

**PEMANFAATAN POLISAKARIDA KRESTIN (PSK)
UNTUK MENURUNKAN KADAR OKSIDAN DARAH MENCIT AKIBAT
IRRADIASI SINAR GAMMA COBALT⁶⁰**

SKRIPSI

N^o 27/06

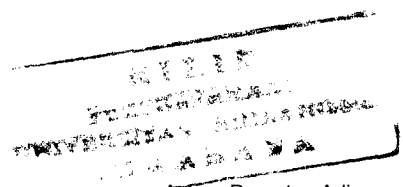
Adi

P

ANNAS PRASETYO ADI



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**



**PEMANFAATAN POLISAKARIDA KRESTIN (PSK)
UNTUK MENURUNKAN KADAR OKSIDAN DARAH MENCIT AKIBAT
IRRADIASI SINAR GAMMA COBALT⁶⁰**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi
Pada Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Airlangga**

Oleh :

**ANNAS PRASETYO ADI
NIM. 080 212 515**

Tanggal Lulus : 21 Juli 2006

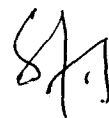
Disetujui oleh :

Pembimbing I



**Drs. Win Darmanto, M.Si., Ph.D.
NIP. 131 653 741**

Pembimbing II



**Drs. Mulyadi Tanjung, M.S.
NIP. 131 932 687**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : **Pemanfaatan Polisakarida Krestin (PSK) Untuk Menurunkan Kadar Oksidan Darah Mencit Akibat Irradiasi Sinar Gamma Cobalt⁶⁰**

Penyusun : **Annas Prasetyo Adi**

NIM : **080 212 515**

Hari / Tanggal : **Jum'at / 21 Juli 2006**

Disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

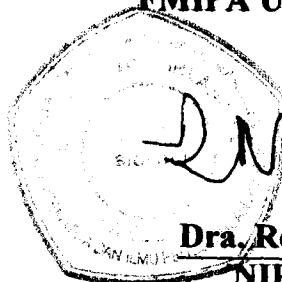


Drs. Win Darmanto, M.Si., Ph.D.
NIP. 131 653 741

Drs. Mulyadi Tanjung, M.S.
NIP. 131 932 687

Mengetahui :

**Ketua Jurusan Biologi
EMIPA Universitas Airlangga**



Dra. Rosmanida M. Kes.
NIP. 131 126 075

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah.

Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga



Annas Prasetyo Adi, 2006. Pemanfaatan Polisakarida Krestin (PSK) Untuk Menurunkan Kadar Oksidan Darah Mencit Akibat Irradiasi Sinar Gamma Cobalt⁶⁰. Skripsi ini dibawah bimbingan Drs. Win Darmanto, M.Si., Ph.D., dan Drs. Mulyadi Tanjung, M.S., Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi pengaruh irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ terhadap kadar oksidan darah pada mencit serta untuk mengetahui pengaruh waktu pemberian PSK dan kemampuannya sebagai antioksidan untuk meredam oksidan DPPH secara *in vitro*.

Hewan coba yang digunakan berupa 36 ekor mencit betina strain BALB/C yang berumur 6 – 8 bulan dengan berat badan 27 – 34 gram. Rancangan penelitian yang digunakan berupa rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam kelompok perlakuan yaitu K(-), K(+), PI, PII, PIII, PIV dan masing – masing berisi 6 ekor. Mencit diberi irradiasi dengan dosis 4 Gy, 3 jam berikutnya mencit dibedah dan diambil darahnya melalui jantung. Darah diencerkan dengan aquades menjadi beberapa konsentrasi yaitu 10.000, 5.000, 2.500, 1.250, 625, 312,5 ppm, ditambahkan pada larutan DPPH 0,004 % selanjutnya diukur absorbansinya pada $\lambda = 517$ nm dan dihitung persen peredamannya. Data yang telah didapat dianalisis dengan ANAVA dua arah dengan taraf signifikansi ($\alpha = 0,05$). Bila terdapat perbedaan yang berarti maka dilanjutkan dengan ANAVA satu arah yang diikuti dengan uji LSD.

Hasil penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan yang nyata kadar oksidan dalam darah antar kelompok perlakuan. Sedangkan pemberian irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ dan PSK satu jam setelah irradiasi mempengaruhi kandungan antioksidan dalam darah mencit. Namun tidak menunjukkan pengaruh bila PSK diberikan sebelum irradiasi.

Kata kunci : Irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰, DPPH, PSK, Mencit.

Adi, Annas Prasetyo., 2006. Decreased Of Mice Blood Oxidant Caused By Cobalt⁶⁰ Gamma Rays By Polysaccharide Krestin (PSK). This script were guided by Drs. Win Darmanto, M.Si., Ph.D., and Drs. Mulyadi Tanjung, M.S., The Biology Department, Faculty of Mathematics and Sciences, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

These research were designed to evaluate the influence of Cobalt⁶⁰ Gamma rays irradiation to induce oxidant in mice blood. Also to observed the influence of PSK as an antioksidan to inhibit the DPPH oxidant by in vitro.

This research were used 36 female mice, strain BALB/C that was 6 – 8 month old with 27 – 34 gram of body weight. The experimental were used the complete random design with six treatment groups, that were K(-), K(+), PI, PII, PIII, PIV. Every groups contain six animals. The doses of mice irradiation is 4 Gy, 3 hours after irradiation blood of mice were taken through intracardia then diluted by aquades and concentrations become 10.000, 5.000, 2.500, 1.250, 625, 312,5 ppm. Each concentrations then enhanced at DPPH 0,004 % solution, and measured the absorbance at $\lambda = 517$ nm then calculated the percent of DPPH weaken.

The data were analyzed by ANOVA two way at ($\alpha = 0,05$), if there was significant differences, the data were analyzed by ANOVA one way which continued by LSD.

The results of this research show that there is no significant different in the level of antioksidan in mice blood between Cobalt⁶⁰ Gamma rays irradiation and control groups. However injection of PSK one hour after irradiation caused increase of antioxidant in the mice blood, but there were no significant different if PSK was injection before irradiation.

Key word : Cobalt⁶⁰ Gamma rays irradiation, DPPH, PSK, Mice.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanallahu Wa Ta'ala karena berkat rahmad dan hidayah – Nya akhirnya penulis berhasil menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **Pemanfaatan Polisakarida Krestin (PSK) Untuk Menurunkan Kadar Oksidan Darah Mencit Akibat Irradiasi Sinar Gamma Cobalt⁶⁰**. Penyusunan skripsi ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga.

Dalam penyusunan skripsi ini tentunya tak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada Drs. Win Darmanto, M.Si., Ph.D., dan Drs. Mulyadi Tanjung, M.S., selaku Dosen Pembimbing, Sugiharto, S.Si., M.Si., dan Drs. Moch. Affandi, M.Si., selaku dosen penguji atas segala bimbingan dan arahannya dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, untuk itu penulis sangat mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun demi sempurnanya skripsi ini. Pada akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi kita semua. Amin!

Surabaya, Juli 2006

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar besarnya kepada berbagai pihak yang telah banyak membantu dalam melakukan penelitian dan menyelesaikan penulisan skripsi ini, antara lain :

1. Bapak Drs. Win Darmanto, M.Si., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I
2. Bapak Drs. Mulyadi Tanjung, M.S., selaku Dosen Pembimbing II
3. Bapak Sugiharto, S.Si., M.Si., selaku Dosen Penguji I
4. Bapak Drs. Moch. Affandi, M.Si, selaku Dosen Penguji II
5. Segenap Bapak dan Ibu dosen staf pengajar Jurusan Biologi
6. Kepala Instalasi Radioterapi RSUD Dr. Sutomo, Dr. Bambang Widjanarko beserta segenap staf Pak Adi dan Bu Annis atas segala bantuan tenaga dan fasilitas dalam melaksanakan penelitian ini.
7. Kedua orang tuaku, Bapak Adi Suroso dan Ibu Lilik Solicha serta Mbah Siti Jamilah yang telah memberikan dukungan, perhatian, dan curahan kasih sayang, serta atas kepercayaan yang telah diberikan selama ini.
8. Kedua adikku Zainul Arifin dan Evi Sulfianah serta saudara sepupuku yang lucu Fiki Juliansyah atas bantuan dan dorongan semangat kalian.
9. Teh Rara yang telah banyak memberikan semangat, terima kasih telah mengisi hari – hariku dan membantu melewati masa sulitku sehingga hidupku terasa lebih hidup !!!
10. Rekan seperjuanganku Mega, dan Vika, serta rekan satu timku yang baru Andre, Nisa, dan Putri.

11. Pak Miz dan Bu Diah yang telah memberikan bantuan dana.
12. Pasukan ($\chi^2 t$) yang rela mengorbankan segenap jiwa dan raganya demi keberhasilan penelitian ini.
13. Temanku Rhien – Tique, Dave, Angga, Pp, Dimas, Yuyun, Uyunk, Iib, Budi, Agnes, Maratus, Sophie dan seluruh angkatan 2002.
14. Mbak Yanti yang telah memberikan saran dan informasi, Kang Ucup atas pinjaman bukunya, Cak Jo yang telah membantu mengoperasikan Spektrofotometer, dan Iim yang sudah mengajari SPSS.
15. Teman Mesem KKNBK – 34, kebersamaan singkat kita telah memberiku banyak pengalaman berharga.
16. Keluarga Blukid terutama Bu Ani biasa dijadikan tempat berkeluh kesah.
17. Seluruh karyawan : Pak Damam, Bu Yatminah, Bu Ari, Mbah Ji, Cak Sunar, Mas Yanto, Pak Eko BH, Lek Eko CD, Mbah Ni.
18. Seluruh Himbionis, adik – adik Himbio 2003, 2004, 2005.
19. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
UCAPAN TERIMA KASIH	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan	01
1.2. Rumusan Masalah	05
1.3. Asumsi Penelitian	05
1.4. Hipotesis	06
1.4.1. Hipotesis kerja	06
1.4.2. Hipotesis statistik	06
1.5. Tujuan Penelitian	07
1.6. Manfaat Penelitian	07

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Darah	08
2.2. Tinjauan Tentang Radiasi Sinar Gamma	11
2.2.1. Besaran dan satuan dosis	16
2.3. Tinjauan Tentang Oksidan Dan Radikal Bebas	17
2.3.1. Macam – macam radikal bebas	19
2.3.2. Dampak dari radikal bebas	21
2.4. Tinjauan Tentang Antioksidan	22
2.5. Tinjauan Tentang Polisakarida Krestin (PSK)	24
2.5.1 PSK Sebagai Antioksidan	29

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan waktu penelitian	30
3.2. Materi Penelitian	30
3.2.1. Hewan coba	30
3.2.2. Bahan penelitian	30
3.2.3. Alat penelitian	31

3.3. Rancangan Penelitian	31
3.4. Variabel Penelitian	31
3.5. Prosedur Penelitian	32
3.5.1. Persiapan	32
3.5.2. Pengelompokan hewan coba	32
3.5.3. Pemberian PSK	33
3.5.4. Pengukuran kemampuan PSK sebagai antioksidan secara <i>in vitro</i>	34
3.5.5. Pengambilan darah dan pengukuran kadar antioksidan darah	35
3.6. Pengumpulan Data	36
3.7. Analisis Data	36
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1. Hasil Penelitian	37
4.1.1. Pengukuran kemampuan polisakarida krestin sebagai antioksidan secara <i>in vitro</i>	37
4.1.2. Pengukuran kandungan antioksidan darah	38
4.2. Pembahasan	42
4.2.1. Uji aktivitas antioksidan PSK secara <i>in vitro</i>	42
4.2.2. PSK sebagai antioksidan dalam tubuh	44
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN
5.1. Kesimpulan	50
5.2. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No	Judul Tabel	Halaman
4.1	Besarnya nilai absorbansi pada berbagai panjang gelombang serta hasil perhitungan persen peredaman DPPH terhadap senyawa PSK dalam berbagai konsentrasi	37
4.2	Kandungan antioksidan dalam berbagai konsentrasi sampel Darah pada setiap kelompok perlakuan	39
4.3	Rangkuman hasil uji perbandingan antar kelompok perlakuan terhadap persentase peredaman larutan DPPH	41

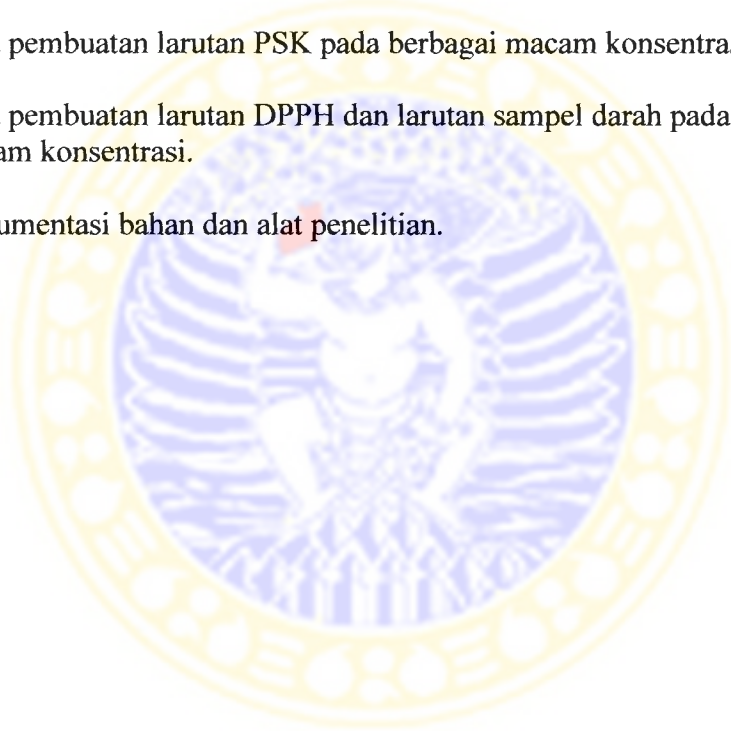


DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
1.1.	Struktur molekul DPPH	4
2.1.	Struktur tubuh buah jamur <i>Coriolus versicolor</i>	24
2.2.	Struktur dinding sel jamur yang mengandung ikatan β -glukan dan chitin	26
2.3.	Struktur molekul beberapa monosakarida yang menjadi komponen penyusun PSK	26
2.4.	Struktur ikatan peptida yang menghubungkan berbagai asam amino membentuk polipeptida	27
2.5.	Struktur molekul asam amino sebagai komponen penyusun PSK	27
2.6.	Struktur ikatan antara gugus gula dan protein yang dihubungkan oleh ikatan O – atau N – glycosida	28
2.7.	Struktur ikatan $\beta - 1,3$; $\beta - 1,6$ glukan pada PSK	28
4.1.	Grafik untuk menentukan IC_{50} berdasarkan hasil dari persamaan regresi linear	38
4.2.	Histogram jumlah total rerata kadar antioksidan pada setiap kelompok perlakuan	40
4.3.	Struktur molekul DPPH beserta bentuk tereduksinya	42
4.4.	Pembentukan senyawa <i>Glutathione</i>	48

DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul Lampiran
1.	Tabel data hasil perhitungan persen peredaman pada masing – masing kelompok perlakuan.
2.	Hasil uji normalitas, ANAVA dua arah, ANAVA satu arah, dan LSD.
3.	Cara pembuatan larutan PSK pada berbagai macam konsentrasi.
4.	Cara pembuatan larutan DPPH dan larutan sampel darah pada berbagai macam konsentrasi.
5.	Dokumentasi bahan dan alat penelitian.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi radiasi menyebabkan semakin meningkatnya penggunaan bahan radioaktif dalam berbagai bidang seperti bidang industri untuk radiografi bahan logam, bidang pertanian untuk pemuliaan tanaman, bidang peternakan untuk radiovaksin, bidang kimia radiasi untuk polimerisasi dan vulkanisasi lateks alam, bidang kedokteran untuk sterilisasi obat dan alat kesehatan (Wardhana, 1996).

Bahan radioaktif yang sering dipakai khususnya dalam bidang kedokteran sebagai sumber irradiasi sinar gamma adalah unsur Cobalt⁶⁰. Irradiasi ini sering dipakai untuk sarana diagnostik dan terapi kanker karena sifatnya yang dapat merusak jaringan kanker. Pada prinsipnya apabila berkas sinar radioaktif atau partikel radioaktif dipaparkan ke jaringan, maka lintasan sinar akan menimbulkan kerusakan, khususnya pada *deoxyribo nucleic acid* (DNA). Apabila pemberian irradiasi dihentikan, sel yang rusak ini akan kembali sehat seperti sediakala. Keadaan ini bisa dicapai apabila dosis sinar yang diberikan tidak melewati ambang batas kemampuan sel untuk memperbaiki diri (Edward, *et al* 1984).

Sinar radioaktif dapat menyebabkan terjadinya proses ionisasi molekul air sehingga terbentuk radikal bebas di dalam sel yang dapat mempercepat kematian sel. Selain itu sinar radioaktif dapat memicu timbulnya senyawa radikal bebas baru yang dapat menyebabkan reaksi berantai dan mengganggu sistem metabolisme dalam tubuh sehingga mengakibatkan timbulnya berbagai macam

penyakit degeneratif yang membuat daya tahan tubuh semakin lemah seperti kardiovaskular, alzheimer, parkinson dan penuaan. (Burkley, 2002)

Efek irradiasi dapat berupa efek langsung yaitu menyebabkan kerusakan DNA, kromosom, membran sel, serta beberapa enzim dan protein yang dapat menyebabkan kematian sel. Efek tidak langsung berupa terionisasinya air dalam sel yang menyebabkan terjadinya radiolisis sehingga terbentuk radikal bebas baru yang sangat reaktif penyebab kerusakan jaringan tubuh (Cember, 1988; Onishi *et al.*, 2002). Efek samping yang ditimbulkan oleh irradiasi sinar gamma hanya terjadi pada lokasi penyinaran yaitu mempengaruhi kinerja dan fungsi organ yang terkena sinar. Efek irradiasi pada organisme bergantung pada besar dosis dan tipe sel yang terkena. Hukum Bergonie dan Tribondeau menyatakan bahwa efek irradiasi akan semakin besar apabila terjadi pada sel yang masih muda, belum terspesialisasi, dan sel yang sedang membelah (Edwards *et al.*, 1984).

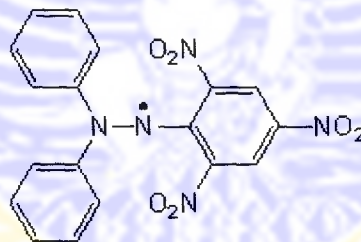
Radikal bebas atau oksidan yang ada dalam tubuh sebagian dapat dikendalikan oleh tubuh sendiri dengan cara membentuk antioksidan (antioksidan endogen). Namun antioksidan endogen tidak selalu mampu menekan radikal bebas yang muncul sehingga diperlukan asupan antioksidan tambahan dari luar (antioksidan eksogen). Antioksidan ini bisa didapatkan dari berbagai sumber baik yang berasal dari organisme ataupun didapat secara sintesis. Salah satu organisme yang memiliki senyawa dengan kemampuan sebagai antioksidan berasal dari kelompok jamur Basidiomycetes yaitu jamur *Coriolus versicolor*. Hasil ekstraksi miselium jamur ini mengandung zat aktif berupa protein yang terikat pada

polisakarida yang diduga memiliki kemampuan sebagai antioksidan yaitu *Polysaccharide krestin* (Kobayashi *et al.*, 1995; Cui dan Chisti, 2003).

Polysaccharide krestin (PSK) telah terbukti memiliki pengaruh sebagai anti tumor dan anti kanker (Tsukagoshi *et al.*, 1984; Zhou, *et al.*, 2000), melalui mekanisme respons biologis di antaranya adalah pengaktifan sistem imun yaitu makrofage, sel T, sel limfosit, menginduksi sel suppresor, dan meningkatkan fungsi *Natural Killer Cell* (Tsukagoshi, *et al.*, 1984; Ivanov, 2000). PSK juga mampu mencegah efek toksik dari beberapa agen kemoterapi seperti *vincristine*, *cyclophosphamide* dan *adriamycin* dari sel darah merah pasien kanker payudara.

Berdasarkan penelitian Lunitasari (2004), pemberian PSK dosis 200 mg/kg berat badan setelah induksi 2 – ME dosis 11 mmol/kg berat badan menyebabkan peningkatan kandungan antioksidan darah mencit. Kemampuan PSK sebagai antioksidan menyebabkan PSK dapat mencegah dan melindungi bagian sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh oksidan (radikal bebas) dan senyawa kimia lainnya. Dengan demikian diharapkan di dalam sistem tubuh organisme terutama darah, PSK yang diberikan secara oral dengan dosis tunggal ataupun berulang, memiliki aktivitas antioksidan yang akan menetralkan ataupun mengurangi pengaruh aktivitas radikal bebas yang dihasilkan oleh irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ (Fisher dan Yang, 2002).

2,2-diphenyl-1-picril hidrazin (DPPH) adalah senyawa radikal bebas yang stabil dengan delokalisasi elektron berlebih (Gambar 1.1.), memiliki bentuk serbuk yang berwarna ungu, larut baik dalam metanol dan etanol membentuk larutan berwarna ungu, dengan absorbansi maksimal pada panjang gelombang λ maks 517 nm. DPPH digunakan untuk mendeteksi aktivitas penangkapan radikal bebas oleh antioksidan dengan melihat persen peredamannya. Ketika DPPH bersama dengan senyawa lain yang siap memberikan atom hidrogen, maka akan terbentuk DPPH non radikal yang ditunjukkan dengan perubahan warna DPPH yang memudar (Bansal, 1992). Daya peredaman DPPH radikal oleh senyawa antioksidan dapat dilihat dari nilai *Inhibition Concentration 50* (IC₅₀) yang berada pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm.



Gambar 1.1. Struktur molekul DPPH (Bansal, 1992).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ terhadap kadar oksidan darah pada mencit. Serta untuk mengetahui waktu pemberian PSK dan kemampuannya sebagai antioksidan untuk meredam oksidan dalam darah secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ mempengaruhi kadar oksidan darah pada mencit (*Mus musculus*) secara *in vitro* ?
2. Apakah waktu pemberian PSK sebelum dan sesudah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ mempengaruhi kandungan antioksidan darah pada mencit (*Mus musculus*) ?

1.3 Asumsi Penelitian

Irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ dapat menghasilkan oksidan sehingga dapat mempengaruhi kadar oksidan darah pada mencit. Senyawa PSK yang terdapat pada jamur *Coriolus versicolor* memiliki zat aktif berupa protein yang terikat pada polisakarida yang berfungsi sebagai antioksidan, zat tersebut diduga dapat menurunkan kadar oksidan darah pada mencit. Sehingga diasumsikan bahwa zat aktif dalam PSK secara *in vitro* mampu meredam oksidan DPPH dan PSK yang diberikan secara *gavage* dapat mempengaruhi kandungan antioksidan darah pada mencit.

1.4 Hipotesis

1.4.1 Hipotesis Kerja

1. Jika radiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ menghasilkan oksidan, maka irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ akan mempengaruhi kadar oksidan darah pada mencit.
2. Jika PSK bersifat sebagai antioksidan, maka pemberian PSK dengan dosis tertentu secara *gavage* pada mencit sebelum dan sesudah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ akan mempengaruhi kandungan antioksidan darah pada mencit.

1.4.2 Hipotesis Statistik

- H_{01} : Tidak ada perbedaan persentase kadar oksidan darah pada mencit antara yang diberi dengan yang tidak diberi irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.
- H_{a1} : Ada perbedaan persentase kadar oksidan darah pada mencit antara yang diberi dengan yang tidak diberi irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.
- H_{02} : Tidak ada perbedaan persentase kandungan antioksidan darah pada mencit yang diberi PSK sebelum dan sesudah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.
- H_{a2} : Ada perbedaan persentase kandungan antioksidan darah pada mencit yang diberi PSK sebelum dan sesudah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.

1.5 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh irradiasi sinar gamma Cobalt⁶⁰ terhadap kadar oksidan darah pada mencit (*Mus musculus*).
2. Untuk mengetahui pengaruh waktu pemberian PSK terhadap kandungan antioksidan darah pada mencit (*Mus musculus*) sebelum dan sesudah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.

1.6 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai kemampuan PSK sebagai zat yang bersifat antioksidan. Baik secara *in vitro* melalui peredaman oksidan DPPH maupun melalui mekanisme penetralan radikal bebas di dalam tubuh organisme. Selain itu PSK diharapkan dapat digunakan sebagai suplemen untuk mencegah efek samping akibat radioterapi dan kemoterapi, serta sebagai bahan pengobatan dari berbagai macam penyakit degeneratif dan antikanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Darah

Darah adalah cairan jaringan tubuh yang terdapat pada semua hewan tingkat tinggi yang berfungsi mengirimkan zat dan oksigen yang dibutuhkan oleh jaringan tubuh. Darah menyuplai nutrisi ke seluruh jaringan tubuh, hormon dari sistem endokrin dan mengangkut zat sisa metabolisme, mengangkut bahan kimia hasil metabolisme dan mengandung berbagai bahan penyusun sistem imun yang bertujuan mempertahankan tubuh dari berbagai penyakit seperti pertahanan tubuh terhadap virus atau bakteri. Darah juga mengangkut bahan sisa metabolisme, obat dan bahan kimia asing ke hati dan ginjal untuk diuraikan serta dibuang sebagai air seni (Ganong, 1991).

Fungsi utama darah ialah mengangkut oksigen dari paru ke jaringan di seluruh tubuh. Dalam darah terkandung suatu protein hemoglobin yang dapat mengikat oksigen dan berfungsi dalam proses pernafasan. Hemoglobin merupakan protein pengangkut oksigen paling efektif dan terdapat pada hewan bertulang belakang atau vertebrata. Pada crustacea hemoglobin digantikan oleh hemosianin yang berwarna biru dan mengandung tembaga. Cumi – cumi menggunakan vanadium kromagen (berwarna hijau muda, biru, atau kuning oranye). Pada manusia darah berwarna merah, antara merah terang bila kaya oksigen sampai merah tua bila kekurangan oksigen. Warna merah pada darah disebabkan oleh hemoglobin yaitu suatu protein yang mengandung besi dalam bentuk heme tempat terikatnya molekul oksigen (Sadikin, 2002).

Komposisi Darah terdiri dari dua bagian yaitu beberapa jenis korpuskula yang membentuk 45 % bagian dari darah. Korpuskula darah terdiri dari :

1. Sel darah merah atau eritrosit (sekitar 99 %). Pada mamalia kebanyakan sel ini tidak mempunyai nukleus ataupun organel kecuali pada lamina, bentuknya cakram bikonkaf (bulat pipih dan cekung ditengahnya) mengandung hemoglobin yang berfungsi mengikat dan mengedarkan oksigen, serta berperan dalam penentuan golongan darah.
2. Keping darah atau trombosit (0,6 – 1,0 %) selnya kecil dan tidak berinti, bentuknya tidak beraturan dan mudah pecah bila mengenai permukaan kasar. Memiliki peranan yang penting dalam proses pembekuan darah.
3. Sel darah putih atau leukosit (0,2 %) selnya tidak berpigmen, memiliki bentuk tidak tetap, tetapi berinti, dapat bergerak bebas yang disebut *amoeboid* dan menembus jaringan (*diapedesis*), bertanggung jawab terhadap sistem imun tubuh dan bertugas untuk memusnahkan benda yang dianggap asing dan berbahaya oleh tubuh, misalnya virus dan bakteri. Leukosit terdiri atas : granulosit yang meliputi neutrofil 50 – 70 %, eosinofil 2 – 4 %, dan basofil < 1 % serta agranulosit yang meliputi limfosit 20 – 30 % dan monosit 2 – 8 % (Suripto, 1998; Marieb, 2001).

Bagian yang lain dari sel darah (55 %) berupa cairan berwarna jernih kekuningan yang membentuk medium cairan darah yang disebut plasma darah, pada dasarnya plasma darah adalah larutan air yang mengandung :

1. Albumin 60 %.
2. Bahan pembeku darah fibrinogen (protein yang sangat besar yang berperan dalam koagulasi).
3. Immunoglobulin (antibodi) globulin (α_1 , α_2 , β , dan γ) 35 % yang mencakup immunoglobulin dan berbagai macam protein yang berikatan dengan logam.
4. Hormon.
5. Berbagai jenis protein (4 %) dan protein pengatur seperti enzim, proenzim, hormon yang jumlahnya kurang dari 1 %.
6. Berbagai jenis garam dan zat terlarut lainnya. (Junqueira, *et al.*, 1995; Suripto, 1998; Marieb, 2001).

Zat terlarut lainnya tersebut adalah : (1). Elektrolit yang penting untuk aktivitas sel itu sendiri dan menjaga tekanan osmosis cairan tubuh (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-}), (2). Nutrient organik yang penting untuk menghasilkan energi ATP, untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel, antara lain terdiri atas : asam lemak, kolesterol, karbohidrat (glukosa) dan protein (asam amino), (3). Bahan organik sisa metabolisme seperti urea, asam urat, kreatinin, bilirubin dan amonia (Sadikin, 2002).

Plasma darah berfungsi mengangkut sari makanan seperti glukosa, galaktosa, fruktosa, asam amino, vitamin dan mineral ke seluruh bagian tubuh, serta mengangkut zat sisa metabolisme seperti urea, dan asam urat dari jaringan tubuh untuk dibawa ke alat ekskresi. Selain itu plasma darah juga mengangkut hormon yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin ke bagian tubuh tertentu.

Darah juga memiliki fungsi lain yaitu sebagai : (a). Alat transportasi yang berkaitan dengan nutrisi, respirasi, ekskresi dan regulasi, (b). Mengatur keseimbangan antara darah dengan cairan jaringan (osmoregulasi), (c). Mengatur keseimbangan asam – basa cairan tubuh (pH antara 7,35 – 7,45), (d). Mengatur suhu tubuh, (e). Sebagai alat pertahanan tubuh dengan adanya antibodi, (f). Mencegah pendarahan yang terus menerus dengan adanya trombosit (Suripto, 1998).

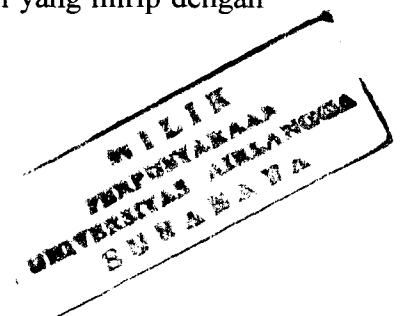
2.2 Tinjauan Tentang Radiasi Sinar Gamma

Radiasi merupakan proses pelepasan energi secara spontan oleh atom dengan kecepatan yang sangat tinggi dan frekuensi tertentu dalam bentuk gelombang (Amsyari, 1989). Radiasi terbagi dalam dua kelompok, yaitu radiasi partikel dan radiasi elektromagnetik. Radiasi partikel adalah pancaran inti atom atau partikel subatom pada kecepatan tinggi dan mampu memindahkan energi ke materi yang ditumbuk, misalnya radiasi alfa, beta, elektron, proton dan neutron. Radiasi elektromagnetik adalah pancaran gelombang bermuatan listrik dan magnetik melalui materi dan menyebabkan terjadinya perubahan pada struktur materi yang dilaluinya. Contoh dari radiasi elektromagnetik adalah radiasi sinar X

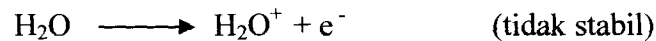
dan gamma (Cember, 1983). Merupakan jenis sinar radioaktif yang tidak bermuatan, dan merupakan radiasi elektromagnetik monokromatis yang terpancar dari inti atom yang mengalami aktivitas setelah transformasi radiasi.

Sinar Gamma (γ) merupakan sebuah bentuk energi dari radiasi elektromagnetik yang diproduksi oleh radioaktivitas, proses nuklir atau subatomik lainnya seperti penghancuran elektron positron yang biasa disebut dengan foton gamma. Radiasi elektromagnetik merupakan energi tinggi yang diproduksi oleh karena percepatan elektron, memiliki panjang gelombang $10^{-10} - 10^{-15}$ meter dengan frekuensi antara $10^{20} - 10^{25}$ Hz. Sinar gamma dihasilkan dari sinar kosmis dan dari perubahan radioaktif (Kamanjaya dan Lingga, 1988; Hariyadi, 1994).

Sinar gamma merupakan sebuah bentuk radiasi pengionisasi yang mempunyai daya tembus lebih tinggi dari pada radiasi alpha atau beta. Daya tembus sinar gamma bergantung dari nomor atom, kepadatan serta ketebalan bahan yang ditembusnya (Mincler *et al.*, 1971). Sinar gamma yang mampu mengionkan materi dapat mengeluarkan elektron dari suatu bahan yang dikenai, hal ini dapat mengakibatkan atom yang semula netral akan menjadi bermuatan listrik. Molekul tersebut akan mengalami perubahan struktur karena lebih mudah bereaksi secara kimia dengan mengikatkan diri pada atom atau molekul di sekitarnya. Apabila atom yang bermuatan listrik tersebut terdapat pada sel makhluk hidup maka perubahan struktur molekul dapat mengganggu fungsi sel (Muljani, 2003). Sinar gamma dapat menghasilkan kerusakan yang mirip dengan sinar X, seperti terbakar, kanker dan mutasi genetika.



Ketika energi radiasi memasuki jaringan tubuh yang sebagian besar mengandung air maka gerak elektron akan dipercepat sehingga terjadi proses ionisasi. Molekul air akan mengeluarkan elektron dan menghasilkan pasangan ion (H_2O^+) dan (e^-) kedua komponen ini tidak stabil.

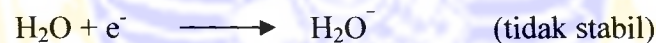


Setelah proses ionisasi molekul air dapat mengalami berbagai reaksi yaitu:

1. Bila molekul air bermuatan positif (H_2O^+) bereaksi dengan (e^-) akan menjadi molekul air yang stabil kembali sesuai dengan reaksi:



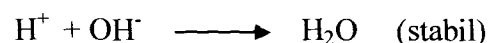
2. Bila komponen pasangan ion tidak saling bergabung maka elektron dapat bergabung dengan molekul air yang lain dan menghasilkan molekul air yang tidak stabil dengan muatan negatif sesuai dengan reaksi :



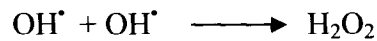
Pada dasarnya molekul air positif (H_2O^+) dan molekul air negatif (H_2O^-) adalah molekul yang tidak stabil sehingga dapat mengurai kembali menjadi molekul yang lebih kecil membentuk ion hidrogen (H^+), radikal hidroksil (OH^\bullet), ion hidroksil (OH^-) dan radikal hidrogen (H^\bullet). Sesuai dengan persamaan reaksi:



Ion (H^+) dan (OH^-) dapat berkombinasi ulang membentuk molekul H_2O yang stabil sesuai dengan persamaan reaksi :



Radikal hidroksil (OH^\bullet) yang terbentuk dari proses diatas dapat bereaksi dengan molekul lain atau bergabung dengan radikal sejenis membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan senyawa bersifat racun bagi sel makhluk hidup. Sesuai dengan persamaan reaksi:



Sedangkan radikal hidrogen (H^\bullet) dapat bereaksi dengan molekul oksigen membentuk radikal hidroperoksil ($\text{H}_2\text{O}^\bullet$) yang dianggap sebagai senyawa utama penimbul kerusakan biologi setelah interaksi radiasi dengan air, sesuai dengan persamaan reaksi :



(Edward *et al.*, 1984).

Kemudian elektron bebas yang terbentuk akan berikatan dengan molekul lain membentuk tambahan radikal bebas, bila berikatan dengan oksigen maka akan terbentuk radikal superoksida (O_2^-) yang bertindak sebagai oksidator kuat yang sangat reaktif. Secara kimiawi H_2O_2 dan O_2^- bersifat racun yang dapat menyebabkan kerusakan molekul penting dalam materi biologi seperti enzim, DNA, RNA, kromosom dan peroksidasi lemak (Halliwell, 1991). Kerusakan tersebut dapat pulih kembali sehingga disebut dengan kerusakan sementara atau timbul kerusakan permanen yang dapat merubah fungsi sel serta gangguan dalam proses enzim dan pembelahan di dalam sel.

Dalam hal ionisasi, radiasi sinar gamma berinteraksi dengan bahan melalui tiga proses utama yaitu :

1. Efek Fotoelektrik terjadi jika foton mengenai elektron yang terikat kuat pada atom dan energi foton selalu lebih besar jika dibandingkan dengan energi ikat elektron pada atom.
2. Penyebaran Compton terjadi jika radiasi sinar gamma menumbuk elektron bebas atau yang terikat lemah pada atom. Sebagian energi radiasi diberikan kepada elektron sehingga elektron terlepas dari atom (elektron hambur).
3. Produksi pasangan terjadi jika foton yang mempunyai energi yang cukup besar mendekati inti atom sehingga energi foton yang hilang akan muncul menjadi sepasang elektron dan positron (Agustiani, 2005).

Zat yang dapat memancarkan radiasi disebut zat radioaktif. Zat radioaktif memiliki inti atom tidak stabil. Sehingga zat tersebut mengalami transformasi spontan menjadi zat dengan inti atom yang lebih stabil dengan mengeluarkan partikel atau sifat sinar tertentu.

Cobalt⁶⁰ adalah suatu unsur ferro – magnetis yang berwarna putih keperakan bersifat radioaktif yang menghasilkan dua sinar gamma dengan energi 1,17 Mev dan 1,33 Mev. Cobalt⁶⁰ memiliki waktu paruh sekitar 5,24 tahun. Unsur ini biasanya digunakan sebagai sumber sinar gamma di dalam radioterapi, radiografi bidang industri untuk mendeteksi kekurangan struktural dalam komponen metal (Cember, 1988).

2.2.1 Besaran dan satuan dosis

Satuan radiasi ada beberapa macam dan tergantung pada kriteria penggunaan. Satuan tersebut berupa :

a. Satuan untuk paparan radiasi (Rontgen)

Adalah satuan untuk menunjukkan besarnya intensitas sinar X atau sinar gamma yang dapat menghasilkan ionisasi di udara dalam jumlah tertentu.

b. Satuan untuk dosis absorpsi medium (Rad / Gray)

Adalah satuan yang digunakan untuk mengetahui banyaknya radiasi pengion yang terserap oleh medium yang dikenai. Dalam satuan SI satuan dosis radiasi serap ini disebut dengan Gray (Gy). $1 \text{ Gy} = 100 \text{ Rad}$.

c. Satuan untuk dosis ekuivalen (Rem)

Adalah satuan yang banyak digunakan berkaitan dengan pengaruh radiasi terhadap tubuh manusia atau sistem biologis lainnya.

d. Satuan untuk intensitas sumber radiasi (Curie)

Adalah satuan yang digunakan untuk intensitas radiasi yang tinggi.

(Wardhana, 1996).

Dosis radiasi dikaitkan dengan banyaknya energi yang diserap oleh materi yang dilaluinya. Fraksi energi suatu medan radiasi yang diserap oleh tubuh bergantung kepada besaran dari energi radiasi, sehingga perlu untuk membedakan antara penyinaran radiasi dan dosis radiasi yang diserap. Berdasarkan hal tersebut satuan energi dosis radiasi dinyatakan dengan energi yang diserap persatuan massa dalam jaringan. Satuan ini disebut dengan Gray (Gy) dan definisi 1 Gray

adalah dosis radiasi yang diserap dalam 1 Joule/kg berat tubuh. $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad}$ sedangkan 1 rad sama dengan 100 erg/gr.

Besar kecilnya dosis radiasi dapat dibagi menjadi 4 golongan, yaitu :

- a. Dosis rendah : 0 – 50 rad
- b. Dosis sedang : 50 – 200 rad
- c. Dosis semi lethal : 200 – 400 rad
- d. Dosis lethal : 400 – 500 rad

(Wardhana, 1980).

2.3 Tinjauan Tentang Oksidan Dan Radikal Bebas

Radikal adalah suatu molekul kimia dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya, bahan ini bersifat magnetik, reaktif dan oksidan yang dapat menimbulkan kerusakan atau kematian sel (Tjokroprawiro, 1993, Wijaya, 1996, Maslachah, *et al.*, 2003).

Radikal bebas adalah suatu molekul oksigen yang sangat reaktif karena atom tersebut orbit terluarnya memiliki elektron yang tidak berpasangan. Karena kehilangan pasangannya sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan radikal, akibatnya molekul tersebut selalu berusaha mencari pasangan elektron dengan cara merebut elektron dari molekul lain secara paksa sehingga disebut radikal bebas. Atom atau grup atom itu antara lain Cl^\cdot , HC_3^\cdot , HO^\cdot , H_2O_2 , OH , O_2 , dan NO . Radikal bebas ini berakibat destruktif bagi molekul lain yang elektronnya dirampas sehingga menimbulkan reaksi berantai yang menyebabkan munculnya radikal bebas baru yang semakin banyak.

Partikel atau elektron yang dijadikan pasangan baru oleh radikal bebas bisa dirampas dari molekul makro pembentuk sel yaitu protein, karbohidrat (polisakarida), lemak, *deoxyribo nucleid acid* (DNA), membran sel, membran lisosom, mitokondria, enzim, serta komponen jaringan lain (Burkley, 2002). Sel yang elektronnya dirampas oleh radikal bebas akan menjadi rusak, mati, atau bermutasi, sehingga dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif seperti kanker dan penuaan sel.

Radikal bebas alami (endogen) muncul sebagai konsekuensi dari adanya kehidupan, karena makhluk hidup akan selalu memproduksi radikal bebas sebagai produk samping dari proses pembentukan energi. Energi diperoleh dari proses metabolisme dengan mengoksidasi zat makanan yaitu karbohidrat, protein dan lemak. Zat tersebut akan dikonversikan menjadi senyawa pengikat energi atau *Adenosin Tri Phospat* (ATP) melalui proses metabolisme dengan bantuan oksigen, dalam proses oksidasi itulah ROS yaitu anion superoksida dan radikal hidroksil akan terbentuk.

Radikal bebas diluar tubuh juga bisa terbentuk dari aktivitas pembakaran misalnya pembakaran bahan bakar mesin dan kendaraan bermotor, bahan bakar memasak, rokok dan radiasi. Sumber radikal bebas lainnya adalah bahan pencemar lingkungan, obat – obatan, ozon, nitrogenoksida, reaksi redoks dengan reaksi fisi ikatan homolitik atau pemindahan elektron (Gitawati, 1995, Maslachah, *et al.*, 2003). Ketika sinar ultraviolet menerpa suatu benda terus – menerus, maka elektron atom benda tersebut akan meloncat dari orbitnya dan tercipta radikal bebas. Selain itu radikal bebas juga bisa dihasilkan oleh : sel fagosit yang

berperan dalam reaksi peradangan (inflamasi), kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi pada membran sel (Ivanov, 2000).

Radikal bebas tidak sepenuhnya merugikan karena dalam kadar tertentu justru bermanfaat dan diperlukan untuk pertahanan tubuh, yaitu oleh fagosit untuk membunuh bakteri dan virus yang masuk dalam tubuh. Ketika kuman masuk ke dalam tubuh, sel darah putih (leukosit) akan menghancurkan dan memakan kuman dengan bantuan radikal bebas. Selain itu juga membantu dalam proses pembuatan hormon dan mengaktifkan enzim yang dibutuhkan oleh hampir setiap sistem di dalam tubuh (Halliwell, 1991).

Radikal bebas bereaksi dengan senyawa lain melalui reaksi:

1. Penambahan elektron



2. Donasi elektron



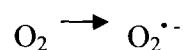
3. Penghilangan elektron



2.3.1 Macam-macam radikal bebas:

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

Berasal dari penambahan sebuah elektron pada satu molekul O_2 .



Superoksida dapat bereaksi dengan berbagai substrat biologik membentuk O_2 dan H_2O_2 . Reaktivitasnya sangat terbatas karena dismutasi spontan yang dapat terjadi pada pH fisiologis sehingga menyebabkan radikal superoksida dapat berdifusi dan bereaksi dengan substrat yang relatif jauh dari tempat asalnya.

b. Hidrogen peroksida (H_2O_2)

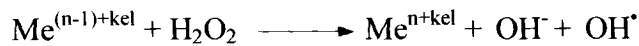
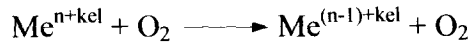
Penambahan satu elektron pada radikal $O_2^{\cdot-}$ menghasilkan ion peroksida O_2^{2-} yang tidak bersifat radikal, tetapi mengalami protonasi membentuk akumulasi H_2O_2 yang berbahaya bila bersama dengan logam (Fe, Cu) atau zat kelator (*chelating agent*) karena dapat bereaksi membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif. Kadar hidroperoksida yang tinggi secara langsung bersifat toksik karena dapat menjadi perantara dalam reaksi polimerisasi atau terjadi oksidasi terhadap residu asam amino (misal: Metionin, histidin, sistein, lisin) yang dapat mengaktivasi enzim.

c. Radikal hidroksil (OH^{\cdot})

Reaksi fisi homolitik O-O pada H_2O_2 menghasilkan dua radikal hidroksil. Reaksi homolitik ini terjadi karena pengaruh panas atau radiasi ionisasi. Selain itu adanya ion logam (Fe^{2+} , Cu^+) juga memicu terbentuknya radikal hidroksil dari H_2O_2 melalui reaksi reaksi Fenton:



Serta adanya zat kelator melalui reaksi Haber – Weiss:



Radikal hidroksil adalah oksidan yang sangat reaktif dan tidak stabil, bereaksi dengan hampir semua substrat biologik (Dreosti, 1991).

Aktivitas oksidan bereaksi dengan senyawa yang dapat melepaskan elektron, reaktivitasnya yang tinggi berdampak negatif terhadap senyawa yang berfungsi untuk mempertahankan integritas sel yaitu, membran sel, DNA dalam inti sel dan protein.

2.3.2 Dampak dari radikal bebas :

a. Dampak terhadap membran

Membran sel tersusun oleh fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Komponen fosfolipid dan glikolipid mengandung asam lemak tak jenuh (*Polyunsaturated Fatty Acid* = PUFA) terutama asam arakhidonat yang akan mengalami oksidasi membentuk senyawa radikal alkil dan hidroperoksida lemak. Selanjutnya terjadi dekomposisi hidroperoksida lemak menjadi radikal bebas hidroksil dan radikal alkosil. Kemudian radikal alkosil akan menjadi Malondealdehid (MDA).

b. Dampak terhadap DNA

Dampak dari radikal hidroksil dapat menimbulkan perubahan DNA berupa hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan cincin purin dan pirimidin serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Kerusakan DNA khususnya pada DNA

mitokondria (mtDNA) dapat menimbulkan terjadinya mutasi DNA yang dapat mempengaruhi produksi ATP yang diperlukan selama perkembangan sel.

c. Dampak terhadap protein

Kerusakan pada protein disebabkan adanya reaksi pada asam amino penyusun protein khususnya asam amino sistein yang mengandung gugus sulfhidril (SH), kerusakan gugus ini dapat menimbulkan penurunan fungsi biologis protein (Maslachah, *et al.*, 2003). Stres oksidatif yang ditimbulkan karena ketidakseimbangan molekul pengoksidasi dan antioksidan alami di dalam tubuh menyebabkan penuaan, apoptosis sel, dan beberapa penyakit seperti kanker, parkinson, alzheimer bahkan kerusakan cardiovascular (Burkley, 2002).

2.4 Tinjauan Tentang Antioksidan

Antioksidan menurut arti kimia adalah senyawa pemberi elektron (*Electron donor*). Arti yang lebih luas yaitu secara biologis adalah senyawa yang dapat meredam dampak negatif dari radikal bebas oksigen, termasuk enzim dan protein pengikat logam. Antioksidan merupakan suatu zat dalam konsentrasi kecil dapat mencegah atau memperlambat oksidasi radikal bebas, merupakan zat yang anti terhadap zat lain yang bekerja sebagai oksidan. Karena susunan molekulnya, suatu senyawa antioksidan dapat memberi elektron dengan cuma – cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali. (Halliwell, 1991).

Tubuh dapat memproduksi antioksidan sendiri yang berupa enzim yaitu *superoksida dismutase (SOD)*, *glutathione peroksidase (GSH Px)*, katalase serta non enzim yaitu senyawa kecil *Glutathione*. *Glutathione* adalah suatu protein

berukuran kecil yang tersusun oleh asam amino *cystein*, *glutamic acid* dan *glycine*. *Glutathione* berperan dalam detoksifikasi, yaitu dengan terikat pada toxin, seperti logam berat, solven dan pestisida yang kemudian mengubahnya menjadi bentuk yang bisa disekresikan ke dalam urin (Eide, D. J., 2001).

Ketiga enzim dan senyawa *Glutathione* itu bekerja menetralkan radikal bebas. Kerja dari enzim tersebut dibantu oleh asupan antioksidan dari luar (eksogen) yang berasal dari bahan makanan, misalnya vitamin E, vitamin C, beta-karoten dan senyawa flavonoid yang diperoleh dari tumbuhan. Selain itu juga oleh senyawa yang dapat lebih mengaktifkan fungsi antioksidan endogen.

Berdasarkan mekanismenya terdapat dua kelompok antioksidan yaitu:

a. Antioksidan pencegah (*preventive anti – oxidant*)

mencegah terhimpunnya senyawa oksidan yang berlebihan

Macam-macam antioksidan pencegah yaitu:

1. Enzim superoksida dismutase yang dapat meredam radikal bebas oksigen.

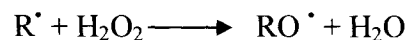


2. Enzim katalase di sitoplasma, mengkatalisis H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 .

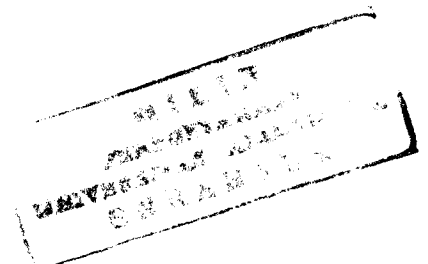


3. Peroksidase, dapat meredam H_2O_2 menjadi H_2O melalui sistem

Glutathione Redoks Sircle



(Dreosti, 1991)



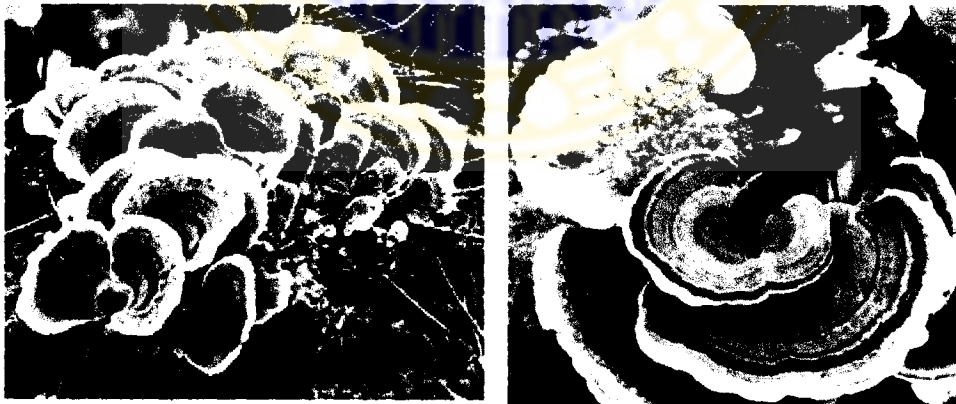
b. Antioksidan pemutus rantai (*Chain breaking-anti-oxidant*)

Antioksidan pemutus rantai mampu mencegah reaksi rantai yang berkelanjutan, yang terbagi menjadi:

1. Antioksidan pemutus reaksi rantai endogen: *Glutathione*, Sistein.
2. Antioksidan pemutus reaksi rantai eksogen: Beta – karoten, vitamin E dan vitamin C.

2.5 Tinjauan Tentang Polisakarida Krestin (PSK)

PSK merupakan hasil ekstrak jamur *Coriolus versicolor* dari kelas Basidiomycetes (Gambar 2.1.), memiliki karakteristik berupa bubuk berwarna coklat dengan bau busuk yang khas dan larut dalam *methanol*, *pyridine*, *cloroform*, *benzene*, dan *hexane*, tetapi paling larut dalam air dengan PH normal 7,0 memiliki berat molekul $9,4 \times 10^4$ dengan waktu paruh 18 jam di dalam sistem metabolik manusia (Tsukagoshi *et al.*, 1984; Kobayashi, *et al.*, 1995).



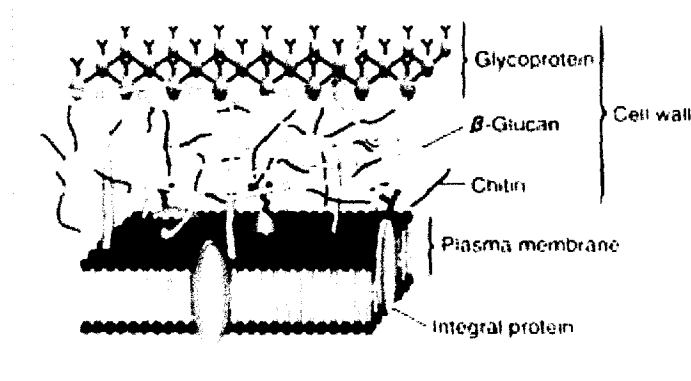
Gambar 2.1. Struktur tubuh buah jamur *Coriolus versicolor* (Cui, dan Chisti, 2003).

Jamur ini (Gambar 2.1.) dalam tata nama ilmiah diklasifikasikan ke dalam :

Super kingdom	:	Eukariota
Kingdom	:	Fungi
Phylum	:	Basidiomycota
Classis	:	Basidiomycetes
Sub classis	:	Homobasidiomycetes
Ordo	:	Polyporales
Familia	:	Polyporaceae
Genus	:	<i>Coriolus</i>
Species	:	<i>Coriolus versicolor</i> L.
(klasifikasi dari	:	Arjun dan Ramesh, 1982)

Selain nama ilmiah diatas, jamur ini memiliki banyak sinonim yaitu *Agaricus versicolor*, *Boletus versicolor*, *Polyporus versicolor*, *Polystictus versicolor*, *Poria versicolor*, *Trametes versicolor* (Cui dan Chisti, 2003). Di Jepang jamur ini dikenal dengan nama jamur ‘Kawaratake’, dan di Cina disebut jamur ‘yun-zhi’ (Yang, 1993).

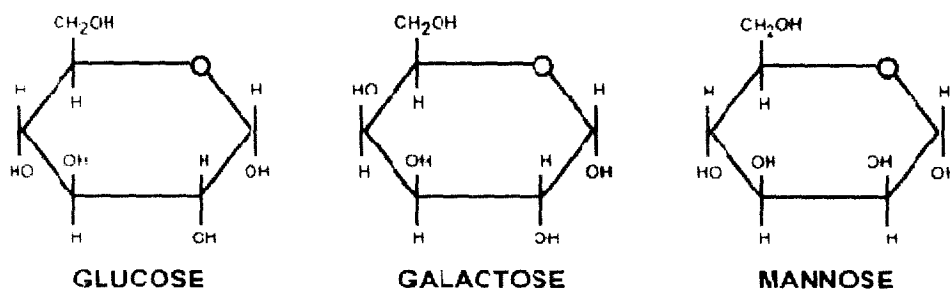
Struktur tubuh *Coriolus versicolor* terdiri dari tubuh buah yang tersusun oleh miselium (Elizabeth, 1996). Yang memiliki kumpulan sel yang dilindungi oleh dinding sel, salah satu komponen penyusun dinding sel jamur ini (Gambar 2.2.) adalah kitin yang memiliki struktur mirip dengan selulose yang terdapat pada tanaman tinggi, sehingga jamur ini memiliki struktur yang rigid. Pada kitinlah terdapat polisakarida yang merupakan komponen aktif. Kitin dapat dicerna oleh manusia, karena itu dapat digunakan pada manusia (Yang, 1993).



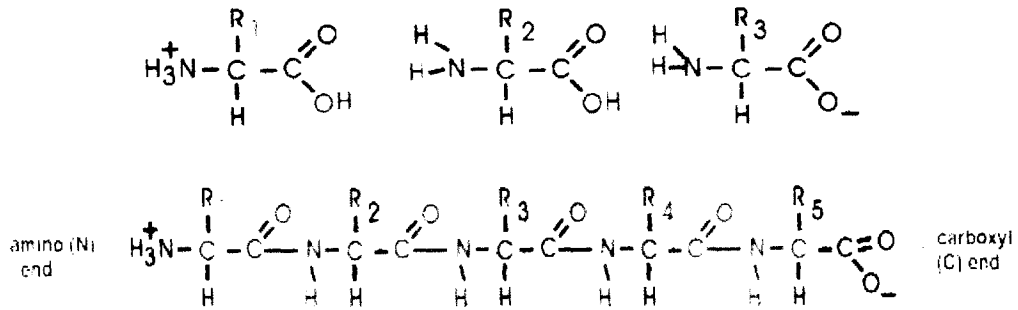
Schematic structure of fungus cell wall
 (Yamaguchi, 2001)

Gambar 2.2. Struktur dinding sel jamur yang mengandung ikatan β -glukan dan chitin (Yamaguchi, 2001).

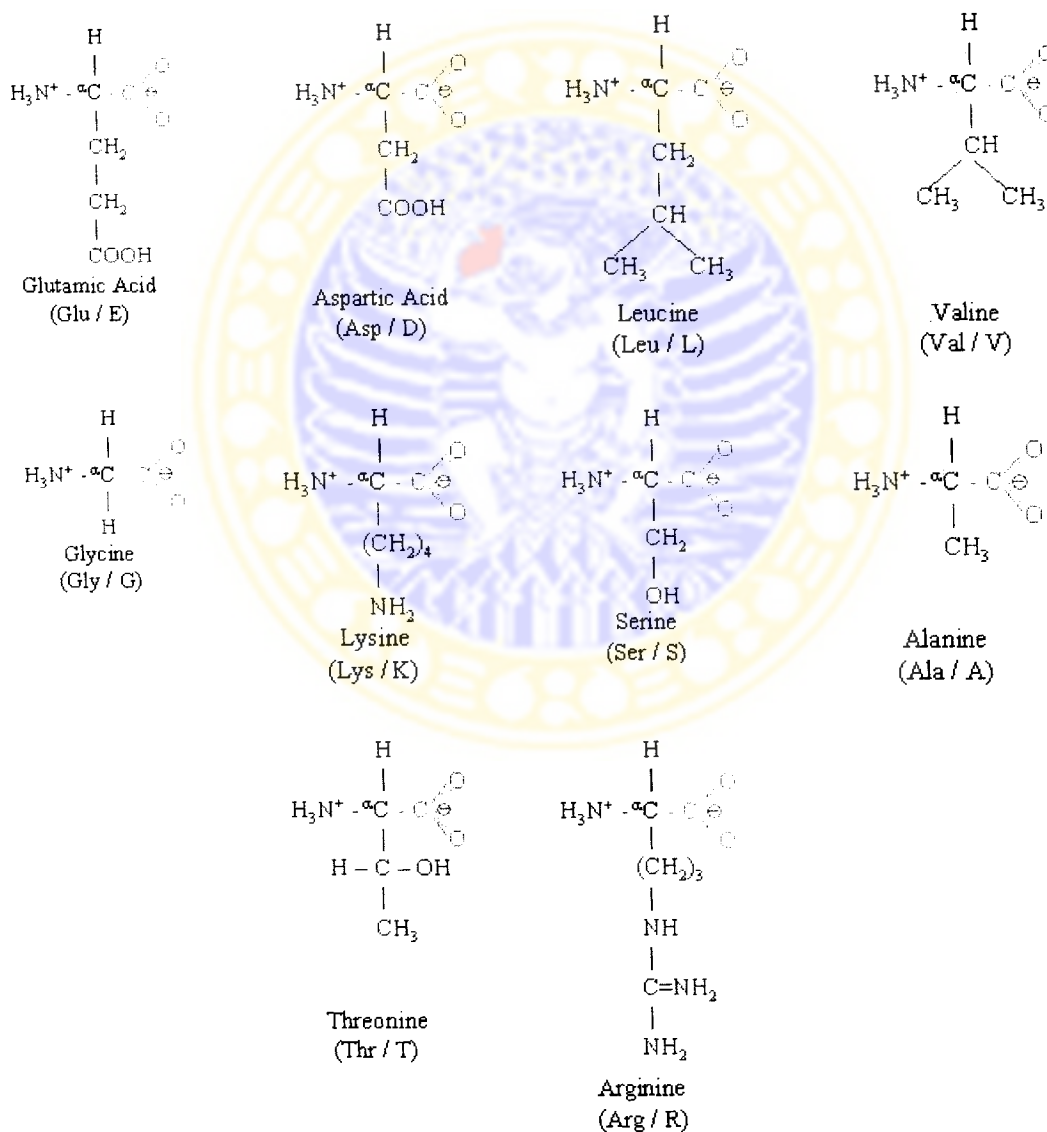
Komposisi zat yang terkandung dalam jamur *Coriolus versicolor* diantaranya adalah lipid (1,7 % dari berat total), *fungisterol*, *ergosterol*, *sitosterol*, *hydroxymethylquinoline* dan lain-lain, kemudian protein (38 %) yang tersusun atas asam amino seperti asam aspartat, asam glutamat, valin, leusin, lisin, glisin, alanin, arginin, treonin, dan serine (Gambar 2.6) serta beberapa monosakarida, yaitu glukosa yang merupakan komponen penyusun yang terbesar (74,6 %), galaktosa (2,7 %), mannosa (15,5 %) (Gambar 2.3.), xylosa (4,8 %) dan fucose (2,4 %) (Tsukagoshi, *et al.*, 1984).



Gambar 2.3. Struktur molekul beberapa monosakarida yang menjadi komponen penyusun PSK (Yarema, 2006).

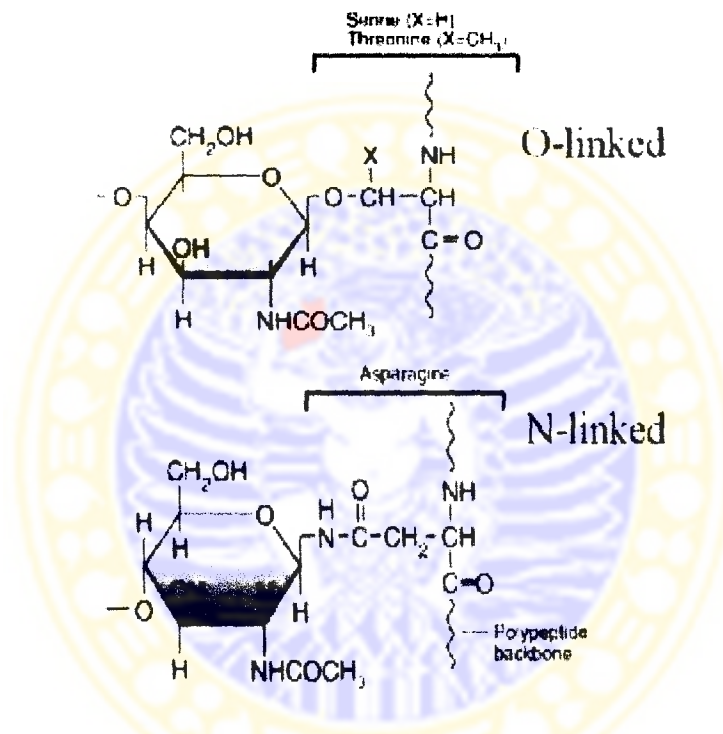


Gambar 2.4. Struktur ikatan peptida yang menghubungkan berbagai asam amino membentuk polipeptida (Anonim¹, 2005)

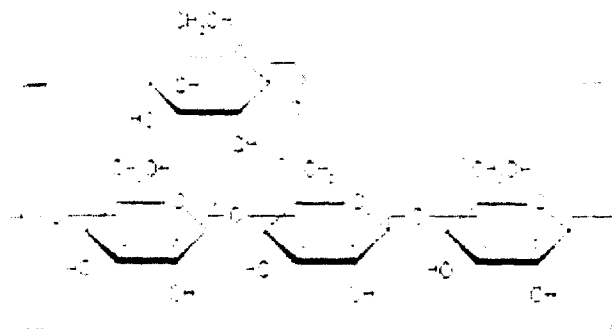


Gambar 2.5. Struktur molekul asam amino sebagai komponen penyusun PSK (Fessenden, 1995).

Dua bahan dari jamur ini yang aktif secara imunologik adalah Polisakarida Peptida dan PSK (tersusun oleh kombinasi dari asam amino dan beta – glucan) yang terdiri dari komponen berupa β – 1,3 glukon sebagai rantai utama dan β – 1,6 glukon sebagai rantai samping (Gambar 2.8.) yang terikat pada protein membran melalui ikatan O – atau N – glycosida (Gambar 2.7.) (Tsukagoshi, *et al.* 1984).



Gambar 2.6. Struktur ikatan antara gugus gula dan protein yang dihubungkan oleh ikatan O – atau N – glycosida (Yarema, 2006).



Gambar 2.7. Struktur ikatan β – 1,3 dan β – 1,6 glukon pada PSK (Rowan, *et al.*, 2000).

2.5.1 PSK sebagai antioksidan

Tubuh manusia dapat menghasilkan antioksidan secara alami atau memperoleh asupan antioksidan dari luar yang berupa suplemen ataupun dari bahan makanan yang mengandung antioksidan untuk meredam radikal bebas yang terjadi di dalam tubuh.

Struktur PSK merupakan kombinasi dari asam amino dan beta – glukan yang terdiri dari ikatan $\beta - 1,3$ dan $\beta - 1,6$ melalui ikatan O – atau N – glycoside. Polisakarida ini dapat turut serta dalam fungsi biologis makhluk hidup, yaitu peningkatan aktivitas sel imun tubuh. Terjadinya interaksi antara rantai cabang PSK dengan reseptor berbagai macam sel imun, dapat menginduksi ekspresi *Macrophage Colony Stimulating Factor* (M-CSF) (Pang, 2003).

PSK dilaporkan dapat melindungi makrofag dari *oksidatif injury* pada pasien penyakit kanker. Dengan adanya kemampuan sebagai antioksidan dan kemampuan untuk meningkatkan sistem kekebalan dalam tubuh menyebabkan PSK dapat mencegah dan melindungi bagian sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas, senyawa kimia ataupun organisme.

Selain PSK ada 2 jenis polisakarida lain yang terkandung dalam jamur *Coriolus versicolor*, yaitu *Small Peptide of Coriolus versicolor* (SPCV) dan *Polysaccharida Peptide* (PSP) (Yang, et al. 1992). Kedua zat tersebut terbukti mampu melawan terbentuknya sel kanker dan hanya memiliki efek samping yang kecil pada *bone marrow* ataupun organ yang lain serta tidak menunjukkan aktivitas *immunosuppressive* (Tsukagoshi, 1984), selain itu PSP yang diberikan secara oral menunjukkan LD₅₀ sebesar 10 gram/kg.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 7 bulan mulai 21 Juli 2005 – 14 Februari 2006 di Laboratorium Biologi Reproduksi Jurusan Biologi. Pemeriksaan antioksidan dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya. Pemberian irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ dilakukan di Ruang Cobalt⁶⁰ Radioterapi R.S.U.D. Dr. Soetomo, Surabaya. Pemeliharaan mencit (*Mus musculus*) sebelum dan sesudah penyinaran dilakukan dalam rumah hewan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Airlangga, Surabaya.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) betina strain BALB/C berusia 6 – 8 bulan dengan berat badan 27 – 34 gram sebanyak 36 ekor yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA), Surabaya.

3.2.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan adalah larutan PSK dengan dosis 200 mg/g berat badan (Lunitasari, 2004) yang diproduksi oleh PT. Sankyo, Jepang, Etanol yang berkualitas pro analisa (p.a), pereaksi 2,2-diphenyl-1-picril hidrazin (DPPH), aqua bidestilata, darah mencit, pakan mencit berupa pellet BRI CP 511 bravo produksi PT Charoen Phokphand yang mengandung komposisi bahan berupa protein 21 –

23 %, abu 7 %, lemak 5 %, serat 5 %, kalsium 0,9 %, phosphor 0,6 %, kadar air 13 %, dan biji kacang hijau.

3.2.3 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat irradiasi Alcyon II Cobalt⁶⁰, Spektrofotometer UV – Vis Shimadzu, kuvet, timbangan analitis, gelas arloji, mikro pipet eppendorf 10 –100 µl dan 1000 µl, pipet tetes, gelas ukur 10 ml, gelas beaker 500 ml dan 250 ml, labu Erlenmeyer 100 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kotak plastik transparan ukuran 10 X 5 X 3 cm, vial tube, botol film, botol aquades, spatula dan jarum *gavage*, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, termometer, alat bedah, bak parafin, bak plastik ukuran 35 X 25 X 10 cm dengan penutup dari kawat, tempat pakan dan tempat minum mencit, tempat sekam.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan penelitian berupa rancangan acak lengkap (RAL) (Triton, 2005).

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variasi waktu pemberian Polisakarida krestin, dosis Polisakarida krestin.

2. Variabel terikat

Kandungan antioksidan darah pada mencit, kandungan antioksidan dalam larutan PSK.

3. Variabel terkontrol

Umur, strain mencit, jenis kelamin, suhu dan kelembaban kandang, pakan, dan minum yang diberikan selama pemeliharaan, konsentrasi larutan DPPH serta volume darah (ml).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan

Untuk melakukan penelitian ini dibutuhkan 36 ekor mencit betina (*Mus musculus*) dengan berat badan 27 – 34 gram dari strain BALB/C yang berusia 6–8 bulan. Sebelum digunakan untuk percobaan mencit diaklimasikan terlebih dahulu dalam rumah hewan selama 1 bulan, diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

3.5.2 Pengelompokan hewan percobaan

Mencit yang akan digunakan dalam percobaan ini dikelompokkan menjadi enam kelompok perlakuan yaitu K(-), K(+), PI, PII, PIII, PIV dan masing-masing kelompok perlakuan terdapat enam ekor mencit.

3.5.3 Pemberian polisakarida krestin

Dalam penelitian ini pemberian PSK dilakukan dengan dosis sebesar 200 mg/g berat badan. Sedangkan pemberian irradiasi dilakukan dengan dosis sebesar 4 Gy sesuai dengan penelitian sebelumnya (Lunitasari 2004; Mamuaya, 2004).

Adapun perlakuan untuk masing – masing kelompok adalah :

- K(-) : Mencit tanpa diberi PSK ataupun irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ kemudian mencit dibedah dan diambil darahnya.
- K(+) : Mencit diberi irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰, kemudian mencit dibedah dan diambil darahnya.
- PI : Mencit diberi PSK secara gavage setiap hari selama 7 hari berturut – turut sebelum irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰, kemudian mencit dibedah dan diambil darahnya.
- PII : Mencit diberi PSK secara gavage selama 1 hari sebelum irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰, kemudian mencit dibedah dan diambil darahnya.
- PIII : Mencit diberi PSK secara gavage 1 jam setelah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰, kemudian mencit dibedah dan diambil darahnya.
- PIV : Mencit diberi PSK secara gavage selama 1 hari sebelum dan 1 jam setelah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰, kemudian mencit dibedah dan diambil darahnya.

3.5.4 Pengukuran kemampuan polisakarida krestin (PSK) sebagai antioksidan secara *in vitro*

Pembuatan larutan standar dengan menambahkan larutan etanol 0,1 ml pada larutan DPPH 0,004 % sebanyak 3,9 ml kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV – Vis Shimadzu pada panjang gelombang 497 nm, 517 nm, dan 537 nm. Selanjutnya membuat larutan PSK dengan berbagai konsentrasi untuk ditentukan absorbansinya (Lunitasari, 2004).

Menentukan IC₅₀ aktivitas anti radikal bebas dilakukan dengan cara membuat larutan sampel berupa PSK dalam berbagai konsentrasi yaitu 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 1.000 ppm, 2.500 ppm, 5.000 ppm dan 10.000 ppm. Masing – masing konsentrasi diambil 0,1 ml kemudian ditambahkan pereaksi DPPH 0,004 % dalam pelarut Etanol sebanyak 3,9 ml (Joyeux, 1995; Indriyani, 2005).

Menghitung absorbansi dari aktivitas antioksidan senyawa terhadap pereaksi DPPH dapat ditentukan sebagai berikut:

$$\text{Absorbansi hitung } \lambda_{517 \text{ nm}} = A_{517 \text{ nm}} - \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

Sedangkan perhitungan kapasitas antioksidan sebagai persen peredaman DPPH menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ peredaman DPPH} = 1 - \left[\frac{\text{Absorban hitung bahan uji}}{\text{Absorban hitung DPPH (standar)}} \right] \times 100\%$$

Besarnya aktivitas penangkapan radikal bebas dinyatakan dengan IC₅₀ yaitu besarnya konsentrasi larutan uji yang mampu menurunkan 50 % absorbansi larutan DPPH selanjutnya analisis data daya hambat *inhibitor concentration 50 %*

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pengukuran kemampuan polisakrida krestin sebagai antioksidan secara *in vitro*

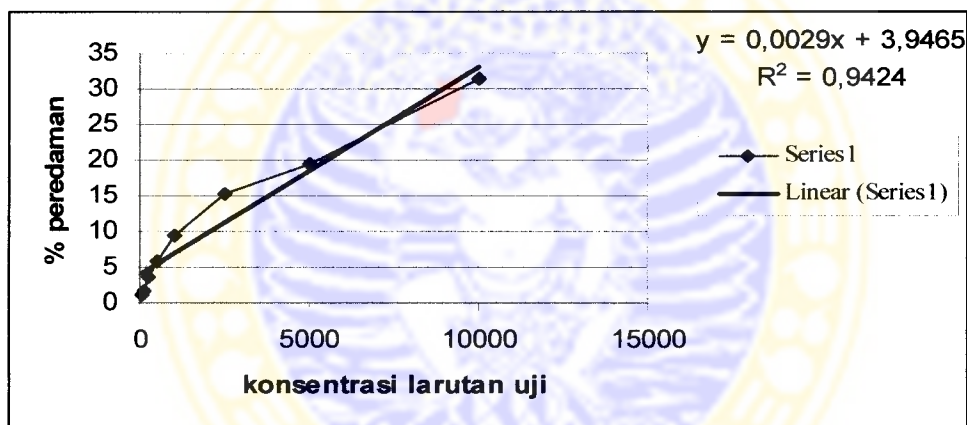
PSK yang telah dibuat pada berbagai macam konsentrasi, masing masing diambil 0,1 ml dan ditambahkan kedalam 3,9 ml larutan DPPH 0,004 % selanjutnya diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu.

Data hasil pengukuran persen peredaman DPPH 0,004 % terhadap senyawa PSK disajikan dalam Tabel 4.1 sebagai berikut :

Tabel 4.1. Besarnya nilai absorbansi pada berbagai panjang gelombang serta hasil perhitungan persen peredaman DPPH terhadap senyawa PSK dalam berbagai konsentrasi.

Konsentrasi PSK (ppm)	Nilai Absorbansi			Persen Peredaman DPPH
	497 nm	517 nm	537 nm	
Standart	0.970	1.137	0.965	-
62.5	0.964	1.137	0.976	1.2
125	0.956	1.128	0.973	1.8
250	0.930	1.098	0.947	3.6
500	0.931	1.096	0.942	5.9
1000	0.923	1.082	0.934	9.5
2500	0.915	1.056	0.911	15.4
5000	0.937	1.061	0.912	19.5
10000	0.971	1.056	0.910	31.4

Selanjutnya hasil perhitungan data pada tabel di atas dilakukan regresi linear dengan memasukkan berbagai konsentrasi larutan PSK sebagai sumbu X serta persen peredaman DPPH terhadap senyawa PSK sebagai sumbu Y sehingga diperoleh persamaan $y = 0,0029 x + 3,9465$ (Gambar 4.1). Dari persamaan tersebut variable y disubstitusi dengan angka 50 maka diprediksi nilai variable x sebesar 15.880,517. Untuk menentukan besarnya nilai IC_{50} pada larutan PSK sama dengan besarnya nilai variable x dari persamaan tersebut, yang terletak pada nilai 15.880,517 ppm.



Gambar 4.1. Grafik untuk menentukan IC_{50} berdasarkan hasil dari persamaan regresi linear.

4.1.2. Pengukuran kandungan antioksidan darah

Darah yang telah diambil dari jantung mencit selanjutnya diencerkan dengan menggunakan aquades menjadi berbagai macam konsentrasi yaitu 10.000, 5.000, 2.500, 1.250, 625, 312,5 ppm. Kemudian masing – masing konsentrasi larutan darah diambil sebanyak 50 μ l dan ditambahkan pada larutan DPPH 0,004% sebanyak 1.950 μ l kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV – Vis Shimadzu. Setelah itu dihitung persen peredamannya

terhadap larutan DPPH 0,004 % dan dijumlah total kandungan antioksidan pada masing – masing kelompok perlakuan serta dirata - rata seperti yang tercantum dalam (Tabel 4.2).

Tabel 4.2. Kandungan antioksidan dalam berbagai konsentrasi sampel darah pada setiap kelompok perlakuan.

Perlakuan	Konsentrasi sampel darah						Total Antioksidan
	10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5	
K(-)	10.49 ± 1.53	8.03 ± 2.35	6.32 ± 1.55	6.12 ± 2.09	7.05 ± 2.3	6.84 ± 0.94	44.85 ±10.76
K(+)	12.35 ± 1.88	8.64 ± 1.69	6.13 ± 0.97	9.56 ± 1.35	6.36 ± 1.24	3.48 ± 0.52	46.52 ± 7.65
PI	11.95 ± 2.13	6.47 ± 3.14	3.40 ± 2.09	6.19 ± 1.85	4.89 ± 1.51	2.03 ± 0.6	34.93 ±11.36
PII	10.75 ± 1.1	6.32 ± 1.51	3.79 ± 1.05	5.86 ± 0.53	3.92 ± 0.59	2.59 ± 0.84	33.23 ± 5.62
PIII	21.29 ± 1.61	11.46 ± 1.34	9.22 ± 1.05	13.49 ± 1.82	8.63 ± 1.25	4.07 ± 1.2	68.16 ± 8.27
PIV	13.2 ± 1.6	8.14 ± 0.43	6.26 ± 0.47	8.77 ± 0.44	5.88 ± 0.35	3.52 ± 0.5	45.77 ± 3.79

Keterangan :

K (-) : Mencit tanpa diberi irradiasi dan tanpa diberi PSK

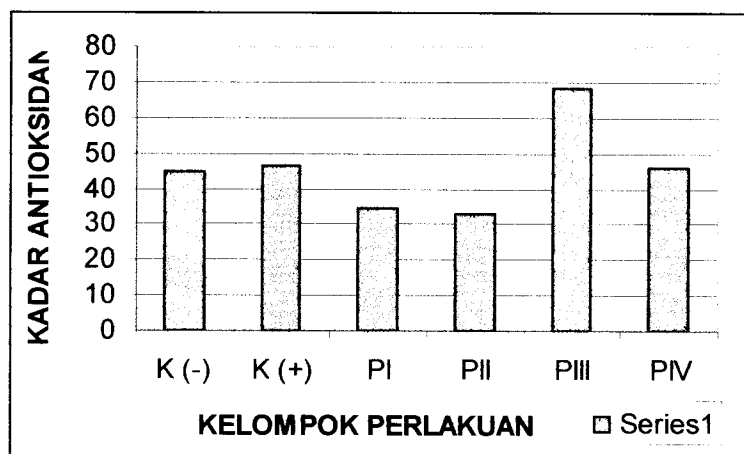
K (+) : Mencit diberi irradiasi tanpa diberi PSK

PI : Mencit diberi PSK tujuh hari berturut – turut sebelum irradiasi

PII : Mencit diberi PSK satu hari sebelum irradiasi

PIII : Mencit diberi PSK satu jam setelah irradiasi

PIV : Mencit diberi PSK satu hari sebelum dan satu jam setelah irradiasi



Gambar 4.2. Histogram jumlah total rerata kadar antioksidan pada setiap kelompok perlakuan.

Dari Gambar 4.2 tampak adanya perbedaan pada masing – masing kelompok perlakuan, yang menunjukkan peningkatan terdapat pada kelompok PIII dan PIV. Kelompok PIII memiliki kemampuan persen peredaman tertinggi terhadap larutan DPPH. Sedangkan kemampuan persen peredaman terendah terdapat pada kelompok PII yang diikuti dengan kelompok PI yang sedikit lebih tinggi, sedangkan kelompok K(-), K(+), dan PIV memiliki persen peredaman yang terletak di antara kelompok perlakuan yang lain dengan kelompok K(+). Masing – masing kelompok tersebut hampir tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Berdasarkan hasil uji statistik ANAVA dua arah menggunakan program SPSS 12 dengan $\alpha = 0,05$ maka dapat diketahui interaksi ke – enam kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang nyata, baik antar kelompok perlakuan maupun antar konsentrasi larutan sampel darah dari masing – masing kelompok perlakuan yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) (Lampiran 2.2).

Tabel 4.3 Rangkuman hasil uji perbandingan antar kelompok perlakuan terhadap persen peredaman larutan DPPH.

Kelompok perlakuan	K(-)	K(+)	PI	PII	PIII	PIV
K(-)		ns	s	s	s	ns
K(+)	ns		s	s	s	ns
PI	s	s		ns	s	s
PII	s	s	ns		s	s
PIII	s	s	s	s		s
PIV	ns	ns	s	s	s	

Keterangan : ns = non significant, s = significant

Selanjutnya masing – masing kelompok perlakuan dilakukan uji statistik ANAVA satu arah yang di ikuti dengan uji LSD (Lampiran 2.3). Hasil uji LSD yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kelompok K(-) tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok K(+), dan PIV begitu juga kelompok K(+) dengan PIV serta kelompok PI dengan PII yang ditunjukkan dengan nilai ($p > 0,05$) (lampiran 2.3). Kelompok perlakuan yang lain yaitu K(-), K(+) dengan PI, PII, PIII, serta PI, PII dengan PIII, PIV, dan PIII dengan PIV menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan seperti yang tercantum pada Tabel 4.3 diatas.

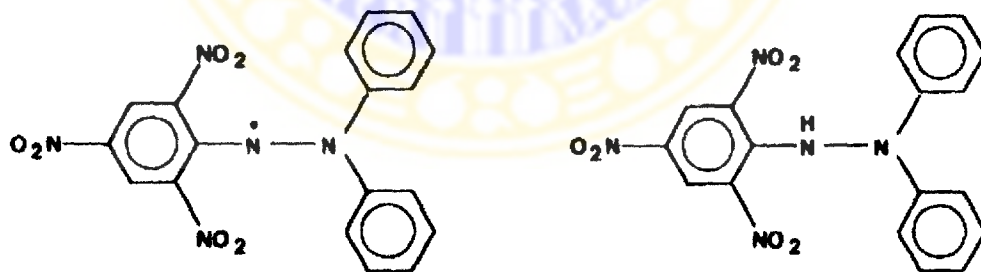
Dengan besarnya taraf signifikansi ($p < 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata penurunan kandungan antioksidan darah antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi PSK sebelum irradiasi sinar gamma Cobalt⁶⁰, serta peningkatan kandungan antioksidan darah antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang diberi PSK sesudah irradiasi sinar gamma Cobalt⁶⁰. Sehingga dengan demikian maka H_0 ditolak dan H_a diterima.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Uji aktifitas antioksidan PSK secara *in vitro*

DPPH merupakan senyawa radikal bebas dengan delokalisasi elektron berlebih pada keseluruhan molekul sehingga molekul tersebut tidak mengalami dimerisasi seperti pada radikal bebas yang lainnya. Akibat delokalisasi elektron tersebut sehingga DPPH tampak berwarna ungu gelap (Molyneux, 2004). DPPH tidak mudah bereaksi dengan oksigen sehingga dengan sifatnya yang demikian maka DPPH sering digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa yang bersifat sebagai antioksidan dengan melihat persen peredaman pada panjang gelombang 517 nm (Bansal, 1992).

DPPH bisa diredam dengan senyawa yang dapat memberikan atom hidrogen sehingga senyawa tersebut dinamakan antioksidan. Ketika larutan DPPH bercampur dengan senyawa tersebut maka warna ungu yang terdapat pada DPPH akan memudar dan terbentuk senyawa reduksi yang bersifat tidak radikal.



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

Gambar 4.3. Struktur molekul DPPH beserta bentuk senyawa tereduksinya (Molyneux, 2004).

PSK mengandung ikatan peptida yang menghubungkan antara berbagai macam asam amino yang terkandung di dalamnya seperti asam aspartat, asam glutamat, glisin, leusin, valin, alanin, treonin, dan serin. Asam amino dalam struktur molekulnya memiliki dua buah gugus yang berupa gugus karboksil (COOH) dan gugus amino (NH₂). Pada PSK gugus amino saling bergabung dengan gugus karboksil dari asam amino yang lain sehingga mengeluarkan satu buah atom hidrogen dari gugus amino dan satu buah gugusan hidroksil dari gugus karboksil (Guyton, 1995). Ketika senyawa PSK bercampur dengan DPPH dalam pelarut etanol yang berfungsi sebagai radikal bebas maka atom H dari gugus karboksil akan terputus dan dikeluarkan dari senyawa PSK karena memiliki ikatan yang lebih lemah daripada gugus amino. Selanjutnya atom H tersebut akan berikatan dengan pasangan elektron bebas pada atom N yang terdapat pada larutan DPPH sehingga menjadi bentuk senyawa tereduksi yang bersifat tidak radikal.

Berdasarkan data hasil pengukuran absorbansi larutan PSK pada berbagai konsentrasi yang berupa persen peredaman, setelah dilakukan regresi linear maka diperoleh persamaan berupa $y = 0,0029 x + 3,9465$ (Gambar 4.1). Dari persamaan tersebut dapat diprediksi nilai IC₅₀ sebesar 15.880,517 ppm. Senyawa dinyatakan memiliki kandungan antioksidan yang tinggi apabila nilai IC₅₀ suatu senyawa tersebut berada dibawah 1000 ppm. Dengan demikian maka senyawa PSK memiliki kandungan antioksidan yang rendah karena nilai IC₅₀ senyawa PSK berada diatas konsentrasi 1000 ppm. Kecilnya kemampuan antioksidan senyawa PSK tersebut diduga karena terdenaturasinya senyawa PSK akibat irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.

4.2.2 PSK sebagai antioksidan dalam tubuh

Organisme selalu melakukan suatu proses metabolisme dalam tubuh sehingga dari proses tersebut selalu dihasilkan oksidan sebagai hasil samping, untuk itu tubuh juga menghasilkan antioksidan sebagai peredam dari berbagai dampak negatif yang ditimbulkan oleh oksidan. Ketika jumlah oksidan dalam tubuh terdapat dalam jumlah yang berlebih dikarenakan paparan irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ maka antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh tidak cukup untuk meredam seluruh oksidan tersebut, sehingga tubuh sangat membutuhkan asupan antioksidan dari luar. Antioksidan tersebut akan dimetabolisme dalam tubuh dan ditransport melalui darah sehingga dalam darah terlarut berbagai macam komponen, diantaranya berbagai macam ion yang salah satunya berupa ion H⁺ yang memungkinkan terjadinya ikatan dengan radikal bebas. Sehingga secara *in vitro* antioksidan dalam darah yang diambil dari jantung mencit dimungkinkan bisa berikatan dengan larutan DPPH. Kadar antioksidan yang berikatan dengan larutan DPPH merupakan sisa dari kadar antioksidan darah setelah berikatan dengan oksidan dalam tubuh.

Senyawa PSK merupakan salah satu senyawa yang bisa dijadikan sebagai asupan antioksidan dari luar tubuh. Dengan pemberian senyawa PSK pada berbagai kelompok perlakuan hewan coba tampak adanya perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Pada kelompok kontrol (+) yang diberi irradiasi kandungan antioksidannya lebih tinggi dari pada kelompok kontrol (-) yang tidak diberi apapun, hal tersebut dikarenakan tubuh lebih aktif bekerja menghasilkan

antioksidan untuk meredam kadar oksidan yang berlebih dalam darah akibat paparan irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ yang memicu timbulnya radikal bebas.

Pada kelompok perlakuan PI dan PII yang diberi PSK 7 hari berturut – turut dan satu hari sebelum irradiasi tidak menunjukkan peningkatan kadar antioksidan dalam tubuh bahkan kadarnya lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol (-) maupun kontrol (+). Hal ini dikarenakan PSK yang diberikan pada kedua kelompok perlakuan secara *gavage* sebelum irradiasi diduga mengalami denaturasi ketika hewan tersebut terpapar irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰. Mengingat PSK adalah protein, setelah mengalami denaturasi maka senyawa PSK tersebut menjadi inaktif dan tidak berfungsi akibat irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰. Sehingga aktivitas sebagai antioksidan menjadi berkurang. Selain itu pemberian PSK dalam jangka waktu yang lama sebelum irradiasi memungkinkan PSK sudah dimetabolisme oleh tubuh sehingga sebagian dari senyawa PSK sudah diekskresikan keluar tubuh. Namun kelompok PI kadar antioksidannya sedikit lebih tinggi daripada kelompok PII karena masih ada kemungkinan terjadinya akumulasi kandungan antioksidan.

Kandungan antioksidan tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan PIII yang diberi senyawa PSK satu jam setelah irradiasi. Hal tersebut dikarenakan PSK langsung aktif bekerja menetralkan radikal bebas setelah tubuh terkena paparan irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ yang menginduksi terbentuknya radikal bebas dalam jumlah yang berlimpah. Radikal bebas tersebut berupa radikal hidroksil yang berasal dari proses ionisasi air. Penetralkan radikal bebas tersebut dapat terjadi secara langsung melalui peningkatan sistem kekebalan dalam tubuh dengan

membentuk enzim yang berfungsi untuk meredam dan mengurangi reaksi berantai dari radikal bebas tersebut.

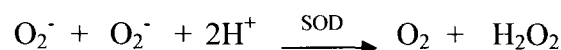
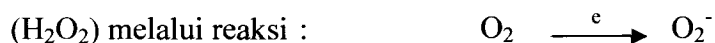
Pada kelompok PIV hasilnya tidak jauh berbeda dengan kelompok kontrol, bahkan kandungan antioksidan kelompok PIV terletak dibawah kelompok PIII. Kemungkinan hal tersebut dikarenakan terjadinya reaksi metabolisme kompleks protein dan glukosa pada PSK yang telah mengalami denaturasi akibat pemberian senyawa PSK sebelum irradiasi sinar gamma Cobalt⁶⁰. Sehingga menghasilkan oksigen radikal (O_2^-) serta terjadi oksidasi asam amino dalam PSK yang dapat menambah pembentukan H_2O_2 sebagai radikal bebas (Bellanti, 1993). Kadar oksigen radikal dan pembentukan H_2O_2 tersebut akan semakin bertambah ketika tubuh telah terpapar irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰. Sehingga pemberian PSK kembali 1 jam setelah radiasi, mengurangi kemampuan PSK dalam meredam oksidan, yang terdapat dalam jumlah yang melebihi kapasitas kemampuan peredaman senyawa PSK.

PSK dimasukkan ke dalam tubuh secara *gavage* melewati saluran pencernaan merupakan cara yang sangat efektif. PSK mengandung senyawa aktif polisakarida 1,3 dan 1,6 beta – glukukan yang tahan terhadap cairan asam lambung sehingga strukturnya di dalam lambung tidak mengalami perubahan. Disisi lain PSK yang telah diserap oleh tubuh kemungkinan dapat menstimulasi sel fagosit yang berupa makrofag dan sel T pembantu (CD4) yang diaktifkan untuk meningkatkan produksi sel pembunuh kuman secara alami melalui induksi peningkatan sistem kekebalan tubuh. Hal ini diduga membantu meningkatkan kondisi umum tubuh mencit yang secara tidak langsung produksi antioksidan

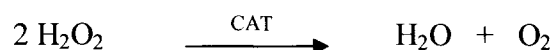
alami menjadi normal. Senyawa aktif yang terdapat pada PSK dapat berikatan dengan reseptor yang terdapat pada membran sel imun terutama sel makrofag yang memiliki sisi reseptor spesifik terhadap beta glukukan yang berupa reseptor Dectin – 1. Selain itu beta glukukan juga bisa berikatan dengan membran sel imun yang lain seperti natural killer cell, neutrofil, makrofag, sel limfosit B dan sel limfosit T.

Didalam tubuh makhluk hidup adanya suatu protein yang terikat pada polisakarida dalam senyawa PSK menyebabkan senyawa tersebut dapat berfungsi untuk meningkatkan *Biological Respon Modifier* (BRM) (Fisher, 2002). Selain itu senyawa PSK juga dapat merangsang pembentukan enzim yang berfungsi untuk memutus reaksi panjang dari radikal bebas baik yang berasal dari dalam tubuh ataupun yang berasal dari luar tubuh sehingga mengurangi kerusakan yang diakibatkannya (Cui, dan Chisti, 2003).

Enzim yang berperan memutus rantai radikal bebas tersebut berupa enzim Superoksida Dismutase (SOD), enzim katalase dan Glutathione Peroksidase (GSHx). Enzim SOD berfungsi untuk mendismutasi radikal superoksida (O_2^-) yang dibentuk dari reduksi univalen molekul oksigen menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) melalui reaksi :



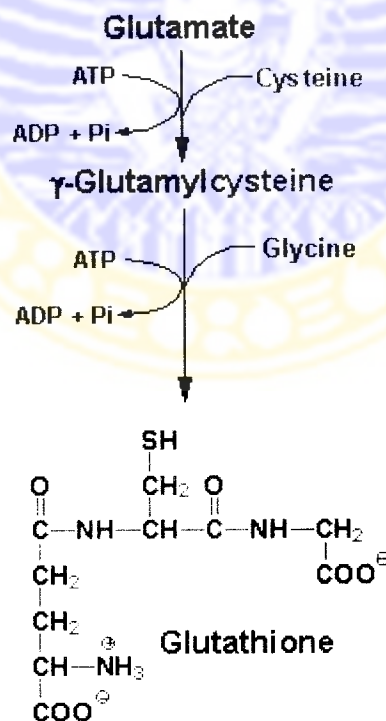
Selanjutnya H_2O_2 akan dipecah menjadi H_2O dan O_2 oleh enzim katalase di sitoplasma sehingga menjadi komponen yang aman bagi tubuh. Sesuai dengan reaksi:



Enzim Glutathione Peroksidase (GSH Px) dalam eritrosit akan mengoksidasi *Glutathione* tereduksi (GSH) menjadi bentuk teroksidasinya (GSSG) dalam lingkungan (H_2O_2).

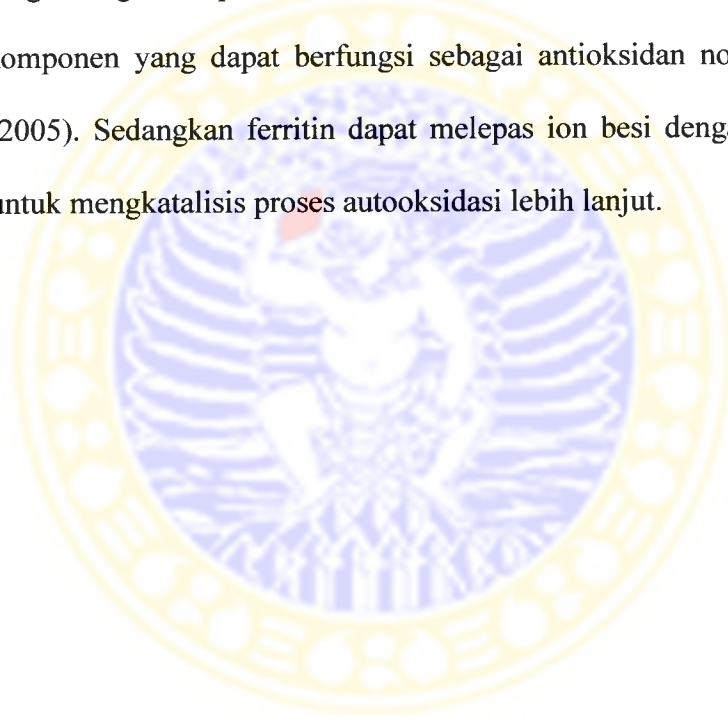


GSSG selanjutnya direduksi menjadi GSH. Sehingga dapat melindungi membran lipid beserta hemoglobin terhadap oksidasi oleh peroksida. *Glutathione* juga memiliki peranan yang penting dalam menangkap radikal bebas secara langsung serta menjadi kofaktor yang sangat penting bagi berbagai enzim yang dapat mengurangi stress oksidatif. Karena dalam senyawa PSK sebagian besar mengandung asam glutamat, serine, dan glycine yang juga berperan sebagai komponen utama penyusun dari *Glutathione*.



Gambar 4.4. Pembentukan senyawa *Glutathione* (Eide, 2001)

Adanya suatu protein yang terikat pada polisakarida dalam PSK juga dapat mengaktifkan enzim mikrosomal Heme Oxygenase (HO) terutama dalam bentuk HO – 1 yang memiliki peranan penting dalam mengatur kadar ROS secara tidak langsung melalui produksi antioksidan yang lain (bilirubin dan ferritin) serta merubah prooksidan. HO dioksidasi untuk memecah gugus heme menjadi biliverdin yang dengan cepat dikonversikan menjadi bilirubin. Bilirubin merupakan komponen yang dapat berfungsi sebagai antioksidan non enzimatis (Han, *et.al.*, 2005). Sedangkan ferritin dapat melepas ion besi dengan stimulasi dari netrofil untuk mengkatalisis proses autooksidasi lebih lanjut.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ tidak mempengaruhi kadar oksidan darah pada mencit
2. Waktu pemberian PSK sebelum dan sesudah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰ mempengaruhi kadar antioksidan darah pada mencit.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka saran yang dapat diajukan adalah:

1. Pemakaian PSK untuk keperluan mencegah kerusakan sel atau jaringan akibat irradiasi, sebaiknya diberikan setelah irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.
2. Perlu diadakan penelitian dengan berbagai variasi dosis irradiasi, untuk mengetahui sejauh mana batas kemampuan senyawa PSK dalam meredam radikal bebas yang diakibatkan oleh irradiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiani, S., 2005, Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Terhadap Sifat fisis Polietilen, *Skripsi*, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.
- Amsyari, F., 1989, *Radiasi Dosis Rendah Dan Pengaruhnya Terhadap Kesehatan, Suatu Pengantar Terhadap Upaya Proteksi Radiasi*, Airlangga University Press, Surabaya, Hal: 1-86.
- Anonim¹, 2005, Structure And Function Of Macromolecules, Langara College www.campus.nortpark.edu/biology/cellprotein.com, 01 / 07 / 06.
- Arjun, K.S., dan Ramesh, P.S., 1982, A textbook of Botany: *Thallophyta (Algae, Fungi, Bacteria, Virus, and Lichen)*, vol.1 Ed.Rev ke – 8, Educational and University Publisher, Rattan Prakasan Mandir, Delhi.
- Bansal, R.K., 1992, *Organic Reaction Mechanisms Second Edition*, Tata McGraw – Hill Publishing Company Limited, New Delhi.
- Bellanti, J.A., 1993, *Imunologi III*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Burkley, G.B., 2002, Free Radicals And Reactive Oxygen Species, *Cosmos Jurnal, John Hopkins University School of Medicine*; 90 : 1-10.
- Cember, H., 1988, *Pengantar Fisika Kesehatan*, Alih bahasa : Achmad Toekiman, IKIP Semarang Press : 213 – 225.
- Cui, J., dan Chisti, Y., 2003, Polysaccharopeptides of *Coriolus versicolor*: Physiological Activity, Uses, And Production, *Biotechnology Advance*; 21:109-122.
- Dreosti, I.E., 1991, *Trace Elements, Micronutrient, and Free Radicals*, Humana Press, Totowa, New Jersey.
- Edwards, C., Sherer, M.A.S., dan Ritenour, E.R., 1984, *Radiation Protection for Dental Radiographer*, The C.V. Mosby, St. Louis.
- Eide, D. J., 2001, Functional Genomics And Metal Metabolism, *Biomed Central Ltd, reviews*; 2(1) : 1028.1 – 1028.3.
- Elizabeth, M.L., 1996, *Fundamental of The Fungi 4th ed.*, Prentice Hall Inc, London : 394.

- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S., 1995, *Kimia Organik*, Alih bahasa: A.H. Pudjaatmaka, Edisi Ketiga, Jilid 2, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Fisher, M., dan Yang, L. X., 2002, Anticancer Effects And Mechanism Of Polysaccharide – K (PSK): Implication Of Cancer Immunotherapy, *Anticancer Resume*; 22(3) : 1737-54.
- Ganong, W.F., 1991, *Review of Medical Physiology Ed.15*, Alih bahasa : Petrus Andrianto, CV. EGC, Jakarta.
- Guyton, A.C., 1995, *Fisiologi Manusia Dan Mekanisme Penyakit*, Alih bahasa : Petrus Andrianto, Edisi 3, Cetakan IV, EGC, Jakarta.
- Halliwell, B., 1991, Reactive Oxygen Species in Living System, *American journal of Medicine*; 91:4-14.
- Han, Y., Son, S. J., Akhalaia, M., Platonov, A., Son, H. J., Lee, K.H., Yun, Y. S., dan Song, J. Y., 2005, Modulation Of Radiation – Induced Disturbances Of Antioxidant Defense Systems By Ginsan, *Journal published Medicine*; 2(4):529-536.
- Hariyadi., 1994, Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma Cobalt⁶⁰ Terhadap kemampuan Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Jantan Ditinjau dari Viabilitas Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Betina, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.
- Indriyani, Y., 2005, Isolasi Dan Uji Aktivitas Anti Radikal Bebas Senyawa Fenolik dari Kulit Batang *Cassia multijuga Rich*, *Skripsi*, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.
- Ivanov, B., dan Ivanova, E., 2000, Mechanism Of The Extracellular Antioxidant Defend, *Experimental Pathology And Parasitologi, Bulgarian Academy Of Sciences, Sofia*; 4:49-55.
- Joyeux, M., Lobstein A., Anton, R., dan Mortier, F., 1995, Comparative Antilipoperoxidant, Antinecrotic and Scavenging Properties of Terpenes and Biplavones from Ginkgo and some Flavonoids, *Planta-medica*; 61:126 – 129.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., dan Kelly, R.O., 1998, *Basic Histology*, Edisi 8, Alih bahasa : Dr. Jan Tambayong, EGC, Jakarta.

- Kagohashi, Y., Naora, H., dan Otani, H., 2002, PSK A Biological Response Modifire, Modifies P⁵³ Expression, Mitosis And Apoptosis in X – Ray Irradiated Mouse Embryos: Possible Cellular Mechanism Of The Antiteratogenic Effect, *Congenital Anomalies*; 42:15-16.
- Kobayashi, H., Matsunaga, K., dan Oguchi, Y., 1995, Antimetastatic Effect Of PSK (Krestin), A Protein Bound Polysaccharide Obtain From Basidiomycetes: An Overview, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*; 4:275-281.
- Lunitasari, Y., 2004, Kandungan Antioksidan Darah Pada Mencit (*Mus musculus*) Akibat Pemberian 2 – ME Dan Usaha Pencegahan Dengan PSK (Polisakarida Krestin), *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.
- Mamuaya, B.K.K., 2004, Kerusakan Jaringan Spermatogenik Mencit (*Mus musculus*) Akibat Irradiasi Sinar Gamma Cobalt⁶⁰ Dosis Tinggi, *Skripsi*, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.
- Marieb, E.N., 2001, *Human Anatomy and Physiology 5th ed.*, Pearson Education Inc, Publishing as Benjamin Cummings, Amerika.
- Maslachah, L., Sukmanadi, M., dan Sugihartuti, R., 2003, Pengaruh Pemberian Antisterilitas Alpha Tocopherol Terhadap Spermatogenesis Tikus Yang Menerima Stresor, *Laporan Penelitian*, Fakultas Kedokteran UNAIR, Surabaya.
- Mincler, T.M., Jeep., dan Barol, B.A., 1971, *Radiation Damage In Pathology And Introduction*, Toppan Company, Ltd. 27: 301-320.
- Muljani, S.W.M., 2003, Peran Radiasi Pengion Dosis Tunggal Terhadap Peroksidasi Lipid Dan Kualitas Sperma Kelinci Jantan (*Lepus negricollis*), *Tesis*, Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Onishi, T., Takahashi, A., dan Onishi, K., 2002, Studies About Space Radiation Promote New Fields In Radiation Biology, *Journal of Radiation Research*, 43 SUPPL : S7 - S12.
- Pang, Z.J., Chen, Y., Zhou, M., dan Wan, J., 2000, Effect Of Polysaccharide Krestin On Glutathione Peroxidase Gene Expression In Mouse Peritoneal Macrophages, *Jurnal Biomedical Science*; 57(2):6-130.
- Rowan, N.J., Smith, J.E., dan Sullivan, R., 2000, Medicinal Mushrooms: Their Therapeutic Properties And Current Medical Usage With Special Emphasis On Cancer Treatment, *Sci.Cancer Research*; p228.

- Sadikin, H.M., 2002, *Biokimia Darah*, Widya Medika, Jakarta.
- Suripto., 1998, *Fisiologi Hewan*, Catatan kuliah, Penerbit ITB, Bandung, hal.50.
- Triton, P.B., 2005, *Uji Beda Nyata Dan Rancangan Percobaan*, Tugu Publisher, Yogyakarta.
- Tsukagoshi, S., Hashimoto, Y., Fuji, G., Kobayashi, H., Nomoto, K., dan Orita, K., 1984, *Krestin (PSK) Cancer Treatment Reviews*; 11:131-155.
- Yamaguchi, H., 2001, The Beta – Glukan Receptor, Dectin – 1, *Project Number 1040*, school of med., Teikyo Univ., www.isis-innovation.com 30/01/2006.
- Yarema, K.J., 2006, Chemical Structures Of Common Naturally – Occuring Mammalian Monosaccharides, The Johns Hopkins University. www.nic.educlassesbio.com, 30 / 06 / 06.
- Yang, M.M.P., Chen, Z., dan Kwok, J.S.L., 1992, The Antitumor Effect of A Small Polypeptide From *Coreolus versicolor* (SPVC), *Cancer Epidemiol Biomarkers Preview*; 4(3):275-281.
- Yang, Q., 1993, The Comparative Analysis of The Extracts The Mycelia And The Fruitbodies of Yun Zhi (*Coreolus versicolor*), PSP International Symposium: 41-55.
- Wardhana, W.A., 1980, Kecelakaan Radiasi Suatu Tantangan Baru Bagi Ilmu Kedokteran, *Dalam Naskah Lengkap Kongres Nasional Ikatan Ahli Radiologi Indonesia ke IV di Surabaya*: 35 – 46.
- Wardhana, W.A., 1996, *Radioekologi*, Penerbit ANDI, Yogyakarta.
- Zhou, J-X., Shen, X., Shen, Z., dan Li, X., 2000, Antitumor Effect Of Polysaccharide Peptide Of *Coriolus versicolor* (PSP) And Its Mechanism, *Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism*, Vol.85, No 1.

Lampiran 1.1.

TABEL DATA K (-)
Tanpa Pemberian PSK Maupun Pemberian Irradiasi

Perlakuan	λ	Konsentrasi					
		10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5
K(-) ₁	537	0.865	0.889	0.922	0.894	0.918	0.888
	517	1.010	1.042	1.067	1.034	1.072	1.036
	497	0.864	0.889	0.907	0.878	0.911	0.882
Abs hitung		<u>0.1455</u>	<u>0.153</u>	<u>0.1525</u>	<u>0.148</u>	<u>0.1575</u>	<u>0.151</u>
% peredaman		10.16%	5.56%	5.86%	8.64%	2.78%	6.79%
K(-) ₂	537	0.870	0.891	0.891	0.891	0.887	0.886
	517	1.012	1.031	1.039	1.040	1.028	1.037
	497	0.866	0.887	0.886	0.886	0.873	0.883
Abs hitung		<u>0.144</u>	<u>0.147</u>	<u>0.1505</u>	<u>0.1515</u>	<u>0.148</u>	<u>0.1525</u>
% peredaman		11.11%	9.26%	7.1%	6.48%	8.64%	5.86%
K(-) ₃	537	0.891	0.890	0.888	0.890	0.886	0.887
	517	1.027	1.028	1.035	1.045	1.026	1.033
	497	0.879	0.875	0.882	0.891	0.871	0.879
Abs hitung		<u>0.142</u>	<u>0.1455</u>	<u>0.15</u>	<u>0.1545</u>	<u>0.1475</u>	<u>0.15</u>
% peredaman		12.35%	10.19%	7.4%	4.63%	8.95%	7.4%
K(-) ₄	537	0.873	0.892	0.905	0.905	0.886	0.884
	517	1.022	1.047	1.060	1.062	1.034	1.033
	497	0.874	0.893	0.903	0.906	0.881	0.880
Abs hitung		<u>0.1485</u>	<u>0.1545</u>	<u>0.156</u>	<u>0.1565</u>	<u>0.1505</u>	<u>0.151</u>
% peredaman		8.33%	4.63%	3.7%	3.4%	7.1%	6.79%
K(-) ₅	537	0.886	0.887	0.891	0.888	0.889	0.888
	517	1.030	1.029	1.043	1.030	1.033	1.039
	497	0.880	0.875	0.890	0.875	0.880	0.885
Abs hitung		<u>0.147</u>	<u>0.148</u>	<u>0.1525</u>	<u>0.1485</u>	<u>0.1485</u>	<u>0.1525</u>
% peredaman		9.26%	8.64%	5.86%	8.33%	8.33%	5.86%
K(-) ₆	537	0.892	0.893	0.896	0.895	0.884	0.884
	517	1.029	1.033	1.037	1.048	1.036	1.025
	497	0.880	0.881	0.880	0.894	0.885	0.869
Abs hitung		<u>0.143</u>	<u>0.146</u>	<u>0.149</u>	<u>0.1535</u>	<u>0.1515</u>	<u>0.1485</u>
% peredaman		11.73%	9.88%	8.02%	5.25%	6.48%	8.33%
STANDART		497		517		537	
Absorbansi		0.876		1.031		0.876	
Absorbansi hitung		<u>0.162</u>					

Lampiran 1.2.

TABEL DATA K (+)
Pemberian Irradiasi Tanpa Pemberian PSK

Perlakuan	λ	Konsentrasi					
		10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5
K(+) ₁	537	0.947	0.951	0.997	0.940	0.964	0.994
	517	1.107	1.111	1.156	1.093	1.128	1.163
	497	0.947	0.947	0.983	0.928	0.958	0.987
Absorbansi hitung		<u>0.16</u>	<u>0.162</u>	<u>0.166</u>	<u>0.159</u>	<u>0.167</u>	<u>0.175</u>
% peredaman		10.86%	9.75%	7.52%	11.42%	6.96%	3.9%
K(+) ₂	537	0.949	0.952	1.001	0.948	0.972	1.001
	517	1.100	1.119	1.168	1.109	1.128	1.168
	497	0.944	0.955	0.995	0.943	0.956	0.991
Absorbansi hitung		<u>0.1535</u>	<u>0.1655</u>	<u>0.17</u>	<u>0.1635</u>	<u>0.164</u>	<u>0.172</u>
% peredaman		14.48%	7.8%	5.29%	8.91%	8.64%	4.18%
K(+) ₃	537	0.948	0.948	0.991	0.945	0.981	1.000
	517	1.109	1.103	1.155	1.105	1.147	1.171
	497	0.947	0.939	0.979	0.940	0.974	0.995
Absorbansi hitung		<u>0.1615</u>	<u>0.1595</u>	<u>0.17</u>	<u>0.1625</u>	<u>0.1695</u>	<u>0.1735</u>
% peredaman		10.03%	11.14%	5.29%	9.47%	5.57%	3.34%
K(+) ₄	537	0.953	0.964	0.990	0.944	0.972	1.005
	517	1.107	1.124	1.150	1.104	1.141	1.171
	497	0.948	0.958	0.975	0.939	0.971	0.991
Absorbansi hitung		<u>0.1565</u>	<u>0.163</u>	<u>0.1675</u>	<u>0.1625</u>	<u>0.1695</u>	<u>0.173</u>
% peredaman		12.81%	9.19%	6.69%	9.47%	5.57%	3.62%
K(+) ₅	537	0.949	0.964	0.993	0.946	0.974	0.998
	517	1.108	1.131	1.154	1.102	1.143	1.168
	497	0.949	0.965	0.981	0.937	0.974	0.989
Absorbansi hitung		<u>0.159</u>	<u>0.1665</u>	<u>0.167</u>	<u>0.1605</u>	<u>0.169</u>	<u>0.1745</u>
% peredaman		11.42%	7.24%	6.69%	10.58%	5.85%	2.79%
K(+) ₆	537	0.956	0.957	0.995	0.962	0.977	0.995
	517	1.107	1.128	1.161	1.127	1.146	1.168
	497	0.951	0.964	0.987	0.960	0.976	0.993
Absorbansi hitung		<u>0.1535</u>	<u>0.1675</u>	<u>0.17</u>	<u>0.166</u>	<u>0.1695</u>	<u>0.174</u>
% peredaman		14.48%	6.69%	5.29%	7.52%	5.57%	3.06%
STANDART		497		517		537	
Absorbansi		1.015		1.197		1.020	
Absorbansi hitung		<u>0.1795</u>					

Lampiran 1.3.

TABEL DATA PI
(Pemberian PSK 7 Hari Berturut – turut Sebelum Irradiasi)

Perlakuan	λ	Konsentrasi					
		10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5
PI ₁	537	0.839	0.835	0.865	0.840	0.844	0.880
	517	0.967	0.962	0.999	0.971	0.977	1.019
	497	0.833	0.821	0.847	0.823	0.828	0.861
Absorbansi hitung		<u>0.131</u>	<u>0.134</u>	<u>0.143</u>	<u>0.1395</u>	<u>0.141</u>	<u>0.1485</u>
% Peredaman		13.82%	11.84%	5.92%	8.22%	7.24%	2.3%
PI ₂	537	0.873	0.881	0.865	0.870	0.868	0.880
	517	1.008	1.016	1.000	1.005	1.006	1.019
	497	0.865	0.864	0.849	0.852	0.849	0.861
Absorbansi hitung		<u>0.139</u>	<u>0.1435</u>	<u>0.143</u>	<u>0.144</u>	<u>0.147</u>	<u>0.1485</u>
% Peredaman		8.55%	5.59%	5.92%	5.26%	3.29%	2.3%
PI ₃	537	0.858	0.902	0.890	0.850	0.863	0.888
	517	0.990	1.043	1.035	0.983	0.997	1.030
	497	0.849	0.887	0.880	0.833	0.844	0.871
Absorbansi hitung		<u>0.1365</u>	<u>0.1485</u>	<u>0.15</u>	<u>0.1415</u>	<u>0.1435</u>	<u>0.1505</u>
% Peredaman		10.20%	2.3%	1.32%	6.9%	5.59%	0.99%
PI ₄	537	0.844	0.874	0.887	0.873	0.867	0.868
	517	0.973	1.009	1.031	1.012	1.006	1.006
	497	0.837	0.860	0.875	0.859	0.852	0.848
Absorbansi hitung		<u>0.1325</u>	<u>0.142</u>	<u>0.15</u>	<u>0.146</u>	<u>0.1465</u>	<u>0.148</u>
% Peredaman		12.83%	6.58%	1.32%	3.95%	3.62%	2.63%
PI ₅	537	0.830	0.875	0.882	0.870	0.858	0.882
	517	0.956	1.011	1.021	1.006	0.991	1.021
	497	0.820	0.858	0.865	0.852	0.837	0.861
Absorbansi hitung		<u>0.131</u>	<u>0.1445</u>	<u>0.1475</u>	<u>0.145</u>	<u>0.1435</u>	<u>0.1495</u>
% Peredaman		13.82%	4.93%	2.96%	4.61%	5.59%	1.64%
PI ₆	537	0.844	0.864	0.888	0.842	0.861	0.877
	517	0.973	0.997	1.027	0.973	0.997	1.016
	497	0.836	0.849	0.871	0.825	0.843	0.858
Absorbansi hitung		<u>0.133</u>	<u>0.1405</u>	<u>0.1475</u>	<u>0.1395</u>	<u>0.145</u>	<u>0.1485</u>
% Peredaman		12.5%	7.57%	2.96%	8.22%	4.01%	2.3%
STANDART		497		517		537	
Absorbansi		0.863		1.014		0.862	
Absorbansi hitung		<u>0.1515</u>					

Lampiran 1.4.

TABEL DATA PII
(Pemberian PSK 1 Hari Sebelum Irradiasi)

Perlakuan	λ	Konsentrasi					
		10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5
PII ₁	537	0.847	0.833	0.835	0.819	0.840	0.844
	517	0.974	0.960	0.969	0.953	0.976	0.978
	497	0.843	0.823	0.825	0.813	0.832	0.830
Absorbansi hitung		<u>0.129</u>	<u>0.132</u>	<u>0.139</u>	<u>0.137</u>	<u>0.14</u>	<u>0.141</u>
% Peredaman		11.03%	8.97%	4.14%	5.52%	3.54%	2.76%
PII ₂	537	0.824	0.851	0.846	0.821	0.842	0.850
	517	0.949	0.982	0.984	0.955	0.975	0.983
	497	0.821	0.842	0.839	0.815	0.829	0.830
Absorbansi hitung		<u>0.1265</u>	<u>0.1355</u>	<u>0.1415</u>	<u>0.137</u>	<u>0.1395</u>	<u>0.143</u>
% Peredaman		12.76%	6.55%	2.41%	5.52%	3.79%	1.38%
PII ₃	537	0.820	0.834	0.841	0.818	0.845	0.838
	517	0.949	0.965	0.971	0.948	0.978	0.970
	497	0.817	0.826	0.826	0.808	0.831	0.821
Absorbansi hitung		<u>0.1305</u>	<u>0.135</u>	<u>0.1375</u>	<u>0.135</u>	<u>0.14</u>	<u>0.1405</u>
% Peredaman		10%	6.9%	5.17%	6.9%	3.45%	3.1%
PII ₄	537	0.825	0.835	0.848	0.826	0.837	0.840
	517	0.952	0.969	0.980	0.956	0.968	0.972
	497	0.819	0.828	0.835	0.813	0.823	0.824
Absorbansi hitung		<u>0.13</u>	<u>0.1375</u>	<u>0.1385</u>	<u>0.1365</u>	<u>0.138</u>	<u>0.14</u>
% Peredaman		10.34%	5.17%	4.48%	5.86%	4.83%	3.45%
PII ₅	537	0.823	0.836	0.844	0.829	0.835	0.846
	517	0.949	0.970	0.980	0.959	0.965	0.980
	497	0.816	0.829	0.834	0.816	0.818	0.829
Absorbansi hitung		<u>0.1295</u>	<u>0.1375</u>	<u>0.1385</u>	<u>0.1365</u>	<u>0.138</u>	<u>0.14</u>
% Peredaman		10.68%	5.17%	2.76%	5.86%	4.48%	1.73%
PII ₆	537	0.823	0.838	0.846	0.832	0.834	0.842
	517	0.952	0.972	0.980	0.964	0.969	0.973
	497	0.819	0.831	0.835	0.822	0.824	0.823
Absorbansi hitung		<u>0.131</u>	<u>0.1375</u>	<u>0.1395</u>	<u>0.137</u>	<u>0.14</u>	<u>0.1405</u>
% Peredaman		9.66%	5.17%	3.8%	5.52%	3.45%	3.12%
STANDART		497		517		537	
Absorbansi		0.830		0.976		0.832	
Absorbansi hitung		0.145					

Lampiran 1.5.

TABEL DATA PIII
(Pemberian PSK 1 Jam Sesudah Irradiasi)

Perlakuan	λ	Konsentrasi					
		10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5
PIII ₁	537	0.826	0.872	0.902	0.851	0.899	0.922
	517	0.952	1.017	1.044	0.990	1.056	1.071
	497	0.820	0.867	0.886	0.843	0.900	0.903
Abs hitung		<u>0.129</u>	<u>0.1475</u>	<u>0.15</u>	<u>0.143</u>	<u>0.1565</u>	<u>0.1585</u>
% Peredaman		23.21%	12.20%	10.71%	14.88%	6.85%	5.65%
PIII ₂	537	0.826	0.882	0.900	0.847	0.897	0.923
	517	0.965	1.025	1.045	0.988	1.046	1.078
	497	0.822	0.875	0.886	0.842	0.888	0.911
Absorbansi hitung		<u>0.141</u>	<u>0.1465</u>	<u>0.152</u>	<u>0.1435</u>	<u>0.1535</u>	<u>0.161</u>
% Peredaman		18.5%	12.8%	9.52%	14.58%	8.63%	4.17%
PIII ₃	537	0.824	0.877	0.901	0.851	0.894	0.934
	517	0.951	1.025	1.044	0.996	1.041	1.084
	497	0.817	0.873	0.883	0.849	0.883	0.914
Absorbansi hitung		<u>0.1305</u>	<u>0.15</u>	<u>0.152</u>	<u>0.146</u>	<u>0.1525</u>	<u>0.16</u>
% Peredaman		22.32%	10.71%	9.52%	13.1%	9.23%	4.76%
PIII ₄	537	0.827	0.879	0.896	0.859	0.897	0.946
	517	0.956	1.021	1.042	0.994	1.051	1.098
	497	0.820	0.870	0.884	0.845	0.894	0.928
Absorbansi hitung		<u>0.1325</u>	<u>0.1465</u>	<u>0.152</u>	<u>0.142</u>	<u>0.1555</u>	<u>0.161</u>
% Peredaman		21.13%	12.8%	9.52%	15.48%	7.44%	4.17%
PIII ₅	537	0.841	0.908	0.902	0.870	0.895	0.941
	517	0.970	1.056	1.049	1.021	1.038	1.101
	497	0.836	0.900	0.888	0.872	0.878	0.932
Absorbansi hitung		<u>0.1315</u>	<u>0.152</u>	<u>0.154</u>	<u>0.15</u>	<u>0.1515</u>	<u>0.1645</u>
% Peredaman		21.73%	9.52%	8.33%	10.71%	9.82%	2.08%
PIII ₆	537	0.840	0.898	0.906	0.864	0.899	0.942
	517	0.971	1.043	1.053	1.010	1.042	1.094
	497	0.933	0.888	0.890	0.861	0.882	0.922
Absorbansi hitung		<u>0.133</u>	<u>0.15</u>	<u>0.155</u>	<u>0.1475</u>	<u>0.1515</u>	<u>0.162</u>
% Peredaman		20.83%	10.71%	7.74%	12.2%	9.82%	3.57%
STANDART		497		517		537	
Absorbansi		0.937		1.103		0.933	
Absorbansi hitung		<u>0.168</u>					

Lampiran 1.6.

TABEL DATA PIV
(Pemberian PSK 1 Hari Sebelum Dan 1 Jam Sesudah Irradiasi)

Perlakuan	λ	Konsentrasi					
		10.000	5.000	2.500	1.250	625	312,5
PIV ₁	537	0.919	0.953	0.945	0.936	0.953	0.943
	517	1.064	1.107	1.101	1.087	1.108	1.106
	497	0.913	0.942	0.933	0.923	0.936	0.934
Absorbansi hitung		<u>0.148</u>	<u>0.1595</u>	<u>0.162</u>	<u>0.1575</u>	<u>0.1635</u>	<u>0.1675</u>
% Peredaman		14.45%	7.8%	5.78%	8.96%	5.49%	3.18%
PIV ₂	537	0.916	0.948	0.944	0.933	0.953	0.941
	517	1.060	1.100	1.099	1.084	1.108	1.099
	497	0.910	0.936	0.931	0.920	0.937	0.926
Absorbansi hitung		<u>0.147</u>	<u>0.158</u>	<u>0.1615</u>	<u>0.1575</u>	<u>0.163</u>	<u>0.1655</u>
% Peredaman		15.03%	8.67%	6.65%	8.96%	5.78%	4.34%
PIV ₃	537	0.925	0.960	0.948	0.935	0.951	0.939
	517	1.071	1.114	1.104	1.084	1.105	1.098
	497	0.921	0.949	0.935	0.919	0.934	0.924
Absorbansi hitung		<u>0.148</u>	<u>0.1595</u>	<u>0.161</u>	<u>0.157</u>	<u>0.1625</u>	<u>0.1665</u>
% Peredaman		14.45%	7.8 %	6.07%	9.25%	6,07%	3.76%
PIV ₄	537	0.914	0.954	0.946	0.936	0.948	0.948
	517	1.068	1.108	1.101	1.086	1.103	1.111
	497	0.916	0.943	0.932	0.921	0.931	0.938
Absorbansi hitung		<u>0.153</u>	<u>0.1595</u>	<u>0.162</u>	<u>0.1575</u>	<u>0.1635</u>	<u>0.168</u>
% Peredaman		11.56%	7.8%	6.36%	8.96%	5.49%	2.89%
PIV ₅	537	0.943	0.952	0.946	0.940	0.946	0.953
	517	1.093	1.105	1.100	1.091	1.100	1.111
	497	0.938	0.942	0.932	0.924	0.929	0.935
Absorbansi hitung		<u>0.1525</u>	<u>0.158</u>	<u>0.161</u>	<u>0.159</u>	<u>0.1625</u>	<u>0.167</u>
% Peredaman		11.85%	8.67%	6.94%	8.09%	6.07%	3.47%
PIV ₆	537	0.948	0.953	0.948	0.938	0.943	0.945
	517	1.097	1.106	1.104	1.089	1.097	1.104
	497	0.941	0.941	0.934	0.923	0.927	0.929
Absorbansi hitung		<u>0.1525</u>	<u>0.159</u>	<u>0.163</u>	<u>0.1585</u>	<u>0.162</u>	<u>0.167</u>
% Peredaman		11.85%	8.09%	5.78%	8.38%	6.36%	3.47%
STANDART		497		517		537	
Absorbansi		0.938		1.115		0.946	
Absorbansi hitung		0.173					

Lampiran 2

2.1 hasil uji statistik kolmogorov

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kn	36	7,4744	2,28435	2,78	12,35
kp	36	7,7522	3,12904	2,79	14,48
pi	36	5,8219	3,70769	,99	13,82
pii	36	5,5394	2,84164	1,38	12,76
piii	36	11,3594	5,52612	2,08	23,21
piv	36	7,6269	3,13544	2,89	15,03

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	kn	kp	pi	pii	piii	piv
N	36	36	36	36	36	36
Normal Parameters:						
Mean	7,4744	7,7522	5,8219	5,5394	11,3594	7,6269
Std. Deviation	2,28435	3,12904	3,70769	2,84164	5,52612	3,13544
Most Extreme Differences						
Absolute	,090	,091	,128	,177	,158	,141
Positive	,066	,091	,128	,177	,158	,141
Negative	-,090	-,056	-,096	-,093	-,096	-,081
Kolmogorov-Smirnov Z	,543	,543	,770	1,064	,947	,845
Asymp. Sig. (2-tailed)	,930	,929	,594	,208	,331	,472

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2.2 Hasil uji statistik ANAVA 2 arah

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
konsentr	1	10000	36
	2	5000	36
	3	2500	36
	4	1250	36
	5	625	36
	6	312.5	36
perlakua	1	k(-)	36
	2	k(+)	36
	3	pi	36
	4	pii	36
	5	piii	36
	6	piv	36

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: perdmn

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3088,558 ^a	35	88,245	40,693	,000
Intercept	12462,180	1	12462,180	5746,819	,000
konsentr	1936,859	5	387,372	178,633	,000
perlakua	776,892	5	155,378	71,651	,000
konsentr * perlakua	374,806	25	14,992	6,914	,000
Error	390,336	180	2,169		
Total	15941,074	216			
Corrected Total	3478,894	215			

a. R Squared = ,888 (Adjusted R Squared = ,866)

2.3 Hasil uji ANAVA 1 arah dengan uji BNT

ANOVA

perdmn

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1936,859	5	387,372	52,754	,000
Within Groups	1542,035	210	7,343		
Total	3478,894	215			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: perdmn

LSD

(I) konsentr	(J) konsentr	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10000	5000	5,1622*	,34709	,000	4,4773	5,8471
	2500	7,4814*	,34709	,000	6,7965	8,1663
	1250	5,0036*	,34709	,000	4,3187	5,6885
	625	7,2153*	,34709	,000	6,5304	7,9002
	312.5	9,5831*	,34709	,000	8,8982	10,2680
5000	10000	-5,1622*	,34709	,000	-5,8471	-4,4773
	2500	2,3192*	,34709	,000	1,6343	3,0041
	1250	-,1586	,34709	,648	-,8435	,5263
	625	2,0531*	,34709	,000	1,3682	2,7380
	312.5	4,4208*	,34709	,000	3,7359	5,1057
2500	10000	-7,4814*	,34709	,000	-8,1663	-6,7965
	5000	-2,3192*	,34709	,000	-3,0041	-1,6343
	1250	-2,4778*	,34709	,000	-3,1627	-1,7929
	625	-,2661	,34709	,444	-,9510	,4188
	312.5	2,1017*	,34709	,000	1,4168	2,7866
1250	10000	-5,0036*	,34709	,000	-5,6885	-4,3187
	5000	,1586	,34709	,648	-,5263	,8435
	2500	2,4778*	,34709	,000	1,7929	3,1627
	625	2,2117*	,34709	,000	1,5268	2,8966
	312.5	4,5794*	,34709	,000	3,8945	5,2643
625	10000	-7,2153*	,34709	,000	-7,9002	-6,5304
	5000	-2,0531*	,34709	,000	-2,7380	-1,3682
	2500	,2661	,34709	,444	-,4188	,9510
	1250	-2,2117*	,34709	,000	-2,8966	-1,5268
	312.5	2,3678*	,34709	,000	1,6829	3,0527
312.5	10000	-9,5831*	,34709	,000	-10,2680	-8,8982
	5000	-4,4208*	,34709	,000	-5,1057	-3,7359
	2500	-2,1017*	,34709	,000	-2,7866	-1,4168
	1250	-4,5794*	,34709	,000	-5,2643	-3,8945
	625	-2,3678*	,34709	,000	-3,0527	-1,6829

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

ANOVA

perdmn

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	776,892	5	155,378	12,076	,000
Within Groups	2702,001	210	12,867		
Total	3478,894	215			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: perdmn

LSD

(I) perlakua	(J) perlakua	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
k(-)	k(+)	-,2778	,34709	,425	-,9627	,4071
	pi	1,6525*	,34709	,000	,9676	2,3374
	pii	1,9350*	,34709	,000	1,2501	2,6199
	piii	-3,8850*	,34709	,000	-4,5699	-3,2001
	piv	-,1525	,34709	,661	-,8374	,5324
k(+)	k(-)	,2778	,34709	,425	-,4071	,9627
	pi	1,9303*	,34709	,000	1,2454	2,6152
	pii	2,2128*	,34709	,000	1,5279	2,8977
	piii	-3,6072*	,34709	,000	-4,2921	-2,9223
	piv	,1253	,34709	,719	-,5596	,8102
pi	k(-)	-1,6525*	,34709	,000	-2,3374	-,9676
	k(+)	-1,9303*	,34709	,000	-2,6152	-1,2454
	pii	,2825	,34709	,417	-,4024	,9674
	piii	-5,5375*	,34709	,000	-6,2224	-4,8526
	piv	-1,8050*	,34709	,000	-2,4899	-1,1201
pii	k(-)	-1,9350*	,34709	,000	-2,6199	-1,2501
	k(+)	-2,2128*	,34709	,000	-2,8977	-1,5279
	pi	-,2825	,34709	,417	-,9674	,4024
	piii	-5,8200*	,34709	,000	-6,5049	-5,1351
	piv	-2,0875*	,34709	,000	-2,7724	-1,4026
piii	k(-)	3,8850*	,34709	,000	3,2001	4,5699
	k(+)	3,6072*	,34709	,000	2,9223	4,2921
	pi	5,5375*	,34709	,000	4,8526	6,2224
	pii	5,8200*	,34709	,000	5,1351	6,5049
	piv	3,7325*	,34709	,000	3,0476	4,4174
piv	k(-)	,1525	,34709	,661	-,5324	,8374
	k(+)	-,1253	,34709	,719	-,8102	,5596
	pi	1,8050*	,34709	,000	1,1201	2,4899
	pii	2,0875*	,34709	,000	1,4026	2,7724
	piii	-3,7325*	,34709	,000	-4,4174	-3,0476

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

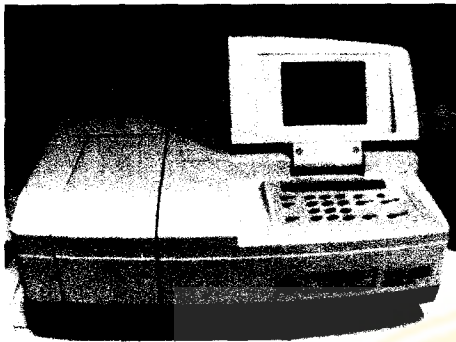
Lampiran 3

1. Cara pembuatan larutan PSK dosis 200 mg / gr berat badan :
200 mg PSK dilarutkan dalam 10 ml aqua bidestilata kemudian dipanaskan diatas *hot plate* sampai suhu mencapai $\pm 60^{\circ}\text{C}$ sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*.

2. Pembuatan larutan PSK pada berbagai konsentrasi :
 - a. konsentrasi 10.000 ppm :
5 ml larutan PSK 20.000 ppm + 5 ml aquades
 - b. konsentrasi 5.000 ppm :
5 ml larutan PSK 10.000 ppm + 5 ml aquades
 - c. konsentrasi 2.500 ppm :
5 ml larutan PSK 5.000 ppm + 5 ml aquades
 - d. konsentrasi 1.000 ppm :
0,5 ml larutan PSK 20.000 ppm + 9,5 ml aquades
 - e. konsentrasi 500 ppm :
5 ml larutan PSK 1.000 ppm + 5 ml aquades
 - f. konsentrasi 250 ppm :
5 ml larutan PSK 500 ppm + 5 ml aquades
 - g. konsentrasi 125 ppm :
5 ml larutan PSK 250 ppm + 5 ml aquades
 - h. konsentrasi 62,5 ppm :
5 ml larutan PSK 125 ppm + 5 ml aquades

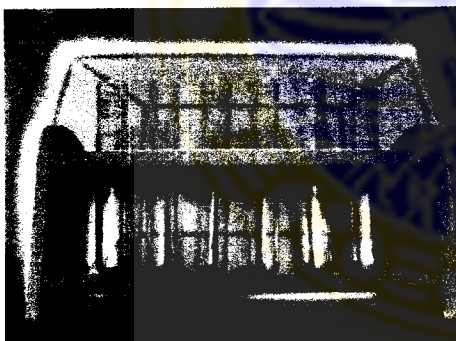
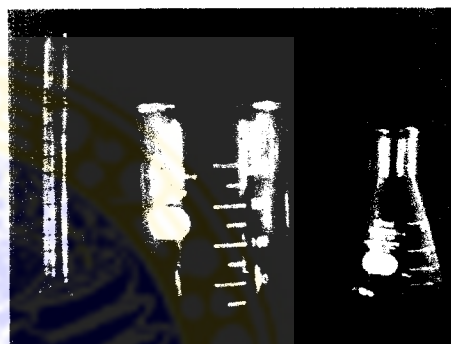
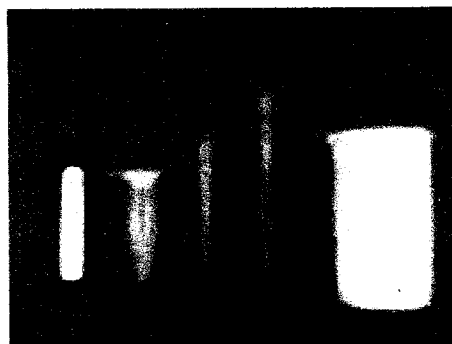
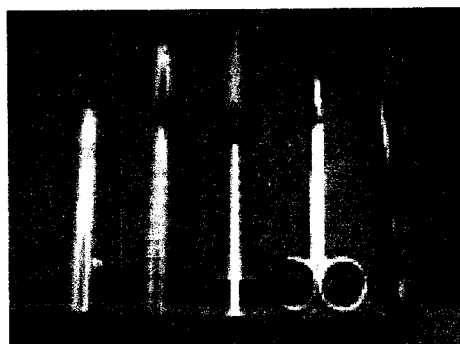
Lampiran 5

Dokumentasi Alat Dan Bahan



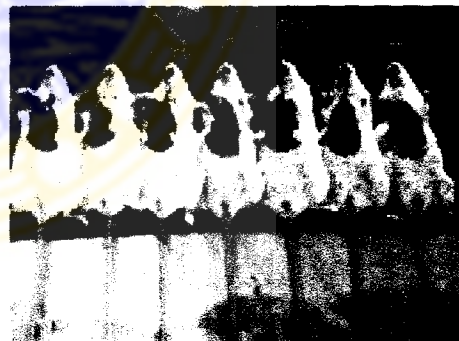
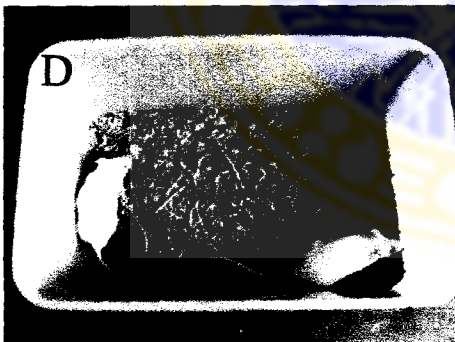
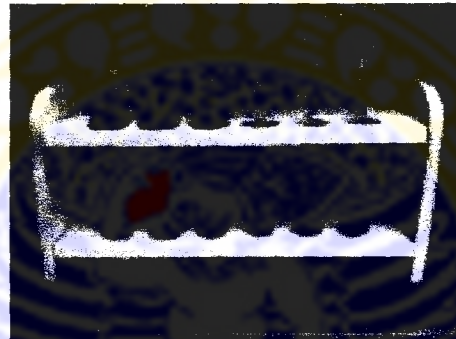
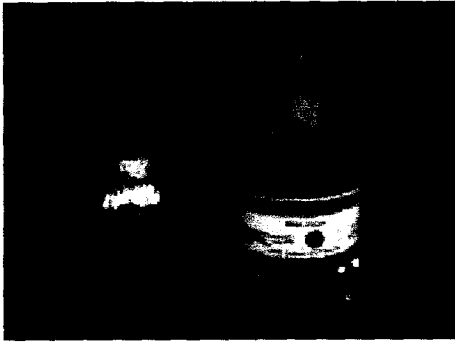
Keterangan :

- A : Spektrofotometer UV – Vis Shimadzu
- B : Kuvet spektrofotometer
- C : Alat radiasi sinar Gamma Cobalt⁶⁰
- D : Timbangan analitis
- E : Hot plate



Keterangan :

- A : Tabung reaksi, gelas ukur, syringe dan jarum gavage, gunting bedah, dan pinset.
- B : Magnetic stirrer, Vial tube, tip mikropipet 10 – 100 dan 1000 μl , botol film.
- C : Pipet tetes, Mikropipet 10 – 100 μl dan 1.000 μl .
- D : Gelas ukur 25 ml, Gelas beaker 250 ml, labu Erlenmeyer 100 ml.
- E : Tabung reaksi beserta rak.
- F : Bak beserta tutup dari kawat dengan botol air minum.



Keterangan :

- A : Larutan PSK dan Aquabidestilata.
- B : Larutan DPPH, Aquadesh, Etanol pro analis (p.a).
- C : Larutan induk sampel darah.
- D : Mencit yang berada dalam bak plastik.
- E : Mencit yang diambil darahnya secara intracardia.