

## POTENSI SENYAWA 1- DEOXYNOJIRIMYCIN UNTUK MELAMBATKAN HIDROLISIS BEBERAPA JENIS KARBOHIDRAT OLEH ENZIM RUMEN

### (Potency of 1 - deoxynojirimycin Compounds for Slowed Hydrolysis of Various Carbohydrates by Raw Enzymes of the Rumen Liquid)

S. Syahrir<sup>1</sup>, F. K. Tangdilintin<sup>1</sup>, K. G. Wiryawan<sup>2</sup>, A. Parakkasi<sup>2</sup>, Winugroho<sup>3</sup>

<sup>1</sup>) Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin Makassar  
Jalan Perintis Kemerdekaan km. 10 Tamalarea, Makassar 90245

<sup>2</sup>) Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB  
Jalan Agatis Kampus Darmaga IPB, Bogor 16680

<sup>3</sup>) Balai Penelitian Ternak, Jalan Raya Tapos, Ciawi  
Corresponding email: nanisyahrir@yahoo.co.id

#### ABSTRACT

Compound of 1- deoxynojirimycin (DNJ) in the mulberry leaf extract (MLE) potentially hamper the hydrolysis process of various carbohydrates. This experiment aimed to study dynamic concentration of reductive sugar resulted from the hydrolysis of various carbohydrates by raw enzymes of the rumen liquid, with or without the addition of mulberry leaf extract containing 1-deoxynojirimycin. Materials tested are maltose, sucrose, starch and cellulose. The result of the experiment showed that the addition of mulberry leaf extract on the media with the substrate of maltose hampered the activity of maltase. It was concluded that MLE containing DNJ can be used as an agent of slow release mechanism of non-structural carbohydrates, especially maltose, in the rumen system.

**Key words:** *1-deoxynojirimycin*, Mulberry leaf extract, Carbohydrates, Hydrolysis, Rumen enzyme

#### ABSTRAK

Senyawa *1- deoxynojirimycin* (DNJ) dalam ekstrak daun murbei (EDM) berpotensi menghambat proses hidrolisis berbagai jenis karbohidrat. Penelitian bertujuan untuk mengkaji dinamika konsentrasi gula reduksi dari hasil hidrolisis karbohidrat yang berbeda oleh enzim kasar yang diperoleh dari cairan rumen, dengan atau tanpa penambahan ekstrak daun murbei yang mengandung senyawa *1- deoxynojirimycin*. Bahan yang diujikan terdiri atas maltosa, sukrosa, pati dan selulosa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak daun murbei pada media dengan substrat berupa maltosa mengakibatkan penghambatan aktivitas enzim maltase. Penelitian ini menyimpulkan bahwa EDM yang mengandung senyawa DNJ dapat menjadi agen mekanisme lepas lambat karbohidrat non struktural dalam sistem rumen, khususnya maltosa.

**Kata kunci:** Senyawa *1- deoxynojirimycin*, Ekstrak daun murbei, Karbohidrat, Hidrolisis, Enzim rumen

## PENDAHULUAN

Pemberian tepung daun murbei pada ayam petelur sampai level 9% dalam ransum memberikan hasil yang semakin baik dibandingkan kontrol. Hasil yang baik ditunjukkan dengan meningkatnya berat telur maupun kualitas kuning telur. Namun, pemberian sampai 15% dalam ransum menurunkan kualitas berat telur, yaitu berat dan rasio produksi (Suda, 1999). Berdasarkan hasil tersebut dapat diduga adanya kandungan senyawa yang membatasi penggunaan daun murbei sebagai pakan ternak. Kimura *dkk.* (2004) melaporkan adanya senyawa *1-deoxynojirimycin* (DNJ) dalam ekstrak daun murbei (EDM). Senyawa ini memiliki potensi menghambat proses hidrolisis berbagai jenis karbohidrat dan bekerja secara spesifik.

Kemampuan senyawa DNJ menghambat hidrolisis karbohidrat non struktural dalam sistem rumen ternak ruminansia akan meningkatkan biofermentasi pakan khususnya fraksi serat pakan. Penghambatan hidrolisis karbohidrat non struktural dalam sistem rumen dapat menyediakan sumber energi bagi mikroba rumen secara berkesinambungan. Akibatnya, kondisi pH rumen akan tetap stabil, sehingga perkembangan mikroba penghasil enzim pencerna serat tetap optimal.

Kajian pendahuluan terhadap kemampuan senyawa DNJ menghambat hidrolisis karbohidrat non struktural dalam sistem rumen perlu dilakukan. Pengamatan terhadap dinamika konsentrasi gula reduksi dari hasil hidrolisis karbohidrat yang berbeda oleh enzim kasar yang diperoleh dari cairan rumen, dengan atau tanpa penambahan ekstrak daun murbei yang mengandung senyawa *1-deoxynojirimycin*, merupakan salah satu kajian pendahuluan yang telah dilaksanakan.

## MATERI DAN METODE

Guna mengkaji jenis karbohidrat yang dilepas secara lambat dalam sistem rumen oleh senyawa *1-deoxynojirimycin* (DNJ), dilakukan uji aktivitas enzim rumen dan uji daya lepas lambat beberapa macam karbohidrat dengan kehadiran EDM yang mengandung senyawa DNJ. Uji aktivitas enzim rumen menggunakan enzim kasar yang dikoleksi dari cairan rumen sapi potong yang diperoleh dari RPH serta beberapa bahan kimia untuk preparasi. Bahan yang diujikan terdiri atas maltosa, sukrosa, pati dan selulosa. Sebagai sumber senyawa DNJ digunakan ekstrak daun murbei.

Ekstrak daun murbei diperoleh dengan melakukan ekstraksi daun murbei varietas *Morus alba* sebagai berikut: daun murbei dikeringkan terlebih dahulu di dalam oven 60°C selama 24 jam, kemudian digiling halus. Tepung daun murbei diolah untuk mendapatkan ekstrak daun murbei. Pembuatan ekstrak daun murbei dilakukan dengan melakukan maserasi, menggunakan ethanol 50% (Oku *dkk.*, 2006). Sebanyak 50 g tepung daun murbei halus dimasukkan ke dalam erlenmeyer berkapasitas 1 liter, kemudian ditambahkan etanol 50% sedikit demi sedikit sambil diaduk sampai etanol yang ditambahkan mencapai 250 ml. Erlenmeyer ditutup rapat dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 24 jam. Setiap jam dilakukan pengadukan. Pada akhir maserasi dilakukan penyaringan berlapis. Supernatan disisihkan dan ampas dimaserasi ulang (maserasi II) dengan prosedur yang sama seperti maserasi I. Seluruh supernatan yang dihasilkan selanjutnya dimasukkan ke evaporator untuk menghilangkan pelarut etanolnya. Hasil ekstraksi daun murbei siap digunakan atau disimpan di dalam freezer.

Preparasi enzim kasar dari cairan rumen dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: cairan rumen segar yang telah disaring, diambil sebanyak 100 ml, lalu disentrifus dengan kecepatan 10.000 g pada suhu 4°C. Supernatan yang dihasilkan dicampur dengan larutan amonium sulfat 60% dan didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya supernatan disentrifus kembali dengan kecepatan 10.000 g pada suhu 4°C selama 10 menit. Endapan enzim yang dihasilkan ditambahkan buffer fosfat pH 7 sebanyak 10 ml, dan enzim siap digunakan. Pengujian aktivitas enzim dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: Larutan substrat dibuat dengan menimbang satu gram substrat uji dan dilarutkan ke dalam 100 ml buffer sitrat. Sebanyak 0,5 ml larutan substrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ml stok enzim cairan rumen. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 39°C selama 10, 20, 30 dan 60 menit. Setelah inkubasi selesai, larutan ditambahkan 2 ml DNS, dicampur merata, dipanaskan pada suhu 90°C selama 5 menit, dan terakhir didinginkan. Pembacaan absorbansi dilakukan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550  $\mu\text{m}$ . Sebagai kontrol, dilakukan pekerjaan dengan beberapa tingkat konsentrasi substrat, tanpa menambahkan enzim cairan rumen.

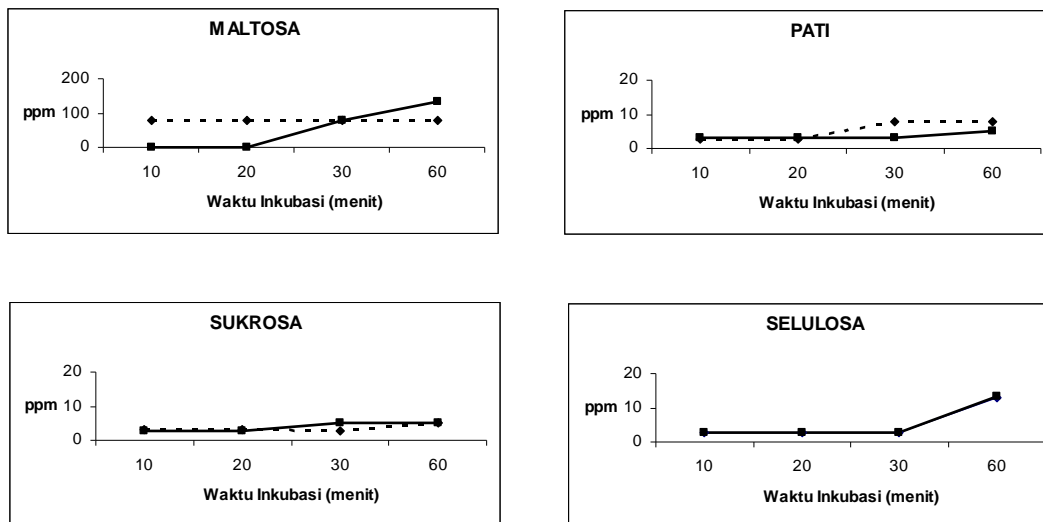
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim dapat diamati dengan mengukur produk yang dihasilkan dari proses hidrolisis substrat. Pada Gambar 1 disajikan dinamika konsentrasi gula reduksi dari hasil hidrolisis substrat yang berbeda oleh enzim kasar yang diperoleh dari cairan rumen, dengan waktu fermentasi yang berbeda dan dengan atau tanpa penambahan ekstrak daun murbei. Dari gambar tersebut terlihat bahwa gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis maltosa lebih tinggi dibandingkan dengan substrat lainnya. Pada inkubasi sampai 30 menit, hidrolisis sukrosa, pati dan selulosa oleh enzim kasar cairan rumen belum menghasilkan gula reduksi. Gula reduksi dari hidrolisis pati dan selulosa terdeteksi pada inkubasi selama 60 menit. Hal ini disebabkan oleh proses hidrolisis pati dan selulosa menjadi glukosa membutuhkan jenis enzim dan tahap hidrolisis yang lebih panjang dibandingkan dengan maltosa.

Berbeda dengan pati dan selulosa, rendahnya gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis sukrosa dapat disebabkan oleh jenis ikatan kimia yang berbeda antara maltosa dan sukrosa. Maltosa merupakan pereduksi sempurna dengan ikatan  $\alpha$ -glukosida, dan proses hidrolisisnya menghasilkan 2 molekul glukosa, sedangkan sukrosa bukan pereduksi dan mempunyai ikatan  $\alpha$ - $\beta$ -glikosidik. Untuk memutus ikatan sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dibutuhkan enzim yang spesifik, yang mungkin kurang dalam cairan rumen yang dikoleksi untuk mendapatkan enzim kasar.

Penambahan ekstrak daun murbei pada media dengan substrat berupa maltosa mengakibatkan penghambatan aktivitas enzim maltase. Hal ini ditandai dengan konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan pada inkubasi sampai 20 menit yang sangat sedikit terdeteksi pada medium yang ditambahkan EDM, dibandingkan dengan yang tidak ditambahkan EDM. Senyawa DNJ dengan rumus kimia  $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_4$  adalah senyawa yang strukturnya mirip dengan glukosa, hanya saja pada rantai aromatik senyawa DNJ terdapat gugus nitrogen. Senyawa DNJ yang ditemukan terdapat pada tanaman murbei (Kimura *dkk.*, 2004), mampu menghambat proses pemecahan oligosakarida seperti maltosa menjadi monomer-monomernya (Gross *dkk.*, 1983; Arai *dkk.*, 1998; Breitmeier, 1997). Menurut Romaniouk *dkk.*, (2004) dan Chapel *dkk.*, (2006),

senyawa DNJ masuk ke sisi aktif enzim glukosidase, sehingga menghambat kinerja enzim tersebut untuk menghidrolisis substrat.



Keterangan : ----- EDM, ——— +EDM

**Gambar 1** Dinamika konsentrasi gula reduksi dengan substrat dan waktu fermentasi yang berbeda dan dengan atau tanpa penambahan ekstrak daun murbei

Pengamatan terhadap penghambatan aktivitas enzim oleh EDM juga telah dilakukan oleh Oku (2006), yang membandingkan aktivitas beberapa enzim, antara lain maltase, sukrase dan laktase pada media yang ditambahkan EDM. Enzim yang digunakan diperoleh dari usus halus manusia dan tikus. Dari penelitian tersebut dilaporkan bahwa penghambatan aktivitas enzim maltase dan sukrase oleh EDM sangat tinggi dibandingkan dengan laktase. Penghambatan senyawa DNJ terhadap aktivitas enzim glukosidase tidak komplit (Gross *dkk.*, 1983). Oleh karena itu, senyawa tersebut diduga dapat melepas RAC secara perlahan dalam sistem rumen. Kemampuan ini akan menjaga kesinambungan penyediaan RAC, sehingga mikroba-mikroba penghasil enzim pencerna karbohidrat struktural dapat berkembang optimal.

## KESIMPULAN

Ekstrak daun murbei yang mengandung senyawa *1-deoxynojirimycin* dapat menjadi agen mekanisme lepas lambat karbohidrat non struktural khususnya maltosa dalam sistem rumen.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2006. Rencana Tindak Lanjut Program Menuju Kecukupan Daging Sapi 2010. Laporan Bulanan Puslitbangnak.
- AOAC. 1999. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, Virginia.
- Arai, M., M. Shinya, T. Genzou, U. Yoshihiro, K. Tatsuya, T. Hisato, F. Takako, H. Masaya, Y. Yoshiaki, and Fujiwara. 1998. N-Methyl-1-deoxynojirimycin (MOR-14), an  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitor, Markedly Reduced Infarct Size in Rabbit Hearts. American Heart Association, Inc., 97: 1290-1297.
- Breitmeier, D. 1997. Acarbose and 1-deoxynojirimycin inhibit maltose and maltooligosaccharide hydrolysis of human intestinal glucoamylase-maltase in two different substrate-induced modes. Archives Biochem. & Biophys., 346(1): 7-14.
- Chapel, C., G. Céline, R. Philippe, Z. Nicole, D. Jean, A.D. Raymond, T. Christian, Z. Fabien, and D. David. 2006. Antiviral effect of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors on viral morphogenesis and binding properties of hepatitis C virus-like particles. J. Gen. Virol., 87: 861-871.
- Close, W.H. and K.H. Menke. 1986. Manual Selected Topics in Animal Nutrition. University of Hohenheim. The Institute of Animal Nutrition, Stuttgart, Germany.
- Gross, V., T. Andus, T.A. Tran-Thi, R.T. Schwarz, K. Decker, and P.C. Henrich. 1983. 1-deoxynojirimycin impairs oligosaccharide processing of alpha 1-proteinase inhibitor and inhibits its secretion in primary cultures of rat hepatocytes. J. Biol. Chem., Vol. 258 Issue 20: 12203-12209.
- Horne, P. M., K. R. Pond, and L. P. Batubara. 1995. Sheep Under Rubber: Prospects and Research Priorities in Indonesia. *In: Integration of Ruminants into Plantation Systems in Southeast Asia*, Eds. B.F. Mullen and H. H. Shelton. pp. 58-64.
- Hvelplund, T. and J. Madsen. 1985. Amino acid passage to the small intestine in dairy cows compared with estimates of microbial protein and undegraded dietary protein from analysis on the feed. Acta Agric. Scand. Suppl., 25: 21-36.
- Jordan, J.E., S.A. Simandle., C.D. Tulbert, D.W. Busija, and A.W. Miller. 2003. Fructose-fed rats are protected against ischemia/reperfusion injury. J. of Pharmac. and Exp. Therapeutics, Vol. 307: 1007-1011.
- Jean-Blain, C. 1991. Rumen Disfunctions. *In: Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*, Ed. J.P. Jouany. INRA Editions, Paris. pp. 361-364.
- Kimura, T., N. Kiyotaka, S. Yuko, Y. Kenji, S. Masahiro, Y. Kohji, S. Hiroshi, and M. Teruo. 2004. Determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves using hydrophilic interaction chromatography with evaporative light scattering detection. J. of Agric. Food Chem., 52: 1415-1418.

- Oku, T., Y. Mai, N. Mariko, S. Naoki, and N. Sadako. 2006. Inhibitory effects of extractives from leaves of *Morus alba* on human and rat small intestinal disaccharidase activity. *J. of Nutr.*, 95: 933-938.
- Romaniouk, A.V., A. Silva, J. Feng, and I. K. Vijay. 2004. Synthesis of a novel photoaffinity derivative of 1-deoxynojirimycin for active site-directed labeling of glucosidase I. *Glycobiology*, Vol. 14 No. 4: 301-310.
- Stewart, C. S. 1991. The Rumen Bacteria. *In: Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*, Ed. J.P. Jouany. INRA Editions, Paris. pp. 15-26.
- Suyadi, Soedomo dan A. Mahmud. 1989. Produksi Biji Legum *Desmanthus virgatus*. *In: Forage Production*, Eds. M. Wodzicka, Tomaszewska, and J. A. Thompson. Proceeding of a Workshop Conducted at IPB, Bogor, Indonesia. IPB-Australian Project.
- Tilley, J.M.A. and R.A. Terry. 1963. Two Stage Technique for *In vitro* Digestion of Forage Crops. *In: Manual Selected Topics in Animal Nutrition*, Eds. W.H. Close and K.H. Menke. University of Hohenheim, The Institute of Animal Nutrition, Stuttgart, Germany.
- Wiryawan, K.G., and J.D. Brooker. 1996. Probiotic control of lactate accumulation in acutely grain fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 46: 1555-1568.