

4. PEMBAHASAN

Daun yakon yang digunakan untuk pengobatan dan telah beredar dipasaran, umumnya dijual dalam bentuk kering. Untuk mengetahui aplikasi dari daun yakon dalam bidang makanan, maka dilakukan penelitian ini. Pada penelitian ini, bahan utama yang digunakan adalah isolat protein dari daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) yang telah dikeringkan dan dihaluskan. Sebanyak 10 kg daun yakon segar dikeringkan dengan menggunakan *Solar Tunnel Dryer* dengan suhu 30-80°C selama 2-3 jam. Daun yakon kering yang diperoleh setelah dilakukan proses pengeringan adalah sebanyak 1,162 gram. Berat daun yakon kering menyusut sebanyak 88,38% dari berat awalnya. Selama proses pengeringan, kadar air dalam daun yakon segar berkurang akibat menguap karena suhu yang tinggi. Proses pengeringan dilakukan sebelum dilakukan proses ekstraksi dan isolasi protein. Pada kondisi bahan yang kering, kandungan protein daun yakon kering (17,12-21,18%) lebih tinggi dibandingkan kandungan protein daun yakon segar (2,87%) (Lachman, 2003).

4.1. Isolasi Protein Daun Yakon

Untuk mendapatkan isolat protein, perlu dilakukan ekstraksi dan isolasi protein. Langkah pertama dalam prosedur isolasi protein pada umumnya adalah pencucian jaringan dan mengaplikasikan metode lisis. Metode lisis sel yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan metode sonikasi menggunakan alat *ultrasonic homogenizer* UP100H. Metode sonikasi sesuai digunakan untuk menghancurkan dinding sel dari jenis jaringan suspensi sel. Prinsip kerja dari sonikasi adalah gelombang suara ultrasonik yang dihasilkan oleh sonikator akan menghancurkan jaringan dengan menciptakan getaran-getaran yang menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel secara mekanik (Bollag & Edelstein, 1991).

Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan untuk adalah *aquabidest*. *Aquabidest* merupakan hasil destilasi dari *aquadest* yang telah dihilangkan zat pengotornya. Zat pengotor yang dihilangkan diantaranya adalah garam, logam berat, bakteri, dan berbagai macam bahan-bahan lainnya. *Aquabidest* memiliki tingkat kemurnian yang tinggi, sehingga biasa digunakan sebagai pelarut diberbagai

bidang, seperti bidang industri bahan kimia, farmasi, dan juga proses penelitian (Medical24, n.d).

Waktu yang diperlukan untuk pelisisan sel adalah 5 hingga 10 menit. Pada penelitian ini, sonikator diatur pada *cycle* 1, *amplitude* 40% dan lamanya waktu sonikasi adalah 15 menit. Pengaturan sonikator dilakukan untuk mendapatkan proses ekstraksi yang maksimal, namun tidak sampai pada tingkat larutan sampel yang disonikasi berbusa. Berbusanya larutan menandakan bahwa telah terjadi denaturasi protein (Bollag & Edelstein, 1991).

Selanjutnya filtrat yang didapatkan dari hasil ekstraksi protein serbuk daun yakon kering dipresipitasi dengan menggunakan metode *salting out*. Bollag & Edelstein (1991) menyatakan bahwa prinsip dari metode *salting out* adalah mengendapkan protein dengan menggunakan bantuan garam ammonium sulfat. Ketika berada pada kondisi garam dengan konsentrasi yang tinggi, protein akan cenderung berkumpul dan akan terendapkan dibawah larutan. Garam ammonium sulfat dipilih karena memiliki efektifitas yang tinggi, kelarutan yang tinggi, larut pada suhu rendah, memiliki fleksibilitas yang tinggi pada berbagai pH, dan murah. Ammonium sulfat yang ditambahkan pada penelitian ini adalah sebanyak 45% dari filtrat hasil ekstraksi protein yang diperoleh. Bollag & Edelstein (1991) menyatakan bahwa hampir seluruh protein akan mengendap pada konsentrasi ammonium sulfat sebesar 55%. Pada proses penambahan ammonium sulfat pada filtrat, dilakukan pada suhu rendah dengan bantuan es batu, dikarenakan sifat protein yang sensitif terhadap suhu tinggi. Bila proses ekstraksi dan presipitasi protein dilakukan dengan benar, Bollag & Edelstein (1991) menyatakan bahwa dapat diperoleh endapan protein sebanyak 85%.

Isolat protein yang masih basah selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan *freeze drier* dan selanjutnya disimpan dalam *freezer* sebelum digunakan kembali. Penggunaan metode pengeringan beku menggunakan alat *freeze drier* dan penyimpanan isolat protein dilakukan dalam *freezer* bersuhu -20°C dilakukan

karena isolat protein mudah mengalami kerusakan ataupun terdenaturasi karena panas (Bollag & Edelstein, 1991).

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa dari proses isolasi protein daun yakon dengan metode *salting out*, dapat diperoleh isolat protein sebanyak 10,542% dengan standar deviasi 0,315 dari berat bahan awal. Hal ini tidak sesuai dengan teori yang ada, seperti yang Bollag & Edelstein (1991) nyatakan bahwa dari penggunaan metode *salting out*, dapat diperoleh efisiensi isolat protein hingga 85%. Hal ini terjadi dikarenakan jumlah protein yang terkandung dalam daun yakon hanya sedikit, sehingga didapatkan jumlah isolat protein yang sedikit.

4.2. Analisis Proksimat Sorbet Pisang

Pada penelitian ini, dibuat sorbet pisang dengan berbagai macam formulasi. Formulasi sorbet yang dibuat adalah formulasi SP, SP+IP25Y, dan SP+IP50Y. Penambahan isolat protein daun yakon dalam formulasi sorbet pisang mempengaruhi kadar kimia dari sorbet.

Berdasarkan Tabel 3, sorbet memiliki kadar air sebanyak 80,256-80,743%. Dari hasil uji *One Way Anova* diketahui bahwa kadar air dari ketiga formulasi sorbet pisang, tidak terdapat beda nyata pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$). Hal ini terjadi dikarenakan penambahan isolat protein yang menjadi pembeda dari ketiga formulasi pembuatan sorbet pisang, terlalu sedikit jumlahnya dibandingkan bahan lainnya dalam pembuatan sorbet. Kadar air sorbet pisang, lebih tinggi dibandingkan dengan kadar air dari buah pisang ambon yang merupakan bahan utama dalam pembuatan sorbet. Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan yang bisa dikonsumsi dari pisang jenis pisang ambon, kandungan air yang dimiliki adalah sebesar 73,8%. Perbedaan yang terjadi antara kadar air sorbet pisang dengan buah pisang ambon terjadi karena ditambahkan air pada proses pembuatan sorbet pisang.

Berdasarkan Tabel 3, sorbet memiliki kadar abu sebanyak 0,796-0,955%. Dari hasil uji *One Way Anova* diketahui bahwa kadar abu dari ketiga formulasi sorbet

pisang, tidak terdapat beda nyata pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$). Hal ini terjadi dikarenakan penambahan isolat protein yang menjadi pembeda dari ketiga formulasi pembuatan sorbet pisang, terlalu sedikit jumlahnya dibandingkan bahan lainnya dalam pembuatan sorbet. Kadar abu ketiga sorbet pisang, sama dengan kadar abu dari buah pisang ambon yang merupakan bahan utama dalam pembuatan sorbet. Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan yang bisa dikonsumsi dari pisang jenis pisang ambon memiliki kandungan abu sebesar 0,9%.

Berdasarkan Tabel 3, sorbet memiliki kadar lemak sebanyak 0,085-0,096%. Dari hasil uji *One way anova* diketahui bahwa kadar lemak dari ketiga formulasi sorbet pisang, tidak terdapat beda nyata pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$). Hal ini terjadi dikarenakan penambahan isolat protein yang menjadi pembeda dari ketiga formulasi pembuatan sorbet pisang, terlalu sedikit jumlahnya dibandingkan bahan lainnya dalam pembuatan sorbet. Kadar lemak sorbet pisang yang telah dibuat, lebih kecil dibandingkan dengan kadar lemak dari buah pisang ambon yang merupakan bahan utama dalam pembuatan sorbet. Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan yang bisa dikonsumsi dari pisang jenis pisang ambon memiliki kandungan lemak sebesar 0,3%. Perbedaan terjadi, dikarenakan dengan ditambahkan suatu bahan ke dalam sorbet, akan mempengaruhi kadar bahan lain dalam sorbet. Dalam pembuatan sorbet, ditambahkan air ke dalam formulasi yang menyebabkan kandungan lemak dalam pisang yang memang sedikit, semakin sedikit karena bertambahnya kadar air pada sorbet.

Berdasarkan Tabel 3, sorbet memiliki kadar protein sebanyak 0,676-0,879%. Dari hasil uji *One way anova* diketahui bahwa kadar protein dari ketiga formulasi sorbet pisang, tidak terdapat beda nyata pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$). Hal ini terjadi dikarenakan penambahan isolat protein yang menjadi pembeda dari ketiga formulasi pembuatan sorbet pisang, terlalu sedikit jumlahnya dibandingkan bahan lainnya dalam pembuatan sorbet. Kadar protein sorbet pisang, lebih kecil dibandingkan dengan buah pisang ambon yang merupakan bahan utama dalam

pembuatan sorbet. Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan yang bisa dikonsumsi dari pisang jenis pisang ambon memiliki kandungan protein sebesar 1,0%. Perbedaan terjadi, dikarenakan dengan ditambahkan suatu bahan ke dalam sorbet, akan mempengaruhi kadar bahan lain dalam sorbet. Dalam pembuatan sorbet, ditambahkan air ke dalam formulasi yang menyebabkan kandungan protein dalam pisang yang memang sedikit, semakin sedikit karena bertambahnya kadar air pada sorbet. Walaupun dalam prosesnya telah ditambahkan isolat protein daun yakon, namun karena jumlah penambahannya jauh lebih sedikit dibandingkan penambahan air, mengakibatkan kadar protein tidak terlalu berbeda jauh dengan kadar protein buah pisang.

Berdasarkan Tabel 3, sorbet memiliki kadar karbohidrat sebanyak 17,328-18,187%. Dari hasil uji *One Way Anova* diketahui bahwa kadar karbohidrat dari ketiga formulasi sorbet pisang, tidak terdapat beda nyata pada tingkat signifikansi 5% ($P < 0,05$). Hal ini terjadi dikarenakan penambahan isolat protein yang menjadi pembeda dari ketiga formulasi pembuatan sorbet pisang, terlalu sedikit jumlahnya dibandingkan bahan lainnya dalam pembuatan sorbet. Kadar karbohidrat sorbet pisang, lebih kecil dibandingkan dengan buah pisang ambon yang merupakan bahan utama dalam pembuatan sorbet. Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan yang bisa dikonsumsi dari pisang jenis pisang ambon memiliki kandungan karbohidrat sebesar 24,0%. Perbedaan terjadi, dikarenakan dengan ditambahkan suatu bahan ke dalam sorbet, akan mempengaruhi kadar bahan lain dalam sorbet. Semakin besar kadar air, abu, lemak, dan protein sorbet, maka akan semakin rendah kadar karbohidratnya.

4.3. Pengujian *In Vivo*

Pada penelitian ini dilakukan pengujian *in vivo* dengan menggunakan hewan uji. Hewan uji yang dipilih pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Tikus putih strain Wistar memiliki keunggulan, yaitu memiliki bagian esophagus yang bermuara langsung ke dalam lambung. Hal ini

memudahkan pengujian, karena sorbet pisang yang diberikan tidak dapat dimuntahkan (Dewi, 2014).

Terkait dengan pemberian perlakuan sonde dengan sorbet pisang, semua tikus tetap diberi makan berupa pakan standar. Pakan standar yang diberikan mengandung komposisi kadar air sebesar 13,00%, kadar protein sebesar 17,50-19,50%, kadar lemak sebesar 3,00%, kadar serat sebesar 8,00%, kadar abu sebesar 7,00%, kalsium 0,90%, dan fosfor sebesar 0,60%. Jumlah pakan standar yang diberikan untuk tiap tikus dalam 1 hari adalah sebanyak 20 gram agar tikus tidak mati kelaparan.

Seluruh tikus putih strain Wistar yang digunakan pada penelitian merupakan tikus dengan jenis kelamin jantan. Hal ini dilakukan agar penelitian ini dapat mendapatkan hasil yang stabil. Menurut Utaminingrum (2011), tikus jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tikus jantan tidak mengalami menstruasi dan kehamilan. Metabolisme dan keadaan tubuh dari tikus jantan juga lebih stabil.

Pada penelitian ini, tikus Wistar dikondisikan mengalami hiperglikemia. Hiperglikemia adalah suatu keadaan dimana kadar gula darah lebih tinggi daripada kadar gula darah normal. Metode yang digunakan untuk menghasilkan hewan uji hiperglikemia adalah metode tanpa pembedahan, yaitu dengan pemberian diabetogenik. Streptozotocin yang diinduksikan ke hewan percobaan akan menembus sel beta Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Hal ini akan mengakibatkan kerusakan pada sel beta pankreas. Kerusakan sel beta pankreas diakibatkan oleh *Nitric oxide* dan oksigen reaktif yang dihasilkan dan distimulasi oleh streptozotocin (Nugroho, 2006).

Salah satu hal yang sangat penting dalam penelitian ini adalah menentukan dosis optimal jumlah streptozotocin yang diperlukan untuk menginduksi hewan uji agar hewan uji mengalami kondisi *irreversible* dan mengalami hiperglikemia yang stabil sebelum dilakukan pengujian *in vivo*. 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). Pada uji coba sebelumnya, beberapa tikus diinduksi streptozotosin dengan dosis sebesar 40 mg/kg BB. Dengan dosis sebesar 40 mg/kg BB, beberapa tikus mengalami kematian yang ditandai dengan semakin menurunnya berat badan tikus dan kandang yang basah akibat banyaknya urin yang dikeluarkan, namun ada juga tikus yang belum terlihat mengalami tanda-tanda hiperglikemia (mengalami resisten). Menurut Akbarzadeh (2007), pemberian streptozotosin pada dosis 30-40 mg/kg BB dapat menyebabkan tikus sembuh. Pemberian streptozotosin dengan dosis yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kematian pada seluruh tikus uji. Peneliti meningkatkan dosis induksi streptozotosin menjadi sebesar 45 mg/kg BB, dengan asumsi semua tikus mengalami hiperglikemia. Hal ini juga didukung Gajdosik *et al.* (1999) yang menyebutkan bahwa dosis streptozotosin yang digunakan untuk menginduksi tikus adalah sebesar 45-70 mg/kg BB.

Berdasarkan data hasil penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 8, Tabel 4 dan 5, dapat diketahui perubahan berat badan dan kadar gula darah tikus pakan standar. Tikus pakan standar memiliki tren perubahan berat badan yang cenderung meningkat hingga hari ke-35. Dilihat dari tren perubahan kadar gula darah, tikus pakan standar memiliki tren perubahan yang fluktuatif. Sebagian besar tikus pakan standar memiliki perubahan kadar gula darah diantara 80-155 mg/dl. Tikus ke-3 mengalami peningkatan kadar gula darah yang sangat signifikan pada hari ke-7 dan selanjutnya mengalami penurunan kadar gula darah, meskipun terjadi kenaikan kadar gula darah kembali pada pengukuran hari ke-21. Kadar gula darah tikus pakan standar pada hari ke-35 tidak berada pada level hiperglikemia.

Dari hasil penelitian yang diperoleh, diketahui bahwa tikus tidak mengalami hiperglikemia. Hal ini didukung penelitian Suarsana *et al.* (2010), bahwa tikus yang menderita diabetes mengalami penurunan berat badan. Penurunan berat badan tikus diabetes karena tikus kekurangan hormon insulin. Kekurangan hormon insulin berakibat pada tidak mampunya tikus menggunakan glukosa sebagai sumber energi. Kebutuhan energi dicukupi dengan cara lipolisis lemak

yang ada di jaringan tubuh. Hal ini menjadikan berat badan tubuh menurun karena lemak pada jaringan tubuh digunakan sebagai sumber energi.

Pada beberapa teori yang ada diketahui bahwa kadar gula darah normal saat puasa adalah 70-100 mg/dl. Kadar gula darah prediabetes saat puasa adalah 101-126 mg/dl. Kadar gula darah diabetes saat puasa adalah >126 mg/dl (DMP, n.d.). Meskipun sudah terdapat beberapa tikus yang mengalami hiperglikemia selama masa pengujian, namun terdapat juga tikus yang memiliki kadar gula darah yang normal. Hasil yang diperoleh tidak sesuai dengan teori yang ada. Hal ini disebabkan metabolisme setiap tikus berbeda-beda dalam merespon streptozotisin yang diberikan. Ketidakesuaian hasil disebabkan dosis pemberian streptozotisin kurang tinggi.

Berdasarkan data hasil penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 9, Tabel 6 dan 7, dapat diketahui perubahan berat badan dan kadar gula darah tikus perlakuan SP. Tikus yang diberi sorbet pisang memiliki tren perubahan berat badan yang cenderung meningkat hingga hari ke-35. Tren perubahan berat badan tikus ke-4 fluktuatif, dimana terjadi peningkatan dan penurunan berat badan hingga hari ke-35. Pada kelompok tikus yang diberi sorbet pisang, diketahui bahwa kadar gula darah tikus cenderung mengalami penurunan hingga hari ke-28 yang merupakan hari terakhir pemberian sorbet pisang. Pada hari ke-35, 7 hari setelah pemberian sorbet pisang dihentikan, kadar gula darah tikus berbeda-beda. Pada hari ke-35, ada beberapa tikus yang mengalami peningkatan gula darah dan ada juga yang mengalami penurunan kadar gula darah.

Dari hasil penelitian, pada hari ke-0 tikus yang diberi sorbet pisang mengalami hiperglikemia karena memiliki kadar gula darah di atas 126mg/dl. Setelah diberi perlakuan, berat badan tikus mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan pisang merupakan sumber zat gizi yang baik yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan berat badan (Departemen Kesehatan RI, 1995). Pisang mengandung serat pangan. Pada penelitian sebelumnya, serat pangan diketahui dapat menghambat aktivitas enzim lipase di pankreas. Hal ini dapat menghambat

penggunaan lemak pada otot sebagai sumber energi, sehingga tubuh tidak kehilangan berat badan (Eleazu, 2015). Serat dari buah *M. paradisiaca* dapat meningkatkan glikogenesis di hati dan menurunkan peningkatan gula darah (Imam & Akter, 2011).

Dari data hasil penelitian yang diperoleh, diketahui bahwa pemberian sorbet pisang dapat menurunkan kadar gula darah. Hal ini juga didukung oleh Imam & Akter (2011) yang menyebutkan bahwa pada buah pisang yang belum matang, ditemukan beberapa flavonoid dan senyawa sejenisnya, seperti *luecocyandin*, *quertin* dan *3-O-glucoside*, dan *3-O-rhamnosyl glucoside*. Buah hijau dari *M. paradisiaca* dilaporkan memiliki efek hipoglikemik yang menyebabkan stimulasi produksi insulin dan penggunaan glukosa. Pisang memiliki kandungan kalsium natrium yang berkolerasi terhadap efek glikemik. Selain itu Kumar *et al.* (2012) menyebutkan bahwa pisang merupakan sumber kalium dan kalsium yang baik. Sebagai sumber kalium dan kalsium yang baik, hal ini mendukung proses sintesis insulin. Kramer *et al.* (1995) dan Walsh (2003) menjelaskan bahwa dalam mekanisme sintesis insulin, diperlukan peran serta kalium dan kalsium dalam transpor aktif.

Dalam proses tranpor aktif, dibutuhkan peran transporter glukosa, yaitu GLUT 2 untuk membawa masuk glukosa ke dalam sel (Walsh, 2003; Kramer *et al.*, 1995). Transporter glukosa tipe 2 (GLUT 2) merupakan protein. Berdasarkan data Uniprot (2017), transporter glukosa tipe 2 pada manusia, memiliki 524 asam amino penyusun. Komposisi asam amino penyusun GLUT 2 pada manusia adalah alanin (Ala) sebanyak 45 (8,6%), arginin (Arg) sebanyak 16 (3,1%), asparagin (Asn) sebanyak 14 (2,7%), asam aspartat (Asp) sebanyak 12 (2,3%), sistein (Cys) sebanyak 6 (1,1%), glutamin (Gln) sebanyak 17 (3,2%), asam glutamat (Glu) sebanyak 24 (4,6%), glisin (Gly) sebanyak 44 (8,4%), histidin (His) sebanyak 7 (1,3%), isoleusin (Ile) sebanyak 46 (8,8%), leusin (Leu) sebanyak 56 (10,7%), lisin (Lys) sebanyak 22 (4,2%), metionin (Met) sebanyak 17 (3,2%), fenilalanin (Phe) sebanyak 42 (8,0%), prolin (Pro) sebanyak 21 (4,0%), serin (Ser) sebanyak

43 (8,2%), treonin (Thr) sebanyak 27 (5,2%), triptofan (Trp) sebanyak 7 (1,3%), tirosin (Tyr) sebanyak 17 (3,2%), dan valin (Val) sebanyak 41 (7,8%).

Ketika semua kondisi terpenuhi, insulin akan disekresi oleh sel beta pankreas sebagai pre-proinsulin yang memiliki komposisi 110 asam amino penyusun. 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 (Walsh, 2003; Kramer *et al.*, 1995). Berdasarkan data Uniprot (2017), rantai A polipeptida insulin terdiri dari 21 asam amino dengan komposisi asam amino seperti asparagin (Asn) sebanyak 2 (9,5%), sistein (Cys) sebanyak 4 (19%), glutamin (Gln) sebanyak 2 (9,5%), asam glutamat (Glu) sebanyak 2 (9,5%), glisin (Gly) sebanyak 1 (4,8%), isoleusin (Ile) sebanyak 2 (9,5%), leusin (Leu) sebanyak 2 (9,5%), serin (Ser) sebanyak 2 (9,5%), treonin (Thr) sebanyak 1 (4,8%), tirosin (Tyr) sebanyak 2 (9,5%), dan valin (Val) sebanyak 1 (4,8%). Rantai B polipeptida insulin terdiri dari 30 asam amino dengan komposisi asam amino seperti alanin (Ala) sebanyak 1 (3,3%), arginin (Arg) sebanyak 1 (3,3%), asparagin (Asn) sebanyak 1 (3,3%), sistein (Cys) sebanyak 2 (6,7%), glutamin (Gln) sebanyak 1 (3,3%), asam glutamat (Glu) sebanyak 2 (6,7%), glisin (Gly) sebanyak 3 (10%), histidin (His) sebanyak 2 (6,7%), leusin (Leu) sebanyak 4 (13,3%), lisin (Lys) sebanyak 1 (3,3%), fenilalanin (Phe) sebanyak 3 (10%), prolin (Pro) sebanyak 1 (3,3%), serin (Ser) sebanyak 1 (3,3%), treonin (Thr) sebanyak 2 (6,7%), tirosin (Tyr) sebanyak 2 (6,7%), dan valin (Val) sebanyak 3 (10%).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Riskiyanti *et al.* (2016) dan Floyd *et al.* (1966), diketahui terdapat beberapa jenis asam amino yang mampu meningkatkan stimulasi sekresi insulin. Pelepasan insulin di dalam tubuh dapat dipicu oleh beberapa jenis asam amino seperti arginin, alanin, fenilalanin,

isoleusin, leusin. Berdasarkan data Departemen Kesehatan RI (1995), setiap 100 gram bahan yang bisa dikonsumsi dari pisang jenis pisang ambon terdapat asam amino arginin sebanyak 24 mg, alanin sebanyak 65 mg, fenilalanin sebanyak 55 mg, isoleusin sebanyak 51 mg dan leusin sebanyak 89 mg. Kandungan asam amino dalam buah pisang dapat berpengaruh dalam penurunan kadar gula darah tikus. Selain asam amino tersebut, asam amino lainnya yang terkandung dalam buah pisang memiliki kemungkinan ikut berkontribusi dalam pembentukan GLUT 2 ataupun insulin, meskipun tidak terlalu signifikan.

Berdasarkan data hasil penelitian juga dapat dilihat pada Gambar 9, Tabel 6 dan 7, tikus ke-2 tidak memiliki data berat badan dan kadar gula darah pada hari ke-35. Tikus ke-2 tidak memiliki data berat badan dan kadar gula darah tidak diperoleh, dikarenakan tikus ke-2 mati sebelum pengukuran hari ke-35. Dilihat dari perubahan berat badan dan kadar gula darahnya, tikus ke-2 mengalami peningkatan berat badan dan penurunan kadar gula darah. Kematian tikus ke-2 dapat disebabkan luka yang timbul selama perlakuan sonde diberikan. Hal ini menjadi penyebab kematian tikus ke-2.

Berdasarkan data hasil penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 10, Tabel 8 dan 9, dapat diketahui perubahan berat badan dan kadar gula darah tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan 25 mg/kg BB isolat protein daun yakon. Semua tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan 25 mg/kg BB isolat protein daun yakon memiliki tren peningkatan berat badan hingga hari ke-35. Tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan 25 mg/kg BB isolat protein daun yakon memiliki tren penurunan kadar gula darah. Pada hari ke-7 terjadi penurunan kadar gula darah yang signifikan pada tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan isolat protein daun yakon sebanyak 25 mg/kg BB, selanjutnya kadar gula darah tikus masih mengalami perubahan yang stabil pada tingkat kadar gula darah yang normal.

Dari hasil penelitian, pada hari ke-0 (sebelum diberi perlakuan) tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan 25 mg/kg BB isolat protein daun yakon

mengalami hiperglikemia karena memiliki kadar gula darah diatas 126mg/dl. Setelah diberi perlakuan, berat badan tikus mengalami peningkatan, sedangkan kadar gula darah tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan 25 mg/kg BB isolat protein daun yakon mengalami penurunan. Berbeda pada perlakuan SP yang hanya diberi sorbet pisang saja, pada perlakuan SP+IP25Y terdapat tambahan isolat protein daun yakon sebanyak 25 mg/kg BB pada formulasi sorbet. Selain mendapatkan manfaat dari buah pisang, tikus juga mendapatkan manfaat dari isolat protein yang ditambahkan dalam sorbet pisang. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa sorbet pisang yang ditambah dengan isolat protein daun yakon mampu menurunkan kadar gula darah tikus yang mengalami hiperglikemia. Kandungan asam amino yang terkandung dalam sorbet pisang memiliki kemungkinan ikut berkontribusi dalam pembentukan GLUT 2 ataupun insulin. Kandungan protein 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). Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui terdapat beberapa jenis asam amino yang mampu meningkatkan stimulasi sekresi insulin. Pelepasan insulin di dalam tubuh dapat dipicu oleh beberapa jenis asam amino seperti arginin, alanin, fenilalanin, isoleusin, leusin (Riskiyanti *et al.*, 2016; Newsholme *et al.*, 2007; Floyd *et al.*, 1966).

Berdasarkan data hasil penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 11, Tabel 10 dan 11, dapat diketahui perubahan berat badan dan kadar gula darah tikus perlakuan SP+IP50Y mengalami penurunan. Secara umum, tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan isolat protein daun yakon sebanyak 50 mg/kg BB memiliki tren peningkatan berat badan hingga hari ke-35. Tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan isolat protein daun yakon sebanyak 50 mg/kg BB memiliki tren penurunan kadar gula darah.

Dari hasil penelitian, diketahui bahwa pada hari ke-0, tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan isolat protein daun yakon sebanyak 50 mg/kg BB mengalami hiperglikemia karena memiliki kadar gula darah diatas 126mg/dl.

Setelah diberi perlakuan, berat badan tikus mengalami peningkatan, sedangkan kadar gula darah tikus yang diberi sorbet pisang dengan penambahan isolat protein daun yakon sebanyak 50 mg/kg BB mengalami penurunan. Perbedaan perlakuan SP+IP25Y dengan SP+IP50Y adalah jumlah penambahan isolat protein yang lebih banyak pada perlakuan SP+IP50Y.

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa sorbet pisang yang ditambah dengan isolat protein daun yakon mampu menurunkan kadar gula darah tikus yang mengalami hiperglikemia. Hal ini didukung Lachman *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa kandungan protein dalam daun yakon dapat dikaitkan dengan pemicu pengeluaran insulin oleh sel beta pankreas. Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui terdapat beberapa jenis asam amino yang mampu meningkatkan stimulasi sekresi insulin. Pelepasan insulin di dalam tubuh dapat dipicu oleh beberapa jenis asam amino seperti arginin, alanin, fenilalanin, isoleusin, leusin (Riskiyanti *et al.*, 2016; Newsholme *et al.*, 2007; Floyd *et al.*, 1966).

Pada perlakuan SP+IP50Y, tikus ke-5 tidak memiliki data berat badan dan kadar gula darah setelah hari ke-21. Tikus ke-5 mati sebelum hari ke-28. Dilihat dari perubahan berat badan dan kadar gula darahnya, tikus ke-5 mengalami peningkatan berat badan dan penurunan kadar gula darah. Kematian tikus ke-5 dapat disebabkan luka yang timbul selama perlakuan sonde diberikan.

Pada penelitian ini dilakukan 4 perlakuan berbeda pada tikus uji, yaitu pakan standar, SP, SP+IP25Y, dan SP+IP50Y. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, tren perubahan berat badan dari keempat perlakuan secara umum adalah sama, yaitu mengalami peningkatan berat badan. Berdasarkan tren perubahan kadar gula darahnya, penurunan kadar gula darah terjadi pada perlakuan SP, SP+IP25Y, dan SP+IP50Y. Tikus yang mengalami kesembuhan, ditandai dengan bertambahnya berat badan dan menurunnya kadar gula darah. Dari ketiga perlakuan itu, kadar gula darah tikus perlakuan SP+IP25Y adalah yang perubahannya paling signifikan dan terjaga pada level yang normal hingga

level prediabetes. Bila dibandingkan, hasil antara perlakuan SP+IP25Y dan SP+IP50Y, perlakuan SP+IP25Y lebih efektif dibandingkan SP+IP50Y. Kadar gula darah tikus SP+IP25Y tidak melebihi 126 mg/dl pada akhir masa uji. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan isolat protein daun yakon sebanyak 25 mg/kg BB ke dalam sorbet pisang, telah mampu meningkatkan berat badan dan menurunkan kadar gula darah tikus ke level yang normal.

