



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

POSTER
(Kode : H-03)

ISBN : 978-979-1533-85-0

DAYA ANTIOKSIDAN SENYAWA LUTEIN DARI BUNGA KENIKIR (*Tagetes erecta* L.,) TERHADAP TIKUS PUTIH YANG MENGALAMI HIPERKOLESTEROLEMIK

Kusmiati^{1*}

¹Pusat Penelitian Bioteknologi- LIPI, Jl. Raya Bogor Km 46 Cibinong Bogor 16911

*Email: Kusmiati02@yahoo.com

Abstrak

Lutein merupakan pigmen karotenoid yang banyak ditemukan secara alami dalam buah, sayuran dan bunga Kenikir (*Tagetes erecta* L.). Aplikasi lutein terpenting yaitu untuk nutraceutical dan kosmetik karena bersifat antioksidan. Selain itu dapat menghambat proses peroksidasi lipid, dapat mereduksi oksidasi kolesterol LDL sehingga mengurangi resiko penyumbatan arteri. Lutein aktif sebagai imunomodulator dan mampu untuk mereduksi stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi antioksidan lutein yang dihasilkan oleh bunga Kenikir. Uji dilakukan secara *in vivo* terhadap 25 ekor Tikus putih *Spargue dawley* yang diberi perlakuan stress oksidatif menggunakan pakan mengandung kolesterol tinggi. Hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, meliputi: kontrol normal (Pakan standar), kontrol negatif (Pakan standar + Pakan kolesterol), kontrol positif (Pakan standar + Pakan kolesterol + vitamin E), Kelompok Uji (Pakan standar + Pakan kolesterol + Lutein 10 mg dan lutein 30 mg). Parameter yang diukur meliputi kadar Malondialdehid, Aktivitas enzim Superoksid dismutase dan katalase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lutein hasil ekstraksi dari bunga Kenikir berperan sebagai antioksidan dan pemberian lutein dosis 10 mg terhadap tikus coba yang mengalami hiperkolesterol merupakan perlakuan optimum untuk memperoleh kondisi yang mendekati keadaan normal.

Kata kunci : *Lutein, Tagetes erecta L., Antioksidan, Pakan kolesterol, Hiperkolesterolemik*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah atom-atom molekul yang mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya, sehingga mudah bereaksi dengan molekul lain. Adanya elektron tidak berpasangan itu menyebabkan radikal bebas menjadi reaktif sehingga cenderung menarik molekul-molekul yang dapat melepas elektronnya. Aksi penarikan elektron itu menimbulkan reaksi berantai sehingga terbentuk radikal bebas yang baru. Reaksi berantai ini baru akan berhenti jika radikal bebas tersebut diredam. Radikal bebas dapat masuk dan terbentuk dalam tubuh melalui pernafasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat, dan melalui asupan makanan berkolesterol tinggi.

Pada proses metabolisme dalam tubuh, sering kali terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi demikian mudah sekali terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksil, dan lain-lain. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya, hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon, dan lain-lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering diistilahkan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR).

Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA termasuk karbohidrat. Dari ketiga molekul tersebut, yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh.

Berbagai kemungkinan dapat terjadi sebagai akibat kerja radikal bebas, misalnya gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun, dan bahkan terjadi mutasi. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu munculnya berbagai penyakit.

Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel. Akibatnya, dinding sel menjadi rapuh. Senyawa oksigen reaktif ini juga mampu merusak bagian dalam pembuluh darah sehingga meningkatkan pengendapan kolesterol dan menimbulkan aterosklerosis. Senyawa radikal bebas berpotensi merusak basa DNA sehingga mengacaukan sistem info genetika.

Radikal bebas dapat terbentuk dalam tubuh (internal) dan dari luar tubuh (eksternal). Yang terbentuk dalam tubuh kebanyakan berasal dari reaksi redoks biokimiawi yang melibatkan oksigen yang terjadi sebagai bagian dari metabolisme normal. Radikal bebas yang terbentuk dari luar tubuh (eksternal) misalnya berasal dari asap rokok, polusi lingkungan, pemaparan sinar gamma, sinar UV, pestisida, limbah industri. Pembentukan radikal bebas dalam tubuh adalah suatu hal yang ilmiah karena dibutuhkan proses tertentu, misalnya untuk membantu destruksi sel-sel mikroorganisme dan kanker. Tubuh memiliki sistem perlindungan khusus dengan menghasilkan antioksidan alami yang berfungsi mengendalikan reaksi radikal, sehingga tidak merusak organ tubuh. Bila pengendalian ini gagal karena radikal bebas di dalam tubuh lebih banyak daripada antioksidan alami maka akan menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker dan penuaan sel [1].

Efek radikal bebas akibat asupan pakan mengandung kolesterol tinggi telah diteliti pada hewan coba tikus putih jantan galur *Sparqee dawley*. Pakan kolesterol yang diberikan terdiri

dari lemak hewan (10%), kolesterol (1%), kuning telur (5%). Pakan kolesterol tersebut dapat meningkatkan stress oksidatif melalui proses biokimia dalam tubuh. Hasil reaksi biokimia ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif, yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Hal ini dapat diketahui dengan meningkatnya kadar MDA, menurunnya aktivitas SOD dan katalase dalam sel darah merah [2]. Namun, reaktivitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh. Zat antioksidan yang ada dalam tubuh tidak dapat sepenuhnya melawan dan menghancurkan radikal bebas yang ada di dalam tubuh terutama pada keadaan stress oksidatif sehingga dibutuhkan antioksidan yang berasal dari luar tubuh. Pada penelitian ini zat antioksidan yang diberikan berupa senyawa lutein yang berasal dari bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.). Tanaman mengandung tagetin 0,1%, terthienyl, helenian 0,74%, flavoxanthin, Karotenoid 92%, Lutein 8%.

Hasil penelitian ini akan memaparkan efek pemberian ekstrak lutein dari bunga kenikir sebagai antioksidan pada tikus coba yang diberi pakan mengandung kolesterol tinggi. Diketahui bahwa lutein merupakan zat warna alam yang digolongkan sebagai karotenoid bersifat antioksidan yang kuat dan dapat berkontribusi untuk melindungi sel terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. [3]. Di dalam tubuh lutein terdapat di mata, serum darah, kulit, leher rahim, otak dan payudara [4]. Senyawa lutein memiliki bobot molekul 568,871 g/mol, bersifat larut dalam lemak, tidak larut dalam air, Dosis yang dianjurkan untuk dikonsumsi 5 - 30 mg/hari. Manfaat lutein yaitu berperan penting dalam melindungi mata, membantu mencegah perkembangan katarak, mencegah terjadi degenerasi molekuler, dapat mengurangi resiko penyakit jantung dan kanker. Selain itu pigmen

kuning-merah dari lutein digunakan untuk pewarna makanan.

Tujuan penelitian untuk mengetahui efek antioksidan senyawa lutein hasil ekstraksi bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) terhadap kadar malondialdehid (MDA), aktivitas enzim Superoksid dismutase (SOD) dan aktivitas katalase dalam sel darah merah tikus putih yang mengalami stress oksidatif oleh pakan kolesterol tinggi.

PROSEDUR PERCOBAAN

1. Penapisan Fitokimia Serbuk Bunga Kenikir (*Tagetes erecta* L.) [5]

Analisis dilakukan terhadap golongan Alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon dan Steroid/triterpenoid.

2. Ekstraksi Bunga Kenikir

Serbuk bunga kenikir (*T. erecta* L.) yang telah dikeringkan dimaserasi menggunakan *n*-heksana, kemudian ekstrak *n*-heksana dikeringkan didigesti dengan pelarut isopropanol pada suhu 60-65⁰C selama 60 menit dan disaponifikasi dengan NaOH 50% pada suhu yang sama selama 90 menit, aduk sampai terbentuk semisolid, dinginkan pada temperatur ruang, tambahkan H₂O diaduk homogen dengan stirer magnet. Diamkan pada temperatur ruang selama 4 jam. Kemudian tambahkan lagi H₂O, sentrifus dan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah, kocok dan diamkan selama 8 jam. Lapisan atas berwarna kuning pekat diambil dan dievaporasi pada suhu 40⁰C sehingga terbentuk ekstrak kental lutein kasar [6].

3. Persiapan Hewan Coba

a. Pra Perlakuan.

Sebelum penelitian dilaksanakan, Tikus putih diadaptasikan selama dua minggu untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan

dan berat badan serta mempersiapkan pakan kolesterol.

b. Pakan.

Pakan standar berupa pelet.

Pakan kolesterol terdiri dari lemak hewan (10%), kuning telur (5%), kolesterol (1%) dan propiltiourasil (0,01%).

c. Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Sebanyak 25 ekor Tikus putih dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ulangan. Semua tikus diberi minum dan perlakuan pakan diberikan selama 14 hari, sebagai berikut:

Kelompok I (kontrol normal): pakan standar

Kelompok II (kontrol negatif): Pakan standar + pakan kolesterol

Kelompok III (kontrol positif): Pakan standar + pakan kolesterol + vitamin E

Kelompok IV: Pakan standar + pakan kolesterol + lutein 10 mg

Kelompok V: Pakan standar + pakan kolesterol + lutein 30 mg

4. Pengambilan Darah

Sebelum pengambilan darah, Tikus dipuaskan selama 12 jam kemudian ditimbang berat badannya. Darah diambil melalui vena ekor, disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm pada suhu 5⁰C selama 10 menit untuk memisahkan antara supernatan dan lapisan sel darahnya. Plasma darah digunakan untuk analisis kadar MDA dan sel darah digunakan untuk analisis aktivitas enzim SOD dan katalase.

5. Analisis Kadar Malondialdehid (MDA)

a. Kurva baku

Enam buah tabung reaksi masing-masing diisi larutan baku TEP (1: 80000) sebanyak 10 ; 20 ; 40 ; 60 dan 80 μ L, kemudian ditambahkan akuades hingga volume 250 μ L. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan TCA 20% dan TBA 0,67% kemudian dihomogenkan. Campuran dipanaskan selama 30 menit dalam penangas air

mendidih dan segera didinginkan. Dilakukan blanko dan larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 532nm. Masing-masing kadar larutan baku TEP dan serapannya diplot sebagai kurva baku TEP, kemudian dihitung persamaan garis regresinya yaitu $Y = a + bX$, dengan koefisien (r) korelasi untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi dan serapan baku pembanding [7].

b. Kadar MDA

Sejumlah 0,25 mL supernatan darah hasil sentrifus ditambah 1,25 mL TCA 20% dan 0,5 mL TBA 0,67% kemudian dihomogenkan. Campuran dipanaskan selama 30 menit dalam penangas air, didinginkan. Larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 532 nm. Kadar MDA dihitung menggunakan persamaan garis regresi kurva baku TEP [8].

6. Analisis Aktivitas Katalase [9].

Sel darah merah ditambah akuades dihomogenkan. Campuran disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan ditambah 1,0 mL H₂O₂ 0,059 M dan 1,9 mL dapar fosfat 0,05 M pH 7, kemudian diukur serapan pada 240 nm. Aktivitas katalase pada suhu 25°C didefinisikan sebagai mikromol peroksida H₂O₂ yang dikonsumsi per menit per mL sampel.

Aktivitas katalase (unit / mL) =

$$\frac{[\Delta \text{Abs} / \text{menit} \times 1000]}{43.6 \times \frac{\text{mL sampel}}{\text{mL total}}} \times fp$$

7. Analisis Aktivitas SOD [10]

Sel darah merah ditambah 50 µL larutan campuran kloroform-etanol (3:5) kemudian disentrifus dengan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan ditambah 2900µL dapar karbonat pH 10,2 dan larutan epinefrin 0,02M, dicampur lalu diukur serapan setelah menit ke 1,2,3, dan 4 pada panjang gelombang 480 nm.

Dengan demikian aktivitas SOD dihitung sebagai berikut :

$$\% \text{Hambatan} = \frac{\frac{\Delta \text{Abs}(\text{blanko})}{\text{menit}} - \frac{\Delta \text{Abs}(\text{sampel})}{\text{menit}}}{\Delta \text{Abs}/\text{menit}(\text{blanko})}$$



$$\text{Aktivitas SOD (unit/ml)} = \frac{\% \text{ hambatan} \times fp}{50\%}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap serbuk dan ekstrak bunga kenikir (*T. erecta* L.) untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Hasil penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak bunga kenikir (*T. erecta* L.) dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil analisis sampel menunjukkan adanya golongan senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin dan steroid/triterpenoid, sedangkan pada ekstrak propanol dan propanol-air (1:8) menunjukkan adanya golongan senyawa metabolit sekunder saponin dan steroid/triterpenoid. Terdapatnya senyawa metabolit sekunder steroid/triterpenoid pada serbuk dan ekstrak bunga Kenikir (*Tagetes erecta* L.) menunjukkan adanya senyawa lutein karena lutein tergolong senyawa terpenoid.

2. Analisis Kadar Malondialdehid (MDA)

MDA adalah suatu produk pada proses peroksidasi lipid membran sel darah merah oleh adanya radikal bebas yang menyebabkan ketengikan oksidatif. Peningkatan kadar MDA plasma menunjukkan terjadinya peningkatan proses peroksidasi lipid yang disebabkan oleh pakan kolesterol.

Kurva kalibrasi larutan baku pembanding Tetra Etoksipropan (TEP) memberikan persamaan garis regresi $y = 9,4326 \cdot 10^{-3} X + 0,0203$ dan koefisien korelasi (r) 0,9975 yang berarti ada hubungan linier yang baik antara serapan dengan konsentrasi TEP. Hasil

pengukuran kurva baku malondialdehid (MDA) diperlihatkan pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Perlakuan selama 14 hari berturut-turut dengan memberi pakan kolesterol terhadap kelompok hewan coba diamati kadar MDA dalam darah dari masing-masing kelompok percobaan. Hasil data dan histogram dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 2. Adanya radikal bebas dalam tubuh dapat ditandai dengan adanya peroksidasi lipid. Pengukuran besarnya peroksidasi lipid ini dilakukan secara tidak langsung sebagai produk sekunder yaitu MDA. Produk ini terbentuk sebagai akibat dari reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak tidak jenuh ganda dan dapat diukur secara spektrofotometri dengan metode *TBARS Test* pada λ 532 nm.

Hasil kadar MDA yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada λ 532 nm menunjukkan bahwa pada perlakuan yang diberi pakan kolesterol tanpa pemberian senyawa lutein pada kelompok II (kontrol negatif) sebesar 22,8426 nmol/mL terjadi peningkatan kadar MDA sebesar 41,42% terhadap kontrol normal. Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi normal kandungan peroksidasi lipid dalam tubuh cukup rendah yang ditunjukkan pada kelompok I (Gambar 2). Dengan meningkatnya jumlah radikal bebas, dalam hal ini pada Tikus yang diberi pakan kolesterol, akan menambah terjadinya proses peroksidasi lipid sehingga menyebabkan peningkatan terbentuknya produk MDA. Kondisi tersebut berkaitan dengan peningkatan oksidasi lemak tidak jenuh akibat penambahan pakan kolesterol yang terus menerus. Kadar rata-rata MDA pada kelompok III, IV, V yaitu Tikus putih yang diberi senyawa antioksidan berturut-turut sebesar 12,7982 nmol/mL, 12,4826 nmol/mL, dan 16,4304 nmol/mL. Hasil ini menunjukkan terjadinya penurunan kembali kadar MDA masing-masing sebesar 43,97%, 45,35%, dan 28,07% dibandingkan terhadap kelompok perlakuan yang

diberi pakan kolesterol tanpa pemberian senyawa antioksidan pada kelompok II (kontrol negatif). Dapat disimpulkan bahwa proses oksidasi asam lemak dapat dicegah dengan senyawa lutein dan vitamin E.

Uji Anova satu arah menunjukkan adanya pengaruh sangat signifikan akibat perlakuan pemberian antioksidan terhadap kadar MDA plasma darah tikus yang mengalami stress oksidatif akibat diberi pakan kolesterol tinggi.

3. Analisis Aktivitas Katalase

Katalase adalah enzim yang mengandung heme, yang mengkatalisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Enzim ini penting untuk memusnahkan H_2O_2 yang terbentuk dalam peroksisom melalui reaksi oksidasi. Katalase berperan dalam mengkatalisis hidrogen peroksida membentuk air dan oksigen serta mencegah pembentukan gelembung CO_2 dalam darah. Peningkatan aktivitas katalase menunjukkan terjadinya penghambatan terhadap penurunan aktivitas katalase yang disebabkan oleh pakan kolesterol.

Hasil perlakuan selama 14 hari terhadap 5 kelompok hewan uji yang telah diberi pakan kolesterol menunjukkan aktivitas katalase yang tercantum pada Tabel 4 dan Gambar 3.

Hasil menunjukkan bahwa aktivitas katalase yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada λ 240 nm pada sampel dengan perlakuan pemberian pakan kolesterol, tanpa pemberian senyawa lutein pada kelompok II (kontrol negatif) sebesar 1292,4984 unit/mL terjadi penurunan aktivitas katalase sebesar 10,14% terhadap kontrol normal. Hal ini karena katalase yang terkandung pada sel darah merah Tikus coba sebagian telah digunakan untuk menetralkan radikal dari pakan kolesterol, akibatnya jumlah katalase dalam sel darah merah Tikus coba menjadi berkurang sehingga kemampuan untuk menetralkan peroksida H_2O_2 menurun.

Sedangkan aktivitas katalase pada kelompok III, IV, dan V yaitu kelompok perlakuan pemberian senyawa antioksidan (vitamin E dan lutein) masing-masing sebesar 1810,7364 unit/mL, 1587,7494 unit/mL, dan 2402,6152 unit/mL. Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan kembali aktivitas katalase masing-masing sebesar 40,09%, 22,84%, dan 85,89% terhadap kelompok perlakuan kontrol negatif yaitu Tikus putih yang diberi pakan kolesterol tanpa pemberian senyawa lutein (kelompok II). Dapat disimpulkan bahwa lutein dan vitamin E bereaksi lebih dahulu dengan kolesterol. Lutein dan vitamin E dengan katalase bekerja sama melawan radikal peroksida sehingga aktivitas katalase meningkat kembali.

Uji Anova satu arah menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan akibat perlakuan pemberian antioksidan terhadap aktivitas katalase sel darah tikus yang mengalami stress oksidatif akibat diberi pakan kolesterol tinggi.

4. Analisis Aktivitas Superoksid Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase merupakan enzim yang berada dalam cairan intraseluler yang berpartisipasi pada proses degradasi senyawa radikal bebas yang disebabkan oleh pakan kolesterol. Superoksida dismutase mengkatalisis O_2 menjadi H_2O_2 . Enzim ini menghambat kehadiran simultan dari O_2 dan H_2O_2 yang berasal dari pembentukan radikal hidroksi (OH), peningkatan aktivitas SOD menunjukkan terjadinya penghambatan penurunan aktivitas SOD yang disebabkan oleh pakan kolesterol.

Hasil perlakuan selama 14 hari berturut-turut dengan dosis lutein yang berbeda terhadap hewan uji yang telah diberi pakan kolesterol, diperoleh hasil pengukuran SOD yang ditunjukkan pada Tabel 5 dan Gambar 4.

Hasil menunjukkan bahwa aktivitas SOD yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS

pada λ 480 nm pada perlakuan yang diberi pakan kolesterol tanpa pemberian senyawa lutein pada kelompok II (kontrol negatif) sebesar 0,7941 unit/mL terjadi penurunan aktivitas SOD sebesar 42,55% terhadap kontrol normal, karena penambahan pakan kolesterol dapat mengkatalisis otooksidasi epinefrin menjadi adenokrom sehingga aktivitas SOD dalam menghambat otooksidasi epinefrin tersebut berkurang. Sedangkan aktivitas SOD pada kelompok III, IV, dan V yaitu kelompok perlakuan pemberian senyawa antioksidan berturut-turut sebesar 1,6764 unit/mL, 1,4853 unit/mL, dan 1,9044 unit/mL. Hasil ini menunjukkan terjadi peningkatan kembali aktivitas SOD masing-masing sebesar 111,11%, 87,04%, dan 139,82% terhadap kelompok yang diberi pakan kolesterol tanpa pemberian senyawa lutein pada kelompok II (kontrol negatif). Pada sel darah merah Tikus coba yang telah diberikan senyawa lutein dan vitamin E sebagai antioksidan terjadi penghambatan epinefrin menjadi adenokrom sehingga aktivitas SOD meningkat kembali.

Uji Anova menunjukkan adanya perbedaan yang sangat signifikan akibat perlakuan pemberian antioksidan terhadap aktivitas SOD sel darah tikus yang mengalami stress oksidatif akibat diberi pakan kolesterol tinggi.

KESIMPULAN

Hasil pengujian efek antioksidan senyawa lutein terhadap sel darah merah Tikus putih jantan yang diberikan pakan kolesterol, diperoleh kesimpulan:

1. Pemberian senyawa lutein hasil ekstraksi dari bunga Kenikir (*Tagetes erecta* L.) dapat meningkatkan aktivitas katalase dan SOD serta menurunkan kadar MDA plasma darah Tikus putih jantan (*Sprague Dawley*) yang telah diberi pakan kolesterol.

2. Perlakuan pemberian senyawa lutein dosis 10 mg merupakan perlakuan optimum untuk memperoleh kondisi yang mendekati keadaan normal pada sel darah merah yang mengalami stress oksidatif akibat pakan kolesterol pada Tikus coba dibandingkan perlakuan vitamin E dan pemberian senyawa lutein dosis 30 mg.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Program Insentif Riset Peneliti dan Perekayasa LIPI Tahun anggaran 2010. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Ali Hanafiah, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta yang telah bergabung dan membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] **Chapter in a book**: Jeremy, M.B. Biochemistry fifth edition; W.H. freeman and company, new York 2002.
- [2] **Article in journal**: Pegler, D. Agarik flora of srilangka. 1987. p 254
- [3] **Chapter in a book**: Hall, I.R. Steven. Edible and Poisonous Mushroom of the world; Timber Press. Portland, Cambridge. 1998.
- [4] **Chapter in a book** Yao, N. Bioinformatic methods and tools to predict small grain field performance. Iowa state University; 2008.
- [5] **Article in journal** :Daniel, J., Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies; institute for translation medicine and therapeutics university of Pennsylvania school of medicine, 2006.
- [6] **Chapter in a book** Dean, L. Pubmed clinical Q&A, Bethesda; national library of medicine (US), NCBI; 2008.
- [7] **Chapter in a book** Measurement research. Gazi Universitesi. Ankara; 2006. p 88-92.
- [8] **Chapter in a book** Redja, I.W. Dasar– dasar analisis kuantitatif dan analisa instrumen. Edisi 1. Jakarta : Fakultas Farmasi Universitas Pancasila ; 1982. p. 136–7, 141–52.
- [9] **Article in journal** Catalase assay. <http://www.worthington-biochem.com>.
- [10] **Article in journal** Superoksida Dismutase. <http://www.worthington-biochem.com>.

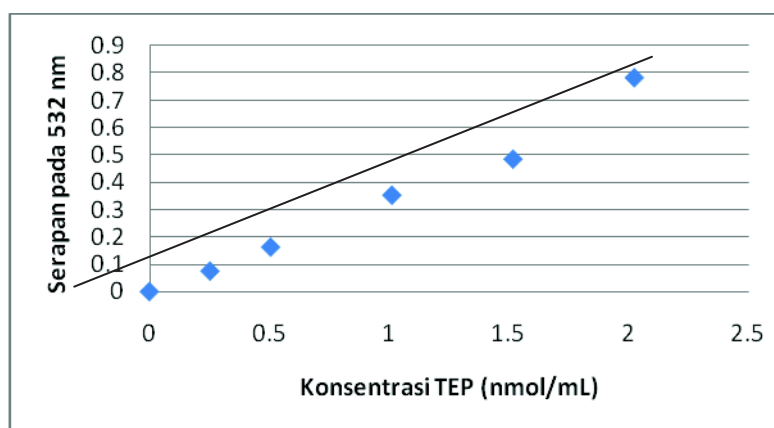
LAMPIRAN

Tabel 1. Hasil penapisan serbuk dan ekstrak bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.)

No	Golongan senyawa metabolit sekunder	Serbuk bunga Kenikir	Ekstrak propanol	Ekstrak propanol-air (1:8)
1	Alkaloid	-	-	-
2	Flavonoid	+	-	-
3	Saponin	+	+	+
4	Tanin	+	-	-
5	Kuinon	-	-	-
6	Steroid/triterpenoid	+	+	+

Tabel 2. Data hubungan konsentrasi dan serapan baku TEP yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada λ 532 nm

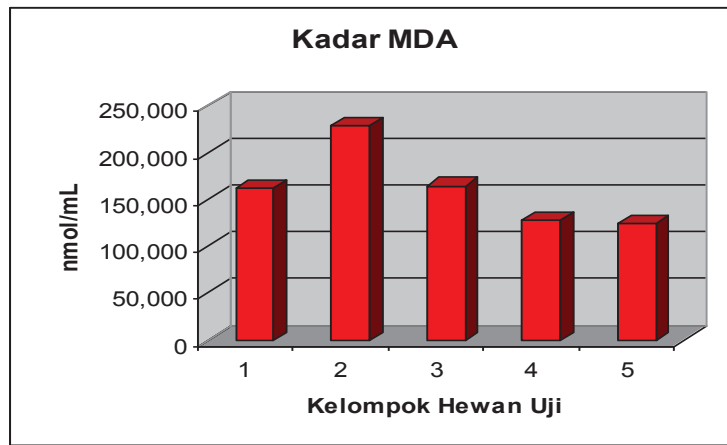
No	Konsentrasi (nmol/mL)	Serapan (A)
1	0	0,000
2	0,2526	0,075
3	0,5052	0,163
4	1,0105	0,353
5	1,5157	0,485
6	2,0209	0,783



Gambar 1. Kurva hubungan konsentrasi dan serapan baku TEP

Tabel 3. Hasil analisis kadar MDA plasma darah pada Tikus putih *S. dawley*

Ulangan	Kelompok perlakuan				
	I	II	III	IV	V
1	17,564	23,678	17,564	15,783	10,560
2	16,117	27,352	16,451	12,175	14,446
3	16,620	23,812	15,347	11,829	13,625
4	14,680	15,671	15,549	11,329	9,5469
5	15,783	23,700	17,241	12,875	14,235
Rata-rata	16,1528	22,8426	16,4304	12,7982	12,4826



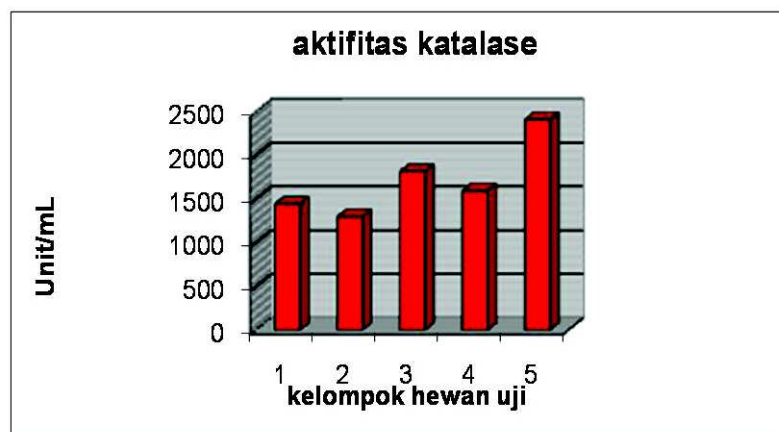
Gambar 2. Histogram hasil analisis kadar MDA rata-rata plasma darah merah Tikus putih *S. dawley*

Keterangan:

- Kelompok I : Kontrol normal
- Kelompok II : Kontrol negatif (penambahan pakan kolesterol)
- Kelompok III : Kontrol positif (vitamin E dosis 100 UI dan pakan kolesterol)
- Kelompok IV : Perlakuan yang diberi lutein dosis 10 mg dan pakan kolesterol
- Kelompok V : Perlakuan yang diberi lutein dosis 30 mg dan pakan kolesterol

Tabel 4. Hasil analisis aktivitas katalase (unit/mL) pada sel darah Tikus putih *S. dawley*

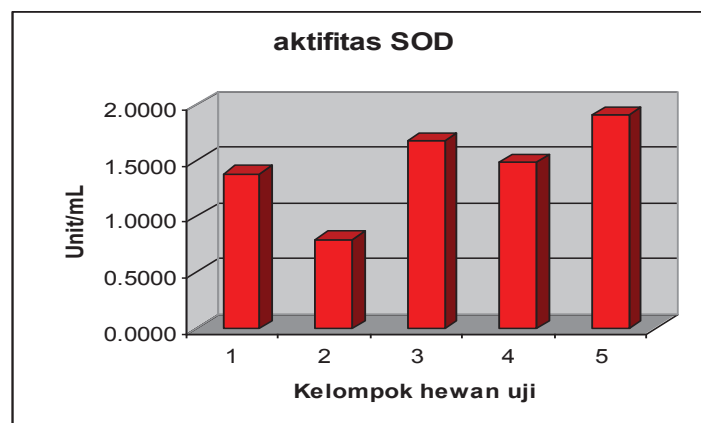
Ulangan	Kelompok perlakuan				
	I	II	III	IV	V
1	1472,815	1231,934	1830,695	1631,108	2419,133
2	1486,580	1238,816	1689,607	1576,050	2405,368
3	1472,815	1338,610	1555,403	1985,547	2553,338
4	1317,963	1314,522	1796,284	1328,286	2140,399
5	1441,844	1338,610	2181,693	1417,756	2494,838
Rata-rata	1438,4034	1292,4984	1810,7364	1587,7494	2402,6152



Gambar 3. Histogram hasil analisis aktivitas katalase rata-rata pada sel darah merah Tikus putih *S. dawley*

Tabel 5. Hasil analisis kadar SOD (unit/mL) pada sel darah Tikus putih *S. dawley*

Ulangan	Kelompok perlakuan				
	I	II	III	IV	V
1	1,4485	0,8235	1,5956	1,5221	1,8897
2	1,3382	0,6397	1,5956	1,4485	1,8897
3	1,3382	0,8235	1,7426	1,4853	1,9265
4	1,3015	0,8971	1,7794	1,4118	1,9265
5	1,4853	0,7868	1,6691	1,5588	1,8897
Rata-rata	1,3823	0,7941	1,6764	1,4853	1,9044



Gambar 4. Histogram hasil analisis aktivitas SOD rata-rata pada sel darah merah Tikus putih *S. dawley*.