

POTENSI PERMEN TIRAMISU YANG BERKHASIAAT ANTIKOLESTEROL

Waliyuddin¹, Elvira Yunita², Nailatul Karomah³, Yusuf Irshan⁴, Amellia⁵

¹*Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor*
Email: sang.wali10@gmail.com; isme_nita@yahoo.co.id; zhu.naomi@gmail.com;
yusuf.irshan@gmail.com; amellia.amellia@yahoo.com

Abstract

Tiramisu candy is made of oyster mushroom extract ethanol. Oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) contains lovastatin that inhibit cholesterol synthesis in the body. Ethanol extract of oyster mushroom was expected to give an effect in lowering cholesterol. This experiment used 35 male Sprague dawley rats that were divided into 5 groups (n=7). The treatment period was for 14 days, normal group fed by standard woof, hypercholesterolemic group (HK) were fed by high- cholesterol woof (3%) and PTU (0.5 mg/kg BW), the group of lovastatin(lovastatin+HK0.2857mg/kgBW), treatment I group (HK+ oyster mushroom ethanol extract 30 mg/kg BW), and treatment II group (HK+ oyster mushroom ethanol extract 60 mg/kg BW). Blood was taken through the eyes of rats with hematocrit-heparin. Candy is made with a mixture of 5% starch, maltodextrin 10%, 4% magnesium stearate, sucrose 81%, and ethanol extract 2.1 grams of white oyster mushroom. The results showed that the ethanol extract of oyster mushroom (30 mg/kg BW and 60 mg/kg BW) may decrease 53.89% and 66.43% of cholesterol concentration. AST and ALT results of the analysis showed that the ethanol extract of white oyster mushroom dose of 30mg/ kg and 60 mg/ kg did not cause liver damage. Based on HPLC analysis, a gram of oyster mushroom ethanol extract containing 3.6×10^{-6} grams of lovastatin. Tiramisu candy successfully made by weight 100 mg to extract content of 2.1 mg and 7.56×10^{-6} mg of lovastatin.

Keywords : AST ALT, candy, cholesterol, lovastatin, *Pleurotus ostreatus*.

1. PENDAHULUAN

Penelitian ini, erat kaitannya dengan penyakit jantung koroner. Penyakit jantung koroner merupakan penyebab utama kematian di dunia (Rahayu 2005). Penyakit jantung koroner terutama disebabkan oleh kolesterol total dalam darah di atas normal (hiperkolesterolemia) (Salahat *et al* 2002; Herliana & Sitanggang 2009). Hiperkolesterolemia disebabkan oleh pola makan yang tidak sehat. Makanan yang dimakan terlalu banyak mengandung lemak jenuh, baik itu berasal dari hewani maupun nabati.

Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) merupakan jamur yang digunakan oleh bangsa India dan Cina sebagai bahan obat untuk mengobati penyakit hiperkolesterolemia (Alam *et al.* 2011; Chirinang *et al.* 2009). Menurut Alarcon *et al.* (2003), dalam ekstrak jamur tiram putih terdapat senyawa lovastatin yang dapat menghambat terbentuknya kolesterol dalam darah. Senyawa ini akan menghambat sintesis kolesterol dalam darah manusia (Alarcon *et al.* 2003). Secara tidak langsung, adanya lovastatin dalam jamur tiram putih juga menjadi agen dalam mengobati penyakit jantung koroner di masyarakat.

Masyarakat Indonesia mengkonsumsi jamur tiram putih hanya sebagai makanan atau produk olahan saja. Padahal jamur tiram putih sangat berpotensi sebagai antikolesterol. Salah satu usaha untuk meningkatkan nilai mutu dari jamur tiram putih adalah memanfaatkannya menjadi sebuah produk permen Tiramisu. Selain itu, permen Tiramisu diharapkan dapat menjadi alternatif dalam mengobati penyakit jantung koroner.

Tujuan program ini adalah menguji potensi ekstrak etanol jamur tiram putih sebagai antikolesterol. Program ini juga bertujuan menguji kandungan AST dan ALT darah tikus sebagai respon toksisitas tubuh terhadap ekstrak jamur tiram putih. Selain itu, program ini bertujuan untuk membuat permen yang berkhasiat antikolesterol.

2. METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*), Tikus putih jantan galur *Sprague dawley*, kuning telur, alkohol, eter, asam asetat anhidrida, kloroform, dan asam sulfat pekat. Pakan standar tikus merk PURE 512, hematokrit, Alumunium foil, PTU (propil tiourasil), lovastatin, kit diagnosik kolesterol SIGMA, kloroform, amoniak, H₂SO₄ 2M, pereaksi Dragendorf, Meyer dan Wagner, metanol, FeCl₃ 1%, etanol, eter dan asam asetat anhidrat.

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, soxhlet, penyaring 80 mesh, oven merk Eyela NDO-700, tabung eppendorf 2 ml, pipet mikro ukuran 10 µl, 100µl, dan 1000 µl, mikrofugeTM 11, mikrosentrifuge merk Hettich universal, elektroforesis UV-VIS merk *Thermo electron corporation* Beckman, kuvet kaca 1

ml, *rotary evaporator* merk EYELA, autoklaf merk TOMY ES 315, Freezer merk Wisecryo, dan HPLC merk Shimadzu.

Prosedur Analisis Data

Preparasi Sampel (Dirjen POM 2000) dan Ekstraksi Sampel (Jayakumar et al. 2009)

Sebanyak 10 kg jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) dipotong-potong sebesar 5 cm. Sampel dijemur di bawah sinar matahari terik selama 3 jam dan dioven dengan suhu 40-45⁰ C selama 18 jam. Jamur tiram putih kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ukuran 80 mesh sehingga membentuk simplisia.

Simplisia jamur tiram putih diekstrak dengan menggunakan metode soxhletasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96 % dengan volume 100 ml. Sampel yang digunakan sebanyak 10 gram simplisia. Ekstraksi dilakukan selama 4-5 jam. Sisa pelarut yang berada dalam labu ukur ditampung dan diuapkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak kemudian ditimbang dengan neraca analitik.

Uji Kandungan Fitokimia

Uji fitokimia digunakan untuk mengetahui kandungan dari ekstrak jamur tiram putih. Uji yang dilakukan adalah uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, tanin, dan polifenol. Metode Harborne (1987) merupakan metode yang digunakan untuk menentukan uji fitokimia ekstrak jamur tiram putih.

Uji Kandungan Lovastatin dengan HPLC (Alarcon et al. 2003)

Kandungan lovastatin diukur pada serbuk jamur tiram putih. Satu gram serbuk diekstrak dengan 2 mL asetonitril dan 0,1 mL asam fosfat 0,1%, dan dibiarkan selama 30 menit,

kemudian larutan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatannya diambil dan diinjeksikan pada kolom HPLC, maka jumlah lovastatin dapat diukur.

Pembuatan Pakan Kolesterol (Kristiani 2003)

Pakan kolesterol dibuat dari campuran: 3% kolesterol (diperoleh dari tepung kuning telur yang sudah diketahui konsentrasi kolesterolnya dengan metode Lieberman-Burchard), minyak sayur 6%, lemak kambing 5%, dan sisanya pakan standar sampai 100%. Semua bahan diaduk sampai rata, dan dijadikan bentuk pelet seperti bentuk pakan standar.

Pengujian dengan Menggunakan Hewan Model Tikus

Sebanyak 35 ekor tikus jantan *Sprague dawley* dewasa (rata-rata bobot badan 135 g) dibagi menjadi 5 kelompok (@7 ekor): kelompok normal (N), kelompok hiperkolesterolemia (HK), kelompok lovastatin (L), kelompok perlakuan I (PI), dan perlakuan II (PII). Tahap adaptasi dilakukan selama 21 hari. Selama pengadaptasian, seluruh tikus diberi pakan standar dan air minum secara *ad libitum*. Tahap pemberian pakan kolesterol dilakukan selama 32 hari. Selama masa ini, kelompok N diberikan pakan standar sedangkan kelompok lain diberikan pakan kolesterol dan dicekok dengan PTU 0,5 mg/kg BB.

Tahap perlakuan dilakukan selama 14 hari. Di dalam masa perlakuan kelompok N diberikan pakan standar sebanyak 20 g/hari/ekor. Kelompok HK diberikan pakan kolesterol sebanyak 20 g/hari/ekor dan PTU 0.5 mg/kg BB. Kelompok L diberikan perlakuan seperti kelompok HK serta lovastatin 0.2857 mg/kg BB. Kelompok PI

diberikan perlakuan seperti kelompok HK serta ekstrak 30 mg/kg BB. Kelompok PII diberikan perlakuan seperti kelompok HK serta ekstrak 60 mg/kg BB.

Penimbangan bobot badan tikus dilakukan setiap 7 hari sekali. Sisa pakan ditimbang setiap hari dan sekam diganti setiap dua hari sekali. Dosis ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan nilai LD₅₀ ekstrak jamur tiram putih. Nilai LD₅₀ diperoleh dari penelitian Al Deen *et al.* (1987) yaitu sebesar 319 mg/kg BB. Dosis yang digunakan sebesar 1/5 dan 1/10 dari nilai LD₅₀.

Pengambilan Darah Tikus (Van et al. 1998)

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-21, 35, 49, dan 67. Darah diambil melalui *plexus orbitalis* dengan pipa kapiler berhematokrit (mikrohematokrit).

Analisis Darah Tikus (Richmond 1973)

Sebanyak 10 µL serum darah dicampur dengan 1 ml kit pereaksi. Larutan dikocok dan biarkan selama 10 menit pada suhu ruang sampai terbentuk warna merah muda. Standar dibuat dengan cara yang sama dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200, dan 250 mg/dL. Blanko dibuat dari 1 ml kit pereaksi tanpa penambahan apapun. Absorban diukur menggunakan spektrofotometer pada (λ) 500 nm.

Sebanyak 100 µL serum darah dicampur dengan 1,25 ml kit pereaksi AST/ALT. Larutan diukur absorbansinya pada (λ) 340 nm. Larutan dibaca pada menit ke-0, 1, 2, dan 3. Semua reaksi menggunakan kit komersial (SIGMA).

Pembuatan Permen

Pembuatan formula permen berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Susanti (2007) (Tabel 1).

Tabel 1. Formula Permen

No	Nama Bahan	Komposisi Permen (mg/g)
1	Ekstrak	21
2	Sukrosa	810
3	Maltodekstrin	100
4	Kanji	50
5	Magnesium stearat	40

3. HASIL DAN PEMBAHASAN Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Sebanyak 10 kg sampel jamur tiram putih digunakan dalam penelitian ini. Simplisia jamur tiram putih yang diperoleh sebesar 527.67 gram. Hasil ekstraksi dengan menggunakan soxhlet mendapatkan rendemen dari jamur tiram putih sebesar 0.1637 %. Hasil ini menunjukkan bahwa jamur tiram putih memiliki kadar air yang tinggi.

Uji Kandungan Fitokimia

Hasil uji fitokimia pada simplisia dan ekstrak etanol jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil uji kandungan fitokimia

No	Uji	Ekstrak
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	-
3	Saponin	+
4	Polifenol	-
5	Tanin	-
6	Steroid	-
7	Triterpenoid	+

Uji Kandungan Lovastatin dengan HPLC

Hasil pengukuran lovastatin dalam ekstrak jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3 Hasil analisis HPLC

No	Sampel	Ulangan	Konsentrasi (ppm)
1	Ekstrak	1	0.341
		2	0.373
	Rata-rata		0.36±0.02

Analisis Kolesterol Darah

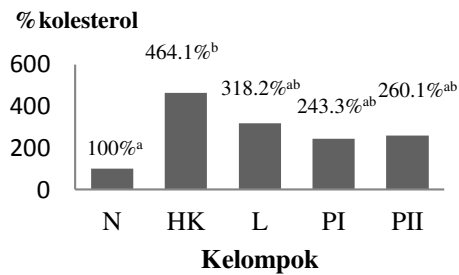
Pengujian terhadap tikus dilakukan selama 68 hari, meliputi masa adaptasi selama 21 hari, masa induksi kolesterol selama 32 hari, dan masa perlakuan selama 14 hari.

Masa induksi kolesterol

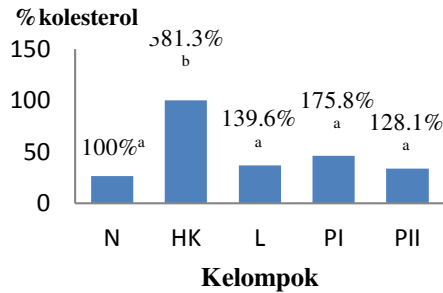
Hasil pengukuran konsentrasi kolesterol darah tikus pada hari ke-32 ditunjukkan pada Gambar 1. Menurut Malole & Pramono (1989), hasil pengukuran konsentrasi kolesterol kelompok non-normal sudah dikatakan hiperkolesterol karena memiliki konsentrasi kolesterol di atas 130 mg/dl. Peningkatan kolesterol yang terjadi pada kelompok HK, L, PI, dan PII berturut-turut adalah 464.1%, 318.2%, 243.3%, dan 260.1%. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa kelompok N berbeda nyata dengan kelompok HK ($p < 0,05$). Kelompok N dengan kelompok L, PI, dan PII tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Kelompok HK dengan kelompok L, PI, dan PII tidak berbeda nyata secara statistika ($p > 0,05$).

Setelah Perlakuan

Hasil pengukuran konsentrasi kolesterol setelah pemberian ekstrak ditunjukkan pada Gambar 2. Kelompok L, PI, dan PII dapat menurunkan konsentrasi kolesterol darah tikus sebesar 63.41%, 53.89%, dan 66,43%. Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak etanol jamur tiram putih dengan dosis 30 dan 60 mg/kg BB, dapat menurunkan kolesterol. Hasil yang diperoleh pada dosis 60 mg/kg BB lebih baik daripada kelompok L. Hasil uji statistika juga menunjukkan bahwa kelompok HK berbeda nyata dengan 4 kelompok lainnya ($p < 0,05$).



Gambar 1 Konsentrasi kolesterol masa induksi kolesterol

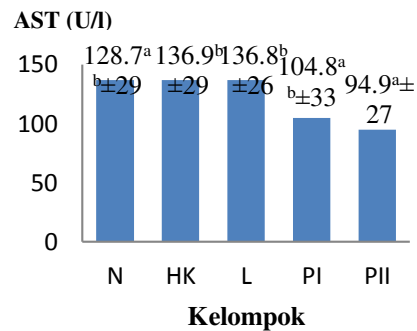


Gambar 2 Efek pemberian ekstrak

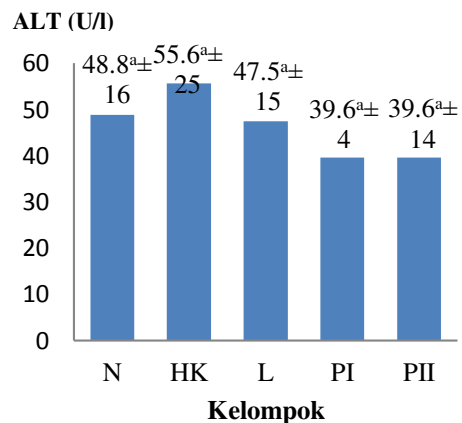
Analisis AST dan ALT

Hasil pengukuran AST pada darah tikus di akhir perlakuan ditunjukkan pada Gambar 3. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa kelompok PII berbeda nyata dengan kelompok N dan HK ($p < 0,05$). Kelompok PII tidak berbeda nyata dengan kelompok L dan PI ($p > 0,05$). Kelompok N, HK, L, dan PI tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hasil pengukuran ALT ditunjukkan pada Gambar 4. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa semua kelompok tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Hasil yang diperoleh membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol jamur tiram putih tidak merusak hati tikus. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa jamur tiram putih memiliki khasiat sebagai hepatoprotektor karena nilai AST dan ALT kelompok PI dan PII, ternyata lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya.



Gambar 3 Efek pemberian ekstrak terhadap fungsi hati (enzim AST)



Gambar 4 Efek pemberian ekstrak terhadap fungsi hati (enzim ALT)

Pembuatan Permen

Permen Tiramisu telah berhasil dicetak dengan menggunakan alat pencetak tablet. Ekstrak yang ditambahkan dalam 100 gram formula permen sebesar 2.1 gram. Artinya, dalam setiap 1 gram permen mengandung 21 mg ekstrak. Jika setiap 1 gram ekstrak mengandung 3.6×10^{-6} g lovastatin, maka setiap 1 gram permen mengandung 75.6×10^{-6} g lovastatin. Permen yang dibuat memiliki bobot sebesar 100 mg, sehingga dalam setiap permen mengandung 2.1 mg ekstrak dan mengandung 7.56×10^{-6} mg lovastatin.



Gambar 5 Permen Tiramisu

4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol jamur tiram putih dengan dosis 30 mg/kg BB dan 60 mg/kg BB dapat menurunkan konsentrasi kolesterol dalam darah tikus sebesar 53.89 % dan 66.43 %. Hasil AST dan ALT membuktikan bahwa pemberian kedua dosis tersebut tidak merusak hati tikus. Permen yang dibuat mengandung 2.1 mg ekstrak jamur tiram putih dan 7.56×10^{-6} mg lovastatin.

Preparasi dengan metode yang lebih baik perlu dilakukan untuk menghasilkan lovastatin yang lebih tinggi.

5. REFERENSI

- Alam N, Yoon KN, Lee TS, Lee UY. 2011. Hypolipidemic Activities of Dietary *Pleurotus ostreatus* in Hypercholesterolemic Rats. *Mycobiology* 39 (1) : 45-51.
- Alarcón J, Águila S, Arancibia-Avila P, Fuentes O, Zamorano- Ponce E, Hernández M. 2003. Production and purification of statins from *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycetes) strains. *Z Naturforsch C* (58):62-4.
- Al Deen I H, Twaij H A, AL Badr A A, Istarabadi T A. 1987. Toxicologic and hisopathologic studies of *Pleurotus ostreatus* mushroom in mice. *J Ethnopharmacol* 21 (3):297-305.
- Chirinang P, Intarapichet K. 2009. Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Science Asia* (35): 326–331.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Harbone JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Sudiro I, penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Herliana E, Sitanggang M. 2009. *Solusi Sehat Mengatasi Kolesterol Tinggi*. Jakarta: Agro Media.
- Jayakumar T, Thomas PA, Geraldine P. 2009. In-vitro antioksidant activities of an ethanolic extracts of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10: 228-234.
- Kristiani EBE. 2003. Ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) sebagai obat alternatif untuk hiperlipidemia: kajian *in vivo* dan *in vitro*. [Tesis]. Bogor: Program Pasca Sarjana IPB.
- Lachman, L., Lieberman, H. A., Kanig, J. L. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri II* edisi III diterjemahkan oleh Siti Suyatmi dan lis Aisyah. UI press. Jakarta.
- Malole MBM, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: PAU IPB.
- Rahayu Tuti. 2005. Kadar Kolesterol Darah Tikus Puith (*Rattus norvegicus* L) setelah Pemberian Cairan Kombucha per Oral. *Sains dan Teknologi*, 6 (2). pp. 85-100. ISSN 1411-5174.
- Richmond W. 1973. Preparation and properties of a cholesterol

oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin Chem.* 19: 1950 - 1956.

Salahat MA, Farah HS, Al Degs. 2002. Importance of HDL cholesterol as predictor of coronary heart disease in Jordan population: the role of HDL-subfraction in reverse cholesterol transport. *Pakistan J Biol Sci* 5: 1189-1191.

Susanti yuari. 2007. Pembuatan Permen Tablet Pastiles dengan Bahan Aktif Minyak Kemukus (*Pipper cubeba* Linn.). [Skripsi]. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknik Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

Van Herck H. *et al.* 1998. Orbital Sinus Blood Sampling in Rats as Performed by Different Technicians: the Influence of Technique and Expertise. *Lab Anim* (32): 377-386.