

**ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF JAHE (*Zingiber officinale*)  
YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA STRESS  
OKSIDASI YANG DIINDUKSI OLEH TIMBAL ( $Pb^{2+}$ )**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ALFIATUN HASANAH**  
NIM. 12620109



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2018**

**ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF JAHE (*Zingiber officinale*)  
YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA STRESS  
OKSIDASI YANG DIINDUKSI OLEH TIMBAL (Pb<sup>2+</sup>)**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:  
ALFIATUN HASANAH  
NIM. 12620109**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2018**

**ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF JAHE (*Zingiber officinale*)  
YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA STRESS  
OKSIDASI YANG DIINDUKSI OLEH TIMBAL (Pb<sup>2+</sup>)**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
ALFIATUN HASANAH  
NIM. 12620109**

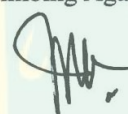
Telah Diperiksa dan Disetujui:  
Tanggal: 16 Januari 2018

Pembimbing Biologi,



Kholifah Holil, M. Si  
NIP. 19751106 200912 2 002

Pembimbing Agama,

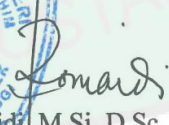


Umaiatus Syarifah, M.A  
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi







  
Romaidi, M.Si, D.Sc  
NIP. 19810201 200901 1 019

**ANALISIS INTERAKSI SENYAWA AKTIF JAHE (*Zingiber officinale*)  
YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA STRESS  
OKSIDASI YANG DIINDUKSI OLEH TIMBAL (Pb<sup>2+</sup>)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ALFIATUN HASANAH**  
NIM. 12620109

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 16 Januari 2018

Penguji Utama	<u>Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.</u> NIP. 19710919 200003 2 001	
Ketua Penguji	<u>Didik Wahyudi, M.Si.</u> NIDT. 19860102 20160801 1 059	
Sekretaris Penguji	<u>Kholifah Holil, M.Si.</u> NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji	<u>Umaiatus Syarifah, M.A.</u> NIP. 19820925 200901 2 005	



Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi

  
**Romaidi, M.Si., D.Sc**

NIP. 19810201 200901 1 019

**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alfiatun Hasanah

NIM : 12620109

Fakultas / Jurusan : Analisis Interaksi Senyawa Aktif Jahe (*Zingiber officinale*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan pada Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal ( $Pb^{2+}$ )

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 10 Januari 2018

Yang Membuat Pernyataan,



ALFIATUN HASANAH

NIM. 12620109

# MOTTO

أَنَا عِنْدَ ظَنِّ عَبْدِي بِهِ

**Sesungguhnya Aku  
(ALLAH) adalah apa yang  
diprasangkakan hambaKu  
( al hadits)**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim..

Karya ini penulis persembahkan kepada:

Kedua Orang Tua Tercinta, Bapak Abdul Kadir dan Ibu Silfiati. Terimakasih untuk cinta dan doamu yang selalu pagi.

Mbak dan Mas serta keponakan kecilku yang lucu. Terimakasih sudah menjadi motivasiku dan membentuk cara pandangku terhadap kehidupan.

Adik terkasih, Elmiatun Nafiah. Terima kasih atas motivasi dan semangat yang telah diberikan. Semoga karya kecil ini bisa lebih memacu studimu. Selesaikan studimu lebih cepat dan lebih baik dari ku.



## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Wr. Wb.*

Alhamdulillahirobbil ‘alamiin, puji syukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga skripsi dengan judul “Analisis Interaksi Senyawa aktif jahe (*Zingiber officinale*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan pada Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal ( $Pb^{2+}$ )” ini dapat terselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Kholifah Holil, M.Si selaku pembimbing yang dengan penuh keikhlasan dan kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Umayyatus Syarifah, M.A selaku pembimbing agama yang dengan senyum kesabaran telah membimbing dan mengarahkan skripsi ini pada kajian al-qur’an dan as-sunnah.
6. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si dan Didik Wahyudi, M.Si. yang telah banyak memberikan saran dan evaluasi pada penelitian ini.
7. Seluruh dosen, staf dan administrasi dan laboran Jurusan Biologi yang telah banyak membantu penyusunan skripsi ini.
8. Ayahanda tercinta Bapak Abd. Kadir, S.Pd. SD. dan Ibunda Silfiati yang dengan penuh kasih sayang dan kesabaran telah memberikan segala

bentuk dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan studi sampai penulisan skripsi ini.

9. Ibu Fitriyah, M.Si selaku konsultan bioinformatika yang telah banyak membantu memberikan saran dan dukungan terkait teknik penelitian.
10. Didik Huswo Utomo, M.Si, selaku konsultan dan tutor bioinformatika yang telah bersedia bersabar mengajari peneliti dari awal hingga akhir.
11. Aida Fitria, S.Si, selaku partner penelitian yang selalu mau direpotkan dan menemani belajar bioinformatika
12. Mbak Fitria Nurul Muthmainnah, S.Si selaku sumber jurnal berbayar, tidak pernah mengeluh berapapun link jurnal yang harus didownload.
13. Teman-teman Biologi angkatan 2012 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat untuk membawa khasanah ilmu pengetahuan, khususnya di bidang pengembangan biologi molekuler.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Malang, 10 Januari 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGAJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN .....</b>	<b>v</b>
<b>MOTTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvi</b>
<b>ABSTRAK BAHASA ARAB .....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	6
1.3. Tujuan Penelitian .....	7
1.4. Manfaat Penelitian .....	7
1.5. Batasan Masalah .....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>10</b>
2.1. Timbal .....	10
2.1.1. Karakteristik dan Sifat Timbal .....	10
2.1.2. Kegunaan Timbal .....	11
2.1.3. Dampak Timbal bagi Kesehatan Manusia .....	12
2.2. Patofisiologi Keracunan Timbal .....	14
2.2.1. Absorpsi dan Sirkulasi Timbal .....	14
2.2.2. Deposisi Timbal .....	15
2.2.3. Metabolisme dan Eksresi Timbal .....	15
2.3. Stress Oksidasi .....	16
2.3.1. Reactive Oxygen Species (ROS) .....	16
2.3.2. Stress Oksidasi dan Mekanisme Pertahanan Antioksidan .....	18
2.4. Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal .....	20
2.4.1. Pembentukan ROS oleh Timbal .....	21
2.4.2. Penurunan Fungsi Antioksidan oleh Timbal .....	24
2.5. Jahe .....	26
2.5.1. Deskripsi Umum .....	26
2.5.2. Aktivitas Biologis dan Kandungan Antioksidan Jahe .....	28

2.6. Jaringan Interaksi Protein dan Senyawa .....	30
2.7. Sumber Informasi Database.....	31
2.7.1. ChemSpider.....	31
2.7.2. KNApSAcK-3D .....	31
2.8. Perangkat Lunak .....	31
2.8.1. PASS <i>Online</i> .....	31
2.8.2. SwissTarget Prediction .....	32
2.8.3. Search Tool for Interacting Chemical (STITCH) .....	32
2.8.4. STRING .....	33
2.8.5. Cytoscape .....	34
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>36</b>
3.1. Jenis Penelitian .....	36
3.2. Waktu dan Tempat.....	36
3.3. Alat dan Bahan .....	36
3.3.1. Alat.....	36
3.3.2. Bahan .....	37
3.4. Prosedur Penelitian .....	37
3.4.1. Pengunduhan Metabolit Sekunder Jahe ( <i>Zingiber officinale</i> ).....	37
3.4.2. Uji PASS ( <i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i> ).....	37
3.4.3. Prediksi Protein Target Menggunakan SwissTarget Prediction.....	38
3.4.4. Desain Jaringan Interaksi Protein.....	38
3.4.5. Visualisasi dan Analisis Data Menggunakan Cytoscape .....	38
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>39</b>
4.1. Pengambilan Data dan Analisis Potensi Jahe sebagai Antioksidan melalui Mekanisme sebagai Penangkal Radikal Bebas .....	39
4.2. Prediksi dan Analisis Protein Target dari Senyawa Aktif Jahe.....	41
4.3. Mekanisme Senyawa Aktif Jahe sebagai Antioksidan pada Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal .....	44
4.3.1. Jaringan Interaksi Protein dan Senyawa .....	44
4.3.2. Analisis Topologi Protein dan Analisis Fungsional .....	45
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>54</b>
5.1. Kesimpulan .....	54
5.2. Saran.....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>62</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema Organ yang Terkena Dampak Keracunan Timbal .....	13
Gambar 2.2 Struktur ROS.....	16
Gambar 2.3 Skema Pembentukan ROS .....	17
Gambar 2.4 Mekanisme Stress Oksidasi di dalam Sel Akibat Timbal.....	21
Gambar 2.5 Pengaruh Timbal terhadap Biosintesis Heme .....	22
Gambar 2.6 Mekanisme Kerusakan Oksidatif Sel yang Diinduksi oleh Timbal.....	23
Gambar 2.7 Pengaruh Timbal terhadap Metabolisme Glutation .....	25
Gambar 2.8 Tanaman Rimpang Jahe .....	27
Gambar 4.1 Grafik Perbedaan Jumlah Senyawa Sebelum dan Sesudah Skrining menggunakan PASS .....	39
Gambar 4.2 Visualisasi <i>Raw Data</i> Interaksi Protein dan Senyawa pada Cytoscape.....	44
Gambar 4.3 Hasil Analisa Topologi Protein berdasarkan <i>Degree</i> dan <i>Betweenness Centrality</i> .....	45
Gambar 4.4 Interaksi Senyawa Senyawa aktif jahe dengan Timbal Melalui Katalase.....	47
Gambar 4.5 Jumlah Protein yang Terlibat dalam Tiap Parameter.....	49
Gambar 4.6 Jenis-Jenis Protein yang Terlibat dalam Aktivitas Biologis terkait Stress Oksidasi.....	50

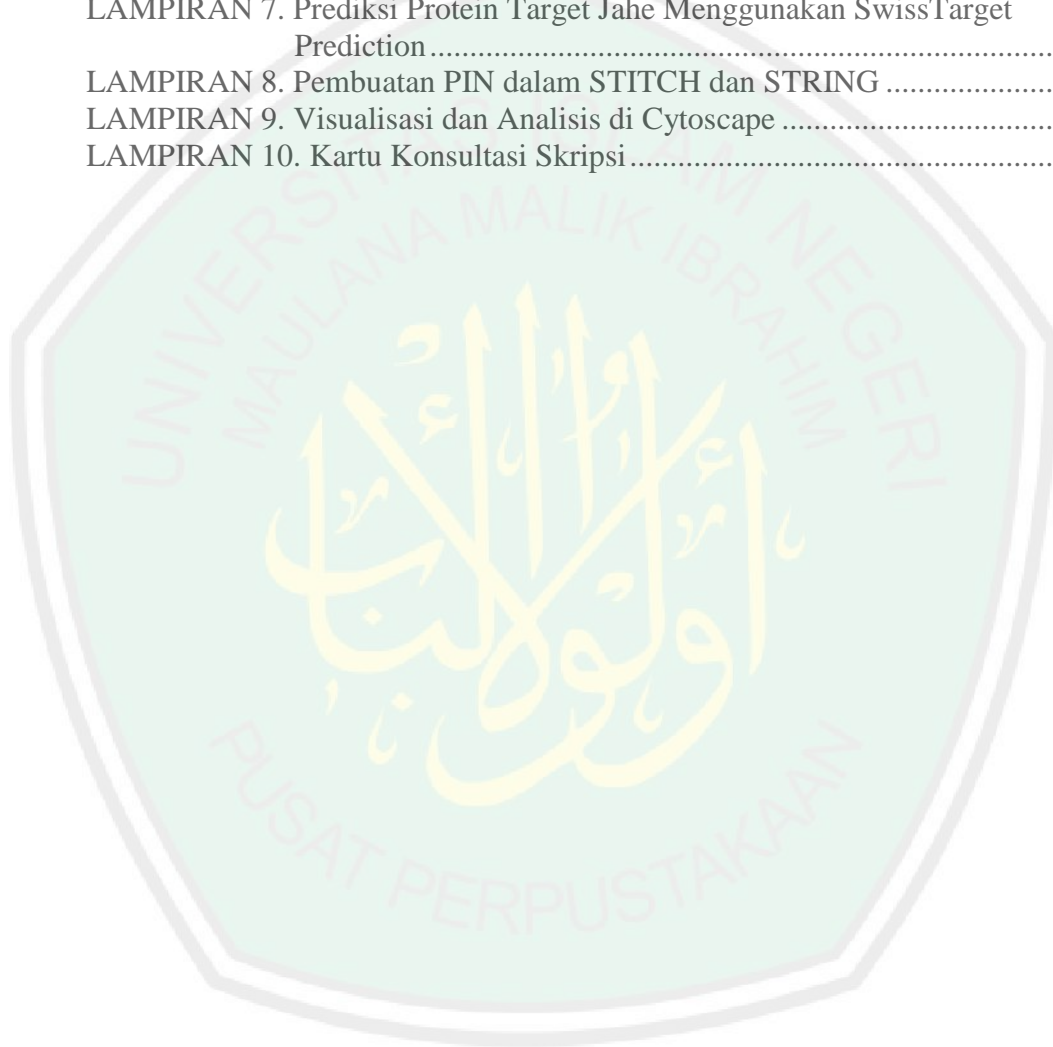
## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis-Jenis Antioksidan dan Fungsinya .....	20
Tabel 4.1 Daftar Seyawa Aktif Jahe dan Nilai Pa .....	40
Tabel 4.2 Nilai Degree dan Betweenness Centrality .....	46



## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Kerangka Penelitian .....	62
LAMPIRAN 2. Daftar Metabolit Hasil KNApSAcK.....	63
LAMPIRAN 3. Hasil PASS Prediction .....	66
LAMPIRAN 4. Hasil SwissTarget Prediction .....	68
LAMPIRAN 5. Pengunduhan Senyawa Senyawa aktif jahe .....	75
LAMPIRAN 6. Prediksi Potensi Menggunakan PASS <i>Online</i> .....	78
LAMPIRAN 7. Prediksi Protein Target Jahe Menggunakan SwissTarget Prediction .....	80
LAMPIRAN 8. Pembuatan PIN dalam STITCH dan STRING .....	81
LAMPIRAN 9. Visualisasi dan Analisis di Cytoscape .....	84
LAMPIRAN 10. Kartu Konsultasi Skripsi.....	91



## ABSTRAK

**Hasanah, Alfiatun. 2018. Analisis Interaksi Senyawa aktif jahe (*Zingiber officinale*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan pada Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal ( $Pb^{2+}$ ). Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M.Si; Pembimbing Agama: Umaiyyatus Syarifah, MA.**

---

Kata Kunci: Senyawa aktif jahe, Interaksi Protein dan Senyawa, Antioksidan, Stress Oksidasi, Timbal

Timbal adalah salah satu logam berat yang menyebabkan keracunan dan banyak permasalahan kesehatan. Keracunan timbal terutama disebabkan oleh stress oksidasi lewat inhibisi sintesis heme. Dalam hal ini, antioksidan eksogen dibutuhkan untuk menangkal ROS yang berlebih dan membantu fungsi antioksidan alami tubuh. Jahe telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dalam stress oksidasi yang diinduksi timbal namun mekanismenya belum diketahui. Untuk mengetahui jalur mekanisme senyawa aktif jahe dalam menurunkan stress oksidasi akibat timbal, peneliti menggunakan pendekatan *in silico* dengan menginteraksikan protein dan senyawa jahe dalam suatu jaringan interaksi protein dan senyawa.

Desain jaringan interaksi protein dan senyawa dilakukan menggunakan aplikasi STITCH dan STRING. Senyawa senyawa aktif jahe yang berpotensi antioksidan diinteraksikan dengan protein targetnya, protein pembawa, serta antioksidan alami tubuh. Hasil interaksi lalu divisualisasikan di perangkat Cytoscape Ver. 3.5.1. analisis topologi dan fungsional dilakukan untuk mengetahui protein kunci beserta aktivitas biologis yang dimiliki oleh protein-protein terlibat.

Hasil visualisasi dan analisis menunjukkan bahwa senyawa aktif jahe berperan secara tidak langsung. Mekanisme ini terjadi melalui protein target yang berinteraksi dengan protein kunci dalam jaringan interaksi protein dan senyawa pada stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal sehingga diharapkan jahe dapat mengaktifasi protein-protein tersebut dan meningkatkan ekspresinya. Senyawa jahe yang memiliki peran paling banyak berdasarkan targetnya adalah senyawa flavonoid dan turunan gingerol.

## ABSTRACT

**Hasanah, Alfiatun. 2018. Interaksi Analysis of Ginger (*Zingiber officinale*) Extract as Potential Antioioxidant in Lead (Pb<sup>2+</sup>) Induced Oxidative Stress.** Undergraduate Thesis of Biology Department Faculty of Science and Technology State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang. Biology Advisor: Kholifah Holil, M.Si; Religion Advisor: Umaiatus Syarifah, MA.

---

Keyword: Ginger extract, Protein-compound Interaction, Antioxidant, Oxidative Stress, Lead

Lead is one of toxic heavy metal which often leads to various health problem. Lead toxicity mainly caused by oxidative stress through inhibition of heme biosynthesis. In this case, exogen antioxidants are highly needed to eradicate over-produced ROS and maintain the function of natural antioxidants. Many studies have proven that ginger showed antioxidant activity in lead-induced oxidative stress but the molecular mechanism still remains unclear. To find out how ginger active compounds ameliorate lead-induced oxidative stress in molecular level, here we used *in silico* approach by interacting proteins and ginger compounds in a protein interaction network (PIN).

PIN design has been done using STITCH and STRING web-based application. Potential antioxidants from ginger compound were interacted with its target proteins, lead-binding protein (ALAD), and natural antioxidants. The result then visualized using Cytoscape ver. 3.5.1. Topological and functional analysis were done to determine key protein along with biological activities of involved proteins.

Visualization and analysis result showed that ginger bioactives play an indirect role. This mechanism occurred through ginger target proteins that interact with key protein of protein-compound interaction network in lead-induced toxicity. Thus, ginger bioactives are expected to activate those proteins and enhance their expression. Ginger compounds with major role (based on number of target) are considered as the most effective among others which are flavonoids and gingerol derivatives.

## الملخص

حسنة، ألفية. 2018. تحليل تفاعل المستحضر الحي للزنجيل المحتمل مكافحة لتأكسد على إجهاد الأكسدة التي يسببها بلومبوم. البحث العلمي. قسم بيولوجيا. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مالانق الحكومية الإسلامية مولانا مالك إبراهيم.

المشرف في البيولوجيا : خليفة خليل الماجستير

المشرف في علم الدين : أماية الشريفة الماجستير

الكلمات الرئيسية : المستحضر الحي للزنجيل، تفاعل بروتين والمستحضر، مكافحة لتأكسد، إجهاد الأكسدة، بلومبوم.

بلومبوم من إحدى المعادن الثقيلة التي تسبب إلى التسمم وكثرة المشاكل في الصحة. التسمم من بلومبوم يسبب به على الأولى إجهاد الأكسدة عن طريق تثبيط تخليق الهيم. وفي هذا الحال، مكافحة لتأكسد جارجي محتاجة به لدرء الروس المفرطة ومساعدة دور مكافحة لتأكسد الجسم الطبيعي. قد وثق الزنجيل على أنه له عمل مكافحة لتأكسد في إجهاد الأكسدة التي يسبب بها بلومبوم، لكن تقنياتها مجهولة. ولمعرفة مسار تقنية المستحضر للزنجيل في انخفاض إجهاد الأكسدة المسبب به بلومبوم، استخدمت الباحثة "في السيليكو" بقاء بروتين والمستحضر للزنجيل في شبكة معينة لتفاعل بروتين والمستحضر للزنجيل.

قيم تخطيط شبكة تفاعل بروتين والمستحضر باستخدام التطبيق "الغزة" و"الخيطة". المستحضر الحي للزنجيل التي له إمكانية مكافحة لتأكسد تتكامل بالبروتين المستهدف، والبروتين الناقل، ومكافحة لتأكسد الجسم الطبيعي. ثم تصوّر نتيجة التفاعلات في الأجهزة "سيتوسجاف" بإصدارات 3.5.1. وقيح تحليل طوفولوجيا وظيفية لمعرفة البروتين الرئيس مع العمل البيولوجي الذي وجودهما للبروتينات المعنية.

نتيجة التصور والتحليل تدل على أن المستحضر الحي للزنجيل له دور غير مباشر. تحدث هذه التقنية عن طريق تفاعل بين البروتين المستهدف والبروتين الرئيس في شبكة تفاعل البروتين والمستحضر في إجهاد الأكسدة الذي يسبب به بلومبوم حتى يكون زنجيل قادرا على تنشيط تلك البروتينات وعلى ترقية مظهرها. المستحضر الحي للزنجيل الذي له أكثر الأدوار مستندا على هدفها هو المستحضر فلافونويد ومشتقات جينجيرول.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Timbal (Pb) merupakan logam berat beracun yang mengakibatkan gangguan kesehatan bagi manusia. Timbal telah banyak digunakan dalam berbagai industri antara lain industri cat dan pewarna, keramik, plastik, alat-alat dapur, pipa air ledeng, baterai, bahan-bahan bangunan, komponen-komponen elektronik, amunisi, penutup kabel, mainan anak, industri obat, kosmetik, dan lain-lain (Flora *et.al.*, 2012; Garza *et.al.*, 2006).

Selain di kawasan industri, timbal juga banyak terakumulasi di tanah, udara, dan air minum sehingga meningkatkan potensi polusi timbal terhadap manusia. Padahal, timbal baik organik maupun anorganik diketahui tidak memiliki fungsi biologis apapun di dalam tubuh dan dikenali sebagai antigen oleh sistem pertahanan tubuh. Selain itu, tidak ada penelitian yang menyebutkan adanya kadar aman timbal di dalam tubuh (WHO, 2010; Flora *et.al.*, 2012; Carocci *et.al.*, 2016).

Timbal masuk ke dalam tubuh terutama melalui saluran pernafasan dan pencernaan. 30-40% timbal masuk ke sistem peredaran darah dan 99% dari timbal yang masuk ke peredaran darah ini berikatan dengan sel darah merah selama kurang lebih 30-35 hari sementara sisanya ditemukan di plasma dan serum. Timbal menyebar ke berbagai jaringan lunak seperti liver, korteks ginjal, paru-paru, otak, aorta, limpa, gigi, dan tulang pada 4-6 minggu berikutnya (Patrick, 2006; Carocci *et.al.*, 2016).

Timbal dapat menyebabkan keracunan di dalam tubuh melalui dua cara, yaitu meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species / ROS*) sekaligus menurunkan aktivitas enzim antioksidan tubuh. Kedua mekanisme ini berakhir pada kondisi stress oksidasi, yaitu suatu kondisi dimana suplai antioksidan tubuh tidak cukup untuk menetralkan berbagai macam radikal bebas yang terbentuk. Sel yang mengalami stress oksidasi menunjukkan berbagai gangguan akibat oksidasi pada berbagai komponen seperti peroksidasi lipid yang dapat mengganggu integritas membran, oksidasi protein, dan oksidasi asam nukleat seperti DNA dan RNA. Stress oksidasi diperkirakan sebagai model yang paling berperan dalam mekanisme molekuler keracunan timbal (Ahamed & Siddiqui, 2007; Bandyopadhyay *et.al.*, 2014).

Target utama stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal adalah jalur sintesis heme. Timbal mempengaruhi jalur sintesis heme dengan berbagai cara yaitu menghambat pembentukan heme dan hemoglobin dan mengubah morfologi dan pertahanan sel darah merah. Penurunan produksi heme ini akan berdampak pada berbagai sistem organ seperti eritropoietik, kardiovaskular, pernafasan, saraf dan otak, endokrin, ginjal, hati, serta reproduksi (Patrick, 2006; Sharma *et.al.*, 2011).

Salah satu enzim yang memiliki peran penting dalam jalur sintesis heme adalah enzim asam delta-aminolevulinat dehidratase ( *$\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase/ALAD*). ALAD merupakan enzim sitosol dengan gugus sulfidril (SH) fungsional yang paling rentan dan sensitif terhadap timbal karena dapat berikatan langsung dengan timbal dan mengganggu aktivitasnya. Selain itu,

ALAD juga berikatan dengan ion seng (Zn) di gugus SH. Ion Zn bertindak sebagai kofaktor bagi ALAD. Timbal memiliki kemampuan untuk menggantikan ion Zn dan mengikat ALAD di gugus SH yang dimilikinya dan menghambat aktivitasnya. Selain itu, akibat sensitivitasnya terhadap timbal ALAD juga bertindak sebagai protein pembawa bagi timbal di dalam darah (Fowler, 1998; Patrick, 2006; Garza, 2006).

Kegagalan fungsi normal ALAD untuk mengubah dua molekul  $\delta$ -aminolevulinic acid (ALA) menjadi porfobilinogen dapat menurunkan pembentukan heme. Hal ini selanjutnya merangsang ALA sintetase, enzim pertama dari proses biosintesis heme melalui inhibisi umpan balik negatif. Akibatnya produksi porfobilinogen menurun dan akumulasi ALA di darah dan urin meningkat sehingga menginduksi pembentukan *reactive oxygen species* atau ROS seperti superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikal ( $OH^{\cdot}$ ), dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) lalu memicu terjadinya peroksidasi lipid dan stress oksidasi (Flora *et.al.*, 2008; Patra *et.al.*, 2011).

Di sisi lain, timbal juga menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti glutathion dan senyawa turunannya (glutathion reduktase/GSH, glutathion disulfida/GSSG, dan glutathion peroksidase/GPx), *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), dan *glucose-6-phosphatase* (G6PD). Enzim-enzim antioksidan ini berperan penting dalam tubuh untuk menangkal kelebihan senyawa radikal bebas, terutama glutathion dan turunannya. Cara timbal mempengaruhi metabolisme enzim-enzim antioksidan ini serupa dengan mekanismenya dalam mengganggu aktivitas ALAD. Kompleks sulfidril pada enzim-enzim tersebut juga

berikatan secara langsung dengan logam toksik yang mempunyai afinitas tinggi terhadap kompleks tersebut seperti timbal. Pengikatan timbal pada kompleks sulfidril dapat secara efektif menonaktifkan molekul enzim antioksidan sehingga menghambat kerjanya sebagai antioksidan. Peningkatan ROS dan penurunan aktivitas antioksidan ini pada akhirnya berujung pada kondisi stres oksidasi (Patrick, 2006; Patra *et.al.*, 2011).

Untuk mengatasi ketidakmampuan antioksidan alami tubuh dalam menangkal radikal bebas yang terbentuk, antioksidan tambahan (antioksidan eksogen) diperlukan agar efek keracunan akibat timbal dapat ditekan. Beberapa penelitian telah melaporkan penggunaan antioksidan untuk memperbaiki kerusakan oksidatif pada keracunan timbal yang terbukti efektif, di antaranya adalah taurin (Gürer *et.al.*, 2001), asam askorbat dan tiamin (Wang *et.al.*, 2007), kuersetin dan seng (Saleh, 2014), glisin (Contreras *et.al.*, 2011), dan L-arginin (Tkachenko & Kurhalyuk, 2011). Selain itu, Flora *et.al* (2012) melaporkan bahwa penggunaan vitamin (B1, B6, C, dan E), senyawa flavonoid dan turunannya, polifenol dan turunannya juga dapat digunakan sebagai antioksidan.

Berbagai usaha pengobatan di atas sesuai dengan nilai-nilai Islam mengenai kesehatan. Islam memberikan perhatian yang sangat tinggi terhadap kesehatan dan pengobatan untuk kesejahteraan umat manusia. Hal ini telah ditegaskan oleh Rasulullah SAW dalam sebuah riwayat yang diceritakan oleh Usamah bin Syarik RA. Saat itu beliau sedang bersama Rasulullah SAW ketika sekelompok orang Badui datang dan bertanya kepada Rasulullah SAW apakah

mereka harus mengobati penyakit mereka. Kemudian Rasulullah SAW bersabda (At-Turmudzi, Hadits no. 3436):

تَدَاوُوا فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ دَوَاءً إِلَّا دَاءً وَاحِدًا قَالُوا يَا رَسُولَ اللَّهِ مَا هُوَ قَالَ  
أَهْرَمُ (رواه الترمذي)

Artinya: “Berobatlah! Sesungguhnya Allah SWT tidak menciptakan suatu penyakit melainkan menciptakan obatnya kecuali satu penyakit”. Kemudian mereka bertanya, “Penyakit apa itu ya Rasulullah?” Beliau SAW menjawab, “Penyakit tua”. (HR. Turmudzi)

Hadits di atas menggunakan kata دَوَاءٌ yang dalam kaidah ilmu nahwu memiliki kedudukan sebagai *nakiroh*, atau kata benda yang tidak memiliki makna spesifik atau bermakna umum. Dengan kata lain, Rasulullah SAW menjelaskan bahwa untuk setiap penyakit, Allah SWT tidak hanya menciptakan satu jenis obat melainkan banyak jenis. Berdasarkan hadits ini, dapat disimpulkan bahwa upaya penemuan obat untuk penyakit, dalam kasus ini keracunan timbal, harus terus dilakukan untuk mendapatkan obat yang paling optimal untuk menekan efek keracunan akibat timbal.

Salah satu tumbuhan yang juga memiliki kandungan antioksidan yang tinggi adalah jahe (*Zingiber officinale*). Jahe banyak digunakan sebagai bumbu masak dan obat tradisional karena terbukti memiliki berbagai aktivitas biologis yang menguntungkan seperti antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antitumor, dan antidiabetes. Jahe juga termasuk dalam daftar herbal yang aman dikonsumsi sehingga dapat digunakan untuk kepentingan terapeutik (Kaul & Joshi, 2001; Banerjee *et.al.*, 2011; Rahmani *et.al.*, 2014).

Aktivitas antioksidan yang dimiliki jahe ini sangat bergantung pada kandungan fenol yang dimilikinya seperti gingerol dan turunannya (Prakash dan

Adel, 2010). Reddy *et.al* (2011) dan Attia *et.al* (2013) telah melaporkan bahwa jahe menunjukkan pengaruh protektif dan terapeutik terhadap stress oksidasi pada tikus yang diinduksi oleh timbal dengan cara meningkatkan kadar antioksidan seperti glutathion, glutathion peroksidase, glutathion transferase, sodium dismutase, dan katalase serta menurunkan kadar malondialdehid sebagai penanda biologis untuk peroksidasi lipid. Akan tetapi, kedua peneliti tersebut tidak menjelaskan peran masing-masing senyawa antioksidan dalam jahe secara detail.

Untuk menjawab pertanyaan mengenai peran jahe tersebut, perlu dilakukan kajian mengenai interaksi molekuler dari jahe di dalam tubuh. Salah satu cara yang dapat digunakan adalah membuat jaringan interaksi protein dan senyawa secara *in silico* yang dapat dilakukan menggunakan perangkat lunak bernama STITCH dan STRING yang berbasis *web*. STITCH berguna untuk mengintegrasikan interaksi antara senyawa kimia dengan protein, sementara STRING berfungsi untuk mengintegrasikan ikatan antarprotein (Szkarczyk *et.al.*, 2015; Szkarczyk *et.al.*, 2016). Hasil interaksi kemudian dapat diproses dengan menggunakan aplikasi Cytoscape untuk mendapatkan gambaran utuh sehingga dapat menghasilkan kerangka konseptual yang menyeluruh mengenai mekanisme jahe dalam menurunkan stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal (Shannon *et.al.*, 2003).

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan pemaparan pada latar belakang di atas, maka permasalahan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana mekanisme senyawa aktif jahe (*Zingiber officinale*) yang berpotensi sebagai antioksidan dalam menekan stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal?
2. Manakah senyawa dari senyawa aktif jahe (*Zingiber officinale*) yang paling potensial dalam menekan stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Untuk mengetahui mekanisme senyawa aktif jahe (*Zingiber officinale*) yang berpotensi sebagai antioksidan dalam menekan stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal.
2. Untuk mengetahui Manakah senyawa dari senyawa aktif jahe (*Zingiber officinale*) yang paling potensial dalam menekan stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal.

### 1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Aspek Teoritis
  - a. Memberikan pemahaman teoritis tentang potensi bahan aktif jahe (*Zingiber officinale*) dalam mengurangi stress oksidasi yang diinduksi oleh keracunan timbal
  - b. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan untuk penelitian, baik mengenai potensi bahan aktif maupun keracunan timbal secara *in vivo* dan *in vitro*.

## 2. Aspek Aplikatif

- a. Memberikan informasi ilmiah tentang manfaat terapi antioksidan dari ekstrak rimpang jahe yang mungkin berpotensi digunakan sebagai terapi maupun tindakan preventif dalam mengurangi stress oksidasi pada keracunan timbal.

### 1.5. Batasan Masalah

Batasan Masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Senyawa senyawa aktif jahe (*Zingiber officinale*) yang digunakan didapat dari pangkalan data KNApSAcK dan hasil skrining yang dilakukan oleh Ghasemzadeh *et.al* (2010).
2. Senyawa yang memiliki potensi antioksidan sebagai penangkal radikal bebas adalah hasil prediksi menggunakan PASS Online pada laman <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php>
3. Protein yang merupakan target dari senyawa senyawa aktif jahe adalah hasil prediksi menggunakan SwissTargetPrediction di laman <http://www.swisstargetprediction.ch/>
4. Protein dan senyawa yang diinput pada STRING dan dan STITCH untuk membentuk jaringan interaksi protein adalah senyawa jahe yang memiliki potensi antioksidan dan penangkal radikal bebas hasil prediksi PASS Online,  $Pb^{2+}$ , protein target hasil prediksi SwissTargetPrediction, protein-protein dan enzim yang terlibat pada peristiwa stress oksidasi yang

diinduksi timbal (ALAD, CAT, SOD, GSH, GSSG, GSR, dan GPX), serta ROS yang terbentuk seperti  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ , dan  $H_2O_2$ .

5. Parameter yang diamati pada jaringan interaksi protein adalah *degree*, *betweenness centrality*, dan fungsi biologis protein yang meliputi proses biologis, fungsi molekuler, dan komponen seluler.
6. Aplikasi yang digunakan adalah PASS-online (Prediction of Activity Spectra for Substances) (*web-based*), SwissTargetPrediction (*web-based*), Search Tool for Interacting Chemicals/STITCH Version 5.0 (*web-based*), STRING: Protein-Protein Interaction Network Version 10.5 (*web-based*), dan Cytoscape Ver. 3.5.1. Sumber informasi *database* yang adigunakan adalah KNApSAcK-3D dan ChemSpider.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Timbal

##### 2.1.1. Karakteristik dan Sifat Timbal

Timbal atau plumbum (Pb) adalah logam berat yang termasuk dalam Golongan IV A pada Tabel Periodik Unsur dengan nomor atom 82 dan massa atom 207,2. Secara alami timbal menyusun 0,002% (15g/t) dari total keseluruhan kerak bumi. Sumber mineral utama timbal antara lain galena (timbal sulfida), anglesit (timbal sulfat), kerusit (timbal karbonat), mimetit (timbal kloroarsenat), dan piromorfit (timbal klorofosfat) (WHO, 2010; UNEP, 2010).

Timbal murni berupa logam berwarna putih keperakan yang teroksidasi dan berubah warna menjadi abu kebiruan jika terpapar udara. Timbal memiliki tekstur yang lunak dan elastis sehingga mudah dibentuk, dapat meninggalkan bekas pada kertas, dan dapat digores dengan menggunakan kuku jari. Timbal memiliki titik lebur yang cukup rendah yaitu 327 °C, titik didih 1200 °C, dan nilai densitas 11,34 g/cm<sup>3</sup> (UNEP, 2010; Bandyopadhyay *et.al.*, 2014).

Timbal dapat dengan mudah bereaksi dengan udara yang lembab, air yang mengandung oksigen terlarut, asam, alkali, klorin, sulfur, dan lain-lain. Timbal resisten terhadap asam dan korosi serta dapat berfungsi sebagai penangkal radiasi. Timbal membentuk dua jenis senyawa; timbal(II) (valensi 2) dan timbal(IV) (valensi 4). Senyawa timbal(II) lebih stabil daripada timbal(IV). Senyawa timbal(II) merupakan agen oksidan yang kuat, baik tidak larut ataupun terhidrolisis oleh air menjadi timbal oksida (UNEP, 2010; Bandyopadhyay *et.al.*, 2014).

Ada tiga bentuk kimia timbal: timbal logam, senyawa timbal anorganik, dan senyawa timbal organik (mengandung karbon). Timbal anorganik adalah jenis timbal yang terdapat pada cat, debu, dan berbagai produk konsumsi. Warnanya bervariasi tergantung bentuk kimianya. Timbal anorganik yang paling umum adalah timbal putih (senyawa timbal karbonat), timbal kuning (timbal kromat, timbal monoksida), atau timbal merah (timbal tetraoksida). Sementara bentuk paling umum dari timbal organik adalah timbal tetra etil (TEL/*tetra-ethyl lead*) yang digunakan dalam bahan bakar bertimbal (bensin) (Carocci *et.al.*, 2016; CSEM, 2017).

### 2.1.2. Kegunaan Timbal

Timbal digunakan untuk berbagai macam kebutuhan. Karena sifatnya yang lunak, penggunaan timbal murni sangat terbatas dan biasanya dicampur dengan unsur lain untuk membentuk logam campuran atau *alloy*. Beberapa jenis unsur yang dicampur dengan timbal antara lain antimoni (baterai dan pelapis kabel), tembaga (pelat timbal dan pipa timbal), kalsium (baterai), atau perak (solder) (CSEM, 2017).

Penggunaan timbal lainnya dapat ditemukan pada industri cat atau pewarna, glasir keramik, amunisi dan senjata, pelindung radiasi, reagen kimia, mainan anak, plastik, alat-alat dapur, pembuatan wadah untuk menyimpan cairan yang bersifat korosif, kosmetik, wastafel, dan tangki air (Garza *et.al.*, 2006; Flora *et.al.*, 2012; Bandyopadhyay *et.al.*, 2014; CSEM, 2017).

Selain berbagai aplikasi di atas, timbal dari jenis organik yaitu tetraetil Pb (TEL) dan tetrametil Pb (TML) juga digunakan sebagai bahan tambahan dalam

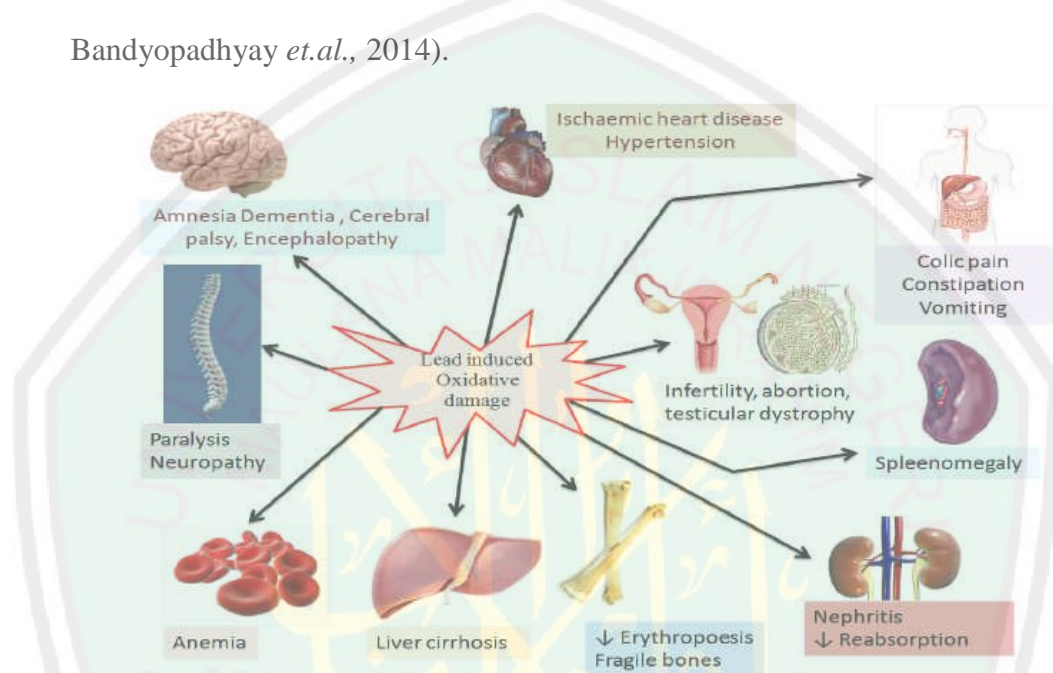
bahan bakar kendaraan terutama bensin. TEL dan TML digunakan untuk menaikkan nilai oktan bensin sehingga dapat meningkatkan efisiensi mesin kendaraan bermotor. Namun belakangan diketahui TEL dan TML memiliki dampak yang sangat buruk bagi kesehatan sehingga penggunaannya dihapuskan di banyak negara terutama negara-negara maju. Di Indonesia sendiri upaya penghapusan bensin bertimbal ini masih belum sepenuhnya terealisasi namun kualitas bahan bakar di Indonesia menunjukkan perubahan yang positif dari tahun ke tahunnya (ATSDR, 2007; Gusnita, 2012).

### **2.1.3. Dampak Timbal bagi Kesehatan Manusia**

Timbal merupakan logam berat beracun yang banyak tersebar di lingkungan akibat aktivitas manusia seperti penambangan, teknologi, industri, bahan bakar kendaraan bermotor, pengobatan tradisional, dan lain-lain. Oleh karena aktivitas antropogenik yang bermacam-macam ini, timbal dapat tersebar di lingkungan baik tanah, air, maupun udara dalam waktu yang lama karena timbal tidak dapat didegradasi secara biologis. Timbal baik organik maupun anorganik diketahui tidak memiliki fungsi biologis apapun di dalam tubuh dan dikenali sebagai antigen oleh sistem pertahanan. Selain itu, tidak ada penelitian yang menyebutkan adanya kadar aman timbal di dalam tubuh (WHO, 2010; Flora dkk, 2012; Carocci dkk, 2016).

Pajanan timbal pada tubuh dapat menimbulkan pengaruh buruk bagi kesehatan. Timbal dapat mengakibatkan kondisi stress oksidasi yang dapat merusak berbagai organ dan sistem organ di dalam tubuh manusia seperti saraf, hematologi, pencernaan, reproduksi, sistem pertahanan tubuh, ginjal, hepar,

peredaran darah, dan kardiovaskular. Data tahun 2004 oleh WHO menyebutkan bahwa timbal bertanggung jawab terhadap sedikitnya 143.000 kematian dan sekitar 0.6% dari total beban penyakit global. Dalam kasus keracunan timbal ini, anak kecil lebih rentan dibanding orang dewasa (Patrick, 2006; WHO, 2010; Bandyopadhyay *et.al.*, 2014).



Gambar 2.1 Skema Organ yang Terkena Dampak Keracunan Timbal

Keracunan timbal dapat diukur dari kadar timbal darah (*blood lead levels/BLL*) yang dinyatakan dengan  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . Pada saat BLL mencapai 100-120  $\mu\text{g}/\text{dl}$ , penderita dikatakan mengalami keracunan timbal akut. Keracunan timbal akut dapat menyebabkan gangguan pencernaan (anoreksia, mual, muntah, dan nyeri perut), kerusakan ginjal dan hati, hipertensi dan gejala neurologis (tidak enak badan, mengantuk, ensefalopati) yang mungkin saja berujung pada sawan dan kematian. Jenis keracunan lainnya adalah keracunan kronis yang lebih umum terjadi, yaitu jika BLL mencapai 40-60  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . Pada umumnya, keracunan timbal kronis dapat menyebabkan berbagai gangguan hematologis seperti anemia, atau

gangguan neurologis seperti sakit kepala, iritabilitas, sawan, lemah otot, ataksia, tremor, dan kelumpuhan (Patrick, 2006; WHO, 2010; Carocci *et.al.*, 2016).

## **2.2. Patofisiologi Keracunan Timbal**

### **2.2.1. Absorpsi dan Sirkulasi Timbal**

Ada banyak cara timbal masuk ke dalam tubuh. Garam timbal terlarut sangat mudah diserap ke dalam aliran darah dari usus. Garam timbal ini sangat beracun dan dapat menjadi racun yang bersifat kumulatif. Timbal juga dapat masuk ke aliran darah melalui proses pernafasan dan penelanan makanan. Timbal tidak dapat masuk ke dalam tubuh melalui kulit kecuali jika kulit terluka. Pada orang dewasa, 2-15% timbal yang masuk ke dalam tubuh berasal dari pencernaan, sementara pada anak kecil dan ibu hamil jumlahnya mencapai 50%. Dilaporkan juga bahwa tubuh menyerap timbal lebih banyak pada saat berpuasa (Bandyopadhyay *et.al.*, 2014).

Sebagian besar timbal yang masuk ke dalam tubuh diserap melalui proses inhalasi atau pernafasan. Tingkat penyerapan ini sangat dipengaruhi oleh ukuran partikel timbal dan volume udara yang dihirup. Timbal yang masuk ke paru-paru lalu diserap oleh darah paru-paru untuk kemudian diedarkan ke seluruh tubuh. Sebanyak 99% timbal yang masuk ke ruang intravaskular berikatan dengan sel darah merah dengan cepat, sementara sisanya berada di plasma dan serum. Timbal hanya dapat bertahan sekitar 30 hari di darah lalu diedarkan ke seluruh jaringan lunak seperti ginjal, otak, hati, dan sumsum tulang dalam bentuk  $Pb_3(PO_4)_2$  selama 4-6 minggu berikutnya (Palar, 1994; Patrick, 2006; Carocci *et.al.*, 2016).

Timbal juga terakumulasi di berbagai organ vital seperti hati, jantung, otak, ginjal, organ reproduksi, dan lain-lain. Setelah diserap tubuh, timbal akan terakumulasi di saluran pencernaan lalu diikuti oleh hati. Dari hati, timbal yang dibawa darah akan menuju ke jantung, paru-paru lalu kembali lagi ke hati dan disebarkan ke seluruh tubuh dan akhirnya ke ginjal. Ketika melewati ginjal, sebagian timbal disimpan di ginjal dan sebagian lagi disekresikan di tubulus ginjal lalu diekskresikan melalui urin (Bandyopadhyay *et.al.*, 2014).

### **2.2.2. Deposisi Timbal**

Pada orang dewasa, kurang lebih 90% timbal yang diserap disimpan di dalam tulang dan sisanya tersebar di jaringan lunak dan aliran darah. Sementara pada anak kecil, sekitar 70% timbal disimpan di tulang dan sisanya disimpan di jaringan lunak dan aliran darah. Penyimpanan timbal di tulang dapat bertahan selama beberapa dekade. Terjadinya pergantian tulang akibat kehamilan, menopause, proses menyusui, atau imobilisasi dapat meningkatkan kadar timbal darah (Palar, 1994; Patrick, 2006; Kathuria *et.al.*, 2016).

### **2.2.3. Metabolisme dan Ekskresi Timbal**

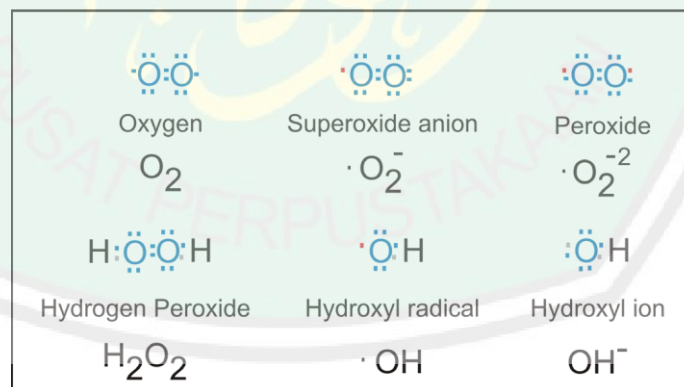
Timbal utamanya diekskresikan di urin dan empedu, namun laju eliminasinya berbeda-beda tergantung jaringan yang menyerap timbal. Ginjal mengekskresikan timbal melalui filtrasi glomerulus dan sekresi tubular. Timbal dapat juga dikeluarkan dari tubuh melalui kuku dan keringat. Selanjutnya diketahui juga bahwa pembuangan timbal dari tubuh dapat ditingkatkan dengan cara memperbanyak minum sehingga menambah volume urin atau dengan sebuah

metode medis yang disebut dengan *chelation* (Patrick, 2006; Bandyopadhyay *et.al.*, 2014; Kathuria *et.al.*, 2016).

### 2.3. Stress Oksidasi

#### 2.3.1. *Reactive Oxygen Species (ROS)*

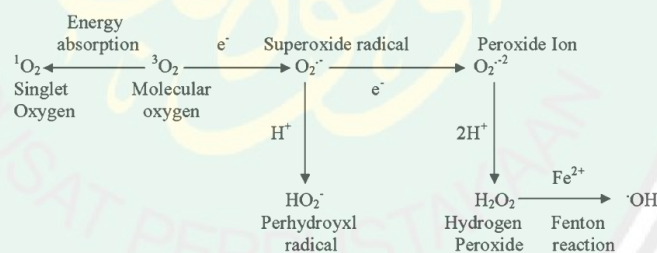
ROS merupakan representasi kategori molekul yang luas, merupakan turunan oksigen radikal dan nonradikal. Turunan oksigen radikal meliputi ion OH (hidroksil), superoksida, nitrik oksida, alkoksil, dan peroksil, sedangkan turunan oksigen yang nonradikal meliputi ozon (O<sub>3</sub>), singlet oksigen, lipid peroksida, dan hidrogen peroksida. Turunan oksigen nonradikal (disebut juga oksidan) selanjutnya akan mengambil bagian dalam kaskade reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Konfigurasi elektron inilah yang membuatnya menjadi tidak stabil dan reaktif (Sen *et.al.*, 2010; Held, 2015).



Gambar 2.2 Struktur ROS  
(Held, 2015)

ROS diproduksi di mitokondria sebagai hasil samping yang tidak dapat dihindari dari proses fosforilasi oksidatif. Rantai transpor elektron mencakup kompleks I-IV dan sintase ATP pada membran mitokondria bagian dalam.

Superoksida terbentuk pada kompleks I dan III lalu sekitar 80% dari total superoksida yang terbentuk dilepaskan ke matriks mitokondria. Superoksida dapat keluar menuju sitoplasma melalui pori transisi permeabel yang terdapat di membran luar mitokondria. Superoksida lalu didismutasi menjadi  $H_2O_2$  baik di matriks mitokondria (oleh MnSOD) maupun di sitoplasma (oleh Cu/ZnSOD). Selain mitokondria, peroksisom juga merupakan sumber seluler utama untuk pembentukan ROS. Di peroksisom, superoksida dan  $H_2O_2$  dibentuk melalui xantin oksidase di matriks dan membran. Sumber seluler lainnya adalah sitokrom P450, protein sitoplasma, enzim membran plasma, dan molekul kecil di sitoplasma. Selain sumber seluler atau endogen, ROS juga bisa diproduksi akibat induksi nonseluler atau eksogen seperti kemoterapi, racun-racun lingkungan, sitokin inflamasi, radiasi dan ultraviolet (Kaul dan Forman, 2000; Liou & Storz, 2010, Rahman *et.al.*, 2012).



Gambar 2.3 Skema Pembentukan ROS  
(Bhattacharya, 2015)

Pada kadar dan kondisi fisiologis normal, ROS memiliki fungsi-fungsi yang berguna bagi tubuh seperti pembentukan ATP, detoksifikasi xenobiotik, oksigenase, apoptosis, dan membunuh sel kanker atau mikroorganisme. Akan tetapi, pada konsentrasi yang berlebih oksigen molekuler dan produknya dapat bersifat toksik. Komponen-komponen seluler yang mungkin berinteraksi dengan

ROS sehingga mengakibatkan gangguan seluler adalah lipid, protein, DNA, dan karbohidrat (Kaul dan Forman, 2000; Sharma, 2014).

### 2.3.2. Stress Oksidasi dan Mekanisme Pertahanan Antioksidan

Konsep stress oksidasi pertama kali diperkenalkan oleh Sies pada tahun 1986 sebagai suatu ketidakmampuan mekanisme pertahanan antioksidan alami dalam menangkal radikal bebas seperti ROS dan RNS (*reactive nitrogen species*) oleh. Fenomena ini tidak hanya menyebabkan terjadinya kondisi berbahaya seperti peroksidasi lipid dan kerusakan pada DNA, tetapi juga fenomena adaptasi fisiologis dan pengaturan sinyal transduksi intraseluler (Yoshikawa & Naito, 2002; Sharma, 2014).

Stress oksidasi adalah kondisi berbahaya yang dipicu oleh faktor kimia, fisika, dan faktor fisiologis yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan berbagai macam penyakit. Makhluk hidup secara alami telah mengembangkan berbagai macam mekanisme pertahanan terhadap stress oksidasi yang dipicu oleh radikal bebas, antara lain 1) mekanisme preventif, 2) mekanisme perbaikan, 3) pertahanan fisik, dan 4) mekanisme pertahanan antioksidan (Sen *et.al.*, 2010; Lone *et.al.*, 2013).

Antioksidan adalah molekul yang mampu memperlambat atau mencegah oksidasi molekul lain. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas yang mampu menginisiasi rantai reaksi dan menimbulkan kerusakan pada sel. Antioksidan bekerja menghentikan rantai reaksi ini dengan mengikat radikal bebas, membuang senyawa antara radikal (*radical/reactive intermediates*), dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi yang lain dengan cara mengoksidasi dirinya

sendiri (menyumbangkan elektronnya). Dengan kata lain, antioksidan adalah agen pereduksi (Sen *et.al.*, 2010; Kabel, 2014).

Valko *et.al* (2006) menjelaskan tentang ciri-ciri antioksidan yang baik. Ciri-ciri tersebut antara lain: 1) dapat menangkal radikal bebas secara spesifik; 2) mampu menyerap logam redoks; 3) dapat berinteraksi dengan (regenerasi) antioksidan lain pada suatu “jaringan antioksidan”; 4) memiliki pengaruh positif terhadap ekspresi gen; 5) mudah diserap tubuh; 6) terdapat dalam konsentrasi yang relevan secara fisiologis dalam jaringan dan biofluid; dan 7) mampu bekerja baik di daerah membran maupun sitosol.

Antioksidan terbagi menjadi dua jenis, yaitu antioksidan endogen (preventif) dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang diproduksi oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan melindungi tubuh dari berbagai penyakit yang menyebabkan kerusakan jaringan. Sementara antioksidan eksogen adalah cadangan eksternal bagi tubuh yang didapat melalui makanan dan juga memainkan peran penting untuk melindungi tubuh. Sistem pertahanan antioksidan endogen terbagi lagi menjadi dua; enzimatis seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathion reduktase (GR), glutathion peroksidase (GPx), dan non enzimatis seperti vitamin E, vitamin C, dan glutathion tereduksi (GSH). Jenis-jenis antioksidan eksogen meliputi antioksidan alami yang terdapat pada buah dan sayur seperti askorbat; asam askorbat; tokoferol;  $\alpha$ -tokoferol; flavonoid; karotenoid; dan asam fenolat, serta antioksidan sintetis seperti BHA; BHT; dan TBHQ (Sen *et.al.*, 2010; Sharma, 2014; Battacharya, 2015).

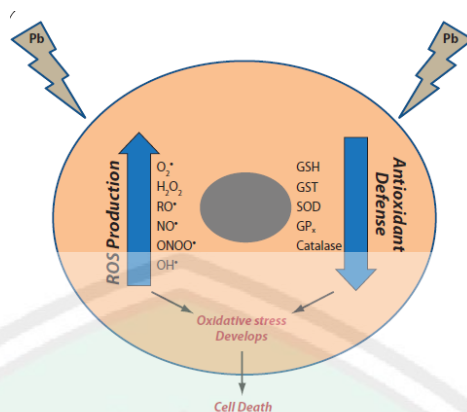
Berikut disajikan tabel mengenai beberapa antioksidan penting dan fungsinya secara singkat (Lone *et.al.*, 2013; Sharma, 2014; Kabel, 2014).

Tabel 2.1 Jenis-Jenis Antioksidan dan Fungsinya

Jenis Antioksidan		Fungsi
Enzimatik	GPx	Katalisator dekomposisi $H_2O_2$ dan hidroperoksida organik
	SOD	Mengubah superoksida radikal menjadi $H_2O_2$
	CAT	Dekomposisi $H_2O_2$ menjadi air dan oksigen
	GR	Mereduksi GSSG menjadi GSH dengan bantuan NADPH
Non enzimatik	Glutation (GSH)	Kofaktor beberapa enzim antioksidan, berperan dalam transpor asam amino melalui membran sel, menangkal hidroksil radikal dan oksigen singlet secara langsung, detoksifikasi $H_2O_2$ dan lipid peroksida bersama dengan GPx melalui aksi katalitik
	Vitamin C	Melindungi membran dari oksidasi, bersama dengan vitamin E meregenerasi $\alpha$ - tokoferol dari $\alpha$ - tokoferol radikal di membran dan lipoprotein
	Vitamin E	Melindungi sel dari peroksidasi lipid, mencegah pembentukan radikal bebas, aktivasi endonuclease

#### 2.4. Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal

Timbal sangat berpotensi menginduksi stress oksidasi. Stress oksidasi disebut sebagai mekanisme utama dalam keracunan timbal. Di bawah pengaruh timbal, permulaan terjadinya stress oksidasi diakibatkan oleh dua jalur yang aktif secara simultan yaitu pembentukan ROS (*reactive oxygen species*) seperti hidroperoksida ( $HO_2^{\cdot}$ ); oksigen tunggal; dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), serta penurunan cadangan dan fungsi antioksidan (Ahamed & Siddiqui, 2007; Flora *et.al.*, 2012).



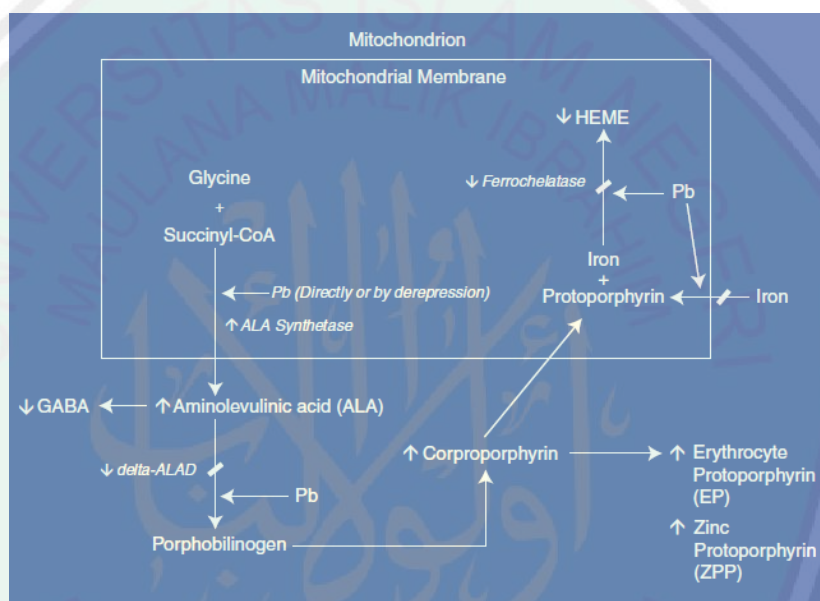
Gambar 2.4 Mekanisme Stress Oksidasi di dalam Sel Akibat Timbal (Flora *et.al.*, 2012)

#### 2.4.1. Pembentukan ROS oleh Timbal

Timbal menginduksi pembentukan ROS melalui beberapa jalur yaitu 1) menghambat enzim asam  $\delta$ -aminolevulinat dehidrogenase ( *$\delta$ -aminolevulinic acid dehydrogenase/ALAD*) sebagai salah satu enzim utama dalam proses biosintesis heme sehingga meningkatkan kadar asam  $\delta$ -aminolevulinat ( *$\delta$ -aminolevulinic acid/ALA*), dan 2) menstimulasi terjadinya peroksidasi lipid di membran dengan cara berikatan dengan fosfatidilkolin pada membran sel sehingga mengubah sifat-sifat biofisik membran (Gillis *et.al.*, 2012).

Gangguan timbal terhadap jalur sintesis heme dan reduksi cadangan heme tubuh merupakan target utama dari keracunan timbal. Timbal mempengaruhi sistem ini dengan cara mencegah sintesis heme dan hemoglobin serta mengubah morfologi sel darah merah. Salah satu enzim yang berperan dalam proses sintesis heme dan sangat sensitif terhadap keracunan timbal adalah ALAD. ALAD adalah enzim sitosol kedua dalam jalur biosintesis heme yg mengandung gugus sulfidril. Selain itu, ALAD juga berikatan dengan ion seng (Zn) di gugus sulfidril yang bertindak sebagai kofaktor bagi ALAD. Timbal memiliki kemampuan untuk

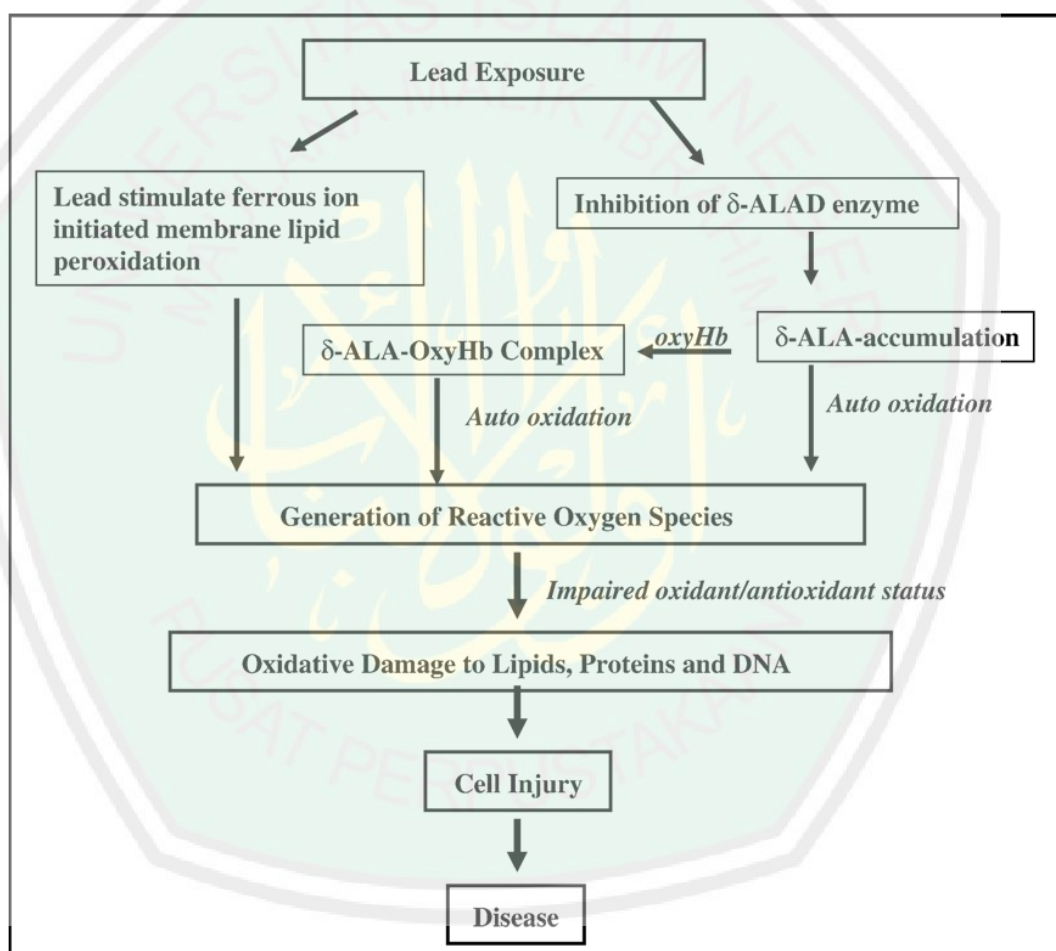
menggantikan ion Zn dan mengikat ALAD di gugus sulfidril yang dimilikinya dan menghambat aktivitasnya. ALAD lalu mengalami kegagalan fungsi untuk mengubah 2 molekul ALA menjadi porfobilinogen dan menekan produksi heme. Akibatnya ALA yang terakumulasi di darah akan teroksidasi untuk kemudian menghasilkan ROS seperti superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikal ( $OH^{\cdot}$ ), dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). (Garza, 2006; Flora *et.al.*, 2008; Jangid *et.al.*, 2012).



Gambar 2.5 Pengaruh Timbal terhadap Jalur Biosintesis Heme (Patrick, 2006)

Proses oksidasi ALA sehingga menginduksi produksi ROS dimulai dengan proses enolisasi dan auto-oksidasi pada pH 7,0 – 8,0. Perubahan bentuk ALA dari keto menjadi enol merupakan proses yang penting untuk reaksi auto-oksidasi. ALA yang mengalami proses enolisasi lalu teroksidasi secara otomatis dan menghasilkan  $O_2^{\cdot-}$ . Selain itu, ALA dilaporkan dapat berikatan dengan *oxyHb* (oksihemoglobin) yang juga dapat teroksidasi dan menginduksi pembentukan ROS. ALA dalam bentuk enol dihasilkan melalui tautomerisasi dan bertindak sebagai donor elektron terhadap molekul oksigen bersama dengan transfer

elektron dari *oxyHb* ke oksigen yang menghasilkan *metHb* (methemoglobin), ALA radikal, dan  $H_2O_2$ .  $O_2^{\cdot-}$  dan  $H_2O_2$  yang dihasilkan tadi dapat saling berinteraksi dan menghasilkan  $HO^{\cdot}$  radikal, yang merupakan ROS dengan reaktivitas paling tinggi. Selain itu, *oxyHb*, *metHb*, dan berbagai senyawa besi(II) dan besi(III) juga diketahui dapat memicu oksidasi ALA (Ahamed & Siddiqui, 2007; Flora *et.al.*, 2008).



$\delta$ -ALAD: Delta-aminolevulinic acid dehydratase,  $\delta$ -ALA: Delta-aminolevulinic acid, OxyHb: Oxy-hemoglobin

Gambar 2.6 Mekanisme Kerusakan Oksidatif Sel yang Diinduksi Timbal (Ahamed & Siddiqui, 2007)

Stress oksidasi yang diinduksi timbal merupakan agen kontributor utama dalam patogenesis keracunan timbal. Stress oksidasi juga berimplikasi buruk pada

beberapa organ spesifik yang mengalami gangguan terkait keracunan akibat menurunnya produksi heme tubuh. Beberapa organ yang mengalami kerusakan akibat stress oksidasi yang diinduksi timbal antara lain paru-paru, jaringan endotel, ginjal, hati, otak, dan organ reproduksi (Patrick, 2006).

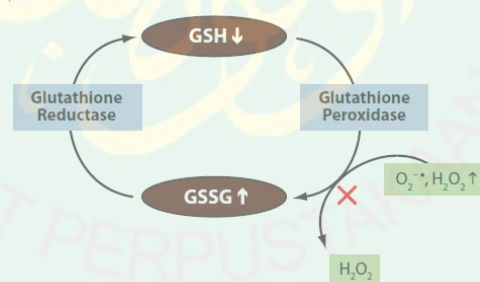
#### 2.4.2. Penurunan Fungsi Antioksidan oleh Timbal

Pengaruh timbal terhadap sistem pertahanan antioksidan adalah mekanisme kedua dalam kejadian stress oksidasi yang diinduksi timbal. Timbal dan beberapa logam berat berbahaya lain seperti kadmium dan merkuri memiliki afinitas yang tinggi terhadap gugus sulfidril. Timbal dapat mengubah aktivitas antioksidan dengan menghambat gugus sulfidril fungsional pada beberapa enzim, termasuk enzim dan molekul antioksidan seperti glutathion (GSH), glutathion disulfida (GSSG), *superoksida dismutase* (SOD), *katalase* (CAT), glutathion peroksidase (GPx), glutathion reduktase (GR), dan *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD) (Mohammad *et.al.*, 2008; Sharma *et.al.*, 2011; Flora *et.al.*, 2012).

Glutathion adalah antioksidan paling penting dalam detoksifikasi dan ekskresi logam berat yang ditemukan di dalam sel. Glutathion adalah molekul tripeptida sistein yang diproduksi di kompartemen interior sel darah putih dan ditemukan dalam konsentrasi milimolar pada jaringan mamalia. Glutathion juga memiliki gugus sulfidril reaktif yang memiliki potensi reduksi. Oleh karena itu, glutathion memainkan peran penting dalam melindungi sel dari stress oksidasi. Glutathion dapat bertindak sebagai antioksidan non-enzimatik dengan mengikat ROS pada gugus sulfidril yang dimilikinya dan membentuk ikatan kovalen, atau

dapat pula terlibat dalam detoksifikasi enzimatik untuk ROS sebagai kofaktor atau koenzim (Mohammad *et.al.*, 2008; Sharma *et.al.*, 2011; Carocci *et.al.*, 2016).

Glutation terdapat dalam dua bentuk yaitu tereduksi (GSH) dan teroksidasi (GSSG). GSH bertindak sebagai antioksidan penting untuk menangkal radikal bebas, menyumbangkan pengurangan setara ( $H^+ + e^-$ ) kepada ROS dan menstabilkannya. Pada reaksi redoks, GSH mudah berikatan dengan dengan molekul GSH yang lain sehingga membentuk molekul GSSG dengan keberadaan enzim glutathion peroksidase (GPx). Sebaliknya, GSSG bisa dikembalikan ke bentuk GSH dengan bantuan enzim glutathion reduktase (GR). Pada kondisi fisiologis normal, 90% dari total glutathion berada dalam bentuk GSH sementara sisanya tersedia dalam bentuk GSSG. Sebaliknya, pada kondisi stress oksidasi konsentrasi GSSG meningkat lebih banyak dibanding GSH (Flora *et.al.*, 2012; Carocci *et.al.*, 2016).



Gambar 2.7 Pengaruh Timbal terhadap Metabolisme Glutation (Flora *et.al.*, 2012)

GPx dan *katalase* (CAT) adalah antioksidan metaloprotein yang melaksanakan fungsinya melalui detoksifikasi enzimatik. CAT mendekomposisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub> sementara GPx mendekomposisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> atau peroksida lainnya dengan bantuan GSH yang bersamaan dengan oksidasi GSH menjadi GSSG. CAT diperkirakan dapat menyediakan jalur penting untuk dekomposisi

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ketika konsentrasinya tinggi, sementara GPx dipercaya memainkan peran penting untuk mendekomposisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada saat konsentrasinya rendah. Kedua enzim ini sangat bergantung pada beberapa unsur jejak esensial dan gugus prostetik untuk struktur molekul dan aktivitas enzim yang tepat sehingga keduanya menjadi target potensial bagi timbal dan keracunan timbal (Ahamed & Siddiqui, 2007; Mohammad *et.al.*, 2008).

SOD memainkan peran penting dalam melindungi sel dari efek toksik O<sub>2</sub><sup>•-</sup> menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan mengkatalis reaksi dismutasi dengan bantuan tembaga dan seng. Tembaga diketahui memiliki peran fungsional dalam reaksi dengan menginduksi oksidasi dan reduksi secara bergantian, sedangkan seng dapat menstabilkan SOD tanpa terlibat secara langsung dalam siklus katalitik. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa timbal memiliki aktivitas penghambatan terhadap SOD dan CAT akibat kemungkinan terbentuknya interaksi antara timbal dengan tembaga dan seng sebagai kofaktor bagi SOD (Mohammad *et.al.*, 2008; Sharma *et.al.*, 2011).

## 2.5. Jahe

### 2.5.1. Deskripsi Umum

Di dalam Al-Qur'an banyak disebutkan jenis-jenis tumbuhan dan tanaman. Salah satu dari tumbuhan yang disebutkan oleh Al-Qur'an yaitu jahe, sebagaimana terdapat pada surat Al-Insan ayat 17 yang berbunyi:

وَ يُسْقَوْنَ فِيهَا كَأْسًا كَانَتْ مِرْاجِحًا زُحْبِيْنًا (١٧)

Artinya: "Di dalam surga itu mereka diberi minum segelas (minuman) yang campurannya adalah jahe".

Imani (2006) mengutip perkataan Ibnu Abbas bahwa *zanjabil* adalah sebutan orang Arab untuk jahe, suatu tanaman akar-akaran yang disukai orang Arab. Berdasarkan morfologinya, Delin & Larsen (2000) menjelaskan bahwa jahe adalah tanaman yang memiliki rimpang atau akar yang membesar dan bercabang. Rimpang jahe berwarna kekuningan, berdaging, dan memiliki aroma yang kuat. Batangnya adalah batang semu dengan tinggi sekitar 50-100 cm dengan daun duduk atau sesil. Jahe memiliki bentuk daun lanset dengan panjang sekitar 15-30cm dan lebar sekitar 2-2,5 cm. Klasifikasi taksonomi jahe adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i>



Gambar 2.8 Tanaman Rimpang Jahe  
(Rahmani *et.al.*, 2014)

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan salah satu tanaman rempah yang paling banyak dipakai yang berasal dari keluarga *Zingiberaceae* dan marga *Zingiber*. Seorang ahli botani Inggris William Roscoe (1753-1831) menamai tumbuhan ini dengan *zingiber*, berasal dari bahasa Sanskerta *singabera* yang

berarti berbentuk seperti tanduk akibat tonjolan pada rimpangnya. Jahe banyak tumbuh di negara-negara tropis dan subtropis baik di Asia Pasifik dan Afrika termasuk Indonesia, Malaysia, India, hingga Cina. Jahe banyak digunakan dalam kegiatan sehari-hari sebagai bumbu masak, perisa makanan, minyak atsiri, dan bahan obat tradisional selama lebih dari 2000 tahun yang lalu (Bhatt *et.al.*, 2013; Aziz *et.al.*, 2015; Dhanik *et.al.*, 2017).

### 2.5.2. Aktivitas Biologis dan Kandungan Antioksidan Jahe

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (١٩١)

*Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah SWT sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.*

Surat Ali ‘Imron ayat 191 di atas menjelaskan tentang sifat *ulu-l-albab* yang senantiasa merenungkan (tafakkur dan dzikir) keagungan Allah SWT dalam kondisi apapun; duduk, berdiri, dan berbaring. Melalui perenungan ini, mereka akhirnya mendapatkan kesimpulan bahwa tidak ada yang sia-sia dari ciptaan Allah SWT di jagat raya ini. Semua ciptaanNya pasti memiliki hikmah sebagai bukti kekuasaan Allah SWT dan sifatNya yang tersucikan dari hal-hal yang serba kurang (Shihab, 2002).

Salah satu dari sekian banyak ciptaan Allah SWT yang memiliki manfaat adalah tumbuhan. Shihab (2007) menjelaskan bahwa tidak ditemukan satu ayat pun yang secara eksplisit melarang makanan nabati (tumbuhan) tertentu. Hal ini merupakan isyarat dari Allah SWT bagi manusia untuk memanfaatkan tumbuhan,

termasuk di antaranya adalah jahe yang memiliki banyak manfaat biologis yang menguntungkan.

Rahmani *et.al* (2014) dan Srinivasan (2017) telah merangkum beberapa aktivitas biologis yang menguntungkan bagi kesehatan. Diantaranya adalah aktivitas, antilipidemik, antiobesitas, antiinflamasi, antimikroba, antitumor, antikanker, antidiabetes, dan antibakteri. Jahe juga memiliki khasiat sebagai agen hepatoprotektif, fotoprotektif, gastroprotektif, nefroprotektif, dan neuroprotektif. Selain itu, jahe juga mampu meningkatkan kemampuan tubuh dalam aktivitas pencernaan dan penyerapan mikronutrisi.

Selain aktivitas biologis di atas, jahe juga memiliki kandungan dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas antioksidan ini disebabkan oleh senyawa gingerol dan turunannya. Gingerol adalah senyawa nonvolatil yang bertanggung jawab terhadap rasa pedas dan tajam yang dimiliki oleh jahe. Gingerol merupakan komponen fitokimia utama pada jahe yang berasal dari golongan fenol dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Stoilova, *et.al.*, 2007; Prakash & Adel, 2010; Srinivasan, 2017).

Senyawa fenol dapat bertindak sebagai antioksidan akibat kemampuannya dalam mendonorkan elektron sehingga dapat berikatan dengan ROS dan RNS pada reaksi terminasi dan menghentikan rantai pembentukan senyawa radikal yang baru. Selain itu, senyawa fenol juga mampu mengkelat ion logam yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas (Pereira *et.al.*, 2009).

Ada beberapa senyawa turunan gingerol pada jahe yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Senyawa-senyawa tersebut meliputi gingerol dan

homolognya, shogaol dan homolognya, gingerdiol dan homolognya, dehidrogingerdion dan homolognya, [6]-paradol, gingerdion dan homolognya, [6]-gingerdiol 3,5-diasetat, dan zingerone (Masuda *et.al.*, 2004; Bhatt *et.al.*, 2013). Selain senyawa-senyawa di atas, Ghasemzadeh *et.al* (2010) juga menjelaskan jenis senyawa lain dari jahe yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu dari golongan flavonoid seperti kuersetin, rutin, catechin, epicatechin, naringenin, dan kaempferol.

Reddy *et.al.* (2011) dan Attia *et.al.* (2013) telah melaporkan bahwa jahe menunjukkan pengaruh protektif dan terapeutik terhadap stress oksidasi pada tikus yang diinduksi oleh timbal dengan cara meningkatkan kadar antioksidan seperti glutathion, glutathion peroksidase, glutathion-s-transferase, sodium dismutase, dan katalase serta menurunkan kadar malondialdehid sebagai penanda biologis untuk peroksidasi lipid.

## 2.6. Jaringan Interaksi Protein dan Senyawa

Jaringan interaksi protein dan senyawa merupakan kumpulan interaksi protein dan senyawa, biasanya yang berpotensi sebagai obat. Prediksi komputasi dari interaksi protein dan senyawa (*compounds and proteins interaction/CPI*) memiliki peran yang sangat penting dalam pembuatan dan perkembangan obat. Karena validasi CPI eksperimental skala genom tidak hanya memakan waktu yang lama tetapi juga memerlukan biaya yang tidak sedikit. Dengan memahami CPI, proses-proses biologis yang terkait penyakit dan pengembangan obat akan lebih mudah dipahami (Yabuuchi *et.al.*, 2011; Liu *et.al.*, 2015).

## 2.7. Sumber Informasi Database

### 2.6.1. ChemSpider

ChemSpider (<http://www.chemspider.com>) adalah sebuah pangkalan data struktur kimia senyawa yang berbasis *web* dan dapat diakses secara gratis. ChemSpider dikembangkan dengan tujuan untuk mengumpulkan informasi dan data yang berdasarkan pada struktur kimia secara *online*. Ada hampir 25 juta senyawa kimia yang disediakan oleh ChemSpider dan telah terhubung dengan kurang lebih 300 sumber data. Pencarian struktur kimia pada ChemSpider dapat dilakukan baik berdasarkan nama maupun strukturnya (Williams, 2010).

### 2.6.2. KNApSAcK-3D

KNApSAcK adalah sebuah pangkalan data yang menyediakan daftar metabolit dari suatu spesies tumbuhan untuk memudahkan peneliti dalam melakukan riset terkait metabolomik. KNApSAcK menyimpan 50.048 data metabolit yang berasal dari 20.741 spesies tanaman, menghasilkan sekitar 101.500 hubungan spesies dan metabolit. KNApSAcK dapat diakses secara gratis melalui [http://kanaya.naist.jp/knapsack\\_jsp/top.html](http://kanaya.naist.jp/knapsack_jsp/top.html) (Afendi *et.al.*, 2012).

## 2.8. Perangkat Lunak

### 2.8.1. PASS Online

PASS atau *Prediction of Activity Spectra for Active Substances* menentukan berbagai aktivitas biologis berdasarkan *Structure Activity Relationship* (SAR) atau hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas biologisnya. PASS memprediksi lebih dari 30.000 senyawa organik dan 4.000 aktivitas biologis dengan rerata akurasi di atas 95% (Filimonov *et.al.*, 2014). Data

hasil prediksi PASS adalah nilai Pa (*Probable activity*) yang menunjukkan tinggi tidaknya aktivitas biologis suatu senyawa dalam skala laboratorium. Jika nilai Pa > 0,7 maka disimpulkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas yang tinggi dalam skala laboratorium. Jika nilainya berkisar antara 0,5 hingga 0,7 maka senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sedang. Jika nilai Pa < 0,5 maka senyawa tersebut memiliki nilai aktivitas yang rendah pada skala laboratorium (Chelliah, 2008).

### 2.8.2. SwissTargetPrediction

SwissTarget memprediksi protein target dari suatu senyawa berdasarkan kesamaan struktur 2D dan 3D senyawa tersebut dengan struktur 2D dan 3D suatu ligan yang telah diketahui. Prediksi ini didukung oleh sejumlah besar *database* interaksi protein dan senyawa sehingga memudahkan pendekatan komputasional untuk mengidentifikasi target baru untuk molekul yang belum diketahui atau target sekunder untuk molekul yang sudah diketahui. Dengan mengetahui protein target, suatu senyawa dapat ditentukan mekanisme molekuler terkait bioaktivitas maupun potensi efek sampingnya. SwissTargetPrediction dapat diakses secara gratis pada <http://www.swisstargetprediction.ch> (Gfeller *et.al.*, 2014).

### 2.8.3. Search Tool for Interacting Chemical (STITCH)

STITCH (<http://stitch.embl.de/>) adalah pangkalan data berbasis *web* yang menggabungkan berbagai interaksi antara protein dan molekul kecil yang tersebar di banyak pangkalan data, artikel-artikel penelitian, dan metode-metode prediksi. STITCH mengintegrasikan sekitar 430.000 senyawa kimia dari berbagai sumber data terpisah menjadi satu sumber yang terpadu dan mudah digunakan. Hasil

integrasi ini juga dilengkapi dengan tampilan jaringan yang memberikan kemudahan bagi pengguna untuk melihat afinitas pengikatan senyawa kimia pada suatu jaringan interaksi. Hal ini memudahkan pengguna untuk mendapatkan gambaran singkat mengenai efek potensial suatu senyawa terhadap partner interaksinya (Szklarczyk *et.al.*, 2016).

#### 2.8.4. STRING

STRING adalah pangkalan data berbasis *web* yang mengumpulkan dan mengintegrasikan interaksi antar-protein, baik fisik (interaksi langsung) maupun fungsional (interaksi tidak langsung). Prediksi interaksi protein didapatkan dari berbagai sumber yaitu; 1) analisis ko-ekspresi sistematis, 2) deteksi sinyal selektif antar-genome, 3) pengolahan data literasi saintifik otomatis, dan 4) transfer komputasional dari interaksi antarorganisme berdasarkan ontologi gen. STRING dapat diakses secara gratis di <https://string-db.org/> (Szklarczyk *et.al.*, 2017).

Beberapa keuntungan yang dimiliki STRING antara lain adalah (Szklarczyk *et.al.*, 2017):

1. Komprehensif, karena meliputi sejumlah besar organisme dan menggunakan sumber input yang luas meliputi pengolahan data dan prediksi komputasi secara otomatis
2. Mudah digunakan. STRING memiliki *user interface* yang intuitif dan dapat terhubung dengan aplikasi Cytoscape
3. Memiliki kontrol kualitas dan dapat ditelusuri, setiap interaksi diberi keterangan dengan nilai *benchmark* yang terpercaya dan dipisahkan berdasarkan tipenya.

STRING juga menyediakan hasil analisis statistika untuk tiap jaringan yang berupa sistem klasifikasi, salah satunya adalah *Gene Ontology* (GO). GO menyediakan berbagai macam sistem klasifikasi protein berdasarkan aktivitas biologisnya seperti fungsi molekuler, proses biologis, dan komponen seluler. Fungsi molekuler menunjukkan potensi dari sebuah produk gen dalam menjalankan fungsinya pada level molekuler seperti pengikatan dan katalisis. Proses biologis adalah suatu perubahan atau kompleks perubahan yang terjadi pada level sel atau organisme yang dibantu oleh satu produk gen atau lebih. Sebagai contoh proses perkembangan lengan pada suatu embrio disebut sebagai perkembangan tungkai. Sementara komponen seluler adalah bagian dari sel atau lingkungan ekstraseluler dimana suatu produk gen dapat ditemukan atau berfungsi secara aktif (Hill *et.al.*, 2008).

#### 2.8.5. Cytoscape

Cytoscape adalah perangkat lunak *open source* yang secara umum digunakan untuk menampilkan dan mengintegrasikan jaringan interaksi biomolekuler menjadi suatu kerangka konseptual yang terpadu. Pada perangkat ini, molekul-molekul biologi seperti protein dan senyawa digambarkan dengan *nodes*, sementara interaksi antar-molekul digambarkan sebagai garis penghubung (*edges*). Fungsi utama Cytoscape adalah mengintegrasikan suatu data acak menjadi sebuah gambaran grafis. Cytoscape juga dilengkapi dengan menu seleksi dan filter, serta metode eksternal yang diimplementasikan sebagai *plugin* terpisah yang dapat digunakan untuk mengontrol tampilan jaringan. Cytoscape dapat diunduh melalui <http://www.cytoscape.org> (Shannon *et.al.*, 2003).

Data interaksi protein dapat dianalisis menggunakan analisis topologi. Analisis topologi adalah analisis kuantitatif yang dilakukan untuk mengetahui protein kunci yang terlibat dalam mekanisme terjadinya suatu penyakit. Beberapa parameter yang diamati dalam analisis topologi antara lain *degree* dan *betweenness centrality*. Keduanya diamati untuk mengetahui jaringan protein secara keseluruhan berdasarkan interaksinya dengan protein dan senyawa lain (Ren *et.al.*, 2016).



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif eksploratif. Metode deskriptif eksploratif dilaksanakan untuk memperjelas dan menentukan dasar suatu permasalahan. Penelitian jenis ini membantu mendiagnosis dimensi permasalahan sehingga akar dari suatu permasalahan dapat dipecahkan (Manerikar & Manerikar, 2014).

#### 3.2. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-Desember 2017 yang bertempat di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### 3.3. Alat dan Bahan

##### 3.3.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan adalah komputer laptop Samsung dengan spesifikasi prosesor AMD Vision A6-4400M APU with Radeon™ HD Graphics (2 CPUs), ~2.7 GHz dan memori RAM 2 GB. Perangkat lunak yang digunakan antara lain adalah PASS Online (*Prediction of Activity Spectra for Substances*) (*web-based*), SwissTargetPrediction (*web-based*), *Search Tool for Interacting Chemicals/STITCH* Version 5.0 (*web-based*), *STRING: Protein-Protein Interaction Network* Version 10.5 (*web-based*), dan Cytoscape

Ver. 3.5.1. Sumber informasi *database* yang digunakan adalah KNApSAcK-3D dan ChemSpider.

### 3.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah metabolit sekunder jahe (*Z. officinale*) yang didapat dari KNApSAcK-3D ([http://kanaya.naist.jp/knapsack\\_jsp/top.html](http://kanaya.naist.jp/knapsack_jsp/top.html)) (Lampiran 2) dan yang didapat dari penelitian Ghasemzadeh *et.al* (2010) mengenai senyawa flavonoid yang dimiliki oleh jahe seperti quercetin, rutin, catechin, epicatechin, dan kaempferol.

## 3.4. Prosedur Penelitian

### 3.4.1. Pengunduhan Metabolit Sekunder Jahe (*Zingiber officinale*)

Senyawa metabolit sekunder dari jahe (*Zingiber officinale*) didapat dari KNApSAcK-3D ([http://kanaya.naist.jp/knapsack\\_jsp/top.html](http://kanaya.naist.jp/knapsack_jsp/top.html)) dan ChemSpider (<http://www.chemspider.com>) (Lampiran 5). Hasil unduhan data metabolit sekunder disajikan pada Lampiran 2.

### 3.4.2. Uji PASS (*Prediction of Activity Spectra for Substances*)

Uji PASS dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antitoksidan dan penangkal radikal bebas dari senyawa metabolit sekunder jahe (*Zingiber officinale*) yang sudah didapat dari prosedur sebelumnya berdasarkan *Structure Activity Relationship* (SAR) atau hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas biologisnya (Filimonov *et.al.*, 2014). Uji PASS dapat dilakukan secara *online* pada <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php>. (Lampiran 6).

### 3.4.3. Prediksi Protein Target Menggunakan SwissTargetPrediction

Prediksi protein target dilakukan menggunakan SwissTargetPrediction untuk mengetahui mekanisme molekuler suatu senyawa. SwissTarget adalah aplikasi berbasis *web* yang menentukan target dari suatu senyawa berdasarkan kemiripan struktur 2D dan 3D (Gfeller *et.al.*, 2014). Prediksi dilakukan secara *online* pada laman SwissTarget Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) Hasil prediksi dapat diunduh dalam bentuk .pdf dan disajikan dalam bentuk tabel (Lampiran 7).

### 3.4.4. Desain Jaringan Interaksi Protein dan Senyawa

Pembuatan jaringan interaksi protein dan senyawa ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara senyawa jahe hasil prediksi PASS, protein target jahe hasil SwissTarget Prediction, enzim antioksidan, ALAD sebagai protein pembawa timbal di dalam darah, dan senyawa yang terlibat dalam stress oksidasi yang dipicu oleh timbal sehingga mekanismenya dapat dipelajari. Langkah ini dilakukan menggunakan STITCH (<http://stitch.embl.de/>) dan STRING (<https://string-db.org/>) (Lampiran 8).

### 3.4.5. Visualisasi dan Analisis Data Menggunakan Cytoscape

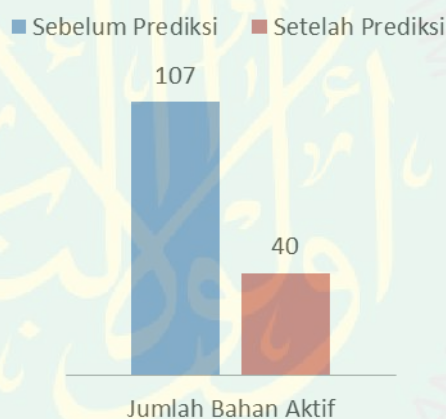
Cytoscape digunakan untuk visualisasi jaringan interaksi protein dan senyawa yang didapat dari STITCH dan STRING. Analisis topologi juga dilakukan menggunakan Cytoscape dengan parameter berupa *degree* dan *betweenness centrality* (Lampiran 9). Untuk analisis fungsional dilakukan menggunakan STRING (Lampiran 8). Cytoscape yang digunakan pada penelitian ini adalah Cytoscape Ver. 3.5.1.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Pengambilan Data dan Analisis Potensi Jahe sebagai Antioksidan Melalui Mekanisme Penangkal Radikal Bebas

107 senyawa senyawa aktif jahe yang didapat dari KNApSACk-3D dan hasil skrining Ghasemzadeh *et.al.* (2010) diprediksi aktivitas antioksidannya sebagai penangkal radikal bebas menggunakan PASS Online. Berdasarkan hasil prediksi, jumlah senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkal radikal bebas hanya 40 senyawa (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Grafik Perbedaan Jumlah Senyawa Sebelum dan Sesudah Prediksi Menggunakan PASS

Senyawa aktif jahe yang memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkal radikal bebas merupakan senyawa dari golongan flavonoid dan senyawa turunan gingerol dengan nilai  $P_a$  yang bervariasi dari 0,5 – 0,9 dengan nilai rata-rata 0,69 (Lampiran 3). Senyawa yang memiliki nilai  $P_a$  tertinggi antara lain adalah senyawa golongan flavonoid seperti rutin, catechin, epicatechin, dan quercetin (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Daftar Senyawa Aktif Jahe dan Nilai Pa

Nilai Pa	Senyawa Aktif Jahe*
>0,7	Rutin, Catechin, Epicatechin, Quercetin, Isogingerenone B, Kaempferol, Naringenin, 6-Dehydrogingerdione, 1-Dehydro-[8]-gingerdione, 1-Dehydro-[6]-gingerdione, 1-Dehydro-[10]-gingerdione, Gingerenone A, 10-Shogaol, [8]-Shogaol, [6]-Shogaol, [12]-Shogaol, [4]-Shogaol, [6]-Dehydroshogaol, [10]-Dehydroshogaol, Acetoxy-[10]-gingerol
0,5 – 0,7	Hexahydrocurcumin, [9]-Paradol, [8]-Paradol, [7]-Paradol, [6]-Paradol, Methyl [8]-Shogaol, Methyl [6]-Shogaol, [7]-Gingerol, 8-Gingerol, 6-Gingerol, 10-Gingerol, Shogasulfonic acid D, [4]-Gingerol, [4]-Isogingerol, [6]-Gingerdione, 6-Gingesulfonic acid, 4-Gingesulfonic acid Dehydrogingerdione, [8]-Gingerdiol, Shogasulfonic acid C

\*Penulisan senyawa diurutkan dari yang paling tinggi ke yang paling rendah

Prediksi PASS dilakukan karena tidak semua senyawa senyawa aktif jahe memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkal radikal bebas. Parameter ini dipilih karena pada kasus keracunan timbal terjadi produksi ROS berlebih sehingga terjadi stress oksidasi (Ahamed & Siddiqui, 2007). Filimonov *et.al* (2014) menyatakan bahwa PASS menentukan berbagai aktivitas biologis berdasarkan *Structure Activity Relationship* (SAR) atau hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas biologisnya.

Data hasil prediksi PASS adalah nilai Pa yang menunjukkan tinggi tidaknya aktivitas biologis suatu senyawa dalam skala laboratorium. Jika nilai Pa > 0,7 maka disimpulkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas yang tinggi dalam skala laboratorium. Jika nilainya berkisar antara 0,5 hingga 0,7 maka senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sedang. Jika nilai Pa < 0,5 maka senyawa tersebut memiliki nilai aktivitas yang rendah pada skala laboratorium (Chelliah, 2008).

Antioksidan adalah molekul yang mampu memperlambat atau mencegah oksidasi molekul lain. Antioksidan dapat mengurangi radikal bebas dengan beberapa cara. Cara pertama adalah dengan berinteraksi langsung dengan radikal bebas (*free radical scavenger*), menerima atau menyumbangkan elektronnya dan menetralkannya sehingga menjadi stabil. Cara lainnya adalah jalur enzimatik, yaitu dengan cara menghambat aktivitas dan/atau ekspresi enzim-enzim yang dapat menghasilkan ROS seperti NADPH oksidase dan xantin oksidase (XO). Antioksidan juga dapat menjalankan fungsi enzimatiknya dengan meningkatkan aktivasi dan/atau ekspresi enzim-enzim antioksidan seperti katalase (CAT), *superoxide dismutase* (SOD) dan glutation peroksidase (GPX) (Sen *et.al.*, 2010; Lu *et.al.*, 2010).

#### **4.2. Prediksi dan Analisis Protein Target dari Senyawa Aktif Jahe**

Langkah pengambilan data lainnya adalah prediksi protein target senyawa aktif jahe menggunakan SwissTargetPrediction. Prediksi target dilakukan untuk mengetahui jenis-jenis protein yang dapat berinteraksi dengan senyawa aktif jahe yang berpotensi sebagai antioksidan di dalam tubuh. Target yang paling mirip disajikan di urutan teratas pada kolom hasil prediksi, disertai dengan keterangan berupa *bar* probabilitas berwarna hijau. Semakin tinggi probabilitas, semakin akurat hasil prediksi. Dalam penelitian ini, protein target yang dipilih hanya protein dengan probabilitas di atas 50%.

Senyawa aktif jahe yang diprediksi protein targetnya adalah senyawa aktif hasil skrining PASS. Hasil prediksi target menghasilkan kurang lebih 56 protein dengan *bar* probabilitas di atas 50% (Lampiran 4). Dari semua protein yang

menjadi target, 5 di antaranya memiliki probabilitas yang paling tinggi atau mendekati 100%. Dengan kata lain, protein target yang paling mendekati 100% memiliki kemungkinan berinteraksi lebih besar dengan senyawa aktif jahe ketika jahe masuk ke dalam tubuh. Kelima jenis protein tersebut adalah *microtubule protein associated tau* (MAPT), *tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1* (TDP1), *5-hydroxytryptamine<sub>1A</sub> receptor* (HTR1A), *arachidonate 15-Lipoxygenase B* (ALOX15B), dan *carbonic anhydrase 1* (CA1).

MAPT adalah protein yang bertanggung jawab untuk perakitan dan stabilitas mikrotubulus. Protein ini juga mungkin terlibat dalam pembentukan dan pertahanan polaritas neuron. Ujung C protein ini berikatan dengan mikrotubulus akson sedangkan ujung N-nya berikatan dengan komponen membran plasma pada neuron dan berfungsi sebagai protein penghubung antara keduanya (Yoshida & Goedert, 2012).

TDP1 adalah enzim golongan superfamili fosfolipase D (PLD) yang berfungsi untuk perbaikan DNA dengan membuang berbagai macam adduksi DNA melalui hidrolisis ikatan 3'-fosfodiester, menghasilkan DNA dengan 3'fosfat yang bebas. Selain itu, TDP1 juga berfungsi untuk mengkatalis hidrolisis dari kompleks antara DNA dan sisi aktif topoisomerase I yaitu residu tirosin. Fungsi lain dari TDP1 adalah menghidrolisis 3'-fosfoglikolat pada ujung 3' rantai ganda DNA yang menonjol akibat kerusakan DNA yang disebabkan oleh radikal bebas (Raymond *et.al.*, 2004).

Protein target dengan nilai tertinggi berikutnya adalah HTR1A. HTR1A adalah reseptor yang terhubung protein G untuk serotonin dan bertanggung jawab

dalam modulasi berbagai fungsi kognitif, tingkah laku, dan perkembangan. Reseptor ini juga berfungsi sebagai reseptor bagi berbagai obat dan senyawa-senyawa yang bersifat psikoaktif. Pengikatan ligan pada reseptor ini mengakibatkan terjadinya perubahan konformasi yang memicu pensinyalan via protein G dan memodulasi aktivitas *downstream* efektor seperti adenilat siklase (Singh *et.al.*, 2012).

ALOX15B adalah enzim golongan dioksigenase yang berfungsi untuk mengkatalis peroksidasi asam lemak tak jenuh bebas dan teresterifikasi yang menghasilkan berbagai senyawa bioaktif mediator lipid. ALOX15B juga berfungsi untuk mengubah asam arakidonat menjadi asam 15S-hidroperoksieikosatetraenoat atau (15S)-HPETE. Enzim ini juga berfungsi mengubah asam linoleat menjadi asam 13-hidroksioktadekadienoat atau 13-HPODE (Kobe *et.al.*, 2014).

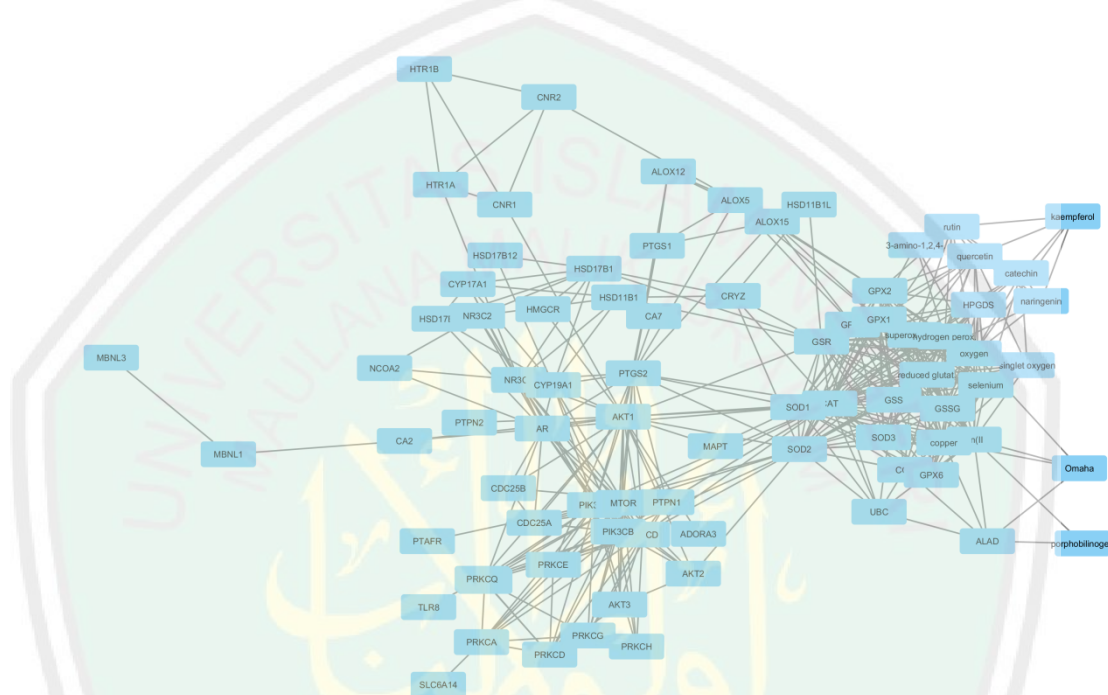
Protein terakhir yang memiliki probabilitas tinggi adalah CA1. Karbonat anhidrase adalah metalloenzim yang memiliki satu ion *zinc* tiap rantai polipeptidanya (berat molekul ~ 30 kDa). Fungsi fisiologis utama dari protein ini adalah mengkatalis karbon dioksida dan ion bikarbonat secara bolak balik. Protein ini juga dapat mengubah sianamida menjadi urea (Briganti *et.al.*, 1999).

### **4.3. Mekanisme Senyawa Aktif Jahe sebagai Antioksidan pada Stress Oksidasi yang diinduksi Timbal**

#### **4.3.1. Jaringan Interaksi Protein dan Senyawa**

Jaringan interaksi protein dan senyawa dibuat untuk mengetahui hubungan antara protein-protein dan senyawa yang terlibat dalam keracunan timbal sehingga

dapat dipelajari mekanismenya, dalam hal ini adalah mekanisme senyawa aktif jahe dalam menurunkan stress oksidasi yang dipicu oleh timbal. Desain jaringan dilakukan menggunakan aplikasi STITCH dan STRING yang berbasis *web*. Hasil tampilan di cytoscape ditampilkan pada Gambar 4.2.



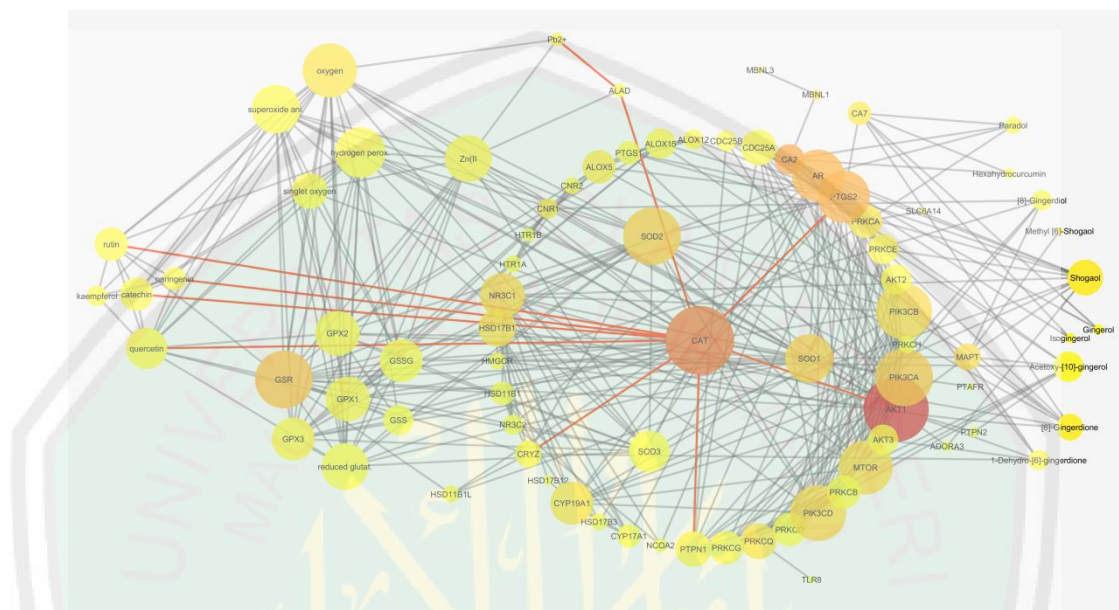
Gambar 4.2 Visualisasi *Raw Data* Interaksi Protein dan Senyawa pada Cytoscape

Hasil visualisasi berupa *nodes* yang dihubungkan oleh *edges*. *Nodes* menggambarkan protein atau senyawa yang berinteraksi, sedangkan *edges* adalah garis-garis yang menghubungkan *nodes* tanda adanya interaksi. Pada jaringan interaksi yang sudah *dimerge* ini terdapat 83 *nodes* dengan 381 *edges*.

#### 4.3.2. Analisis Topologi Protein dan Analisis Fungsional

Ada dua parameter yang digunakan dalam analisis topologi, yaitu *degree* dan *betweenness centrality*. *Degree* ditunjukkan dengan besar kecilnya ukuran senyawa dan protein pada jaringan interaksi. Semakin besar ukuran senyawa atau protein, semakin banyak interaksi langsung yang dimiliki. *Betweenness centrality*

ditunjukkan dengan warna kuning hingga merah. Semakin intens warna merah, maka semakin besar peranan dari protein atau senyawa tersebut (Simos *et.al.*, 2014). Hasil analisis topologi ditunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil Analisis Topologi Protein Berdasarkan *Degree* dan *Betweenness centrality*. Garis Merah Menunjukkan Protein dan Senyawa yang Berinteraksi Langsung dengan CAT

Pada jaringan interaksi protein dan senyawa yang tampak pada gambar 4.5, dapat dilihat bahwa protein yang paling tinggi ukurannya (*degree*) adalah CAT (katalase) dengan nilai 35. Nilai *betweenness centrality* untuk CAT juga tertinggi kedua setelah AKT1 (*RAC-beta serine/threonine-protein kinase*) yaitu sebesar 0.20668917 (Tabel 4.1). Dengan kata lain, CAT dapat dikatakan sebagai protein kunci dalam jaringan interaksi ini. Selain mempunyai nilai *degree* dan *betweenness centrality* yang tinggi, CAT adalah satu-satunya protein yang memiliki interaksi langsung dengan ALAD sebagai protein yang paling sensitif terhadap  $Pb^{2+}$ . Untuk mengetahui jalur mekanisme kerja senyawa dari senyawa

aktif jahe, perlu dilakukan penelusuran lebih lanjut tentang protein apa saja yang berikatan dengan CAT yang menjadi target dari senyawa senyawa aktif jahe.

Tabel 4.2 Nilai *Degree* dan *Betweenness Centrality*\*

<i>Degree</i>		<i>Betweenness centrality</i>	
Protein	Nilai	Protein	Nilai
<b>CAT**</b>	35	<b>AKT1**</b>	0,22827147
AKT1	25	CAT	0,20668917
PTGS2	18	PTGS2	0,08490349
PTPN1	9	PTPN1	0,00762719
CRYZ	6	CRYZ	0,00627276

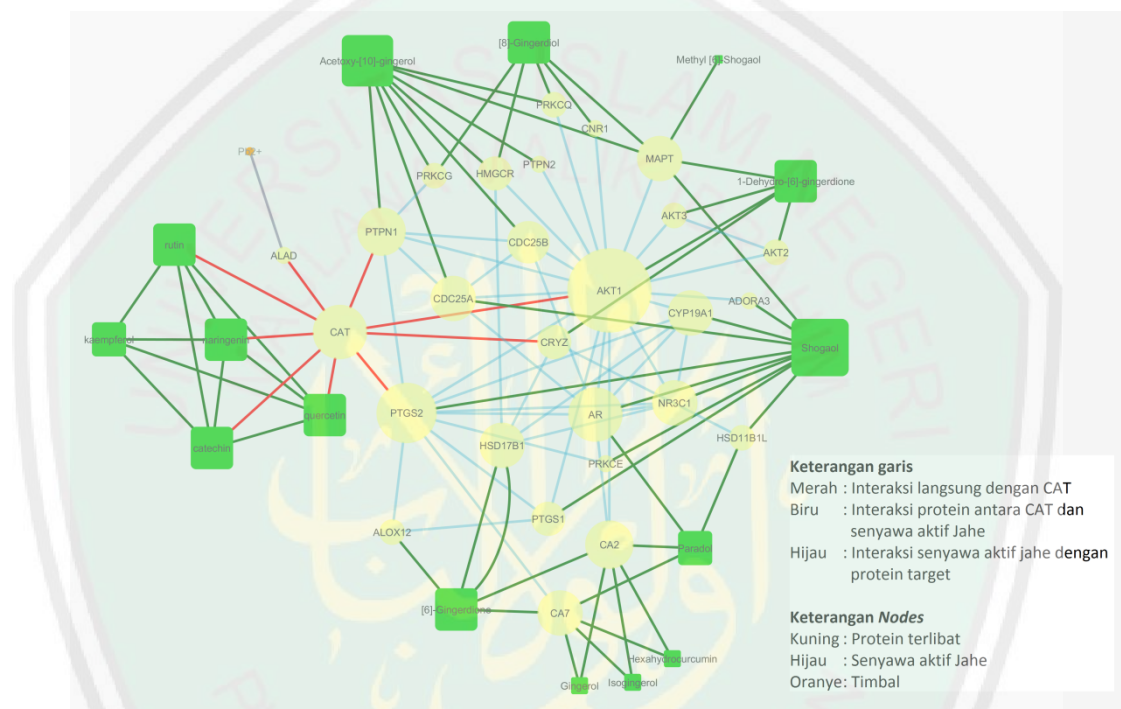
\*Nilai yang muncul adalah nilai hasil analisis pada *software Cytoscape*

\*\*Protein dengan nilai tertinggi untuk tiap parameter

Garis merah pada jaringan interaksi protein (Gambar 4.5) menunjukkan beberapa protein dan senyawa yang berhubungan langsung dengan CAT. Protein-protein yang berinteraksi langsung dengan CAT adalah AKT1 (*RAC-beta serine/threonine-protein kinase*), PTGS2 (*Prostaglandin G/H synthase 2*), PTPN1 (*Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1*), dan CRYZ (*Quinone oxidoreductase*). Adapun senyawa aktif jahe yang berinteraksi langsung dengan CAT adalah quercetin, rutin, naringenin, dan catechin. Protein dan senyawa lain yang berinteraksi langsung dengan protein target CAT selanjutnya akan membentuk jalur mekanisme tidak langsung terkait pengaruh ekstrak jahe terhadap timbal.

Gambar 4.4 menunjukkan bagaimana senyawa aktif jahe memberikan pengaruh secara tidak langsung terhadap timbal. *Node* berwarna hijau mewakili senyawa dari senyawa aktif jahe sedangkan *node* berwarna kuning adalah protein target yang terlibat. Adapun timbal digambarkan dengan *node* berwarna oranye tua. Senyawa-senyawa dari jahe yang terlibat dalam jaringan ini antara lain adalah rutin, quercetin, naringenin, catechin, kaempferol, gingerol, paradol, shogaol, [6]-

gingerdione, [8]-gingerdiol, 1-dehydro-[6]-gingerdione, acetoxy-[10]-gingerol, dan methyl-[6]-shogaol. Interaksi senyawa-senyawa ini diharapkan dapat mengaktifkan protein-protein yang berinteraksi dengan protein yang berinteraksi langsung dengan CAT. Selanjutnya CAT akan berinteraksi dengan ALAD yang berikatan langsung dengan timbal sebagai protein pembawa timbal.



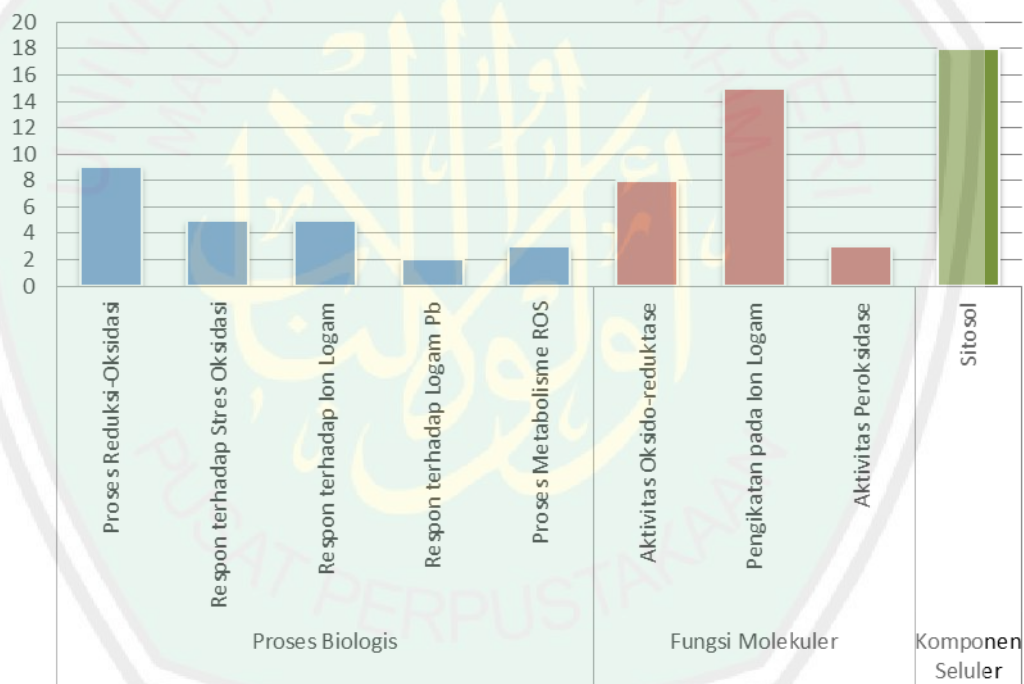
Gambar 4.4 Interaksi Senyawa Senyawa Aktif Jahe dengan Timbal Melalui Katalase (CAT)

ALAD adalah salah satu enzim utama dalam jalur sintesis heme yang bertugas merubah dua molekul ALA menjadi porfobilinogen (PBG) dengan bantuan ion Zn. Timbal mengganggu proses ini dengan cara berikatan dengan gugus sulfidril pada ALAD dan menggantikan Zn. Sintesis heme yang terganggu ini mengakibatkan banyak gangguan metabolisme pada banyak organ seperti otak, ginjal, dan hati (Berdaghl, 1998; Jaffe *et.al.*, 2001; Patrick, 2006).

ALAD dikode oleh gen ALAD yang memiliki dua jenis alel, yaitu ALAD1 dan ALAD2. Perbedaan alel pada gen ALAD ini menyebabkan perbedaan jumlah timbal yang menempel pada protein ALAD yang dihasilkan. ALAD2 yang bersifat lebih elektronegatif, mengikat timbal yang bersifat positif dengan lebih kuat, sehingga meningkatkan kadar timbal darah. Dengan kata lain, ALAD2 mungkin lebih rentan terhadap timbal, tetapi dapat juga disimpulkan bahwa ikatan antara ALAD2 yang elektronegatif dengan timbal yang positif dapat membentuk ikatan yang bersifat netral sehingga mengurangi toksisitas timbal (Kelada *et.al.*, 2001; Gonick, 2011). Interaksi ALAD dengan CAT secara langsung maupun dengan protein target jahe secara tidak langsung dapat mengaktifasi ALAD sehingga dapat mengembalikan fungsi normal ALAD.

CAT selain berikatan dengan ALAD juga berinteraksi enzim-enzim antioksidan lainnya seperti SOD, GR, GPx, GSS, dan GSSG. Di sisi lain, CAT juga membentuk interaksi langsung dengan senyawa flavonoid jahe seperti quercetin, rutin, catechin, dan naringenin. Semua senyawa dan enzim yang telah disebutkan di atas membentuk interaksi baik langsung maupun tidak langsung dengan berbagai ROS yang terdapat pada jaringan seperti hidrogen peroksida, hidroksil radikal, dan superoksida (Gambar 4.3). Interaksi ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dan penangkal radikal bebas oleh senyawa jahe. Aktivitas ini diperlukan karena pada keracunan timbal terjadi pembentukan ROS berlebih akibat terjadinya oksidasi ALA yang gagal diubah menjadi PBG oleh ALAD (Berdaghl, 1998).

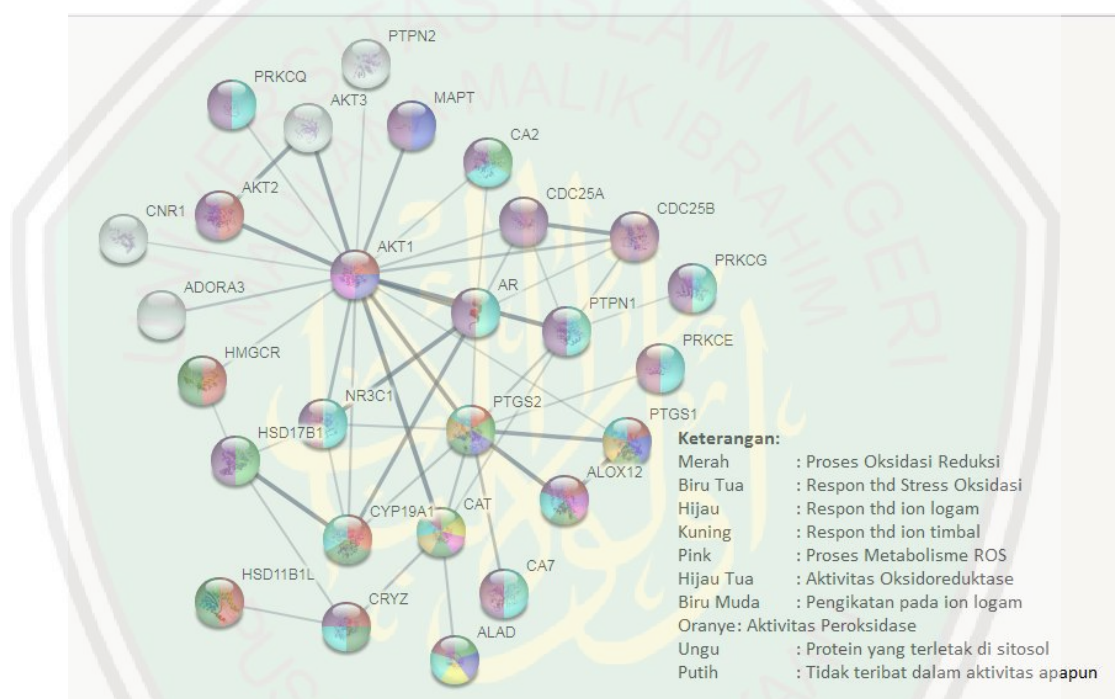
Beberapa protein yang menjadi target langsung maupun tidak langsung dari CAT (Gambar 4.4) juga dilihat aktivitas biologisnya menggunakan analisis fungsional yang didapat dari STRING. Parameter yang diamati antara lain adalah proses biologis, fungsi molekuler, dan komponen seluler. Pada analisis fungsional ini, protein-protein target jahe dicari aktivitas biologisnya yang terkait dengan stress oksidasi. Hasil analisis fungsional menunjukkan adanya beberapa aktivitas biologis terkait stress oksidasi yang dimiliki oleh protein-protein target jahe yang terlibat dalam jaringan interaksi berikut jumlah proteinnnya (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Jumlah Protein yang Terlibat dalam Tiap Parameter

Setiap aktivitas biologis memiliki beberapa parameter yang berhubungan dengan proses reduksi-oksidasi. Proses biologis yang terkait stress oksidasi antara lain proses oksidasi-reduksi (ditunjukkan oleh warna merah), respon terhadap stress oksidasi (biru tua), respon terhadap ion logam (hijau), respon terhadap ion

timbangan (kuning), dan proses metabolisme ROS (pink). Sedangkan fungsi molekuler yang mempunyai hubungan dengan proses reduksi oksidasi di antaranya adalah aktivitas oksidoreduktase (hijau tua), pengikatan pada ion logam (biru muda), dan aktivitas peroksidase (oranye). Berdasarkan analisis ini diketahui juga bahwa protein yang terlibat sebagian besar terletak di sitosol (ungu) (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 Jenis-Jenis Protein yang Terlibat dalam Aktivitas Biologis Terkait Stress Oksidasi

Semua parameter ini menunjukkan bahwa ada banyak protein dalam interaksi jaringan yang terlibat dalam aktivitas biologis terkait proses reduksi oksidasi dan stress oksidasi aktivitas antioksidan. Hal ini semakin menegaskan peran jahe secara molekuler dalam menurunkan stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal dimana senyawa aktif jahe dapat berinteraksi dengan protein-protein target yang terlibat dalam aktivitas biologis yang berkaitan dengan stress oksidasi.

Garis interaksi dan perbedaan ukuran *node* juga dapat digunakan untuk mengetahui tipe senyawa jahe yang paling efektif. Ukuran yang berbeda ini menunjukkan perbedaan jumlah protein target dari senyawa aktif jahe. Shogaol, acetoxo-[10]-gingerol, [8]-gingerdiol, dan 1-dehydro-[6]-gingerdione (senyawa turunan gingerol) adalah senyawa dengan target terbanyak. Semakin banyak protein target yang berinteraksi dengan senyawa aktif jahe, semakin tinggi pula jumlah interaksi protein dengan CAT yang diharapkan dapat mengaktivasi maupun meningkatkan ekspresi CAT. Adapun rutin, quercetin, catechin, naringenin, dan kaempferol adalah senyawa-senyawa yang memiliki jalur terdekat dengan CAT.

Gingerol dan turunannya merupakan senyawa utama yang terdapat di jahe dan bertanggung jawab terhadap aroma yang dimilikinya (Chu *et.al.*, 1986; Jolad *et.al.*, 2005). Gingerol juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi berdasarkan beberapa aktivitas seperti penangkal radikal bebas, kemampuannya dalam mereduksi, serta inhibisi oksidasi minyak dan liposom (Masuda *et.al.*, 2004; Stoilova *et.al.*, 2007; Adel & Prakash, 2010). Masuda *et.al.* (2004) juga menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan gingerol ini disebabkan oleh panjang rantai alkil pada gingerol dan senyawa turunannya.

Sehubungan dengan aktivitas antioksidan jahe, beberapa peneliti telah melaporkan bahwa jahe mampu menurunkan laju peroksidasi lipid dan meningkatkan kadar SOD, CAT, dan GPx dibanding asam askorbat (Ahmed *et.al.*, 2000). Jahe juga dilaporkan dapat menurunkan kadar malondialdehid dan

meningkatkan kadar SOD, CAT, GPx, GST, dan glutation pada kasus keracunan timbal (Reddy *et.al.*, 2001; Attia *et.al.*, 2013; Ol *et.al.*, 2016).

Berdasarkan keseluruhan pemaparan di atas, dapat disimpulkan bahwa jahe adalah tanaman yang memiliki aktivitas biologis yang menguntungkan. Dalam al-Qur'an, tumbuhan yang memiliki manfaat digambarkan dengan kata *zawjin kariim* (زوج كريم) seperti terdapat pada surat Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧)

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya, Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara' (26):7).

Al-Qurthubi (2009) menjelaskan bahwa *zawjin kariim* memiliki arti baik dan mulia (حسن و شريف) yang asal katanya adalah kemuliaan dan kebermanfaatan (الشرف والفضل). Lebih lanjut, al-Qurthubi memberikan contoh dengan kurma yang baik yang berarti bahwa kurma tersebut memiliki manfaat yang baik. Shihab (2007) juga menjelaskan bahwa tidak ada satu ayat pun yang secara eksplisit mengharamkan atau melarang makanan nabati (tumbuhan) tertentu. Beberapa ayat justru memerintahkan manusia untuk memperhatikan makanannya diikuti dengan pemberian jenis-jenis makanan dari tumbuhan seperti pada surat 'Abasa ayat 24-32.

Tumbuhan yang baik dan memiliki manfaat ini dapat digunakan sebagai bahan obat untuk menjauhkan manusia dari penyakit. Dalam hal ini, didukung data hasil penelitian, jahe dapat digunakan untuk mengatasi keracunan timbal yang menyebabkan stress oksidasi. Penggunaan jahe sebagai obat ini sejalan

dengan pandangan Islam terhadap kesehatan dimana agama Islam bertujuan untuk memelihara jiwa, akal, dan kesehatan umat manusia. Namun perlu diingat bahwa pengobatan hanyalah salah satu upaya manusia mendapatkan atau mempertahankan kesehatan, sedangkan penyebab kesembuhan yang utama adalah kehendak Allah SWT seperti yang diucapkan oleh Nabi Ibrahim AS dalam surat Asy-Syu'ara' (26):80 (Shihab, 2007),

وَ إِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ (٨٠)

*Artinya: “Apabila aku sakit, Dialah (Allah) yang menyembuhkan aku”*



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.2. Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Hasil visualisasi dan analisis menunjukkan bahwa senyawa aktif jahe berperan secara tidak langsung. Mekanisme ini terjadi melalui protein target yang berinteraksi dengan protein kunci dalam jaringan interaksi protein dan senyawa pada stress oksidasi yang diinduksi oleh timbal sehingga diharapkan jahe dapat mengaktivasi protein-protein tersebut dan meningkatkan ekspresinya.
2. Senyawa jahe yang terlibat dan memiliki peran yang tinggi berdasarkan jumlah targetnya dalam jaringan interaksi adalah Shogaol, acetoxy-[10]-gingerol, [8]-gingerdiol, dan 1-dehydro-[6]-gingerdione. Sementara rutin, quercetin, catechin, naringenin, dan kaempferol adalah senyawa-senyawa yang memiliki jalur terdekat dengan CAT.

#### 5.3. Saran

Hasil dari penelitian ini masih terbatas pada ranah prediksi dan teori sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai beberapa hal berikut:

1. Jenis protein target dari jahe di dalam tubuh manusia dan jenis ikatannya dengan jahe melalui teknik penambatan molekuler.
2. Mekanisme protein target jahe dalam mengaktivasi protein-protein lain hingga mencapai ALAD secara *in vitro*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afendi, Farit Mochamad, T. Okada, M. Yamazaki, A. Hirai-Morita, Y. Nakamura, K. Nakamura, S. Ikeda, H. Takahasi, Md. Altaf-Ul-Amin, L.K. Darusman, K. Saito, dan S. Kanay. 2012. KNAPSAcK Family Databases: Integrated Metabolite-Plant Species Databases for Multifaceted Plant Research. *Plant Cell Physiology*, Vol. 53(2): e1 (1-12).
- Ahamed, M. & M.K.J. Siddiqui. 2007. Low Level Lead Exposure and Oxidative Stress. *Clinica Chimica Acta* 383 hal. 57-64.
- ATSDR. 2007. *Toxicological Profile of Lead*. Georgia: U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Attia, A.M.M., F.A.A. Ibrahim, G.M. Nabil, & S.W. Aziz. 2013. Antioxidant Effects of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) against Lead Acetate-Induced Hepatotoxicity in Rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 7(20): 1213-1219.
- Aziz, D.M., M.A. Wsoo, & B.M. Ibrahim. 2015. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Extracts from Medicinal Plant Ginger (*Zingiber officinale*) and Identification of Components by Gas Chromatography. *African Journal of Plant Science*. Vol. 9(10): 412-420.
- Bandyopadhyay, Debasish, D. Ghoshi, A. Chattopadhyay, S. B. Firdausi, A.K. Ghoshi, S. Paul, D. Bhowmik, S. Mishra, & K. Dalui. 2014. Lead Induced Oxidative Stress: A Health Issue of Global Concern. *Journal of Pharmacy Research*. 8(9): 1198-1207.
- Banerjee, S., Mullick, H.I., & Banerjee, J. 2011. *Zingiber officinale*: A Natural Gold. *International Journal of Pharma and Bio Science*. Vol 2(1).
- Berdaghl, I.A. 1998. Lead-Binding Proteins – a Way to Understand Lead Toxicity?. *Analisis Magazine* 1998, 26.
- Berman, H.M., J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, & P.E. Bourne. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. Vol. 28, No. 1: 235–242.
- Bhatt, N., M.I. Waly, M.M. Essa, & A. Ali. 2013. Ginger: A Functional Herb. Di unduh dari <https://www.researchgate.net/publication/257416254> pada 10 Agustus 2017.
- Bhattacharya, Susinjan. 2015. Reactive Oxygen Species and Cellular Defense System. *Free Radicals in Human Health and Disease*.

- Briganti, Fabrizio, S. Mangani, A. Scozzafava, G. Vernaglione, & C. T. Supuran. 1999. Carbonic Anhydrase Catalyze Cyanamide Hydration to Urea: Is It Mimicking The Physiological Reaction?. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, Vol. 4(528-536).
- Carocci, A. A. Catalano, G. Lauria, MS. Sinicropi, & G. Genchi. 2016. Lead Toxicity, Antioxidant Defense and Environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 238: 45-67.
- Chelliah, D. Abiya. 2008. Biological Activity Prediction of an Ethno Medicinal Plant *Cinnamomum camphora* Through Bio-informatics. *Ethnobotanical Leaflets* 12: 181-190.
- Contreras, Y.A., L.G. Ocanas, K.C. Diaz, & X.S.R. Gomez. 2011. Effect of Glycine on Lead Mobilization, Lead-Induced Oxidative Stress, and Hepatic Toxicity in Rats. *Journal of Toxicology*.
- CSEM. 2017. *Lead Toxicity*. Georgia: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Case Studies in Environmental Medicine.
- Delin, Wu & Kai Larsen. 2000. Zingiberaceae. *Flora of China*. Vol. 24: 322-377.
- Dhanik, J., N. Arya, & V. Nand. 2017. A Review on *Zingiber officinale*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6(3): 174-184.
- Filimonov, D. A., A. A. Lagunin, T. A. Glorizova, A. V. Rudik, D. S. Druzhilovskii, P. V. Pogodin, & V. V. Poroikov. 2014. Prediction of The Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using The Pass Online Web Resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, Vol. 50, No. 3
- Flora, G., D. Gupta, & A. Tiwari. 2012. Toxicity of Lead: A Review with Recent Updates. *Interdiscip Toxicol*. 5(2): 47-58.
- Flora, S.J.S., M. Mittal, & A. Mehta. 2008. Heavy Metal Induced Oxidative Stress and Its Possible Reversal By Chelation Therapy. *Indian Journal of Medical Research*. Vol. 128: 501-523.
- Fowler, Bruce A. 1998. Roles of Lead-Binding Proteins in Mediating Lead Bioavailability. *Environmental Health Perspectives*. 106(6): 1585-1587.
- Garza, A., R. Vega, & E. Soto. 2006. Cellular Mechanisms of Lead Neurotoxicity. *Med Sci Monit*. 12(3): 57-65.
- Gfeller, David, A. Grosdidier, M. Wirth, A. Daina, O. Michielin, & V. Zoetel. 2014. SwissTargetPrediction: a Web Server for Target Prediction of Bioactive Small Molecule. *Nucleic Acids Research*, 2014, Vol. 42, Web Server issue.

- Gillis, B.S., Z. Arbleva, I. M. Gavin. 2012. Analysis of Lead Toxicity in Human Cells. *BMC Genomics*. 13(344).
- Gonick, Harvey C. 2011. Lead-Binding Proteins: A Review. *Journal of Toxicology Volume 2011, Article ID 686050, 10 pages*
- Gurer, H., H. Ozgunes, E. Saygin, & N. Ercal. 2001. Antioxidant Effect of Taurine Against Lead-Induced Oxidative Stress. *Arch. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 41: 397–402.*
- Gusnita, Dessy. 2012. Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) di Udara dan Upaya Penghapusan Bensin Bertimbal. *Berita Dirgantara. Vol. 13(3): 95-101.*
- Held, Paul. 2015. *An Introductio to Reactive Oxygen Species, Measurement of ROS in Cells*. Vermont: BioTek Instruments, Inc.
- Hill, David P., Barry Smith, Monica S. McAndrews-Hill, & Judith A. Blake. 2008. Gene Ontology Annotations: What Ther Mean and Where They Come From. *Proceedings of 10th Bio-Ontologies Special Interest Group Workshop 2007. Ten Years Past and Looking to The Future*. Dipublikasikan di *BMC Bioinformatics 2008, 9 (Suppl 5):S2.*
- Imani, Kamal Faqih. 2006. *Tafsir Nurul Quran Jilid 16 Edisi Bahasa Indonesia*. Jakarta: Penerbit Al-Huda.
- Jaffe, Eileen K., Jacob Martins, Jian Li, Jukka Kervinen, & Roland L. Dunbrack Jr. 2001. The Molecular Mechanism of Lead Inhibiton of Human Porphobilinogen Synthase. *Journal of Biological Chemistry, Vol. 276, No. 2.*
- Jangid, A.P., P.J. John, & D. Yadav. 2012. Impact of Chronic Lead Exposure on Selected Biological Markers. *Indian Journal of Clinical Biochemistry. 27(1): 83-89.*
- Jolad, Shivanand D., R. Clark Lantz, Guan Jie Chen, Robert B.Bates, & Barbara Timmermann. 2005. Commercially Processed Dry Ginger (*Zingiber officinale*): Composition and Effects on LPS-stimulated PGE2 Production. *Phytochemistry, Vol. 66 Issue 13, pages 1614-1635.*
- Kabel, Ahmed M. 2014. Free Radicals and Antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World Journal of Nutrition and Health. 2(3): 35-38.*
- Kathuria, Pranay. 2016. *Lead Toxicity: Background, Pathophysiology, Etiology*. Artikel. Diunduh dari <http://www.emedicine.medscape.com/article/1174752-overview> pada tanggal 6 Oktober, 2016.

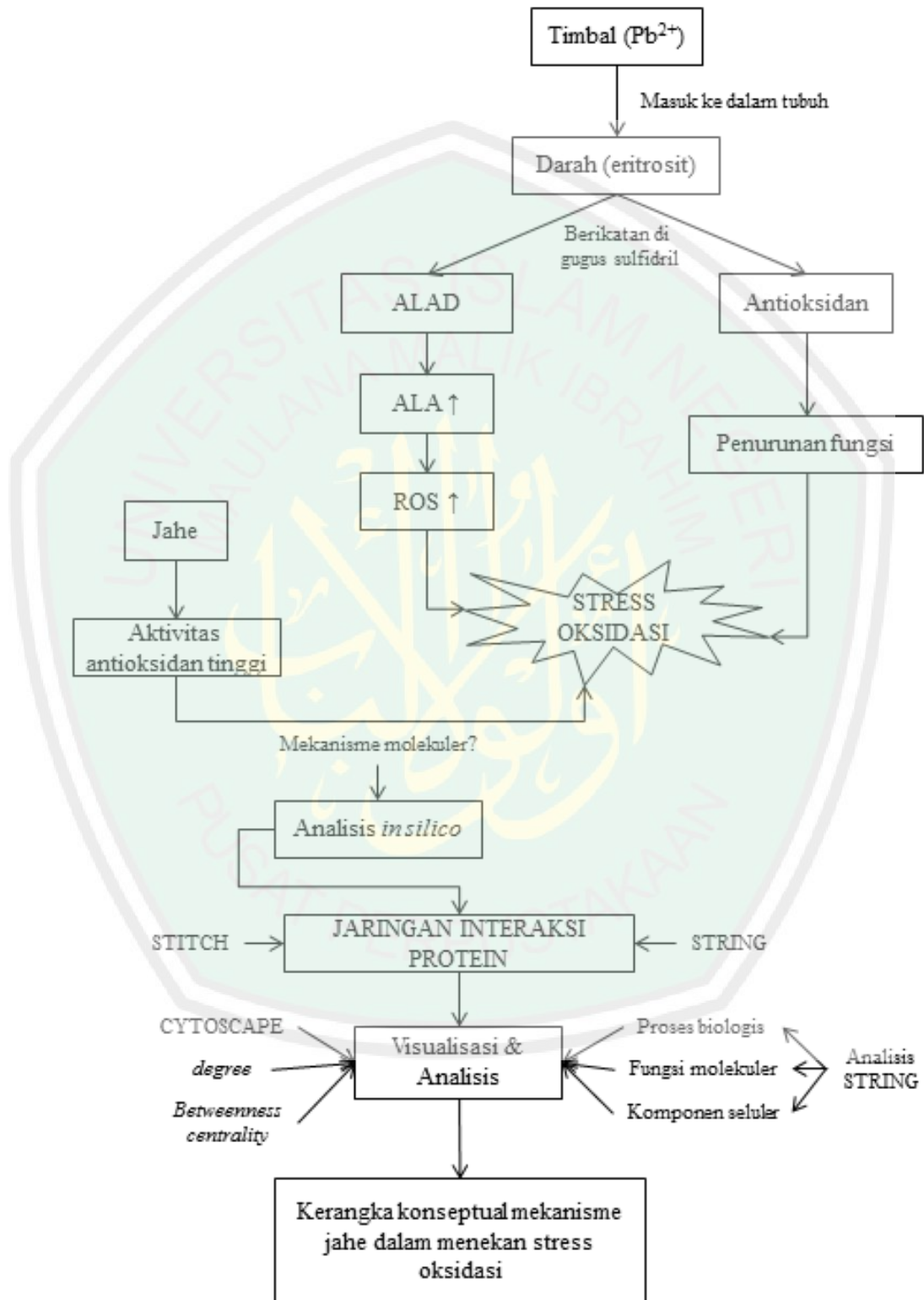
- Kaul, Nalini & Henry Jay Forman. 2000. "Reactive Oxygen Species in Physiology and Toxicology". Book Chapter dari *Toxicology of the Human Environment: The Critical Role of Free Radicals*. Ed. Chris J. Rhodes. London: Taylor & Frances.
- Kaul, P.N. & B.S. Joshi. 2001. Alternative Medicine: Herbal Drugs and Their Critical Appraisal –Part II. *Progress in Drug Research Vol. 51: 1-75*.
- Kelada, Samir N, Erin Shelton, Rachel B. Kaufmann, & Muin J. Khoury. 2001.  $\delta$ -Aminolevulinic Dehydratase Genotype and Lead Toxicity. *American Journal of Epidemiology, Vol. 154, No. 1*.
- Kobe, Matthew J., David B. Neau, Caitlin E. Mitchell, Sue G. Bartlett, & Marcia E. Newcomer. 2014. The Structure of Human 15-Lipoxygenase-2 with a Substrate Mimic. *The Journal of Biological Chemistry Vol. 289(12): 8562-8569*.
- Leeson, Paul. 2012. Drug Discovery: Chemical Beauty Contest. *Nature. Vol. 481: 455-456*.
- Liou, Geou-Yarh & Peter Storz. 2010. Reactive Oxygen Species in Cancer. *Free Radical Research. Vol. 44(5)*.
- Lone, A.A., S.A. Ganai, R.A. Ahanger, H.A. Bhat, T.A. Bhat, & I.A. Wani. 2013. Free Radicals and Antioxidants: Myths, Facts, and Mysteries. *African Journal of Pure and Applied Chemistry. Vol. 7(3): 91-113*.
- Lu, Jian-Ming, Peter H. Lin, Qizhi Yao, & Changyi Chen. 2010. Chemical and Molecular Mechanisms of Antioxidants: Experimental Approaches and Model Systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine, Vol. 14(4): 840-860*.
- Manerikar, Vijaya & Sumeet Manerikar. 2014. A Note on Exploratory Research. *aWEshkar Vol. XVII Issue 1*.
- Masuda, Yuki. Hiroe Kikuzaki, Masashi Hisamoto, & Nobuji Nakatani. 2004. Antioxidant Properties of Gingerol Related Compounds from Ginger. *Biofactors. Vol. 21*.
- Mohammad, Imran Khan, A.A. Mahdi, A. Raviraja, I. Najmul, A. Iqbal, & V. Thuppil. 2008. Oxidative Stress in Painters Exposed to Low Lead Levels. *Arh Hig Rada Toksikol. Vol. 59: 161-169*.
- Ol, Mohamed, A.F. El-Nahas, Y.S El-Sayed, & K.M. Ashry. 2016. Ginger Modulates Pb-induced Oxidative Stress and Expression of Antioxidant Gene Transcript in Rat Liver. *Pharmaceutical Biology, Vol. 54 Issue 7*.

- Palar, Heryando. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rhineka Cipta.
- Patra, R.C., A.K. Rautray, & D. Swarup. 2011. Oxidative Stress in Lead and Cadmium Toxicity and It's Amelioration. *Veterinary Medicine International*.
- Patrick, Lyn. 2006. Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Alternative Medicine Review*. 11(2): 114-127.
- \_\_\_\_\_. 2006. Lead Toxicity, A Review of the Literature. Part I: Exposure, Evaluation, and Treatment. *Alternative Medicine Review*. 11(1): 2-22.
- Pereira, David M., P. Valentao, J.A. Pereira, & P.B. Andrade. 2009. Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*. Vol. 14: 2202-2211.
- Prakash, J. & Shirin Adel. 2010. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Ginger Root (*Zingiber officinale*). *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(24), pp. 2674-2679.
- Qurthubi, Syekh Imam. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta Selatan: Pustaka Azzam.
- Rahman, T., I. Hosen, M.M.T. Islam, & H.U. Shekhar. 2012. Oxidative Stress and Human Health. *Advances in Biosciences and Biotechnology*. Vol. 3: 997-1019.
- Rahmani, A.H., F.M. Al Shabrmi, & S.M. Aly. 2014. Active Ingredients of Ginger as Potential Candidates in the Prevention of Diseases via Modulation of Biological Processes. *Int. J. Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 6(2): 125-136.
- Raymond, Amy C., Marc C. Rideout, Bart Staker, Kathryn Hjerrild, & Alex B. Burgin Jr. 2004. Analysis of Human Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase I Catalytic Residues. *Journal of Molecular Biology*, 338, 895–906.
- Reddy, Y.A., M. Chalamaiah, B. Ramesh, G. Balaji, & P. Indira. 2011. Ameliorating Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) Extract Against Lead Induced Renal Toxicity in Male Rats. *J. Food Sci. Technol*.
- Ren, W., Li, Y., Wu, S., Feng, H. & Li, R. 2016. Protein-Protein Interaction (PPI) Network And Significant Gene Analysis Of Breast Cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, Vol. 9, No. 6, pp.9033–9043.

- Saleh, Afaf Abbas Sayed. 2014. Potential Effects of Some Antioxidants against Lead Toxicity. *International Journal of Advanced Research, Volume 2, Issue 5, 824-834.*
- Sen, S., R. Chakraborty, C. Sridhar, Y.S.R. Reddy, & B. De. 2010. Free Radicals, Antioxidants, Diseases, and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. Vol. 3(1): 91-100.*
- Shannon, Paul, A. Markiel, O. Ozier, N.S. Baliga, J.T. Wang, D. Ramage, N. Amin, B. Schwikowski, & T. Ideker. Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks.
- Sharma, Neeti. 2014. Free Radicals, Antioxidants and Disease. *Biology and Medicine. 6(3).*
- Sharma, S., V. Sharma, R. Paliwal, & Pracheta. 2011. Lead Toxicity, Oxidative Damage and Health Implications. A Review. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research. 2(13):215-221.*
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Qur'an Jilid 4.* Jakarta: Lentera Hati.
- \_\_\_\_\_, M. Quraish. 2007. *Wawasan Al-Qur'an Tafsir Tematik atas Pelbagai Persoalan Umat.* Bandung: Penerbit Mizan.
- Shin, Sang-Guk, Kim Ji Young, Chung Hae Young, & Jeong Ji Cheon. 2005. Zingerone as an Antioxidants against Peroxynitrite. *J. Agric. Food Chem. Vol. 53: 7617-7622.*
- Singh, Pushpendra, Yamuna Devi Paila & Amitabha Chattopadhyay. 2012. Role of Glycosphingolipids in the Function of Human Serotonin 1A Receptors. *Journal of Neurochemistry, Vol. 123(716-724).*
- Simos, T., U. Georgopoulou, G. Thyphronitis, J. Koskinas. & C. Papaloukas. 2015. Analysis of protein interaction networks for the detection of candidate Hepatitis B and C Biomarkers. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics, Vol. 19, No. 1, pp.181-189.*
- Srinivasan, Krishnapura. 2017. Ginger Rhizomes (*Zingiber officinale*): A Spice with Multiple Health Beneficial Potentials. *Pharma Nutrition. Vol. 5: 18-28.*
- Stoilova, I., A. Krastanov, A. Stoyanova, P. Denev, & S. Gargova. 2007. Antioxidant Activity of a Ginger (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry 102: 764-770.*

- Szklarczyk, Damian, A. Santos, C. von Mering, L. J. Jensen, P. Bork, and M. Kuhn. 2016. STITCH 5: Augmenting Protein–Chemical Interaction Networks with Tissue and Affinity Data. *Nucleic Acids Research*, 2016, Vol. 44, Database issue.
- Szklarczyk, Damian, J.H. Morris, H. Cook, M. Kuhn, S. Wyder, M. Simonovic, A. Santos, N.T. Doncheva, A. Roth, P. Bork, L.J. Jensen, and C. von Mering. 2017. The STRING Database In 2017: Quality-Controlled Protein–Protein Association Networks, Made Broadly Accessible. *Nucleic Acids Research*, 2017, Vol. 45, Database issue.
- Tkachenko, Halyna & Natalia Kurhalyuk. 2011. Lead-Induced Oxidative Stress, Antioxidant Defence System And Their Response To Administration Of L-Arginine In Rats With Different Resistance To Hypoxia. *Bull Vet Inst Pulawy*. Vol. 55: 529-535,
- Turmudzi, Muhammad. 1994. *Sunan al-Turmudzi*. Riyadl: Maktabat al-Ma'arif.
- UNEP. 2010. *Final Review of Scientific Information on Lead*. Nairobi: United Nations Environment Programme.
- Valko, M., C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, & M. Mazur. 2005. Free Radicals, Metals, and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. *Journal of Chemical-Biological Interaction*. Vol. 160: 1-40.
- Wang, Chunhong, Jiancheng Liang, Chunliang Zhang, Yongyi Bi, Xianglin Shi, & Qun Shi. 2007. Effect of Ascorbic Acid and Thiamine Supplementation at Different Concentrations on Lead Toxicity in Liver. *Ann. Occup. Hyg.*, Vol. 51, No. 6, pp. 563–569.
- WHO. 2010. *Exposure to Lead: A Major Public Health Concern*. Geneva: World Health Organization, Department of Public Health and Environment.
- Williams, Anthony J. 2010. ChemSpider: Integrating Structure-Based Resources Distributed across the Internet. Book Chapter from *Enhancing Learning with Online Resources Networking, and Digital Libraries* Vol. 1060. Ed. Robert E. Berford, John W. Moore, & Harry E. Pence.
- Yoshida, Hirotaka & Michel Goedert. 2012. Phosphorylation of Microtubule-associated Protein Tau by AMPK-related Kinases. *Journal of Neurochemistry* Vol. 120 (165-176).
- Yoshikawa, Toshikazu & Yuji Naito. 2002. What Is Oxidative Stress?. *JMAJ*. Vol. 45(7): 271-276.

LAMPIRAN 1. KERANGKA PENELITIAN



## LAMPIRAN 2. DAFTAR METABOLIT JAHE (KNApSAcK-3D)

C-ID	METABOLIT	RUMUS MOLEKUL	BERAT MOLEKUL
C00000135	(-)-Camphor	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.12011513
C00000136	1,8-Cineole	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00000805	alpha-Pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00000816	beta-Pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00000819	(+)-Camphor	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.12011513
C00000839	3-Carene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00000844	Citronellol	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	156.15141526
C00000845	Geraniol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00000855	Nerol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00000861	Terpinolene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00002746	[6]-Gingerdione	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	292.16745925
C00002747	Gingerenone A	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>	356.16237388
C00002748	(S)-6-Gingerol	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	294.18310932
C00002764	[6]-Paradol	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	278.1881947
C00002771	Safrole	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	162.06807956
C00002774	[6]-Shogaol	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	276.17254463
C00003028	Borneol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00003029	Camphene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00003035	(E)-Citral	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.12011513
C00003036	(Z)-Citral	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.12011513
C00003040	p-Cymene	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134.10955045
C00003047	(R)-linalool	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00003051	alpha-Phellandrene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00003106	beta-Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00003111	Cedr-8-ene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00003118	Copaene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00003122	(S)-(+)-Curcumene	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202.1721507
C00003130	(E,E)-alpha-Farnesene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00003183	beta-Santalol	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220.18271539
C00003204	(-)-Zingiberene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00003672	(-)-beta-Sitosterol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414.38616622
C00007242	beta-Bisabolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00007562	Methylglyoxal	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	72.02112937
C00007630	beta-Sesquiphellandrene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00010868	(+)-S-Carvone	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00010872	(+/-)-beta-Phellandrene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00011022	(-)-Isoborneol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00011067	Teresantanane	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00011604	Zingiberenol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.19836545
C00011720	(-)-Germacrene D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077

C00011967	Sesquithujene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00011968	Sesquisabinene hydrate	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.19836545
C00021859	(+)-Cyclosativene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00022440	Aframodial	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	318.21949482
C00029339	(E)-Nerolidol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222.19836545
C00029463	2-Nonanone	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	142.1357652
C00029544	4-Terpineol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00029671	alpha-Muurolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00029674	alpha-Terpineol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00030345	gamma-Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00030758	2-Undecanone	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O	170.16706532
C00030830	Nonanol	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O	144.15141526
C00030880	Octanal	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	128.12011513
C00031258	4(10)-Thujene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00031474	(S)-10-Gingerol	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	350.24570957
C00031475	(S)-8-Gingerol	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	322.21440945
C00032554	Zonarene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204.18780077
C00034775	6-Methyl-5-hepten-2-one	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	126.10446507
C00034882	Nonane	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub>	128.15650064
C00034994	10-Shogaol	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	332.23514489
C00034999	1R,5R-(+)-alpha-Pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136.12520051
C00035032	[7]-Paradol	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	292.20384476
C00035035	[8]-Shogaol	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	304.20384476
C00035036	[9]-Paradol	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	320.23514489
C00035042	alpha-Linalool	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154.1357652
C00035442	[10]-Gingerdiol	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>	352.26135964
C00035443	[12]-Shogaol	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	360.26644502
C00035444	[4]-Gingerol	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	266.15180919
C00035445	[4]-Isogingerol	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	266.15180919
C00035446	[4]-Shogaol	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	248.1412445
C00035447	[6]-Gingerdiol	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	296.19875938
C00035448	[7]-Gingerol	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	308.19875938
C00035449	[8]-Gingerdiol	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub>	408.25118888
C00035450	[8]-Paradol	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	306.21949482
C00035469	1-Dehydro-[10]-gingerdione	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	346.21440945
C00035470	1-Dehydro-[6]-gingerdione	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	290.15180919
C00035471	1-Dehydro-[8]-gingerdione	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	318.18310932
C00035513	Acetoxy-[10]-gingerol	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>	392.25627426
C00035574	Dehydrogingerdione	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	234.08920894
C00035577	Diacetoxy-[4]-gingerdiol	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub>	352.18858863
C00035640	Hexahydrocurcumin	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	374.17293856
C00035687	Methyl [6]-paradol	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	292.20384476
C00035688	Methyl [6]-Shogaol	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	290.1881947
C00035689	Methyl [8]-Shogaol	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	318.21949482

C00035822	Citral	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152.12011513
C00035857	Octane	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	114.14085057
C00036574	4-Gingesulfonic acid	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>6</sub> S	330.11370917
C00036619	6-Gingesulfonic acid	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub> S	358.14500929
C00037817	Shogasulfonic acid A	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>8</sub> S	438.13483854
C00037818	Shogasulfonic acid B	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>8</sub> S	424.11918847
C00037819	Shogasulfonic acid C	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>8</sub> S	410.10353841
C00037820	Shogasulfonic acid D	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub> S	470.12466778
C00044041	[10]-Dehydroshogaol	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	330.21949482
C00044042	[6]-Dehydroshogaol	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	274.15689457
C00046607	Curcumene	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202.1721507
C00047685	6-Dehydrogingerdione	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	290.15180919
C00048949	3-Methyl-butanal	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O	86.07316494
C00050488	n-Propanol	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	60.05751488
C00050492	Propanal	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58.04186481
C00050935	Isogingerenone B	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	386.17293856
C00051548	Methyl allyl sulfide	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> S	88.03467099
C00051562	Methyl isobutyl ketone	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	100.08881501

## LAMPIRAN 3. HASIL PASS PREDICTON

No.	Name	Aktivitas Penangkal Radikal Bebas
1.	Rutin	0,990
2.	Catechin	0,850
3.	Epicatechin	0,850
4.	Quercetin	0,816
5.	Isogingerenone B	0,780
6.	Kaempferol	0,774
7.	Naringenin	0,769
8.	6-Dehydrogingerdione	0,768
9.	1-Dehydro-[8]-gingerdione	0,768
10.	1-Dehydro-[6]-gingerdione	0,768
11.	1-Dehydro-[10]-gingerdione	0,768
12.	Gingerenone A	0,755
13.	10-Shogaol	0,743
14.	[8]-Shogaol	0,743
15.	[6]-Shogaol	0,743
16.	[12]-Shogaol	0,743
17.	[4]-Shogaol	0,738
18.	[6]-Dehydroshogaol	0,731
19.	[10]-Dehydroshogaol	0,731
20.	Acetoxy-[10]-gingerol	0,709
21.	Hexahydrocurcumin	0,686
22.	[9]-Paradol	0,631
23.	[8]-Paradol	0,631
24.	[7]-Paradol	0,631
25.	[6]-Paradol	0,631
26.	Methyl [8]-Shogaol	0,627
27.	Methyl [6]-Shogaol	0,627
28.	[7]-Gingerol	0,617
29.	(S)-8-Gingerol	0,617
30.	(S)-6-Gingerol	0,617
31.	(S)-10-Gingerol	0,617
32.	Shogasulfonic acid D	0,616
33.	[4]-Gingerol	0,608
34.	[4]-Isogingerol	0,596
35.	[6]-Gingerdione	0,589

36.	6-Gingesulfonic acid	0,589
37.	4-Gingesulfonic acid	0,589
38.	Dehydrogingerdione	0,583
39.	[8]-Gingerdiol	0,559
40.	Shogasulfonic acid C	0,508



## LAMPIRAN 4. HASIL SWISSTARGET PREDICTION

No.	Compound	Protein Target	Code
1.	(S)-6-Gingerol	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
2.	(S)-8-Gingerol	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
3.	(S)-10-Gingerol	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
4.	[4]-Gingerol	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
5.	[4]-Isogingerol	Carbonic Anhydrase 1	CA1

		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial	CA5B
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
6.	[4]-Shogaol	Muscleblind-like protein 1	MBNL1
		Muscleblind-like protein 2 (by homology)	MBNL2
		Muscleblind-like protein 3 (by homology)	MBNL3
7.	[6]-Dehydroshogaol	-	-
8.	[6]-Gingerdione	5-hydroxytryptamine receptor 1A	HTR1A
		5-hydroxytryptamine receptor 1B (by homology)	HTR1B
		Arachidonate 15-lipoxygenase B (by homology)	ALOX15B
		Carbonic Anhydrase 1 (by homology)	CA1
		Carbonic Anhydrase 2 (by homology)	CA2
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
		Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5
		Arachidonate 15-lipoxygenase	ALOX15
		Arachidonate 12-lipoxygenase, 12S type (by homology)	ALOX12
		Carbonic Anhydrase 5A, mitochondrial	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B, mitochondrial	CA5B
		Epidermis-type lipoxygenase 3 (by homology)	ALOXE3
		Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	HSD17B1
9.	[6]-Paradol	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A

		Testosterone 17-beta-dehydrogenase 3	HSD17B3
		Estradiol 17-beta-dehydrogenase type 12 (by homology)	HSD17B12
		Androgen receptor	AR
10.	[6]-Shogaol	Androgen receptor	AR
		Prostaglandin G/H synthase 1	PTGS1
		Prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2
		Muscleblind-like protein 1	MBNL1
		Muscleblind-like protein 2 (by homology)	MBNL2
		Muscleblind-like protein 3 (by homology)	MBNL3
		Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	HSD11B1
		Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	HSDB11L
		Microtubule-associated protein tau	MAPT
		Cytochrome P450 19A1	CYP19A1
		Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20lyase	CYP17A1
11.	[7]-Gingerol	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
12.	[7]-Paradol	Testosterone 17-beta-dehydrogenase 3	HSD17B3
		Estradiol 17-beta-dehydrogenase 12 (by homology)	HSD17B12
		Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
13.	[8]-Gingerdiol	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A	HMGCR

		reductase (by homology)	
		Muscleblind-like protein 1	MBNL1
		Muscleblind-like protein 2 (by homology)	MBNL2
		Muscleblind-like protein 3 (by homology)	MBNL3
		Cannabinoid receptor 1	CNR1
		Cannabinoid receptor 2	CNR2
		Protein Kinase C gamma type (by homology)	PRKCG
		Protein Kinase C beta type (by homology)	PRKCB
		Protein Kinase C alpha type (by homology)	PRKCA
		Protein Kinase C theta type (by homology)	PRKCQ
		Protein Kinase C delta type (by homology)	PRKCD
		Microtubule-associated protein tau	MAPT
14.	[8]-Paradol	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
		Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	HSD11B1
		Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	HSD11B1L
15.	[8]-Shogaol	Adenosine receptor A3	ADORA3
		Muscleblind-like protein 1	MBNL1
		Muscleblind-like protein 2 (by homology)	MBNL2
		Muscleblind-like protein 3 (by homology)	MBNL3
		Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	HSD11B1
		Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	HSD11B1L
		Glucocorticoid receptor	NR3C1
		Mineralocorticoid receptor	NR3C2
16.	[9]-Shogaol	-	-
17.	[10]-Dehydroshogaol	-	-
18.	[12]-Shogaol	Protein kinase C eta type	PRKCH

		Protein kinase C epsilon type	PRKCE
19.	1-Dehydro-[6]-gingerdione	Microtubule associated protein tau	MAPT
		Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1	TDP1
		Toll-like receptor 9	TLR9
		Uncharacterized protein (by homology)	
		Quinone oxidoreductase (by homology)	CRYZ
		Muscleblind-like protein 1	MBNL1
		Muscleblind-like protein 2 (by homology)	MBNL2
		Muscleblind-like protein 3 (by homology)	MBNL3
		Testosterone 17-beta-dehydrogenase 3	HSD17B3
		Estradiol 17-beta-dehydrogenase 12 (by homology)	HSD17B12
		RAC-beta serine/threonine-protein kinase	AKT1
		RAC-alpha serine/threonine-protein kinase (by homology)	AKT2
			RAC-gamma serine/threonine-protein kinase (by homology)
20.	1-Dehydro-[8]-gingerdione	Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	HSD11B1
		Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	HSD11B1L
21.	1-Dehydro-[10]-gingerdione	Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	HSD11B1
		Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	HSD11B1L
22.	4-Gingesulfonic acid	-	-
23.	6-Dehydrogingerdione	-	-
24.	6-Gingesulfonic acid	-	-
25.	[10]-Shogaol	Glucocorticoid receptor	NR3C1
		Mineralocorticoid receptor (by homology)	NR3C2
26.	Acetoxy-[10]-gingerol	Microtubule associated protein tau	MAPT
		3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	HMGCR
		M-phase Inducer phosphatase 1	CDC25A
		M-phase Inducer phosphatase 2	CDC25B
		Protein Kinase C gamma type (by homology)	PRKCG
		Protein Kinase C beta type (by homology)	PRKCB

		Protein Kinase C alpha type	PRKCA
		Protein Kinase C theta type (by homology)	PRKCQ
		Protein Kinase C delta type regulatory subunit (by homology)	PRKCD
		Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 2	PTPN2
		Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	PTPN1
		Prolyl endopeptidase	PREP
		Platelet-activating factor receptor	PTAFR
27.	Dehydrogingerdione	-	-
28.	Gingerenone A	Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	HSD11B1
		Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	HSD11B1L
		Muscleblind-like protein 1	MBNL1
		Muscleblind-like protein 2 (by homology)	MBNL2
		Muscleblind-like protein 3 (by homology)	MBNL3
29.	Hexahydrocurcumin	Carbonic Anhydrase 1	CA1
		Carbonic Anhydrase 2	CA2
		Carbonic Anhydrase 3 (by homology)	CA3
		Carbonic Anhydrase 5A mitochondrial (by homology)	CA5A
		Carbonic Anhydrase 7 (by homology)	CA7
		Carbonic Anhydrase 13 (by homology)	CA13
		Carbonic Anhydrase 5B mitochondrial (by homology)	CA5B
30.	Methyl [6]-Shogaol	Muscleblind-like protein 1	MBNL1
		Muscleblind-like protein 2 (by homology)	MBNL2
		Muscleblind-like protein 3 (by homology)	MBNL3
		Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1	HSD11B1
		Hydroxysteroid 11-beta-dehydrogenase 1-like protein (by homology)	HSD11B1L
		Microtubule-associated protein tau	MAPT
31.	Methyl [8]-Shogaol	Sodium- and chloride-dependent glycine transporter 1	SLC6A9
		Sodium- and chloride-dependent glycine transporter 2	SLC6A5
		Sodium-dependent proline transporter (by homology)	SLC6A7

		Sodium- and chloride-dependent neutral and basic amino acid transporter B(0+) (by homology)	SLC6A14
32.	Shogasulfonic acid C	-	-
33.	Shogasulfonic acid D	-	-
34.	Isogingerenone B	-	-



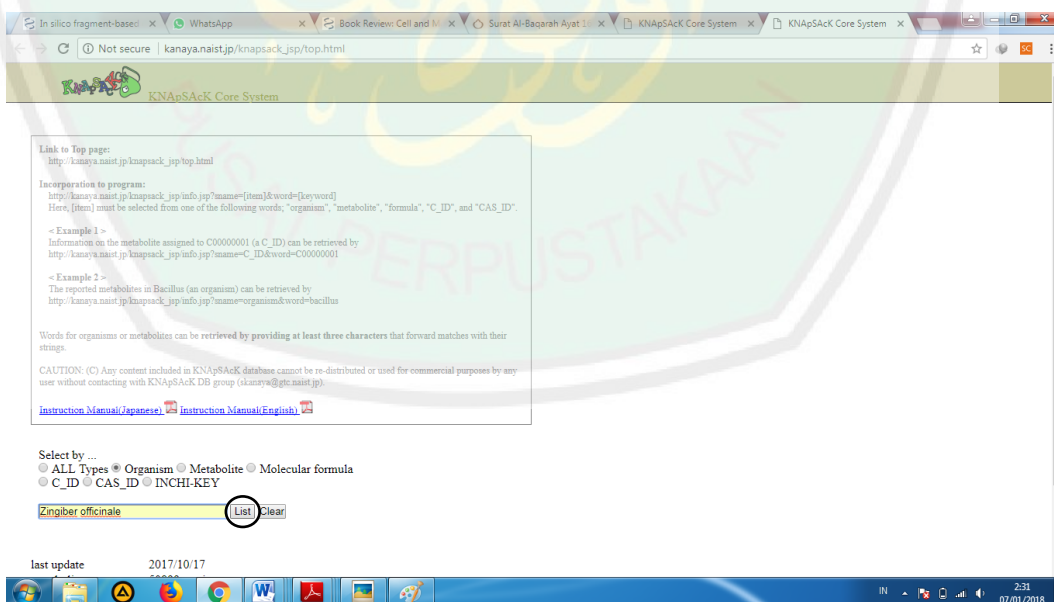
## LAMPIRAN 5. PENGUNDUHAN SENYAWA EKSTRAK JAHE

### 1. Pengunduhan dari KNApSAcK

#### a. Dibuka laman KNApSAcK pada browser



#### b. Untuk melakukan pencarian, klik menu 'organism' lalu ketik nama tumbuhan di kolom 'search' lalu klik 'list'.



### c. Hasil pencarian akan muncul seperti gambar berikut

input type = organism , input word = Zingiber officinale

Number of matched data : 102

C ID	CAS ID	Metabolite	Molecular formula	Mw	Organism
C000001135	464-48-2	(-)-Camphor	C10H16O	152.12011513	Zingiber officinale ROSC.
C000001136	470-92-6	1,8-Cineole	C10H18O	154.1357652	Zingiber officinale
C00000805	80-56-9	alpha-Pinene	C10H16	136.12520051	Zingiber officinale ROSC.
C00000816	127-91-3	beta-Pinene	C10H16	136.12520051	Zingiber officinale ROSC.
C00000819	76-22-2	(+)-Camphor	C10H16O	152.12011513	Zingiber officinale
C00000839	13466-78-9	3-Carene	C10H16	136.12520051	Zingiber officinale
C00000944	106-22-9	Citronellol	C10H20O	156.15141526	Zingiber officinale
C00000845	106-24-1	Geraniol	C10H18O	164.1357652	Zingiber officinale
C00000855	106-25-2	Nerol	C10H18O	154.1357652	Zingiber officinale
C00000861	596-62-9	Terpinolene	C10H16	136.12520051	Zingiber officinale ROSC.
C00002746	61871-71-4	[6]-Gingerdione	C17H24O4	292.16745925	Zingiber officinale
C00002747	128700-97-0	Gingerenone A	C21H24O5	356.16237388	Zingiber officinale
C00002748	23513-14-6	(S)-6-Gingerol	C17H26O4	294.19310392	Zingiber officinale
C00002754	27113-22-0	(6)-Farnadol	C17H26O3	278.1881947	Zingiber officinale
C00002771	94-59-7	Safrole	C10H10O2	162.06807956	Zingiber officinale
C00002774	555-66-8	[6]-Shogaol	C17H24O3	276.17254463	Zingiber officinale
C00003028	507-70-0	Borneol	C10H18O	154.1357652	Zingiber officinale
C00003029	79-92-5	Camphene	C10H16	136.12520051	Zingiber officinale ROSC.
C00003035	141-27-5	(E)-Citral	C10H16O	152.12011513	Zingiber officinale ROSC.
C00003036	106-26-3	(Z)-Citral	C10H16O	152.12011513	Zingiber officinale
C00003040	99-87-6	p-Cymene	C10H14	134.10955045	Zingiber officinale
C00003047	78-70-6	(R)-linalol	C10H18O	154.1357652	Zingiber officinale
C00003051	99-83-2	alpha-Phellandrene	C10H16	136.12520051	Zingiber officinale
C00003106	523-47-7	beta-Cadinene	C15H24	204.18780077	Zingiber officinale
C00003112	469-81-4	Cedrene	C15H24	204.18780077	Zingiber officinale ROSC.
C00003118	3856-25-5	Copaene	C15H24	204.18780077	Zingiber officinale
C00003122	4176-06-1	(S)-(+)-Curcumene	C15H22	202.1721507	Zingiber officinale
C00003130	502-61-4	(E,E)-alpha-Farnesene	C15H24	204.18780077	Zingiber officinale ROSC.
C00003193	77-42-9	beta-Santalol	C15H24O	220.18271539	Zingiber officinale
C00003204	495-60-3	(-)-Zingiberene	C15H24	204.18780077	Zingiber officinale
C00003672	83-46-3	(-)-beta-Sitosterol	C29H50O	414.39616622	Zingiber officinale

## 2. Pengunduhan Metabolit Jahe Dari ChemSpider

- a. Buka laman website chemspider di <http://www.chemspider.com> lalu tulis nama senyawa yang akan dicari pada kolom 'search'

ChemSpider Search and share chemistry

Search ChemSpider

Search ChemSpider

Matches any but please read the disclaimer at the bottom

quercetin

Quercetin  
Quercetin 3-methyl ether  
quercetin 3-(hydrogen sulfate)  
wiquercetin 3,3',7-trissulfate

ChemSpider is a free chemical structure database providing fast text and structure search access to over 60 million structures from hundreds of data sources.

- Systematic names
- Synonyms
- Trade names
- Database identifiers
- Create structure-based queries
- Draw structures in the web page
- Use structure files from your computer
- Literature references
- Physical properties
- Interactive spectra
- Chemical suppliers

Advertisement

PLENARY LECTURE

Tuesday, Feb 27, 2018 5:00 pm

PITCON CONFERENCE & EXPO 2018

Spotlight

Advertisement

Need Advice from Lined Experts?

## b. Simpan senyawa dalam bentuk MOL file

The screenshot displays the ChemSpider website interface. At the top, there is a navigation bar with the ChemSpider logo and a search bar. Below the navigation bar, the search results for "Quercetin" are shown. The main content area features the chemical structure of Quercetin, its molecular formula (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>), average mass (302.236 Da), and monoisotopic mass (302.042664 Da). The ChemSpider ID is 4444051. There are buttons for "Save" and "More details". The right sidebar contains advertisements and a "COMMENT ON THIS RECORD" button. The bottom of the screenshot shows a Windows taskbar with various application icons and a system tray displaying the time as 7:40 on 06/01/2018.

Found 1 result  
Search term: **quercetin** (Found by approved synonym)

**Quercetin**

Molecular Formula C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>  
Average mass 302.236 Da  
Monoisotopic mass 302.042664 Da  
ChemSpider ID 4444051

COMMENT ON THIS RECORD

Advertisement  
SEE THE WHOLE PICTURE  
AGILENT 7500 GC/TOF

Featured data source  
The Merck Index Online has more data on this compound

Spotlight

Advertisement  
Need Advice from Lipid Experts?  
Expert guidance from lipid specialists and free resources for your lab

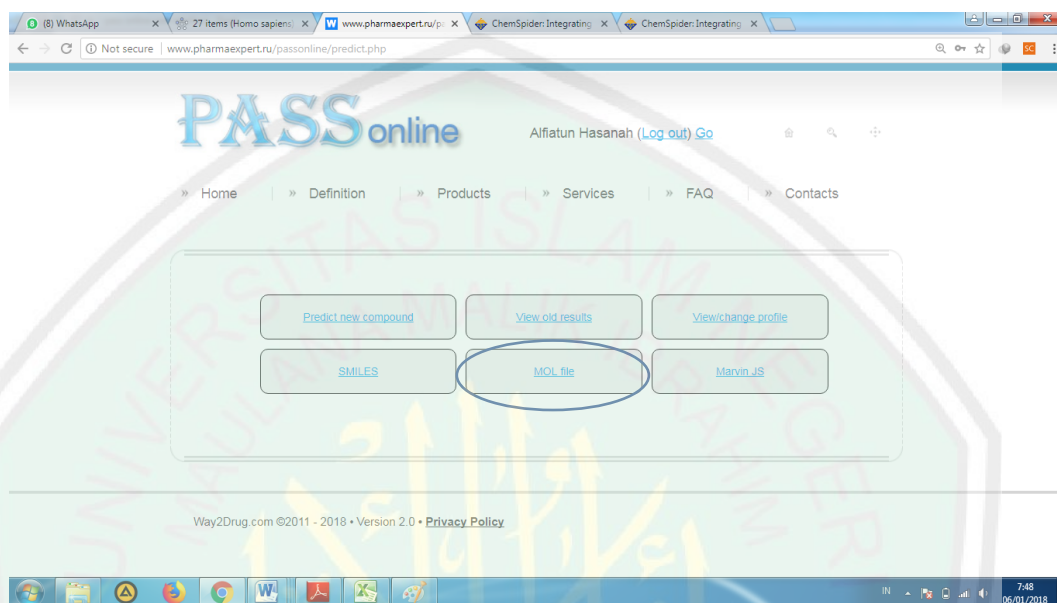
Save  
More details:

7:40  
06/01/2018

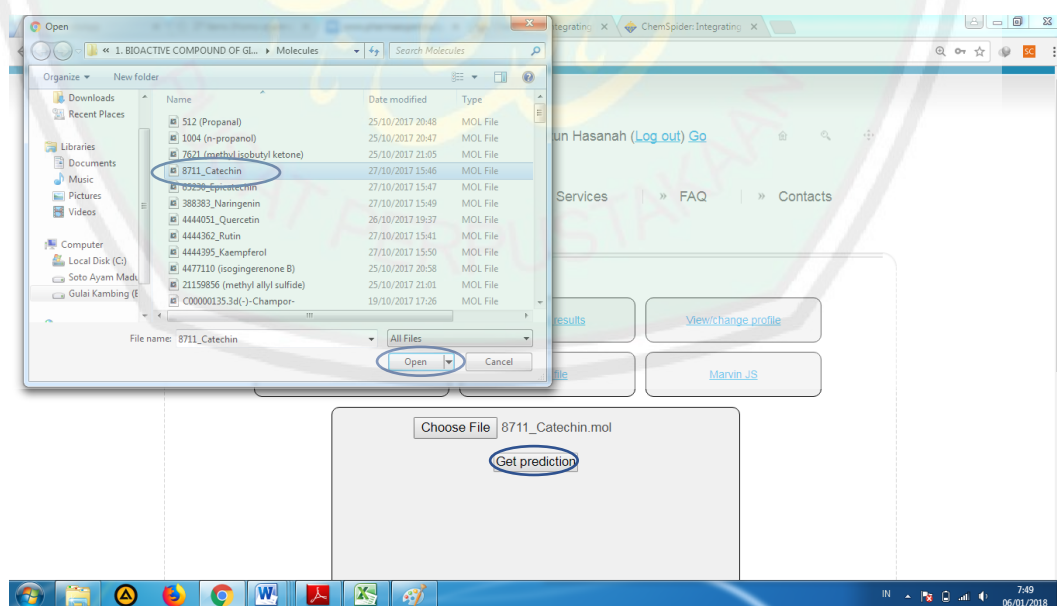
## LAMPIRAN 6. PREDIKSI POTENSI MENGGUNAKAN PASS *ONLINE*

### 1. Dibuka laman website PASS *Online*

(<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php>) lalu klik MOL file



### 2. Pilih senyawa yang akan diprediksi, klik 'open' lalu 'get prediction'



### 3. Hasil akan muncul seperti gambar berikut

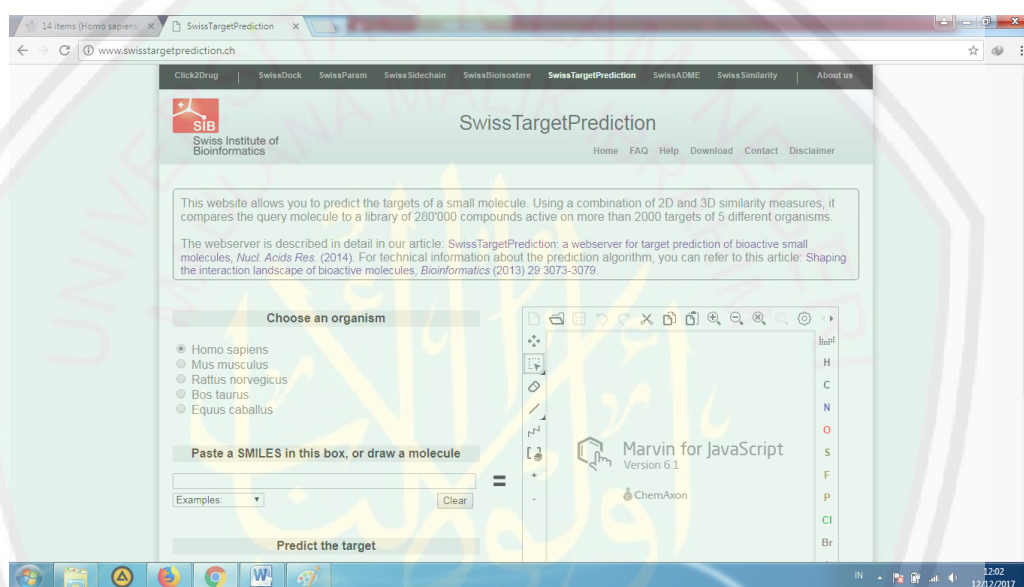


The screenshot shows a web browser window with the URL [www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php](http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php). The interface includes a file upload section with a 'Choose File' button and a 'Get prediction' button. Below this, there are radio buttons for filtering results: 'All' (selected), 'Pa>P1', 'Pa>0,3', and 'Pa>0,7'. A table displays the results of the prediction.

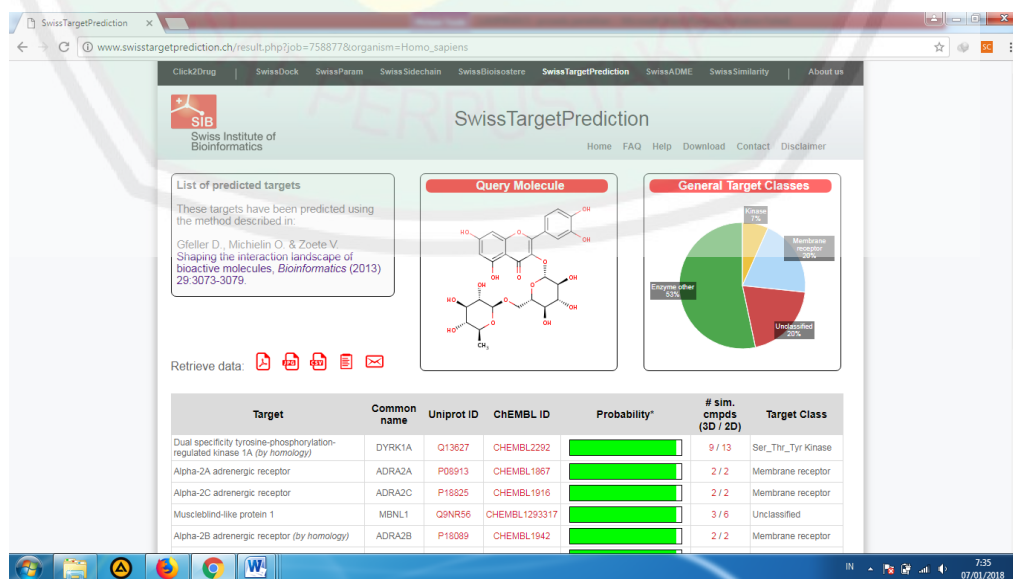
Pa	Pi	Activity
0.983	0.001	Membrane integrity agonist
0.971	0.001	HMOX1 expression enhancer
0.964	0.001	Pectate lyase inhibitor
0.962	0.003	Mucomembranous protector
0.959	0.002	Fibrinolytic
0.959	0.003	TP53 expression enhancer
0.957	0.002	UGT1A6 substrate
0.953	0.001	SULT1A3 substrate
0.951	0.001	Antimutagenic

## LAMPIRAN 7. PREDIKSI PROTEIN TARGET JAHE MENGGUNAKAN SWISSTARGET PREDICTION

1. Buka <http://www.swisstargetprediction.ch/> untuk mengakses SwissTarget Prediction. Langkah pertama adalah memilih jenis organisme, kemudian masukkan kode SMILE senyawa yang akan diprediksi targetnya. Setelah itu klik 'submit'.

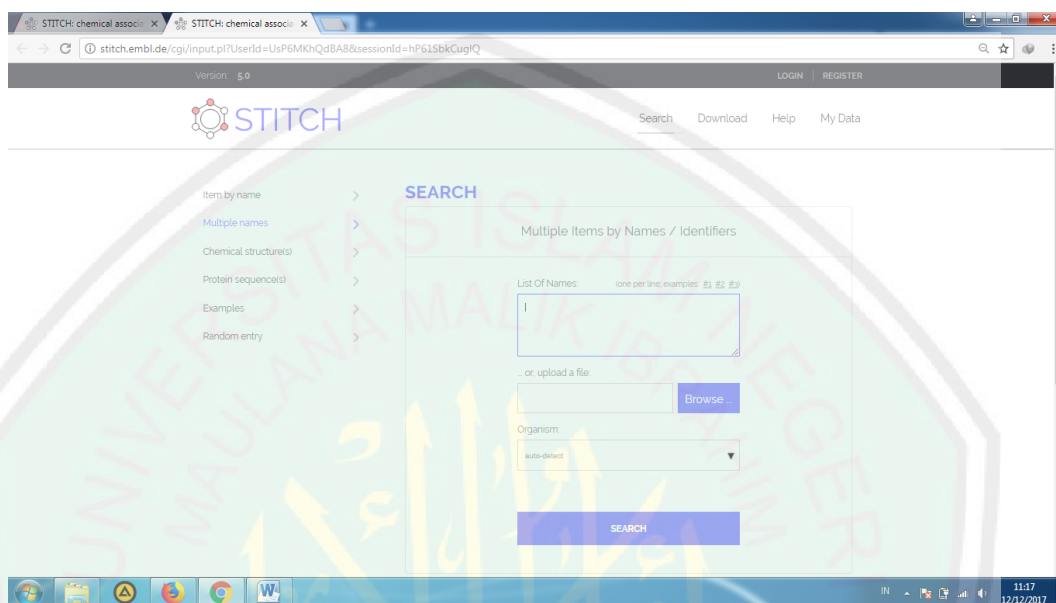


2. Hasil yang muncul adalah sebagai berikut

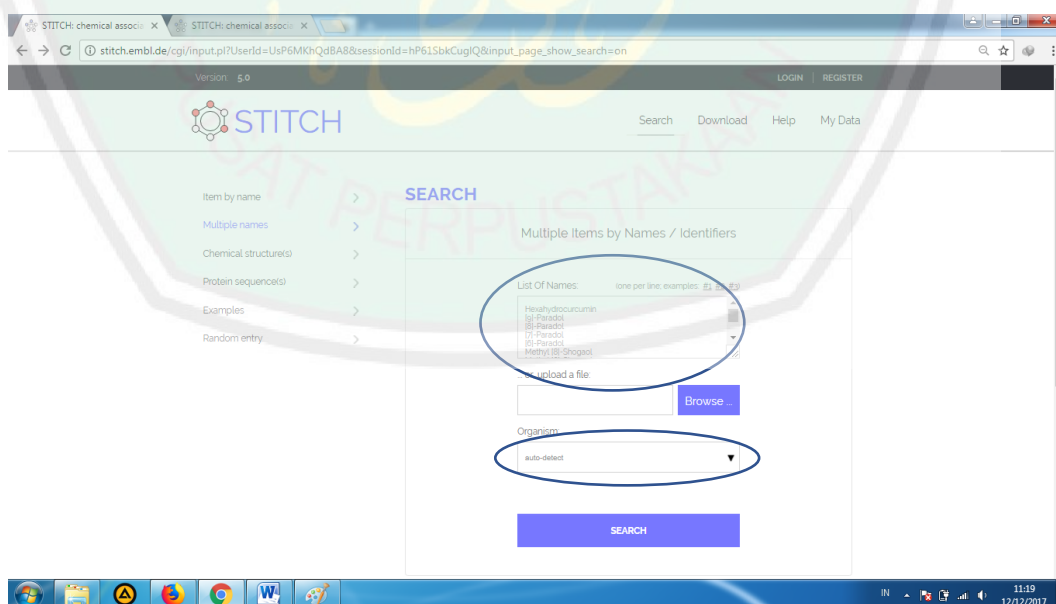


## LAMPIRAN 8. PEMBUATAN PIN DALAM STITCH DAN STRING

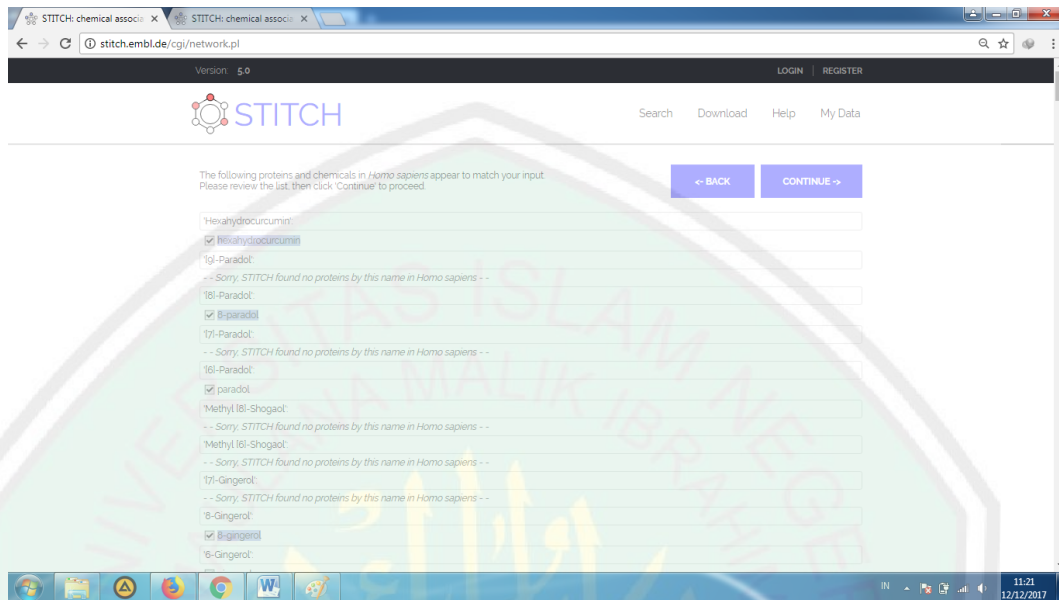
1. Buka laman STITCH (<http://stitch.embl.de/>) dan STRING (<https://string-db.org/>) lalu pilih *multiple names* atau *multiple proteins*.



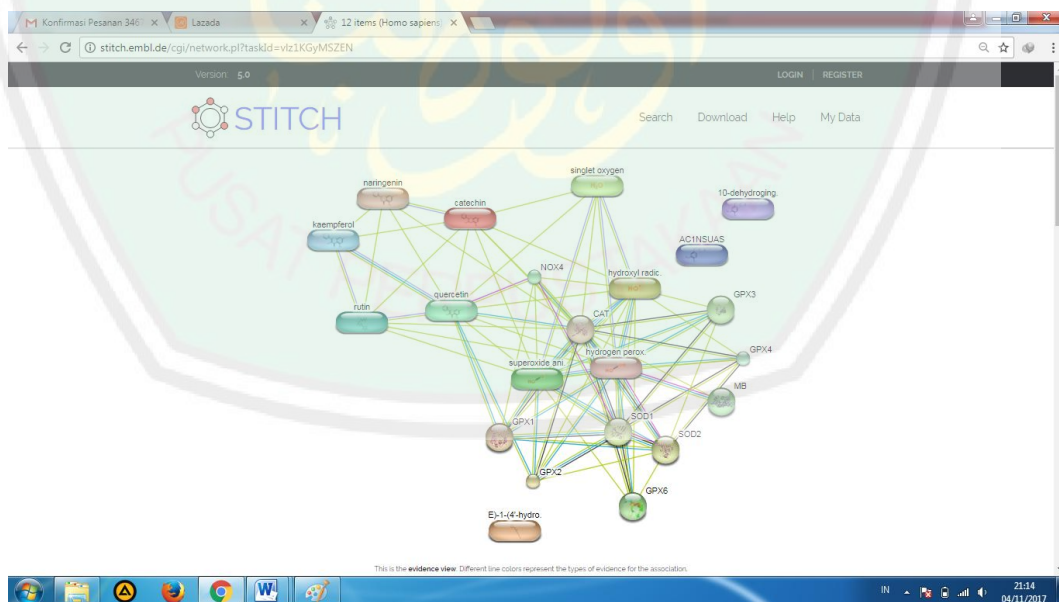
2. Tulis nama senyawa di kolom 'list of names' dan pilih organisme. Kemudian klik tombol *search*.



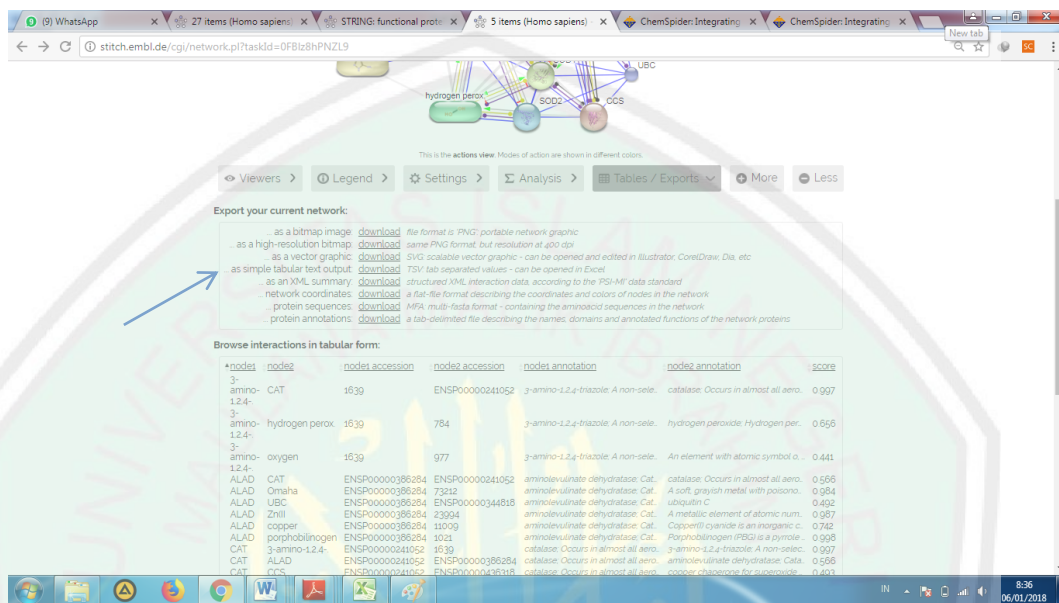
3. Diseleksi senyawa dan protein yang muncul dengan mengklik kotak kecil di sebelah kiri daftar senyawa dan protein. Setelah selesai, klik 'continue'.



4. Hasil interaksi akan muncul seperti pada gambar di bawah ini.



5. Untuk menyimpan hasil, maka klik menu 'Tables/Exports' kemudian pilih '...as simple tabulat text output' dan browser akan mengunduh secara otomatis dalam format .tsv



This is the actions view. Modes of action are shown in different colors.

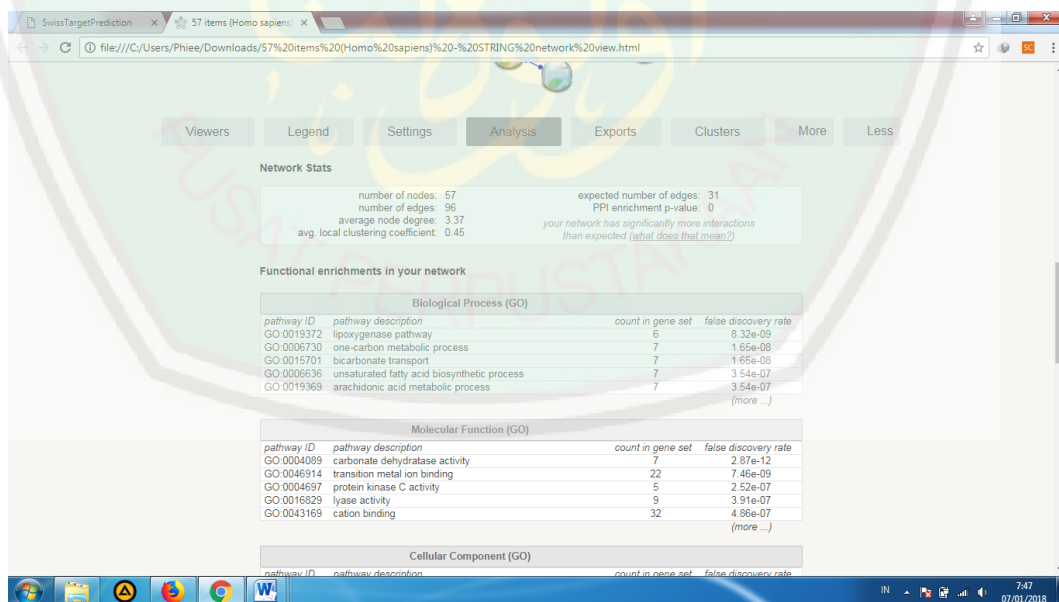
Export your current network:

- as a bitmap image [download](#) file format is PNG; portable network graphic
- as a high-resolution bitmap [download](#) same PNG format, but resolution at 400 dpi
- as a vector graphic [download](#) SVG scalable vector graphic - can be opened and edited in Illustrator, CorelDraw, Dia, etc.
- as simple tabulat text output [download](#) TSV; tab separated values - can be opened in Excel
- as an XML summary [download](#) structured XML interaction data, according to the PSI-MI data standard
- network coordinates [download](#) a flat-file format describing the coordinates and colors of nodes in the network
- protein sequences [download](#) NFA, multi-fasta format - containing the aminoacid sequences in the network
- protein annotations [download](#) a tab-delimited file describing the names, domains and annotated functions of the network proteins

Browse interactions in tabular form:

nodes1	nodes2	nodes1 accession	nodes2 accession	nodes1 annotation	nodes2 annotation	score
3-amino-1,2,4-	CAT	1639	ENSP00000241052	3-amino-1,2,4-triazole: A non-sele-	catalase: Occurs in almost all aero.	0.997
3-amino-1,2,4-	hydrogen perox.	1639	784	3-amino-1,2,4-triazole: A non-sele-	hydrogen peroxide: Hydrogen per-	0.656
3-amino-1,2,4-	oxygen	1639	977	3-amino-1,2,4-triazole: A non-sele-	An element with atomic symbol o.	0.441
ALAD	CAT	ENSP00000386284	ENSP00000241052	aminolevulinate dehydratase: Cat.	catalase: Occurs in almost all aero.	0.566
ALAD	Omaha	ENSP00000386284	73212	aminolevulinate dehydratase: Cat.	A soft, grayish metal with poisono.	0.984
ALAD	UBC	ENSP00000386284	ENSP00000344818	aminolevulinate dehydratase: Cat.	ubiquitin C	0.492
ALAD	ZnII	ENSP00000386284	23944	aminolevulinate dehydratase: Cat.	A metallic element of atomic num.	0.987
ALAD	copper	ENSP00000386284	11009	aminolevulinate dehydratase: Cat.	Copper(II) cyanide is an inorganic c.	0.742
ALAD	porphobilinogen	ENSP00000386284	1021	aminolevulinate dehydratase: Cat.	Porphobilinogen (PBG) is a pyrrole.	0.998
CAT	3-amino-1,2,4-	ENSP00000241052	1639	catalase: Occurs in almost all aero.	3-amino-1,2,4-triazole: A non-selec.	0.997
CAT	ALAD	ENSP00000241052	ENSP00000386284	catalase: Occurs in almost all aero.	aminolevulinate dehydratase: Cata.	0.566
CAT	CCS	ENSP00000241052	ENSP00000435118	catalase: Occurs in almost all aero.	copper: chromophore for superoxide.	0.403

6. Untuk melihat analisis, klik menu 'analysis'



Network Stats

number of nodes:	57	expected number of edges:	31
number of edges:	96	PPI enrichment p-value:	0
average node degree:	3.37	your network has significantly more interactions than expected (what does that mean?)	
avg. local clustering coefficient:	0.45		

Functional enrichments in your network

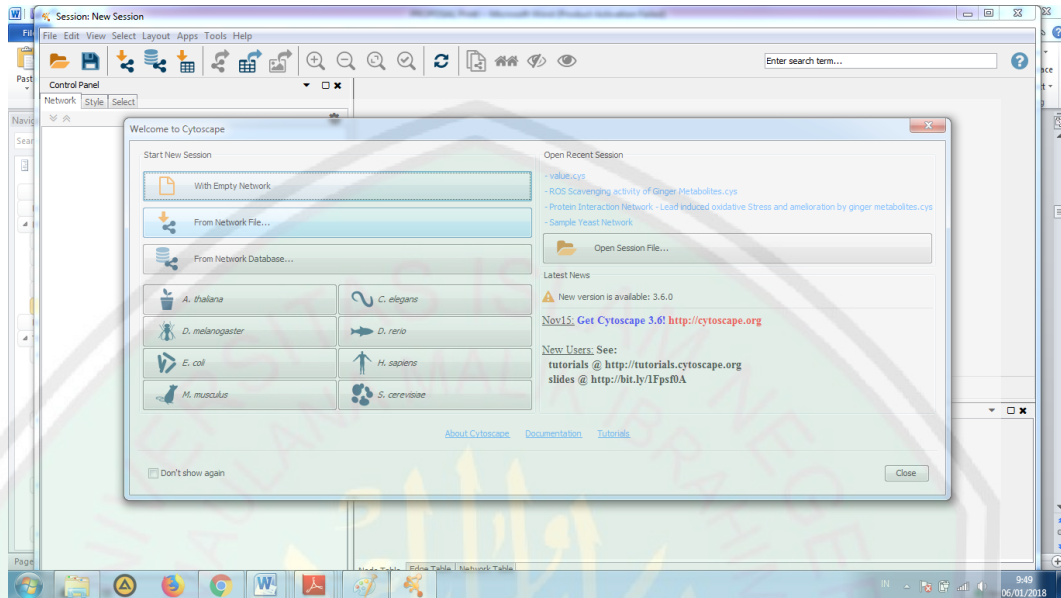
Biological Process (GO)			
pathway ID	pathway description	count in gene set	false discovery rate
GO:0019372	lipoygenase pathway	6	8.32e-09
GO:0006730	one-carbon metabolic process	7	1.65e-08
GO:0015701	bicarbonate transport	7	1.65e-08
GO:0006636	unsaturated fatty acid biosynthetic process	7	3.54e-07
GO:0019369	arachidonic acid metabolic process	7	3.54e-07
<a href="#">(more ...)</a>			

Molecular Function (GO)			
pathway ID	pathway description	count in gene set	false discovery rate
GO:0004089	carbonate dehydratase activity	7	2.87e-12
GO:0046914	transition metal ion binding	22	7.46e-09
GO:0004897	protein kinase C activity	5	2.52e-07
GO:0016829	lyase activity	9	3.91e-07
GO:0043169	cation binding	32	4.86e-07
<a href="#">(more ...)</a>			

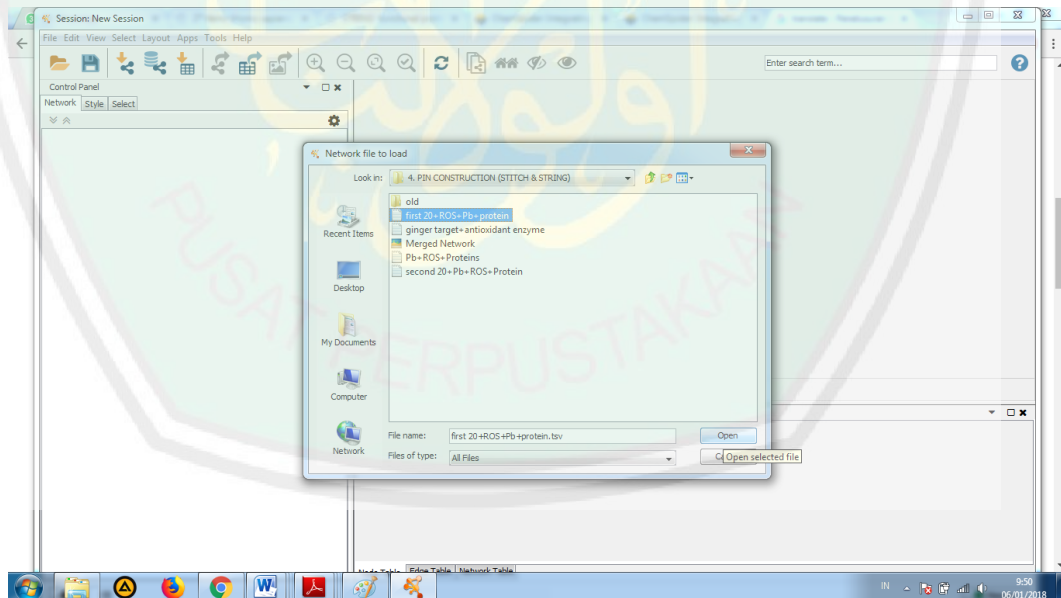
Cellular Component (GO)			
pathway ID	pathway description	count in gene set	false discovery rate

## LAMPIRAN 9. VISUALISASI DAN ANALISIS DI CYTOSCAPE

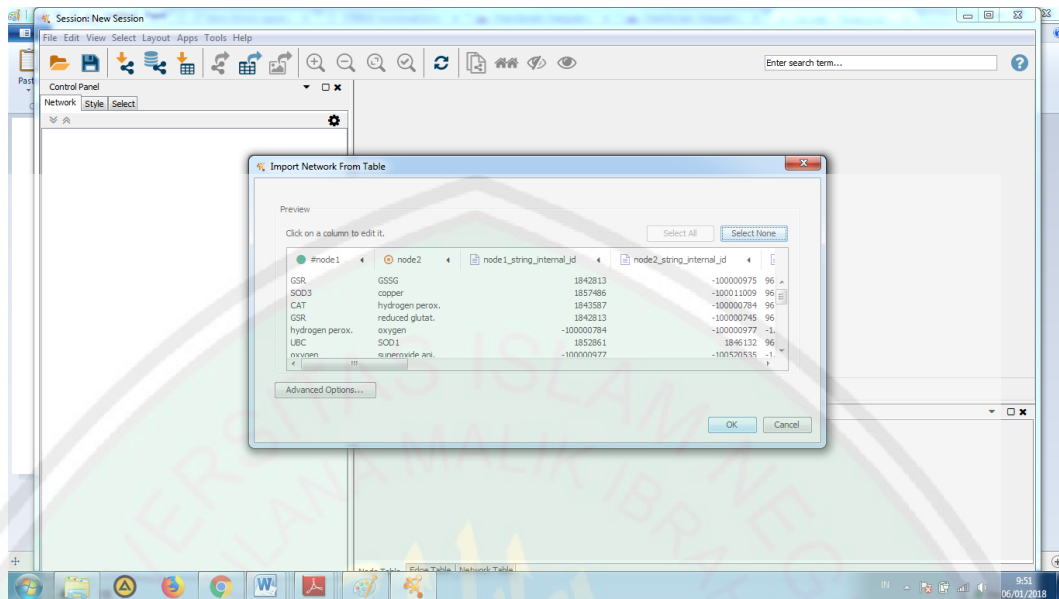
### 1. Buka aplikasi Cytoscape lalu pilih 'from network file'



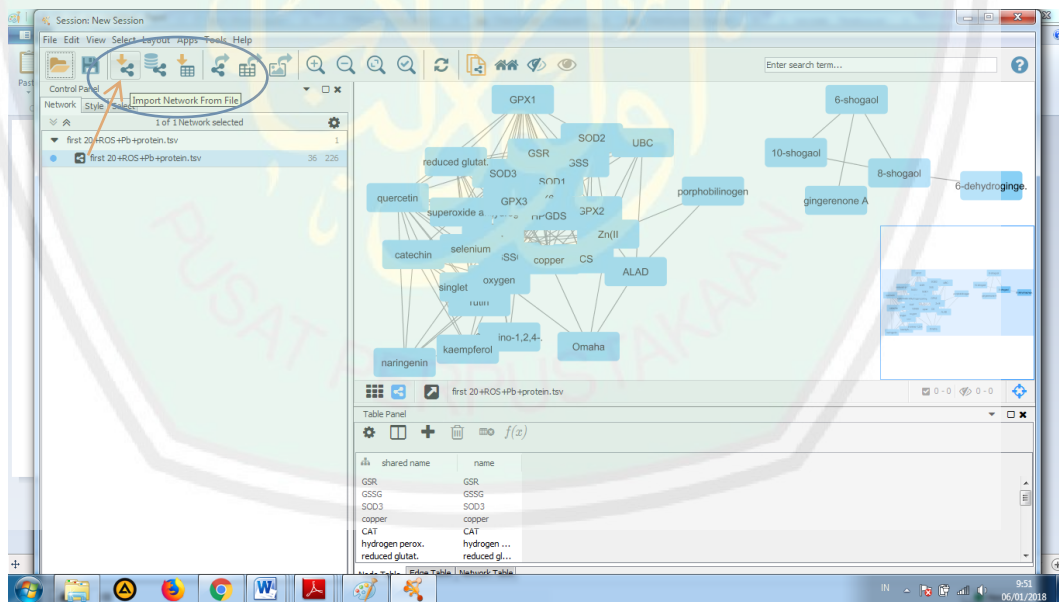
### 2. Setelah itu klik *network* yang akan divisualisasi kemudian klik open



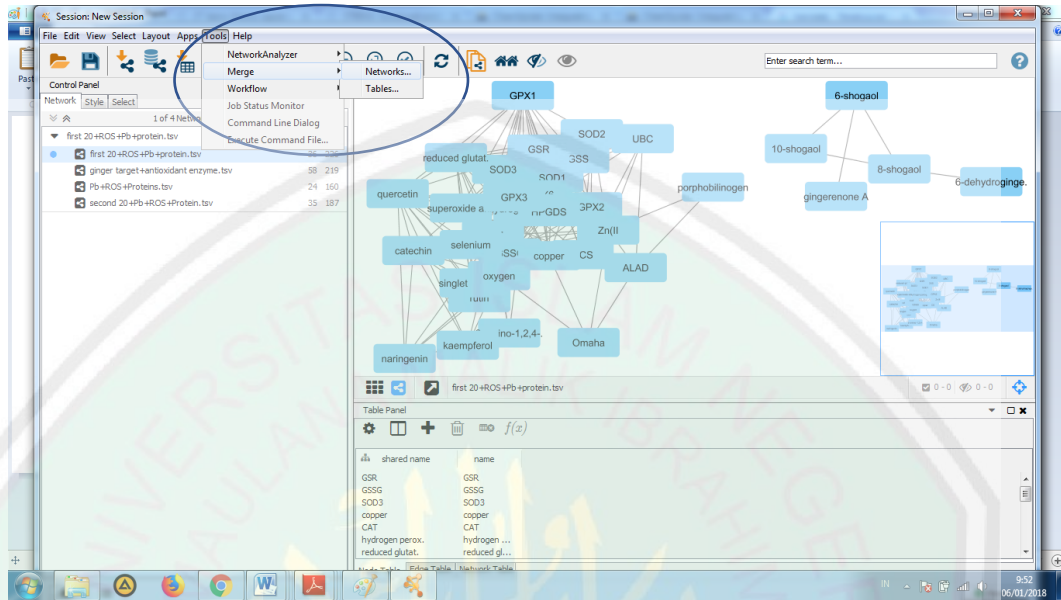
3. Setelah itu akan muncul *dialog box* seperti pada gambar, lalu klik OK



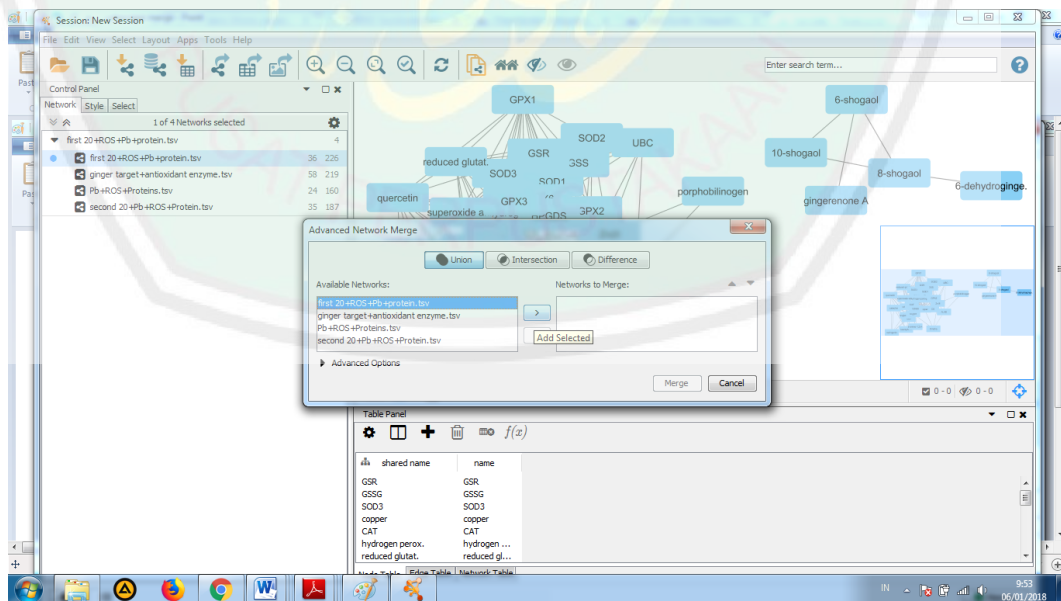
4. Untuk menambahkan *network* lain, maka klik menu *import network* seperti pada gambar



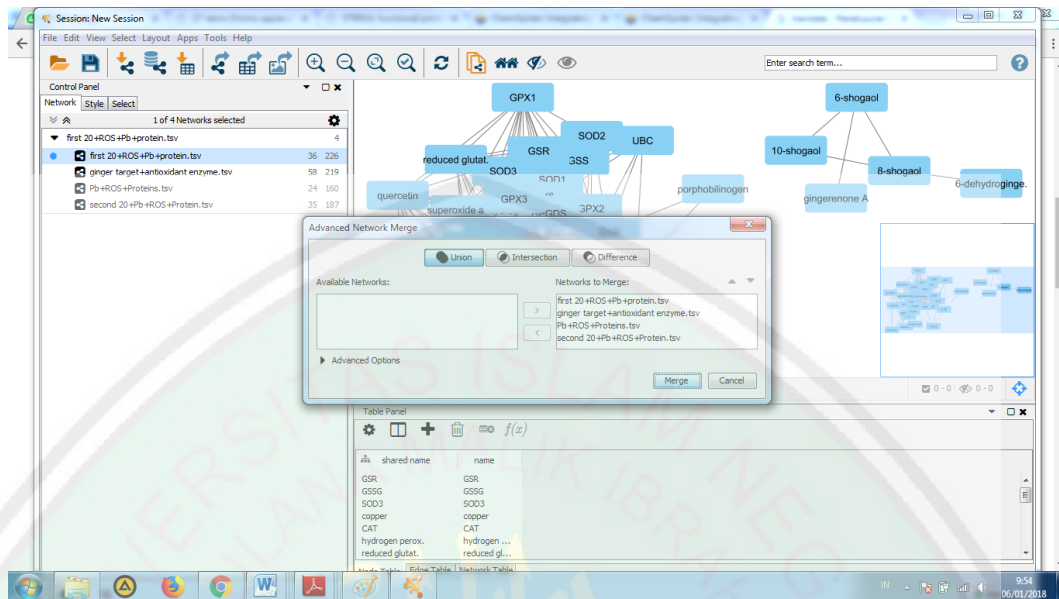
5. Setelah semua *network* dimasukkan, lakukan *network merging* dengan cara mengklik menu *tools* → *merge* → *networks*



6. Pada *dialog box* yang muncul, pilih '*union*' lalu pindahkan *network* yang akan dimerge dengan cara klik *network* lalu klik tombol dengan tanda panah ke kanan (*add selection*).

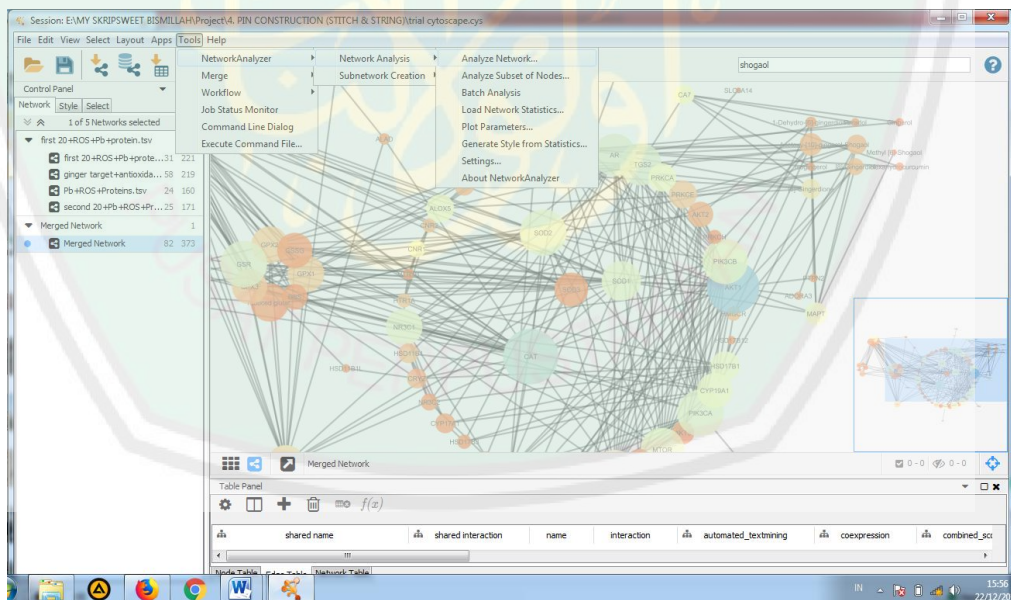


## 7. Setelah selesai, klik *merge*

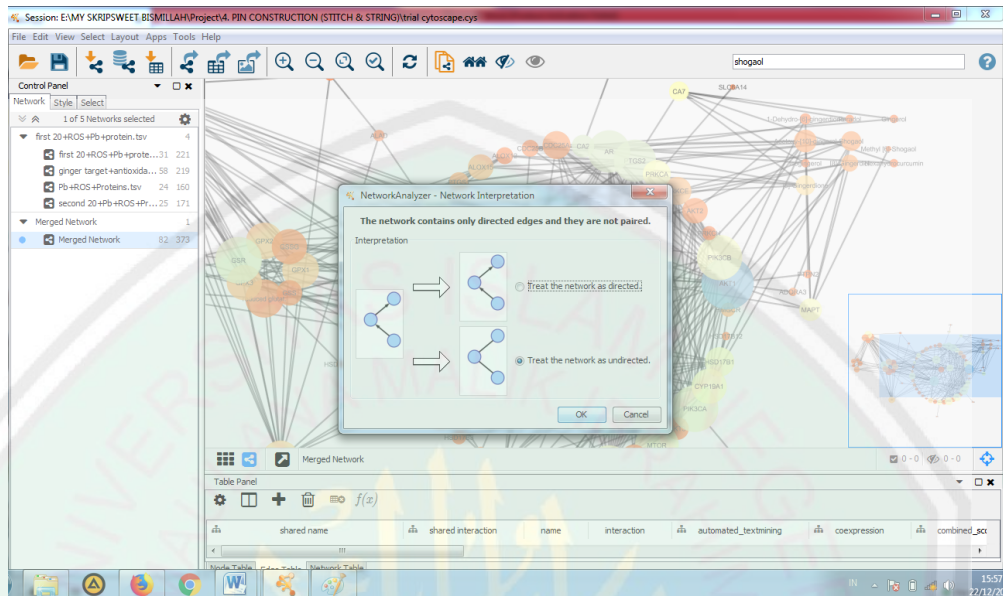


## 8. Untuk analisis, klik menu *tools* → *network analyzer* → *network analysis* →

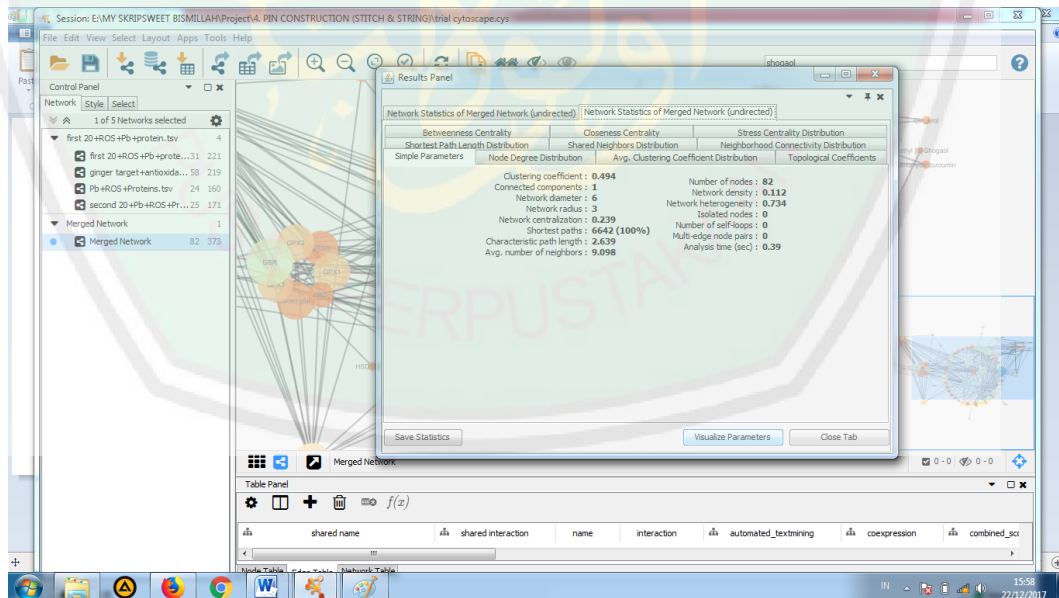
### *Analyze Network*



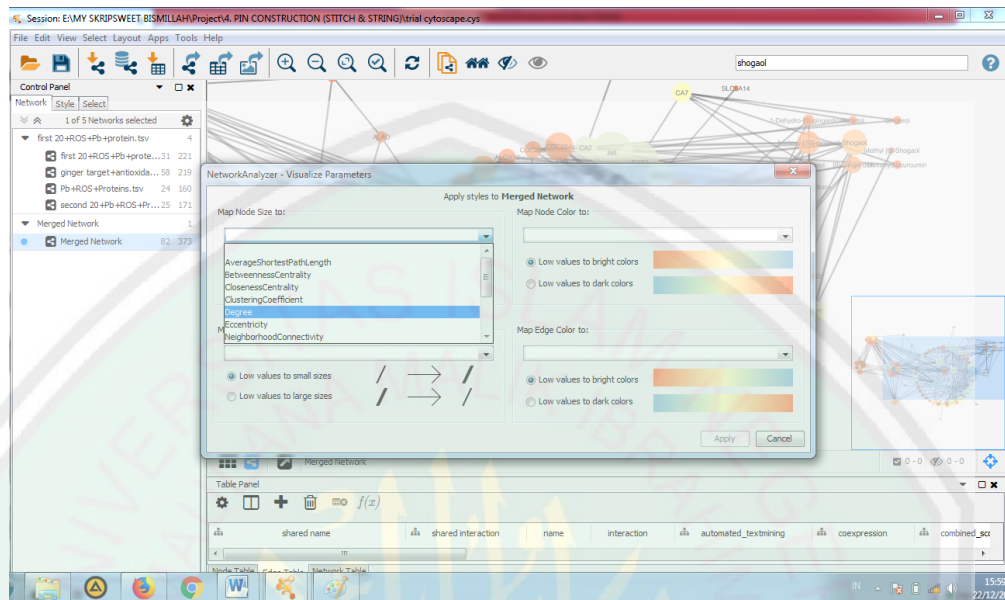
9. Pada *dialog box network interpretation* pilih 'treat network as undirected' lalu tekan OK.



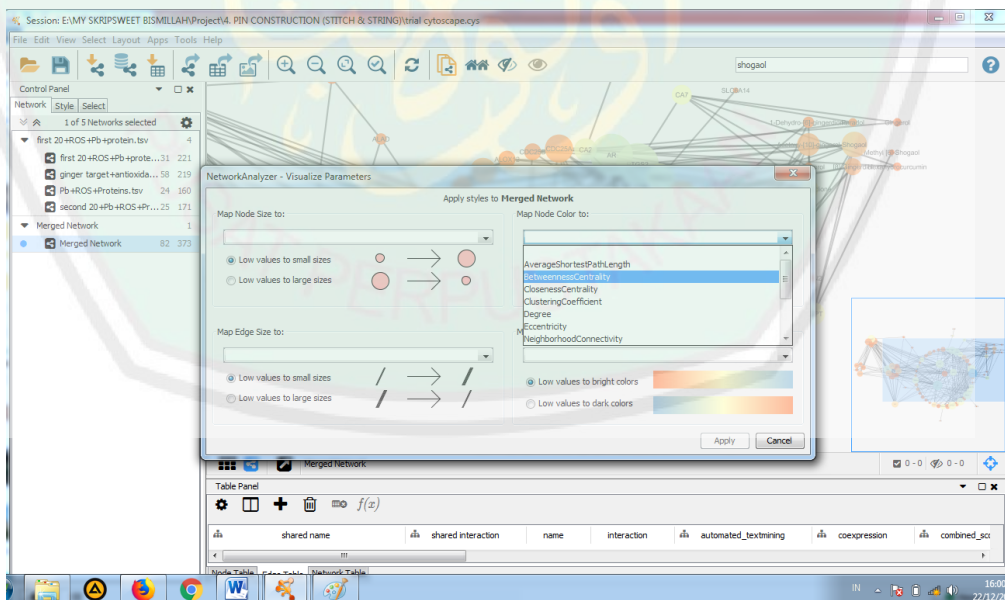
10. Kemudian akan muncul *result panel* seperti pada gambar lalu klik 'visualize parameters'.



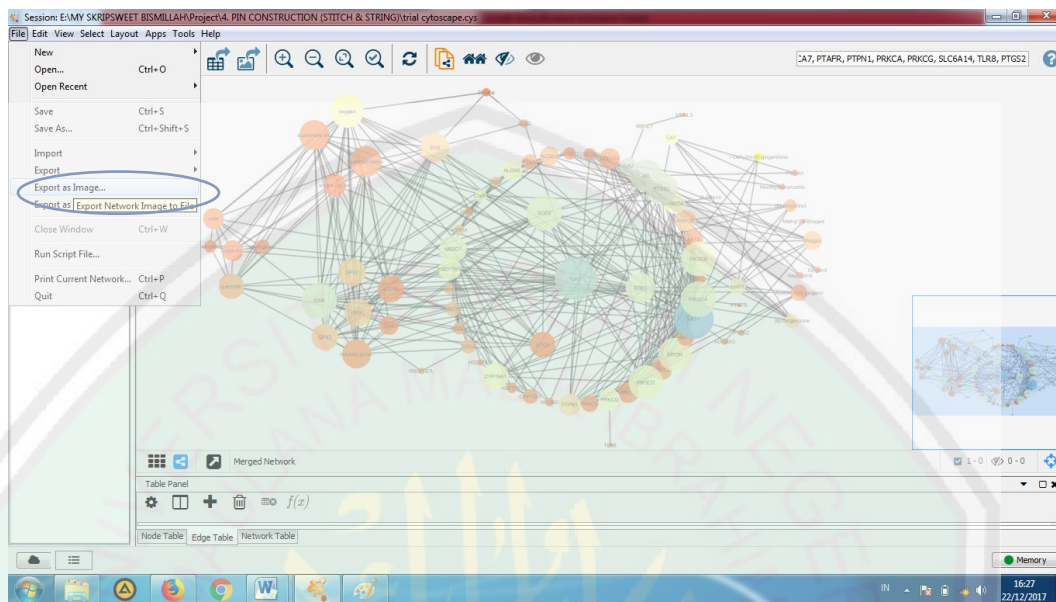
11. Setelah itu ada menu 'Map Node Size to:' pilih 'Degree' lalu pilih 'low values to small sizes'



12. Pada menu 'Map Node Color to:' pilih 'Betweenness Centrality' lalu pilih 'low values to bright colors'



13. Hasil analisis akan muncul seperti pada gambar berikut. Kemudian simpan dalam bentuk gambar dengan cara klik menu *file* → *export image*



## LAMPIRAN 10. KARTU KONSULTASI SKRIPSI



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**  
**MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**KARTU KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Alfiatun Hasanah  
 NIM : 12620109  
 Program Studi : SI Biologi  
 Semester : Ganjil TA. 2017/2018  
 Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si  
 Judul Skripsi : Analisis Interaksi Senyawa Aktif Jabe (*Zingiber officinale*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan pada Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal ( $Pb^{2+}$ )

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	07-09-2015	Konsultasi konsep penelitian	1.
2.	27-01-2016	Acc judul penelitian	2.
3.	30-01-2016	Konsultasi BAB I	3.
4.	07-02-2016	Konsultasi BAB I dan BAB III	4.
5.	20-02-2016	Revisi BAB I dan BAB III	5.
6.	01-03-2016	Konsultasi BAB II	6.
7.	08-05-2016	Revisi BAB II	7.
8.	17-07-2016	Revisi BAB I, BAB II, dan BAB III	8.
9.	21-11-2016	Acc BAB I, BAB II, dan BAB III	9.
10.	10-03-2017	Konsultasi Analisis Data	10.
11.	15-05-2017	Revisi Analisis Data	11.
12.	09-08-2017	Konsultasi BAB IV	12.
13.	13-10-2017	Revisi BAB IV	13.
14.	17-11-2017	Revisi BAB IV	14.
15.	20-12-2017	Revisi BAB IV	15.
16.	02-01-2018	Revisi BAB IV dan BAB V	16.
17.	05-01-2018	Konsultasi abstrak	17.
18.	16-01-2018	ACC Skripsi	18.

Pembimbing Skripsi,

**Kholifah Holil, M.Si**  
 NIP. 19751106 200912 2 002

Malang, 16 Januari 2018  
 Ketua Jurusan

**Romaidi, M.Si., D.Sc**  
 NIP. 19810201 200901 1 019



KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
 JURUSAN BIOLOGI  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341)  
 558933 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email:  
[biologi@uis-malang.ac.id](mailto:biologi@uis-malang.ac.id)

### KARTU KONSULTASI AGAMA

Nama : Alfiatun Hasanah  
 NIM : 12620109  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Ganjil 2017/2018  
 Pembimbing : Umaiyyatus Syarifah, M.A  
 Judul Skripsi : Analisis Interaksi Senyawa Aktif Jahe (*Zingiber officinale*) yang Berpotensi sebagai Antioksidan pada Stress Oksidasi yang Diinduksi oleh Timbal ( $Pb^{2+}$ )

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	10-10-2016	Konsultasi integrasi BAB I dan II	1
2	15-10-2016	Revisi Integrasi BAB I dan II	2
3	03-11-2017	Konsultasi Integrasi BAB IV	3
4	12-11-2017	Revisi Integrasi BAB IV	4
5	16-01-2018	ACC Skripsi	5

Malang, 16 Januari 2018

Pembimbing Skripsi,

Umaiyyatus Syarifah, MA  
 NIP. 19820925 200901 2 005

Ketua Jurusan Biologi,

Romajidi, D. Sc  
 NIP. 19810201 200901 1 019