



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Betaglukan Dari *Saccharomyces Cerevisiae*

Yosie Andriani

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia

Diterima 23 Desember 2006; Disetujui 10 Januari 2007

Abstrak - Telah dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan ekstrak betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae* pada hewan coba tikus putih jantan galur Sparaque Dawley, dewasa, sehat dan memiliki aktivitas normal dengan bobot badan antara 150-300 gram, Ekstrak betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae* isolate ragi tape dan ragi roti. Reagen Kit untuk analisis kolesterol diperoleh dari RandoxTM dan aktivitas antioksidan dilakukan dengan uji tiobarbiturat (TBA). Sebanyak 15 ekor tikus dikelompokkan menjadi 5, masing-masing terdiri dari 3 ekor. Kelompok A (non kolesterol) mengkonsumsi pakan standar, kelompok B (hiperkolesterolemia) mengkonsumsi pakan kolesterol dan PTU, kelompok C dan D mengkonsumsi pakan kolesterol dan di cekok dengan betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae* asal ragi roti dan ragi tape, dan kelompok E mengkonsumsi betaglukan standar. Pada awal percobaan tikus diadaptasi dengan pakan standar (20g/ekor/hari) dan minum air secara *adlibitum* sampai mencapai bobot antara 200-300 g (relatif homogen). Pengambilan darah dilakukan pada akhir masa adaptasi (*base line*) yaitu pada hari ke-0, dan masa perlakuan yaitu pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 guna analisis kolesterol darah, dan kadar lipid peroksida darah tikus putih. Setelah masa perlakuan dilanjutkan dengan *wash out* selama satu minggu. Setelah itu dilakukan pengukuran kadar kolesterol dan lipid peroksida darah tikus. Pemberian ekstrak betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae* isolat ragi roti, ragi tape dan beta glukon standar dengan dosis 1 mg/kgBB/hari mampu menekan kadar kolesterol darah tikus, serta mampu mencegah tingginya kadar lipid peroksida darah tikus. Hal ini mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak betaglukan yang digunakan.

Kata Kunci : Antioksidan; Betaglukan ; *Saccharomyces Cerevisiae*

1. Pendahuluan

Perubahan pola konsumsi makanan sebagai dampak dari kemajuan sains dan teknologi menyebabkan semakin meningkatnya masyarakat yang menderita penyakit degeneratif seperti jantung koroner, hipertensi, kanker, diabetes dan aterosklerosis. Aterosklerosis menjadi salah satu penyebab utama terjadinya penyakit Jantung Koroner (PJK), yang merupakan penyebab kematian utama dibanyaknegara, termasuk Indonesia [1]. Terjadinya penyakit tersebut didasari oleh proses biokimiawi dalam tubuh yang melibatkan peranan radikal bebas. Beberapa konsep mengenai patogenesis aterosklerosis disampaikan untuk menjelaskan kejadian aterosklerosis, antara lain konsep infiltrasi lipid, kerusakan endotel, imunologi dan radikal bebas [2].

Radikal bebas adalah suatu molekul yang mempunyai jumlah elektron tidak berpasangan pada lingkaran

luarnya. Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan instabilitas dan bersifat reaktif sehingga menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Molekul utama di dalam tubuh yang dirusak oleh radikal bebas dan produk oksidatifnya adalah DNA, lemak, dan protein. Radikal bebas yang dihasilkan oleh metabolisme aerobik, radiasi dan kimiawi cenderung menyebabkan peroksidasi lipid *in vivo*, sehingga diperlukan suatu mekanisme perlindungan antioksidan.

Antioksidan dikenal sebagai zat yang dapat menetralkan atau meredam dampak negatif dari radikal bebas tersebut, dan oleh karena itu para peneliti banyak melakukan kajian terhadap antioksidan. Berbagai antioksidan dilaporkan dapat memperlambat proses aterosklerosis seperti, tokoferol, askorbat, flavonoid, dan likopen (karotenoid). Antioksidan eksogen ini bekerja melalui tiga macam mekanisme, yaitu pemutusan rantai propagasi, melalui mekanisme khelasi

terhadap metal transisi sehingga ion-ion metal itu diasingkan, dan memadamkan pengaruh singlet oksigen.

Kemajuan di bidang bioteknologi membuka terobosan baru dalam memperoleh obat alternatif. Produk nutrisi bernama betaglukan merupakan salah satu penemuan penting yang terjadi dalam bidang suplemen nutrisi. Betaglukan merupakan polisakarida yang dihasilkan dari dinding sel khamir (yeast), bakteri, jamur, dan tumbuhan. Betaglukan dapat dihasilkan dari *Saccharomyces cerevisiae* asal ragi tape dan ragi roti. Khamir merupakan komponen utama yang terkandung dalam ragi tape dan ragi roti tersebut. Dilaporkan bahwa khamir yang telah diekstraksi memiliki kandungan betaglukan yang tinggi, yaitu berkisar antara 85-90% [3].

Beberapa penelitian ilmiah mengenai manfaat dari penggunaan ekstrak betaglukan telah dilakukan. Betaglukan merupakan *Biological Defence Modifier* (BDM) yang berpotensi mengaktifkan sistem imun tubuh melalui sel makrofag [4]. Selain itu, dilaporkan bahwa telah terjadi penurunan kadar kolesterol hingga 8% pada penderita hiperkolesterolemia yang obesitas setelah mengonsumsi betaglukan 15g/hari selama tujuh minggu [3]. Walaupun beberapa penelitian telah dilakukan, akan tetapi penelitian mengenai betaglukan dirasakan masih sangat kurang, selain itu mekanisme apa yang terlibat dalam menurunkan kadar kolesterol darah juga masih belum jelas. Salah satu mekanisme yang mungkin dalam menurunkan kadar kolesterol adalah mekanisme antioksidan. Betaglukan dari ekstrak *Saccharomyces cerevisiae* asal ragi tape dan ragi roti diduga memiliki efek antioksidan dalam menurunkan kadar kolesterol darah. *Low Density Lipoprotein* (LDL) merupakan agen pembawa kolesterol utama dalam darah. Radikal bebas (oksigen reaktif) dapat menyebabkan kerusakan oksidasi LDL sehingga dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam tubuh. Antioksidan melalui mekanismenya dapat menghambat dan mencegah kerusakan LDL karena oksidasi, yang akhirnya dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah [2].

Mengingat pentingnya betaglukan dalam menyembuhkan penyakit degeneratif [4], dan kajian mengenai aktivitas antioksidan betaglukan masih sangat kurang, begitu juga penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak betaglukan *Saccharomyces cerevisiae* belum pernah dilakukan, maka penelitian yang mendukung khasiat betaglukan sebagai antioksidan dalam kaitannya sebagai penurunan kadar kolesterol sangat perlu dilakukan.

2. Metode Penelitian

Hewan coba yang akan digunakan adalah tikus putih jantan galur Sprague Dawley, dewasa, sehat dan memiliki aktivitas normal dengan bobot badan antara 150-300 gram. Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak betaglukan standar, ekstrak betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae* isolate ragi tape dan ragi roti. Reagen Kit untuk analisis kolesterol diperoleh dari RandoxTM dan bahan untuk uji TBA (uji antioksidan) adalah NaCl 0,9%, KCl, 1,15%, NaOH 1M, asam asetat 20%, asam tiobarbiturat (TBA) 1,0%, akuades, butanol, piridin dan 1,1,3,3-tetraetoksi propane (TEP). Alat yang digunakan adalah mikropipet, eppendorf, neraca analitik, sentrifus, pengaduk magnetik, vorteks, homogenizer, penangas air, spektrofotometer, sonde oral, dan syring.

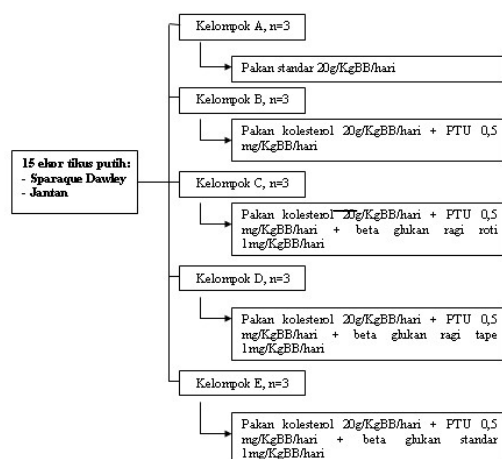
Analisis kadar kolesterol tepung kuning telur dengan metode Lieberman-Buchard [5]. Penyiapan pakan kolesterol dilakukan dengan modifikasi metode KKI Phyto Medica [6]. Penentuan konsentrasi kolesterol darah dengan metode CHOD-PAP Trinder [7]. Uji antioksidan ekstrak betaglukan atau penentuan kadar lipid peroksida darah tikus dengan metode TBA [8]. Data yang diperoleh masing-masing kelompok dianalisis secara statistik menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL), analisis dilanjutkan dengan uji Duncan pada alfa 5% [9].

Rancangan Percobaan

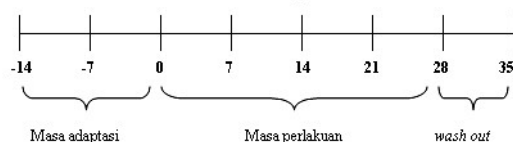
Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai, maka penelitian akan dilakukan mengikuti desain penelitian dan alokasi waktu seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2. Sebanyak 15 ekor tikus dikelompokkan menjadi 5,

masing-masing terdiri dari 3 ekor. Kelompok A (non kolesterol) mengkonsumsi pakan standar, kelompok B (hiperkolesterolemia) mengkonsumsi pakan kolesterol dan PTU, kelompok C dan D mengkonsumsi pakan kolesterol dan di cekok dengan betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae* asal ragi roti dan ragi tape, dan kelompok E mengkonsumsi betaglukan standar.

Pada awal percobaan tikus diadaptasi dengan pakan standar (20g/ekor/hari) dan minum air secara *adlibitum* sampai mencapai bobot antara 200-300 g (relatif homogen). Pengambilan darah dilakukan pada akhir masa adaptasi (*base line*) yaitu pada hari ke-0, dan masa perlakuan yaitu pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 guna analisis kolesterol darah, dan kadar lipid peroksida darah tikus putih.



Gambar 1. Desain penelitian



Gambar 2. Alokasi waktu penelitian

Setelah masa perlakuan dilanjutkan dengan *wash out* selama satu minggu. Pada masa ini pemberian pakan kolesterol dihentikan dan diganti pakan standar, cekok PTU dihentikan, sedangkan cekok betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae* asal ragi roti dan ragi tape tetap dilakukan. Satu minggu setelah *wash out*

dilakukan pengukuran kadar kolesterol dan lipid peroksida darah tikus (uji antioksidan dilakukan dengan metode TBA).

Analisis dan Penyiapan Bahan

Penyiapan kultur *Saccharomyces cerevisiae*. Kultur *Saccharomyces cerevisiae* isolat ragi roti dan tape diremajakan di cawan petri dalam media YPG padat dengan komposisi: pepton 2%, yeast ekstrak 1%, glukosa 2%, dan agar 2%, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Sebanyak satu koloni biakan yang tumbuh dipindahkan ke media agar miring YPG, selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Satu ose kultur segar ditumbuhkan ke media YPG cair sebanyak 4 ml sebagai pra-kultur, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada kocokan 150 rpm dengan suhu ruang. Pra-kultur yang sudah diinkubasi dimasukkan ke dalam 100 ml YPG cair sebagai media produksi betaglukan, kemudian diinkubasi dengan kocokan 150 rpm dengan suhu ruang selama 5 hari untuk menghasilkan kultur sel. Sel dipanen dengan cara disentrifugasi pada 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet sel dipisahkan untuk diekstraksi.

Ekstraksi Betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae*. Pelet sel yang terbentuk ditambah NaOH 0,75N dan diinkubasi pada suhu 75°C selama 6 jam. Setelah itu disentrifugasi selama 30 menit pada suhu 25°C dan kecepatan 10.000 rpm. Pelet yang diperoleh ditambah 30ml asam asetat 0,5M, kemudian disentrifugasi pada suhu 25°C selama 30 menit dan kecepatan 10.000 rpm sebanyak tiga kali. Pelet yang didapat kemudian dicuci dengan akuades sebanyak dua kali sentrifugasi selama 15 menit. Terakhir, pelet ditambah 20ml etanol kemudian disentrifugasi lagi. Pelet yang diperoleh dikeringkan pada suhu 60°C, kemudian ditimbang dan merupakan bobot kering betaglukan.

Penyiapan sampel darah tikus. Sampel darah disiapkan dari darah yang diambil pada ekor tikus. Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam. Bagian ekor disterilkan dengan alkohol 70% kemudian dipotong kira-kira 5 mm dari ujung menggunakan gunting yang dibersihkan dengan

alkohol. Setelah dipotong, ekor diurut-urut sehingga darah keluar dan ditampung dalam sentrifus $\pm 1,5$ ml lalu didiamkan selama setengah jam. Selanjutnya darah disentrifugasi pada kecepatan 700 g selama 10 menit menggunakan *microfuge* Becman. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk penentuan konsentrasi kolesterol dan kadar lipid peroksida darah tikus.

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstrak betaglukan

Berat total pelet sel sebelum ekstraksi yang diperoleh adalah sebesar 7,7 g untuk ragi roti dan 7,5 g untuk ragi tape. Setelah diekstraksi, total bobot kering ekstrak beta glukukan yang dihasilkan dari dinding sel *Saacharomyces cerevisiae* pada penelitian ini adalah sebanyak 6,78 g untuk isolat asal ragi roti dan 6,45 g untuk isolat asal ragi tape. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah dilaporkan oleh [3] bahwa khamir yang diekstraksi memiliki kandungan betaglukan 85-90%.

Kadar Kolesterol

Perubahan konsentrasi kolesterol darah tikus selama masa perlakuan dan *wash out* (WO) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata kadar kolesterol darah tikus selama perlakuan

Kelompok	Rata-rata kadar kolesterol hari ke....					
	0	7	14	21	28	WO
A	64.0	78.8	77.7	65.1	64.2	68.5
B	75.6 ^a	122.9 ^b	116.25 ^b	201.34 ^a	205.0 ^a	66.4 ^a
C	70.0 ^c	72.47 ^c	112.81 ^b	72.30 ^c	67.0 ^c	67.0 ^c
D	67.7 ^c	70.85 ^c	134.33 ^b	77.5 ^c	75.22 ^c	66.6 ^c
E	65.2 ^c	55.44 ^c	90.55 ^c	80.36 ^c	65.0 ^c	77.6 ^c

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%

Total kadar kolesterol pada hari ke-0 dan WO masing-masing sebesar 68,50 dan 69,22 mg/dl untuk semua perlakuan, konsentrasi ini masih tergolong dalam keadaan normal. Sesuai dengan pernyataan bahwa konsentrasi kolesterol darah tikus kondisi normal berkisar antara 40-130 mg/dl [5]. Rata-rata kadar kolesterol tiap perlakuan berada pada kisaran tersebut.

Pemberian pakan kolesterol pada kelompok B (kontrol hiperkolesterolemia) mampu meningkatkan kadar kolesterol kelompok ini hingga hari ke-21 perlakuan mencapai 205 mg/dl (171% lebih tinggi dari keadaan awal). Peningkatan konsentrasi kolesterol dalam penelitian dapat disebabkan oleh pemberian pakan tinggi kolesterol disertai cekok PTU, sehingga mencapai kondisi hiperkolesterolemia [6]. Diet tinggi kolesterol dapat meningkatkan kadar kolesterol darah tikus. Penggunaan lemak kambing dan minyak goreng curah dapat memicu peningkatan kadar kolesterol darah dikarenakan mengandung asam lemak jenuh [10]. Asam lemak jenuh menyebabkan pembentukan partikel VLDL yang lebih kecil serta mengandung kolesterol lebih banyak. Selain itu PTU yang merupakan zat antitiroid mampu menghambat pembentukan hormon tiroid, maka penghambatan tiroid akan meningkatkan konsentrasi kolesterol darah melalui peningkatan biosintesis kolesterol endogen [11].

Pengaruh pemberian ekstrak betaglukan terhadap kadar kolesterol darah tikus.

Pengaruh pencegahan hiperkolesterolemia diuji pada masa perlakuan dan pengaruh pengobatan ekstrak betaglukan diuji pada masa *wash out*. Pengaruh pemberian ekstrak betaglukan terhadap kadar kolesterol darah pada semua kelompok baru terlihat setelah hari ke-21 perlakuan hingga akhir masa perlakuan (Tabel 1). Ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak betaglukan mampu menekan kadar kolesterol darah tikus secara bermakna ($p < 0,05$). Ekstrak dari isolat ragi roti menghambat hingga 67%, dan isolat ragi tape menghambat hingga 63,3% dibanding kontrol hiperkolesterolemia. [3] melaporkan bahwa betaglukan dapat menurunkan kadar kolesterol plasma sekitar 8-26% pada penderita hiperkolesterolemia yang obesitas. Pada masa pengobatan (*wash out*) adalah saat pemberian pakan kolesterol dan PTU semua kelompok dihentikan, namun ekstrak betaglukan tetap diberikan. Terlihat bahwa kadar kolesterol pada ketiga kelompok yang diberikan ekstrak betaglukan mencapai kondisi normal, hal ini menunjukkan kemampuan ekstrak betaglukan sebagai obat penurun kadar kolesterol.

Pengaruh pemberian ekstrak betaglukan terhadap kadar lipid darah tikus dan korelasinya dengan kadar kolesterol darah tikus.

Pemberian ekstrak betaglukan pada penelitian ini berpengaruh nyata terhadap kadar lipid peroksida darah hewan coba tikus yang digunakan (Tabel 2). Secara nyata peningkatan kadar kolesterol sangat berpengaruh terhadap kadar lipid peroksida ($p < 0,05$). Semakin tinggi kadar kolesterol dalam darah (hiperkolesterolemia) maka kemungkinan kadar lipid peroksida akan makin tinggi. Dugaan ini terkait dengan mekanisme oksidasi LDL selama hiperkolesterolemia seperti yang dilaporkan [12].

Tabel 2. Rata-rata kadar lipid peroksida darah tikus selama perlakuan

Kelompok	Rata-rata kadar lipid peroksida hari ke....					
	0	7	14	21	28	WO
A	0.36	0.43	0.45	0.44	0.56	0.62
B	0.33 ^a	0.543 ^c	0.954 ^b	0.922 ^b	1.22 ^a	0.799 ^b
C	0.288 ^a	0.41 ^c	0.478 ^a	0.670 ^c	0.768 ^b	0.640 ^c
D	0.340 ^a	0.424 ^c	0.780 ^{bc}	0.656 ^c	0.762 ^b	0.550 ^c
E	0.3 ^a	0.4 ^c	0.462 ^a	0.6222 ^c	0.6128 ^b	0.5110 ^c

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%

Antioksidan berperan melindungi LDL terhadap oksidasi dan melindungi pembentukan LDL teroksidasi sehingga meningkatkan aktivitas reseptor LDL, menghasilkan sedikit adesi monosit, berkurangnya pembentukan sel busa, melindungi pembentukan *platelet*, mengurangi kerusakan kimia, dan mengurangi toksisitas terhadap sel-sel vaskular [12][13]. Selain itu, antioksidan melindungi sel dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau species radikal lainnya melalui mekanisme *scavenger* radikal-oksigen seperti enzim katalase, superoksida dismutase dan glutathione peroksidase [14].

4. Kesimpulan

Pemberian ekstrak betalukan *Saccharomyces cerevisiae* isolat ragi roti, ragi tape dan betaglukan standar dosis 1 mg/kgBB/hari mampu menekan kolesterol darah tikus.

Pemberian ekstrak betalukan *Saccharomyces cerevisiae* isolat ragi roti, ragi tape dan betaglukan standar dengan dosis 1 mg/kgBB/hari mampu mencegah tingginya

lipid peroksida darah tikus, hal ini mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak betaglukan yang digunakan.

Daftar Pustaka

- [1]. Rilantono LI., *Pokok-pokok Pengembangan penelitian Kardiovaskuler di bagian Kardiologi FKUI*, 1992, Jakarta, Universitas Indonesia, Fakultas Kedokteran.
- [2]. Sitompul B., *Antioksidan dan penyakit aterosklerosis*, 2003, Medika. XXIX(6) : 373-377.
- [3]. Nicolasi R., *Plasmalipid changes after supplementation with beta-glucan fiber from yeast*, 1999, Am J Clin Nutr. 70:208212.
- [4]. Jordan FM., *Beta glukon with four imunology patent*, *Nutritional Supply Corporation*, 2001, www.Athomes web.
- [5]. Kleiner K., L.B. Doty, *Laboraty instruction in biochemistry*. 5th Ed. ,1958, The Mosby Company, New York.
- [6]. Kelompok Kerja Ilmiah Phyto Medica, *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka*,1993, Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam. Jakarta:Phyto Medica.
- [7]. Trinder P., *Recommended method forthe determination of cholesterol and triglyceride in blood*, 1969, Ann.Clin. Biochem. 6:24-27.
- [8]. Yagi K., *Free Radicals in Diagnostic Medicine:Lipid peroxide in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic disease*, 1994, New York: Plenum Press.
- [9]. Matjik AA & M. Sumertajaya, *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*, Jilid 1, Edisi Ke-1, 2000, Bogor: IPB Press.
- [10]. Grundy SM., *Multifactorial etiology of hypercholesterolemia: implication for prevention of coronary heart disease*, 1991, Arterioscler Thromb. 11:1619-1635.
- [11]. Murray R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell, *Biokimia Harper*, 24th Ed., penerjemah; AH Santoso, editor: Appleton & Lange, Terjemahan dari: Harper's Biochemistry, 1996, Jakarta.
- [12]. Diaz MN,B Frey,JA Vita,JF Keaney, *Antioxidants and atherosclerotic heart disease*, 1997, The New England Journal of Medicine, 337(6):408.
- [13]. Sesso HD,JMGaziano, Simin Liu, EB Julie, *Flavonoid Intake and the risk of cardiovascular disease in women*, 2003, Am J Clin Nutr.77:1400-1408.
- [14]. Langseth, L., *Oxidants, Antioxidants and Disease*, 1995, Belgium:Prevention ILSI Europe.