

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) atau yang dikenal sebagai daun insulin merupakan salah satu spesies tanaman yang secara efektif dapat menurunkan kadar gula darah. Berdasarkan hasil penelitian Baroni *et al.* (2008), pemberian 400 mg/kg BB/hari ekstrak daun yakon selama 14 hari dapat menurunkan hiperglikemia pada tikus diabetes. Daun yakon dapat menurunkan kadar gula darah dengan menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta pankreas, sehingga ada perlawanan terhadap hormon yang mampu meningkatkan laju pelepasan glukosa, meningkatkan jumlah dan sensitivitas reseptor insulin, serta meningkatkan penyerapan glukosa oleh jaringan dan organ. Manfaat dari daun yakon, diperoleh dari kandungan yang ada pada daun yakon, seperti flavonoid, asam firulat, asam klorogenik, kafein, serta protein. Pelepasan insulin di dalam tubuh dipicu oleh asam amino arginin, alanin, asparagin, fenilalanin, glisin, leusin (Floyd *et al.*, 1966).

Daun yakon memiliki manfaat yang baik bagi penderita penyakit diabetes. Salah satu kelemahan daun yakon adalah rasanya yang pahit, menjadikannya kurang diminati oleh konsumen. Pengaplikasian daun yakon dalam produk pangan belum banyak dilakukan, masih sekedar dimanfaatkan sebagai teh atau diambil ekstraknya (Baroni *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini, peneliti mencoba mengekstrak dan mengisolasi protein daun yakon untuk ditambahkan ke suatu produk pangan. Protein sangat sensitif terhadap perubahan suhu, dan dapat terdenaturasi pada suhu tinggi. Umur dari protein dapat diperpanjang dengan menyimpan protein pada suhu rendah. Kondisi penyimpanan protein yang terbaik adalah disimpan pada suhu 4°C, -20°C, -80°C, atau disimpan dalam nitrogen cair (-200°C), tergantung pada protein yang akan disimpan dan tujuan penggunaan selanjutnya (Bollag & Edelstein, 1991).

Berdasarkan faktor suhu penyimpanan tersebut, maka produk pangan yang peneliti pilih adalah sorbet. Sorbet adalah produk makanan yang disajikan dalam keadaan dingin. Sorbet tidak terbuat dari produk susu dan dibuat dari sari buah-buahan segar (Goff & Hartel, 2013).

Sorbet yang peneliti buat, terbuat dari buah pisang. Buah pisang memiliki indeks glikemik sekitar 51 (Foster-Powell *et al.*, 2002). Buah pisang yang belum terlalu matang memiliki indeks glikemiks yang lebih rendah, yaitu  $43 \pm 10$  (Hermansen *et al.*, 1992).

Penderita diabetes dianjurkan memilih makanan dengan indeks glikemik yang rendah. Indeks glikemik sendiri merupakan angka yang menunjukkan potensi peningkatan kadar gula darah dari karbohidrat yang terkandung di dalam makanan yang diserap oleh tubuh. Makanan dengan indeks glikemik rendah merupakan makanan dengan kandungan karbohidrat yang lambat diserap oleh tubuh (sehingga kadar gula darah lebih stabil) (Arif *et al.*, 2013). Oleh karena itu penderita diabetes melitus cenderung mengkonsumsi makanan dengan indeks glikemik yang tergolong rendah. Untuk mengetahui pengaruh sorbet berbahan dasar pisang ambon dengan penambahan isolat protein daun yakon terhadap penurunan kadar gula darah, maka perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* dengan menggunakan hewan coba terkait aplikasi daun yakon pada bidang pangan.

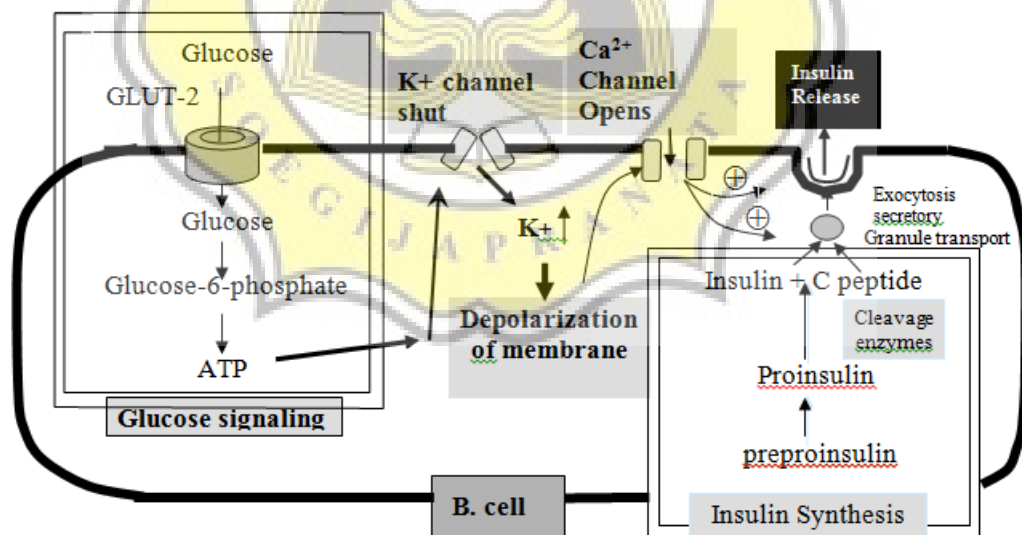
## **1.2. Tinjauan Pustaka**

### **1.2.1. Hiperglikemia**

Hiperglikemia merupakan gangguan metabolisme yang terjadi akibat kurangnya produksi insulin atau tidak dapat digunakannya insulin secara maksimal, sehingga proses pengubahan glukosa menjadi tenaga dan sintesis lemak serta protein menjadi tidak normal. Akibatnya terjadi peningkatan kadar gula darah dalam tubuh. Kondisi gangguan metabolisme yang menahun pada sistem metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein di dalam tubuh disebut diabetes melitus. (Lanywati, 2001). Hiperglikemia ditandai dengan kondisi kadar gula darah yang

lebih tinggi dari rentang kadar gula darah puasa normal. Kadar gula darah normal saat puasa adalah 70-100 mg/dl. Kadar gula darah prediabetes (hiperglikemia ringan) saat puasa adalah 101-126 mg/dl. Kadar gula darah diabetes (hiperglikemia) saat puasa adalah >126 mg/dl (DMP, n.d.).

Penyakit diabetes maupun hiperglikemia, sangat erat kaitannya dengan hormon insulin. Saat sekresi hormon insulin terganggu maka kadar gula dalam darah akan meningkat bahkan dapat mengalami penurunan. Hormon insulin merupakan salah satu hormon yang diproduksi oleh sel  $\beta$  pulau Langerhans yang terdapat pada pankreas. Oleh karena itu, apabila terjadi kerusakan pada pankreas, maka produksi insulin juga akan terganggu. Insulin merupakan suatu polipeptida (protein). Pada keadaan normal apabila terjadi peningkatan kadar gula darah, pankreas akan mensekresikan insulin sehingga kadar gula darah tetap dalam keadaan normal. Saat kadar insulin cukup dan fungsinya tidak terganggu, kelebihan gula dalam darah akan diubah dan disimpan dalam bentuk glikogen dalam jaringan adiposa (IDF, 2015). Mekanisme sekresi insulin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme Sekresi Insulin

(Kramer *et al.*, 1995)

Tingkat sekresi insulin secara primer ditentukan oleh kadar gula darah. Sekresi insulin dilakukan oleh sel beta pankreas sebagai pre-proinsulin. Molekul ini

disintesis pada retikulum endoplasma sel beta pankreas. Kemudian pre-proinsulin dipecah dengan bantuan enzim peptidase menjadi proinsulin. Proinsulin yang terbentuk kemudian ditampung dalam vesikel sekretori. Selanjutnya proinsulin dipecah oleh peptidase menjadi insulin dan C-peptida yang siap disekresi ketika dibutuhkan. Insulin terdiri dari 2 rantai polipeptida, yaitu rantai A dan rantai B yang digabungkan dengan ikatan disulfida. Proses sintesis insulin, dipengaruhi oleh beberapa mineral penting seperti ion  $K^+$  dan ion  $Ca^+$ . Ketika glukosa yang dibawa oleh transporter glukosa, yaitu GLUT 2 masuk ke dalam sel, glukosa akan mengalami proses glikolisis dan fosforilasi. Dari proses tadi, dihasilkan ATP yang menstimulasi penutupan saluran  $K^+$  dan mengakibatkan konsentrasi ion  $K^+$  intrasel meningkat. Akibatnya, saluran  $Ca^+$  terbuka dan kadar  $Ca^+$  dalam intrasel meningkat. Pada konsentrasi yang cukup, ion  $K^+$  dan  $Ca^+$  akan menstimulasi sintesis insulin (Walsh, 2003; Kramer *et al.*, 1995).

Untuk menjaga kadar insulin tetap stabil, penderita diabetes melitus perlu menjaga pola makan atau diet dengan mengurangi asupan kalori berlebih. Selain pola makan, pola hidup juga harus diubah dengan rutin berolahraga. Pengobatan diabetes melitus secara klinis, tergolong cukup mahal. Oleh karena itu, tidak jarang pula penderita diabetes melitus lebih memilih pengobatan tradisional dengan mengkonsumsi tanaman herbal atau tanaman obat (Hasdianah, 2012).

### 1.2.2. Daun Yakon

Yakon atau *smallanthus sonchifolius* merupakan tanaman asli dari Andes yang masuk dalam famili Asteraceae. Yakon memiliki daun berwarna hijau tua dan tinggi antara 1,5-3 m. Tanaman ini memiliki bunga berwarna kuning hingga orange. Tanaman yakon memiliki umbi berwarna coklat dengan daging umbi berwarna putih kekuningan dan hampir mirip dengan singkong (Taylor, 2006).



Gambar 2. Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*)

(Sumber : dokumen pribadi)

Daun yakon memiliki kegunaan utama untuk mengobati diabetes dan gula darah yang tinggi, sebagai antimikrobal pada ginjal dan mengobati infeksi saluran kemih, obat kuat untuk masalah hati, dan sebagai antioksidan. Rebusan daun yakon dilaporkan telah dapat menurunkan tingkat gula darah menjadi normal pada tikus yang menderita diabetes (Taylor, 2006). Yakon mengandung bahan aktif yang memiliki efek farmakologis. Daun dan batang tanaman yakon memiliki kandungan protein yang cukup banyak dan senyawa fenolik seperti flavonoid, asam firulat, asam klorogenik, dan kafein. Beberapa studi melaporkan bahwa teh yang dibuat dari daun yakon dapat menurunkan glikemia dan meningkatkan konsentrasi insulin pada plasma darah tikus yang menderita diabetes (Baroni *et al.*, 2008). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, daun yakon basah memiliki kandungan protein sebesar 2,87%, sedangkan daun yakon kering memiliki kandungan protein sebesar 17,12% hingga 21,18%. Kandungan protein yang cukup tinggi dalam daun yakon dapat dikaitkan dengan pemicu pengeluaran insulin oleh sel beta pankreas yang dapat menurunkan kadar gula darah penderita diabetes (Lachman *et al.*, 2003).

### **1.2.3. Ekstraksi dan Isolasi Protein**

Protein merupakan salah satu unsur penting pada makhluk hidup. Protein memiliki fungsi penting bagi tubuh yakni sebagai perbaikan, pemeliharaan, pertumbuhan sel-sel tubuh, zat antibodi, penyusum hormon, dan lain-lain. Daun yakon memiliki kandungan protein sebesar 17-22% pada kondisi kering, untuk mendapatkan protein utuh tanpa tercampur bahan lain perlu dilakukan pemisahan protein pada daun yakon (Bollag & Edelstein, 1991).

Ekstraksi protein adalah pemisahan satu atau beberapa komponen dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen campuran. Pada saat pencampuran terjadi perpindahan massa, yaitu ekstrak meninggalkan pelarut yang pertama sebagai media pembawa dan masuk ke dalam pelarut kedua sebagai media ekstraksi. Penyaringan dalam proses ekstraksi berfungsi untuk memisahkan partikel suspensi dengan cairan untuk memisahkan antra zat terlarut dengan zat

padat. Terdapat berbagai macam metode ekstraksi protein, antara lain *salting out*, *isoelectric precipitation*, *french pressure cell*, dan berbagai macam metode lainnya (Bollag & Edelstein, 1991).

Prinsip *salting out* ada senyawa hidrofobik asam amino dan hidrofilik asam amino dalam molekul protein. Ketika molekul garam meningkat maka beberapa molekul air tertarik dengan ion garam, sehingga mengurangi jumlah molekul air yang tersedia untuk berinteraksi dengan bagian yang dibebankan protein. Karena meningkatnya molekul pelarut yang berinteraksi dengan protein yang lebih kuat dari interaksi pelarut zat terlarut; molekul protein mengental dengan membentuk interaksi hidrofobik satu dengan yang lainnya (Bollag & Edelstein, 1991).

#### **1.2.4. Sorbet Pisang**

Sorbet adalah salah satu jenis *frozen dessert* yang disajikan dalam keadaan dingin. Sorbet tidak terbuat dari produk susu dan dibuat dari sari buah-buahan segar. Sorbet memiliki kalori yang rendah. Sorbet terdiri dari gula, jus buah dan bahan penstabil, atau dapat pula ditambahkan pewarna, perasa buah-buahan dan asam. Sorbet memiliki *overrun* antara 25-45%, kadar gula 25-35% dan bertekstur kasar (Goff & Hartel, 2013; Arbuckle, 1986).

Pisang atau buah dengan nama latin *Musa paradisiaca* merupakan buah yang banyak tumbuh di negara tropis dan subtropis di seluruh belahan dunia. Indonesia adalah salah satu negara yang banyak ditumbuhi dan menghasilkan buah pisang. Pisang Ambon dapat ditanam pada dataran rendah dengan suhu hangat yaitu sekitar 21° – 32°C. Selain berfungsi untuk melindungi bagian daging buah, kulit pisang ambon juga dapat digunakan untuk menentukan tingkat kematangan buah. Apabila kulit pisang masih berwarna hijau maka pisang ambon masih muda, sedangkan pisang ambon yang telah tua atau matang kulitnya akan berwarna kuning keemasan (Imam & Akter, 2011).

Berdasarkan indeks glikemiknya, buah pisang yang telah matang memiliki indeks glikemik sekitar 51. Buah pisang yang belum matang memiliki indeks glikemiks



yang lebih rendah. (Foster-Powell *et al.*, 2002). Pada pati buah pisang yang belum matang memiliki kandungan karbohidrat sebesar 80-90%, yang nantinya ketika matang akan berubah menjadi gula bebas. Pada sebuah penelitian terdahulu, diketahui bahwa rata-rata gula darah subjek yang memakan pisang yang masih belum terlalu matang ( $62 \pm 17 \text{ mmol l}^{-1} \times 240 \text{ menit}$  :  $p < 0,01$ ), lebih rendah daripada pisang yang terlalu matang ( $106 \pm 17 \text{ mmol l}^{-1} \times 240 \text{ menit}$  :  $p < 0,01$ ). Pada penelitian tersebut juga diketahui bahwa terdapat perbedaan antara indeks glikemik dari buah pisang yang belum terlalu matang dan buah pisang yang terlalu matang. Indeks glikemik buah pisang yang belum terlalu matang adalah  $43 \pm 10$  :  $p < 0,01$ , sedangkan buah pisang yang terlalu matang memiliki indeks glikemik  $74 \pm 9$  :  $p < 0,01$  (Hermansen *et al.*, 1992).

Berdasarkan data Uniprot (2016), pisang mengandung 356 jenis protein, baik yang sudah teridentifikasi maupun yang belum. Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan pisang ambon memiliki kandungan nitrogen sebesar 0,16 gram. Pada 100 gram pisang ambon, terdapat asam amino esensial total sebanyak 404 mg. Asam amino esensial pada pisang ambon terdiri dari isoleusin sebanyak 51 mg, leusin sebanyak 89 mg, lisin sebanyak 35 mg, metionin sebanyak 11 mg, sistin sebanyak 11 mg, fenilalanin sebanyak 55 mg, treonin sebanyak 46 mg, triptofan sebanyak 15 mg, dan valin sebanyak 68 mg. Pada 100 gram bahan pisang ambon juga terdapat asam amino tidak esensial dengan jumlah total sebanyak 418 mg. Asam amino tidak esensial pada pisang ambon terdiri dari arginin sebanyak 24 mg, histidin sebanyak 25 mg, alanin sebanyak 65 mg, asam aspartat sebanyak 116 mg, asam glutamat sebanyak 26 mg, glisin sebanyak 64 mg, prolin sebanyak 48 mg, dan serin sebanyak 50 mg.

Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan yang bisa dikonsumsi dari pisang jenis pisang ambon memiliki kandungan protein sebesar 1,0 gram, lemak sebesar 0,3 gram, karbohidrat sebesar 24,0 gram, abu sebesar 0,9 gram dan air sebesar 73,8 gram. Menurut Kumar *et al.* (2012), pisang merupakan buah dengan nilai gizi yang baik dan kandungannya memiliki banyak manfaat bagi tubuh. Pisang merupakan sumber vitamin C yang baik. Vitamin C

ini dapat memperbaiki sistem imun tubuh, membantu penyerapan besi, dan meningkatkan penyusunan darah. Kalsium dalam pisang juga baik untuk menurunkan dan mengontrol tekanan darah tinggi.

Pada hancuran buah pisang yang belum matang, ditemukan beberapa flavonoid dan senyawa sejenisnya, seperti leucocyanidin, quertin dan 3-O-glucoside, dan 3-O-rhamnosyl glucoside). Pada hancuran buah pisang matang ditemukan serotonin, nor-epinephrine, tryptophan, komponen indole, tanin, pati, besi, gula yang terkristalisasi maupun yang tidak, vitamin C, vitamin B, albumonoids, lemak, dan garam mineral. Buah hijau dari *M. paradisiaca* dilaporkan memiliki efek hypoglikemik yang menyebabkan stimulasi produksi insulin dan penggunaan glukosa. Pisang memiliki kandungan kalsium (K) dan natrium (Na) yang berkolerasi terhadap efek glikemik. Serat dari buah *M. paradisiaca* dapat meningkatkan glikogenesis di hati dan menurunkan peningkatan gula darah (Imam & Akter, 2011).

#### **1.2.5. Pengujian *In Vivo***

*In vivo* merupakan salah satu dari tiga jenis pendekatan eksperimental yaitu *in vivo*, *in vitro*, dan *in silico*. Dalam bahasa lain *in vivo* memiliki arti hidup, sedangkan *in vitro* dan *in silico* memiliki arti kaca dan ekspresi (penyerupaan). *In vivo* adalah sebuah eksperimen dengan menggunakan keseluruhan, hidup organisme sebagai lawan dari sebagian organisme atau mati, atau *in vitro* dalam lingkungan yang terkendali. Pada umumnya *in vivo* lebih mengacu pada eksperimen dengan menggunakan keseluruhan organisme hidup, sehingga berusaha untuk menghindari penggunaan organisme parsial atau mati (Abdou, 1989).

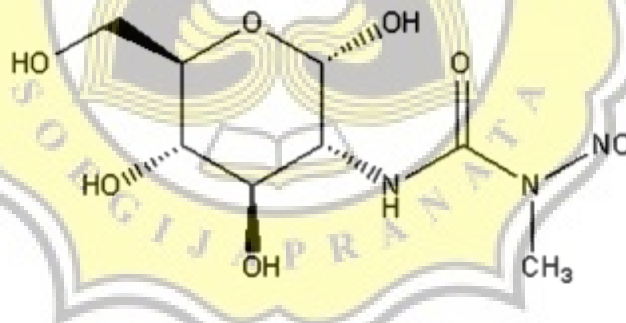
Prinsip pengujian secara *in vivo* yaitu menggunakan hewan uji yang berfungsi untuk membantu menjalankan penelitian yang tidak dapat dipraktikkan secara langsung dalam tubuh manusia. Prinsip ini mengasumsikan semua jaringan, sel-sel penyusun tubuh, serta enzim yang terdapat dalam tubuh manusia memiliki kesamaan dengan tubuh hewan uji. Keuntungan menggunakan metode *in vivo*



dalam penelitian adalah praktis, lebih murah, serta mudah dilaksanakan. Kekurangan dari metode ini adalah tidak semua hewan dapat dijadikan sebagai hewan percobaan, selain itu pada beberapa penelitian tertentu dibutuhkan hewan uji yang tidak mudah mati dan mudah beradaptasi dengan lingkungan. Dalam penelitian ini menggunakan tikus putih *Strain Wistar* yang telah dikendalikan kadar gula darah (Sirisuth, 2011).

### 1.2.6. Streptozotosin

Metode pemberian diabetogenik adalah suatu metode tanpa pembedahan yang dapat menghasilkan hewan percobaan hiperglikemia dan/atau diabetes melitus. Salah satu senyawa yang sering digunakan sebagai senyawa diabetogenik adalah streptozotosin (STZ). Streptozotosin dapat diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dan biasa digunakan dalam percobaan diabetes melitus pada hewan. Streptozotosin dikenal dengan nama kimia 2-deoksi-2-[3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranoze]. Rumus kimia dari streptozotosin adalah  $C_8H_{15}N_3O_7$  (Haitao Zhu *et al.*, 2014; Nugroho, 2006).



Gambar 3. Streptosotozin

(Lenzen, 2008)

Streptozotosin dapat digunakan untuk menginduksi hewan percobaan agar menderita diabetes, baik diabetes melitus tipe 1 maupun diabetes melitus tipe 2. Pada umumnya, 45-70 mg/kg BB merupakan dosis pemberian streptozotosin untuk menginduksi tikus. Tikus yang diinduksi dengan dosis sebesar 40mg/kg BB tidak menunjukkan glikemia yang tidak homogen (Gajdosik *et al.*, 1999). Pemberian streptozotosin dengan dosis 30-40 mg/kg BB secara spontan, menyebabkan tikus dapat sembuh. Tikus yang diinduksi dengan streptozotosin

dengan dosis sebanyak 50 dan 60 mg/kg mengalami penyakit presisten yang ditandai dengan hiperglikemia parah yang stabil. Pemberian streptozotocin dengan dosis sebanyak 70mg/kg, mengakibatkan terjadinya kematian pada seluruh tikus yang diuji (Akbarzadeh, 2007). Dosis streptozotocin dipengaruhi oleh jenis spesies hewan, umur, berat badan, silsilah rute administrasi (galur hewan uji), dan status gizi hewan uji (Haitao Zhu *et al.*, 2014).

Streptozotocin yang diinduksikan ke hewan percobaan akan menembus sel beta Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi dari streptozotocin akan mengakibatkan perubahan DNA sel beta pankreas. Alkilasi DNA oleh streptozotocin melalui gugus nitrourea akan mengakibatkan kerusakan pada sel beta pankreas. *Nitric oxide* dan oksigen reaktif merupakan penyebab utama sel beta pankreas. Ketika streptozotocin mengalami metabolisme dalam sel, akan dihasilkan NO (*nitric oxide*) yang berkontribusi pada rusaknya sel beta pankreas melalui peningkatan guanilil siklase dan pembentukan cGMP. Selain itu, streptozotocin juga dapat meningkatkan oksigen reaktif yang berperan dalam kerusakan sel beta pankreas. Anion superoksida yang terbentuk akibat aksi streptozotocin dalam mitokondria dan peningkatan aktivitas xantin oksidase, mengakibatkan terhambatnya siklus krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Terbatasnya jumlah ATP yang dihasilkan mitokondria, mengakibatkan pengurangan nukleotida sel beta pankreas secara drastis (Nugroho, 2006).

#### **1.2.7. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar merupakan hewan percobaan yang biasanya digunakan di laboratorium. Keistimewaan tikus Wistar dibandingkan tikus lainnya adalah tikus ini memiliki bagian esophagus yang bermuara langsung ke lambung, sehingga makanan yang diberikan tidak dapat dimuntahkan. Tikus wistar dapat tumbuh mencapai 40 cm dengan berat berkisar 140-500 gram. Namun, berat badan tikus Wistar jantan dan betina berbeda. Tikus Wistar jantan biasanya memiliki berat tubuh 300-400 gram, sedangkan tikus Wistar betina memiliki berat tubuh 250-300 gram. Tikus Wistar memiliki masa hidup antara 2-3

tahun, namun tidak jarang dapat mencapai 4 tahun. Ketersediaan air dalam kandang harus selalu dijaga setiap harinya, karena air minum yang dibutuhkan tikus Wistar dewasa adalah sebanyak 20-45 ml air setiap harinya (Dewi, 2014).



Gambar 4. Tikus Wistar  
(Sumber : dokumen pribadi)

Tikus Wistar jantan lebih banyak digunakan dalam penelitian karena dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil. Hal itu dikarenakan tikus jantan tidak mengalami menstruasi dan kehamilan seperti tikus betina, serta memiliki metabolisme dan keadaan biologis tubuh yang stabil. Pemberian makan pada tikus biasa menggunakan metode sonde sehingga makanan yang diberikan dapat langsung menuju lambung. Lambung tikus Wistar memiliki volume maksimal 5 ml, sehingga pada saat pemberian makan volume makanan yang dianjurkan maksimal hanya 4 ml. Hal itu dilakukan untuk memberikan ruang bagi lambung tikus. Apabila pemberian makan melebihi dari volume yang dianjurkan maka lambung tikus tidak dapat menampung sehingga akan berakibat inflamasi lambung dan berujung pada kematian tikus yang digunakan untuk percobaan (Utaminigrum, 2011).

### **1.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh sorbet pisang dengan penambahan isolat protein daun yakon terhadap berat badan dan kadar gula darah pada tikus secara *in vivo* dan mengetahui hubungan antara perubahan berat badan dengan kadar gula darah pada tikus.