

# EKSTRAK AIR JAHE (*Zingiber officinale* Roscoe) MENGHAMBAT AKUMULASI KOLESTEROL PADA MAKROFAG

(WATER EXTRACT OF GINGER RHIZOMES (*Zingiber officinale* Roscoe) INHIBITS CHOLESTEROL ACCUMULATION ON MACROPHAGE)

Aisyah Tri Septiana\*)

## ABSTRACT

Water extract of ginger rhizomes has been reported to protect low density lipoprotein (LDL) oxidation. We investigated the effect of these extract enrichment on the prevention of cholesterol accumulation in macrophage. Water extract of ginger rhizomes was supplemented on LDL isolate (2150 µg/ml LDL), oxidized with CuSO<sub>4</sub> and incubated on macrophage culture. These extract also was supplemented on macrophage culture before incubated with LDL and FeCl<sub>2</sub>. The corresponding esterified cholesterol accumulation was analyzed from macrophage culture.

Result showed that water extract of ginger rhizomes supplementation on LDL isolated before CuSO<sub>4</sub> oxidation and on medium macrophage culture before incubation with LDL and FeCl<sub>2</sub> reduced 69,07 % and 43,21 % of esterified cholesterol accumulation from macrophage, respectively. This research has shown that water extract of ginger rhizomes is capable of prevention cholesterol accumulation in macrophage.

**Key words :** Water extract of ginger rhizomes, cholesterol accumulation, macrophage

## PENDAHULUAN

Jahe merupakan jenis tanaman yang telah banyak dibudidayakan di Indonesia. Selain digunakan sebagai bumbu untuk masakan, jahe telah lama dikenal sebagai obat tradisional. Jahe merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang dikenal luas dan mempunyai banyak khasiat bagi kesehatan. Jahe dapat dipakai sebagai obat untuk penyakit batuk (*antitussive*), muntah-muntah (*antiemetic*) dan untuk mengurangi gas dalam lambung (*antiflatulent*) (Omar, 1992). Secara ilmiah ekstrak jahe mampu menghambat proliferasi sel kanker (Agustinisari, 1998). Selain itu, jahe diantaranya diduga berkhasiat untuk mencegah penyakit jantung (Darwis *et al*, 1991).

Salah satu penyebab penyakit kardiovaskular (PKV) adalah penyumbatan pembuluh darah/aterosklerosis. Pencegahan aterosklerosis dapat dilakukan dengan penghambatan oksidasi LDL menggunakan antioksidan (Jacob dan Burri, 1996). Modifikasi LDL melalui oksidasi menghasilkan LDL teroksidasi yang tidak dikenal oleh reseptor LDL tetapi dikenal oleh reseptor *scavenger* pada makrofag (Sparrow *et al*, 1989). Pengambilan LDL teroksidasi oleh makrofag mengakibatkan pembentukan sel busa pada aterosklerosis (Garton, 1994).

Antioksidan merupakan komponen berat molekul kecil yang bereaksi dengan oksidan sehingga menghambat

reaksi oksidasi. Kebanyakan oksidan yang memba-hayakan adalah spesies oksigen reaktif (ROS) seperti radikal bebas dari polusi, debu, maupun diproduksi secara kontinyu pada tubuh manusia sebagai konsekuensi dari proses metabolisme normal. Jika radikal bebas tidak diinaktivasi maka reaksi kimianya dapat merusak makromolekul termasuk LDL (Langseth, 1995).

Ekstrak air jahe memperlihatkan aktivitas antioksidan lebih besar dibanding-kan  $\alpha$  tokoferol. Bentuk paling aktif dari vitamin E yaitu  $\alpha$  tokoferol merupakan antioksidan larut lemak utama pada plasma manusia yang dapat menghambat akumulasi kolesterol pada makrofag (Suzukawa *et al*, 1994). Ekstrak air jahe juga menghambat oksidasi plasma (Susanto, 1998), limfosit (Nurrahman *et al*, 1999), dan LDL (Septiana dan Zakaria, 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak air jahe dalam menghambat akumulasi kolesterol pada makrofag. Pada uji akumulasi kolesterol ini, oksidasi LDL dilakukan oleh CuSO<sub>4</sub> (suplementasi ekstrak jahe pada LDL dan dioksidasi CuSO<sub>4</sub>), dan oksidasi oleh makrofag bersama FeCl<sub>2</sub> (suplementasi ekstrak jahe pada makrofag sebelum diinkubasi LDL dan FeCl<sub>2</sub>). Tanpa adanya FeCl<sub>2</sub>, radikal bebas dari makrofag tidak mampu mengoksidasi LDL (Suzukawa *et al*, 1994).

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah jahe gajah yang berumur 10 bulan, air bebas ion, darah dari responden laki-laki yang sehat, mencit Balb-c, serta reagen-reagen untuk isolasi LDL, makrofag dan analisis kolesterol pada makrofag.

Alat-alat yang digunakan adalah penggiling jahe kering, pengering beku (*freeze dryer*), evaporator vakum berputar (*rotary vacuum evaporator*), ultrasentrifus, pisau pengiris tabung, inkubator CO<sub>2</sub>, *high performance chromatography* (HPLC), dan alat-alat gelas.

### Metode Penelitian

#### Ekstraksi jahe

Ekstraksi jahe menggunakan air dilakukan terhadap bubuk jahe yang dikering bekukan. Setiap 25 gram bubuk jahe membutuhkan 125 ml air. Mula-mula bubuk jahe diekstraksi dengan cara seperti membuat minuman jahe. Untuk memperoleh ekstrak jahe, minuman jahe dikeringbekukan sehingga air yang ada menguap.

\*) Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian UNSOED

### Isolasi makrofag, suplementasi makrofag menggunakan ekstrak air jahe dan inkubasi dengan LDL

Empat hari setelah mencit Balb-c disuntik dengan tioglikolat, mencit dimatikan dengan cara pemutusan tulang belakang. Cairan peritonealnya diambil dan disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit (Mishell dan Shigi, 1980). Bagian pelet diambil dan ditambahkan media RPMI-1640. Jumlah sel yang hidup ( $2 \times 10^6 - 3 \times 10^6$ ) diinkubasi selama 4 jam pada 37°C kelembaban 5 % CO<sub>2</sub>/95 % incubator udara. Bagian sel yang menempel diinkubasi kembali selama 24 jam dengan medium yang sama.

Suplementasi ekstrak air jahe pada makrofag dilakukan dengan cara melakukan inkubasi antara sel makrofag dengan ekstrak air jahe (2150 µg/ml RPMI), dan kemudian dilakukan pencucian menggunakan PBS sebanyak 3 kali.

Sel makrofag yang telah bebas serum diinkubasi kembali dengan LDL (200 µg/ml) pada 37°C selama 48 jam menggunakan media bebas serum (RPMI-1640) dengan penambahan BSA 1 % (w/v) dan 3 µM FeCl<sub>2</sub>. Akhirnya dilakukan analisis kolesterol pada makrofag tersebut.

### Isolasi, suplementasi dan oksidasi LDL

Pada prinsipnya pemisahan LDL dilakukan setelah βVLDL yang mempunyai  $d < 1,006$  g/ml dipisahkan menggunakan larutan pemisah densitas, yaitu 0,9 % NaCl dan 0,01 % EDTA (w/v). Kemudian fraksi yang telah dikurangi βVLDLnya diatur densitanya menggunakan KBr sampai densitasnya 1,080 g/ml, dan memisahkan fraksi yang densitasnya ( $d > 1,063$ ) dengan larutan pemisah densitas (Sulistiyani dan St Clair, 1991).

Suplementasi ekstrak air jahe pada LDL dilakukan dengan menambahkan langsung pada isolat LDL. Sebanyak 2150 µg ekstrak jahe diinkubasi dengan 1 ml LDL selama 3 jam, dan kemudian LDL dioksidasi menggunakan CuSO<sub>4</sub>.

Oksidasi LDL dilakukan dengan menginkubasi LDL yang telah disuplementasi ekstrak air jahe menggunakan 5 µM CuSO<sub>4</sub> pada larutan 0,9 % NaCl-1 mM NaHCO<sub>3</sub> pH 7,4 suhu 37°C selama 90 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan EDTA (konsentrasi akhir 0,1 %) seperti yang dilakukan oleh Suzukawa *et al* (1994) menggunakan α tokoferol.

### Inkubasi LDL teroksidasi dengan makrofag

Inkubasi antara makrofag ( $2 \times 10^6 - 3 \times 10^6$ ) dengan LDL (200 µg/ml) pada 37°C selama 48 jam menggunakan media bebas serum (RPMI-1640) dengan penambahan BSA

1 % (w/v). Akhirnya dilakukan analisis kolesterol pada makrofag tersebut.

### Analisis kadar kolesterol sel

Kadar kolesterol dari sel makrofag diamati setelah sel dicuci dan kemudian lipid sel diekstrak secara langsung dari piring kultur jaringan dengan isopropanol. Sel makrofag dicuci dengan saline bufer fosfat (PBS), kemudian dilakukan inkubasi selama semalam dengan isopropanol sehingga lipid yang ada dalam sel akan terpisah. Lipid berada pada fraksi isopropanol. Kadar kolesterol pada lipid sel tersebut diukur dengan *high performance chromatography* (HPLC). Bagian sel monolayer yang bebas lipid dilarutkan dalam 1 N NaOH dan kemudian dilakukan penentuan kadar protein sel. Hasil pengukuran kandungan kolesterol adalah µg kolesterol/mg protein sel.

### Analisis yang lain

Selain analisis terhadap kadar kolesterol sel makrofag, dilakukan analisis terhadap kadar protein LDL dan kadar protein sel makrofag menggunakan metode Lowry, sebagai data pendukung perhitungan kadar LDL dan kadar kolesterol sel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### **Pengaruh suplementasi ekstrak air jahe pada isolat LDL sebelum oksidasi CuSO<sub>4</sub> terhadap kadar kolesterol makrofag**

Kolesterol makrofag terdiri dari kolesterol bebas dan kolesterol ester. Kolesterol ester merupakan jenis kolesterol yang disimpan dalam makrofag dan kolesterol bebas dapat terbentuk selama metabolisme kolesterol dalam sel makrofag karena adanya aksi enzim *acid lipase* pada liposom (Brown dan Goldstein, 1983) dan *neutral cholesterol esterase* yang dapat menghidrolisis kolesterol ester. Kolesterol bebas dapat berkurang oleh aksi enzim *acyl coenzim A : cholesterol acyltransferase* (ACAT) (Jones *et al*, 2000).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak air jahe pada isolat LDL yang akan diinkubasi bersama makrofag menghambat akumulasi kolesterol ester pada makrofag (Gambar 1). Penghambatan akumulasi kolesterol ester pada makrofag kemungkinan disebabkan aktivitas antioksidan ekstrak air pada LDLnya (Septiana dan Zakaria, 2002, Sugiman, 2000) sehingga menghambat pembentukan malonaldehid pada media pertumbuhan makrofag (data tidak dikemukakan).

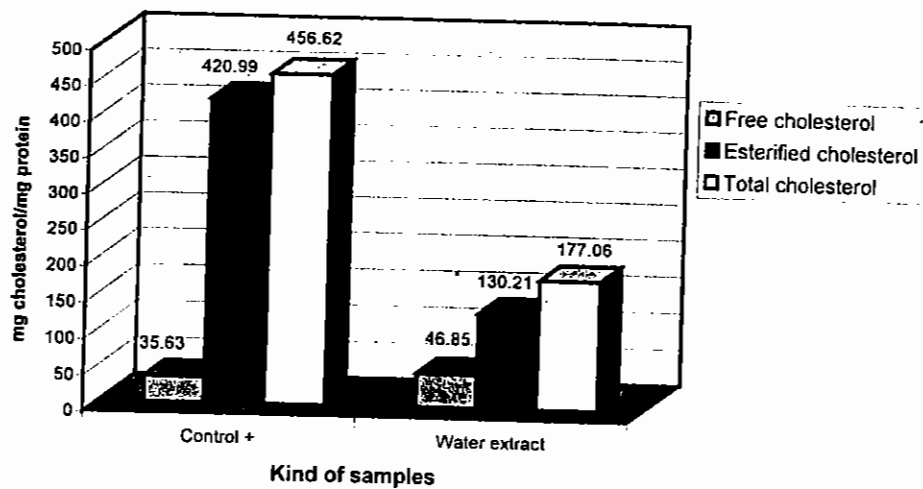


Figure 1. Free cholesterol, esterified cholesterol and total cholesterol content on macrophage culture incubated with LDL isolated (control +) and on macrophage culture incubated with LDL isolated after supplemented water extract of ginger rhizomes

Selain pada jahe, hasil penelitian Suzukawa *et al* (1994) telah menunjukkan bahwa suplementasi  $\alpha$  tokoferol pada LDL mencegah oksidasi LDL yang diperantarai oleh Cu dan menghambat stimulasi pembentukan kolesterol ester pada makrofag. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa inkubasi sel makrofag THP-1 dengan  $17 \beta$  estradiol mengurangi pengambilan LDL manusia dan akumulasi kolesterol pada makrofag (Sulistiyani dan St. Clair, 1997).  $17 \beta$  estradiol dapat menghambat oksidasi LDL (Sutanto, 1996).

Berbeda dengan kadar kolesterol ester, hasil penelitian menunjukkan bahwa kolesterol bebas tidak mengalami perubahan yang terlalu besar oleh perlakuan, yaitu antara 35,63 – 46,85  $\mu\text{g}$  kolesterol/mg protein (Gambar 1). Menurut Brown dan Goldstein (1983), hidrolisis lisosomal dari LDL termodifikasi seperti asetil LDL menstimulir enzim ACAT sehingga kolesterol yang dibebaskan dari lisosom tidak tetap berada sebagai kolesterol bebas tetapi secepatnya diesterifikasi menjadi kolesterol ester. Adanya ACAT menyebabkan kadar kolesterol bebas menjadi berkurang (Jones *et al*, 2000).

Perlakuan menggunakan antioksidan dari ekstrak air jahe maupun  $\alpha$  tokoferol menyebabkan LDL lebih terlindungi dari proses modifikasi oksidatif sehingga LDL tetap *native*. LDL *native* tidak meningkatkan aktivitas ACAT pada makrofag peritoneal mencit (Tabas dan Boykow, 1987), tetapi kolesterol bebas yang dilepaskan dari LDL *native* oleh lisosom dibatasi oleh kadar kolesterol seluler, sehingga tidak menyebabkan akumulasi kolesterol

pada makrofag (Aviram, 1991). Akumulasi kolesterol bebas pada lisosom dari makrofag dapat terjadi apabila terjadi *plaque* aterosklerosis lanjut (Tangirala *et al*, 1993).

#### Pengaruh suplementasi ekstrak air jahe pada media pertumbuhan makrofag sebelum diinkubasi DL dan $\text{FeCl}_2$ terhadap kadar kolesterol makrofag

Selain disuplementasikan pad isolat LDL dan dioksidasi  $\text{CuSO}_4$ , ekstrak air jahe juga ditambahkan pada media pertumbuhan makrofag. Pada sub penelitian ini, ekstrak air jahe ditambahkan pada media pertumbuhan makrofag sebelum diinkubasi LDL dan  $\text{FeCl}_2$ . Menurut Lynch dan Frei (1996),  $\text{FeCl}_2$  dapat mengoksidasi LDL apabila terdapat anoin superoksida. Anion superoksida ini dapat dikeluarkan oleh makrofag yang terstimulasi. Dengan demikian, akumulasi kolesterol ester dari makrofag berasal dari LDL teroksidasi yang diperantarai oleh  $\text{FeCl}_2$  dan makrofag.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi ekstrak air jahe pada media pertumbuhan makrofag yang akan diinkubasi LDL dan  $\text{FeCl}_2$  dapat menghambat akumulasi kolesterol ester sebesar 43,21 % (Gambar 2). Penghambatan akumulasi kolesterol ester pada makrofag ini kemungkinan disebabkan penghambatan pembentukan malonaldehid pada media pertumbuhan makrofag (data tidak dikemukakan).

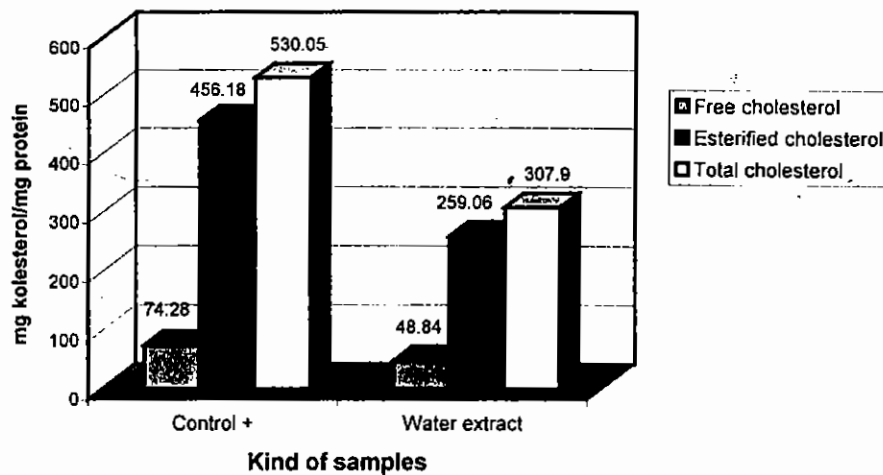


Figure 2. Free cholesterol, esterified cholesterol and total cholesterol content on macrophage culture incubated with LDL isolated (control +) and on macrophage culture supplemented water extract of ginger rhizomes incubated with LDL isolated

Selain dipengaruhi aktivitas antioksidan, akumulasi kolesterol ester pada makrofag mungkin dipengaruhi hidrofobitas reseptor permukaan makrofag. Menurut Weinberg (1999), bulatan polistiren (lateks) merupakan contoh partikel yang mudah difagosit oleh fagosit mononuklear termasuk makrofag peritoneal tanpa membutuhkan *opsonin*. Lateks mempunyai sifat hidrofobik sehingga kemungkinan reseptor makrofag bersifat hidrofobik. Pengurangan hidrofobitas reseptor makrofag mungkin lebih menghambat pengikatan partikel ke reseptor makrofag. Hasil penelitian Radiati (2001) menunjukkan bahwa penambahan ekstrak air jahe pada bakteri hidrofobik kuat seperti *Salmonella typhimurium* dan *Vibrio cholerae* lebih menghambat hidrofobitas bakteri tersebut dibandingkan penambahan ekstrak diklorometan jahe. Sejalan dengan penelitian tersebut, mungkin penambahan ekstrak air jahe pada media pertumbuhan makrofag lebih mengurangi hidrofobitas reseptor permukaan makrofag sehingga lebih menghambat pengambilan LDL atau LDL teroksidasi dan lebih menghambat akumulasi kolesterol pada makrofag.

### KESIMPULAN

Suplementasi ekstrak air jahe pada isolat LDL yang diinkubasi makrofag dapat menghambat akumulasi kolesterol ester makrofag sebesar 69,07 % (420,99 menjadi 130,21 µg kolesterol/mg protein), dan suplementasi ekstrak air jahe pada media pertumbuhan makrofag yang akan diinkubasi LDL dan FeCl<sub>2</sub> dapat menghambat akumulasi kolesterol ester sebesar 43,21 % (456,18 menjadi 259,06 µg kolesterol/mg protein). Dengan demikian, suplementasi ekstrak air jahe pada LDL maupun pada sel makrofag dapat menghambat akumulasi kolesterol ester.

Dibandingkan perubahan kadar kolesterol ester, perubahan kadar kolesterol bebas lebih kecil yaitu 35,63 menjadi 46,85 µg kolesterol/mg protein pada perlakuan suplementasi ekstrak air jahe pada isolat LDL.

### DAFTAR PUSTAKA

- Agustinisari. 1998. Pengaruh Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) Segar dan Bertunas terhadap Proliferasi Beberapa Alur Sel Kanker dan Normal. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Aviram, M. 1991. Effect of lipoproteins and platelets on macrophage cholesterol metabolism. Dalam : Blood Cell Biochemistry Volume 2 : Megakaryocytes, Platelets, acrophages, and Eosinophil. Harris, J.R. (ed). Plenum ress, New York.
- Brown, M.S. dan J.L. Goldstein. 1983. Lipoprotein metabolism in macrophage. *Annu. Rev. Biochem.* 52 : 223-261.
- Darwis, S.N., M. Indo, dan S. Hasiyah. 1991. Tumbuhan Obat Famili Zingiberaceae. Pusat Penelitian Pengembangan Tanaman Industri, Bogor.
- Garton, F.R.S. 1994. Unsaturated Fatty Acids : Nutritional and Physiological Significance. Chapman and Hall, London.
- Jacob, R.A. dan B.J. Burri. 1996. Oxidative damage and defence. *Am. J. Clin. Nutr.* 63 (6) : 985 S-990 S.
- Jones, N.L., J.W. Reagen, dan M.C. Willington. 2000. The pathogenesis of foam cell formation : Modified LDL stimulates uptake of co-incubated LDL via macropinocytosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc.Biol.* 20 : 773-781.
- Langseth, L. 1995. Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention. ILSI Europe, Belgium.
- Lynch, S.M. dan B. Frei. 1996. Mechanism of metal ion dependent oxidation of human low density lipoprotein. *J. Nutr.* 126 : 1063 S- 1066 S.
- Mishell, B.B. dan S.M. Shigi. 1980. Selected Methods in Cellular Immunology. WH Feeman and Company, New York.
- Nurrahman, F. Zakaria, D. Sayuti, dan Sanjaya. 1999. Pengaruh konsumsi sari jahe terhadap perlindungan limfosit dari stress oksidatif pada mahasiswa pondok pesantren Ulil Al-Baab. Prosiding PATPI, Oktober 1999, Jakarta.

- Omar, M.M. 1992. Phenolic compounds in botanical extract used in foods, cosmetic and pharmaceutical. Dalam : Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II., Antioxidants and Cancer Prevention. Huang, M.T., C.T. Ho. And C.Y. ee (Eds). American Chemical Society, Washington.
- Radiati, L.E. 2001. Penghambatan dan Penekanan Virulensi Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) terhadap Bakteri Patogen. Seminar Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Septiana, A.T. dan F.R. Zakaria, 2002. Penghambatan oksidasi LDL oleh ekstrak air jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) secara in vitro. Agritech, 22, 17-21.
- Sparrow, C.P., S. Parthasarathy, dan D. Steinberg. 1989. A macrophage receptor that recognizes oxidized low density lipoprotein but not acetylated low density lipoprotein. J. Biol. Chem. 264 (5) : 2599-2604.
- Sugiman. 2000. Pengaruh sari jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) dalam menghambat oksidasi LDL plasma darah pada mahasiswa. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Sulistiyan, dan R.W. St. Cair. 1991. The method of isolation of primary cells and their statement of LDL receptors on pigeon and chicken embryo cells in culture. Atherosclerosis 91 : 123-135.
- Sulistiyan, dan R.W. St. Cair. 1997. Effect of estradiol on metabolism of acetylated low density lipoprotein by macrophage in culture. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 17 : 1691-1700.
- Sutanto, J. 1996. Pengaruh Isoflavon pada Resistensi Lipoprotein Berdensitas Rendah (LDL) terhadap Oksidasi Kimiawi. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bógor.
- Suzukawa, M., M. Abbey, P. Clifton, dan 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.
- Tabas, I., dan G.C. Boykow. 1987. Protein synthesis inhibition in mouse peritoneal macrophages results in increased acyl coenzyme A : Cholesterol acyl transferase activity and cholesteryl ester accumulation in the peresence of native low density lipoprotein. J. Biol. Chem. 262 : 12175-12181.
- Tangirala, R.K., F.H. Mahlberg, J.M. Glick, W.G. Jerome, dan G.H. Rothblat. 1983. Lysosomal accumulation of unesterified cholesterol in model macrophage foam cells. J. Biol. Chem. 268 (13) : 9653-9660.
- Weinberg, J.B. 1999. Mononuclear phagocytes. Dalam : Wintrobe's Clinical Hematology Volume 1. Lee, G.R., J. Lukens, J.P. Greer, J. Foerster, G.M. Rodgers (eds). Tenth edition. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.