



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: current.biochemistry@gmail.com

CB Current
Biochemistry

Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Kurkuminoid Temulawak Balitro secara *In Vivo*

(In Vivo Antioxidant Activity of Curcuminoids Nanoparticles from Balitro Curcuma)

Laksmi Ambarsari¹, Riska Febrianti¹, Edy Djauhari Purwakusumah¹

¹*Department of Biochemistry, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia*

Received: 12 August 2017; Accepted: 7 January 2019

Corresponding author : Dr. Laksmi Ambarsari, MS; Departemen Biokimia, Jl.Tanjung Grdung Departemen Biokimia
Kampus IPB Dramaga; Telp/Fax. (0251)-8423267; Email: laksmi@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

Curcuma (Curcuma xanthorrhiza) is an Indonesian herbs plant with antioxidant activity. This research aimed to measure the increase of curcuminoids bioavaibility through the effectivity of nanoparticle curcuminoids as antioxidant in carbon tetrachloride (CCl₄) induced rats. Nanoparticle curcuminoids was produced by homogenization-ultrasonication method and results showed that particle size of curcuminoids nanoparticle was 141.85±38.82 nm with polydispersity index of 0.233 and entrapment efficiency of 71%. During treatment, the rat's body weight increased. The clinical symptoms of rats (behavior and feces) were normal. Nanoparticle curcuminoids can decrease malondialdehyde concentrations and increase peroxide, glutathione peroxide, and superoxide dismutase activity.

Keywords: *Antioxidant, Curcuma, Curcuminoid, Solid lipid nanoparticle*

ABSTRAK

Temulawak (Curcuma xanthorrhiza) merupakan tumbuhan herbal Indonesia yang memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan mengukur peningkatan bioavabilitas kurkuminoid melalui efektivitas nanopartikel kurkuminoid sebagai antioksidan pada tikus yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄). Nanopartikel kurkuminoid temulawak dihasilkan dengan metode ultrasonikasi-homogenisasi memiliki rata-rata ukuran partikel 141.85+38.82 nm dengan nilai indeks polidispersitas sebesar 0.233 serta efisiensi penjerapan mencapai 71%. Selama perlakuan, bobot badan tikus mengalami kenaikan. Gejala klinis tikus (tingkah laku dan feses) tidak menunjukkan adanya ketidaknormalan. Efek nanopartikel kurkuminoid tersalut lemak padat dapat menurunkan kadar malondialdehida dan meningkatkan aktivitas enzim peroksidase, glutation peroksidase serta superoksida dismutase.

Kata kunci: *Antioksidan, Kurkuma, Kurkuminoid, Nanopartikel lemak padat*

1. PENDAHULUAN

Penggunaan bahan alam, baik sebagai obat maupun tujuan lain cenderung meningkat, terlebih dengan adanya isu *back to nature*. Seiring dengan perkembangan yang terjadi saat ini, obat tradisional mendapat perhatian lebih bagi alternatif pelayanan kesehatan. Selain itu banyak orang beranggapan bahwa penggunaan tanaman obat atau obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan obat sintesis. Menurut BPOM RI (2005), obat tradisional adalah bahan atau ramuan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan-bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. WHO juga mendukung upaya-upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari obat tradisional (WHO 2003).

Salah satu tanaman obat yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah temulawak. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan salah satu tumbuhan obat suku Zingiberaceae yang banyak tumbuh di Indonesia. Rimpang merupakan bagian yang paling berguna dari tanaman ini terutama untuk tujuan pengobatan tradisional yang dikenal dengan jamu. Manfaat temulawak terutama diperoleh dari kurkuminoid yang merupakan senyawa aktif dalam rimpang tanaman temulawak. Hasil penelitian Liang *et al.* (1985) menyatakan bahwa kurkumin rimpang temulawak berkhasiat menetralkan racun, menghilangkan rasa nyeri sendi, menurunkan kadar kolesterol darah, dan sebagai antioksidan.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa kurkuminoid memiliki

bioavailabilitas yang rendah baik pada berbagai hewan model (Wahlstrom dan Blennow 1978; Ravindranath *et al.* 1980 dan 1981; Pan *et al.* 1999) dan manusia (Shoba *et al.* 1998). Penyebab rendahnya bioavailabilitas kurkumin dikarenakan senyawa tersebut hampir tidak larut dalam air pada pH asam dan netral sehingga sulit sekali terabsorpsi. Salah satu cara untuk mengatasi masalah tersebut antara lain dengan penyatuan kurkuminoid ke dalam sistem koloid pembawa (*colloidal carrier system*) membentuk sediaan nanopartikel kurkuminoid. Nanopartikel lemak padat memiliki sifat yang unik, yaitu ukurannya kecil, luas permukaan besar, dan kapasitas pemuatan obat yang tinggi (Kamble *et al.* 2010). Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan obatobatan dalam skala nano dapat mengurangi dosis obat yang dapat mengakibatkan efek samping pada beberapa pasien (Malsch 2005). Nanopartikel lemak padat, *Solid Lipid Nanoparticle* (SLN) dikembangkan sebagai suatu alternatif untuk nanopartikel polimer, liposom, dan emulsi. SLN merupakan koloid pembawa submikron yang terdiri dari lemak fisiologis, terdispersi dalam air atau dalam suatu larutan surfaktan berair (Kamble *et al.* 2010). Diantara pembawa pengantaran obat modern, SLN telah menjadi sistem koloid pembawa yang menjanjikan. Dibandingkan dengan partikel pembawa yang lain, SLN memiliki sejumlah keuntungan sebagai sistem pengantaran obat, seperti tolerabilitas dan biodegradasi yang baik, bioavailabilitas yang tinggi, efisien mengenai sasaran, dan mudah dipersiapkan dan disterilisasi dalam skala besar (Pang *et al.* 2009).

Mujib (2011) telah berhasil melakukan karakterisasi nanopartikel kurkuminoid tersalut lemak padat dengan metode homogenisasi dan ultrasonikasi dengan komposisi asam palmitat : kurkuminoid terbaik adalah 1 : 0.1 dengan volume 100 mL, diperoleh ukuran partikel sebesar 252.3 ± 69.4

nm dengan efisiensi penjerapan 77.65%. Formulasi nanopartikel kurkuminoid lemak padat telah diketahui, namun efek nanopartikel kurkuminoid terhadap status antioksidan secara *in vivo* belum diketahui.

Penelitian ini bertujuan melakukan karakterisasi nanopartikel lemak padat dan mengukur efek nanopartikel kurkuminoid temulawak terhadap aktivitas enzim antioksidan yang meliputi enzim peroksidase, superoksida dismutase, dan glutathion peroksidase, serta kadar malondialdehida. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efektivitas nanopartikel kurkuminoid temulawak tersalut lemak padat terhadap status antioksidan pada tikus *Sprague-Dawley* betina dengan perlakuan stres oksidatif yang diinduksi CCl_4 serta dapat menjadi langkah awal penggunaan nanopartikel kurkuminoid temulawak asal Balitro sebagai obat tradisional yang bermanfaat sebagai antioksidan.

Hipotesis penelitian ini adalah nanopartikel kurkuminoid temulawak tersalut lemak padat dapat meningkatkan bioavailabilitas di dalam tubuh. Hal tersebut ditunjukkan dengan penurunan kadar malondialdehida serta peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase, peroksidase, dan glutathion peroksidase.

2. METODOLOGI

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus* sp.) betina galur *Sprague-Dawley* berasal dari Pusat Studi Satwa Primata berumur 4-8 minggu dengan bobot 140-170 g. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kurkuminoid dari rimpang temulawak Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO), kurkuminoid (Merck), asam palmitat (Merck), poloksamer 188 (BASF), air reverse osmosis (RO), vitamin C, larutan pengukuran superoksida dismutase, peroksidase, glutathion peroksidase, dan malondialdehida (MDA), etanol, n-

heksana, standar kurkuminoid, metanol, dan CCl_4 .

Alat yang digunakan adalah pengaduk magnet, homogenizer (Ultra Turrax T18), ultrasonic processor (130 Watt 20 kHz, Cole-Parmer), mikrosentrifusa (MIKRO 200R, Hettich Zentrifugen), spektrofotometer UV-Vis (UV-1700 Pharmaspec), particle size analyzer (Delsa NanoC), dan microplate reader.

Karakterisasi Nanopartikel Kurkuminoid Tersalut Lemak Padat

Pembuatan Nanopartikel Kurkuminoid Tersalut Asam Palmitat (Mujib 2011)

Fase lemak terdiri atas 1 g asam palmitat dan 0.1 g kurkuminoid dipanaskan pada suhu 75°C sambil diaduk. Fase air terdiri atas 0.5 g poloksamer 188 dan 100 mL air *reverse osmosis* yang dipanaskan pada suhu (75°C). Fase lemak didispersikan ke dalam fase air sambil diaduk. Emulsi yang dihasilkan kemudian dihomogenisasi dengan kecepatan 13500 rpm selama 5 menit, selanjutnya diultrasonikasi dengan amplitudo 20 % selama 60 menit. Nanopartikel kurkuminoid yang diperoleh didinginkan pada suhu 0°C sehingga dihasilkan nanopartikel kurkuminoid dalam bentuk emulsi.

Efisiensi Penjerapan (Yadav *et al.* 2008)

Nanopartikel kurkuminoid yang dihasilkan disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm ($18626\times G$) pada suhu 4°C selama 40 menit dan supernatannya didekantasi. Residunya diekstraksi dengan metanol 89%, kemudian disentrifugasi pada kecepatan yang sama. Serapan supernatan metanol diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm. Efisiensi penjerapan dihitung dengan persamaan:

$$\text{Efisiensi penjerapan} = \frac{\text{Konsentrasi kurkumin terjerap}}{\text{Konsentrasi kurkumin yang ditambahkan}} \times 100\%$$

Konsentrasi kurkuminoid terjerap diperoleh melalui perhitungan dengan menggunakan persamaan regresi linear dari deret standar kurkuminoid.

Analisis Ukuran Partikel (Pang et al. 2007).

Emulsi kurkuminoid-SLN yang dihasilkan selanjutnya dianalisis ukuran partikelnya ditentukan dengan menggunakan *particle size analyzer* berdasarkan distribusi jumlah.

Rancangan Percobaan dan Hewan Uji (Konatham et al. 2010 modifikasi)

Penelitian ini menggunakan 27 ekor tikus betina galur *Sprague-Dawley* yang berasal dari laboratorium Pusat Studi Satwa Primata, berusia sekitar 4-8 minggu dengan berat badan sekitar 140-170 g. Tikus dibagi menjadi 9 kelompok masing-masing terdiri dari 3 ekor tikus. Hewan coba diaklimatisasi selama minimal 1 minggu dan dimasukkan dalam kandang kelompok. Sebelum percobaan, hewan coba ditimbang berat badannya. Selanjutnya tikus dibuat rusak hatinya sehingga mengalami oksidasi dengan 0.7 mL/kgBB CCl₄ 33% (dalam *olive oil*) pada hari ke 3, 6, dan 9 secara intraperitoneal kecuali kelompok normal. Kelompok 1 adalah kelompok normal tanpa induksi CCl₄ yang diberikan. Kelompok 2 kontrol negatif diberi CCl₄ tanpa pemberian sediaan apapun. Kelompok 3 diberi nanopartikel kurkuminoid temulawak Balitro dengan dosis 50 mg/kg BB. Kelompok 4 diberi nanopartikel kurkuminoid temulawak Balitro dengan dosis 100 mg/kg BB. Kelompok 5 diberi nanopartikel kurkuminoid temulawak Balitro dengan dosis 1500 mg/kgBB. Kelompok 6 diberi ekstrak kurkuminoid temulawak Balitro dengan dosis 100 mg/kgBB. Kelompok 7 kontrol positif vitamin C dengan dosis 36 mg/kgBB. Kelompok 8 kontrol positif standar kurkuminoid dengan dosis 20 mg/kgBB. Kelompok 9 kontrol nanopartikel placebo.

Semua sediaan diberikan secara oral dalam bentuk larutan dalam air dengan sonde lambung. Hari ke-10 dilakukan *euthanasia* untuk diambil hatinya dan selanjutnya aktivitas enzim enzim superoksida dismutase (SOD), peroksidase (POX), glutation peroksidase (Gpx), dan kadar malondialdehida (MDA) diukur untuk menentukan efek antioksidan sediaan yang diuji.

Pengukuran kadar MDA (Biovision 2013)

Preparasi sampel dengan cara 10 mg jaringan hati dihomogenisasi dengan penambahan 300 µL lisis bufer MDA (3 µL BHT 100x). Homogenat yang dihasilkan selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 13000 g selama 10 menit. Sedangkan untuk standar dilakukan dengan sebanyak 10 µL standar MDA diencerkan dengan 407 µL ddH₂O untuk mempersiapkan 0.1 M MDA. Kemudian 20 µL 0.1 M MDA diencerkan dengan penambahan 980 µL ddH₂O untuk menyiapkan 2 mM MDA, selanjutnya ditambahkan 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 µL dari 2 mM MDA ke tabung *microcentrifuge* terpisah dan disesuaikan volume akhir 200 µL dengan ddH₂O. Sebanyak 600 µL larutan TBA ditambahkan dalam setiap botol berisi standar dan sampel. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 95°C selama 60 menit. Campuran reaksi didinginkan sampai suhu kamar dalam penangas es selama 10 menit. Campuran reaksi sebanyak 200 µL (dari 800 µL reaksi campuran) dimasukkan ke dalam setiap sumur pada *microplate* untuk analisis dan dibaca pada 532 nm.

Pengukuran aktivitas superoksida dismutase (Biovison 2013)

Jaringan hati sebanyak 10 mg dibilas dengan PBS-KCl dan dihomogenkan dalam 0.1 M Tris-HCl. Kemudian homogenat disentrifus pada kecepatan 14000 g selama 5 menit suhu 4°C dan supernatan dikumpulkan. Sebanyak 20 µL larutan sampel ditambahkan

untuk setiap sumur sampel dan blanko 2 dan 20 μL ddH₂O pada blanko 1 dan blanko 3. Selanjutnya ditambahkan 200 μL larutan kerja WST pada setiap sumur. Selanjutnya 20 μL larutan bufer pengencer pada blanko 2 dan blanko 3 sedangkan 20 μL larutan enzim untuk setiap sampel dan blanko 1. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm.

Pengukuran aktivitas glutation peroksidase (Biovision 2013)

Jaringan hati sebanyak 0.1 g dihomogenkan dalam 0.2 mL larutan buffer dingin. Selanjutnya homogenat disentrifugasi pada 10000 g selama 15 menit pada 4°C dan supernatan dikumpulkan. Reaksi campuran sebanyak 40 μL ditambahkan ke masing-masing sampel uji dan kontrol positif lalu aduk. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi selama 15 menit. Sebanyak 10 μL *cumene hydroperoxide* ditambahkan dan diaduk rata. Selanjutnya diukur absorbansi pada 340 nm pada T1 untuk membaca A1, dan diakhiri dengan pengukuran absorbansi pada 340 nm lagi di T2 setelah inkubasi reaksi pada 25°C selama 5 menit untuk membaca A2 dengan melindungi sampel dari cahaya. NADPH (nikotinamida adenin dinukleotida fosfat) 40 mM sebanyak 25 μL diencerkan dengan 975 μL ddH₂O untuk menghasilkan NADPH 1 mM. Selanjutnya ditambahkan 0, 20, 40, 60, 80, 100 μL dari 1 mM NADPH ke *microplate* menghasilkan 0, 20, 40, 60, 80, 100 nmol/sumur. Ke dalam masing-masing sumur ditepatkan volume akhir 100 μL dengan buffer, selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada 340 nm untuk penentuan kurva standar NADPH.

Pengukuran aktivitas peroksidase (Biovision 2013)

Homogenat hati disentrifugasi selama 15 menit pada 1000 g dalam waktu 30 menit untuk menghilangkan partikulat pelet. Sampel

sebanyak 20 μL ditambahkan ke dalam setiap sumur dan disesuaikan volume akhir 50 μL dengan bufer. Sebanyak 50 μL reaksi campuran ditambahkan pada masing-masing sampel uji dan kontrol positif hidrogen peroksida (HRP). Selanjutnya diaduk dan diinkubasi selama 3 menit pada 37°C dan dilakukan pengukuran absorbansi pada 570 nm untuk pengukuran A0. Selanjutnya diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C untuk pengukuran absorbansi pada 570 nm untuk A1. Sedangkan untuk standar, sebanyak 10 μL substrat H₂O₂ 12.5 mM diencerkan dengan bufer 1240 μL untuk mendapatkan H₂O₂ substrat 0.1 mM. Substrat hasil pengenceran ditambahkan 0, 10, 20, 30, 40, 50 μL menjadi pada sumur dan ditepatkan volume akhir 50 μL dengan bufer pengujian untuk menghasilkan 0, 1, 2, 3, 4, 5 nmol/sumur standar H₂O₂. Untuk setiap sumur, dipersiapkan total 50 μL reaksi campuran mengandung 2 μL *Probe OxiRed* dan 48 μL HRP kontrol positif. Campuran diinkubasi selama 5 menit dan mengukur absorbansi pada 570 nm dalam *microplatereader*.

Analisis Data (Mattjik dan Sumertajaya 2000)

Rancangan acak lengkap digunakan pada rancangan penelitian ini. Data yang diperoleh dianalisis dengan metode ANOVA (*analysis of variance*) pada tingkat kepercayaan 95% dan taraf $\alpha = 0.05$. Model rancangan tersebut adalah sebagai berikut.

$$Y_{ij} = \mu + \tau + \varepsilon_i$$

Keterangan:

Y_{ij} = pengamatan perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Pengaruh rata-rata umum

τ = Pengaruh rata-rata ke-i

ε_i = Pengaruh galat perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Uji lanjut yang digunakan adalah uji Duncan pada selang kepercayaan 90%, taraf α

= 0.05. Semua data dianalisis dengan program SPSS 11.5.

3. HASIL

Karakteristik Nanopartikel Kurkuminoid tersalut Lemak Padat

Karakterisasi nanopartikel kurkuminoid memiliki tiga parameter dalam pengukurannya yang meliputi rata-rata ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan efisiensi penjerapan. Hasil pengukuran partikel nanopartikel kurkuminoid dianalisis menggunakan alat *particle size analyzer* Delsa NanoC (Beckman Coulter). Ukuran partikel yang dihasilkan adalah 141.85+38.82 nm dengan indeks polidispersitas sebesar

0.233+0.06 (Tabel 1). Efisiensi penjerapan emulsi nanopartikel kurkuminoid 70.96%. Gambar 1 menunjukkan formulasi emulsi nanopartikel kurkuminoid yang baik yang ditandai dengan warna kuning cerah yang larut sempurna tanpa ada gumpalan didalamnya (homogen).



Gambar 1. Emulsi nano partikel kurkuminoid tersalut lemak padat

Tabel 1. Distribusi ukuran partikel dan efisiensi penjerapan Jenis Sampel Rata-Rata Ukuran Partikel

Jenis Sampel	Rata—rata Ukuran Partikel (nm)*	Indeks Polidispersitas (IP)*	[kurkuminoid] terjerap (mg/mL)	[kurkuminoid] ditambahkan (mg/mL)	Efisiensi Penjerapan (%)*
Nanopartikel kurkuminoid	141.85+38.82	0.233+0.06	0.7096	1	70.96+9.3 0

Keterangan (*): n= 3 kali ulangan

Bobot Badan dan Kondisi hewan coba

Pengamatan kondisi hewan coba dilakukan selama 10 hari yang meliputi pola tingkah laku, bobot badan, dan keadaan fisik hewan coba. Selama perlakuan, tidak terjadi keabnormalan perilaku dan feses pada tikus. Feses tikus tidak mengalami perubahan warna (feses tetap berwarna hitam). Parameter yang diamati selanjutnya adalah perubahan bobot badan selama perlakuan. Tabel 2 menunjukkan bahwa secara umum bobot badan semua kelompok cenderung meningkat selama pemberian perlakuan. Tetapi, di hari ke-4 kelompok perlakuan CCl₄, ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB, dan vitamin C 36 mg/kgBB mengalami penurunan berat badan, jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain yang cenderung mengalami kenaikan

bobot badan. Secara statistik, bobot badan kelompok normal berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan kelompok nanopartikel kurkuminoid 1500 mg/kgBB, ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan vitamin C 36 mg/kgBB. Parameter terakhir yang dapat diamati setelah perlakuan adalah pengamatan fisik hati tikus yang dilakukan setelah *euthanasia*. Hati tikus yang diinduksi CCl₄ terlihat mengalami abnormalitas berupa pustula (Gambar 2b), sedangkan tikus yang tidak diinduksi CCl₄ (kelompok normal) tidak ditemukan adanya pustula di hatinya (Gambar 2a).

Status Antioksidan Tikus Percobaan

Status antioksidan suatu bahan secara *in vivo* dapat dilakukan dengan pengukuran

terhadap kadar MDA, aktivitas superoksida dismutase (SOD), aktivitas glutathion peroksidase (GPx) dan aktivitas peroksidase hati tikus. Kadar MDA yang terukur dari kelompok pemberian nanopartikel dosis 50 mg/kgBB, nanopartikel dosis 100 mg/kgBB, dan nanopartikel dosis 1500 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA hati tikus dibandingkan dengan kelompok normal dan

CCl₄. Hasil pengukuran pemberian nanopartikel ini menunjukkan hasil yang hampir sama dengan kelompok ekstrak kurkuminoid. Kadar MDA terendah ditunjukkan pada kelompok nanopartikel kosong. Sedangkan kadar MDA tertinggi ditunjukkan pada kelompok vitamin C. Tetapi, secara statistik pengukuran kadar MDA dari keseluruhan kelompok tidak berbeda nyata.

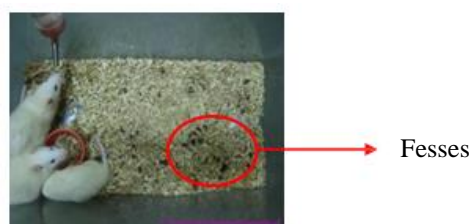
Tabel 2. Pengamatan bobot badan tikus

Kelompok	Hari ke-					% perubahan
	0	2	4	6	8	
Normal	149.76	156.40	157.63	159.30	158.77	6.02 ^{ab}
CCl ₄	178.23	187.60	186.37	189.13	189.077	6.08 ^{ab}
Nanopartikel kurkuminoid 50 mg/kgBB	160.03	170.27	170.27	169.13	165.83	3.62 ^{ab}
Nanopartikel kurkuminoid 100 mg/kgBB	146.03	150.63	152.87	153.40	156.87	7.42 ^{ab}
Nanopartikel kurkuminoid 1500 mg/kgBB	152.83	164.30	165.60	166.37	171.70	12.35 ^{ab}
Ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB	143.53	163.40	160.93	162.83	161.60	12.59 ^{ab}
Vitamin C 36 mg/kgBB	141.97	155.37	153.10	159.57	160.93	13.35 ^{ab}
Standar kurkuminoid 100 mg/kgBB	147.87	149.83	151.93	155.60	158.87	7.44 ^{ab}
Nanopartikel kosong	158.3	163.50	169.83	169.83	168.00	6.17 ^{ab}

Angka-angka pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan).



Gambar 2. Hati tikus *Sprague dawley* Betina setelah euthanasia dengan perlakuan
Keterangan: A=normal, B=induksi CCl₄



Gambar 3. Keadaan feses tikus setelah diberi perlakuan

Status Antioksidan Tikus Percobaan

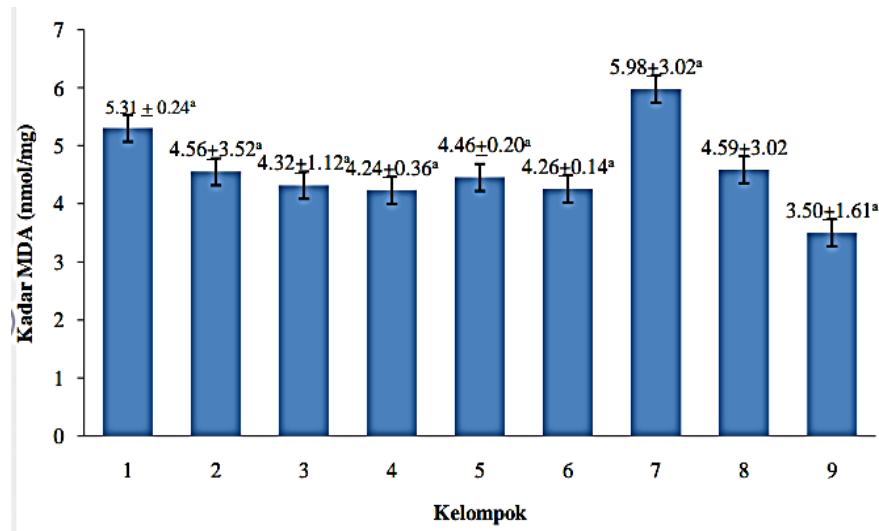
Status antioksidan suatu bahan secara *in vivo* dapat dilakukan dengan pengukuran terhadap kadar MDA, aktivitas superoksida dismutase (SOD), aktivitas glutathion peroksidase (GPx) dan aktivitas peroksidase hati tikus. Berdasarkan pengukuran kadar MDA menunjukkan bahwa pemberian CCl₄

dapat meningkatkan kadar MDA jika dibandingkan dengan kelompok pemberian nanopartikel (Gambar 4). Kadar MDA yang terukur dari kelompok pemberian nanopartikel dosis 50 mg/kgBB, nanopartikel dosis 100 mg/kgBB, dan nanopartikel dosis 1500 mg/kgBB dapat menurunkan kadar MDA hati tikus dibandingkan dengan kelompok

normal dan CCl₄. Hasil pengukuran pemberian nanopartikel ini menunjukkan hasil yang hampir sama dengan kelompok ekstrak kurkuminoid. Kadar MDA terendah ditunjukkan pada kelompok nanopartikel kosong. Sedangkan kadar MDA tertinggi ditunjukkan pada kelompok vitamin C. Tetapi,

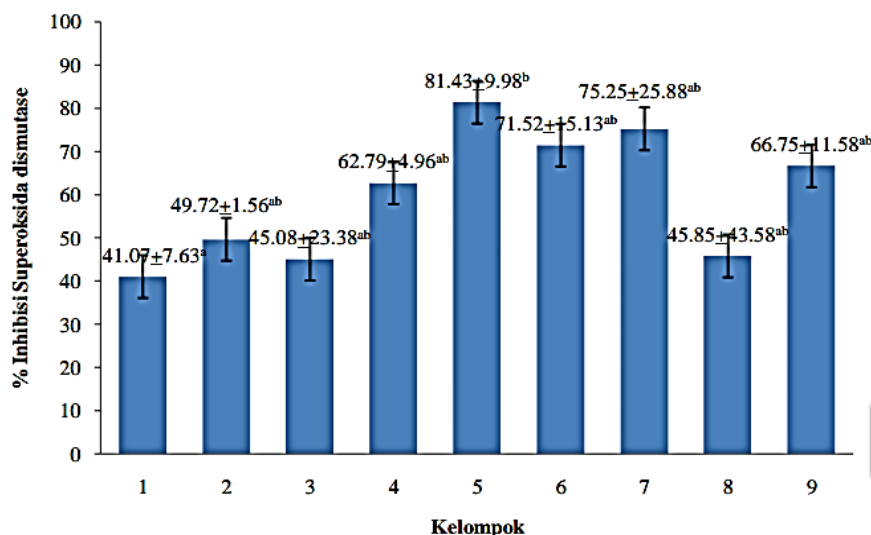
secara statistik pengukuran kadar MDA dari keseluruhan kelompok tidak berbeda nyata.

Hasil pengukuran aktivitas superoksida dismutase (SOD) menunjukkan semua kelompok perlakuan memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok normal (Gambar 5).



Gambar 4. Kadar MDA tikus *Sprague-Dawley* Betina 1) Normal; 2) CCl₄; 3) Nanopartikel kurkuminoid 50 mg/kgBB; 4) Nanopartikel kurkuminoid 100 mg/kgBB; 5) Nanopartikel kurkuminoid 1500 mg/kgBB; 6) Ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB; 7) Vitamin C 36 mg/kgBB; 8) Standar kurkuminoid 20 mg/kgBB; 9) Nanopartikel placebo.

Keterangan: Angka-angka pada grafik yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji Duncan).



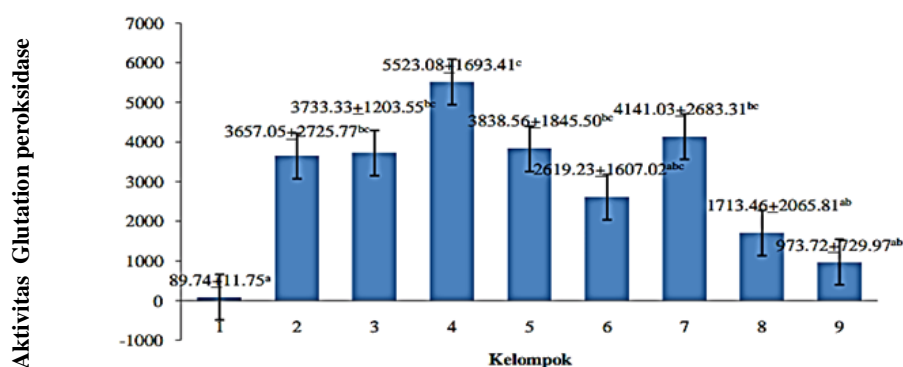
Gambar 5. Aktivitas enzim superoksida dismutase hati tikus *Sprague-Dawley* Betina 1) Normal; 2) CCl₄; 3) Nanopartikel kurkuminoid 50 mg/kgBB; 4) Nanopartikel kurkuminoid 100 mg/kgBB; 5) Nanopartikel kurkuminoid 1500 mg/kgBB; 6) Ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB; 7) Vitamin C 36 mg/kgBB; 8) Standar kurkuminoid 20 mg/kgBB; 9) Nanopartikel placebo.

Keterangan: Angka-angka pada grafik yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji Duncan).

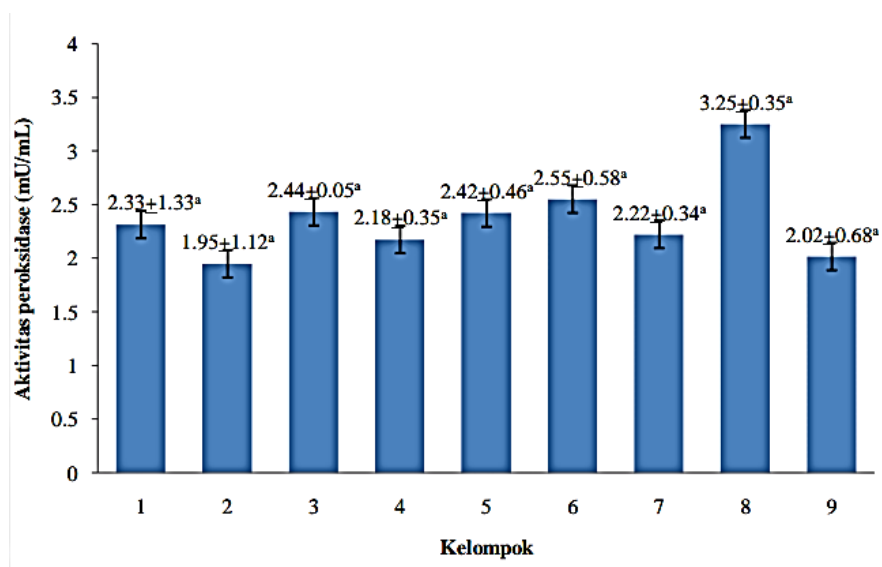
Pemberian CCl_4 dapat menurunkan aktivitas SOD. Ketiga kelompok perlakuan dengan nanopartikel kurkuminoid diketahui meningkatkan aktivitas superoksida dismutase dibandingkan kelompok normal dan CCl_4 . Hasil pengukuran dengan pemberian ekstrak kurkuminoid menunjukkan hasil yang hampir sama dengan pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis 1500 mg/kgBB. Aktivitas

tertinggi terdapat pada kelompok 5. Secara statistik, aktivitas enzim menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Artinya, pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis 1500 mg/kgBB memiliki efek meningkatkan aktivitas SOD.

Hasil yang sama juga ditunjukkan pada pengukuran aktivitas glutathion peroksidase (Gambar 7).



Gambar 6. Aktivitas enzim glutathion peroksidase hati tikus *Sprague-Dawley* Betina 1) Normal; 2) CCl_4 ; 3) Nanopartikel kurkuminoid 50 mg/kgBB; 4) Nanopartikel kurkuminoid 100 mg/kgBB; 5) Nanopartikel kurkuminoid 1500 mg/kgBB; 6) Ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB; 7) Vitamin C 36 mg/kgBB; 8) Standar kurkuminoid 20 mg/kgBB; 9) Nanopartikel placebo. Keterangan: Angka-angka pada grafik yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji Duncan).



Gambar 7. Aktivitas enzim peroksidase hati tikus *Sprague-Dawley* Betina 1) Normal; 2) CCl_4 ; 3) Nanopartikel kurkuminoid 50 mg/kgBB; 4) Nanopartikel kurkuminoid 100 mg/kgBB; 5) Nanopartikel kurkuminoid 1500 mg/kgBB; 6) Ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB; 7) Vitamin C 36 mg/kgBB; 8) Standar kurkuminoid 20 mg/kgBB; 9) Nanopartikel placebo. Keterangan: Angka-angka pada grafik yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji Duncan).

Kelompok dengan perlakuan pemberian CCl_4 sebagai agen radikal eksogen menunjukkan aktivitas yang lebih rendah jika dibandingkan kelompok pemberian nanopartikel kurkuminoid. Ketiga perlakuan dengan pemberian nanopartikel kurkuminoid dapat meningkatkan aktivitas glutathione peroksidase. Aktivitas GPx pada pemberian ekstrak kurkuminoid lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok CCl_4 dan pemberian nanopartikel kurkuminoid, tetapi masih jauh lebih tinggi aktivitasnya jika dibandingkan dengan kelompok normal. Dosis nanopartikel kurkuminoid sebesar 100 mg/kgBB memberikan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan normal dalam meningkatkan aktivitas glutathione peroksidase.

Berdasarkan pengukuran aktivitas peroksidase, diketahui bahwa pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis 50 mg/kgBB dan 1500 mg/kgBB pada tikus meningkatkan aktivitas peroksidase dibandingkan kelompok normal walaupun secara statistik hasil keduanya tidak berbeda nyata. Aktivitas enzim peroksidase tertinggi terdapat pada kelompok 8 dengan aktivitas sebesar 3.2532 mU/mL. Sedangkan, aktivitas enzim peroksidase terendah ditunjukkan oleh kelompok 2 dengan perlakuan pemberian CCl_4 . Kelompok perlakuan lainnya menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh dengan kelompok normal. Secara statistik, secara keseluruhan aktivitasnya tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar kelompoknya ($p < 0.05$).

4. PEMBAHASAN

Karakterisasi Nanopartikel Kurkuminoid tersalut Lemak Padat

Penyalut yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel kurkuminoid adalah asam palmitat. Penggunaan asam palmitat ini mengacu pada pembuatan nanopartikel kurkuminoid yang telah dilakukan oleh Mujib

(2011). Selain itu, asam palmitat merupakan asam lemak yang meningkat bioavailabilitasnya pada mencit (Xie 2011). Perbandingan penggunaan antara kurkuminoid dengan asam palmitat adalah 1 : 0.1 dengan volume 100 mL. Formula yang dihasilkan berupa emulsi dengan warna kuning cerah dan homogen (Gambar 1).

Emulsi nanopartikel kurkuminoid yang telah dihasilkan selanjutnya diultrasonikasi pada amplitudo 20% selama 1 jam. Metode ultrasonikasi ini bertujuan memecah partikel dalam emulsi menjadi partikel yang lebih kecil sehingga menghasilkan ukuran partikel yang seragam (Mujib 2011). Keseragaman ukuran partikel berkaitan erat dengan dengan penyerapan nanopartikel di dalam tubuh. Kecilnya ukuran partikel akan meningkatkan luas permukaan yang menyebabkan kelarutan tinggi. Tingginya kelarutan memudahkan partikel tersebut untuk diserap ke dalam tubuh (Awad et al. 2008). Ukuran partikel nanopartikel kurkuminoid ditentukan dari alat *Particle Size Analyzer* dengan metode *photon correlation spectroscopy* (PCS). Tabel 1 memperlihatkan ukuran partikel nanopartikel kurkuminoid yang kecil yaitu 141.85 ± 38.82 nm, ukuran tersebut masuk dalam rentang ukuran partikel nanopartikel lemak padat yang baik yaitu 50-1000 nm (Ristanti 2008).

Nilai indeks polidispersitas (IP) nanopartikel kurkuminoid adalah 0.233 ± 0.06 . Indeks polidispersitas adalah parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel, bila nilai IP kurang dari 0.3 maka ukuran partikel memiliki distribusi yang sempit (Mujib 2011). IP nanopartikel kurkuminoid memiliki nilai yang kurang dari 0.3 (Tabel 1), hal tersebut menunjukkan distribusi ukuran partikel yang sempit dan mengindikasikan proses pembuatan nanopartikel telah berhasil.

Efisiensi penjerapan merupakan parameter penting dalam karakterisasi nanopartikel tersalut lemak padat. Metode efisiensi penjerapan yang digunakan adalah metode langsung, yaitu dengan mengekstraksi kurkuminoid yang terjerap dalam matriks lemak menggunakan metanol setelah lemak padat dipisahkan dari medium pendispersi dengan sentrifugasi. Konsentrasinya kemudian ditetapkan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 425 nm menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi kurkuminoid standar (Lampiran 2). Efisiensi terjerap didefinisikan sebagai persentase kurkuminoid yang terjerap ke dalam lemak padat dibandingkan dengan total kurkuminoid yang ditambahkan. Presentase efisiensi penjerapan kurkuminoid pada nanopartikel lemak padat diperoleh sebesar $70.96 \pm 9.30\%$ (Tabel 2). Hal tersebut sesuai dengan standar sistem penghantaran obat yang baik yaitu di atas 60% (Konatham *et al.* 2010). Nilai efisiensi penjerapan bergantung pada seberapa besar zat aktif yang ditambahkan pada saat pembuatan nanopartikel lemak padat, karena merupakan perbandingan jumlah zat aktif yang terjerap dengan yang ditambahkan (Mujib 2011). EP juga dipengaruhi oleh kelarutan zat aktif dalam lemak cair (Parhi dan Suresh 2010).

Bobot Badan dan Kondisi Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus varietas *Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley betina sebanyak 27 ekor berumur delapan minggu dengan bobot badan 153.1644 ± 11.23 g. Tikus dikandangkan pada kandang *Rodentia* Laboratorium Pusat Studi Satwa Primata. Penggunaan tikus Sprague Dawley sebagai hewan coba dalam penelitian ini, karena tikus ini banyak digunakan dalam penelitian mengenai imunitas. Selain itu, tikus ini tidak

dapat muntah sehingga lebih mudah dalam melakukan pencekokan. Pengandangan tikus dibagi secara berkelompok. Hewan coba dikandangkan dengan kandang khusus yang terbuat dari plastik yang beralaskan bedding. Penerangan kandang diatur secara otomatis pada kondisi 12 jam terang dan 12 jam gelap dengan suhu ruangan 23°C.

Sebelum memulai perlakuan, tikus diadaptasi selama satu minggu. Adaptasi bertujuan menghindari resiko timbulnya stres selama proses transportasi serta menyeragamkan pola makan ataupun pola hidup dengan lingkungan baru. Selama adaptasi hewan coba diberikan pakan standar sebanyak + 20 g. Pemberian pakan ini sudah sesuai dengan angka kebutuhan konsumsi pakan tikus per hari (Puspawati 2009). Penentuan banyaknya sisa pakan dilakukan dengan cara *scoring*.

Berdasarkan data pengamatan bobot badan hewan coba, keseluruhan hewan coba pada setiap perlakuan mengalami kenaikan bobot badan sebesar 8.21% (Tabel 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian sediaan nanopartikel kurkuminoid tidak mengakibatkan penurunan bobot badan hewan coba, sebaliknya meningkatkan bobot badan. Hal ini sesuai dengan penelitian Puspawati (2009) yang menyatakan bahwa pemberian sediaan antioksidan pada hewan coba tidak memberikan efek negatif maupun penurunan bobot badan hewan coba, tetapi memberikan efek kenaikan bobot badan hewan coba. Selain itu, kenaikan bobot badan ini dipengaruhi oleh tingkat konsumsi pakan dan umur tikus yang berada dalam masa pertumbuhan (*mature point*), yaitu kurang dari 6 bulan. Umur tikus yang digunakan pada awal adaptasi adalah ± 2 bulan. Kondisi ini menunjukkan tikus dalam keadaan sehat, tidak ada gangguan pertumbuhan, dan kalorinya tercukupi (Lu 2006).

Perlakuan hewan coba kemudian dilanjutkan dengan induksi atau cekok karbon tetraklorida. Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan sumber radikal bebas eksogen yang dapat menyebabkan stres oksidatif (Simanjuntak 2007). Simanjuntak (2007) menyatakan bahwa, apabila tubuh terpapar CCl_4 dapat menyebabkan kerusakan hati. Penelitian lain menyebutkan bahwa CCl_4 merupakan penyebab kerusakan hati yang ditandai dengan peradangan akut pada sel-sel hati, yakni terjadinya nekrosis yang ditandai pustula pada hati (Shanmugasundaram dan Venkataraman 2006). Pernyataan ini sesuai dengan pengamatan kondisi hati tikus yang diinduksi dengan CCl_4 yang menunjukkan abnormalitas berupa pustula, sedangkan hati tikus kelompok normal (tidak diinduksi CCl_4) tidak menunjukkan ketidaknormalan (Gambar 2).

Induksi CCl_4 dilakukan pada hari ke-3. Kelompok tikus yang diinduksi dengan CCl_4 mengalami penurunan bobot badan pada penimbangan bobot badan di hari ke-4 dari 187.60 g menjadi 186.37 g (Tabel 2). Jeon et al (2003) menyatakan bahwa pemberian CCl_4 mengacaukan proses oksidasi dan menurunkan bobot badan. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian CCl_4 terhadap bobot badan tikus.

Secara fisik semua tikus tetap memiliki mata merah yang jernih, bulu putih, tidak rontok, serta feses padat dan hitam (Gambar 3). Warna feses normal mengindikasikan nanopartikel kurkuminoid dapat terserap dengan baik oleh tikus karena warna feses tidak berubah menjadi kuning (warna kurkumin). Selain pengamatan feses, pada tingkah laku tikus tidak ditemukan adanya kelainan, selama pengamatan tidak ditemukan adanya tikus yang gelisah dan hiperaktif.

Kadar MDA pada Hati Tikus

Keadaan stres oksidatif terjadi bila jumlah radikal bebas dalam tubuh lebih tinggi dari jumlah sistem antioksidan. Stres oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas tersebut dapat ditentukan dengan mengukur salah satu parameter berupa kadar malondialdehida (MDA). Bila kadar MDA tinggi, maka dapat dipastikan sel mengalami stres oksidatif (Valko 2006). Sehingga kadar MDA merupakan indeks parameter tidak langsung terjadinya stres oksidatif. Sumber radikal bebas yang dihasilkan dari luar yang dapat menimbulkan stres oksidatif adalah karbon tetraklorida (CCl_4).

Pengukuran kadar MDA pada penelitian ini menggunakan metode tiobarbiturat (TBA). Prinsip pengukuran MDA adalah reaksi satu molekul dengan dua molekul TBA yang membentuk kompleks MDA-TBA yang berwarna merah muda sehingga dapat dikuantifikasi melalui spektrofotometri pada panjang gelombang 532 nm (Yagi 1998). Alasan penggunaan metode ini adalah metode TBA mempunyai tingkat kepekaan yang tinggi pada radikal bebas dan mudah diaplikasikan. MDA adalah produk peroksidasi lipid dan kadarnya dapat ditekan oleh keberadaan senyawa-senyawa antioksidan (Prangdimurti *et al.* 2006). Dengan kata lain, kadar MDA yang rendah menunjukkan adanya penghambatan terhadap oksidasi lipid oleh antioksidan (Simanjuntak 2007).

Gambar 4 menunjukkan bahwa pemberian CCl_4 sebagai agen radikal eksogen dapat meningkatkan kadar MDA jika dibandingkan dengan perlakuan pemberian nanopartikel kurkuminoid, walaupun masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok normal. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa CCl_4 dapat meningkatkan peroksidasi hati yang mengakibatkan kenaikan kadar MDA (Simanjuntak 2007). Pemberian nanopartikel

dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 1500 mg/kgBB serta ekstrak kurkuminoid 100 mg/kgBB menurunkan kadar MDA dengan kadar MDA yang hampir sama. Sehingga dapat diketahui bahwa pemberian nanopartikel kurkuminoid memiliki efek yang sama dengan pemberian ekstrak kurkuminoid. Menurunnya kadar MDA pada tikus dikarenakan karena kurkuminoid merupakan senyawa fenolik yang akan mendonorkan elektron kepada senyawa radikal yang dihasilkan oleh senyawa CCl₄, sehingga akan menurunkan oksidasi lipid yang secara langsung akan menurunkan kadar MDA sebagai produk akhir proses tersebut (Puspawati 2009).

Pemberian nanopartikel placebo yang terdiri dari asam palmitat dan air reverse osmosis pada tikus menunjukkan kadar MDA yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok normal, tetapi masih lebih tinggi jika dibandingkan pemberian nanopartikel dan ekstrak kurkuminoid. Hal ini membuktikan pemberian nanopartikel placebo tidak toksik, karena asam palmitat yang merupakan bahan pokok pembuatan nanopartikel placebo merupakan produk normal dari sistem asam lemak dalam sel hewan dan berfungsi sebagai prekursor asam lemak rantai panjang lainnya dan dua asam lemak tidak jenuh (, yaitu asam palmitoleat dan asam oleat (Lehninger 1982).

Berdasarkan pengukuran diketahui bahwa pemberian vitamin C yang diketahui sebagai antioksidan eksogen tidak dapat menghambat peroksidasi lipid, hal itu dapat terlihat dari meningkatnya kadar MDA pada perlakuan tersebut. Sehingga dapat dikatakan vitamin C 36 mg/kgBB tidak lebih baik sebagai antioksidan jika dibandingkan kelompok pemberian nanopartikel kurkuminoid, padahal dosis vitamin C yang digunakan berdasarkan dosis toleransi perut manusia dalam keadaan normal sebesar 400

mg (Pauling dalam Fonorow 2008) yang dikonversikan pada dosis tikus yaitu sebesar 36 mg/KgBB. Peristiwa ini diduga disebabkan penyerapan senyawa vitamin C dalam tubuh tikus tidak optimal karena sifat senyawanya mudah larut dalam air sehingga mudah dikeluarkan dari dalam tubuh melalui urin (Almatsier 2004).

Secara statistik baik kelompok CCl₄ maupun kelompok perlakuan pemberian nanopartikel tidak memiliki perbedaan yang nyata ($p < 0.05$). Sehingga dapat dikatakan, pemberian nanopartikel kurkuminoid belum maksimal sebagai antioksidan.

Aktivitas Superoksida Dismutase pada Hati Tikus

Pengukuran status antioksidan secara *in vivo* selanjutnya adalah aktivitas superoksida dismutase. Enzim SOD merupakan enzim antioksidan endogen yang mempunyai peranan penting secara langsung melindungi sel dari gangguan radikal bebas, dan secara tidak langsung memelihara keseimbangan oksigen yang bersifat toksik (Wresdiyati *et al.* 2002). Pengukuran kandungan enzim antioksidan SOD merupakan cara untuk mengetahui kondisi pertahanan sel terhadap radikal bebas. Prinsip dasar pengukuran superoksida dismutase (SOD) adalah reaksi antara O₂^{*}-(radikal superoksida dengan Blue tetrazolium (NBT) sehingga membentuk formazan biru ungu. SOD yang berada dalam plasma berlomba dengan NBT untuk bereaksi dengan O₂^{*}- sehingga menghambat pembentukan warna. Aktivitas SOD ini diukur melalui derajat penghambatan (inhibisi) pembentukan warna (Widowati *et al.* 2005). Semakin banyak jumlah enzim SOD dalam sampel maka warna yang terbentuk pun semakin tidak pekat.

Kelompok perlakuan CCl₄ memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi

dibandingkan kelompok normal, tetapi masih lebih rendah jika aktivitasnya dibandingkan kelompok nanopartikel kurkuminoid 100 mg/kgBB dan nanopartikel kurkuminoid 1500 mg/kgBB. Hal ini sesuai dengan karena induksi CCl₄ akan menurunkan aktivitas enzim antioksidan (Jeon 2003).

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa nanopartikel kurkuminoid dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 1500 mg/kgBB, ekstrak kurkuminoid, vitamin C, dan standar kurkuminoid dapat meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase dibandingkan dengan kelompok normal (Gambar 5). Dengan kata lain, dapat dinyatakan bahwa pemberian perlakuan sudah efektif sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yuan *et al.* (2009), bahwa senyawa antioksidan bekerja secara sinergis dengan enzim SOD dalam menetralkan radikal bebas, sehingga aktivitas enzim SOD menjadi tinggi. Secara statistik, hanya kelompok pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis 1500 mg/kgBB yang menunjukkan hasil berbeda nyata dengan kelompok normal. Artinya, pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis 1500 mg/kgBB dapat meningkatkan aktivitas SOD.

Aktivitas Glutation Peroksidase pada Hati Tikus

Selanjutnya, penelitian ini menganalisis aktivitas antioksidan glutathione peroksidase (GPx) yang terdapat di dalam hati tikus sebagai gambaran pengaruh pemberian nanopartikel kurkuminoid temulawak terhadap aktivitas antioksidan GPx. Enzim glutathione peroksidase merupakan enzim yang mengatalisis reduksi H₂O₂ dan lemak peroksida (LOOH) dengan menggunakan glutathione tereduksi (GSH) sebagai kofaktor (Nabet 1996). Prinsip pengukuran enzim ini adalah glutathione peroksidase mengatalisis glutathione tereduksi (GSH) menjadi glutathione

teroksidasi (GSSG). GSSG yang dihasilkan direduksi menjadi GSH dengan bantuan NADPH oleh glutathione reduktase.

Hasil analisis menunjukkan aktivitas GPx perlakuan CCl₄ lebih tinggi dibandingkan kelompok normal, tetapi masih lebih rendah jika dibandingkan dengan ketiga perlakuan pemberian nanopartikel kurkuminoid. Glutathione peroksidase yang rendah berkorelasi dengan gangguan yang berhubungan dengan radikal bebas (Judge *et al.* 2005). Kelompok normal memiliki aktivitas GPx yang terendah sebesar 89.7436 mU/mL, sedangkan aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis 100 mg/kgBB. Pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis bertingkat dapat meningkatkan aktivitas glutathione peroksidase secara berbeda nyata ($p < 0.05$). Peningkatan aktivitas glutathione peroksidase disebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran mitokondria (Meister 1995). Peningkatan aktivitas glutathione peroksidase ini dimungkinkan karena kurkuminoid menetralkan radikal bebas.

Secara statistik, pemberian nanopartikel kurkuminoid dosis 50 mg/kgBB dan 1500 mg/kgBB sebanding dengan kelompok CCl₄, sehingga mengindikasikan bahwa pemberian nanopartikel dosis 50 mg dan 1500 mg belum efektif sebagai antioksidan. Sedangkan pemberian nanopartikel dosis 100 mg menunjukkan hasil meningkatkan aktivitas glutathione peroksidase yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol dan CCl₄. Hal tersebut karena pemberian senyawa antioksidan akan menurunkan peroksidasi lipid yang secara tidak langsung akan meningkatkan aktivitas GPx sebagai enzim penetralisirnya.

Aktivitas Peroksidase pada Hati Tikus

Pengukuran status antioksidan yang terakhir adalah aktivitas enzim peroksidase. Peroksidase adalah kelas enzim golongan oksireduktase yang mengkatalisis H_2O_2 yang bersifat toksik menjadi H_2O yang netral dengan adanya substrat yang bertindak sebagai donor hidrogen sehingga sel hidup tidak mengalami kerusakan (Hiner *et al.* 2002). Enzim peroksidase merupakan kelompok enzim mengaitkan hubungan dengan aktivitas katalase sebagai enzim yang secara endogen yang diproduksi tubuh. Pemberian CCl_4 dapat menurunkan aktivitas peroksidase dibandingkan kelompok normal (Gambar 7). Menurut Jeon (2003), pemberian CCl_4 dapat menurunkan aktivitas antioksidan.

Pemberian nanopartikel dosis 50 mg/kgBB dan 1500 mg/kgBB dapat meningkatkan aktivitas peroksidase dibandingkan kelompok normal. Hal yang dapat terlihat adalah bahwa pemberian nanopartikel kurkuminoid dapat meningkatkan aktivitas peroksidase, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata. Pengamatan aktivitas antioksidan dengan parameter enzim peroksidase masih belum bisa dilakukan observasi lebih lanjut karena mekanisme kelompok enzim tersebut dalam penangkalan radikal bebas masih belum diketahui secara pasti

Aktivitas antioksidatif Nanopartikel Kurkuminoid

Berdasarkan keseluruhan pengukuran dapat teramati bahwa pemberian CCl_4 dapat meningkatkan kadar MDA dan menurunkan aktivitas peroksidase, superoksida dismutase serta glutation peroksidase. Pemberian nanopartikel kurkuminoid dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan menurunkan kadar MDA. Hal ini dikarenakan CCl_4 dapat meningkatkan kadar MDA yang keberadaannya dapat dinetralisir oleh enzim

antioksidan. Hal tersebut sesuai dengan hipotesis yang sebelumnya dikemukakan bahwa pembentukan nanopartikel kurkuminoid dapat meningkatkan bioavailabilitas dibandingkan dengan ekstrak kurkuminoid. Selain itu, diketahui bahwa perlakuan terbaik dalam menekan keadaan stres oksidatif adalah pemberian nanopartikel pada aktivitas superoksida dismutase, karena nanopartikel memberikan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan kelompok normal dan hampir sama dengan pemberian ekstrak kurkuminoid.

Penggunaan nanopartikel dosis 100 mg/kgBB dan 1500 mg/kgBB memberikan efek yang relatif sama atau lebih tinggi dengan standar kurkuminoid. Nanopartikel kurkuminoid mengandung bahan aktif lebih kecil yaitu 0.3 mg dan 0.02 mg, sedangkan standar kurkumin mengandung bahan aktif sebesar 1.6 mg (pada dosis 20 mg), sehingga pembuatan kurkuminoid lemak padat lebih ekonomis dibandingkan dengan penggunaan standar kurkumin karena mengandung bahan aktif yang lebih sedikit, tetapi memberikan efek yang sama atau lebih tinggi.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Awad T, Helgason T, Kristbergsson K, Decker EA, Weiss J, McClements DJ. 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *FoodBiophysic.*(3):146–154.
- BPOM RI. 2005. *Lampiran Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor :HK.00.05.4.1380* [internet]. [diacu 2013 Desember 12]. Tersedia dari: [http://www2.pom.go.id/public/hukum_perundangan/pdf/SK%20CPOTB\(1\).pdf](http://www2.pom.go.id/public/hukum_perundangan/pdf/SK%20CPOTB(1).pdf)
- Biovision. 2013. *Glutathione peroxidase activity colorimetric assay kit* [internet].

- [diacu 2013 Desember 11]. Tersedia dari: <http://www.biovision.com/manuals/K762.pdf>
- Biovision. 2013. *Lipid peroxidation (mda) colorimetric/fluorometric assay kit* [internet]. [diacu 2013 Desember 11]. Tersedia dari: <http://www.biovision.com/manuals/K739.pdf?osCsid=p3pondekgluik5i0v2d05ufb74>.
- Biovision. 2013. *Peroxidase activity colorimetric/fluorometric assay kit* [internet]. [diacu 2013 Desember 11]. Tersedia dari: <http://www.biovision.com/manuals/K772.pdf?osCsid=h1ece063787ju120g3scfvfc05>.
- Biovision. 2011. *Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit* [internet]. [diacu 2013 Desember 11]. Tersedia dari: <http://www.biovision.com/manuals/K335.pdf?osCsid=rpvaphbcklvf08m7p152jhsv0>.
- Fonorow O. 2008. *Pauling Therapy Handbook*. Boston: Lulu Press. 256 hlm.
- Hiner et al. 2002. Mechanism of compound information in heme peroxidases. *J Inorgan Biochem.* (91): 27-33.
- Jeon TI, Hwang SG, Park NG, Shin SI, Choi SD, Park DK. 2003. Antioxidative effect of chitosan on chronic carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Toxicol.* (1): 67-73.
- Judge S, Mok Jang Y, Smith A, Hagen T, dan Leeuwenburg C. 2005. Ageassociated increases in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in cardiac interfibrillar mitochondria: implication for the mitochondrial theory of aging. University of Florida. *Faseb J.* (3):419-421.
- Kamble VA, Jagdale DM, Kadan VJ. 2010. Solid lipid nanoparticles as drug delivery system. *Int J Pharm BioSci.* (1) :1-9.
- Konatham S. 2010. Liposomal delivery of curcumin to liver. *Turk J. Pharm Sci.* 7(2): 89-98.
- Lehninger. 1982. *Dasar-dasar Biokimia: Jilid 2*. Jakarta: Erlangga. 386 hlm.
- Liang OB, Widjaya Y, Asparton Y, Puspa S. 1985. Beberapa aspek isolasi, identifikasi, dan penggunaan komponen-komponen *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. dan *Curcuma domestika* Val. *Prosiding Symposium Nasional Temulawak*. Bandung: Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran.
- Lu F. 2002. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ sasaran, dan Penilaian Risiko*. Nugroho, penerjemah. Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Toxicology, fundamentals, target organs, and risk assesment*. 392 hlm.
- Malsch N. 2005. *Biomedical Nanotechnology*. USA: T&F Group. 161 hlm.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2002. *Perancangan percobaan jilid 1 edisi ke-2 dengan aplikasi SAS dan MINITAB*. Bogor: IPB Press. 276 hlm.
- Meister A. 1995. Mitochondrial changes associated with glutathione deficiency. *Biochem Biophys Acta.* (1): 35-42.
- Mujib MA. 2011. Pencirian nanopartikel kurkuminoid tersalut lemak padat [tesis]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Nabet F B. 1996. Zat gizi antioksidan penangkal senyawa radikal pangan dalam sistem biologis. Dalam Zakaria F R, R Dewanti, S Yasni (eds.). *Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem pangan: Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan*, hal. 8-15. Kerjasama PAU IPB dengan Kedutaan Perancis, Jakarta.
- Pan M H, Huang T M, Lin JK. 1999. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab.Dispos.* 27(4): 486- 94.
- Pang X, Cui F, Tian J, Chen J, Zhou J, Zhou W. 2009. Preparation and characterization of magnetic solid lipid

- nanoparticles loaded with ibuprofen. *Asian J Pharm Sci.* (4): 132–137.
- Parhi R, Suresh P. 2010. Production of solid lipid nanoparticles-drug loading and release mechanism. *J Chem Pharm.* 2 (1): 211-227.
- Puspawati G. 2009. Kajian aktivitas proliferasi limfosit dan kapasitas antioksidan Sorgum (*Sorghum bicolor L Moench*) dan Jewawut (*Pennisetum sp*) pada Tikus *Sprague Dawley* [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Prangdimurti E, Muchtadi D, Astawan M, Zakaria FR. 2006. Aktivitas antioksidan ekstrak daun suji. *J Teknol Indust Pangan.* 17(2) : 79-88.
- Ravindranath V, Chandrasekhara N. 1980. Absorption and tissue distribution of curcumin in rats. *Toxicol.* (16): 59– 65.
- Ravindranath V, Chandrasekhara N. 1981. Metabolism of curcumin—studies with [3H] curcumin. *Toxicol.* (22): 37–44.
- Ristanti E. 2008. Potensi lemak dan minyak dari tanaman perkebunan sebagai bahan baku material pembawa dalam sistem penghantaran obat. *J Indust Hasil Perkebunan.* (3): 63-64.
- Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. 1998. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med.* 64(4): 353–6.
- Sidik, Mulyono MW, Mutadi A. 1995. *Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb)*. Jakarta: Phyto Medika. 105 hlm.
- Simanjuntak K. 2007. Radikal bebas dari senyawa toksik karbon tetraklorida (CCl₄). *Bina Widya.* 8(1): 25-31.
- Shanmugasundaram P, Venkataraman S. J. 2006. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Hygrophila auriculata* (K. Schum) heine acanthaceae root extract. *J Ethnopharmacol.* (1): 124-128.
- Valko M. 2006. Free radical, metal, and antioxidant in oxidative stress induced cancer. *J Chem Biol.*(160): 1-40.
- Wahlstrom B, Blennow G. 1978. A study on the fate of curcumin in the rat. *Acta Pharmacol Toxicol.*(2): 86–92.
- [WHO] World Health Organization. 2003. *Traditional medicine* [internet]. [diacu 2012 Desember 27]. Tersedia dari: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>.
- Widowati W, Ratu S, Rymond R, Marlinda S. 2005. Penapisan aktivitas superoksida dismutase pada berbagai tanaman. *JKM.* (5): 33-48.
- Wresdiyati T, K Mamba, IKM Adnyane, US Aisyah. 2002. The effect of stress condition on the intracellular antioxidant copper,zinc-superoxide dismutase in the rat kidney: an immunohistochemical study. *Hayati.* (3):85-88.
- Xie S Y. 2011. Preparation, characterization and pharmacokinetics of enrofloxacin-loaded solid lipid nanoparticles: Influences of fattyacids. *Colloid Surfaces Biointerf.* 83(2): 382-387.
- Yadav V, Vinay P, Sarasija S, Yadav S. 2008. Curcumin Loaded Palmitic Acid Microparticles. *InPharm Communique.* (1) : 15–18.
- Yagi K. 1998. Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol.* (108): 101-106.
- Yuan C, Huang L, Cheng Y. Bu, Liu F, Yi Z, Yang, & Song. 2009. Evaluation of antioxidant and immune activity of Phellinus ribis glucan in mice. *Food Chem.* (115) : 581– 584.