

**BIOTEKNOLOGI PEMANFAATAN KHAMIR *Phaffia rhodozyma*
SEBAGAI SUMBER KAROTENOID UNTUK TERAPI PENYAKIT DIABETES
MELLITUS**

**BIOTECHNOLOGY OF YEAST *Phaffia rhodozyma*
AS SOURCE OF CAROTENOIDS FOR DISEASE THERAPY DIABETES MELLITUS**

Indah Sulistyaini, Dyan Wigati

STIFAR “Yayasan Pharmasi” Semarang

e-mail : indahsulistyarini@gmail.com

ABSTRAK

Khamir *Phaffia rhodozyma* merupakan jamur bersel satu yang mempunyai kemampuan menghasilkan pigmen karotenoid jenis astaxanthin. Pigmen ini mempunyai khasiat sebagai antioksidan kuat yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan aditif dan bahan obat yang bermanfaat untuk penderita diabetes.

Penelitian ini dilakukan 2 tahap, yaitu: 1. uji pendahuluan untuk mengetahui bahwa khamir yang dibudidayakan positif mengandung astaxanthin, 2. pengujian khamir *Phaffia rhodozyma* untuk pengobatan diabetes mellitus. Tahap 1 dilakukan dengan analisis kualitatif pigmen astaxanthin dengan metode spektrofotometri. Tahap 2 dilakukan pengujian antidiabetes melitus khamir *P. rhodozyma* menggunakan tikus putih jantan galur Wistar, yang sudah diinduksi aloksan. Parameter penelitian adalah kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-0, 3, 8, 12, 16 dan 21. Data hasil pengukuran kadar glukosa darah diuji secara statistik dengan taraf kepercayaan 95%. Penelitian dilakukan untuk mengetahui kandungan pigmen pada Khamir *P. rhodozyma* serta untuk mengetahui pengaruh pemberian inokulum *P. rhodozyma* untuk terapi antidiabetes pada tikus putih jantan galur wistar yang sudah diinduksi aloksan.

Hasil identifikasi inokulum *P. rhodozyma* menunjukkan adanya kandungan karotenoid. Kelompok dengan pemberian suspensi inokulum *P. rhodozyma* dosis 40; 60 dan 80 mg/kgBB terbukti bermakna ($p < 0,05$) menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan dosis 125mg/kgBB setelah 13 hari pengobatan (hari uji ke-16). Suspensi *P. rhodozyma* dosis 40; 60 dan 80 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah dan peningkatan dosis *P. rhodozyma* dapat meningkatkan efek penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

Kata kunci : *Phaffia rhodozyma*, aloksan, kadar glukosa darah, tikus wistar jantan.

ABSTRACT

Yeast Phaffia rhodozyma is a single-celled fungus having the ability to produce the type of carotenoid pigment of astaxanthin. These pigments have properties as a powerful antioxidant that has the potential to be developed as additives and ingredients that are beneficial for diabetics.

This research was done in 2 stages, namely: 1). Preliminary test to know that yeasts are cultured positive for astaxanthin, 2). Testing the yeast Phaffia rhodozyma for the treatment of diabetes mellitus. Phase 1 study with a qualitative analysis of the pigment astaxanthin by spectrophotometric method, phase 2 testing of yeast P. rhodozyma antidiabetes mellitus using male Wistar rats, which had induced alloxan. Parameter study was conducted blood glucose levels on days 0, 3, 8, 12, 16 and 21. Data from the measurement of blood glucose levels tested statistically with 95% confidence level. The study was conducted to determine the content of the pigment in yeast P. rhodozyma as well as to determine the effect of inoculum Phaffia rhodozyma for antidiabetic therapy in male rats wistar strain has induced alloxan.

P. rhodozyma inoculum identification results indicate the presence of carotenoids. The group with the administration of the inoculum suspension Phaffia rhodozyma dose of 40; 60 and 80 mg / kg proved to be significant ($p < 0.05$) lower blood glucose levels of male Wistar rats induced by alloxan dose of 125mg / kg body weight after 13 days of treatment (day test 16th). Suspension of Phaffia rhodozyma dose of 40; 60 and 80 mg / kg body weight can lower blood glucose levels and increasing doses of Phaffia rhodozyma can increase blood glucose lowering effect of white male Wistar rats induced by alloxan

Keywords: *Phaffia rhodozyma, alloxan, blood glucose levels, white male rats.*

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia (meningkatnya kadar gula darah) yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Secara perlahan namun pasti dampak diabetes mellitus adalah merusak jaringan tubuh seperti mata, ginjal, saraf, dan pembuluh darah. Indonesia menempati urutan ke-4 dengan jumlah penderita diabetes mellitus terbanyak di dunia setelah India, Cina, dan Amerika Serikat (Nurkhozin *et al.*, 2011).

Penyakit diabetes dapat disebabkan oleh riwayat keturunan ataupun gaya hidup yang buruk. Setiap orang berpeluang terkena

penyakit diabetes melitus. Namun demikian, penyakit tersebut dapat dicegah dengan pengaturan pola makan dan pola hidup yang sehat.

Makanan yang sehat akan membantu tubuh untuk mempercepat dan memperbaiki sistem metabolisme tubuh (Setiawan, 2010). Penderita diabetes harus mengkonsumsi makanan yang mengandung antioksidan tinggi.

Astaksanthin, merupakan salah satu jenis karotenoid yang mampu bersifat sebagai antioksidan kuat. Menurut Kholisah (2012), kekuatan antioksidan astaksantin diduga sepuluh kali lebih kuat dibanding

beta-karoten pada wortel dan seratus kali lebih kuat dari vitamin E.

Penelitian ini akan memanfaatkan khamir *P. rhodozyma* sebagai sumber astaksanthin, yang diujikan untuk mengobati penyakit diabetes terhadap tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan. Sumber astaksanthin dipilih dari Khamir *P. rhodozyma* karena *P. rhodozyma* merupakan khamir, yang budidayanya tidak memerlukan lahan yang luas, tidak terpengaruh oleh cuaca atau iklim, waktu pertumbuhan cukup singkat yaitu hanya 3 hari dengan suhu ruang atau suhu kamar sekitar 25-27°C, tidak membutuhkan biaya kultur yang mahal.

METODE PENELITIAN

1. Penanaman Khamir *P. rhodozyma*

Sel *P. rhodozyma* ditumbuhkan dalam media Yeast Maltosa. Kultur disentrifugasi, endapan yang diperoleh dianalisis secara spektrofotometri untuk mengetahui kadar astaxanthinnya.

2. Metode uji kualitatif pigmen astaxanthin dengan metode spektrofotometri

Kultur *Phaffia rhodozyma* pada media YMA dikerok, ditimbang sebanyak 1 gram kemudian ditambah 2,5 ml aseton. Lalu divortex. Diambil supernatan (fase petroleum eter), dianalisis menggunakan spektrofotometer pada λ 350-550 nm. Disentrifuge 3000 rpm selama 15 menit. Dikeringanginkan, ditambah 2,5 ml aseton; 2,5 ml petroleum eter; 2,5 ml NaCl 20% kemudian disentrifuge kembali.

3. Pembuatan Larutan Penginduksi Aloksan

Aloksan ditimbang secara seksama, dimasukkan dalam labu takar, ditambah

aqua pro injeksi sampai larut, kemudian dicukupkan dengan aqua pro injeksi.

4. Pembuatan Dosis *P. rhodozyma*

Dosis awal untuk orientasi pemakaian *Phaffia rhodozyma* adalah 20 mg/kgBB tikus berdasar penelitian Leite, *et.al.* (2010), dosis perlakuan berdasarkan orientasi adalah 40; 60 dan 80 mg/kgBB.

5. Pemberian Dosis Aloksan

Dosis aloksan yang digunakan adalah 125 mg/kgBB. Pemilihan dosis tersebut didasarkan pada hasil orientasi, dimana pada dosis tersebut telah terjadi kondisi hiperglikemik pada tikus.

Dosis 125 mg/kgBB untuk tikus 200 gram = $200 \text{ gram} / 1000 \text{ gram} \times 125 \text{ mg} = 25 \text{ mg} / 200 \text{ gram}$.

6. Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Sampel darah disentrifuge kemudian diambil serumnya dan diukur menggunakan ABX pentra dengan metode *enzymatic colorimetric test* yang dilakukan di Laboratorium Kesehatan Semarang. Adapun cara pengukurannya yaitu glukosa akan diukur setelah oksidasi enzimatis oleh glukosa oksidase. Kemudian hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dibawah katalisis peroksidase dengan fenol dan 4-aminophenazone dengan pewarna merah quinoneimine-violet sebagai indikator. Metode *enzymatic colorimetric test* digunakan untuk penentuan glukosa dalam serum tanpa deproteinisasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada media YMA, koloni *Phaffia rhodozyma* mengkilap dan berwarna orange (Gambar 1).



Gambar 1.

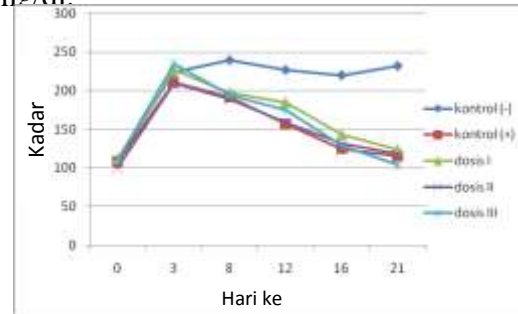
Analisis karotenoid astaxanthin pada *Phaffia rhodozyma* dengan metode spektrofotometri, menunjukkan bahwa dengan panjang gelombang 474 nm diperoleh nilai absorbansi 0,312. Absorbansi tersebut menunjukkan bahwa Khamir *Phaffia rhodozyma* mengandung pigmen astaxanthin. Hal ini dikarenakan memenuhi syarat rentang absorbansi 0,2-0,8 karena diperoleh nilai absorbansi 0,312. Oleh karena itu dilanjutkan dengan uji identifikasi pigmen Astaxanthin dengan metode HPLC.

Uji kualitatif karotenoid sel *Phaffia rhodozyma* dengan HPLC menggunakan fase gerak acetonitril : methanol : etilasetat (60:20:20), volume kecepatan 0,5 ml/menit, volume injeksi 20 µl, panjang gelombang 455 nm. Hasil yang didapat menyatakan bahwa sampel *P. rhodozyma* mengandung astaksantin, dengan membandingkan waktu retensi pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Gramza-Micha³owska (2010) dengan waktu retensi yaitu 5 menit.

Pengobatan Inokulum *Phaffia rhodozyma* pada perlakuan induksi aloksan pada tikus galur wistar

Rerata kadar glukosa darah hari ke-0 (sebelum induksi) untuk semua kelompok mempunyai nilai 100,81-111,66 mg/dl. Hari ke-3 (setelah induksi) mengalami peningkatan menjadi 209,62-234,84 mg/dl. Hari ke-8 kadar glukosa darah mengalami

penurunan 189,4-194,2 mg/dl. Hari ke-12 kadar glukosa darah turun menjadi 156,66-184,74 mg/dl. Hari ke-16 kadar glukosa darah mengalami penurunan dengan nilai kisaran 124,66-143,18 mg/dl. Hari ke-21 kadar glukosa darah menjadi 103,74-123,8 mg/dl.



Gambar 2. Kurva Hubungan Antara Hari Perlakuan dengan Kadar Glukosa Darah Tikus Hiperglikemik dengan Pengobatan Inokulum *Phaffia rhodozyma*.

Gambar 2 menunjukkan kontrol negatif mengalami kadar glukosa tinggi dari hari ke-3 sampai ke-21. Kontrol positif dan ketiga dosis mengalami penurunan kadar glukosa darah dari hari ke-8 sampai ke-21. Semua data kadar glukosa darah dianalisis statistika untuk menentukan normalitas dan homogenitas data. Hasil statistika hari ke-0 menunjukkan semua kelompok berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan uji *Anova*. Hasil uji *Anova* menunjukkan ada perbedaan artinya kadar glukosa awal pada tikus sangat bervariasi. Hari ke-3 menunjukkan semua kelompok berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan uji *Anova*.

Hasil uji *Anova* menunjukkan tidak ada perbedaan, artinya kadar glukosa darah setelah induksi aloksan adalah sama. Induksi aloksan terbukti meningkatkan kadar glukosa darah tikus di semua kelompok, dilihat dari peningkatan kadar glukosa darah. Hasil statistika hari ke-8 menunjukkan semua kelompok berdistribusi normal tetapi tidak homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* hari ke-8 menunjukkan

tidak ada perbedaan. Artinya kadar glukosa darah setelah 5 hari perlakuan adalah sama yakni belum memberikan efek penurunan kadar glukosa darah.

Hasil statistika hari ke-21 menunjukkan semua kelompok berdistribusi normal tetapi tidak homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan ada perbedaan bermakna, dilanjutkan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif ada perbedaan bermakna yang artinya metode yang digunakan benar. Kelompok kontrol negatif dan ketiga kelompok dosis menunjukkan ada perbedaan bermakna yang artinya suspensi *Phaffia rhodozyma* mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah. Kelompok kontrol positif dengan dosis 2 menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna yang artinya dosis tersebut mempunyai efek sebanding dengan insulin, sedangkan dosis 1 dan 3 efeknya tidak sebanding dengan insulin.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini diperoleh simpulan sebagai berikut :Pemberian inokulum *Phaffia rhodozyma* dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan dan peningkatan dosis inokulum *Phaffia rhodozyma* mempengaruhi efeknya dalam penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dana bantuan penelitian melalui Hibah Dosen Pemula.

DAFTAR PUSTAKA

Cavallerano, J. 2009. *Care of the Patient with Diabetes Mellitus*. USA:

American Optometric Association.

Dewi, N. 2009. Pengaruh The Hitam (*Black tea*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Penderita Hiperglikemia. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Gramza-Michaowska A and B. Stachowiak. 2007. *Antiradical methods in evaluating antioxidant potential of preparations of plant origin*. Med. Arom. Plant Sci. Biotech. 1 (2), 227-233.

Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Diterjemahkan oleh Andrianto,P. Edisi III. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 585-587

Kusumawati, 2001. *Bersahabat dengan Hewan Uji*. Cetakan 1. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada press.

Lenzen, S. 2007. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* (2008) **51**:216–226

Rodriguez-Amaya, D. B. dan Mieko Kimura., 2004. *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*. Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT).

Spinelli, J., Mahnken, C. 1978. Carotenoid Deposition in Pen-reared salmonids fed Diets Containing Oil Extracts of Red Crab (*Pleuroncodes planipes*). *Aqua culture* 13:213-223.