

**KAJIAN CURCUMIN DARI KUNYIT  
(*Curcuma longa*) KE ATAS BEBERAPA  
PARAMETER FISILOGI MANUSIA**

**TENGGU FADILAH BINTI TENGGU KAMALDEN**

Tesis yang diserahkan untuk memenuhi keperluan  
bagi Ijazah Doktor Falsafah

**MAC 2004**

## **PENGHARGAAN**

**Pertamanya, ucapan ribuan terima kasih kepada penyelia saya, Prof Dr Aishah Abdul Latiff di atas tunjukajar dan panduan yang diberikan selama ini.**

**Kepada suami serta anak-anak, terimakasih di atas sokongan dan doa kalian.**

**Seterusnya kepada ayahanda dan bonda yang telah banyak memberi sokongan moral terhadap perjuangan akademik saya.**

**Kepada Polis DiRaja Malaysia, Pusat Kawalan Doping dan Institut Sukan Negara di atas kerjasama yang telah diberikan.**

## KANDUNGAN

	<b>Mukasurat</b>
<b>BAB I PENGENALAN</b>	<b>1</b>
<b>BAB 2 LATAR BELAKANG</b>	
2.1. Radikal Bebas	12
2.2. Lipid Peroksidasi	18
2.3. Antioksidan	22
2.3.1. Sistem Antioksidan Endogenous	26
2.3.1.1. Sistem Glutation Peroksidase-Reduktase	27
2.3.1.2. Sistem Superoksida Dismutase-Katalase	28
2.3.2. Enzim Eksogenous	31
2.4. Stres Oksidatif	32
2.5. Radikal Bebas dan Senaman	35
2.5.1. Radikal Bebas, Senaman dan Kecederaan Otot	39
2.5.2. Radikal Bebas, Senaman dan Sistem Imun	41
2.5.3. Radikal Bebas, Senaman dan Altitud Tinggi	42
2.5.4. Radikal Bebas, Senaman dan Penuaan	43
2.5.5. Radikal Bebas, Senaman dan Tokokan Antioksidan	46
2.6. Curcumin dari Kunyit ( <i>Curcuma longa</i> )	47
2.6.1. Mekanisme Antioksidan Curcumin	57
2.6.2. Curcumin dan Barah	60
2.6.3. Curcumin dan Toksisiti	61
2.6.4. Curcumin dan Tindakan Fisiologikal	62

### **BAB 3 KESAN KUNYIT KE ATAS SUBJEK SIHAT**

3.1.	Pengenalan	65
3.2.	Kaedah	
3.2.1.	Subjek dan Perekrutan	69
3.2.1.1.	Kumpulan Kawalan	71
3.2.1.2.	Kumpulan Intervensi	71
3.2.2.	Ukuran Antropometrik dan Tahap Kecergasan	72
3.2.2.1	Ketinggian	73
3.2.2.2	Berat Badan	73
3.2.2.3	Indeks Jisim Badan (BMI)	74
3.2.3.	Rekabentuk Kajian	74
3.2.3.1.	Penyediaan Kapsul Kunyit	75
3.2.3.2.	Analisis Kandungan Curcumin melalui Kromatografi Lapisan Nipis (TLC)	75
3.2.3.3	Pengambilan dan Analisis Sampel Darah	79
3.2.4.	Analisis Statistik	82
3.3.	Keputusan	83
3.4.	Perbincangan	92

### **BAB 4 CURCUMIN SEBAGAI ANTIOKSIDAN DALAM SUBJEK BERSENAM**

4.1.	Pengenalan	98
4.2.	Kaedah	
4.2.1.	Subjek dan Perekrutan	103

4.2.1.1.	Kumpulan Kawalan	104
4.2.1.2.	Kumpulan Intervensi	105
4.2.2.	Ukuran Antropometrik dan Tahap Aktiviti Fizikal	107
4.2.2.1.	Ketinggian	107
4.2.2.2.	Berat Badan	108
4.2.2.3.	Indeks Jisim Badan (BMI)	108
4.2.3.	Rekabentuk Kajian	109
4.2.3.1.	Pengambilan Curcumin dan Senaman	110
4.2.3.2.	Pengambilan Sampel Darah	111
4.2.4.	Ujian Fisiologikal	114
4.2.4.1.	Protokol Ujian ' <i>Treadmill</i> '	117
4.2.5.	Analisis Malondialdehid bagi Lipid Peroksidasi	123
4.2.5.1.	Penyediaan Sampel Darah bagi Analisis MDA	123
4.2.5.2.	Penyediaan Sampel Piawai bagi Analisis Protein	124
4.2.5.3.	Penyediaan TBA Piawai dan Sampel	127
4.2.6.	Analisis Aktiviti Fizikal dan Gerakbalas Terhadap Pengambilan Curcumin	132
4.2.7.	Analisis Statistik	132
4.3.	Keputusan	133
4.4.	Perbincangan	152
<b>BAB 5</b>	<b>PERBINCANGAN AM</b>	<b>171</b>
<b>BAB 6</b>	<b>KESIMPULAN</b>	<b>177</b>
<b>RUJUKAN</b>		<b>182</b>

## SENARAI JADUAL

### BAB 2

2.1.	Radikal Bebas dalam Biologi dan Perubatan	17
2.2.	Antioksidan: Jenis, Lokasi dan Fungsi	25
2.3.	Herbal, Sebatian Aktif dan Aktiviti	54

### BAB 3

3.1.	Nilai ' <i>Baseline</i> ' Antropometrik dan Tahap Kecergasan	81
3.2.	Perbandingan Anggaran VO <sub>2</sub> max antara Kumpulan dan Norma ' <i>Age-matched</i> '	83
3.3.	Peratusan Perubahan Parameter Darah Pra dan Pasca Pengambilan Kunyit	84

### BAB 4

4.1.	Mekanisme yang Mungkin Mengaruh Stres Oksidatif Semasa Aktiviti Fizikal	101
4.2.	Protokol Ujian ' <i>Treadmill</i> ' Bruce bagi Ujian VO <sub>2</sub> max	119
4.3.	Carta Borg bagi ' <i>Rate of Perceived Exertion</i> '	120
4.4.	Nilai ' <i>Baseline</i> ' Antropometrik, Tahap Aktiviti dan Kecergasan	134
4.5.	Perbandingan Anggaran VO <sub>2</sub> max antara Kumpulan dan Norma ' <i>Age-matched</i> '	135
4.6.	Data Perihalan bagi Ukuran Variabel dalam Kajian	136
4.7.	Korelasi Antara Nilai Laktat vs Jangkamasa Larian dan Nilai Laktat vs Nilai VO <sub>2</sub> max Selepas Ujian "Treadmill"	145
4.8.	Maklumbalas Pengambilan Tokokan Curcumin	151
4.9.	Kesan Tokokan Vitamin E Ketika Bersenam	161
4.10.	Kaedah yang Digunakan Untuk Mengesan dan Mengukur Lipid Peroksidasi Secara Biologiikal	169

## **SENARAI RAJAH**

### **BAB 2**

2.1.	Kemusnahan Sel Akibat Radikal Bebas dan Mekanisme Pertahanan Antioksidan	16
2.2.	Proses-proses Terlibat dalam Interaksi Lipid Peroksidasi dan Radikal Bebas	19
2.3.	Pertahanan Sistem Enzim Antioksidan bagi Penghapusan Superoksida	30
2.4.	Ketidakseimbangan Prooksidan dan Antioksidan yang Menyebabkan Stres Oksidatif	34
2.5.	Ladang Kunyit dan Kunyit yang Telah Dikeringkan	50
2.6.	Daun Kunyit dan Bunga Kunyit	51
2.7.	Ibu Kunyit, Keratan Kunyit dan Tunas	52
2.8.	Curcuminoids: Curcumin, Demetoksicurcumin, Bisdemetoksicurcumin	56
2.9.	Struktur Molekul yang Penting bagi Aktiviti Biologikal Curcuminoids	58

### **BAB 3**

3.1.	Perancangan Penyelidikan Kesan Pengambilan Kunyit Terhadap Subjek Sihat	81
3.2.	Kromatografi Lapisan Nipis bagi Curcumin	91

### **BAB 4**

4.1.	Pengambilan Sampel Darah oleh Penyelidik	113
4.2.	Ujian Larian ' <i>Treadmill</i> ' di makmal Fisiologi	116
4.3.	Perancangan Penyelidikan Kesan Cucurmin Terhadap Subjek Bersenam	122
4.4.	Protokol Analisis Protein	126

4.5.	Lengkuk Piawai Protein Biuret	128
4.6.	Protokol Asai Malondialdehid (MDA)	130
4.7.	Lengkuk Piawai Malondialdehid	131
4.8.	Nilai MDA dari Minggu Pertama ke Minggu Ke-Sepuluh	138
4.9.	Perbandingan Nilai VO <sub>2</sub> max Bagi Senaman Akut Pra dan Pasca Tokokan Curcumin (diambil ketika ujian 'treadmill')	140
4.10.	Nilai MDA Pra dan Pasca Tokokan Curcumin Semasa Senaman Akut	142
4.11.	Graf Korelasi Nilai Laktat dan Nilai VO <sub>2</sub> max bagi NXPlacebo	146
4.12.	Graf Korelasi Nilai Laktat dan Jangkamasa Larian ' <i>Treadmill</i> ' bagi NXCurcumin	147
4.13.	Perbandingan Jangkamasa Larian ' <i>Treadmill</i> '	149
4.13.	Gerakbalas dan Adaptasi Sistem Antioksidan Semasa Latihan Fizikal	165

## **SENARAI LAMPIRAN**

- A Maklumat Penyelidikan
- B Borang Persetujuan Penyertaan Penyelidikan
- C Borang Kod Aktiviti Kecergasan
- D Deklarasi Saas Fee
- E Penyediaan Reagen Biuret
- F Keputusan Analisis Profil Darah
- G Borang Maklumbalas
- H Log Aktiviti Harian

## **ABSTRAK**

## **ABSTRACT**



## SINGKATAN DAN SIMBOL

ANCOVA	Analysis of Covariance
4-HNE	4-hydroxy- <i>trans</i> -2-nonenal; 4-hydroxynonenal
BHA	butylated hydroxyanisole
BHT	butylated hydroxytoluene
CAT	katalase
GPX	glutathione peroksidase
GRD	glutathione reduktase
GSH	$\gamma$ -glutamyl-cysteinyl-glycine; glutathione
GST	glutathione S-transferase
GSSG	glutathione teroksida
GSSH	glutathione disulfida
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	hidrogen peroksida
MDA	malondialdehid
Mn-SOD	manganese superoksid dismutase
O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	radikal superoksid
PUFAs	asid lemak tak tepu
ROH	radikal hidroksil
ROOH	radikal lipid hidroperoksid
ROS	spesis reaktif oksigen
SOD	superoksid dismutase
TBARS	<i>thiobarbituric acid reactive species</i>
VO <sub>2</sub> max	pengambilan oksigen maksimum

## ABSTRAK

Tokokan pemakanan antioksidan adalah sesuatu yang diperlukan oleh sistem pertahanan badan untuk mengatasi serangan radikal bebas yang dihasilkan semasa aktiviti fizikal. Kajian ini melihat potensi curcumin, bahan aktif dari kunyit (*Curcuma longa*), yang mempunyai ciri antioksidan yang kuat. Kajian ini telah dijalankan dalam dua fasa. Fasa pertama merupakan kajian untuk menyelidik kesan kunyit serbuk ke atas subjek yang sihat. Perbandingan dibuat antara subjek yang berpuasa dan tidak berpuasa. Keputusan kajian ini merupakan '*turning point*' untuk kajian Fasa Dua. Fasa kedua seterusnya menyelidik kesan curcumin ke atas subjek sihat yang bersenam. Keputusan Fasa pertama menunjukkan keberkesanan kunyit untuk menurunkan kolesterol sehingga 8.55% dan mengurangkan pengagregatan platlet sehingga 4.68%, dengan signifikan, ( $p < 0.05$ ). Pada masa yang sama, puasa telah meningkatkan kandungan trigliserida secara signifikan dalam subjek yang berpuasa sehingga 20.9% ( $p < 0.05$ ). Kesan utama puasa adalah berlakunya suatu anjakan metabolik yang akan mengutamakan penggunaan lemak dari karbohidrat dalam badan. Kunyit didapati tidak membantu untuk mengurangkan kandungan trigliserida tersebut. Peningkatan tahap trigliserida dan seterusnya asid lemak dalam darah akan mendedahkan subjek kepada risiko serangan radikal bebas seterusnya lipid peroksidasi. Akibat ini adalah sama seperti yang didapati apabila subjek mengalami peningkatan oksigen yang mendadak dan berganda kuantitinya ketika bersenam. Kajian Fasa

kedua menunjukkan keberkesanan curcumin dalam membantu mengurangkan lipid peroksidasi dalam subjek sihat yang bersenam. Plasma malondialdehid (MDA), suatu petunjuk lipid peroksidasi telah menunjukkan penurunan yang signifikan sehingga 9.73% , ( $p < 0.05$ ) bagi yang menjalani latihan aktiviti fizikal selama 8 minggu pada 70% kadar jantung maksimum (HRmax). Perbezaan yang tidak signifikan antara XPlacebo (senam dan tidak mengambil kunyit) dan NXCurcumin (tiada senam dan mengambil kunyit) menunjukkan bahawa latihan fizikal mampu memberikan perlindungan dari lipid peroksidasi mungkin melalui '*up-regulation*' sistem enzim antioksidan badan. Walau bagaimanapun, dalam senaman akut yang intensif, plasma MDA yang dihasilkan oleh NXCurcumin adalah kurang secara signifikan dari XPlacebo ( $p < 0.05$ ). Ini menunjukkan bahawa senaman akut memerlukan bantuan tokokan antioksidan kerana sistem enzim antioksidan endogenous tidak mampu menentang serangan radikal bebas tersebut. Dos tokokan curcumin yang telah diberi dalam kajian ini adalah mencukupi untuk membantu mengurangkan penghasilan radikal bebas dalam badan subjek terutamanya bagi senaman akut. Tokokan curcumin tidak dapat membantu mengurangkan penghasilan asid laktik mahupun meningkatkan kapasiti aerobik subjek tetapi ia telah membantu meningkatkan jangkamasa larian di atas '*treadmill*' terutamanya bagi kumpulan NXCurcumin. Ini dilihat apabila tiada perbezaan yang signifikan antara XPlacebo dan NXCurcumin, ( $p > 0.05$ ). Hasilnya adalah jangkamasa lakuan aktiviti fizikal telah diperlanjatkan. Ini disokong oleh korelasi negatif ( $r = - 0.844^{**}$ ,  $p < 0.001$ ). antara jangkamasa larian dan asid

laktik. Kajian ini menyokong ciri antioksidan curcumin yang berkesan dan mencadangkan curcumin sebagai tokoran antioksidan alternatif bagi subjek yang bersenam.

# **STUDY OF CURCUMIN FROM TURMERIC (*Curcuma longa*) ON VARIOUS PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN HUMAN**

## **ABSTRACT**

Antioxidant supplement is required for the body's defence against free radicals produced during physical activity. This study investigates antioxidant characteristics of curcumin from *Curcuma longa* (turmeric). The whole study was carried out in two phases. The initial phase was to examine the effect of powdered turmeric on healthy human subjects. Comparisons were made between fasting and non fasting subjects. The result of these studies was a turning point for the Phase Two study on the effect of curcumin on healthy exercising subjects. Results from the First Phase study demonstrated the effectiveness of powdered turmeric in significantly lowering cholesterol levels by 8.55% and reducing platelet aggregation by 4.68%, ( $p < 0.05$ ). At the same time, fasting caused an increase in the triglycerides levels by 20.9% ( $p < 0.05$ ); this may be due to the fact that fasting can bring about a metabolic shift which may boost the utilization of the body's fatty acids rather than carbohydrate. Curcumin, however did not affect the levels of triglycerides. Excessive triglycerides and circulating fatty acids will expose subjects to higher risk of oxidative stress which will in turn increase the production of free radicals. These same consequences are expected when there is a sudden

increase of oxygen consumption during exercise. The second phase study demonstrated the effectiveness of curcumin in minimizing lipid peroxidation in healthy exercising subjects. Plasma malondialdehyde (MDA), an indicator of lipid peroxidation decreased significantly (9.73%) for subjects who exercised for 8 weeks at 70% HRmax. There was no significant difference between XPlacebo (exercising and not taking curcumin) and NXCurcumin (not exercising and taking curcumin) after the eight weeks indicating that physical training may have generated an up-regulation of the antioxidant enzymes system, thus augment the body's defense mechanism. But on the other hand, there was a significant difference between these two groups during the intensive acute exercise bout on the treadmill. NXCurcumin group displayed lower lipid peroxidation than the XPlacebo indicating that antioxidant supplementation in this case plays a very important role in reducing free radicals produced during acute exercise. The intake of curcumin did not decrease the production of lactic acid neither does it aid the improvement of aerobic capacity. Although there was an increase in the running time for NXCurcumin, there was no significant difference between running time for XPlacebo and NXCurcumin. The evidence of a negative correlation ( $r = -0.844^{**}$ ,  $p < 0.001$ ) between the running time and levels of lactic acid indicated that NXCurcumin benefited from the curcumin supplementation. This study supports the effectiveness of curcumin as an antioxidant and possibly an effective supplement for exercising human subjects.

## **BAB 1**

### **PENGENALAN**

Radikal bebas adalah sesuatu yang terbentuk secara semulajadi dalam semua kehidupan termasuk manusia. Komuniti saintis telah lama menerima kenyataan bahawa radikal bebas terlibat dalam hampir semua proses biologikal (Halliwell & Gutteridge, 1989). Kewujudan radikal superoksida,  $O_2^{\cdot-}$ , satu spesis radikal yang ketara dalam sistem biologikal manusia telah disertakan juga dengan enzim superoksida dismutase (SOD) sebagai penawarnya. Ini secara tidak langsung menunjukkan perlunya kewujudan radikal bebas dalam semua kehidupan.

Kuantiti spesis radikal bebas yang berlebihan tidak digemari bagi kebanyakan situasi tetapi radikal bebas yang terlalu sedikit pula adalah sesuatu yang tidak dikehendaki. Contohnya, tisu pada serviks yang sihat mempunyai jumlah radikal bebas yang tinggi sedangkan tisu barah pula hampir tiada langsung radikal bebas (McBrien & Slater, 1982). Radikal bebas memainkan peranan yang penting dalam '*signal network of cells*' yang merangkumi aruhan tumbesaran sel serta apoptosis dan pemusnahan sel '*immunocompetent*' (Fehrenbach & Northoff, 2001). Bukti-bukti kebaikan radikal bebas dan keperluan kehadirannya dalam kehidupan sel serta organisma semakin meningkat kebelakangan ini. Pembinaan organisasi supramolekul sesuatu sel

(terutamanya sebatian bermembran) memerlukan kesan dari rangkaian silang oksiradikal terutamanya radikal OH•. Adalah dijangkakan, fluks berterusan radikal OH• kemungkinan adalah prasyarat untuk menyelenggarakan delokalisasi elektron protin secara konstan (Zs-Nagy, 2001). Nitrik oksida (NO•) pula adalah suatu radikal yang terbentuk dari asid amino L-arginine oleh tiga isoform nitrik oksida sintase. NO• yang terhasil ketika luka seperti selepas pembedahan akan membantu dalam pembentukan kolagen dan proliferasi sel dalam membaikpulih luka tersebut (Witte & Barbul, 2002). NO• juga boleh mengurangkan radang pulmonari dan kecederaan paru-paru akut yang diaruhkan oleh lipopolisakarida (Kang *et al.*, 2002).

Walau bagaimanapun, secara amnya, majoriti penyakit terutamanya keadaan malignan seperti kanser payu dara mempunyai kaitan dengan radikal bebas (Ray *et al.*, 2000; Thongphasuk *et al.*, 1999;). Begitu juga dengan proses degeneratif seperti penuaan (Reid & Durham, 2002; Meydani, 2001; Han & Meydani, 1999) penyakit kardiovaskular (Nayak *et al.*, 2001;), radangan (Chung *et al.*, 2001), Alzheimer (Moskovitz *et al.*, 2002; Blass, 2001), sklerosis (Moskovitz *et al.*, 2002; Halliwell, 2001), gangguan neural (Sevcik & Masek, 2000), katarak (Zhao *et al.*, 1998; Robertson *et al.*, 1991) dan diabetes (Kanter, 1994; Barnett, 1994).



Antara radikal bebas yang sering diperbincangkan adalah radikal oksigen dan hidrogen peroksida yang sentiasa dihasilkan dalam tubuh manusia. Pada masa yang sama, tubuh manusia telah diperlengkapkan dengan sistem pertahanan antioksidan yang mencukupi untuk mengimbang kesan negatif radikal bebas yang terhasil secara normal. Dengan lain perkataan, tiada lebih kapasiti untuk pertahanan antioksidan dalam tubuh badan manusia. Oleh kerana penghasilan radikal bebas dan paras antioksidan ini lebih kurang seimbang, maka ketidakseimbangan mudah berlaku sekiranya terdapat kelebihan radikal bebas yang akan mengakibatkan gangguan biokimia sesuatu sel. Ketidakseimbangan ini dikenali sebagai stres oksidatif. Signal stres oksidatif yang sederhana adalah baik kerana ia membantu dalam membaikpulih sel dengan mengenalpasti sel yang rosak serta memusnahkannya. Pada masa yang sama, sebagai gerakbalas kepada signal stres oksidatif, sistem pertahanan antioksidan badan juga akan dipertingkatkan.

Stres oksidatif telah diakui sebagai proses yang terlibat di dalam patogenesis penyakit degeneratif seperti barah dan tumor. Kini, penyelidikan telah menunjukkan bahawa kandungan oksidan yang rendah boleh mengubahsuai protein pemberi-signal. Pengubahsuaian ini mempunyai implikasi pada fungsinya. Oleh itu, penyelidik sedang mengenalpasti protein sasaran yang manakah yang akan melalui pengubahsuaian redox. Melalui kaedah ini,

penyelidik akan dapat memahami cara oksidan menjadi antara penyebab proses patologikal seperti tumor. Ini adalah amat penting kerana protein sasaran yang sama mungkin boleh dijadikan sasaran bagi tindakan antioksidan juga. Dengan itu, bukan sahaja diketahui kaedah menghadang signal yang dikeluarkan oleh oksidan malah rangsangan tindakan antioksidan juga boleh berlaku (Gopalakrishnan & Jaken, 2000).

Cetusan ide tentang kemudaratan dari radikal bebas berlebihan yang terbit dari aktiviti fizikal bermula sejak 30 tahun dahulu (Dillard *et al.*, 1978). Radikal bebas yang dihasilkan ketika bersenam berpunca dari sistem pengangkutan elektron dalam mitokondria, polimorfoneutrofil dan xantina oksidase (Ji *et al.*, 1998). Walaubagaimanapun antioksidan berunsur enzim dan tidak berunsur enzim menunjukkan versatiliti dan adaptasi gerakbalas yang baik terhadap senaman akut dan kronik (Ji, 1999). Definisi senaman akut, mengikut Ji, (<http://www.ssc.wisc.edu/aging/ji.htm>) merujuk kepada senaman yang dibuat pada jangkamasa yang pendek secara spontan (contohnya larian atas 'treadmill' selama 30 minit) dan ini tidak memberi kesan senaman yang berpanjangan. Senaman kronik pula bermaksud senaman yang dilakukan dalam jangkamasa yang lama contohnya 10 minggu atau lebih. Senaman kronik boleh merangkumi senaman jangkapendek yang dijalankan untuk satu tempoh masa yang lama.

Walaupun pada peringkat awalnya diketahui bahawa bagi jenis senaman yang tertentu akan mengakibatkan pembentukan radikal bebas, namun tidak pula diketahui atau dipastikan jenis senaman yang bagaimanakah benar-benar akan memulakan rantaian tindakan radikal bebas dan terus mendatangkan bahaya (Jackson, 1987). Ketidakselarasan dari segi keputusan ini adalah disebabkan perbezaan protokol kajian seperti jenis, intensiti dan jangkamasa senaman dan definisi otot yang terlibat dalam aktiviti fizikal. Kebanyakan kajian merujuk kepada seluruh tubuh badan manusia atau haiwan sebagai komponen yang melakukan senaman. Oleh itu, radikal bebas yang dihasilkan dari aktiviti fizikal dianggap berpunca dari pergerakan tubuh badan. Sedangkan ada kemungkinan ia hanya disebabkan oleh jenis pengecutan otot. Ini juga bergantung kepada jenis senaman yang dilakukan.

Senaman akan meningkatkan kadar penggunaan oksigen yang lebih jika dibandingkan dengan semasa rehat, oleh itu kita boleh menjangkakan kadar penghasilan radikal bebas adalah lebih tinggi juga. Secara logik, peningkatan radikal bebas ini adalah suatu fenomena yang tidak digemari kerana berlebihan radikal bebas adalah memudaratkan (Davies *et al.*, 1982). Jenkins (1993) menganggarkan 2-4% dari oksigen yang sepatutnya diguna semasa fosforilasi oksidatif berakhir dengan pembentukan radikal bebas. Ini berlaku kerana semasa fosforilasi oksidatif, oksigen telah diturunkan dengan penambahan satu hidrogen sahaja. Akibatnya, terbentuk satu elektron tidak

berpasang dalam molekul oksigen yang juga dikenali sebagai radikal superoksida yang boleh terbebas melalui sistem pengangkutan elektron pada rantai ubiquinone. (Kagan *et al.*, 1990). Penyelidikan tentang kesan radikal bebas terhadap otot skeletal semasa bersenam juga sering menumpu kepada kegiatan aerobik. Ini mungkin kerana kajian telah menunjukkan aktiviti fizikal anerobik tidak mendatangkan kerosakan oksidatif terhadap otot skeletal (Ihara *et al.*, 2001).

Sudah tentu, terdapat juga sistem perlindungan di dalam tubuh badan yang berupaya untuk detoksifikasikan sebahagian dari radikal bebas ini. Enzim 'scavenger' ini membantu mengawal jumlah radikal bebas yang ada dengan menukarkan molekul bereaktif tinggi ini kepada kurang aktif atau tidak aktif langsung. Antara enzim yang utama adalah superoksida dismutase, glutathione peroxidase dan katalase. Sekiranya jumlah radikal bebas berlebihan dan enzim fisiologikal ini terbatas tindakan perlindungannya, maka radikal bebas yang terbentuk akan dapat bertindak balas dengan komponen selular seperti karbohidrat, lipid, protein dan asid nukleik dan mengakibatkan kerosakan sel.

Senaman juga boleh mempengaruhi tindakan dan tahap kandungan enzim ini dalam manusia (Sen, 2001(b)). Banyak kajian berkenaan kesan terhadap latihan ketahanan untuk meningkatkan kandungan enzim badan dan kapasiti pertahanan antioksidan dilakukan ke atas haiwan (terutamanya tikus dan

mencit). Penyelidikan ke atas manusia adalah terhad dan kebanyakan hanya mengkaji sampel darah. Ini mungkin kerana penyelidikan berkenaan enzim seringkali melibatkan analisis kandungan enzim di hati iaitu stor utama enzim antioksidan seperti glutathione di mana haiwan eksperimen tersebut sering dikorbankan bagi analisis enzim antioksidan. Percanggahan keputusan kajian juga didapati dalam penyelidikan yang melibatkan manusia dan haiwan disebabkan oleh 1) perbezaan protokol latihan dan pengujian 2) umur dan jantina yang tidak sama 3) perbezaan status dan protokol pemakanan 4) *strain* berbeza dalam haiwan 5) perbezaan dalam kaedah asai atau analisis.

Bagi mendapat faedah maksimum dari aktiviti fizikal, pengurusan stres yang berpunca dari aktiviti fizikal adalah perlu. Walaupun senaman yang kerap boleh menyerlahkan ketahanan serta keupayaan antioksidatif tisu badan, kelebihan ini tidak mencukupi untuk melawan stres oksidatif dari senaman akut. Tokokan antioksidan eksogenus boleh membantu bagi memperkukuhkan sistem pertahanan badan dari radikal bebas. Satu gabungan regim tokokan antioksidan dan senaman yang kerap boleh membantu menghalang dan mengurangkan risiko penyakit serta mendorong ke arah tahap kesihatan optimal (Packer, 1984). Oleh kerana senaman meningkatkan penggunaan oksigen berlipat ganda dari semasa rehat, ini akan menjurus kepada stres oksidatif yang mengakibatkan peningkatan penghasilan radikal bebas dan proses lipid peroksidasi terutamanya bagi

'*weekend athlete*' . Ini adalah kerana atlet seperti ini belum mengukuhkan lagi sistem pertahanan badan dari radikal bebas melalui regimen senaman yang dilakukan (Clarkson, 1995).

Tetapi adakah tokokan antioksidan yang berada di pasaran benar-benar diperlukan oleh individu yang bersenam dengan kerap? Patutkah tokokan antioksidan dijadikan suatu rutin atau adakah ia hanya suatu perancangan pemakanan bagi atlit yang diwar-warkan kononnya dapat mempertingkatkan tahap prestasi dalam sukan? Ini adalah sesuatu yang sering dipersoalkan oleh pakar kesihatan, ahli saintis sukan, '*fitness leaders*' dan jurulatih sukan.

Alasan serta dos pengambilan tokokan pemakanan bergantung kepada cara kehidupan seseorang (perokok, terdedah kepada asap rokok sekunder, pencemaran, radiasi dan sebagainya) serta aktiviti fizikal dan cara pemakanan. Terdapat berbagai dakwaan mengenai kelebihan mengambil tokokan pemakanan dalam mengatasi berbagai masalah kesihatan dan juga sebagai awet muda namun risiko di sebalik tokokan pemakanan yang tidak terkawal boleh membawa kesan sampingan seperti kelesuan. Kelesuan ini mungkin disebabkan oleh penghapusan berlebihan radikal bebas yang dipercayai penyebab stres oksidatif (Logan & Wong, 2001) sedangkan radikal bebas sebenarnya mempunyai fungsi yang baik dalam tubuh badan. Contohnya  $O_2^{\cdot-}$  terhasil oleh sel fagosit yang bertanggungjawab

menghapuskan sel mati dan sel asing dalam sistem pertahanan tubuh badan. Oleh itu, sebelum memulakan tokokan pemakanan adalah perlu untuk mengetahui keperluan dan kemujaraban setiap jenis tokokan pemakanan itu, contohnya beberapa bahan fitokimia, tokotrienol dan flavonoid menunjukkan ciri merencat tumbesaran sel barah tetapi tokoferol tidak boleh berbuat demikian (Bucci, 2000; Clarkson & Thompson, 2000)

Tokokan pemakanan yang mempunyai ciri antioksidan sering diselidik bagi mengetahui dengan lebih mendalam serta memahami tindakan biokimia dalam menangani radikal bebas dalam tubuh manusia (Dreosti *et al.*, 1998). Tokokan dari hasil semulajadi sering menjadi rawatan alternatif bagi pesakit kanser (Barber, 2001; Heber *et al.*, 2001; Wargovich, 2001(b)), diabetes (Abdel-Wahab *et al.*, 2001; Wynn, 2001), katarak (Kusniarz *et al.*, 2001; Chasan-Tarber *et al.*, 1999) serta melambatkan proses penuaan (Stahelin, 1999). Malangnya, kerap kali tokokan antioksidan yang berpunca dari bahan semulajadi kerap dijual dalam pasaran dalam bentuk antioksidan sintetik seperti BHT (*butylated hydroxytoulene*).

Kunyit atau lebih dikenali sebagai *Curcuma sp.* adalah genus dari famili Zingiberaceae. *Curcuma longa* adalah jenis kunyit yang paling lazim didapati dan sering digunakan untuk perubatan dan ramuan dalam makanan. Penggunaan kunyit dalam hidupan harian masyarakat Asia adalah amat

meluas. Dalam bidang masakan, kunyit digunakan untuk menambah keenakan dan tarikan (warna kuning oren) juadah. Begitu juga dalam industri kosmetik dan perubatan, kunyit seringkali menjadi sebahagian dari ramuan utama. Industri pemakanan melihat kunyit sebagai satu pengawet yang berkesan. Kunyit boleh membantu menghalang bau tengik pada minyak terutamanya minyak masak (Majeed *et al.*, 1995). Penambahan kunyit dalam makanan boleh melewati proses makanan menjadi basi (Majeed *et al.*, 1995). Ciri-ciri kunyit yang mampu mengekalkan kesegaran makanan serta daging telah menimbulkan minat penyelidik terhadap struktur biomolekul kunyit. Peranan kunyit dalam melindungi tisu segar dari proses degeneratif ini telah mendapat perhatian para saintis (Majeed *et al.*, 1995).

Kini, kunyit diketahui mempunyai bahan aktif yang terdiri dari kumpulan fenol dikenali sebagai curcuminoid yang boleh melindungi secara tidak langsung dengan merangsang proses detoksifikasi dan mekanisme pertahanan semulajadi dalam badan. Curcumin (salah satu dari jenis curcuminoids) telah diberikan kepada haiwan dan berjaya meningkatkan paras glutathione S-transferase, suatu enzim yang penting dalam proses detoksifikasi (Lahiri & Bhide, 1993; Aruna & Sivaramakrishnan, 1992). Curcumin juga boleh membantu mengurangkan kesan sampingan dari rawatan kemoterapi (Soudamini & Kuttan, 1989) serta kesan drug antitumor dan toksin pencemaran (Soni, 1992). Kesan curcumin sebagai antioksidan, antiradang,



antibakterial, antifungal, antiparasitik, antimutagen (Surh, 2002), antibarah dan ciri detoksifikasi dalam manusia masih giat dilakukan. Kajian mengenai tokokan pemakanan curcumin sebagai antioksidan pada manusia adalah terhad. Kebimbangan mengenai kesan toksisiti antioksidan fenolik sintetik seperti '*butylated hydroxytoluene*' (BHT) dan '*butylated hydroxyanisol*' (BHA) semakin merangsangkan minat penyelidikan terhadap agen fenolik semulajadi terutamanya bagi tujuan perubatan dan makanan.

Kajian ini meninjau kesan curcumin dalam manusia sihat dan aktif secara fizikal. Tumpuan akan diberikan kepada kesan antioksidan curcumin dan potensi curcumin untuk menjadi alternatif tokokan pemakanan bagi subjek yang aktif bersenam.

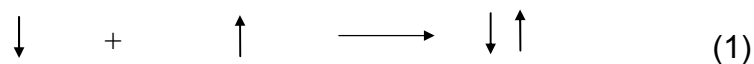
## BAB 2

### LATAR BELAKANG

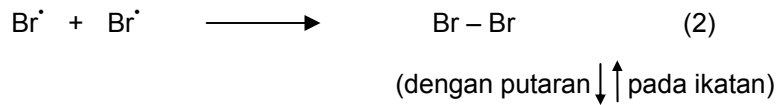
#### 2.1. Radikal Bebas

Secara semulajadi, hampir semua atom dan molekul yang stabil mempunyai pasangan elektron pada petaling luar. Pasangan yang stabil lazimnya mempunyai spin elektron yang bertentangan. Sekiranya, satu atom atau molekul hanya mempunyai satu sahaja elektron di petaling luar, ini akan menjadikannya satu radikal bebas yang sangat reaktif. Radikal bebas ini sentiasa sedia berpasang atau hilangkan elektron untuk mencapai kestabilan.

Dari sudut definisi, radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang mempunyai satu elektron yang tidak berpasang dan boleh wujud sendirian. Elektron ini berputar atau '*spin*' pada sesuatu arah tertentu samada "*up*" atau "*down*". Sebarang elektron yang bersendirian akan cuba mencari pasangan. Ia berbuat demikian agar dapat mencari pasangan elektron yang mempunyai putaran yang bertentangan. Putaran yang bertentangan akan berada dalam sistem bertenaga rendah atau '*low energy system*' seperti di bawah:



Contoh tindakan kimia adalah gabungan dua atom bromin Br-Br ikatan- $\sigma$ :



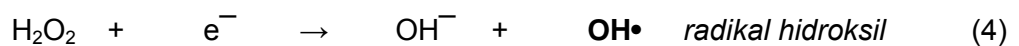
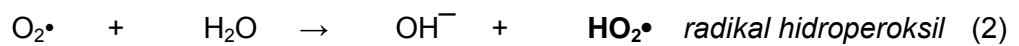
Secara amnya, jumlah elektron yang genap menggambarkan susunan pasangan yang mempunyai putaran bertentangan iaitu  $\uparrow\downarrow$  pada sesuatu molekul. Ini merupakan suatu susunan yang digemari dan menyumbang kepada kestabilan molekul.

Walau bagaimanapun, terdapat juga kes di mana terdapat dua elektron tidak berpasang wujud secara bersendirian dan kedua-duanya mempunyai arah putaran yang sama seperti dalam molekul oksigen, yang mempunyai ikatan dubel ( $\text{O}=\text{O}$ ). Walaupun kedua-dua elektron digabung dengan ikatan  $\pi$  tetapi dari sudut lain, ia juga boleh dilihat sebagai dua pusat yang berasingan iaitu setiap satu mempunyai elektron tidak berpasang  $\uparrow^*\text{O} - \text{O}^*\uparrow$

Kebanyakan radikal bebas ini yang relevan dalam sistem biologikal ini seringkali dikaitkan dengan oksigen. Proses penurunan dari oksigen ke air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) melibatkan empat langkah serta pembentukan beberapa radikal bebas (Clarkson & Thompson, 2000). Salah satu hasil sampingan adalah hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), suatu sebatian yang tidak mempunyai elektron tidak berpasang tetapi masih dianggap sebagai spesies oksigen reaktif (ROS) kerana ia boleh menghasilkan radikal bebas hidroksil yang sangat reaktif

melalui interaksinya dengan logam peralihan seperti kuprum dan juga ferum (Le Goffe *et al.*, 2002; Daiber *et al.*, 2002). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> berupaya untuk meresap melalui membran hidrofobik kerana ia adalah tidak berion dan sering berada dalam keadaan bercas rendah. Ini adalah ciri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang telah menyumbang kepada kebocoran radikal bebas dari mitokondria ke dalam sel intrasellular (Mendez-Alvarez *et al.*, 2001; Aruoma & Halliwell, 1987)

Langkah penurunan oksigen dan hasil sampingan yang terbentuk adalah seperti berikut:

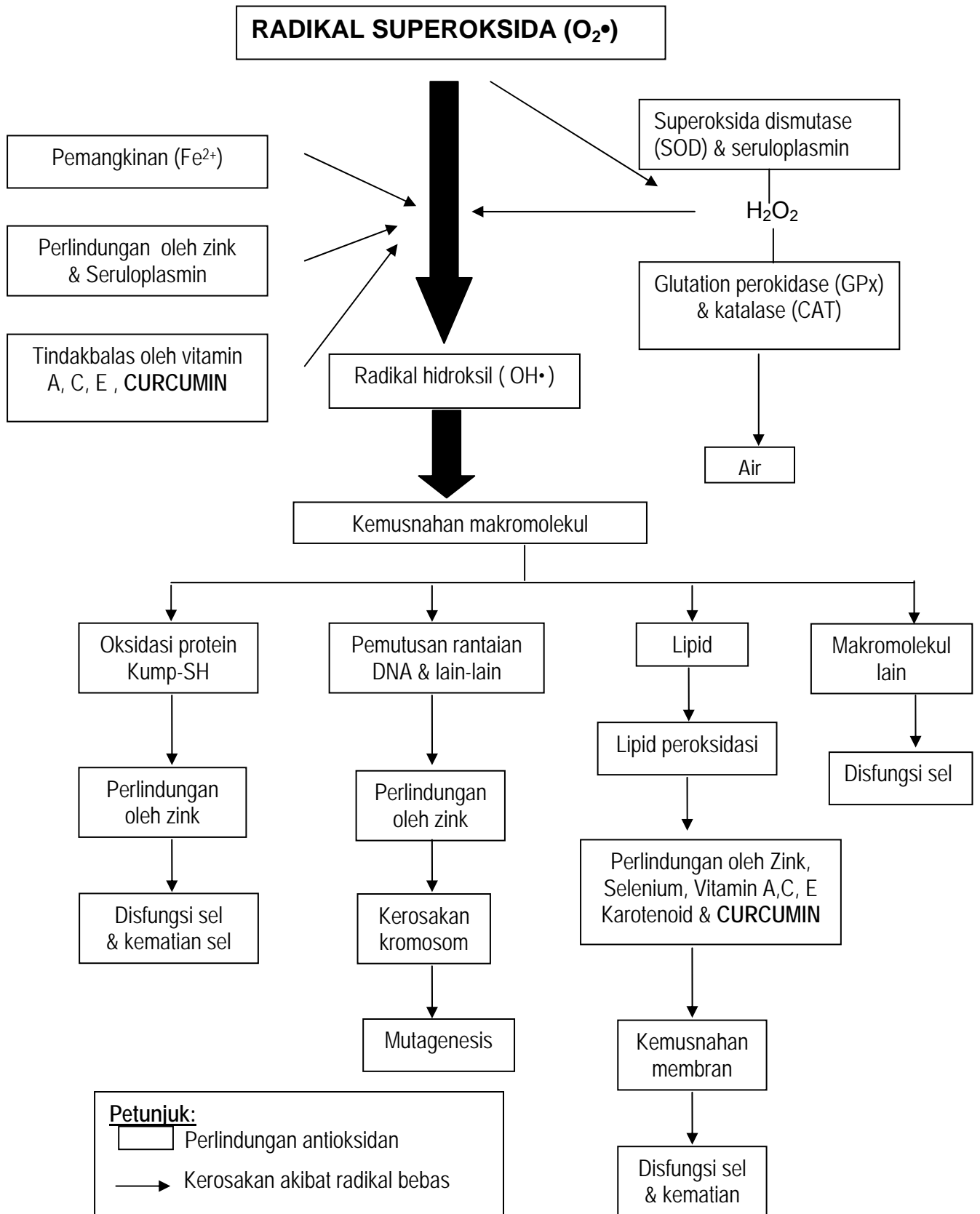


Namun begitu, oksiradikal tidak boleh dilihat sebagai suatu terbitan metabolisme oksidatif yang memudaratkan sahaja kerana sebenarnya secara tersirat, radikal bebas ini diperlukan dalam penghasilan sel dan organisma hidup (Zs-Nagy, 2002). Tindakan radikal bebas secara amnya ditentukan oleh tindakbalas kimia dan terdapatnya pasangan sesuai untuk tindakan bersama di kawasan radikal bebas dihasilkan. Kadang-kadang, interaksi satu radikal

dengan satu molekul akan membawa kemusnahan atau kerosakan biologikal dalam satu langkah tindakbalas sahaja. (Newham *et al.*, 1986). Satu radikal bebas seperti OH• dengan DNA boleh mengakibatkan rantaianya terputus hasil dari pembelahan pada bahagian fosfat DNA. Rajah 2.1 menunjukkan kemusnahan sel yang dilakukan oleh radikal bebas.

Hampir kesemua biomolekul boleh diserang oleh radikal bebas dan lipid adalah yang paling mudah diserang. Ini adalah kerana membran sel cukup kaya dengan asid lemak tak tepu (PUFAs). Kemusnahan oksidatif PUFAs ini juga dikenali sebagai peroksidasi lipid dan amatlah memudaratkan kerana ia merupakan petanda bemulanya satu rangkaian kerosakan dalam sel.

Halliwell, (1990) telah menyatakan bahawa terdapat banyak sebatian yang boleh bertindakbalas dengan radikal bebas tetapi mereka ini tidak boleh dianggap sebagai antioksidan. Ini adalah kerana untuk memenuhi kriteria sesuatu antioksidan, ia tidak sepatutnya tertukar kepada sebatian radikal yang reaktif pula. Jadual 2.1. menunjukkan beberapa jenis radikal bebas dalam biologi dan perubatan.



**Rajah 2.1. Kemusnahan Sel Akibat Radikal Bebas dan Mekanisme Pertahanan Antioksidan (diadaptasi dari Dreosti, 1988)**

**Jadual 2.1. Radikal Bebas dalam Biologi dan Perubatan  
(diadaptasi dari Karlsson, 1997)**

<b>NAMA RADIKAL BEBAS</b>	<b>FORMULA</b>
Radikal superoksida	$O_2\bullet$
Oksigen singlet	$^1O_2\bullet$
Hidrogen peroksida	$H_2O_2$
Radikal hidroksil	$OH\bullet$
Radikal alkil	$R\bullet$
Radikal peroksil (alkil-)	$ROO\bullet$
Hidroperoksid (alkil-)	$ROOH$
Nitrik oksida	$NO\bullet$
Semiquinone (asal Vitamin Q)	$Q\bullet$
Radikal fenoksil (asal Vitamin E)	$E-O\bullet$

“R” adalah singkatan bagi molekul organik secara am. Ia sering ditukarkan kepada “L” apabila merujuk kepada lipid.

Antara mekanisme yang dapat melawan serangan radikal bebas terdapat dalam bentuk enzim endogenous seperti superoksida dismutase (SOD), glutathione dan juga tokokan vitamin seperti Vitamin E yang larut lipid dan Vitamin C yang larut air. Perlu diingat juga bahawa apabila suatu radikal bebas bertindak dengan suatu sebatian molekul lain, bukan sahaja identiti radikal bebas itu hilang tetapi pada masa yang sama terbentuk pula suatu radikal bebas yang baru. Oleh itu untuk mengetahui pola tindakan radikal bebas yang terlibat, kita perlu mengetahui juga ciri-ciri radikal bebas pemula atau '*initiator*' dan juga radikal bebas berikutnya.

## **2.2. Lipid Peroksidasi**

Antara petunjuk penghasilan radikal bebas dan serangan oleh spesis oksigen reaktif (ROS) adalah lipid peroksidasi (Viinikka *et al.*, 1984) dan tindakbalas ini sentiasa berada di bawah kawalan enzim tertentu (Romero *et al.*, 1998). Secara *in vitro*, interaksi antara lipid dan radikal bebas melibatkan tiga langkah: pemulaan atau '*initiation*', perambatan atau '*propagation*' dan penamatan atau '*termination*'. Ini ditunjukkan dalam Rajah 2.2.



	TINDAKBALAS	NOTA
Pemulaan / 'Initiation'	Konjugasi diene terbentuk melalui pengasingan atom hidrogen dari kumpulan metilene pada rantai lipid	
↓		Interaksi antara molekul oksigen dan radikal bebas (berpusatkan karbon 'C')
Perambatan / 'Propogation'	Lipid hidroperoksida terbentuk dan seterusnya membentuk alkoxil dan radikal peroksil	
↓		Asid lemak poli tak-tepu (seperti dalam membran sel) sering menjadi mangsa radikal bebas
Penamatan / 'Termination'	Kemusnahan oksidatif berlaku, peningkatan 'fluidity' membran, pendeaktifan enzim dan reseptor di membran (pembentukan isoprostane, aldehyd dan alkane)	

**Rajah 2.2. Proses-proses Terlibat dalam Interaksi Lipid dan Radikal Bebas**

Asid lemak tak tepu (PUFAs) di membran sel sering menjadi tumpuan serangan radikal bebas. Pengoksidan PUFAs akan menghasilkan radikal peroksil yang merupakan pengangkut radikal bebas dalam rantaian tindakbalas radikal bebas. Radikal peroksil ini mampu mengoksidakan lagi molekul PUFAs dan memulakan rantaian tindakbalas yang lain yang menghasilkan lipid hidroperoksida dan juga aldehid (Esterbauer *et al.*, 1991). Aldehid sering dibentuk ketika penguraian lipid hidroperoksida and kebanyakannya adalah aktif secara biologikal (Esterbauer *et al.*, 1990). Sebatian ini boleh meresap dari lokasi asal dan merebak ke bahagian lain dalam sel. Lipid peroksidasi ini memanglah suatu tindakbalas yang begitu signifikan dalam metabolisme sel dan dianggap sebagai memudaratkan kerana (i) ia merupakan proses yang sentiasa berlaku terutamanya apabila PUFAs didapati dengan banyak dan juga ciri-ciri PUFAs yang membuatnya mudah diserang (ii) tindakbalasnya adalah secara langsung ke atas membran sel dan berupaya merebak ke lokasi lain serta merosakkan bahagian sel yang lain melalui penghasilan aldehid yang reaktif.

Penyelidik yang membuat kajian mengenai lipid seringkali menggunakan peningkatan hasil sampingan lipid peroksidasi seperti diene berkonjugasi (hidroperoksida, aldehid dan alkane) dan juga pengurangan substrat seperti PUFAs dan enzim antioksidan sebagai petunjuk. Lipid peroksidasi juga sering digunakan sebagai petunjuk serangan radikal bebas sewaktu senaman

(Kayatekin *et al.*, 2002; Schroder *et al.*, 2001; Gonenc *et al.*, 2001). Lipid peroksidasi adalah parameter pertama yang sering diguna oleh penyelidik untuk mengesan kerosakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Terdapat beberapa sebab kenapa lipid peroksidasi dipilih. Pertama, ia adalah kerana proses lipid peroksidasi merupakan suatu kesudahan yang hampir pasti berlaku di kawasan yang kaya dengan PUFAs sekiranya terdapat serangan radikal bebas. Kedua, lipid peroksidasi adalah tindakbalas yang sangat penting dalam patologi radikal bebas di dalam sel. Disebabkan inilah, beberapa kaedah analitikal mula dicadangkan untuk mendapat keputusan yang paling tepat bagi mengukur lipid peroksidasi. Namun begitu, tidak banyak kaedah yang menggambarkan situasi *in vivo* (Cheeseman, 1989; Slater, 1984) .

Untuk mengurangkan tindakan lipid peroksidasi, tubuh badan kita dilengkapi dengan berbagai enzim antioksidan seperti glutathion peroksidase, superoksida dismutase dan katalase yang dapat memutuskan rantai tindakan radikal bebas yang berlaku.

Namun begitu, minat terhadap peranan radikal bebas sebagai pemula patogenesis dalam penyakit manusia telah memaksa para saintis cuba mencari berbagai kaedah dan teknik yang dapat mengukur kesan aktiviti dan tindakbalas radikal bebas ini dengan lebih tepat terutamanya dalam

persekitaran klinikal. Oleh kerana radikal bebas ini amat tidak stabil, maka ukuran asai secara langsung adalah amat sukar (Holley & Cheeseman, 1993). Dengan itu, radikal bebas diukur melalui kaedah tidak langsung menerusi hasil sampingan tindakannya dengan protin, lipid dan DNA. Berbagai-bagai asai telah diutarakan yang lazimnya dilakukan terhadap sampel darah, air kencing, air liur dan udara pernafasan kita.

Antara kaedah yang dikaji secara intensif adalah lipid peroksidasi. Satu-satu teknik analitikal yang mengukur radikal bebas secara langsung adalah spektrometri '*electron spin resonance*' (ESR). Walau bagaimanapun, oleh kerana ia memerlukan punca radikal bebas yang stabil (dalam julat mikromolar), maka ini telah menghadkan penggunaan teknik ini secara *in vivo*. (Holley & Cheeseman, 1993).

### **2.3. Antioksidan**

Definisi antioksidan mengikut Halliwell, (1990) adalah bahan yang, walaupun berkepekatan rendah jika dibandingkan dengan bahan yang boleh dioksidakan, mampu melambatkan secara signifikan atau menghalang terus pengoksidan sesuatu sebatian lain. Sebatian yang boleh dioksidakan merujuk kepada semua sebatian molekul yang boleh dijumpai *in vivo*.

Glutathione adalah contoh antioksidan endogenous dan agen detoksikan yang berada pada setiap sel. Perbedaannya hanyalah pada kepekatan yang berbeza sahaja. Ia terdiri dari tiga asid amino iaitu glycine, cysteine dan glutamine. Dalam bentuk terturun, GSH, glutathione boleh (i) meneutralkan hidrogen peroksida melalui tindakbalas glutathione peroksidase dan (ii) bertindak secara bebas dan 'scavenge' radikal bebas oksigen yang didapati dalam berbagai bentuk. Hasil dari tindakbalas ini, glutathione disulfida (GSSG) akan terhasil. Tetapi glutathione disulfida yang terdapat intrasel ini adalah sitotoksik dan ia boleh ditukarkan semula ke GSH melalui penurunan oleh glutathione reduktase (GRD). Tindakbalas kimia yang melibatkan glutathione reduktase boleh menghapuskan hidrogen peroksida dan lipid peroksidase. Selain dari fungsi GSH sebagai antioksidan, ia juga membantu dalam kitar semula antioksidan lain yang teroksidasi semasa tindakbalas mereka dalam menghapuskan radikal bebas.

Hasil sampingan dari proses penghapusan radikal bebas oleh antioksidan yang larut air seperti curcumin, vitamin C dan GSH, boleh menyumbang kepada penghasilan  $\alpha$ -tocopherol (Srinivas *et al.*, 1992; Constaantinescu *et al.*, 1993; Wefers & Sies, 1988). Ini dapat dilakukan melalui oleh rangkaian tindakbalas antioksidan-antioksidan tersebut (Sen *et al.*, 1994). GSH juga dikatakan membantu mengembalikan asid askorbik melalui hasil sampingan

tindakan pengoksidaan yang terbentuk semasa asid askorbik bertindak dengan metabolit reaktif.

Eritrosit mamalia adalah kaya dengan GSH iaitu lebih kurang 2mM dan kebanyakannya didapati di dalam darah. Semasa keadaan rehat, lebih kurang 20% dari jumlah keseluruhan glutathion (jumlah GSH dan GSSG) yang terdapat dalam darah manusia adalah dalam bentuk teroksida (Evelo *et al.*, 1992; Sen *et al.*, 1994). Faktor yang menghadkan penurunan GSSG ke GSH adalah aktiviti glutathion reduktase itu sendiri dan kandungan NADPH yang ada. Nisbah kepekatan antara GSSG dan jumlah keseluruhan glutathion sering digunakan sebagai indikator tindakbalas redox glutathion yang berlaku dalam tisu (Sen *et al.*, 1994; Ji *et al.*, 1993; Viguie *et al.*, 1993). Untuk meningkatkan pertahanan antioksidan dari ketoksikan radikal oksigen dalam fasa lipid dan akues, penyelenggaraan nisbah glutathion kepada GSSG yang optimum adalah penting. Beberapa usaha untuk mempertingkatkan pertahanan antioksidan dalam tisu telah dikaji seperti memberi dos GSH *per se* dan juga 'esterified GSH' (Cazzulani *et al.*, 1991; Sen *et al.*, 1994). Jadual 2.2 menunjukkan beberapa jenis antioksidan, lokasi dan fungsinya.