

Peroksidasi Lipid oleh Parasetamol dan Ekstrak Air Panas Teh Hijau (*Camellia sinesis*) pada Sel Khamir *Candida tropicalis* yang di Simpan pada Suhu Rendah

Heddy Julistiono

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong Science Center, Indonesia
E-mail : heddy_j@yahoo.com

ABSTRACT

Lipid Peroxidation by Paracetamol and Hot Water Extract of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Yeast *Candida tropicalis* preserved in Low Temperature. The use of *C. tropicalis* cell as a tool to evaluate antioxidant property of green tea to protect oxidative stress caused by paracetamol in cell level was investigated in our laboratory. Immediate availability of cell culture will significantly reduce the time of cell preparation. Low temperature preservation of cell culture is one of methods to produce cell cultures. However, low temperature might affect physiological state of the cell. In this study, effect of low temperature preservation (4 °C, 10 days) on the oxidative response of yeast cell treated with paracetamol and hot water extract of green tea had been investigated. Cells incubation with paracetamol 0.3 % for 2 h caused oxidative stress in both fresh and preserved culture since the content of a marker of oxidative stress, peroxyd lipids increased significantly. Whereas, concentration of peroxidised lipids in preserved cultures was lower than that of fresh culture. Increasing of peroxydized lipids followed with decreasing of cell viability in fresh culture but not in preserved culture. Green tea with concentration of 0.1 % decreased peroxyd lipids in fresh cultures treated with paracetamol but not in preserved cultures. Green tea with concentration of 0.2 % or 0.4 % in increased peroxyd lipids in fresh cultures treated with paracetamol but not in preserved cultures. The data indicated that green tea did not show anti- or pro-oxidative effect in cultures preserved in low temperature treated with paracetamol. However, induction of super oxide dismutase (SOD), an antioxidant defense enzyme, was not observed in cell preserved in low temperature. The study revealed that low temperature might make the cell more resistant against prooxidative properties of paracetamol.

Keywords: *C. tropicalis*, oxidative stress, low temperature, paracetamol, green tea

PENDAHULUAN

Khamir, terutama *Saccharomyces cerevisiae*, merupakan jamur sel tunggal yang dapat digunakan untuk mempelajari sebagian proses kematian sel mamalia akibat senyawa asing seperti obat (Almeida *et al.* 2008) atau logam berat

yang berhubungan dengan stres oksidasi (Muthukumar & Nachiappan 2010). Julistiono (2006) dan Yulineri & Julistiono (2003) juga melaporkan bahwa khamir *Candida tropicalis* dapat digunakan untuk mempelajari sebagian proses stress oksidasi pada khamir tersebut yang mirip dengan proses yang berlangsung

pada sel mamalia. Penelitian pada sel khamir ini selanjutnya menunjukkan bahwa *C. tropicalis* memiliki potensi untuk digunakan sebagai sel model untuk penapisan antioksidan untuk melindungi stress oksidasi akibat parasetamol (Julistiono 2011). Salah satu penanda terjadinya stress oksidasi adalah meningkatnya lipid terperoksidasi. Proses pengujian antioksi dan dengan metoda ini akan sangat membantu jika kultur khamir sewaktu-waktu dapat tersedia tanpa tergantung pada pemanenan hasil pembiakan. Salah satu penyediaan kultur khamir yang sewaktu-waktu dapat digunakan adalah kultur yang disimpan pada suhu rendah. Namun cara yang praktis ini belum tentu dapat mencerminkan kondisi seperti yang terjadi pada kultur khamir yang baru saja tumbuh mencapai fase stasioner, mengingat penyimpanan khamir pada suhu rendah (4°C – 10 °C) dapat mengakibatkan perubahan fisiologi khamir (Aguilera *et al.* 2007). Untuk mengetahui pengaruh penyimpanan pada suhu rendah terhadap stress oksidasi pada khamir *C.tropicalis* yang diinduksi dengan parasetamol dan teh hijau, diteliti efek parasetamol dan ekstrak air panas teh terhadap lipida terperoksidasi sel khamir yang disimpan selama 10 hari pada suhu 4 °C. Peroksidasi lipid merupakan salah satu penanda terjadinya stress oksidasi pada sel (Ray *et al.* 2002; Schuessel *et al.* 2006). Untuk mengetahui perubahan fisiologi khamir yang disimpan pada suhu rendah, diukur aktivitas enzim superoksid dismutase (SOD) karena enzim ini berkaitan dengan pertahanan sel terhadap stress oksidasi (Pereira *et al.*

2003) yang bisa timbul akibat perubahan suhu dari suhu kamar ke suhu rendah (Aguilera *et al.* 2007).

BAHAN DAN CARA KERJA

Biakan khamir yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida tropicalis* LIPIMC 0065 yang merupakan koleksi Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi, LIPI, diisolasi dari tanah di Cepu, Jawa Tengah (Saono & Gandjar 1974)

Penyiapan ekstrak teh air panas dilakukan mengacu pada Shin *et al.* (2009). Sebanyak 100 g daun teh hijau kering dilarutkan pada 100 ml akuades dengan suhu 90 °C selama 10 menit, kemudian disaring dengan membran filter 0,45 µm steril. Ekstrak disiapkan ketika perlakuan untuk menghindari proses oksidasi sebelum digunakan.

Parasetamol (Kimia Farma) sebanyak 3 g dilarutkan pada 100 ml akuades pada suhu 40 °C selama beberapa menit hingga larut, kemudian disaring dengan membran filter 0,45 µm steril. Larutan disiapkan pada saat perlakuan.

Media yang digunakan untuk menumbuhkan khamir adalah media cair gliserol (Julistiono 2006). Gliserol digunakan sebagai sumber C dan energi karena gliserol tidak terfermentasi menghasilkan etanol (de Winde *et al.* 1997). Dengan demikian, selama pertumbuhan tidak terdapat etanol yang dapat menghakibatkan stres oksidasi. Dalam 1l media cair gliserol mengandung 3,024 g gliserol, 1,3 g KH₂PO₄, 0,15 g MgSO₄.7H₂O, 3,0 g ekstrak khamir, 4,0 g bakto pepton, dan 1 ml larutan X (5,0 g

ZnSO₄·7H₂O, 3,0 g MnSO₄, 2,8 g CuSO₄, dalam 250 ml akuades). Semua bahan dilarutkan, kemudian media dipindahkan sebanyak 100 ml ke dalam labu erlenmeyer 300 ml dan disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada 121 °C, 150 atm.

Media agar yang digunakan untuk pertumbuhan khamir adalah sebagai berikut (Julistiono 2006). Dalam 1 l media mengandung 3,0 g ekstrak khamir, 5,0 g bakto pepton, 20 g bakto agar, 10 g glukosa, 0.5 g MgSO₄·7H₂O 1.0 g K₂HPO₄·3H₂O dan akuades sampai volumenya 1 l.

Sebanyak 100 ml kultur khamir di awal fase stasioner disentrifugasi dengan kecepatan 5500 g selama 5 menit, pelet kemudian dicuci dengan air akuades steril (100 ml), setelah pencucian, pelet disimpan pada lemari pendingin (4 °C) selama 10 hari. Sebagai pembanding (kontrol), digunakan pellet hasil pemanenan kultur dengan umur yang sama.

Setelah biakan berumur 48 jam, 100 ml sel dipanen dengan sentrifugasi 5500 g selama 5 menit. Pelet dicuci dengan larutan penyangga fosfat 0.067 M pH 7,8 yang mengandung 0,1 M EDTA, kemudian disuspensikan dalam larutan yang sama dengan menambahkannya pada pelet sampai volume 1.5 ml.

Pemecahan sel dilakukan dengan "glass bead" berdiameter 0,5 mm dan 0,1 mm. Pada tabung eppendorf 1,5 ml, dimasukkan "glass bead" sekitar ¾ volume tabung, selebihnya diisi suspensi sel. Tabung tersebut dikocok dengan mini mikser selama 2 jam. Setiap 10 menit dilakukan pendinginan sel dengan

meletakkannya pada es selama 1 menit. Setelah merusakkan sel, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3300 g selama 5 menit. Supernatan yang merupakan lisat diambil untuk dianalisis berat protein dan aktivitas enzim SOD-nya.

Kandungan protein diukur dengan metode Bradford dengan standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Bradford 1976). Protein diukur dengan spektrofotometer pada λ maksimum 595 nm.

Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase diukur menggunakan metode Winterbourn *et al.* (1975) berdasarkan kemampuan penghambatan reduksi nitroblue tetrazolium oleh enzim yang akan diukur. Supernatan yang didapat setelah pemecahan sel dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung 0,2 ml EDTA 0,1 M dan 0,3 mM KCN (untuk mengukur Mn SOD, SOD2, sedangkan tanpa penambahan KCN untuk mengukur SOD total), 0,2 ml nitroblue tetrazolium 1.5 mM, 0,05 ml sampel serta larutan penyangga fosfat 0,067 M pH 7,8 sampai volume totalnya 3 ml. Tabung-tabung tersebut ditempatkan pada kotak tertutup dan di dalamnya diletakkan lampu fluoresens 20 watt. Tabung diinkubasi selama 1 menit untuk mencapai temperatur standar, kemudian ditambahkan 0,05 ml riboflavin 0,12 mM dan diinkubasi kembali dalam kotak, tiap 1 menit diukur absorbannya pada panjang gelombang 560 nm. Pengukuran dihentikan setelah diperoleh nilai absorbansi yang konstan. Aktivitas enzim sebesar 1 unit merupakan kemampuannya menghambat separuh NBT yang tereduksi. Pengukuran Cu/Zn-SOD

(SOD1) adalah aktivitas SOD total dikurangi SOD2.

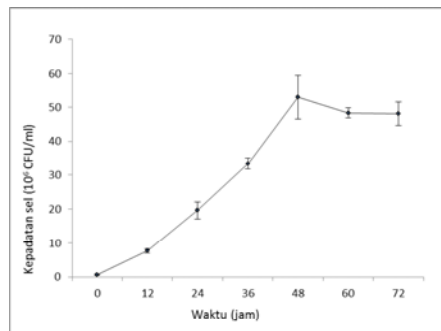
Peroksidasi lipida diukur dengan mengukur malon dialdehida (MDA) yang terbentuk, mengacu pada metoda Ray *et al.* (2003) yang dimodifikasi. Sebanyak 200 ml biakan umur 48 jam, disentrifugasi dengan kecepatan 5500 g; pelet diambil ditambah air sampai 25 ml. Suspensi diambil sebanyak 1 ml. Sebagai kontrol, 2ml suspensi ditambah 0,6 ml aquades. Untuk perlakuan parasetamol, teh, parasetamol dan teh, 1 ml suspensi ditambah masing-masing dengan 0,6 ml larutan parasetamol, teh, dan parasetamol dan teh sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan. Suspensi kemudian diinkubasi selama 1 jam dengan pemutaran 100 rpm. Setelah 2 jam inkubasi, suspensi ditambah 0.8 ml TCA 75%, diputar merata lalu ditambah 1.5 ml TBA 0,67 % dan dihomogenkan dengan vortex, kemudian dipanaskan pada suhu 95°C. Suspensi didinginkan dan disentrifugasi kecepatan 1500 g selama 5 menit. Supernatan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Konsentrasi MDA ditentukan dengan membanding-kannya dengan kurva MDA standard.

Sebanyak 200 ml biakan khamir umur 2 hari, disentrifugasi (5500 g); pelet diambil ditambah air suling steril sampai 25 ml. Perlakuan selanjutnya seperti pada pengukuran peroksidasi lipida biak yang diperlakukan dengan parasetamol dan atau teh hijau. Setelah inkubasi, dilakukan perhitungan kepadatan sel dengan metoda cawan tebar.

HASIL

Kurva pertumbuhan khamir dapat dilihat pada Gambar 1. Dari gambar terlihat bahwa fase stasionair dimulai sekitar pada jam ke 48. Oleh karena itu, pemanenan sel untuk pengujian selanjutnya dilakukan pada biak berumur 48 jam.

Pengaruh beberapa konsentrasi ekstrak air panas teh hijau terhadap lipid terperoksidasi seperti pada Tabel 1 terlihat bahwa baik pada suhu kamar maupun suhu rendah, penambahan ekstrak teh hijau sampai pada konsentrasi 0,04 % tidak mengakibatkan kenaikan lipida yang terperoksidasi pada sel khamir atau tidak mengakibatkan stres oksidasi.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan khamir.

Peroksidasi Lipida oleh Parasetamol dan Ekstrak Air Panas

Pengaruh penyimpanan pada suhu rendah terhadap lipid terperoksidasi pada sel *C. tropicalis* yang diperlakukan dengan parasetamol dan ekstrak air panas teh hijau seperti pada Tabel 2 terlihat bahwa baik pada sel yang baru

dipanen maupun sel yang terlebih dahulu disimpan pada suhu 4 °C selama 10 hari, terdapat kenaikan konsentrasi lipid yang terperoksidasi. Konsentrasi lipida yang terperoksidasi pada sel yang sebelumnya disimpan pada suhu rendah, lebih

Tabel 1. Pengaruh suhu rendah terhadap lipida terperoksidasi pada khamir *C. tropicalis* yang diperlakukan dengan teh hijau.

| Suhu | Perlakuan | Lipida terperoksidasi (pMMDA/ 10 ⁶ CFU) |
|----------------------|------------------|--|
| Kamar (28 °C) | Kontrol | 4,31 ± 0,19 a |
| | Teh hijau 0,01 % | 4,04 ± 0,05 a |
| | Teh hijau 0,02 % | 4,58 ± 0,05 a |
| | Teh hijau 0,04 % | 4,36 ± 0,07 a |
| Rendah (4 °C) | Kontrol | 4,16 ± 0,69 a |
| | Teh hijau 0,01 % | 4,14 ± 0,35 a |
| | Teh hijau 0,02 % | 4,14 ± 0,55 a |
| | Teh hijau 0,04 % | 4,39 ± 0,11 a |

Keterangan: Angka diikuti dengan tanda yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata taraf uji 5%.

Tabel 2. Pengaruh penyimpanan suhu rendah (4 °C , 10 hari) terhadap lipida terperoksidasi pada khamir *C. tropicalis* yang diperlakukan dengan parasetamol dan teh hijau.

| Kondisi Biak | Perlakuan | Lipida terperoksidasi (pMMDA/ 10 ⁶ CFU) |
|--|--|--|
| Hasil panen segera setelah 48 jam inkubasi pada suhu ruang (28 °C) | Kontrol | 4,31 ± 0,19 a |
| | Parasetamol 0,3 % | 8,16 ± 0,20 c |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,01 % | 7,72 ± 0,05 b |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,02 % | 9,15 ± 0,11 d |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,04 % | 9,56 ± 0,39 d |
| | Kontrol | 4,16 ± 0,69 a |
| Hasil penyimpanan selama 10 hari pada suhu 4 °C | Parasetamol 0,3 % | 7,63 ± 0,35 b |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,01 % | 7,85 ± 0,86 b |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,02 % | 7,68 ± 0,61 b |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,04 % | 7,55 ± 0,10 b |
| | Kontrol | 4,16 ± 0,69 a |

Keterangan: Angka diikuti dengan tanda yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata taraf uji 5%.

rendah dibanding konsentrasi lipida pada sel yang baru dipanen. Teh pada konsentrasi 0,01 % dapat menurunkan tingkat kerusakan lipida pada sel yang baru dipanen, tetapi tidak pada sel yang sebelumnya diperlakukan dengan suhu rendah. Pada sel yang disimpan pada suhu rendah dan diberi parasetamol, keberadaan teh hijau (sampai konsentrasi 0,04 %) tidak mengakibatkan meningkatnya lipida terperoksidasi. Sebaliknya pada sel yang baru dipanen, keberadaan ekstrak teh hijau mulai konsentrasi 0,03 % mengakibatkan bertambahnya jumlah lipida yang terperoksidasi.

Pengaruh penyimpanan pada suhu rendah terhadap viabilitas sel *C. tropicalis* yang diperlakukan dengan parasetamol dan ekstrak air panas teh hijau. Pada sel yang baru dipanen, parasetamol mengakibatkan kematian

sel; kematian ini dapat dilindungi oleh ekstrak teh hijau. Namun viabilitas sel yang disimpan pada suhu rendah tidak terpengaruh oleh parasetamol dan atau ekstrak teh hijau (Tabel 3).

Pengaruh penyimpanan pada suhu rendah terhadap aktivitas Cu/Zn-SOD dan Mn-SOD pada sel *C. tropicalis* yang diperlakukan dengan parasetamol dan ekstrak air panas teh hijau. Seperti yang terlihat pada Table 4, perbedaan aktivitas Cu/Zn-SOD atau Mn-SOD dari sel yang yang disimpan pada suhu rendah dan sel yang baru dipanen, tidak ditemukan.

PEMBAHASAN

Perubahan suhu dari suhu kamar ke suhu rendah diperkirakan dapat mengakibatkan ketidak seimbangan proses fisiologi, antara lain proses reduksi-oksidasi sehingga menyebabkan

Tabel 3. Pengaruh penyimpanan suhu rendah (4 ° C , 10 hari) terhadap viabilitas khamir *C. tropicalis* yang diperlakukan dengan parasetamol dan teh hijau.

| Kondisi Biak | Perlakuan | Viabilitas (10⁶ CFU/ml) |
|--|--|---|
| Hasil panen segera setelah 48 jam inkubasi pada suhu ruang (28° C) | Kontrol | 229 ± 7,2 b |
| | Parasetamol 0,3 % | 138,9 ± 3,6 a |
| | Teh hijau 0,01 % | 224,7 ± 4,2 b |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,01 % | 223,9 ± 3,5 b |
| Hasil penyimpanan selama 10 hari pada suhu 4 ° C | Kontrol | 209,2 ± 9,3 b |
| | Parasetamol 0,3 % | 225 ± 3,1 b |
| | Teh hijau 0,01 % | 225,2 ± 3,6 b |
| | Parasetamol 0,3 % dan Teh hijau 0,01 % | 220,4 ± 4,1 b |

Keterangan: Angka yang diikuti dengan tanda yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%

munculnya radikal bebas dalam sel (Zhao & Blumwald 1998). Oleh karena itu, sel beradaptasi pada suhu rendah dengan mengaktivasi gen-gen penyandi protein yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan diri melawan stress oksidasi seperti superoksida dismutase, katalase, dan peroksidase (Gacto *et al.* 2003; Zhang *et al.* 2003). Superoksida dismutase mengkatalisis reaksi perubahan molekul superoksida ($O_2^{\cdot-}$) menjadi hydrogen peroksida (H_2O_2); selanjutnya katalase akan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Xiang *et al.* (2011) menunjukkan bahwa induksi enzim SOD1 dan SOD2 menjadikan khamir *S. cerevisiae* resisten terhadap cekaman oksidasi. Pada penelitian ini, penyimpanan pada suhu rendah pada khamir *C. tropicalis* memang menurunkan tingkat kerusakan oksidasi yang disebabkan oleh parasetamol dan dapat mencegah kerusakan yang lebih parah akibat ekstrak teh hijau konsentrasi tinggi. Suhu rendah juga menyebabkan sel terlindung dari kematian akibat stress oksidasi yang

ditimbulkan oleh parasetamol. Namun ketahanan sel terhadap cekaman oksidasi pada penelitian ini tidak bisa dihubungkan dengan kenaikan aktivitas enzim SOD. Enzim lain yang bertanggung jawab terhadap ketahanan sel terhadap cekaman oksidasi seperti katalase, mungkin dapat diperhitungkan. Telah diketahui bahwa kerusakan akibat oksidasi oleh parasetamol disebabkan terbentuknya radikal bebas oleh metabolit hasil metabolisme parasetamol oleh sitokrom P450 (Vermeulen *et al.* 1992). Sampai konsentrasi 0,04 %, teh sendiri tidak mengakibatkan munculnya sifat prooksidasi seperti yang dilaporkan Cotelle (2001), baik pada sel yang tidak diperlakukan atau diperlakukan dengan suhu rendah. Hal ini memberikan indikasi bahwa suhu rendah menghambat peroksidasi lipida terutama akibat metabolisme parasetamol. Oleh karena itu aktivitas enzim lain yang bertanggung jawab terhadap metabolisme parasetamol

Tabel 4. Pengaruh penyimpanan pada suhu 4° C selama 10 terhadap aktivitas enzim super oksida dismutase

| Perlakuan | Aktivitas enzim | |
|--|-------------------------|---------------|
| | (unit/mg protein lisat) | |
| | Cu-ZnSOD | MnSOD |
| Tidak disimpan | 1,75 ¶ 0.1 a | 1,41 ¶ 0.01 a |
| Penyimpanan pada suhu 4 C selama 10 hari | 1,32 ¶ 0.08 a | 1,66 ¶ 0.01 a |

Keterangan: Angka diikuti dengan tanda yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata taraf uji 5%.

pada suhu rendah perlu mendapat perhatian.

KESIMPULAN

Parasetamol dapat mengakibatkan naiknya lipid terperoksidasi sebagai salah satu tanda kerusakan akibat oksidasi pada sel *C. tropicalis* yang disimpan pada suhu rendah (4 °C) selama 10 hari, walau kurang parah dibanding pada sel yang baru dipanen. Tidak seperti pada sel yang tidak disimpan, kenaikan kandungan lipida terperoksidasi pada sel yang disimpan pada suhu rendah tidak dapat dihambat oleh teh hijau. Berbeda dengan sel yang tidak disimpan, sel yang disimpan pada suhu rendah tidak mengalami kematian jika diperlakukan dengan parasetamol pada kondisi penelitian ini. Hubungan antara aktivitas Cu/Zn-SOD atau Mn-SOD dengan berubahnya respon oksidasi sel khamir yang disimpan pada suhu rendah, tidak teramati. Selanjutnya, untuk pengujian evaluasi sifat pro atau anti-oksidan disarankan menggunakan sel yang baru dipanen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fransiska, Hamdallah, Titin Yulineri dan Ika Nurmala dan Maman Rahmansyah yang telah membantu teknis pelaksanaan riset ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aguilera, J., F.Randez-Gil & JA. Prieto
Cold response in *Saccharomyces cerevisiae*: new functions fo rold

mechanisms. 2007. *FEMS Microbiol Rev* 31: 327–341.

Almeida, B., A. Silva, A. Mesquita, B. Sampaio-Marques, F. Rodrigues, P. Ludovico. 2008. Drug-induced apoptosis in yeast, *Biochim. Biophys. Acta*, 1783:1436-1448.

Bradford, M. 1976. A rapid & sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-252.

Cotelle, N. 2001. Role of Flavonoids in Oxidative Stress. *Current Topics in Medicinal Chem.* 1. 569-590.

De Winde, J.H., JM. Thevelein, & J. Winderickx. 1997. From feast to famine: adaptation to nutrient depletion in yeast. In “*Yeast stress respons*” (S. Hofmann & W.H. Mager, eds.). 1-52.

Gacto, M., T. Soto, VS. Jero, TG. Villa, J.Cansado. 2003. Learning from yeasts: intracellular sensing of stress conditions. *Int Microbiol.* 6: 211–219

Julistiono, H. 2006. Respons Oksidatif Khamir *Candida* sp. Y390 terhadap Antioksidan Vitamin C (Oxidative Response of Yeast *Candida* sp. Y390 to an Antioxidant Vitamin C). *Gakuryoku.* 12:166-169

Julistiono. H. 2006. Superoxide Dismutase and Ethanol Resistance by Sodium Chloride and Lead in Yeast *Candida*. Y390. *J. Biol. Indonesia.* 4: 1-7.

Julistiono, H. 2011. Sifat proteksi ekstrak air panas teh hijau (*Camellia*

- sinensis*) pada khamir *Candida tropicalis* yang diperlakukan dengan parasetamol. *Berita Biologi*. submitted.
- Muthukumar, K & V. Nachiappan. 2010. Cadmium-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Indian J Biochem Biophys*. 47: 383-387.
- Pereira, M.D., RS. Herdeiro, PN. Fernandes, ECA. Eleuterio & A D. Panek. 2003. Targets of oxidative stress in yeast *sod* mutants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* 1620:245-251.
- Ray A, SR. Chaudhuri, B. Majumdar, & SK. Bandyopadhyay. 2002. Antioxidant activity of ethanol extract of rhizome of *Picrorhiza Kurroa* on indomethacin induced gastric ulcer during healing. *Indian J. Clin. Biochem*. 17: 44-51
- Saono S, I. & Gandjar. 1974. Hydrocarbon-utilizing soil yeasts from oil fields in Tjepu region (central java), Indonesia. *Annales Bogorienses* 5: 123-129.
- Schuessel, K., C. Frey, C. Jourdan, U. Keil, C. C. Weber, F. Müller-Spahn, WE. Müller, & A. Eckert. 2006. Aging sensitizes toward ROS formation and lipid peroxidation in PS1M146L transgenic mice. *Free Radical Biol.Med*. 40:850-862.
- Shin, B.C., HH. Ryu, JH. Jon, BR. Lee, & HL. Kim. 2009. The Protective Effects of Green Tea Extract against L-arginine Toxicity to Cultured Human Mesangial Cells. *J. Korean Med Sci*; 24: S204-S209.
- Vermeulen, NPE. JGM. & R. Van de streat .1992. Molecular aspects of parasetamol-induced hepatotoxicity and it mechanism based prevention. *Drug Metab Rev*. 24: 367-407.
- Winterbourn, C. R. Hawkins, M. Brian & R. Carrel. 1975. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J. Lab. Clin. Med*. 85:337-341.
- Xiang L, K. Sun, J. Lu, Y. Weng, A. Taoka, Y. Sakagami, & J. Qi. 2011. Anti-Aging Effects of Phloridzin, an Apple Polyphenol, on Yeast via the SOD and Sir2 Genes. *Biosci. Biotech. Biochem*. 75:854-858.
- Yulineri T dan H. Julistiono. 2003. Penggunaan Keragaman Khamir berdasarkan Keberadaan enzim superoksid dismutasenya untuk bioesai stres oksidatif. *Berkala Penelitian Hayati*. 8:49-51.
- Zhang L, K. Onda, R. Imai, R. Fukuda, H. Horiuchi, & A. Ohta. 2003. Growth temperature downshift induces antioxidant response in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem Biophys Res. Commun*. 307:308-314.
- Zhao, S & E. Blumwald. 1998. Changes in oxidation-reduction state and antioxidant enzymes in the roots of jack pine seedlings during cold acclimation. *Physiologia Plantarum*. 104: 134-142

Memasukkan: Agustus 2011

Diterima: Desember 2011