekstrak metanol pada DPPH sama dengan pada homogenat terjadi pada Jahe dan bengle. Sedangkan Lempuyang (pahit dan wangi) mempunyai konsentrasi aktif pada homogenat lebih kecil dari pada terhadap DPPH, lempuyang lebih aktif pada homogenat.

Tabel : 5.(4) Ringkasan hasil pengujian untuk melihat pengaruh bentuk sediaan terhadap aktivitas antiradikal bebas

PENGARUH BENTUK SEDIAAN PADA AKTIVITAS ANTIDARDIKAL BEBAS				
PERBANDINGAN AKTIVITAS DALAM SISTEM				
CURCUMA SPP	DPPH	HOMOGENAT	HEPATOSIT	
1	Perasan Temulawak	1-3 >	> 5-15 >	> 20-30
	Infus Temulawak	1-3 >	> 5-15 >	> 20-30
2	Perasan Kunyit	1-2 >	> 75-125 =	= 50-100
	Infus Kunyit	1-8 >	> 75-125 =	= 100-125
3	Perasan Temuireng	1,5-3,5 >	> 175-250 <	< 100-150
	Infus Temuireng	12,5-22,5 >	> 175-250 <	< 100-150
4	Perasan Temugiring	35-75 >	> 200-250 =	= 200-250
	Infus Temugiring	55-75 >	> 200-250 =	= 200-250
Catatan	> : lebih aktif, arah kiri atau kanan < : kurang aktif, arah kiri atau kanan		= : tidak beda besar aktivitasnya	
ZINGIBER SPP	DPPH	HOMOGENAT		
1	Jahe minyak atsiri	500-1300 <	< 1,2-12	
	Jahe ekstrak metanol	6,3-15 =	= 1,4-14	
2	Bengle minyak atsiri	2,5-10 =	= 1,25-20	
	Bengle ekstrak metanol	1-3 >	> 1,25-20	
3	Lempuyang pahit minyak atsiri	50-350 <	< 1-4	
	Lempuyang pahit ekstrak metanol	12,6-63 <	< 1-5	
4	Lempuyang wangi minyak atsiri	335-1005 <	< 1-5	
	Lempuyang wangi ekstrak metanol	18-93 <	< 1-5	
5	Lempuyang gajah minyak atsiri	3.567 – 10.000 ?	? NA	
	Lempuyang gajah ekstrak metanol	378 – 1.008 ?	? NA	
Catatan	NA : Not Available Minyak atsiri relatif tidak mempunyai aktivitas antiradikal bebas DPPH			

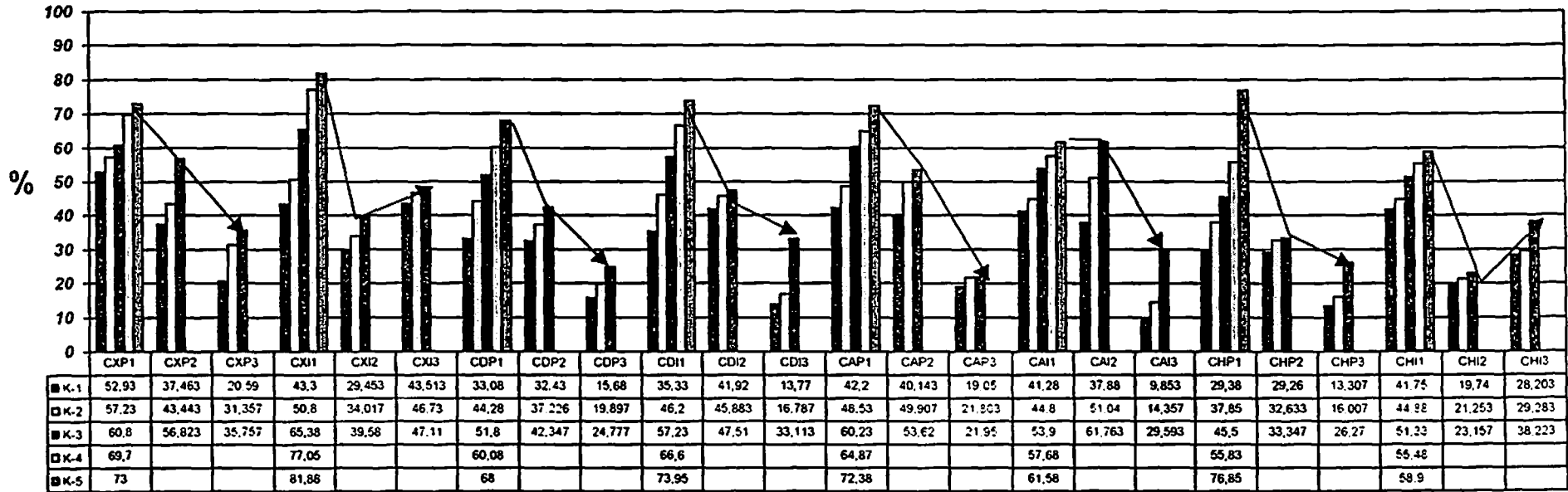
Ringkasan hasil penelitian :

Secara keseluruhan, berdasarkan hasil penelitian dapat disusun ringkasan hasil sebagai tercantum dalam Tabel.5.(5):

Tabel.5.(5) Ringkasan hasil penelitian

		ASPEK BAHASAN	
		BAHAN UJI	METODA
1.	DPPH	<p>1. Semua perasan dan infus rimpang <u>Curcuma spp</u> yang diuji mempunyai aktivitas antiradikal DPPH, dan yang paling poten adalah perasan kunyit (1000-2000 ppm).</p> <p>2. Semua ekstrak metanol rimpang <u>Zingiber spp.</u> mempunyai aktivitas lebih besar dari minyak atsirinya (aktivitas kecil) dan aktivitas paling poten adalah pada jahe (62,67 – 150,40 ppm)</p>	<p>Pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada 3 menit dan 60 menit dapat memprediksi apakah aktivitas besar dan spontan atau lambat namun meningkat. Perlu dilanjutkan untuk mengetahui kinetika kecepatan aktivitas sebagai parameter pelengkap.</p>
2.	HOMOGENAT	<p>1. Semua perasan dan infus <u>Curcuma spp.</u> mempunyai aktivitas antiperoksidalipid, dan yang paling paling poten adalah Temulawak (infus dan perasan).</p> <p>2. Pada <u>Zingiber spp.</u>, Ekstrak metanol dan minyak atsiri Jahe dan Lempuyang (pahit, wangi, gajah) mempunyai aktivitas antiperoksidalipid potensial, sedangkan bengle relatif lebih kecil</p>	<p>Bahan uji untuk sistem homogenat dapat sampai konsentrasi tinggi pada Curcuma spp. karena bentuknya sudah larut air (perasan dan infus) sedangkan kalau bentuk dilarutkan (dengan penambahan DMSO) tidak dapat dicobakan konsentrasi tinggi (Zingiber spp.) karena dapat berakibat kondisi sistem yang tidak fisiologis dengan hasil yang tidak valid lagi.</p>
3.	HEPATOSIT	<p><u>Curcuma spp.</u> mempunyai bioaktivitas antiperoksidalipid pada pada konsentrasi tinggi (lebih dari 100.000 ppm), kecuali persan Kunyit (50.000-100.000 ppm)</p>	<p>Sama halnya dengan sistem homogenat hepar. MDA yang terukur adalah fraksi yang diluar sel, untuk fraksi sel/dalam-sel terukur relatif kecil sekali.</p>
4.	INTEGRATIP	<p>Bentuk sari air panas (infus) \geq aktivitasnya dari sari dingin (perasan) Bentuk ekstrak metanol \geq dari minyak atsirinya</p>	<p>Konsentrasi aktif bahan uji pada DPPH < Homogenat \leq Hepatosit.</p>

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS
PADA UJI DPPH, HOMOGENAT HEPATOSIT
MASING-MASING CURCUMA SPP**



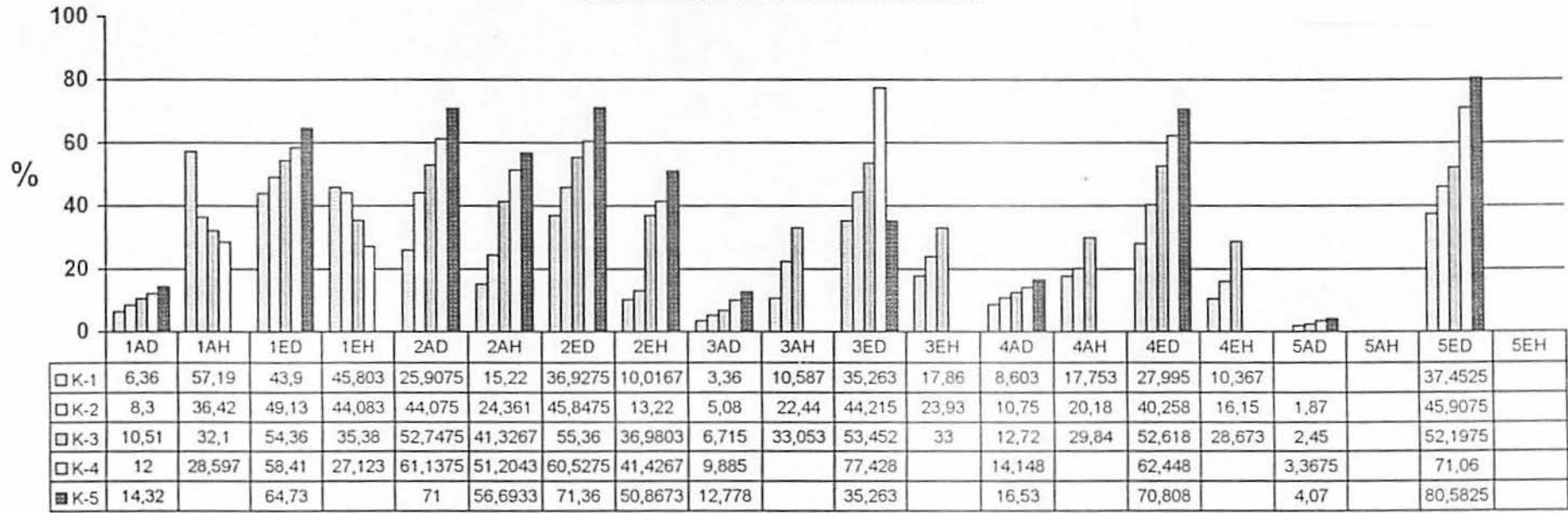
Keterangan Gambar

CX : Temulawak
 CD : Kunyit
 CA : Temu ireng
 CH : Temugiring
 P : Perasan
 I : Infus

1 : Uji antiradikal DPPH
 2 : Uji antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus
 3 : Uji antiperoksidalipid pada kultur hepatosit tikus

Gambar-23 Presentasi bargraf integratip (DPPH – Homogenat – Hepatosit) hasil pengujian Curcuma spp

PERBANDINGAN PEROKSIDASI LIPID DAN AKTIVITAS ANTIRADIKAL
 MINYAK ATSIRI DAN EKSTRAK METANOL ZINGIBER SPP
 PADA UJI ANTI-DPPH DAN SISTEM HOMOGENAT



Keterangan Gambar

- | | |
|---------------------|---|
| 1 : Jahe | A : Minyak atsiri |
| 2 : Bengle | E : Ekstrak metanol |
| 3 : Lempuyang pahit | |
| 4 : Lempuyang wangi | D : Uji antiradikal DPPH |
| 5 : Lempuyang gajah | H : Uji antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus |

Gambar-24 - Presentasi bargraf integratip hasil pengujian Zingiber spp

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

5. 1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menentukan apakah sari air rimpang tanaman obat familia Zingiberaceae, yaitu infus dan perasan *Curcuma* spp. (*Curcuma xanthorrhiza* (temulawak), *Curcuma domestica* (kunyit), *Curcuma aeruginosa* (temuireng) dan *Curcuma heyneana* (temugiring)) serta minyak atsiri dan ekstrak metanol yang disolubilizer dalam air (*Zingiber officinale* (jahe), *Zingiber purpureum* (cassumunar) (bengle), *Zingiber aromatica*, *Zingiber amarican* dan *Zingiber zerumbet* (lempuyang pahit-wangi-gajah) mempunyai bioaktivitas penangkap radikal bebas dalam sistem molekuler dan seluler, yaitu apakah mempunyai (i) aktivitas antiradikal bebas DPPH serta (ii) bioaktivitas anti-peroksida-lipid dalam sistem homogenat hepar tikus dan (iii) dalam sistem kultur hepatosit tikus, dengan parameter derajat terbentuknya MDA dengan pereaksi "thiobarbituric acid" secara spektrofotometri fluoresensi (TBARS), dapat disimpulkan sebagai berikut :

- (1) Semua perasan dan infus rimpang Curcuma spp yang diuji mempunyai aktivitas antiradikal DPPH dan antiperoksidalipid pada homogenat hepar tikus, dan yang paling besar adalah perasan kunyit (pada DPPH) serta infus dan perasan Temulawak (pada homogenat).
- (2) Semua ekstrak metanol rimpang Zingiber spp. mempunyai aktivitas antiradikal DPPH lebih besar dari minyak atsirinya (aktivitas kecil) namun aktivitas pada homogenat sama besar dimana Bengle relatif lebih kecil aktivitasnya (pada homogenat) dari pada yang lain.
- (3) Pada *Curcuma* spp., bentuk sari air panas (infus) \geq aktivitasnya dari sari dingin (perasan) sedangkan pada *Zingiber* spp., bentuk ekstrak metanol \geq dari minyak atsirinya
- (4) Konsentrasi aktip bahan uji pada DPPH < Homogenat, dan khusus pada *Curcuma* spp. konsentrasi aktip pada Homogenat \leq Hepatosit.

5.2. Saran-Saran

Berdasarkan proses pengerjaan penelitian dan hasil penelitian dapat dikemukakan beberapa saran-saran sebagai berikut :

- (1) Pengukuran aktivitas antiradikal bebas DPPH pada 3 menit dan 60 menit dapat memprediksi apakah aktivitas besar dan spontan atau lambat namun meningkat. Perlu dilanjutkan untuk mengetahui kinetika kecepatan aktivitas sebagai parameter pelengkap.
- (2) Pengukuran aktivitas pada sistem biologis, yaitu pada homogenat hepar tikus dan kultur hepatosit hendaknya diperhatikan batasan konsentrasi bahan uji sehingga besarnya solut tidak menyebabkan kondisi tidak fisiologis sehingga diperoleh hasil yang menyimpang tidak logis. Jika digunakan batasan maksimum 100 ppm untuk zat tunggal, maka dapat diperhitungkan selanjutnya seberapa besar maksimum untuk bahan campuran seperti ekstrak. Dalam penelitian digunakan batasan 10.000 ppm.
- (3) Metoda pengujian aktivitas antiradikal bebas DPPH serta (ii) bioaktivitas anti-peroksida-lipid dalam sistem homogenat hepar tikus dan (iii) dalam sistem kultur hepatosit tikus dapat diterapkan untuk tanaman obat Indonesia lainnya yang prospektif untuk terapi penyakit berdasarkan keterkaitan dengan bioaktivitas penangkapan radikal bebas.
- (4) Penelitian tingkat seluler dan molekuler dalam penelitian dapat dilanjutkan dengan rancangan percobaan seluler untuk konfirmasi apakah bioaktivitas antiradikal bebas dapat berakibat juga pada daya proteksinya pada mutasi dan karsinogenesis.
- (5) Penelitian perlu dilanjutkan dengan konsep percobaan in vivo pada hewan coba tikus dan kelinci, yaitu pemberian secara per oral dan diamati apakah serum hewan coba mempunyai daya penangkapan radikal DPPH yang cukup prospektif secara farmakokinetik.

BAB VII

DAFTAR PUSTAKA

1. Rice-Evan CA., Symons MCR (1991), Techniques in free radical research, Lab.tech.in Biochem.&Mol.Biol. V.22, Elsevier – Amsterdam.
2. Lee SK., Mbwambo ZH, Chung H, Luyengi L, Gamez EJ., Mehta RG., Kinghorn AD, Pezzuto JM (1998), Evaluation of the antioxidant potentiap of natural products, Com.Chem. High Throughput Screen, 1(1), 35-46.
3. Fukagawa NK. (1999), Aging : is oxidative stress a marker or is it causal ?, Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 222(3), 293-298.
4. Floyd RA (1999), Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders, Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 222(3), 236-245.
5. Hubel CA (1999), Oxidative stress in the pathogenesis of preclampsia, Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 222(3), 222-235.
6. Schulz HU., Niederau C., Klonowski-Stumpe H., Halangk W., Luthen R., Lippert H., (1999), Oxidative stress in acute pancreatitis, Hepatogastroenterology 46(29), 2736-2750.
7. Paolisso G., Esposito R., D'Alessio MA., Barbieri M. (1999), Primary and secondary prebention of atherosclerosis: is there a role for antioxidants?, Diabetes Metab. 25(4), 298-306.
8. Bennett JP. (1999), Free radicals, oxidative stress and the origin of Parkinson's disease, J.Neurol.Sci. 170(2), 75-76.
9. Liv Mathiesen, Karl Egil Malterud, Reidar B.S. (1995), Antioxidant Activity of Fruit Exudate and C-Methyleted Dihydroxychalcones from *Myrica gale*, Planta Med., 61, 515-518 .
10. Joycus M., Mortier F., Fleurentin J. (1995), Screening of antiradical, antilipoperoxidant and hepatoprotektive effects if nine plant extracts used in Caribbean folk medicine, Phytother.Res. 9, 228-230.
11. Yamaguchi T., Takamura H., Matoba T., Terao J. (1998), HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Biosci. Biotechnol. Biochem. , 62(6), 1201-1204.
12. Egashira T., Takayama F., Yamanaka Y., Komatsu Y. (1999), Monitoring of radical scavenging activity of per oral administration of Kampo medicine Sho-saiko-to in rats, Jpn. J.Pharmacol. 80(4), 379-382.

13. Chu CY., Tseng TH., Hwang JM., Chou FP., Wang CJ. (1999), Protective effects of capillarisin on ter-butylhydroperoxide-induced damage in rat primary hepatocytes, Arch. Toxicol. 73(4-5), 263-268.
14. Miura T., Muraoka S., Ogiso T. (1998), Antioxidant activity of adrenergic agents derived from catechol, Biochem. Pharmacol., 55(12), 2001-2006.
15. Seglen P.O.,(1976), Preparation of isolated rat liver cells, Methods Cell Biology 13, 29-83.
16. Wang S.R, et all. (1985), Isolation of rat hepatocytes with EDTA and their metabolic function in primary culture, In vitro cell & develop. 21, 526-530.
17. Muelerwellensiek A., (1987), Disertation - University of Tuebingen - German.
18. Mulja Hadi Santosa, Wahjo Dyatmiko, Abdul Rahman, Lestari Rahayu (1991), Aplikasi kultur sel hepatosit tikus terisolasi untuk uji hepatotoksisitas dan hepatoprotektip tanaman obat Indonesia, Laporan penelitian DP3M, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
19. Sudarman mardisiswojo, Harsono Radjakmangunsudarso (1964), Cabe Puyang, warisan nenek moyang.
20. Mulja Hadi Santosa (1995), Data 3D-GCMS minyak atsiri rimpang tanaman Zingiberaceae untuk bahasan kemotaksonomi dan pengembangan sintesis, Makalah seminar perkembangan kemotaksonomi dan perannya dalam penelitian bahan alam nabati di Indonesia, PPS-Universitas Airlangga.

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 3 MENIT
PERASAN RIMPANG SEGAR CURCUMA SPP.**

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUP	1,00	CX PR 1	211,70	52,93	,48	,24
	2,00	CX PR 2	228,90	57,23	,48	,24
	3,00	CX PR 3	243,20	60,80	,58	,29
	4,00	CX PR 4	278,80	69,70	1,01	,50
	5,00	CX PR 5	292,00	73,00	,70	,35
	6,00	CD PR 1	132,30	33,08	,48	,24
	7,00	CD PR 2	177,10	44,28	1,28	,64
	8,00	CD PR 3	207,20	51,80	1,55	,78
	9,00	CD PR 4	240,30	60,08	1,33	,67
	10,00	CD PR 5	272,00	68,00	1,49	,74
	11,00	CA PR 1	168,80	42,20	,41	,20
	12,00	CA PR 2	194,10	48,53	,53	,27
	13,00	CA PR 3	240,90	60,23	1,56	,78
	14,00	CA PR 4	259,50	64,87	1,49	,75
	15,00	CA PR 5	289,50	72,38	1,39	,70
	16,00	CH PR 1	117,50	29,38	1,32	,66
	17,00	CH PR 2	151,40	37,85	,68	,34
	18,00	CH PR 3	182,00	45,50	,49	,24
	19,00	CH PR 4	223,30	55,83	1,13	,57
	20,00	CH PR 5	307,40	76,85	15,44	7,72

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 60 MENIT
PERASAN RIMPANG SEGAR CURCUMA SPP.**

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUP	1,00	CX PR 1	313,20	78,30	,41	,20
	2,00	CX PR 2	335,50	83,88	,45	,23
	3,00	CX PR 3	346,60	86,65	,29	,14
	4,00	CX PR 4	351,70	87,93	,45	,22
	5,00	CX PR 5	357,40	89,35	,30	,15
	6,00	CD PR 1	279,40	69,85	,87	,43
	7,00	CD PR 2	346,90	86,73	1,03	,52
	8,00	CD PR 3	385,60	96,40	1,41	,70
	9,00	CD PR 4	400,00	100,00	,00	,00
	10,00	CD PR 5	400,00	100,00	,00	,00
	11,00	CA PR 1	325,40	81,35	,72	,36
	12,00	CA PR 2	360,80	90,20	1,52	,76
	13,00	CA PR 3	389,60	97,40	,35	,17
	14,00	CA PR 4	394,60	98,65	,57	,29
	15,00	CA PR 5	400,00	100,00	,00	,00
	16,00	CH PR 1	261,80	65,45	,75	,38
	17,00	CH PR 2	309,20	77,30	1,04	,52
	18,00	CH PR 3	364,40	91,10	,99	,49
	19,00	CH PR 4	392,40	98,10	,34	,17
	20,00	CH PR 5	400,00	100,00	,00	,00

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 3 MENIT
INFUS RIMPANG SEGAR CURCUMA SPP.**

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUP	1,00	CX INF 1	172,10	43,03	1,75	,88
	2,00	CX INF 2	203,20	50,80	,96	,48
	3,00	CX INF 3	261,50	65,38	1,19	,59
	4,00	CX INF 4	308,20	77,05	1,34	,67
	5,00	CX INF 5	327,50	81,88	1,68	,84
	6,00	CD INF 1	141,30	35,33	1,11	,55
	7,00	CD INF 2	184,80	46,20	,71	,35
	8,00	CD INF 3	228,90	57,23	,66	,33
	9,00	CD INF 4	266,40	66,60	1,75	,87
	10,00	CD INF 5	295,80	73,95	,65	,32
	11,00	CA INF 1	165,10	41,28	,85	,43
	12,00	CA INF 2	179,20	44,80	,41	,20
	13,00	CA INF 3	215,60	53,90	,82	,41
	14,00	CA INF 4	230,70	57,68	,45	,22
	15,00	CA INF 5	246,30	61,58	,93	,47
	16,00	CH INF 1	167,00	41,75	,65	,32
	17,00	CH INF 2	179,50	44,88	,53	,27
	18,00	CH INF 3	205,30	51,33	1,17	,59
	19,00	CH INF 4	221,90	55,48	,85	,42
	20,00	CH INF 5	235,60	58,90	,49	,24

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 60 MENIT
INFUS RIMPANG SEGAR CURCUMA SPP.**

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUP	1,00	CX INF 1	317,40	79,35	1,17	,59
	2,00	CX INF 2	331,00	82,75	,90	,45
	3,00	CX INF3	339,90	84,98	,61	,31
	4,00	CX INF4	350,30	87,58	,72	,36
	5,00	CX INF 5	363,10	90,78	,76	,38
	6,00	CD INF 1	296,30	74,08	,48	,24
	7,00	CD INF 2	347,40	86,85	,87	,43
	8,00	CD INF 3	400,00	100,00	,00	,00
	9,00	CD INF 4	400,00	100,00	,00	,00
	10,00	CD INF 5	400,00	100,00	,00	,00
	11,00	CA INF 1	330,10	82,53	,45	,22
	12,00	CA INF 2	353,10	88,28	1,04	,52
	13,00	CA INF 3	362,20	90,55	1,04	,52
	14,00	CA INF4	383,70	95,93	,99	,50
	15,00	CA INF 5	390,80	97,70	,49	,24
	16,00	CH INF1	388,00	97,00	,65	,32
	17,00	CH INF 2	400,00	100,00	,00	,00
	18,00	CH INF 3	400,00	100,00	,00	,00
	19,00	CH INF 4	400,00	100,00	,00	,00
	20,00	CH INF 5	400,00	100,00	,00	,00

TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 3 MENIT
J A H E

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	JAHE MA 1	57,29	14,32	,75	,37
2,000	JAHE MA 2	48,80	12,20	,28	,14
3,000	JAHE MA 3	42,04	10,51	,62	,31
4,000	JAHE MA 4	33,21	8,30	,85	,43
5,000	JAHE MA 5	25,42	6,36	,51	,26
6,000	JAHE MET 1	258,91	64,73	,84	,42
7,000	JAHE MET 2	233,63	58,41	1,06	,53
8,000	JAHE MET 3	217,44	54,36	1,25	,62
9,000	JAHE MET 4	196,51	49,13	,37	,18
10,000	JAHE MET 5	175,58	43,90	1,91	,95

TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 60 MENIT
J A H E

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	JAHE MA 1	276,27	69,07	,93	,47
2,000	JAHE MA 2	261,68	65,42	,28	,14
3,000	JAHE MA 3	237,62	59,41	,75	,38
4,000	JAHE MA 4	207,46	51,86	1,27	,63
5,000	JAHE MA 5	171,52	42,88	1,26	,63
6,000	JAHE MET 1	394,96	98,74	,37	,18
7,000	JAHE MET 2	383,33	95,83	,37	,18
8,000	JAHE MET 3	372,86	93,21	,39	,19
9,000	JAHE MET 4	359,29	89,82	,37	,19
10,000	JAHE MET 5	344,96	86,24	1,43	,71



**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 3 MENIT
BENGLE**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	BENGLE MA 1	103,6300	25,9075	2,1098	1,0549
2,000	BENGLE MA 2	176,3000	44,0750	1,7543	,8771
3,000	BENGLE MA 3	210,9900	52,7475	3,0083	1,5041
4,000	BENGLE MA 4	244,5500	61,1375	1,4459	,7229
5,000	BENGLE MA 5	284,0000	71,0000	3,2425	1,6213
6,000	BENGLE MET 1	147,7100	36,9275	1,9017	,9508
7,000	BENGLE MET 2	183,3900	45,8475	1,1982	,5991
8,000	BENGLE MET 3	221,4400	55,3600	,8263	,4132
9,000	BENGLE MET 4	242,1100	60,5275	4,2299	2,1149
10,000	BENGLE MET 5	285,4400	71,3600	1,5216	,7608

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 60 MENIT
BENGLE**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	BENGLE MA 1	254,9300	63,7325	4,1742	2,0871
2,000	BENGLE MA 2	302,9700	75,7425	1,6188	,8094
3,000	BENGLE MA 3	330,5600	82,6400	,6014	,3007
4,000	BENGLE MA 4	344,5500	86,1375	4,5096	2,2548
5,000	BENGLE MA 5	370,9300	92,7325	3,5036	1,7518
6,000	BENGLE MET 1	270,5900	67,6475	2,0476	1,0238
7,000	BENGLE MET 2	313,1300	78,2825	,4828	,2414
8,000	BENGLE MET 3	351,7600	87,9400	,5515	,2758
9,000	BENGLE MET 4	366,8000	91,7000	2,7968	1,3984
10,000	BENGLE MET 5	392,5300	98,1325	1,9638	,9819

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 3 MENIT
LEMPUYANG PAHIT**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	LEMPAH-MA 1	51,110	12,778	,561	,280
2,000	LEMPAH-MA 2	39,540	9,885	,214	,107
3,000	LEMPAH-MA 3	26,860	6,715	,528	,264
4,000	LEMPAH-MA 4	21,630	5,408	,644	,322
5,000	LEMPAH-MA 5	13,440	3,360	,302	,151
6,000	LEMPAH-MET 1	309,710	77,428	2,032	1,016
7,000	LEMPAH-MET 2	258,950	64,738	,479	,239
8,000	LEMPAH-MET 3	213,810	53,452	,933	,467
9,000	LEMPAH-MET 4	176,860	44,215	,778	,389
10,000	LEMPAH-MET 5	141,050	35,263	,936	,468

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 60 MENIT
LEMPUYANG PAHIT**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	LEMPAH-MA 1	73,870	18,468	,375	,188
2,000	LEMPAH-MA 2	66,790	16,697	,354	,177
3,000	LEMPAH-MA 3	55,600	13,900	,469	,234
4,000	LEMPAH-MA 4	45,890	11,473	,826	,413
5,000	LEMPAH-MA 5	29,850	7,462	,964	,482
6,000	LEMPAH-MET 1	400,000	100,000	,000	,000
7,000	LEMPAH-MET 2	379,480	94,870	,359	,179
8,000	LEMPAH-MET 3	339,550	84,887	,983	,492
9,000	LEMPAH-MET 4	297,750	74,438	1,789	,895
10,000	LEMPAH-MET 5	259,310	64,828	1,757	,879

TABEL : % AKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID PADA SISTEM HOMOGENAT HEPAR TIKUS BENGLER

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUP	1,0000	BENGLER MINYAK ATISIRI 1	45,6600	15,2200	2,9600	1,7090
	2,0000	BENGLER MINYAK ATISIRI 2	73,1430	24,3810	3,6345	2,0984
	3,0000	BENGLER MINYAK ATISIRI 3	123,9800	41,3267	,3200	,1848
	4,0000	BENGLER MINYAK ATISIRI 4	153,6130	51,2043	3,2824	1,8951
	5,0000	BENGLER MINYAK ATISIRI 5	170,0800	56,6933	,6750	,3897
	6,0000	BENGLER EKSTRAK MEOH 1	30,0500	10,0167	3,0550	1,7638
	7,0000	BENGLER EKSTRAK MEOH 2	39,6600	13,2200	1,4765	,8525
	8,0000	BENGLER EKSTRAK MEOH 3	110,9410	36,9803	4,4545	2,5718
	9,0000	BENGLER EKSTRAK MEOH 4	124,2800	41,4267	,4500	,2598
	10,0000	BENGLER EKSTRAK MEOH 5	152,6020	50,8673	1,3754	,7941

TABEL : % AKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID PADA SISTEM HOMOGENAT HEPAR TIKUS LEMPUYANG PAHIT

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUPING	1,0000	LEM-PAHIT MINYAK ATISIRI 1	31,760	10,587	1,035	,597
	2,0000	LEM-PAHIT MINYAK ATISIRI 2	67,320	22,440	2,683	1,549
	3,0000	LEM-PAHIT MINYAK ATISIRI 3	99,160	33,053	,916	,529
	4,0000	LEM-PAHIT EKSTRAK MEOH 1	57,040	19,013	1,358	,784
	5,0000	LEM-PAHIT EKSTRAK MEOH 2	80,030	26,677	2,391	1,380
	6,0000	LEM-PAHIT EKSTRAK MEOH 3	110,920	36,973	3,700	2,136

TABEL : % AKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID PADA SISTEM HOMOGENAT HEPAR TIKUS LEMPUYANG WANGI

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUPING	1,0000	LEMWANG MINYAK ATISIRI 1	53,260	17,753	3,235	1,867
	2,0000	LEMWANG MINYAK ATISIRI 2	60,540	20,180	1,200	,693
	3,0000	LEMWANG MINYAK ATISIRI 3	89,520	29,840	3,731	2,154
	4,0000	LEMWANG EKSTRAK MEOH 1	31,100	10,367	,095	,055
	5,0000	LEMWANG EKSTRAK MEOH 2	48,450	16,150	1,652	,954
	6,0000	LEMWANG EKSTRAK MEOH 3	86,020	28,673	,518	,299

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID
PADA SISTEM KULTUR HEPATOSIT CURCUMA SPP**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	CX PERASAN 1	61,770	20,590	2,039	1,177
2,000	CX PERASAN2	94,070	31,357	1,880	1,086
3,000	CX PERASAN 3	107,270	35,757	2,541	1,467
4,000	CX INFUS 1	130,540	43,513	3,713	2,143
5,000	CX INFUS 2	140,190	46,730	1,592	,919
6,000	CX INFUS 3	141,330	47,110	1,557	,899
7,000	CD PERASAN 1	47,040	15,680	2,388	1,379
8,000	CD PERASAN 2	59,690	19,897	,605	,349
9,000	CD PERASAN 3	74,330	24,777	3,685	2,128
10,000	CD INFUS 1	41,310	13,770	4,658	2,689
11,000	CD INFUS 2	50,360	16,787	4,417	2,550
12,000	CD INFUS 3	99,340	33,113	4,853	2,802
13,000	CA PERASAN 1	57,150	19,050	2,744	1,584
14,000	CA PERASAN 2	65,410	21,803	3,076	1,776
15,000	CA PERASAN 2	65,850	21,950	2,854	1,648
16,000	CA INFUS 1	29,560	9,853	1,041	,601
17,000	CA INFUS 2	43,070	14,357	3,800	2,194
18,000	CA INFUS 3	88,780	29,593	3,826	2,209
19,000	CH PERASAN 1	39,920	13,307	,766	,443
20,000	CH PERASAN 2	48,020	16,007	6,057	3,497
21,000	CH PERASAN 3	78,810	26,270	1,605	,927
22,000	CH INFUS 1	84,610	28,203	2,306	1,331
23,000	CH INFUS 2	87,850	29,283	2,866	1,655
24,000	CH INFUS 3	114,670	38,223	5,061	2,922
25,000	KURKUMIN 1	39,360	13,120	1,480	,854
26,000	KURKUMIN 2	62,650	20,883	2,344	1,353
27,000	KURKUMIN 3	97,760	32,587	1,080	,624
28,000	KURKUMIN 4	164,160	54,720	5,656	3,265
29,000	KURKUMIN 5	166,750	55,583	5,099	2,944

TABEL : % AKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID PADA SISTEM HOMOGENAT HEPAR TIKUS JAHE

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUPJAHE	1,000	JAHE MINYAK ATSIRI 1	171,570	57,190	1,720	,993
	2,000	JAHE MINYAK ATSIRI 2	109,260	36,420	,330	,191
	3,000	JAHE MINYAK ATSIRI 3	96,300	32,100	,940	,543
	4,000	JAHE MINYAK ATSIRI 4	85,790	28,597	2,745	1,585
	5,000	JAHE EKSTRAK MEOH 1	137,410	45,803	4,255	2,457
	6,000	JAHE EKSTRAK MEOH 2	132,250	44,083	1,895	1,094
	7,000	JAHE EKSTRAK MEOH 3	106,140	35,380	3,750	2,165
	8,000	JAHE EKSTRAK MEOH 4	81,370	27,123	4,035	2,330

TABEL : % AKTIVITAS ANTIPEROKSIDALIPID PADA SISTEM HOMOGENAT HEPAR TIKUS CURCUMA SPP

			Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
GRUPING2	1,0000	CX PERASAN 1	112,390	37,463	1,116	,644
	2,0000	CX PERASAN 2	130,330	43,443	1,022	,590
	3,0000	CX PERASAN 3	170,470	56,823	,959	,554
	4,0000	CX INFUS 1	88,360	29,453	2,078	1,200
	5,0000	CX INFUS 2	102,050	34,017	1,266	,731
	6,0000	CX INFUS 3	118,740	39,580	2,825	1,631
	7,0000	CD PERASAN 1	97,290	32,430	1,163	,671
	8,0000	CD PERASAN 2	111,679	37,226	1,592	,919
	9,0000	CD PERASAN 3	127,040	42,347	1,959	1,131
	10,0000	CD INFUS 1	125,760	41,920	,796	,460
	11,0000	CD INFUS 2	137,650	45,883	,362	,209
	12,0000	CD INFUS 3	142,530	47,510	1,101	,636
	13,0000	CA PERASAN 1	120,430	40,143	,922	,532
	14,0000	CA PERASAN 2	149,720	49,907	1,883	1,087
	15,0000	CA PERASAN 3	160,860	53,620	1,676	,968
	16,0000	CA INFUS 1	113,640	37,880	1,195	,690
	17,0000	CA INFUS 2	153,120	51,040	1,295	,747
	18,0000	CA INFUS 3	185,290	61,763	,255	,147
	19,0000	CH PERASAN 1	87,780	29,260	2,367	1,367
	20,0000	CH PERASAN 2	97,900	32,633	,944	,545
	21,0000	CH PERASAN 3	100,040	33,347	1,560	,901
	22,0000	CH INFUS 1	59,220	19,740	,670	,387
	23,0000	CH INFUS 2	63,760	21,253	,369	,213
	24,0000	CH INFUS 3	69,470	23,157	,499	,288
	25,0000	KURKUMIN 1	76,460	25,487	2,583	1,491
	26,0000	KURKUMIN 1	105,840	35,280	1,344	,776
	27,0000	KURKUMIN 1	129,900	43,300	3,021	1,744

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 3 MENIT
LEMPUYANG GAJAH**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	LEM-GAJAH MA 1	149,8100	37,4525	1,6740	,8370
2,000	LEM-GAJAH MA 2	183,6300	45,9075	2,5343	1,2671
3,000	LEM-GAJAH MA 3	208,7900	52,1975	,9695	,4847
4,000	LEM-GAJAH MA 4	284,2400	71,0600	,9946	,4973
5,000	LEM-GAJAH MA 5	322,3300	80,5825	1,0768	,5384
6,000	LEM-GAJAH MET 1	7,4800	1,8700	,0000	,0000
7,000	LEM-GAJAH MET 2	9,8200	2,4550	,2300	,1150
8,000	LEM-GAJAH MET 3	13,4700	3,3675	,4292	,2146
9,000	LEM-GAJAH MET 4	16,2800	4,0700	,3681	,1841
10,000	LEM-GAJAH MET 5

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 60 MENIT
LEMPUYANG GAJAH**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	LEM-GAJAH MA 1	265,6900	66,4225	1,2065	,6032
2,000	LEM-GAJAH MA 2	310,2600	77,5650	,9639	,4819
3,000	LEM-GAJAH MA 3	346,1500	86,5375	1,4433	,7216
4,000	LEM-GAJAH MA 4	389,6500	97,4125	,7915	,3958
5,000	LEM-GAJAH MA 5	400,0000	100,0000	,0000	,0000
6,000	LEM-GAJAH MET 1
7,000	LEM-GAJAH MET 2
8,000	LEM-GAJAH MET 3
9,000	LEM-GAJAH MET 4	52,8500	13,2125	,3925	,1963
10,000	LEM-GAJAH MET 5

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 3 MENIT
LEMPUYANG WANGI**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	LEMWA MA 1	66,120	16,530	,906	,453
2,000	LEMWA MA 1	56,590	14,148	,194	,097
3,000	LEMWA MA 1	50,880	12,720	,208	,104
4,000	LEMWA MA 1	43,000	10,750	,294	,147
5,000	LEMWA MA 1	34,410	8,603	,878	,439
6,000	LEMWA MET 1	283,230	70,808	1,057	,528
7,000	LEMWA MET 1	249,790	62,448	1,510	,755
8,000	LEMWA MET 1	210,470	52,618	1,972	,986
9,000	LEMWA MET 1	161,030	40,258	1,846	,923
10,000	LEMWA MET 1	111,980	27,995	1,312	,656

**TABEL : % AKTIVITAS ANTIRADIKAL DPPH 60 MENIT
LEMPUYANG WANGI**

		Sum	Mean	Std Deviation	Standard Error of Mean
1,000	LEMWA MA 1	102,500	25,625	1,504	,752
2,000	LEMWA MA 2	86,750	21,688	,355	,177
3,000	LEMWA MA 3	74,170	18,543	,448	,224
4,000	LEMWA MA 4	61,640	15,410	,588	,294
5,000	LEMWA MA 5	50,530	12,632	,450	,225
6,000	LEMWA MET 1	400,000	100,000	,000	,000
7,000	LEMWA MET 2	365,530	91,383	,916	,458
8,000	LEMWA MET 3	337,440	84,360	,710	,355
9,000	LEMWA MET 4	294,370	73,593	,718	,359
10,000	LEMWA MET 5	226,580	56,645	1,652	,826