

PENGHAMBATAN OKSIDASI LDL DAN AKUMULASI KOLESTEROL PADA MAKROFAG OLEH EKSTRAK TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb)

[The Inhibition of Low Density Lipoprotein Oxidation and Cholesterol Accumulation on the Macrophage by Temulawak Extract]

Aisyah Tri Septiana¹⁾, Hidayah Dwiyantri¹⁾, Deddy Muchtadi²⁾, dan Fransiska Zakaria²⁾

¹⁾ Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, UNSOED Purwokerto

²⁾ Program Studi Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB Bogor

Diterima 15 Desember 2006 / Disetujui 10 Mei 2007

ABSTRACT

Coronary heart disease is caused among others by atherosclerosis, which is the result of oxidized low density lipoprotein (LDL) and cholesterol accumulation on the macrophage. This were reported to be inhibited by temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). The objective of this study was to find out the types and concentrations of temulawak extract which could inhibit LDL oxidation, and to find out the effect of temulawak extract on the accumulation of cholesterol on macrophage. Temulawak was extracted by water, ethanol, acetone and dichloromethane. Inhibition of LDL oxidation was analyzed by measuring the level of malonaldehyde content of the oxidized LDL-CuSO₄ which were given water extract, ethanol extract, acetone extract and dichloromethane extract of temulawak at concentrations of 43 µg, 430 µg, and 4300 µg per ml of LDL. The percentage of malonaldehyde reduction due to addition of water, ethanol, acetone and dichloromethane extract were 44.27; 47.68; 51.83 and 61.2 respectively. The inhibition of LDL oxidation by temulawak extract depends on the concentrations. The percentage of malonaldehyde reduction due to addition of temulawak extract of 43 µg, 430 µg, and 4300 µg per ml of LDL were 43.63; 56.72; and 53.89. Concentrations of temulawak extract resulting in the highest inhibition of LDL oxidation was 430 µg/ml LDL. Temulawak extract tends to inhibit cholesterol accumulation on the macrophage. There is a correlation between the inhibition of cholesterol accumulation on the macrophage and the inhibition of LDL oxidation by temulawak extract.

Key words : Low density lipoprotein, macrophage, cholesterol, temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb)

PENDAHULUAN

Saat ini, penyakit jantung koroner (PJK) merupakan penyebab utama kematian penduduk dunia termasuk penduduk Indonesia berusia di atas 40 tahun. Pada tahun 1995, PJK menyebabkan kematian sekitar 15 juta jiwa atau sekitar 30 persen dari total penyakit penyebab kematian, pada tahun 2020 diperkirakan meningkat mencapai 40 persen (WHO, 2001).

Penyakit Jantung Koroner (PJK) antara lain disebabkan oleh aterosklerosis, yaitu penyakit degeneratif pada arteri besar dan menengah yang ditandai dengan penimbunan lipid dan fibrosis. Low density lipoprotein (LDL) atau lipoprotein densitas rendah yang teroksidasi merupakan faktor penting dalam pembentukan aterosklerosis. LDL yang telah teroksidasi dapat dikenali oleh reseptor scavenger makrofag tetapi tidak dikenali oleh reseptor LDL. Pengambilan LDL yang termodifikasi oleh makrofag melalui reseptor scavenger dapat mengakibatkan akumulasi kolesterol yang selanjutnya tersimpan di dalam bentuk titik-titik lemak, sehingga makrofag berubah menjadi sel-sel menyerupai sel busa (Brown dan Goldstein, 1983).

Antioksidan memberikan perlindungan kepada LDL dari proses oksidasi (Septiana, 2001).

Salah satu jenis tanaman obat yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) yang termasuk di dalam famili Zingiberaceae. Rimpang temulawak mengandung kurkuminoid. Komponen utama kurkuminoid temulawak yaitu kurkumin dan desmetoksikurkumin (Purseglove et al., 1981). Ekstrak etanol-air dari kunyit yang mengandung 10 % kurkumin dapat menghambat oksidasi LDL atau lipoprotein densitas rendah (Ramirez-Tortosa et al., 1998), sehingga diduga temulawak yang mengandung kurkumin dapat menghambat oksidasi LDL sebagai tahap awal dari aterosklerosis.

Kadar dan aktivitas kurkumin dan antioksidan lain yang terekstraksi oleh berbagai pelarut berbagai polaritas, seperti air, etanol, aseton, dan diklorometan mungkin berbeda sehingga penghambatan oksidasi LDL dan akumulasi kolesterol yang dihasilkan berbeda-beda pula. Selain itu, hasil penelitian Septiana (2001) menunjukkan bahwa ekstrak air jahe yang sangat polar lebih mampu menghambat akumulasi kolesterol dari pada ekstrak diklorometan jahe meskipun aktivitas antioksidan ekstrak air lebih kecil dari ekstrak diklorometan jahe. Untuk melihat pengaruh aktivitas ekstrak temulawak terhadap penghambatan akumulasi kolesterol pada makrofag maka berbagai ekstrak

temulawak disuplementasikan pada LDL karena secara *in vivo* di dalam tubuh, temulawak yang dikonsumsi dapat tersuplementasi di dalam LDL.

Selain pelarut, konsentrasi antioksidan diduga juga berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak temulawak tersebut. Esterbauer et al., (1991) melaporkan bahwa suplementasi α -tokoferol sebesar 1000 nmol/ml plasma (BM 430,7) (setara 430 μ g/plasma) terbukti paling mampu menghambat terjadinya oksidasi dibandingkan dengan konsentrasi 125, 250, maupun 500 nmol/ml plasma.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan penghambatan oksidasi LDL dengan perlakuan suplementasi LDL menggunakan berbagai ekstrak temulawak hasil ekstraksi pelarut air, etanol, aseton, dan diklorometan pada konsentrasi yang berbeda. Penelitian juga bertujuan untuk mengetahui pengaruh polaritas ekstrak temulawak terhadap akumulasi kolesterol makrofag.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan baku yang digunakan untuk penelitian adalah rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), yang berumur 10 bulan dari Perkebunan BALITRO Cimanggu, Bogor. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol, diklorometan dan aseton (Merck) dan air.

Isolasi LDL manusia membutuhkan darah lelaki yang sehat, EDTA, NaCl, KBr dan NaHCO_3 . Analisis LDL membutuhkan NaCl, NaHCO_3 , EDTA, TCA, CuSO_4 masing-masing dari Merck, tiobarbituric acid/TBA dan tetra etoksi propana (Sigma) serta air bebas ion (UGM). Isolasi makrofag peritoneal menggunakan mencit Balb-C jantan, tioglikolat, tripan blue, RPMI-1640, serum janin sapi/fetal bovine serum (FBS), N-2-hidroksimetil-piperazine-N-2-etan-sulfonic acid (HEPES), L-glutamin, penisilin-streptomisin, fungizon, dan fosfat bufer salin (PBS). Analisis kadar kolesterol makrofag membutuhkan tetrametil amonium hidroksida-isopropanol (TMH-I), tetrakloroetilen, dan metilbutirat serta bahan-bahan lain untuk analisis protein sel dan kadar malonaldehid (MDA) dari LDL.

Peralatan yang digunakan adalah: blender, parut, pengering beku/*freeze dryer*, timbangan analitik, shaker, evaporator vakum berputar (*rotary vacuum evaporator*) dengan penangas air dan pompa vakum, pendingin dan pembeku, vortex, spektrofotometer UV-vis, mikropipet, penangas air, ultrasentrifus, HPLC (*high performance liquid chromatography*), sentrifus, inkubator CO_2 dan peralatan gelas.

Ekstraksi rimpang temulawak

Mula-mula rimpang temulawak diparut, sebagian diekstraksi menggunakan air. Ekstraksi menggunakan air dilakukan dengan cara menambahkan

1 bagian rimpang yang sudah hancur dengan 5 bagian air, diperas, disaring berturut-turut menggunakan kain saring, kertas saring, dan whatman nomor 42. Temulawak parut dan ekstrak air basah dikeringkan menggunakan pengering beku sehingga diperoleh hancuran temulawak kering dan ekstrak air. Hancuran temulawak kering disaring menggunakan pengayak 40 mesh sehingga dihasilkan bubuk temulawak. Bubuk temulawak diekstraksi menggunakan pelarut etanol, aseton, dan diklorometana menggunakan metode Septiana et al., (2002). Sebanyak 100 gram bubuk temulawak di ekstraksi 3 kali menggunakan pelarut tersebut (masing masing 500 ml) pada suhu kamar. Bubuk temulawak serta ekstrak air, etanol, aseton, dan ekstrak diklorometan diuji kadar antioksidannya dengan menganalisis kadar total fenol (Andarwulan dan Shetty, 1999).

Isolasi LDL

Pada prinsipnya pemisahan LDL dilakukan setelah β very low density lipoprotein (VLDL) yang mempunyai densitas (d) lebih kecil dari 1,006 g/ml dipisahkan menggunakan larutan pemisah densitas yaitu 0,9 % NaCl dan 0,01 % EDTA (b/v) dan ultrasentrifugasi. Kemudian fraksi yang telah dikurangi β VLDLnya diatur densitasnya sampai 1,080 g/ml, dan memisahkan fraksi yang densitasnya (d) lebih besar dari 1,063 g/ml dengan larutan pemisah densitas dan ultrasentrifugasi (Sulistiyani dan St. Clair, 1997).

Uji penghambatan oksidasi LDL

Suplementasi antioksidan dari ekstrak temulawak pada LDL dilakukan dengan melarutkan antioksidan sebanyak 43, 430, dan 4300 μ g/ml LDL dalam 10 μ l pelarut dan kemudian dilakukan inkubasi antioksidan tersebut dengan LDL selama 3 jam, dan selanjutnya dilakukan oksidasi. Oksidasi LDL dilakukan dengan menginkubasi LDL yang telah disuplementasikan dengan antioksidan menggunakan 5 μ M CuSO_4 pada larutan 0,9 % NaCl – 1 mM NaHCO_3 pH 7,4 suhu 37°C selama 90 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan EDTA (konsentrasi akhir 0,1 %) seperti yang dilakukan Suzukawa et al., (1994). Lipid LDL yang teroksidasi diukur dengan menganalisis kadar malonaldehid (Kikuzaki dan Nakatani, 1993). Selain itu dilakukan analisis kadar protein LDL menggunakan metode Lowry (Sulistiyani dan St Clair, 1997).

Rancangan percobaan

Penelitian dilaksanakan secara eksperimental menggunakan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 4 x 3 (Sudjana, 1989). Percobaan diulang 3 kali. Faktor yang dicoba meliputi jenis ekstrak (ekstrak air, etanol, aseton, dan ekstrak diklorometan temulawak) dan konsentrasi ekstrak (43, 430, dan 4300 μ g/ml LDL). Analisis yang dilakukan

adalah kadar malonaldehid dari LDL yang disuplementasikan berbagai ekstrak temulawak. Sebagai data pendukung dilakukan analisis kadar fenol di dalam ekstrak dan kadar protein LDL.

Percobaan akumulasi kolesterol pada makrofag menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor perlakuan jenis ekstrak temulawak (ekstrak air, etanol, aseton, dan ekstrak diklorometan temulawak), kontrol (+), kontrol (-) dan α -tokoferol. Konsentrasi ekstrak temulawak yang disuplementasikan berdasarkan konsentrasi terbaik pada analisis kadar malonaldehid LDL. Percobaan akumulasi kolesterol diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 21 unit percobaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar malonaldehid LDL

Malonaldehid (MDA) merupakan salah satu produk hasil peroksidasi asam lemak tidak jenuh. Perbedaan nilai MDA terkait dengan reaksi oksidasi yang terjadi. Kadar MDA berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan. Kadar MDA yang tinggi menunjukkan aktivitas antioksidan yang rendah begitu juga sebaliknya. Rerata nilai MDA LDL yang disuplementasikan dengan berbagai ekstrak temulawak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan ekstrak temulawak berdasarkan pelarutnya

Sampel	Rerata kadar MDA (nmol MDA/ mg prot)	Pengurangan kadar MDA dari kontrol (+) (%)
Kontrol (-)	64,17	-
Kontrol (+)	90,46	-
Ekstrak air	50,41	44,27
Ekstrak etanol	47,33	47,68
Ekstrak aseton	43,57	51,83
Ekstrak diklorometan	35,10	61,20
α -tokoferol	51,65	42,90

Keterangan : Kontrol (-) : LDL tanpa ekstrak temulawak dan tanpa prooksidan
Kontrol (+) : LDL tanpa ekstrak temulawak, diberi prooksidan CuSO_4
Semua sampel dioksidasi pada 37°C selama 90 menit

Nilai MDA keempat ekstrak temulawak ternyata lebih rendah dari kontrol (+) yaitu LDL yang tidak diberi ekstrak temulawak tetapi diberi prooksidan CuSO_4 dan lebih rendah dari pada α -tokoferol. Hal ini menunjukkan keempatnya berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Ekstrak temulawak yang mengandung senyawa kurkuminoid yaitu kurkumin dan desmetoksikurkumin diduga mampu menghambat peroksidasi lipid tak jenuh ganda yang ada pada LDL. Suroyo (2001) menyatakan

bahwa kurkumin berpotensi menghambat peroksidasi lipid.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa suplementasi ekstrak temulawak pada LDL mengurangi konsentrasi MDA dari LDL yang teroksidasi. Berdasarkan uji terhadap MDA, minuman anggur merah dan jus anggur merah (Miyagi et al., 1997), ekstrak jahe (Septiana, 2001), serta ekstrak etanol-air (hidroalkoholik) dari kunyit yang mengandung 10 % kurkumin (Ramirez-Tortosa et al., 1998) dapat menghambat oksidasi LDL manusia. Seperti halnya pada kunyit, kurkumin merupakan komponen fenolik utama pada temulawak (data tidak ditampilkan).

Penghambatan pembentukan MDA dari LDL teroksidasi (penghambatan oksidasi LDL) oleh ekstrak temulawak sejalan dengan kadar total fenol ekstrak temulawak yang dikandungnya. Hasil penelitian Septiana et al., (2004) menunjukkan bahwa pada umumnya ekstrak zingiberaceae yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi mempunyai kadar total fenol yang tinggi pula. Menurut Gordon (1990) senyawa fenolik berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal lipid, sedangkan radikal bebas yang berasal dari antioksidan senyawa fenol ini lebih stabil daripada radikal bebasnya.

Selain total fenol, aktivitas antioksidan diduga dipengaruhi pula oleh polaritas pelarut yang digunakan untuk mengekstrak. Aktivitas antioksidan ekstrak diklorometan yang lebih tinggi, diduga karena ekstrak diklorometan lebih mudah kontak dengan LDL sehingga lebih melindungi LDL dari oksidasi dibandingkan dengan ekstrak temulawak hasil ekstraksi pelarut yang lain. Substrat LDL yang digunakan bersifat kurang polar, sama dengan diklorometan yang bersifat kurang polar juga sehingga ekstrak diklorometan lebih mampu melindungi LDL dari oksidasi.

Rerata kadar MDA perlakuan konsentrasi ekstrak temulawak 43, 430 dan 4300 $\mu\text{g/ml}$ LDL berturut-turut adalah 50,99; 39,61 dan 41,71 nmol/mg prot (Tabel 2). Pada konsentrasi yang sama (4300 $\mu\text{g/ml}$ LDL), ekstrak temulawak lebih mampu menghambat pembentukan malonaldehid daripada α -tokoferol (41,71 vs 51,65 nmol/ml LDL). Hasil penelitian menunjukkan bahwa komponen fenolik pada minuman anggur merah lebih mampu menghambat LDL teroksidasi CuSO_4 dibandingkan dengan α -tokoferol (Frankel et al., 1993). Penghambatan terhadap malonaldehid dari ekstrak temulawak (Septiana et al., 2004) maupun dari ekstrak kunyit (Jitoe et al., 1992) yang mengandung senyawa kurkuminoid pada asam linoleat, lebih tinggi dari pada α -tokoferol.

Tabel 2. Aktivitas antioksidan ekstrak temulawak berdasarkan konsentrasinya

Sampel	Rerata kadar MDA (nmol MDA/ mg prot)	Pengurangan kadar MDA dari kontrol (%)
Kontrol (-)	64,17	-
Kontrol (+)	90,46	-
43 µg/ml LDL	50,99	43,63
430 µg/ml LDL	39,61	56,21
4300 µg/ml LDL	41,71	53,89

Keterangan : Kontrol (-) : LDL tanpa ekstrak temulawak dan tanpa prooksidan

Kontrol (+) : LDL tanpa ekstrak temulawak, diban prooksidan CuSO_4

Semua sampel dioksidasi pada 37°C selama 90 menit

Penggunaan tingkat konsentrasi ekstrak temulawak berpengaruh nyata terhadap pembentukan malonaldehid. Konsentrasi sebesar 430 µg/ml LDL paling efektif dalam menghambat pembentukan malonaldehid dari pada konsentrasi 43 µg/ml LDL dan 4300 µg/ml LDL. Gordon (1991) mengemukakan bahwa keefektifan fenol sebagai antioksidan memiliki rentang tertentu sehingga dapat terjadi pada konsentrasi yang rendah fenol menjadi kurang efektif berperan sebagai antioksidan dan pada konsentrasi yang tinggi fenol dapat bersifat sebagai prooksidan. Berdasarkan hasil penelitian ini, konsentrasi ekstrak temulawak yang terbaik dipilih untuk uji penghambatan akumulasi kolesterol dalam makrofag yaitu konsentrasi 430 µg/ml LDL.

Akumulasi kolesterol pada makrofag

Dalam uji ini, sel makrofag diinkubasi dengan LDL yang telah disuplementasikan dengan ekstrak temulawak selama 24 jam. Selama inkubasi sel, LDL ditelan oleh sel makrofag dengan mekanisme endositosis melalui reseptor *scavenger* sehingga terjadi akumulasi kolesterol di dalam sel.

Pada uji penghambatan kolesterol di dalam makrofag digunakan kontrol (+) dan kontrol (-) sebagai pembanding dan sebagai antioksidan standar digunakan α -tokoferol. Kontrol (+) adalah sel makrofag yang diinkubasikan dengan LDL yang telah diberi 5 µM CuSO_4 sebagai oksidator tanpa adanya suplementasi ekstrak temulawak. Sedangkan kontrol (-) terdiri dari sel makrofag saja. Kedua kontrol tersebut digunakan untuk melihat ada tidaknya aktivitas antioksidan ekstrak temulawak pada LDL dibandingkan dengan sampel dan

kontrolnya. Nilai rerata akumulasi kolesterol (kolesterol ester) dapat dilihat pada Tabel 3.

Data persentase penghambatan yang diperoleh menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak temulawak pada LDL menurunkan persen penghambatan akumulasi kolesterol ester dibandingkan dengan kontrol (+). Hal ini diduga karena aktivitas antioksidan pada LDL cenderung berpengaruh terhadap akumulasi kolesterol ester pada makrofag. Semakin berkurangnya LDL yang teroksidasi, pengambilan LDL tersebut oleh reseptor pemangsa makrofag akan semakin berkurang sehingga cenderung menghambat akumulasi kolesterol pada makrofag dan pembentukan sel busa seperti yang terjadi pada ekstrak aseton, etanol dan ekstrak air temulawak maupun α tokoferol. Menurut Brown dan Goldstein (1983), sel busa berasal dari makrofag yang mengambil LDL yang telah teroksidasi melalui reseptor pemangsa makrofag tanpa adanya pengaturan arus balik sehingga kolesterol ester akan terakumulasi.

Ekstrak diklorometan mempunyai persentase penghambatan akumulasi kolesterol ester terendah dibandingkan dengan ekstrak temulawak lainnya. Hasil ini mungkin dipengaruhi oleh hidrofobisitas reseptor permukaan makrofag. Kemungkinan reseptor makrofag bersifat hidrofobik, pengurangan hidrofobisitas reseptor makrofag mungkin lebih menghambat pengikatan partikel ke reseptor makrofag (Weinberg, 1999). Ekstrak diklorometana kemungkinan tidak mengurangi hidrofobisitas reseptor makrofag, sehingga kurang menghambat pengambilan LDL teroksidasi ke reseptor makrofag.

Tabel 3. Persentase penghambatan akumulasi kolesterol ester

Sampel	Rerata akumulasi kolesterol ester (µg / µg prot)	Pengurangan akumulasi kolesterol ester dari kontrol (+) (%)
K (+)	45,03	-
K (-)	25,56	-
Ekstrak air	37,08	17,65
Ekstrak etanol	24,27	46,11
Ekstrak aseton	20,26	55
Ekstrak diklorometan	41,33	8,22
α -tokoferol	38,70	14,06

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dipaparkan diatas, dapat diketahui bahwa suplementasi ekstrak temulawak pada LDL mampu melindungi LDL dari proses oksidasi dan cenderung menurunkan persen penghambatan akumulasi kolesterol ester pada makrofag. Dengan demikian, ekstrak temulawak kemungkinan dapat dijadikan sumber antioksidan alami penghambat aterosklerosis.

Banyak penelitian telah dilakukan yang menunjukkan bahwa antioksidan alami memberikan perlindungan terhadap LDL dari proses oksidasi dan menghambat akumulasi kolesterol pada makrofag. Hasil penelitian De Whalley et al., (1990) menunjukkan flavonoid menghambat oksidasi LDL dan menghambat sitotoksitas LDL teroksidasi oleh makrofag. Suplementasi vitamin E (α -tokoferol) pada LDL (Hirano et al., 1997) dan plasma sebelum isolasi LDL (Esterbauer et al., 1991) mampu menghambat oksidasi LDL. Hasil penelitian Suzukawa et al., (1994) menunjukkan bahwa suplementasi vitamin E pada plasma sebelum isolasi LDL, mampu menghambat akumulasi kolesterol ester dan mencegah stimulasi pembentukan kolesterol ester pada makrofag.

KESIMPULAN

Suplementasi berbagai jenis dan konsentrasi ekstrak temulawak pada LDL mempengaruhi penghambatan oksidasi LDL.

Ekstrak diklorometan temulawak paling mampu menghambat oksidasi pada LDL (61,20 %) dibandingkan dengan ekstrak aseton, ekstrak etanol dan ekstrak air yang menghambat oksidasi LDL berturut-turut sebesar 51,83 %, 47,68 % dan 44,27 %.

Penggunaan konsentrasi 430 μ g/ml LDL paling efektif dalam menghambat oksidasi LDL (56,21 %) dibandingkan konsentrasi 43 dan 4300 μ g/ml LDL yang menghambat oksidasi LDL berturut-turut sebesar 43,63 % dan 53,89 %.

Ekstrak temulawak cenderung dapat menurunkan akumulasi kolesterol pada makrofag.

Terdapat hubungan di antara penghambatan akumulasi kolesterol pada makrofag dengan penghambatan oksidasi LDL oleh ekstrak temulawak

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut tentang penghambatan oksidasi LDL dan penghambatan akumulasi kolesterol oleh ekstrak temulawak secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

Andarwulan, N and K. Shetty. 1999. Phenolic Content in Differentiated Tissue Culture of Transformed

and Agrobacterium-Transformed Roots of Anise (*Pimpinella anisum* L). *J Agric Food Chem* , 47 : 1776-1780.

Brown, M. S. and J. L. Goldstein. 1983. Lipoprotein Metabolism in Macrophage. *Annu Rev Biochem* 52:223-261.

De Whalley, C. V., S. M. Rankin, J. R. S. Hoult, W. Jessup and D. S. Leake. 1990. Flavonoid inhibits the Oxidative Modification of Low Density Lipoproteins. *Biochem Pharmacol* 39: 1743-1749.

Esterbauer, H., M. D. Rotheneder., G. Striegl., and G. Waeg. 1991. Role of Vitamin E in Preventing the Oxidation of Low Density Lipoprotein. *J. Clin Nutr* 53: 314S-321S.

Frankel, E. N., J. Kanner, J. B. German, E. Parks and J. E. Kinsella. 1993. Inhibition of Oxidation of Human Low Density Lipoprotein by Phenolic Substance in Red Wine. *Lancet*. 341: 454-457.

Gordon, 1990. The Mechanism of Antioxidant Action *in vitro*. In: B. J. F. Hudson (Ed.), *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science London and New York. Pp. 1-15.

Hirano, R., K. Kondo., T. Imawoto., O., Igarasih and H. Itakura. 1997. Effects of Antioxidant on the Oxidative Susceptibility of Low Density Lipoprotein. *J. Nutr Sci Vitaminol* 13: 435-444.

Jitoe, A., T. Masuda, I.G.P. Tengah, D.N. Suprpta, I.W. Gara, and N. Nakatani. 1992. Antioxidant Activity of Tropical Ginger Extracts and Analysis of The Contained Curcuminoids. *J Agric Food Chem* 40 : 1337-1340

Kikuzaki, H. and N. Nakatani. 1993. Antioxidant Effect of Some Ginger Constituents. *J of Food Sci* 58 (6) : 1407-1410.

Miyagi, Y., K. Miwa and H. Inoue. 1997. Inhibition of Human Low Density Lipoprotein Oxidation by Flavonoids in Red Wine and Grape juice. *Am. J. Cardiology*. 80: 1627-1631.

Purselove, J. W., E. G. Brown, C. L. Green and S. R. J. Robbins. 1981. *Spices Vol II*. Longman Inc, New York.

Ramirez-Tortosa, M.C, C.M. Aguilera, M.A Carrion Gutierrez, A Ramirez Bosca and A. Gill. 1998. Curcumin Ethanol-aqueous Extract Inhibits *In Vitro* Human Low Density Lipoprotein Liperoxidation. Dalam : *Functional Foods . The Consumer, The Products and The Evidence*. 111-115. M. J. Sadler and M. Saltmarsh (Eds). The Royal Society of Chemistry Cambridge.

Septiana, A.T. 2001. Aktivitas Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) dalam Pencegahan Oksidasi

- Lipoprotein Densitas Rendah (LDL) dan Akumulasi Kolesterol pada Makrofag. *Disertasi Program Pasca Sarjana IPB, Bogor.*
- Septiana A.T., D. Muchtadi, dan F.R. Zakaria. 2002.** Aktivitas antioksidan ekstrak diklorometana dan air jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) pada asam linoleat. *Jurnal Teknol dan Industri Pangan XIII (2) : 105-110.*
- Septiana, A.T., H. Dwiyantri, D. Muchtadi, dan F. Zakaria. 2004.** Kajian Antioksidan Zingiberaceae sebagai Penghambat Oksidasi Lipoprotein Densitas Rendah (LDL) dan Akumulasi Kolesterol pada Makrofag. *Laporan Penelitian Hibah Pekerti. Fakultas Pertanian UNSOED.*
- Sudjana. 1989.** *Desain dan Analisis Eksperimen.* Tarsito. Bandung. 412 hal.
- Sulistiyani, and St. Clair. 1997.** Effect of Estradiol on Metabolism of Acetylated Low Density Lipoprotein by Macrophage in Culture. *Atheroscler. Thromb Vasc. Biol.* 17: 1691-1700.
- Suroyo, M. F. 2001.** Pengaruh Penambahan Kurkumin dan Waktu Reoksidasi Terhadap Jumlah Radikal Bebas Pada Proses Reperfusi Jantung Marmut Terisolasi. *Skripsi. FTP IPB. Bogor.*
- Suzukawa, M., M. Abbey, P. Clifton, and P.J. Nestel. 1994.** Effect of Supplementing with Vitamin E on the Uptake of Low Density Lipoprotein and The Stimulation of Cholesteryl Ester Formation in Macrophage. *Atherosclerosis* 110 : 77-86.
- Weinberg, J.B. 1999.** Mononuclear phagocytes. Dalam : *Wintrobe's Clinical Hematology.* Vol 1. Lee, G.R, J. Lukens, J.P. Greer, J. Foester, G.M. Rodgers (eds). Tenth edition. Lippincott Williams and Wilkins. Baltimore.
- WHO. 2001.** *Heart Disease.* <http://www.who.int/>. Diakses 5 Maret 2005.