

PENGARUH HIPOGLIKEMIK EKSTRAK PROTEIN KECIPIR (*PSOPHOCARPUS TETRAGONOLOBUS*) PADA TIKUS DIABETIK INDUKSI ALLOKSAN

Rizah Rizwana Wahyuni

Fakultas Pertanian, Program Studi Agroteknologi, Universitas Pasir Pengaraian, Riau
Email: rewahyu@gmail.com

Abstrak

Pengujian sifat hipoglikemik ekstrak protein kecipir pada tikus diabetik induksi aloksan dilakukan dengan menggunakan teknik ekstraksi terpilih. Digunakan tikus jantan Sprague Dawley dan dibagi ke dalam dua kelompok (masing-masing 7 ekor tikus), induksi diabetes menggunakan aloksan dengan dosis 80 mg/kg berat badan. Terdapat dua pakan yang digunakan yaitu pakan basal yang mengacu pada AIN '93 dan diet ekstrak protein kecipir yang dilakukan selama 28 hari. Pembuatan pakan protein kecipir dilakukan dengan cara menggantikan sumber kasein yang terdapat pada standar dengan ekstrak protein kecipir. Pengamatan kadar gula darah tikus dilakukan setiap pekan selama penelitian. Pada penelitian ini ditentukan teknik ekstraksi dengan cara 3 kali proses pelarutan dan 1 kali pengendapan. Proses tersebut memiliki kadar protein dengan kadar air 3,98(%wb), protein 58,16 (%db), lemak 29,56 (%db), abu 5,13 (%db), pati 3,16 (%db), dan karbohidrat bdf 3,99 (%db). Hasil uji ekstrak protein kecipir terhadap tikus diabet induksi aloksan menunjukkan bahwa diet kecipir mampu menurunkan gula darah sebesar 49% yaitu dari 211,93mg/dL setelah injeksi aloksan menjadi 107,88 mg/dL pada akhir pengujian. Hasil uji menunjukkan perbedaan yang sangat nyata jika dibandingkan terhadap diet standar yang hanya menunjukkan penurunan gula darah sebesar 3,7% yaitu dari 213,08 mg/dL setelah injeksi aloksan menjadi 205,14 mg/dL pada akhir pengujian.

Kata kunci : kecipir, ekstrak protein, hipoglikemik, diabetes.

Abstract

Hypoglycemic properties of winged bean protein extract produced diabetic rats. Fourteen male Sprague Dawley rats, were diabetic induced with alloxan injection for 80 mg/kg body weight and divided in into two groups of 7 rats. They were fed with AIN93 standard and winged bean diet for 28 days. The winged bean diet has the same composition with standard diet except that the protein was replaced with winged bean protein extract. The serum glucose concentrations were monitored weekly during the investigation. The chemical composition of this extract are: water 3.98 (%wb), protein 58.16 (%db), fat 29.56 (%db), ash 5.13 (%db), starch 3.16 (%db), and carbohydrates by difference 3.99 (%db). After 28 days intervention, winged bean extract decreased the serum glucose concentration from 211,93 mg/dL to 107,88 mg/dL (49%), compare to standard diet of 3,7%, from 213,08 mg/dL to 205,14 mg/dL.

Keywords: *Wingedbean, protein extract, hipoglikemic, diabetic*

1. PENDAHULUAN

Pangan, merupakan salah satu masalah yang umum dibicarakan hingga saat ini, baik dari segi kualitas maupun ketersediaannya di alam. Potensi kekayaan dan keanekaragaman hayati di Indonesia sangat memungkinkan untuk mengatasi masalah-masalah tersebut. Akan tetapi, kontras dengan kekayaan itu, bangsa kita merupakan pengimpor besar bahan pangan, salah satunya kedelai. Hingga kini, konsumsi protein nabati diperkirakan lebih dari 80% berasal dari kedelai (Rumahrupute, 2006). Hal tersebut dapat dilihat dari berbagai olahan makanan seperti tahu, tempe, kecap, taucu, dan minuman sari kedelai yang banyak mendominasi pasaran. Upaya serius untuk mengembangkan sumber pangan lokal seperti kecipir masih belum optimal, padahal kecipir merupakan bahan pangan yang relatif murah sehingga lebih terjangkau untuk dimanfaatkan oleh setiap kalangan masyarakat.

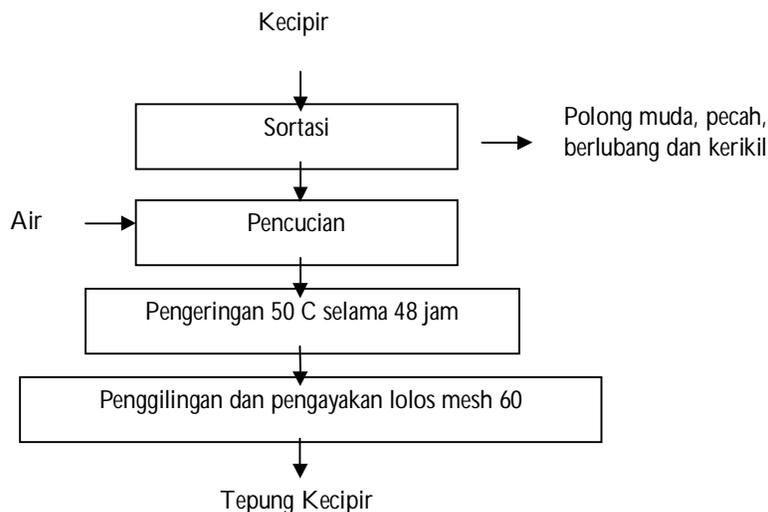
Di negara barat, kecipir dikenal dengan sebutan *winged bean*. Tanaman ini secara luas telah dikenal di negara-negara tropis seperti Thailand, Filipina, dan Malaysia. Tanaman kecipir sudah lama dikenal di Indonesia akan tetapi pemanfaatannya masih kalah apabila dibandingkan dengan kedelai. Kecipir mempunyai fungsi dan komposisi gizi yang setara dengan kedelai. Seperti halnya kedelai, kecipir pun dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku yang kaya akan sumber protein. Salah satu produk kaya akan kandungan protein yang banyak dikembangkan dalam bentuk ekstrak. Produk ekstrak protein ini merupakan produk protein yang hampir bebas dari serat, karbohidrat, dan lemak. Dengan demikian, ekstrak protein banyak dimanfaatkan untuk banyak keperluan, misalnya untuk memperbaiki sifat fisik, kimia, dan sensoris produk, serta sebagai produk pengganti daging, hal tersebut dikarenakan produk ekstrak memiliki sifat lebih baik dari bentuk protein lainnya. Dengan

berkembangnya makanan fungsional saat ini juga banyak penggunaan ekstrak protein sebagai komponen pangan fungsional. Pemanfaatan kecipir sebagai makanan fungsional ataupun diet penyakit tertentu, misalnya diabetes mellitus, belum ditemukan. Hal ini terlihat dari kurangnya publikasi ilmiah mengenai penggunaan kecipir sebagai bahan pangan diet penyakit diabetes mellitus. Padahal, menurut data WHO, Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar dalam jumlah penderita diabetes mellitus di dunia setelah India, China dan Amerika Serikat. Tingginya kejadian diabetes mellitus di Indonesia tidak terlepas dari kemajuan teknologi yang saat ini sedang berkembang pesat, dengan demikian sangat besar kemungkinan akan memberikan dampak pada pola makan masyarakat, salah satunya adalah pola konsumsi makanan masyarakat yang cenderung untuk mengkonsumsi makanan siap saji yang memiliki kandungan gula dan lemak yang tinggi (densitas energi tinggi), kondisi tersebut dapat memicu timbulnya penyakit diabetes mellitus. Salah satu upaya dalam mencegah timbulnya penyakit tersebut yaitu dengan menyediakan makanan yang bersifat hipoglikemik, makanan tersebut antara lain berupa makanan dengan kadar serat tinggi atau makanan yang berbasis protein kacang-kacangan.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kecipir varietas lokal. Bahan yang digunakan untuk analisis kimia diantaranya adalah NaOH, HCL, asam borat, H₂SO₄, Aquades, Katalisator N. Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan Sprague dawley umur 2 bulan dengan berat berkisar 200-300 gram. Peralatan yang digunakan terdiri dari : Grinder, Shaker (MBT sieve shaker AG-151), ayakan mesh 60, Oven (Natural sterilizer NDS-601D), Becker glass, spatula, sentrifuse (Damon, IEC Division IEC uv centrifuse), erlenmeyer, freeze dryer, (ALPHA 1-2/LD), timbangan analitik, pH meter, seperangkat alat untuk analisis proksimat kecipir, alat-alat untuk pengambilan spesimen darah dan analisis gula darah, dan seperangkat alat untuk pemeliharaan tikus.

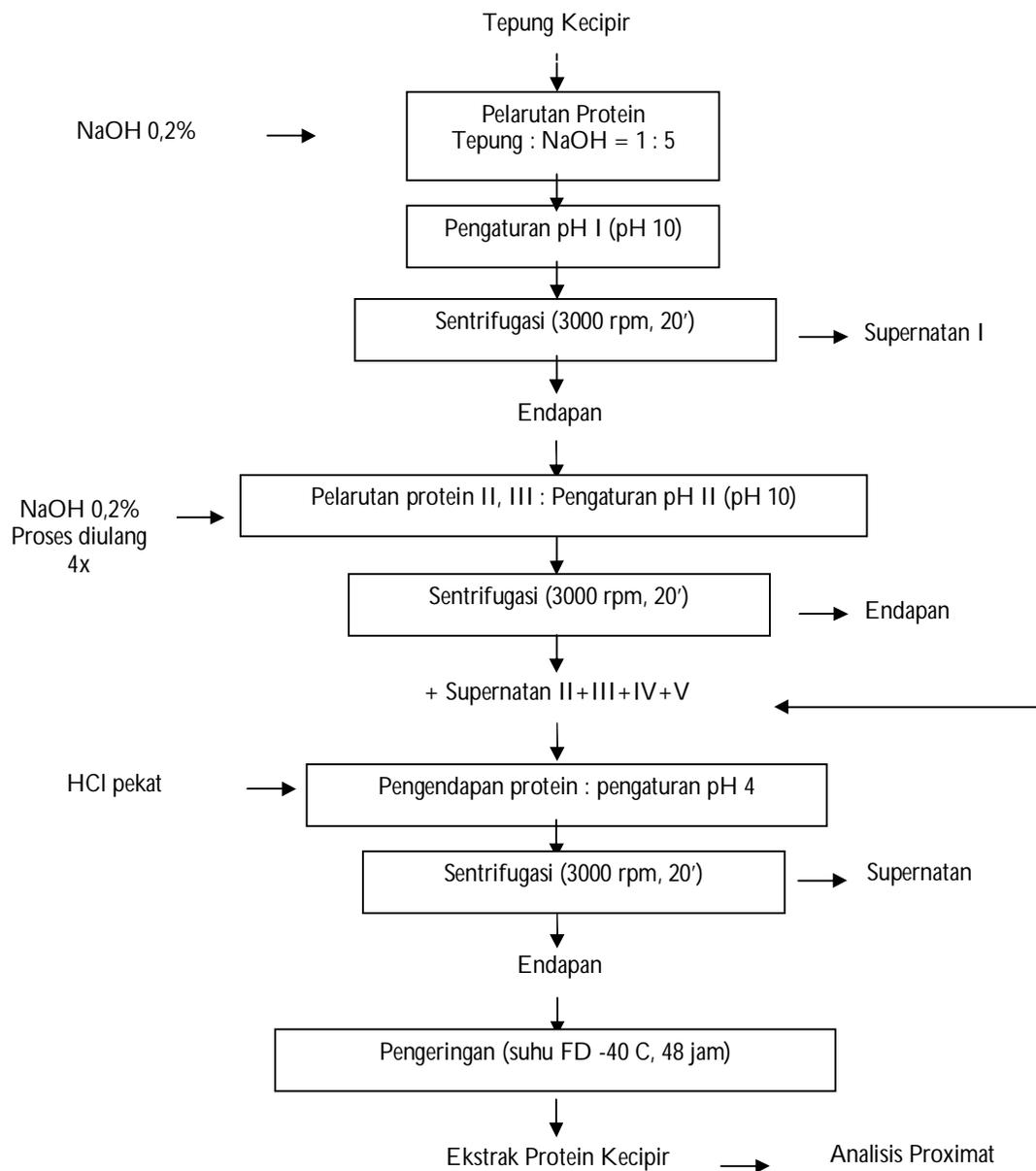
Pada tahap ini, mula-mula kecipir disortir dari bahan-bahan asing dan biji-biji yang rusak kemudian dilakukan pencucian. Kecipir yang telah dicuci selanjutnya dikeringkan pada suhu oven 50°C selama 48 jam. Kecipir kering selanjutnya digiling dan diayak (lolos mesh 60) sehingga diperoleh tepung kecipir. Diagram alir pembuatan tepung kecipir dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir pembuatan tepung kecipir (Noor, Z. et al., 2000)

Pembuatan ekstrak protein kecipir dilakukan dengan cara pelarutan dan pengendapan, yaitu mula-mula tepung kecipir yang telah diperoleh pada tahap I ditambahkan NaOH 0,2 % dengan perbandingan tepung dan NaOH adalah 1 : 5 (pH 10). Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh dilakukan pengendapan dengan menambahkan HCl pekat hingga diperoleh kondisi larutan pH 4. Tahap selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Endapan yang diperoleh

selanjutnya dibekukan dan dikeringkan pada *freeze dryer* dengan suhu pengeringan -40°C selama 48 jam (Noor, Z., 1998). Ekstrak protein selanjutnya dilakukan analisis proksimat (AOAC, 1970). Diagram alir pembuatan ekstrak protein kecipir yang dimodifikasi dari Noor (1998) dapat dilihat ada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram alir pembuatan ekstrak protein kecipir (Noor, 1998), dimodifikasi

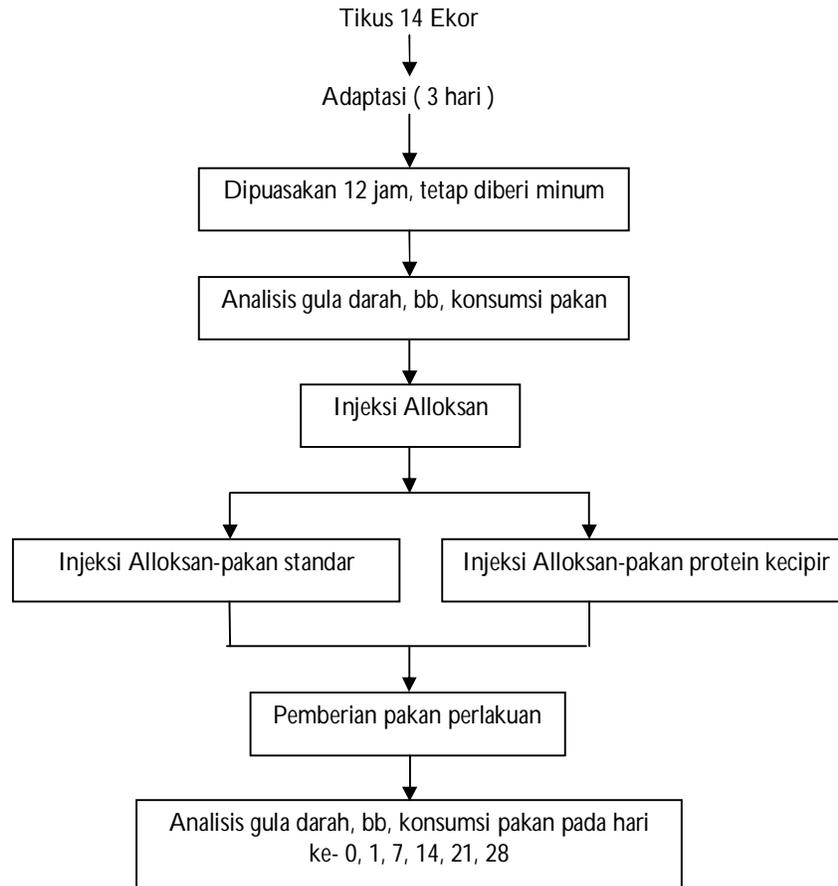
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Protein

Berdasarkan hasil ekstraksi protein untuk memperoleh ekstrak protein maka diperoleh hasil ekstraksi protein sebagai berikut :

Proses ekstraksi protein kecipir menggunakan sampel tepung sebanyak 200 g dengan kadar protein 38,44% dan berat protein 76,88%. Pada seluruh proses pembuatan ekstrak protein kecipir, diperoleh kandungan protein sebesar 57,69% .

Ekstraksi protein kecipir dilakukan dengan terlebih dahulu melarutkan tepung kecipir dalam suasana basa (pH 10). Menurut Gillespie & Blogrove (1978), kelarutan protein biji kecipir mengalami peningkatan pada pH 10 meningkat menjadi 75%. Protein memiliki kekuatan mengikat ion yang tergantung pada pH lingkungannya. Perubahan pH akan mengubah muatan protein. Perubahan pH akan mengubah muatan protein. Perubahan pH membawa dampak terjadinya interaksi antara air-protein dan protein-protein.



Gambar 3. Diagram alir proses pelaksanaan penelitian

Pada kisaran pH 10, protein yang ada pada bahan diharapkan dapat larut, hal ini dikarenakan protein cenderung bermuatan negatif (*anionic*), sehingga kekuatan protein dalam mengikat air akan semakin tinggi. Pengendapan protein dilakukan pada suasana asam (pH 4). Kondisi tersebut diperkirakan sebagai titik isoelektrik. Pada titik isoelektrik, protein-protein menunjukkan jumlah interaksi maksimal antara muatan positif dan muatan negatif. Secara fisik, pada kondisi tersebut molekul protein akan menyusut dan interaksi antar protein-air akan minimal (kemampuan protein dalam mengikat air akan menurun pada titik isoelektrik). Dengan kata lain, pada kondisi ini terjadi keseimbangan antara gugus yang memiliki muatan positif dan negatif sehingga protein yang terdapat dalam larutan mengendap (Sikorsi, 2001).

Pengeringan ekstrak protein kecipir dilakukan dengan menggunakan pengering beku. Hal ini dilakukan untuk meminimalkan kemungkinan terjadinya perubahan-perubahan pada komponen ekstrak

protein. Komponen ekstrak protein kecipir hasil proses ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

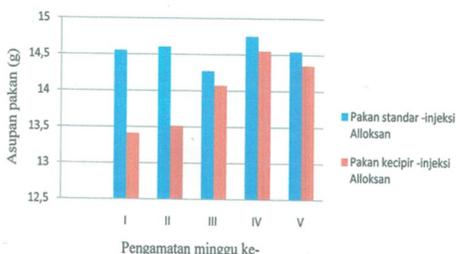
Tabel 1. Komposisi kimia ekstrak protein kecipir dengan proses 3 kali pelarutan dan 1 kali pengendapan

Komposisi	Jumlah
Air	3,98 (% wb)
Protein	58,16 (% db)
Lemak	29,56 (% db)
Abu	5,13 (% db)
Pati	3,16 (% db)
Karbohidrat	7,15 (% db)

Bioassay sifat hipoglikemik ekstrak protein kecipir

Berat badan tikus dan konsumsi pakan selama waktu penelitian perlu diamati untuk melihat perkembangan kesehatan tikus. Berdasarkan Gambar 6 terlihat bahwa injeksi alloksan sangat efektif dalam menaikkan kadar gula darah tikus hingga mengalami diabetes (> 200 mg/ dL).

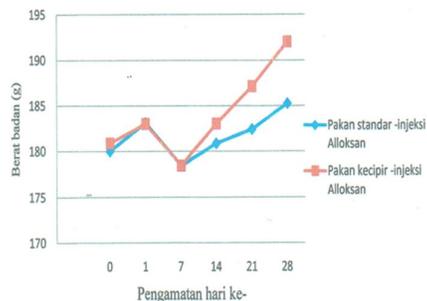
Asupan pakan diamati setiap hari selama 28 hari pengamatan. Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa kelompok tikus injeksi Alloksan pakan standar menunjukkan konsumsi pakan paling banyak dibanding kelompok tikus injeksi Alloksan pakan ekstrak protein kecipir. Tingginya konsumsi pakan pada kelompok tikus injeksi Alloksan pakan standar pada setiap pekan pengamatan kemungkinan karena tikus menderita diabetes tanpa adanya kondisi pemulihan. Kondisi tersebut mengakibatkan kehilangan kalori yang cukup besar. Selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Asupan pakan tikus setelah injeksi Alloksan (hari ke 1 s.d 28)

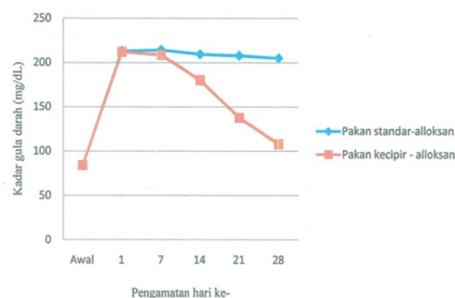
Gejala yang muncul pada penderita diabet adalah pada saat konsentrasi glukosa dalam darah mencapai batas tertentu (> 180 mg/ dL) maka tubulus renalis akan mengalami reabsorpsi glukosa yang cukup tinggi (225 mg/menit), kondisi ini mengakibatkan glukosa akan diekskresikan ke dalam urin sehingga volume urin bertambah banyak dan penderita menjadi sering berkemih (poliuria). Glikosuria tersebut menyebabkan kehilangan kalori yang cukup besar (Murray et al, 2000). Gejala lainnya adalah tikus penderita diabet akan selalu merasa kekurangan energi, sehingga untuk memenuhi kekurangan energi tersebut, penderita diabet menjadi banyak makan (polifagia).

Perubahan berat badan yang paling besar dicapai oleh kelompok tikus injeksi Alloksan pakan ekstrak protein kecipir. Hal tersebut diduga karena kandungan protein kecipir yang terdapat pada pakan mampu memberikan efek positif, sehingga walaupun tidak merupakan yang terbanyak dalam konsumsi pakan namun memberikan efek positif dalam penambahan berat badan. Pengamatan kadar gula darah tikus dilakukan setiap pekan. Berdasarkan Gambar 5 terlihat bahwa injeksi Alloksan sangat efektif dalam menaikkan kadar gula darah tikus hingga mengalami diabetes (200 mg/dL).



Gambar 5. Berat badan tikus sebelum injeksi Alloksan (hari ke-0), setelah injeksi Alloksan (hari ke 1), dan sesudah pemberian pakan (hari ke-7 s.d 28)

Pengamatan kadar gula darah tikus dilakukan setiap pekan. Hasil pengamatan terhadap perubahan kadar gula darah tikus diabet induksi Alloksan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kadar gula darah tikus sebelum injeksi Alloksan (awal), setelah injeksi Alloksan (hari ke 1), dan sesudah pemberian pakan (hari ke-7 s.d 28)

Tingginya kadar gula darah tikus yang diinduksi terjadi karena Alloksan menginaktivasi enzim glukokinase dan menimbulkan reaksi oksidasi pada sel β sehingga sel β tidak dapat menghasilkan insulin, dengan demikian terjadi kondisi hiperglikemia. Hormon insulin mempercepat transport glukosa ke dalam sel, sedangkan enzim glukokinase berfungsi mengikat glukosa yang telah masuk ke dalam sel. Glukokinase yang tidak aktif dan insulin yang tidak ada menyebabkan glukosa menumpuk di dalam darah (hiperglikemia) dan proses glikolisis menjadi terhambat sehingga energi dari glukosa tidak terbentuk.

Dengan adanya perlakuan pemberian pakan ekstrak protein kecipir, maka terlihat secara perlahan mampu menurunkan kadar gula darah tikus diabet. Kelompok tikus injeksi Alloksan pakan ekstrak protein kecipir menunjukkan pola peningkatan glukosa darah yang lebih rendah, dengan kata lain, penurunan gula darah tikus injeksi Alloksan pakan ekstrak protein kecipir lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus injeksi Alloksan pakan standar. Hal ini diduga bahwa kandungan protein pada kecipir mampu merangsang

sintesis insulin pada sel β pankreas. Terjadinya sintesis insulin ini diduga pada sel β pankreas telah terjadi *recovery* adalah karena protein yang terdapat pada bahan sangat potensial sebagai insulinotrophic agent, dimana hal tersebut ditunjukkan dengan adanya efek sinergis dengan glukosa terhadap peningkatan sekresi insulin pada sel β pankreas (Lee & Park, 2000).

Kemungkinan lain yang dapat terjadi adalah protein berperan dalam membantu pembentukan glukosa darah melalui proses glukoneogenesis. Glukosa yang hilang akan dikompensasi dengan cara mengubah bahan selain karbohidrat pada jaringan otot dan adipose menjadi glukosa melalui proses glukoneogenesis. Terjadinya proses tersebut sangat berkontribusi dalam merangsang sekresi insulin, dengan demikian mendorong penurunan gula darah tikus diabet. Selain itu, adanya dugaan lain yang mampu digunakan sebagai bahan glukoneogenesis adalah lemak. Kandungan lemak yang terdapat pada ekstrak protein kecambah cukup tinggi jika dibandingkan dengan data sebelumnya. Masih dalam penelitian yang sama, *insulinotrophic agent* yang sangat berperan penting dalam sintesis insulin adalah Arginin. Pernyataan yang serupa disampaikan oleh Rytlewski et al. (2005) bahwa Arginin berperan penting pada beberapa fungsi sistem dalam tubuh seperti detoksifikasi ammonia, precursor NO, memperbaiki sistem imun, merangsang sekresi insulin dan glukagon, serta memiliki aktivitas antioksidan.

Kemungkinan lain yang terjadi pada penurunan level gula darah pada kelompok tikus injeksi Alloxan pakan ekstrak protein kecambah adalah adanya peran yang ditimbulkan oleh *trypsin inhibitor*. Lee & Park (2001) menyatakan bahwa *trypsin inhibitor* mampu mendorong terjadinya sintesis insulin melalui peranannya dalam mendorong *binding capacity* pada reseptor insulin. Melalui peran tersebut diduga mampu mengakibatkan meningkatnya kadar insulin dalam sel β pankreas, oleh karena itu, *trypsin inhibitor* disebut sebagai *antidiabetogenic*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hadiman (1987) menyatakan bahwa kualitas *trypsin inhibitor* baik pada kedelai maupun pada kecambah adalah sama.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak protein kecambah memiliki kadar protein tertinggi dengan komposisi kimia sebagai berikut : kadar air 3,98 (% wb), protein 58,16 (% db), lemak 29,56(% db), abu 5,13 (% db), karbohidrat 3,99 (% db). Hasil uji ekstrak protein kecambah terhadap tikus diabet induksi Alloxan selama 28 hari menunjukkan bahwa diet ekstrak protein kecambah mampu

menurunkan gula darah sebesar 49% yaitu dari 211,93 mg/dL menjadi 107,88 mg/dL pada akhir pengujian, dan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata jika dibandingkan terhadap diet standar yang hanya menunjukkan penurunan gula darah sebesar 3,7% yaitu dari 213,08 mg/dL menjadi 205,14 mg/dL pada akhir pengujian.

5. DAFTAR PUSTAKA

- AOAC, 1970. "Official Methods of Analysis". Association of Official Analytical Chemist. Washington DC.
- Gillespie, J.M. & R.J. Blagrove, 1978. "Isolation and Composition of the Seed Globulins of Winged Bean". *Aust. J. Plant Physiol* 5 : 375-369.
- Hadiman, 1987. *Sifat-Sifat Protein dan Inhibitor Tripsin dari Biji Berbagai Varietas Kecambah Dibandingkan dengan Biji Kedelai*. Laporan Penelitian. Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat. Bandung.
- Lee, SH. & Park, IS., 2000. "Effect of Soybean Diet on the b cells and the Streptozotocin Treated Rats for Induction of Diabetes". *Diabetes Research and Clinical Practice* 47 : 1-13
- Natarajan, 1980. *Peanut Protein Ingredients, Preparation, Properties and Food Uses. Advanced in Food Resources Vol. 26*. New York: Academic Press Inc.
- Noor, Z., Marsono, Y., & Astuti, M., 2000. "Sifat Hipoglikemik Komponen Kedelai". *Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan. PATPI Vol.2* : 160-174.
- Noor, Z., 1998. "Penyajangan Kemungkinan Penggunaan Kedelai Sebagai Komponen Makanan Fungsional". *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada*. Yogyakarta.
- Rumahrupute, B., 2006. *Beberapa Jenis Pangan Lokal Sebagai Sumber Karbohidrat dan Protein yang Bebas dari Bahan Tambahan Pangan (BTP) Pengawet dan Pengeras*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Maluku. Maluku.
- Rytlewski, K., Olszanecki R, Korbut R, & Zdebski Z., 2005. "Effect of Prolonged Oral Supplementation with L-Arginin on Blood Pressure and NOS in Preeclampsia". *European Journal and Clinical Investigation* 35 : 32-37
- Sikorski, E.Z., 2001. *Chemical and Fungsional Properties of Food Proteins*. Pennsylvania: Technomic Publishing Company.