

# LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING

POTENSI EKSTRAK, HIDROLISAT DAN ISOLAT PROTEIN TERIPANG  
PASIR (*Holothuria scabra* J.) UNTUK MENURUNKAN KADAR GLUKOSA  
DARAH DAN MEMPERBAIKI PROFIL SEL BETA PANKREAS TIKUS  
DIABETES MELLITUS



OLEH:

**RAHMAN KARNILA, S.Pi, M.Si (KETUA)**  
**PROF. DR. IR. MADE ASTAWAN, MS (ANGGOTA)**  
**PROF. Drh. TUTIK WRESDIYATI, Ph.D (ANGGOTA)**

**UNIVERSITAS RIAU**  
**PEKANBARU**  
**DESEMBER, 2011**

**HALAMAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR**

1. Judul : Potensi Ekstrak, Hidrolisat dan Isolat Protein Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J.) untuk Menurunkan Kadar Glukosa Darah dan Memperbaiki Profil Sel Beta Pankreas Tikus Diabetes Mellitus
2. Ketua Peneliti :
  - a. Nama Lengkap : Rahman Karnila, S.Pi, M.Si
  - b. Jenis Kelamin : Laki-Laki
  - c. NIP/Golongan : 19691030 199702 1 001/IVa
  - d. Jabatan Struktural : Dosen Tetap Jurusan THP Faperika-Universitas Riau
  - e. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
  - f. Fakultas/Jurusan : Perikanan dan Ilmu Kelautan/Teknologi Hasil Perikanan
  - g. Perguruan Tinggi : Universitas Riau
  - h. Alamat Kantor : Kampus Bina Widya Km. 12,5 Simpang Baru Panam (28293)
  - i. Telepon/Faks : (0761) 63274/(0761)[63275](tel:076163275)
  - j. Tim Peneliti : 1. Prof.Dr.Ir.Made Astawan, MS  
2. Prof.Drh.Tutik Wresdiyati, Ph.D
3. Jangka Waktu Penelitian : 2 (dua) Tahun
4. Pembiayaan
  - a. Jumlah biaya yang diajukan ke Dikti : Rp. 99.837.500,-
  - b. Jumlah biaya yang disetujui tahun ke- 1 : Rp. 44.500.000,-

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Unri

Pekanbaru, 26 Desember 2011  
Ketua Peneliti,

Prof.Dr.Ir. H. Bustari Hasan, M.Sc  
Nip. 19591024 198603 1 004

Rahman Karnila, S.Pi,M.Si  
Nip. 19691030 199702 1 001

Menyetujui,  
Ketua Lembaga Penelitian

Prof.Dr.Ir.H.Usman Tang, MS  
Nip. 19640501 198903 1 001

## RINGKASAN

Teripang pasir (*Holothuria scabra* J) merupakan salah satu komoditas perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi karena dapat dimanfaatkan sebagai biofarmaka dan sebagai makanan kesehatan, serta sebagai bahan baku berbagai industri. Hasil penelitian menunjukkan teripang memiliki kandungan protein tinggi yaitu 55-65% (kondisi kering) dan asam amino yang lengkap. Diduga kandungan protein dengan asam amino yang lengkap ini dapat dimanfaatkan untuk membantu mencegah penyakit diabetes mellitus (DM) terutama sebagai penstimulasi sekresi insulin oleh sel beta pankreas sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah penderita DM.

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mendapatkan jenis asam amino pada protein teripang yang berperan sebagai stimulator sekresi insulin oleh sel beta pankreas tikus model dan DM. Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk: (1) Mengetahui komposisi kimia daging teripang, (2) Mendapatkan ekstrak, hidrolisat, dan isolat protein teripang serta kandungan kimianya meliputi protein, kadar asam amino bebas, jenis asam amino total dan bebas penyusun protein teripang, dan (3) Menentukan dosis ekstrak, hidrolisat dan isolat yang bersifat hipoglikemik pada tikus dalam keadaan hiperglikemik sesaat. Penelitian ini dilakukan selama 2 (dua) tahun dengan 5 (lima) tahap yaitu: (1) Persiapan dan analisis kimia (proksimat) daging teripang, (2) Pembuatan dan analisis asam amino penyusun protein pada ekstrak, hidrolisat dan isolat, dan (3) Uji efek hipoglikemik ekstrak, hidrolisat dan isolat pada tikus coba.

Hasil penelitian menunjukkan proporsi antara bagian tubuh daging: jeroan dan gonad: kulit: air dan kotoran adalah 4:3:2:1 (b/b). Proksimat kandungan nutrisi daging teripang adalah protein (9,94%bb), kadar lemak (0,54%bb), kadar abu (1,86%bb), kadar air (87,03%), dan karbohidrat (0,64% *by different*). Sedangkan proksimat tepung daging teripang adalah protein (61,31%), kadar lemak (3,68%), kadar abu (12,52%), kadar air (9,13%), dan karbohidrat (0,64% *by different*) dengan rendemen sebesar 10,16%. Proses ekstraksi untuk mendapatkan konsentrat protein diperoleh dengan rendemen sebesar 9,87%, pembuatan hidrolisat dengan rendemen 48,33-53,67%, sedangkan isolat dengan rendemen rata-rata 8,32%. Kandungan asam amino total pada konsentrat, hidrolisat dan isolat didominasi oleh asam amino prolin dan asam glutamat, yaitu 5,17 dan 3,23% untuk konsentrat, 7,45 dan 6,03% untuk hidrolisat, serta 6,33 dan 5,80 untuk isolat protein daging teripang. Hasil uji daya hambat enzim  $\alpha$ -glukosidase menunjukkan hidrolisat protein teripang mempunyai aktivitas daya hambat tertinggi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase yaitu 86,25% pada konsentrasi 500 ppm, 74,14% (300 ppm), dan 71,74% (100 ppm). Isolat protein teripang 73,24% pada konsentrasi 500 ppm, 66,52% (300 ppm), dan 58,15% (100 ppm). Sedangkan konsentrat protein teripang 59,19% pada konsentrasi 500 ppm, 52,02% (300 ppm) dan 46,34% (100 ppm). Hasil uji aktifitas hipoglikemik memperlihatkan hidrolisat protein daging teripang dengan dosis 300 mg/kg bb, sudah memperlihatkan daya hipoglikemiknya pada menit ke-30 dengan kadar gula darah 98,2 mg/dl. Untuk isolat baru memperlihatkan daya hipoglikemiknya pada menit ke-90 dengan kadar glukosa darah tikus 95,2 mg/dl. Sedangkan konsentrat dengan dosis 300 mg/kg bb, memperlihatkan daya hipoglikemiknya pada menit ke-90 dengan kadar glukosa darah tikus 89,3 mg/dl. Oleh karena itu dosis 300 mg/kg bb baik untuk hidrolisat, isolat dan konsentrat merupakan perlakuan terbaik pada uji hipoglikemik.

## PRAKATA

Teripang adalah hewan tidak bertulang belakang dengan tubuh berbentuk silinder memanjang dengan garis oral dan aboral sebagai sumbu yang menghubungkan bagian anterior dan posterior. Bentuk tersebut menyerupai mentimun sehingga teripang dikenal dengan nama mentimun laut (*sea cucumber*). Terdapat tiga genus teripang yang ditemukan di Indonesia yaitu genus *Holothuria*, *Muelleria* dan *Sticopus*. Spesies yang ditemukan adalah 23 spesies dan baru lima spesies (dari genus *Holothuria*) yang sudah dieksploitasi dan dimanfaatkan serta mempunyai nilai ekonomis penting.

Pemanfaatan dan penelitian tentang penggunaan teripang dimulai sejak lama. Etnis Cina mengenal teripang sebagai makanan berkhasiat medis sejak dinasti Ming. Tubuh dan kulit teripang mengandung asam mukopolisakarida yang bermanfaat untuk penyembuhan penyakit ginjal, anemia, diabetes, paru-paru basah, anti tumor, anti inflamasi, pencegahan penuaan jaringan tubuh dan mencegah arteriosklerosis. Bahan bioaktif dalam teripang juga dikenal sebagai antioksidan yang membantu mengurangi kerusakan sel dan jaringan tubuh. Kandungan antibakteri dan antifungi teripang dapat meningkatkan kemampuannya untuk tujuan perawatan kulit, serta diduga dapat pula mencegah penyakit diabetes.

Diabetes Mellitus merupakan kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya atau sebagai penyakit kronis yang terjadi akibat ketidakmampuan pankreas untuk memproduksi insulin yang cukup, atau tubuh tidak mampu menggunakan insulin yang diproduksinya dengan efektif.

Dari berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak teripang mengandung protein sekitar 55-65% dengan 18 jenis asam amino termasuk 9 macam asam amino essensial. Diduga tingginya kandungan protein dan asam amino ini dapat menstimulasi sekresi insulin oleh sel beta pankreas.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Perguruan Tinggi (DP2M) yang telah membantu membiayai penelitian ini melalui bantuan penelitian Hibah Bersaing Tahun. Semoga laporan kemajuan penelitian ini ada manfaatnya bagi para pembaca, atas segala perhatian, masukan dan saran yang diberikan kepada penulis diucapkan terima kasih.

Bogor, Desember 2011

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	2
1.3. Manfaat Penelitian.....	2
<b>II. METODE PENELITIAN</b> .....	3
2.1. Alat yang digunakan .....	3
2.2. Bahan yang digunakan .....	3
2.3. Metodologi Penelitian .....	3
a. Waktu dan tempat penelitian.....	3
b. Rancangan penelitian dan analisis data .....	3
c. Pelaksanaan penelitian .....	4
<b>III. HASIL PENELITIAN</b> .....	10
3.1. Persipan dan analisis komposisi kimia (proksimat) daging teripang pasir .....	10
3.2. Pembuatan dan Analisis Asam Amino Total dan Bebas Hidrolisat, Isolat, dan Konsentrat Daging Teripang serta Uji Aktifitas Daya Hambatnya terhadap Enzim $\alpha$ -Glukosidase .....	13
3.3. Uji efek hipoglikemik hidrolisat, isolat, dan konsentrat pada tikus coba .....	19
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	21

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
1. Persentase bagian tubuh teripang pasir ( <i>Holothuria scabra</i> J).....	12
2. Hasil analisis kimia (proksimat) daging teripang pasir.....	13
3. Rendemen pembuatan tepung daging teripang.....	14
4. Hasil pengukuran komposisi kimia (proksimat) tepung daging teripang pasir .....	14
5. Rendemen pembuatan hidrolisat protein teripang .....	15
6. Rendemen pembuatan isolat protein teripang .....	16
7. Rendemen pembuatan konsentrat protein teripang.....	17
8. Profil asam amino total hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang pasir .....	18
9. Persentase inhibisi hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang pasir terhadap aktivitas enzim alfa glukosidase.....	18
10. Rekapitulasi hasil pengujian efek hipoglikemik hidrolisat, isolat, dan konsentrat.....	19

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
1. Bahan baku teripang pasir ( <i>Holothuria scabra</i> J).....	10
2. Bagian tubuh teripang pasir ( <i>Holothuria scabra</i> J) .....	11
3. Tahapan pembuatan tepung teripang .....	13
4. Tahapan pembuatan hidrolisat protein teripang .....	15
5. Tahapan pembuatan isolat protein teripang.....	16
6. Tahapan pembuatan konsentrat protein teripang.....	17
7. Tahapan pengujian efek hipoglikemik hidrolisat, isolat, dan konsentrat...	19
8. Hasil uji efek hipoglikemik hidrolisat, isolat, dan konsentrat pada tikus coba .....	20

# BAB I. PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara di dunia yang memiliki sumberdaya hayati yang sangat kaya dan beragam, baik untuk wilayah darat maupun laut, sehingga dikenal sebagai negara *mega biodiversity*. Salah satu kekayaan tersebut adalah hasil laut seperti teripang yang dapat dimanfaatkan sebagai biofarmaka dan sebagai makanan kesehatan, serta sebagai bahan baku berbagai industri. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan proteinnya yang tinggi yaitu 55-65% pada kondisi kering, serta tersusun atas beberapa asam amino spesifik.

Hasil penelitian telah menunjukkan bahwa beberapa asam amino seperti leusin, arginin, alanin, fenilalanin, lisin, isoleusin, dan metionin dalam bentuk bebas dapat meningkatkan stimulasi sekresi insulin oleh sel beta pankreas sehingga dapat menurunkan glukosa darah atau bersifat hipoglikemik. Kondisi ini sangat bermanfaat bagi penderita penyakit Diabetes Mellitus (DM) yang prevalensinya di Indonesia terus meningkat secara nyata yaitu sebesar 8.6% dari total penduduk per tahun (Departemen Kesehatan RI 2005).

Hal ini menyebabkan teripang sangat berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional tanpa menimbulkan efek samping yang berbahaya untuk menyembuhkan penyakit DM, terutama tipe 2. Namun jenis asam amino penyusun protein teripang tersebut belum diketahui. Keberadaan asam amino tersebut masih saling berikatan satu dengan yang lainnya membentuk komponen protein, sehingga tidak mudah untuk dimanfaatkan oleh sel beta pankreas dalam menstimulasi sekresi insulin untuk menurunkan glukosa darah. Sejauh ini jenis asam amino penyusun protein teripang dan bagaimana perannya dalam kondisi bebas terhadap penurunan glukosa darah melalui peningkatan stimulasi sekresi insulin oleh sel beta pankreas belum diketahui secara pasti.

Oleh karena itu penelitian ini dimaksudkan untuk mengungkap jenis asam amino penyusun protein teripang terutama dalam bentuk ekstrak, hidrolisat dan isolatnya, serta kemampuannya dalam menurunkan glukosa darah dengan meningkatkan sekresi insulin oleh sel beta pankreas.



## **1.2. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mendapatkan kadar asam amino bebas dan jenis asam amino total dan bebas penyusun protein teripang yang berperan menurunkan glukosa darah dengan menstimulasi sekresi insulin oleh sel beta pankreas tikus normal dan DM. Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui komposisi kimia daging teripang
2. Mendapatkan hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang serta kandungan kimianya meliputi protein, kadar asam amino bebas, dan jenis asam amino total dan bebas penyusun protein teripang serta kemampuan daya hambatnya terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase
3. Menentukan dosis hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang yang bersifat hipoglikemik pada tikus coba dalam keadaan hiperglikemik sesaat

## **1.3. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan harapan dapat memberikan beberapa manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang jenis asam amino spesifik penyusun protein teripang yang dapat meningkatkan kemampuan stimulasi sekresi insulin oleh sel beta pankreas
2. Memberikan informasi ilmiah bahwa teripang yang mengandung asam amino bebas spesifik dapat digunakan sebagai makanan fungsional yang murah dan mudah dikonsumsi, khususnya bagi penderita DM tipe 2
3. Memberikan peluang pengembangan produk pangan bagi industri dengan memanfaatkan asam amino penyusun protein teripang sebagai komponen fungsionalnya untuk mencegah dan mengatasi DM tipe
4. Memberikan nilai ekonomis untuk pengembangan teripang dan berbagai produknya.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Teripang

Teripang adalah hewan tidak bertulang belakang dengan tubuh berbentuk silinder memanjang dengan garis oral dan aboral sebagai sumbu yang menghubungkan bagian anterior dan posterior. Mulut dan anus terletak di ujung poros berlawanan, yaitu mulut di anterior dan anus di posterior, di sekitar mulut teripang terdapat tentakel yang dapat dijulurkan dan ditarik dengan cepat (Fechter 1969; Gosner 1971; Wibowo *et al.* 1997). Teripang termasuk salah satu hewan berkulit duri atau *Echinodermata* (Firth 1974). Spesies teripang pasir mempunyai ukuran 25-35 cm. Pada saat hidup bobotnya dapat mencapai 500 g (Wibowo *et al.* 1997).

Klasifikasi teripang pasir menurut Wibowo *et al.* (1997) dan Martoyo *et al.* (2004) adalah: Filum *Echinodermata*, Sub-filum *Echinozoa*, Kelas *Holothuroidea*, Sub-kelas *Aspidochirota*, Ordo *Aspidochirota* dan *Dendrochirota*, Famili *Aspidochirotae* dan *Holothuridae*, Genus *Holothuria*, *Stichopus*, *Thelonota*, *Actinopyga*, *Muelleria*, dan Spesies *Holothuria scabra* J.

Jumlah spesies teripang di dunia sekitar 2000 spesies dengan daerah penyebaran teripang sangat luas. Warna teripang berbeda-beda, yaitu putih, hitam, coklat kehijauan, kuning, abu-abu, jingga, ungu, bahkan ada yang berpola garis. Terdapat 23 spesies teripang yang ditemukan di Indonesia dan baru lima spesies (dari genus *Holothuria*) yang sudah dieksploitasi dan dimanfaatkan serta mempunyai nilai ekonomis penting, yaitu teripang hitam (*Holothuria edulis*), teripang getah atau keling (*Holothuria vacabunda*), teripang merah (*Holothuria vatiensis*), teripang coklat (*Holothuria mamiorata*), dan teripang pasir (*Holothuria scabra*).

Potensi teripang dari perikanan tangkap di Indonesia cukup besar, yaitu 184.000 ton pada tahun 2004. Sedangkan produksi teripang di Indonesia cenderung meningkat dengan rata-rata peningkatan sebesar 5,06% per tahun (DKP 2005). Saat ini perdagangan teripang telah meluas, terutama Hongkong dan Singapura, yang merupakan dua negara pusat perdagangan ekspor teripang dunia. Teripang kering telah diolah dan diperdagangkan di USA, Kanada, Eropa,

Taiwan, Republik Korea, Cina, Australia, Malaysia, Thailand dan beberapa negara lain (Baine & Forbes 2004).

Zat gizi yang terkandung dalam teripang antara lain protein 6,16%, lemak 0,54%, karbohidrat 6,41% dan kalsium 0,01% (kondisi segar kadar air 86,73%), teripang kering mempunyai kadar protein tinggi yaitu 44-55% dengan kandungan asam amino yang lengkap, dan asam lemak tidak jenuh (EPA dan DHA) yang penting untuk kesehatan jantung. Selain itu teripang juga mengandung fosfor, besi, iodium, natrium, vitamin A dan B (thiamin, riboflavin dan niacin), kolagen, vitamin E, zat-zat mineral seperti khromium, ferum, kadmium, mangan, nikel, kobalt dan seng (Wibowo *et al.* 1997).

Pemanfaatan dan penelitian teripang dimulai oleh etnis Cina sejak dinasti Ming sebagai makanan berkhasiat medis disebabkan tubuh dan kulit teripang mengandung asam mukopolisakarida yang bermanfaat untuk penyembuhan penyakit ginjal, anemia, diabetes, paru-paru basah, anti tumor, anti inflamasi, pencegahan penuaan jaringan tubuh dan mencegah arteriosklerosis (Wibowo *et al.* 1997).

Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak teripang mengandung senyawa steroid yang mempunyai aktivitas biologis sebagai aprodisiaka disebabkan tingginya konsentrasi kolesterol dan testosteron dalam serum darah anak ayam jantan (Kustiariyah 2006; Arisandi 2007). Selanjutnya Nurjanah (2008) menunjukkan bahwa teripang pasir (*Holothuria scabra*) mengandung tiga senyawa steroid yang dominan yaitu 12 $\beta$ -hidroxy-20,24-dimethyl-12,18-oxa-25-norscalarane, 12,oleanene-3,16,21,22,28-pentol dan 24-O-(2,4-Di-O-methyl-D-xylopyranosyl)-(12)-D-xylofuranoside).

Dewasa ini hasil penelitian teripang masih terbatas pada teknik budidaya, daerah penyebaran, ekologi dan teknologi pengolahan (Purwati 2005), aktivitas antibakteri *Cucumaria frondosa* (Kaswandi *et al.* 2000), aktivitas antijamur *Holothuria tubulosa* (Lian *et al.* 2000), efek ekstrak ethanol *Stichopus variegatus* Semper (Jamiah *et al.* 2000), efek ekstrak methanol *Holothuria atra* dan *Stichopus variegatus* (Ping *et al.* 2000), aktivitas serum amyloid A *Holothuria glaberrina*, struktur glikosida *Stichopus osteoclastogenesis* (Tan *et al.* 2000). Sedangkan penelitian mengenai pemanfaatan bahan aktif teripang yang diyakini

dapat memperbaiki sel beta pankreas dan peningkatan hormon insulin belum pernah dilakukan.

## 2.2. Diabetes Mellitus

*American Diabetes Association* (ADA) (2004) mendefinisikan diabetes mellitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Sedangkan WHO (2006) menyatakan diabetes mellitus sebagai penyakit kronis yang terjadi akibat ketidakmampuan pankreas untuk memproduksi insulin yang cukup, atau tubuh tidak mampu menggunakan insulin yang diproduksinya dengan efektif. Selanjutnya menurut NDIC (2005) diabetes mellitus adalah kelainan metabolisme atau cara tubuh mencerna makanan menjadi energi.

*American Diabetes Association* menggunakan tiga standar untuk menentukan diagnosa terjadinya diabetes melitus, (1) konsentrasi glukosa plasma kausal lebih dari atau sama dengan 200 mg/dL atau 11,1 mmol/L, (2) glukosa plasma puasa lebih dari atau sama dengan 126 mg/dl atau 7 mmol/L, puasa dilakukan selama 8 jam, (3) glukosa darah lebih dari atau sama dengan 200 mg/dL atau 11,1 mmol/L (Rimbawan & Siagian 2004; Rubin 2004).

Badan kesehatan dunia (WHO), melalui laporan kedua *Expert Committee on Diabetes Mellitus* mengelompokkan diabetes menjadi dua kelompok utama yaitu *Insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM atau tipe 1) dan *Non-insulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM atau tipe 2) (WHO 1980). Sedangkan ADA (2004) mengelompokkan diabetes mellitus menjadi empat tipe, yaitu diabetes tipe 1, diabetes mellitus tipe 2, diabetes mellitus jenis lain, dan diabetes mellitus saat hamil.

Diabetes tipe 1 adalah penyakit diabetes yang sangat tergantung pada insulin, disebabkan akibat kerusakan sel beta pankreas yang menjurus ke defisiensi insulin absolut. Diabetes tipe 1 ini merupakan penyakit autoimun yang dipengaruhi faktor genetik. (Carolyn 2001; Dalimartha 2004; Jacquie *et al.* 2004). Diabetes tipe 2 ditandai oleh resistensi insulin pada jaringan perifer dan gangguan sekresi insulin dari sel beta pankreas. Diabetes tipe 2 merupakan akibat lemahnya kemampuan pankreas guna mensekresikan insulin yang dikombinasikan dengan lemahnya aksi insulin, sehingga menyebabkan menurunnya sensitivitas insulin

yang terjadi pada pintu masuk di permukaan sel tubuh yang dinamakan reseptor insulin (Carolyn 2001; Jacquie *et al.* 2004; Hartono 2006; Takada 2008). Sedangkan *Gestational diabetes melitus* didefinisikan sebagai *glucose intolerance* yang pertama kali diketahui terjadi selama kehamilan. Diabetes tipe ini merupakan klasifikasi operasional dan bukan klasifikasi berdasarkan kondisi fisiologis (Godwin *et al.* 1999).

### **2. 3. Hiperglikemia**

Kadar gula darah merupakan refleksi dari keadaan nutrisi, emosi dan fungsi endokrin. Suatu keadaan ketika kadar glukosa darah sangat tinggi melebihi kadar normal disebut hiperglikemia. Hiperglikemia biasanya terjadi apabila sel beta dalam pulau Langerhans tidak dapat menghasilkan insulin atau mengalami defisiensi insulin. Defisiensi insulin akan menyebabkan gangguan proses biokimia dalam tubuh, yaitu penurunan pemasukan glukosa ke dalam sel dan peningkatan pelepasan glukosa dari hati ke dalam sirkulasi. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya hiperglikemia (Dominiczak, 2005). Hiperglikemia dapat dilihat dari tingginya kadar glukosa darah pada saat puasa (Litwak *et al.* 1998; Farr *et al.* 1999).

### **2.4. Pankreas dan Kerusakan Jaringan**

Pankreas merupakan kelenjar majemuk, terdiri dari kelenjar eksokrin dan kelenjar endokrin. Pankreas terletak di belakang lambung dan membujur dari limfa sampai ke lekukan pertama duodenum. Lobulus pada pankreas terbentuk dari kumpulan sel-sel yang mengandung granula-granula zimogen. Sel-sel ini yang mensekresikan enzim-enzim yang membantu pencernaan makanan (Hartono 1992).

Pankreas memiliki dua fungsi yaitu fungsi endokrin dan fungsi eksokrin. Fungsi endokrin pankreas adalah menghasilkan hormon. Paling sedikit terdapat empat peptida yang mempunyai aktivitas hormonal yang disekresi oleh pulau Langerhans pankreas (insulin, glukagon, somatostatin dan *pancreatic polypeptide*). Pulau Langerhans merupakan kumpulan sel ovoid berukuran 76 x 0,2  $\mu\text{m}$  yang tersebar di seluruh pankreas dan berbentuk seperti pulau. Fungsi

eksokrin pankreas adalah mensekresi cairan yang mengandung enzim-enzim pencernaan dan elektrolit ke dalam lumens usus.

Pada keadaan hiperglikemia kronis, glukosa mengalami beberapa jalur metabolisme seperti fosforilasi oksidatif, autooksidasi glukosa, metabolisme, heksosamin, metabolisme sorbitol, dan pembentukan alfa ketoaldehid. Semua jalur metabolisme ini dapat menghasilkan ROS yang mengakibatkan stres oksidatif dan menyebabkan kapasitas enzim intraseluler pankreas menurun. Kondisi ini menyebabkan ROS bereaksi dengan komponen penyusun membran sel beta menimbulkan penyakit diabetes mellitus yang dikarakterisasi dengan kondisi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia kronis dan jalur biokimia metabolisme glukosa sampai menghasilkan ROS dan menyebabkan disfungsi sel beta (Robertson *et al.* 2003).

Secara histopatologi, kerusakan sel beta pada tikus DM yang diinduksi dengan aloksan memperlihatkan bentuk, ukuran, serta masa di dalam pulau Langerhans berkurang, sel beta mengalami nekrosis, sel beta mengalami atropi, dan deposisi amiloid ekstrasel (Boudreau *et al.* 2006 & Hayden *et al.* 2007).

Kerusakan jaringan akibat radikal bebas dapat diketahui secara langsung dengan mengukur kadar radikal bebas atau secara tidak langsung dengan mengukur produk yang dihasilkan dari kerusakan sel. Pengukuran kadar radikal bebas relatif lebih sulit karena sifat radikal bebas yang berumur sangat singkat, dan sangat reaktif (Kohen & Nyska 2002), namun demikian penanda kerusakan jaringan secara tidak langsung akibat radikal bebas dapat diukur misalnya peroksidasi lipid (MDA), isoprostan, dan 8-hidroksi-2'-deoksiguanosin. Pengujian kadar peroksidasi lipid digunakan sebagai indikator stres oksidatif sel dan jaringan. Peroksidasi asam lemak tidak jenuh ganda akan mengurai, menghasilkan malonaldehid (MDA) dan 4-hidroksialkenal (Tug *et al.* 2005).

## **2.5. Antioksidan dalam Sistem Pertahanan Tubuh**

Tubuh memiliki mekanisme sistem pertahanan alami berupa enzim antioksidan endogen yang berfungsi menetralkan ROS untuk mencegah radikal bebas yang merusak komponen makromolekul sel (Valko *et al.* 2007). Antioksidan menurut Halliwell (2006), adalah suatu molekul yang kehadirannya dalam jumlah sedikit mampu bereaksi dan mencegah kerusakan komponen sel

yang diakibatkan oleh radikal bebas. Secara garis besar, antioksidan dapat dibedakan atas dua golongan, yaitu antioksidan endogen atau dikenal dengan enzim antioksidan intraseluler, yang terdapat di dalam sel dan antioksidan eksogen, yang berasal dari luar tubuh yang diperoleh dari asupan bahan makanan dan berbagai bahan alami.

Berdasarkan sifat-sifat dan mekanisme kerjanya, antioksidan dikalsifikasikan menjadi tiga kelompok besar (Asikin 2001; Soewoto 2001; Valko *et al.* 2007) yaitu: 1) Antioksidan Primer (antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis) seperti SOD, Katalase dan Glutation Peroksidase. Enzim-enzim antioksidan ini terdapat di dalam sel sebagai *Free Radical Scavenger*; 2) Antioksidan Sekunder (antioksidan eksogen atau nonenzimatis) seperti vitamin E, vitamin C, beta karoten, isoflavon, asam urat, billirubin, albumin, transferin, dan caeruplasmin. Berfungsi sebagai pemutusan rantai propagasi dari radikal bebas (*free radical chain breaking*); dan 3) Antioksidan Tersier, misalnya enzim DNA-repair, metionin sulfoksida reduktase, yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang rusak akibat radikal bebas.

Superoksida dismutase (SOD) adalah suatu enzim yang sangat penting berfungsi sebagai antioksidan intraseluler atau endogen. Pada mamalia terdapat 2 bentuk SOD yaitu, (a) bentuk CuZn-SOD yang berada di dalam sitoplasma; dan (b) bentuk Mn-SOD yang terdapat di dalam matriks mitokondria. SOD merupakan salah satu antioksidan endogen yang berperanan penting dalam mengkatalisis reaksi dismutasi radikal bebas anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen (Halliwell, 2006), seperti reaksi berikut:

SOD



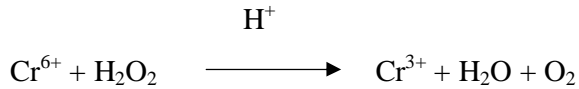
Katalase adalah suatu protein heme yang mengkatalis reaksi seperti yang ditunjukkan di bawah ini, dimana katalase mendetoksifikasi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

Katalase

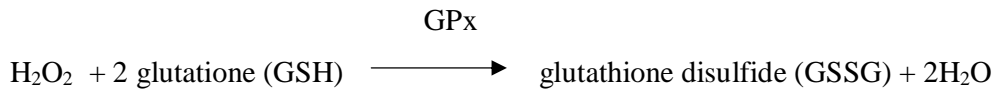


Katalase umumnya ditemukan di dalam peroksisom kecuali di dalam sel seperti erosit yang tidak mengandung organel ini. Prinsip pengukuran enzim katalase adalah hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) akan mereduksi ion bikromat ( $Cr_2O_7^{2-}$ )

dalam suasana asam menjadi kromat. Satu (1) unit aktivitas katalase dinyatakan sebagai banyaknya  $\text{H}_2\text{O}_2$  dalam mol yang dapat direduksi oleh katalase per menit (Rice-Evan *et al.* 1991).



Glutation peroksidase adalah enzim yang terdapat di dalam sitoplasma dan mitokondria yang penting untuk detoksifikasi  $\text{H}_2\text{O}_2$  di dalam sel melalui reaksi:



Enzim glutathion peroksidase merupakan suatu seleno protein, yaitu mengandung asam amino selenosistein yang pada sisi aktif terdiri atas sistein normal. Prinsip pengukuran glutathion peroksidase adalah glutathion peroksidase mengkatalis glutathion teroksidasi. Glutathion teroksidasi direduksi kembali menjadi glutathion tereduksi oleh enzim glutathion reduktase dengan koenzim NADP dalam suasana asam. Jumlah glutathion tereduksi diukur dengan menentukan jumlah mikromol NADPH sebagai pereduksi (Pigeolet *et al.* 1990).

## 2.6. Protein dan Asam Amino

Protein merupakan suatu makromolekul kompleks yang tersusun dari rantai asam amino yang terikat melalui ikatan-ikatan peptida. Ada sebanyak 20 asam amino yang membentuk badan dasar protein (Fardiaz *et al.* 1987). Asam amino dalam tubuh digunakan untuk pembentukan protein dalam bentuk polipeptida. Sejumlah kecil asam amino digunakan untuk penentuan neurotransmitter, hormon non-polipeptida dan hormon polipeptida, seperti hormon insulin dan glukagon (Lender 1992).

Protein pada produk hasil perikanan secara umum terbagi atas tiga macam yaitu protein sarkoplasma, miofibril dan stroma. Protein miofibril adalah protein-protein yang terdapat pada benang-benang daging (miofibril dan miofilamen), yang termasuk protein kelompok ini adalah protein globulin seperti myosin, aktin dan tropomyosin. Kelompok protein sarkoplasma tersusun atas myoalbumin, globulin, dan enzim. Sedangkan protein yang berfungsi sebagai jaringan penghubung mengandung kolagen (Subagio *et al.* 2004).



### **a. Isolasi Protein**

Prinsip isolasi protein dilakukan dengan tahap-tahap sebagai berikut, pertama-tama protein diekstrak dari bahan dengan air pada pH basa (sekitar pH 8-8,5). Pada pH ini sebagian besar protein larut dalam air pengestrak. Kemudian ekstrak disentrifus untuk mengendapkan bahan-bahan yang tidak larut berupa ampas dan kotoran lainnya. Supernatan yang mengandung protein yang larut dipisahkan dan diturunkan pHnya sampai sekitar pH 4-4,5. Pada pH ini sebagian besar protein akan mengendap pada titik isoelektriknya. Proses sentrifuse akan memisahkan protein berupa endapan dan cairan sisa yang mengandung bahan-bahan terlarut seperti gula, mineral dan sebagainya. Endapan protein kemudian dicuci dengan air berkali-kali untuk selanjutnya dilarutkan kembali dalam suasana basa dengan natrium hidroksida. Larutan protein kemudian dikeringkan dengan alat pengering semprot (spray drier) (Fardiaz *et al.* 1987).

### **b. Ekstraksi Protein**

Ekstraksi adalah suatu cara untuk memisahkan campuran beberapa zat menjadi komponen-komponen yang terpisah. Ekstraksi dapat dilakukan dalam dua cara yaitu *aqueous phase* dan *organic phase*. Cara *aqueous phase* dilakukan dengan menggunakan pelarut air misalnya untuk gula, NaCl dan sebagainya, sedangkan *organic phase* dilakukan dengan menggunakan pelarut organik seperti kloroform, eter dan sebagainya, misalnya untuk bahan-bahan berlemak, karoten dan sebagainya. Kelarutan zat di dalam pelarut-pelarut itu tergantung dari ikatannya apakah polar atau non polar. Zat-zat polar hanya larut dalam pelarut polar dan zat-zat non polar hanya larut dalam pelarut non polar (Winarno, 1983).

Menurut Ansel (1989) metode dasar dari ekstraksi bahan obat adalah maserasi (proses "M") dan perkolasi (proses"P"). Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang artinya merendam, merupakan proses bahan yang akan diekstrak direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan sel-sel sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Perkolasi berasal dari kata *per* artinya melalui dan *colare* artinya merembes. Perkolasi merupakan proses ekstraksi dimana bahan yang akan diekstrak diletakkan di dalam alat (perkolator) dengan pelarut yang dialirkan merembes melalui kolom.

### **c. Hidrolisis Protein**

Hidrolisis protein merupakan pemutusan rantai peptida sehingga terbentuk peptida pendek atau asam amino bebas. Hidrolisis dapat pula diartikan sebagai pemecahan banyak ikatan menjadi ikatan lebih kecil dan sederhana. Oleh karena itu hidrolisat protein adalah produk pangan yang komponennya telah mengalami hidrolisis menggunakan asam kuat, basa kuat atau enzim (Johnson dan Peterson 1974).

Hidrolisis pada dasarnya berhubungan dengan reaksi yang meliputi air dan dua atau lebih komponen produk. Proses hidrolisis ini akan memecah ikatan antara dua atom, sehingga istilah hidrolisis kadang-kadang berkembang pada reaksi pemecahan banyak ikatan menjadi satu ikatan (Kirk & Othmer 1953). Selanjutnya dikatakan bahwa reaksi hidrolisis dapat dibagi dalam beberapa tipe yaitu: 1) hidrolisis murni, hanya air yang digunakan untuk proses hidrolisis; 2) hidrolisis dengan larutan asam; 3) hidrolisis dengan larutan alkali; 4) hidrolisis dengan peleburan alkali yang menggunakan air atau tanpa air pada temperatur tinggi; dan 5) hidrolisis dengan enzim (proteolitik) sebagai katalisator.

Proses hidrolisis dapat pula dilakukan dengan enzim tertentu, seperti tripsin dan khimotripsin yang disertai dengan pembebasan asam amino penyusun molekul protein. Beberapa protein yang terhidrolisis disamping menghasilkan asam amino juga menghasilkan molekul-molekul protein yang masih berikatan (Lehninger 1993).

## **BAB III. METODE PENELITIAN**

### **3.1. Alat yang digunakan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: 1) instrumen seperti spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 120-01), sentrifuse (Beckman tipe 7B-6), evaporator vacum, *Blood glucose Test Meter GlucoDr*, freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ , *magnetic stirrer*, vortek, oven (Memmert-Germany), *freeze dryer*, pH meter (HM-205), HPLC, *waterbath* (GFL 1083), refrigerator, *tissue embedding console*, mikroskop cahaya biasa, inkubator, microwave, stopwatch, mikrotom, mikrotip, penangas air, ayakan 60 mesh, blender, timbangan analitis, timbangan digital, alat analisis protein (Kjeldahl), lemak (Soxhlet), kadar abu, kadar air (AOAC, 1984) dan insulin serum.

### **3.2. Bahan yang digunakan**

Bahan yang digunakan pada percobaan ini meliputi bahan utama terdiri dari teripang pasir (*Holothuria scabra*) yang didapat dari nelayan di Kepulauan Riau dan Balai Budidaya Laut (BBL) Lampung. Teripang pasir yang digunakan adalah teripang dengan bobot badan 300-500 gram/ekor. Hewan percobaan yang digunakan dalam *bioassay* adalah tikus putih *Sparague Dawley* jantan dengan berat tubuh 150-200 g per ekor yang diperoleh dari BPOM Jakarta.

Bahan kimia yang digunakan adalah bahan-bahan kimia untuk pengujian sifat kimia meliputi, HCL, NaOH, buffer phosphat, acarbose, enzim tripsin, larutan 90% sukrosa, aquades, ethanol teknis, dll. Disamping itu digunakan juga bahan-bahan kimia untuk analisis proksimat seperti protein total metode mikro-kjeldahl, analisis lemak, kadar air, kadar abu dan insulin serum. Bahan habis pakai meliputi: kapas, tissue, aluminium voil, kertas saring biasa, whatman 42, aquades, sarung tangan, masker mulut, dan bahan-bahan untuk pakan standar tikus, yaitu pati jagung, kasein, sukrosa, minyak kedelai, selulosa, campuran mineral, campuran vitamin, L-sistin, kolin bitartrat, dan tert-butylhidroquinon.

### 3.3. Metodologi Penelitian

#### a. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan Mei sampai Desember 2011, dan dilakukan di Laboratorium Bersama Hewan Percobaan Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian dan SEAFASST Center, Institut Pertanian Bogor; Laboratorium Biokimia dan kimia, TPG-IPB; dan Laboratorium Histologi dan Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB.

#### b. Pelaksanaan Penelitian

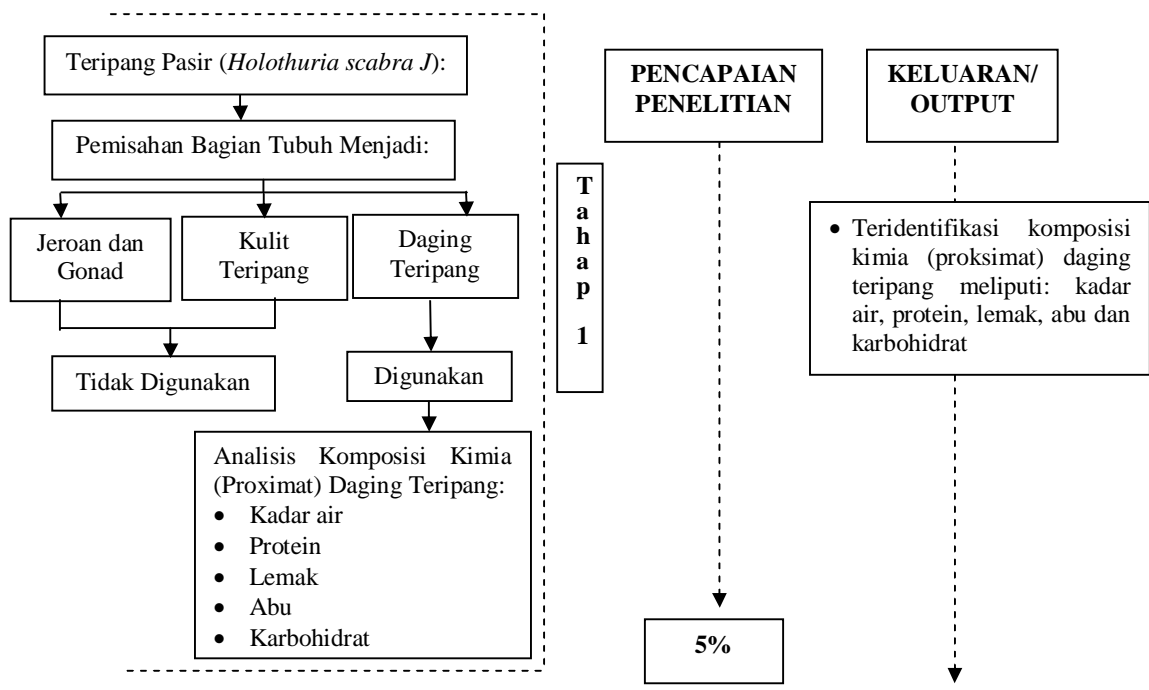
Kegiatan penelitian terdiri dari 3 (tiga) tahap percobaan yaitu:

1. Persiapan dan analisis komposisi kimia (proksimat) daging teripang
2. Pembuatan dan analisis asam amino total dan bebas ekstrak, hidrolisat dan isolat daging teripang
3. Uji efek hipoglikemik ekstrak, hidrolisat dan isolat pada tikus coba

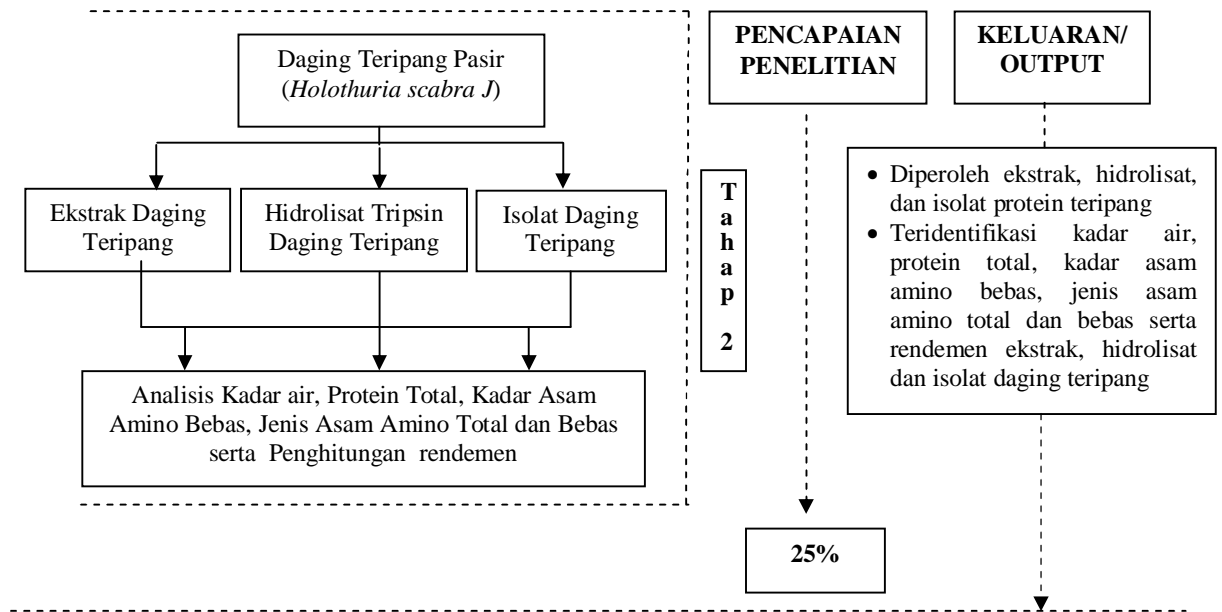
Bagan alir rencana penelitian, capaian dan keluaran (output) setiap tahap penelitian sebagai berikut:

#### BAGAN ALIR RENCANA PENELITIAN

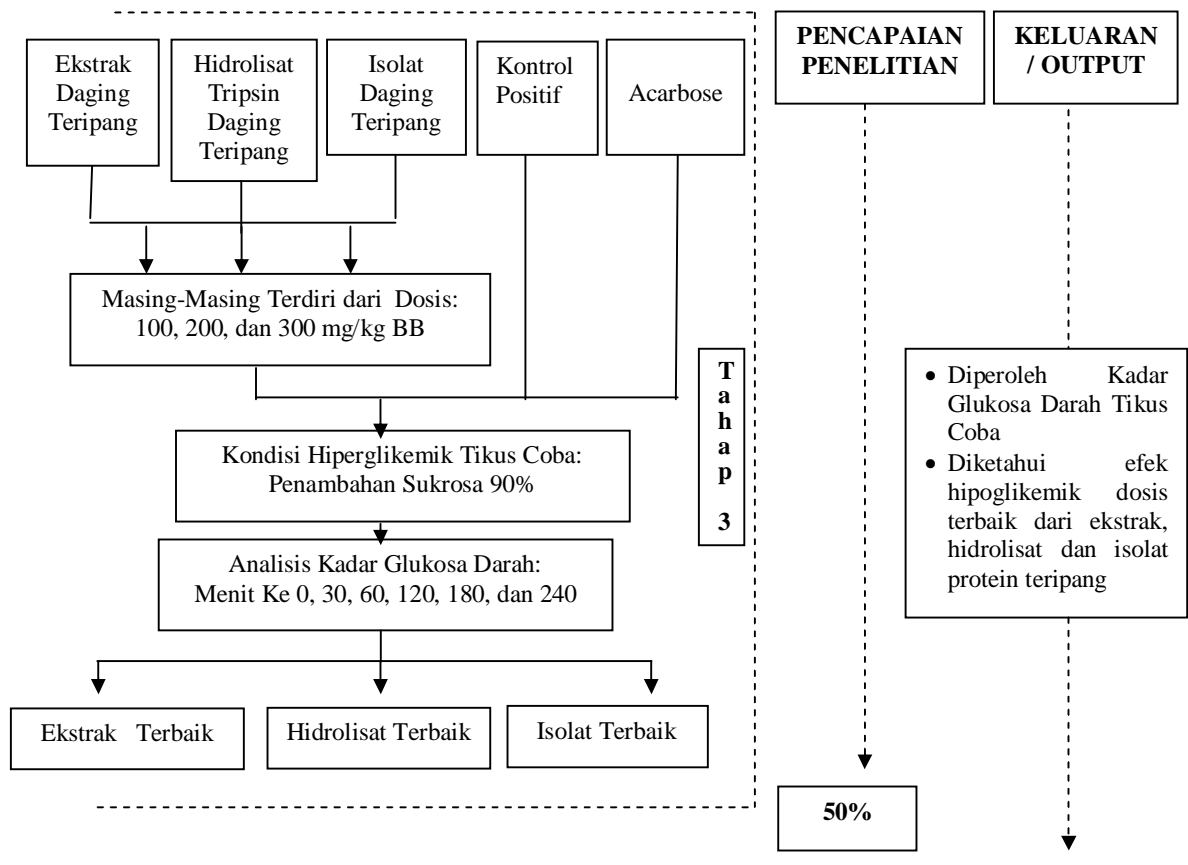
##### 1. Persiapan dan Analisis Komposisi Kimia (Proksimat) Daging Teripang Pasir



## 2. Pembuatan dan Analisis Asam Amino Total dan Bebas Ekstrak, Hidrolisat dan Isolat Daging Teripang



## 3. Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak, Hidrolisat dan Isolat pada Tikus Coba



## **1. Persiapan dan Analisis Komposisi Kimia (Proksimat) Daging Teripang Pasir**

Pada tahap ini jenis teripang yang digunakan adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*). Untuk mengetahui kondisi awal dari daging teripang pasir yang digunakan, maka teripang yang akan digunakan terlebih dahulu dibersihkan dan dipisahkan antara daging teripang dengan bagian tubuh lainnya (kulit, jeroan, gonad). Selanjutnya daging teripang dicuci dan dilakukan penggilingan, kemudian dilakukan pengukuran beberapa parameter kimia (proksimat) meliputi analisa protein total, kandungan lemak, kadar abu, kadar air, dan karbohidrat. Analisa protein total menggunakan metode Kjeldahl, kandungan lemak dengan metode Soxhlet, kadar abu (AOAC, 1984), kadar air (AOAC, 1984), dan karbohidrat (*by difference*).

## **2. Pembuatan dan Analisis Kadar dan Jenis Asam Amino Total Ekstrak, Hidrolisat, dan Isolat Daging Teripang serta Uji Aktifitas Daya Hambatnya terhadap Enzim $\alpha$ -Glukosidase**

### **a. Ekstraksi Protein Teripang**

Ekstraksi protein teripang dilakukan secara maserasi yaitu dengan perendaman tepung daging teripang dalam cairan penyari (*solvent*) aseton disertai pengadukan atau penggojogan. Efektifitas keberhasilan ekstraksi protein teripang ini sangat dipengaruhi kondisi alamiah tepung daging teripang (jaringan lunak/keras, bahan segar atau dikeringkan), ukuran partikel tepung, suhu proses, tekanan udara dalam proses, jenis pelarut dan metode ekstraksi (peralatan ekstraksi).

Penggunaan aseton sebagai bahan pengekstraksi sebagaimana dilakukan Nurjanah (2008) dan Kustiariyah (2006). Bagian tubuh teripang pasir dipisahkan menjadi gonad, jeroan dan daging, selanjutnya daging dicincang halus dan diekstraksi kandungannya menggunakan pelarut aseton (1:2, w/v) pada suhu 4°C, selama 24 jam). Selanjutnya disentrifuse (10 000 rpm, 15 menit, 4°C) dan supernatan yang diperoleh mengandung lemak, sedangkan presipitat (konsentrat) merupakan daging teripang yang telah bebas lemak. Selanjutnya presipitat (konsentrat) ini yang akan digunakan untuk penelitian tahap selanjutnya. Presipitat yang diperoleh di *freeze dryer* dan dilakukan pengecilan ukuran (60

mesh), maka akan diperoleh konsentrat protein. Pengamatan terhadap presipitat hasil ekstraksi teripang yang dihasilkan meliputi rendemen, kadar air (AOAC, 1984), kadar protein total (metode Kjeldahl), kadar dan jenis asam amino total. Presipitat yang telah diperoleh dikemas dalam plastik dan aluminium foil serta disimpan dalam *cool room* pada suhu 4°C sampai siap digunakan pada percobaan berikutnya.

#### **b. Hidrolisat Protein Teripang**

Percobaan ini bertujuan menyiapkan sampel dalam bentuk presipitat hidrolisat protein daging teripang yang digunakan pada percobaan selanjutnya. Hidrolisat protein diarahkan untuk mendapatkan presipitat protein yang mengandung asam amino bebas, sehingga hidrolisat protein dilakukan dengan menggunakan enzim tripsin. Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan metode Astawan *et al.* (1994) dengan sedikit modifikasi. Pada tahap awal daging teripang segar dibersihkan, dicuci dan dipisahkan dari bagian yang tidak diinginkan. Selanjutnya dilakukan pemotongan daging teripang untuk pengecilan ukuran dengan penggilingan. Kemudian timbang 2 g daging dan suspensikan ke aquades sejumlah 100 ml dan dilakukan homogenisasi selama 2 menit. Kemudian dilakukan perebusan pada suhu 98°C selama 15 menit. Setelah homogenat dingin, maka dilakukan penambahan enzim tripsin sejumlah 880 µg/ ml homogenat. Proses hidrolisis dilakukan pada suhu 37°C dan pH 7,5 selama 3-30 jam. Selanjutnya dilakukan perebusan pada suhu 85°C selama 15 menit untuk menginaktifkan enzim.

Setelah proses hidrolisis selesai, dilanjutkan dengan pemisahan supernatan/fasa cair dari presipitan/residu menggunakan sentrifugasi (10.000 rpm, selama 15 menit). Supernatan yang diperoleh, dievaporasi dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sampai semua pelarut menguap. Hasil evaporasi yang diperoleh pada tahap ini merupakan hasil hidrolisat teripang dan selanjutnya dilakukan proses *freeze dryer*. Pengamatan terhadap hidrolisat teripang yang dihasilkan meliputi rendemen, kadar air (AOAC, 1984), kadar protein total (metode Kjeldahl), kadar asam amino bebas, jenis asam amino total dan bebas. Hidrolisat yang telah diperoleh dikemas dalam plastik dan aluminium foil serta

disimpan dalam *cool room* pada suhu 4°C sampai siap digunakan pada percobaan berikutnya.

### **c. Isolat Protein Teripang**

Prosedur pembuatan isolat protein teripang berdasarkan metode Kanetro (2009) dengan sedikit modifikasi sebagai berikut. Pada tahap awal teripang segar dibersihkan, dicuci dan daging teripang dipisahkan dari bagian yang tidak diinginkan. Selanjutnya dilakukan pemotongan daging teripang untuk pengecilan ukuran dengan penggilingan (penepungan). Kemudian timbang sebanyak 100 g daging teripang dan disuspensikan dalam aquades dengan rasio bahan: aquades (1: 10 b/v) dan diatur pH-nya dengan cara penambahan NaOH 35% secara bertahap menggunakan pipet tetes sambil diaduk menggunakan *magnetic stirer* sampai mencapai pH 12. Selanjutnya dipanaskan pada suhu 40°C, selama 30 menit sambil diaduk menggunakan *magnetic stirer* dan selanjutnya di sentrifugasi pada kecepatan 1500 rpm, selama 15 menit (sentrifugasi 1). Supernatan dipisahkan, dan diatur pH-nya menjadi 4 dengan cara penambahan HCl 6N secara bertahap menggunakan pipet tetes sambil diaduk menggunakan *magnetic stirer*. Selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 1500 rpm, selama 15 menit (sentrifugasi 2). Endapan yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer* sehingga diperoleh sampel dalam bentuk isolat protein teripang. Pengamatan terhadap isolat teripang yang dihasilkan meliputi rendemen, kadar air (AOAC, 1984), kadar protein total (metode Kjeldahl), kadar asam amino bebas, jenis asam amino total dan bebas. Isolat yang telah diperoleh dikemas dalam plastik dan aluminium foil serta disimpan dalam *cool room* pada suhu 4°C sampai siap digunakan pada percobaan berikutnya.

### **d. Pengukuran Rendemen, Jenis dan Kadar Asam Amino Total**

#### **Rendemen**

Rendemen dihitung berdasarkan persentase berat kering serbuk hidrolisat, isolat dan konsentrat teripang kering dibagi berat kering sampel awal tepung teripang yang digunakan. Rendemen hidrolisat, isolat dan konsentrat dihitung dengan rumus sebagai berikut:



Rendemen konsentrat/hidrolisat/isolat=  $\frac{\text{berat kering hidrolisat/isolat/konsentrat}}{\text{berat kering tepung teripang awal}} \times 100\%$

### **Jenis dan Kadar Asam Amino Total**

Jenis asam amino total dan bebas dilakukan menggunakan metode OPA (Supelco 1985 dan Antoine *et al.* 1999). Sampel sebanyak 100 mg dimasukkan dalam tabung reaksi tertutup. Selanjutnya ditambahkan 4 ml HCL 6 N dan ditutup rapat. Kemudian dihidrolisis pada suhu 110°C selama 24 jam. Protein hidrolisat yang diperoleh didinginkan, dinetralkan dengan NaOH, dan volume ditepatkan menjadi 10 ml. Selanjutnya disaring dengan kertas saring whatman pp milipore 0,45µm. Sampel sebanyak 2 µl ditambah 498µl OPA dan direaksikan selama 5 menit. Selanjutnya sampel tersebut siap diinjeksikan ke HPLC dengan volume injeksi 10 µl. Untuk penghitungan kadar asam amino sampel, maka dibuat kurva standar dari berbagai konsentrasi asam amino standar yang menyatakan hubungan antara konsentrasi asam amino (X) dengan luas area yang ditunjukkan pada kromatogram (Y). Buat juga campuran asam amino standar dan diinjeksikan ke HPLC. Kromatogram campuran asam amino digunakan sebagai bahan pertimbangan penentuan jenis asam amino sampel pada kromatogram. Kadar asam amino sampel ditentukan dengan cara luas area (Y) masing-masing jenis asam amino sampel yang diketahui dari kromatogram diplotkan pada persamaan regresi linier masing-masing asam amino standar, sehingga diperoleh nilai X yang merupakan kadar asam amino. Selanjutnya kadar asam amino tersebut diperhitungkan terhadap berat sampel berdasarkan kadar protein sampel. Penentuan jenis asam amino total pada metode ini adalah sebelum sampel diaplikasikan ke HPLC dihidrolisis terlebih dahulu sesuai prosedur diatas, sedangkan untuk asam amino bebas tidak melalui tahap hidrolisis, tetapi asam amino bebas sampel dipisahkan dengan cara seperti pada pengujian kadar asam amino bebas. Supernatan dari pemisahan ini yang mengandung asam amino bebas langsung diaplikasikan ke HPLC sesudah dilakukan penyaringan.

### **e. Uji Hambatan Terhadap Enzim $\alpha$ -Glukosidase secara *In Vitro***

Uji aktifitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan model penghambatan pemecahan substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukofiranosa menjadi p-nitrofenol berwarna kuning dan glukosa oleh enzim  $\alpha$ -glukosidase. Aktifitas penghambatan enzim diukur berdasarkan jumlah p-

nitrofenol yang dihasilkan dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda$  400 nm.

### **3. Uji Efek Hipoglikemik Hidrolisat, Isolat dan Konsentrat Pada Tikus Coba**

Pengujian ini bertujuan untuk menentukan aktifitas hipoglikemik dari hidrolisat, isolat dan konsentrat protein daging teripang. Dosis masing-masing bahan yang akan diuji hipoglikemiknya adalah 100, 200, dan 300 mg/kg bb yang diberikan per oral. Sebagai pembanding positif diberikan obat acarbose 4,5 mg/kg bb tikus per oral. Untuk membuat tikus hiperglikemia sesaat, tikus diinduksi menggunakan larutan D-glukosa sebanyak 1 cc/ekor tikus per oral yang diberikan 10 menit setelah tikus diberi hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang maupun obat acarbose.

Sebanyak 84 ekor tikus putih jantan galur *Sparague Dawley* umur dua bulan digunakan dalam penelitian ini. Tikus percobaan dibagi ke dalam 12 kelompok perlakuan yaitu (1) kelompok kontrol negatif, yaitu tikus tidak diberi bahan uji dan tidak hiperglikemia; (2) kelompok kontrol positif hiperglikemia, yaitu tikus hiperglikemia dan tidak diberi bahan uji; (3-11) kelompok hiperglikemia dan diberi bahan uji ekstrak, hidrolisat, isolat dari daging teripang dengan masing-masing dosis 100, 200, 300, mg/kg bb per oral, dan (12) kelompok kontrol obat positif hipoglikemia, yaitu tikus hiperglikemia dan diberi obat acarbose 4,5 mg/kg bb. Pakan yang diberikan adalah ransum standar dan air minum *ad libitum*. Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasikan selama dua minggu.

Kadar glukosa darah tikus percobaan ditentukan dengan metode glucose oxidase biosensor, menggunakan alat Blood glucose Test Meter GlucoDr<sup>TM</sup> model AGM-2100 (diproduksi oleh allmedicus Co Ltd., Korea). Darah diambil melalui ujung ekor tikus yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian diurut perlahan-lahan, selanjutnya ujung ekor ditusuk dengan jarum kecil (syring 1 cc) (Kerato *et al.* 2006). Darah yang keluar kemudian disentuhkan pada strip glukometer. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar GlucoDr<sup>TM</sup> setelah 11 detik dan kadar glukosa darah dinyatakan dalam mg/dl. Pengukuran dilakukan pada menit ke: 0, 30, 60, 120, dan 150 setelah perlakuan.

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Persiapan dan Analisis Komposisi Kimia (Proksimat) Daging Teripang Pasir

#### a. Karakteristik Fisik Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J)

Teripang yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang pasir (*Holothuria scabra* J) yang diperoleh dari Balai Budidaya laut (BBL) Lampung. Teripang tersebut merupakan hasil tangkapan dari alam yakni perairan Teluk Lampung. Umur teripang yang digunakan menurut nelayan dan peneliti di BBL diperkirakan berkisar antara 1-2 tahun. Morfologi umum teripang pasir berbentuk bulat, panjang seperti ketimun, dengan punggung abu-abu atau kehitaman berbintik putih atau kuning, di seluruh permukaan tubuh diselubungi lapisan kapur. Tubuh teripang kesat, berotot tebal dengan kulit berbintik-bintik. Karakteristik ini sesuai dengan karakteristik teripang pasir (*Holothuria scabra* J) (Dewi 2008). Secara lengkap bentuk teripang yang digunakan sebagai bahan baku dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Bahan baku teripang pasir (*Holothuria scabra* J)

#### b. Persentase Bagian Tubuh Teripang Pasir

Panjang rata-rata teripang yang digunakan pada penelitian ini berkisar antara 20-35cm dengan bobot antara 200-350 g/ekor. Teripang dewasa mempunyai ciri-ciri antara lain tubuh panjang antara 25-35 cm dengan bobot 200-

500 g/ekor. Rata-rata usia teripang dewasa adalah 6,5-8 bulan (Fechter 1969). Sesuai dengan ciri-ciri tersebut maka teripang yang digunakan dalam penelitian ini merupakan teripang yang sudah dewasa.

Tubuh teripang secara garis besar terbagi atas 4 bagian utama yaitu daging, kulit, jeroan dan gonad, air dan kotoran. Daging merupakan bagian luar tubuh teripang yang ditutupi oleh lapisan kulit yang tebal. Jeroan dan gonad merupakan bagian dalam tubuh teripang. Jeroan terdiri dari saluran usus, lambung dan saluran lainnya yang banyak mengandung air dan pasir, sedangkan gonad berwarna kuning untuk teripang betina dan berwarna putih untuk teripang jantan. Bagian-bagian tubuh teripang setelah dilakukan pembedahan dapat dilihat pada Gambar 2. Pembedahan dilakukan pada bagian bawah tubuh dari bagian anterior ke bagian posterior. Perbandingan bagian-bagian tubuh teripang pasir dapat dilihat pada Tabel 1.



**Gambar 2. Bagian tubuh teripang pasir (*Holothuria scabra J*)**

**Tabel 1. Persentase bagian tubuh teripang pasir (*Holothuria scabra J*)**

No	Bagian Tubuh Teripang	Berat (gram)	Persentase (%) Bobot
1	Daging	114 ± 151	38,26 ± 38,03
2	Jeroan dan Gonad	27 ± 36	9,06 ± 9,07
3	Kulit	63 ± 85	21,14 ± 21,41
4	Air dan Kotoran	94 ± 125	31,54 ± 31,49
<b>Total</b>		<b>298 ± 397</b>	<b>100</b>

Proporsi antara bagian tubuh daging: jeroan dan gonad: kulit: air dan kotoran adalah 4:3:2:1 (b/b). Sedangkan proporsi dari bobot kering dan bobot basah (segar beku) daging teripang adalah 1:6, sedangkan proporsi bobot kering dan bobot basah jeroan dan gonad teripang adalah 1:15 (Kustiariyah 2006).

Persentase terbesar adalah bagian daging yang mencapai 38,26%. Bagian daging atau tubuh tersebut merupakan kumpulan otot yang kenyal berwarna putih dan kulit luar disertai duri dan jaringan sirkulasi air yang menempel pada dinding otot. Duri-duri pada teripang tidak dapat dilihat langsung dengan mata karena sangat kecil dan hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Duri-duri teripang merupakan butir-butir kapur mikroskopis yang letaknya tersebar dalam lapisan epidermis.

Kulit teripang menutupi bagian tubuh atau daging teripang yang persentasenya sekitar 21,41%. Kulit luar atau kutikula teripang ini sangat tebal dan merupakan lapisan pelindung yang tertutup kapur. Di bawah kulit luar terdapat dermal kortek dengan osikel yang berhimpit, dan lapisan paling dalam dekat rongga badan merupakan suatu kumpulan otot melintang dan membujur. Osikel yang sangat kecil menempel pada lapisan jaringan kulit luar yang tipis dan tidak berhubungan dengan suatu tulang yang kaku (Fechter 1969).

Air dan kotoran yang terdiri dari sisa-sisa makanan pada saluran pencernaan merupakan bagian teripang yang mencapai 31,49%. Sistem pencernaan teripang berbentuk tabung memanjang terdiri dari tentakel, mulut, kerongkongan, tenggorokan, perut besar, usus halus, kloaka, dan anus. Teripang mempunyai kemampuan makan dengan cara menyaring air dan memakan partikel pasir atau sedimen tanah dan sisa-sisa makanan yang busuk.

### **c. Analisis Kimia (Proksimat) Daging Teripang Pasir**

Analisis kimia (proksimat) yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan protein, lemak, kadar air, kadar abu dan kadar karbohidrat daging teripang pasir segar yang digunakan sebagai bahan baku. Hasil analisis kimia (proksimat) daging teripang pasir segar dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil analisis kimia (proksimat) daging teripang pasir**

<b>Kandungan Kimia (Proksimat)</b>	<b>Persentase (% bb)</b>
Kadar Air	87.03
Kadar Abu	1.86
Kadar Lemak	0.54
Kadar Protein	9.94
Karbohidrat ( <i>by difference</i> )	0.64

Kandungan protein daging teripang pada Tabel 2 terlihat cukup tinggi, rata-rata 9,94%bb. Kondisi ini menunjukkan bahwa teripang memiliki nilai nutrisi yang baik sebagai makanan. Protein di dalam tubuh dapat berupa cadangan makanan, zat pembangun dan zat pengatur (enzim, antibodi, dan lain-lain). Sebagai zat pengatur, protein merupakan bahan pembentuk jaringan-jaringan baru yang selalu terjadi dalam tubuh. Protein juga dapat dijadikan sebagai sumber energi apabila tidak dipenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Protein berupa enzim yang terdapat pada teripang antara lain alkaline protease, arginin kinase, bromelin dan alcase. Protein sebagai antibodi terlihat dari kandungan senyawa aktif, sebagai antibakteria, antifungi, dan antikoagulan. Protein pada teripang mempunyai asam amino yang lengkap, baik asam amino essensial maupun asam amino non essensial. Asam amino sangat berguna dalam sintesa protein pada pembentukan otot dan dalam pembentukan hormon androgen, yakni testosteron, yang berperan dalam reproduksi baik untuk meningkatkan libido maupun pembentukan spermatozoa. Siklus protein dapat terjadi dalam sel, dalam jaringan, atau dalam badan dan melibatkan saluran pencernaan. Oleh sebab itu kandungan terbesar protein pada teripang terdapat pada bagian daging tubuh, kemudian pada jeroan yang terdiri dari saluran pencernaan.

Kandungan lemak daging teripang 0,54%bb merupakan tertinggi dari bagian tubuh lainnya (Nurjanah 2008). Hal ini disebabkan bagian daging atau tubuh teripang terdiri dari jaringan otot serta osikel yang merupakan tempat menyimpan lemak serta adanya pembuluh darah yang kemungkinan besar mengandung lemak yang akan disebarkan ke seluruh bagian tubuh. Kandungan lemak daging teripang segar terdiri atas asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Fredalina *et al.* (1998) menyatakan asam lemak dominan penyusun

teripang adalah EPA (25,69%), oleat (21,98%) dengan ekstraksi menggunakan PBS. Ekstraksi menggunakan air memberikan kandungan DHA (57,88%), linolenat (12,59%). Teripang juga mengandung asam lemak linolenat sebesar 0,119% dan arakidonat 0,128% (Nurjanah 2008). Kondisi ini menunjukkan suatu keunggulan kandungan kimia daging teripang sebagai makanan kesehatan karena memiliki kandungan omega 3 (linolenat, EPA dan DHA) dan omega 6 (linolenat dan arakidonat). Kandungan lemak pada daging teripang ini diduga cukup menyediakan kolesterol sebagai bahan pembentuk testosteron. Lemak dalam bentuk kolesterol merupakan bahan antara pada pembentukan hormon steroid, dimana kolesterol merupakan prekursor semua hormon steroid, disintesa di dalam kelenjar atau diambil dari plasma (High Density Lipoprotein, pembentuk kolesterol pada kelenjar)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar abu daging teripang 1,86%bb, menunjukkan tidak terlalu tinggi, disebabkan daging teripang sudah dipisahkan dari kulit tubuh teripang. Kulit teripang merupakan dinding tubuh yang terdiri dari kutikula yang merupakan lapisan pelindung yang tertutup kapur dan adanya duri-duri yang merupakan butir-butir kapur mikroskopis yang tersebar pada lapisan epidermis (Fetcher 1969). Hasil beberapa penelitian yang mengukur kadar abu daging teripang dengan tidak melepaskan kulitnya menunjukkan kadar abu yang tinggi yaitu 31,43%bk (Dewi 2008) dan 48,3%bk (Wibowo *et al.* 1997).

#### **4. 2. Pembuatan dan Analisis Kadar dan Jenis Asam Amino Total Ekstrak, Hidrolisat, dan Isolat Daging Teripang serta Uji Aktifitas Daya Hambatnya terhadap Enzim $\alpha$ -Glukosidase**

##### **a. Tepung Teripang**

Rendemen merupakan parameter penting dalam proses pembuatan tepung teripang. Tepung daging teripang yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3. Tepung daging teripang yang dihasilkan berwarna putih kusam atau hampir sama dengan warna awal dari daging teripang segar. Proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan freeze dryer, bertujuan untuk mempertahankan kandungan nutrisi daging teripang disamping untuk mencegah terjadinya *browning* atau perubahan warna menjadi coklat. Rendemen diperoleh dengan cara menghitung

total tepung yang dihasilkan, kemudian dibagi berat daging teripang segar yang digunakan dikalikan seratus persen. Hasil perhitungan rendemen yang dihasilkan pada pembuatan tepung teripang ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Semakin tinggi rendemen semakin menguntungkan dari segi ekonomi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari lima kali percobaan yang dilakukan dengan berat sampel daging teripang segar yang digunakan sekitar 2.853,60-6.687,45gr, maka kisaran rendemen yang dihasilkan sekitar 8,44-11,56%. Rata-rata rendemen yang dihasilkan sekitar 10,16%. Rendemen ini tergolong rendah disebabkan tingginya kadar air daging teripang segar yaitu 87,03%.



**Gambar 3. Tepung daging teripang pasir (*Holothuria scabra* J)**

**Tabel 3. Rendemen pembuatan tepung daging teripang (*Holothuria scabra* J)**

Ulangan	Berat Daging Teripang (gram)	Hasil Freeze Dryer Daging Teripang (gram)		Penepungan Freeze Dryer (gram)	Rendemen Tepung (%)
		Berat (gram)	Persentase (%)		
1	6.687,45	815,87	12,20	685,33	10,25
2	2.853,60	333,87	11,70	267,10	9,36
3	4.198,88	554,25	13,20	485,52	11,56
4	3.058,56	330,94	10,82	258,13	8,44
5	6.380,64	806,51	12,64	659,73	10,34
<b>Total</b>	<b>23.179,13</b>	<b>2.841,44</b>	<b>12,26</b>	<b>2.355,81</b>	<b>10,16</b>

Analisis kandungan nutrisi (proksimat) dilakukan untuk mengetahui kandungan lemak, protein, kadar abu, dan kadar air yang dikandung tepung teripang dengan bahan baku bagian daging teripang. Hasil analisis kandungan nutrisi (proksimat) tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.



**Tabel 4. Hasil pengukuran kandungan nutrisi (proksimat) tepung daging teripang pasir (*Holothuria scabra* J)**

<b>Kandungan Nutrisi</b>	<b>Persentase (% bb)</b>
Kadar Air	9,13
Kadar Abu	12,52
Kadar Lemak	3,68
Kadar Protein	61,31
Karbohidrat ( <i>by difference</i> )	13,36

Tabel 4 terlihat bahwa dari 4 kali pengukuran, kandungan lemak tepung teripang dengan rata-rata 3,68%. Angka ini tergolong tinggi (Nurjanah 2008) disebabkan sumber bahan baku dari tepung teripang ini adalah bagian daging teripang. Bagian tubuh teripang terdiri dari otot serta osikel yang merupakan tempat menyimpan lemak serta adanya pembuluh darah yang kemungkinan besar mengandung lemak yang akan disebarkan ke seluruh bagian tubuh.

Rata-rata kandungan protein 61,31%. Protein dalam tubuh berfungsi sebagai cadangan makanan, zat pembangun dan pengatur, pembentuk jaringan baru, sebagai sumber energi, enzim serta membentuk antibodidan kompleks dengan molekul lain. Siklus protein ini dapat terjadi dalam sel, dalam jaringan, atau dalam badan dan melibatkan saluran pencernaan. Berdasarkan fungsi-fungsi protein tersebut menyebabkan kandungan protein pada tepung daging teripang segar tinggi (Nurjanah 2008).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar abu tepung daging teripang segar rata-rata 12,52%. Tingginya kadar abu diduga karena dinding tubuh teripang terdiri dari kutikula yang merupakan lapisan pelindung yang tertutup kapur dan adanya duri-duri yang merupakan butir-butir kapur mikroskopis yang tersebar pada lapisan epidermis (Fetchter 1969).

#### **b. Ekstraksi Protein Teripang**

Ekstraksi protein teripang dilakukan secara maserasi yaitu dengan perendaman tepung daging teripang dalam cairan penyari (*solvent*) aseton disertai pengadukan atau penggojogan. Efektifitas keberhasilan ekstraksi protein teripang ini sangat dipengaruhi kondisi alamiah tepung daging teripang (jaringan lunak/keras, bahan segar atau dikeringkan), ukuran partikel tepung, suhu proses,

tekanan udara dalam proses, jenis pelarut dan metode ekstraksi (peralatan ekstraksi).

Penggunaan aseton sebagai bahan pengekstraksi sebagaimana dilakukan Nurjanah (2008) dan Kustiariyah (2006). Bagian tubuh teripang pasir dipisahkan menjadi gonad, jeroan dan daging, selanjutnya daging dicincang halus dan diekstraksi kandungannya menggunakan pelarut aseton (1:2, w/v) pada suhu 4°C, selama 24 jam). Selanjutnya disentrifuse (10 000 rpm, 15 menit, 4°C) dan supernatan yang diperoleh mengandung lemak, sedangkan presipitat (konsentrat) merupakan daging teripang yang telah bebas lemak. Selanjutnya presipitat (konsentrat) ini yang akan digunakan untuk penelitian tahap selanjutnya. Presipitat yang diperoleh di *freeze dryer* dan dilakukan pengecilan ukuran (60 mesh), maka akan diperoleh konsentrat protein (Gambar 4).



**Gambar 4. Konsentrat protein daging teripang pasir (*Holothuria scabra* J)**

Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan konsentrat protein teripang ini dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Rendemen pembuatan konsentrat protein teripang**

Percobaan	Berat Sampel/ Daging Teripang Segar (gram)*	Hasil Freeze Dryer (gram)			Rendemen (%)			Rata-rata rendemen (%)
		1	2	3	1	2	3	
I	100	8,12	9,20	10,68	8,12	9,20	10,68	9,33
II	150	15,32	14,60	14,10	10,21	9,73	9,40	9,78
II	200	18,98	23,20	21,12	9,49	11,60	10,56	10,55
<b>Rata-rata</b>								<b>9,87</b>

Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan konsentrat protein daging teripang dihitung dengan cara menghitung total konsentrat yang dihasilkan, kemudian dibagi berat daging teripang segar yang digunakan dikalikan seratus persen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari tiga kali percobaan yang dilakukan dengan berat sampel daging teripang segar yang digunakan sekitar 100-200 gr, maka kisaran rendemen yang dihasilkan sekitar 9,33-10,55%. Rata-rata rendemen yang dihasilkan sekitar 9,87%. Rendemen ini tergolong rendah disebabkan tingginya kadar air daging teripang segar yaitu 87,03%.

### **c. Hidrolisat Protein Teripang**

Hidrolisis protein merupakan pemutusan rantai peptida sehingga terbentuk peptida pendek atau asam amino bebas, oleh karena itu hidrolisat protein adalah produk pangan yang komponennya telah mengalami hidrolisis menggunakan asam kuat, basa kuat atau enzim. Hidrolisat protein dapat berbentuk cair, pasta atau tepung yang bersifat higroskopis. Flavor yang khas dari hidrolisat tergantung dari komposisi asam amino bahan awalnya, misalnya hidrolisat yang dihasilkan dari gelatin relatif lebih manis rasanya karena kandungan glisinya tinggi (Johnson dan Peterson 1974).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan dan kekhasan hidrolisat yang dihasilkan adalah suhu, waktu, konsentrasi, bahan-bahan penghidrolisis dan perbandingan asam dengan protein. Warna, bau, rasa dan tingkat kerusakan asam amino dipengaruhi oleh kemurnian protein dari bahan awal, kondisi, serta bahan penghidrolisat yang digunakan. Pada umumnya protein akan terhidrolisis sempurna selama 16-24 jam menggunakan asam atau basa kuat pada tekanan atmosfer, sedangkan bila menggunakan enzim, hidrolisis baru sempurna setelah beberapa hari pada kondisi yang terpilih dan terkontrol dengan baik (Kirk & Othmer 1953).

Proses hidrolisis yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan enzim tripsin. Tahapan yang dilakukan adalah tepung daging teripang dan enzim ditambahkan dalam campuran dengan perbandingan enzim dan campuran yang dihidrolisis sekitar 1:200 (2%, w/v). Umumnya suhu pencernaan 37°C dan waktu pencernaan 24 jam dengan pH yang telah sesuai. Produk hidrolisat yang dihasilkan dikeringkan dengan *freeze dryer* (Gambar 5).



**Gambar 5. Hidrolisat protein teripang pasir (*Holothuria scabra* J)**

Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan hidrolisat protein teripang ini dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6. Rendemen pembuatan hidrolisat protein teripang**

Perco baan	Berat Sampel/Tepung Teripang (gram) <sup>*</sup>	Hasil Freeze Dryer (gram)			Rendemen (%)			Rata-rata rendemen (%)
		1	2	3	1	2	3	
I	2	1,12	1,08	1,02	56	54	51	53,67
II	3	1,65	1,40	1,48	55	46,67	49,33	50,33
II	4	1,96	2,02	1,82	49	50,5	45,5	48,33

Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan hidrolisat protein daging teripang dihitung dengan cara menghitung total hidrolisat yang dihasilkan, kemudian dibagi berat tepung daging teripang segar yang digunakan dikalikan seratus persen. Penelitian dilakukan dengan menggunakan berat awal tepung teripang yang berbeda yaitu 2, 3, dan 4 gr serta diulang sebanyak tiga kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk berat sampel tepung teripang awal 2 gr menunjukkan kisaran rendemen yang dihasilkan sekitar 51-567%, dengan rata-rata 53,67%. Untuk berat sampel awal tepung teripang 3 gr kisaran rendemen yang dihasilkan adalah 46,67-55%, dengan rata-rata 50,33%. Sedangkan jika berat awal tepung teripang 4 gr, maka rendemen yang dihasilkan sekitar 45,5-50,5%, rata-rata 48,33%. Berdasarkan hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata rendemen yang dihasilkan terhadap perbedaan berat awal tepung daging teripang yang digunakan. Berdasarkan hasil tersebut maka sebaiknya pada

penelitian ini menggunakan berat awal tepung teripang 4 gr, karena lebih efisien dan ekonomis dalam penggunaan enzim. Rendemen yang dihasilkan ini tergolong tinggi disebabkan proses hidrolisis menggunakan enzim yang bersifat spesifik dalam melakukan proses hidrolisis.

#### **d. Isolat Protein Teripang**

Salah satu metode untuk mendapatkan protein pada bahan yang mengandung protein, dapat dilakukan dengan proses isolasi (pemisahan). Isolasi protein dapat dilakukan dengan cara mengendapkan seluruh protein yang dikandung oleh bahan pada titik isoelektriknya yaitu pH dimana seluruh protein menggumpal. Proses isolasi protein menggunakan tepung teripang yang kadar lemaknya rendah, karena adanya lemak dapat mengganggu proses ekstraksi protein, disebabkan lemak dapat berikatan dengan protein membentuk lipoprotein (Yildiz 2010). Penelitian ini menggunakan tepung daging teripang yang rendah kadar lemak (dengan kadar lemak basis kering 2.2%).

Tepung daging teripang disuspensikan dengan aquades dalam perbandingan 1:15. Kemudian pH suspensi dinaikkan dengan NaOH 35% hingga pH 11 (pH optimum kelarutan tepung daging protein teripang berdasarkan penelitian sebelumnya) dan suspensi dipanaskan sambil diaduk dalam *water bath* suhu 40°C selama 30 menit untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi protein (Koswara 1992). Selanjutnya, sampel disentrifugasi dalam 10000 rpm selama 15 menit. Hal ini menyebabkan fraksi minyak yang ringan naik ke permukaan suspensi, pada sisi lain pada waktu bersamaan, lemak dari membran dibuang karena perbedaan densitas dibandingkan dengan larutan protein utama (Shaviklo 2006). Proses sentrifugasi merupakan tahap penting karena menentukan kemurnian isolat yang dihasilkan. Pada umumnya, semakin cepat sentrifugal yang dilakukan maka isolat protein yang dihasilkan semakin murni, sehingga kandungan proteinnya makin tinggi dan sifat fungsionalnya makin baik (Koswara 1992).

Sentrifugasi menyebabkan sampel terpisah menjadi supernatan dan presipitat. Presipitat pada sentrifugasi pertama ini tidak digunakan, sedangkan supernatan yang diperoleh diturunkan lagi pHnya mencapai pH 3 dengan menggunakan HCl 6N. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi kembali selama 15

menit dalam 10000 rpm. Presipitat yang diperoleh adalah isolat protein basah. Pengeringan isolat protein dilakukan pada suhu rendah menggunakan pengering beku (*freeze dryer*) (Gambar 6).



**Gambar 6. Isolat protein teripang pasir (*Holothuria scabra* J)**

Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan isolat protein teripang ini dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7. Rendemen pembuatan isolat protein teripang**

Perco baan	Berat Sampel/Tep ung Teripang (gram) <sup>*</sup>	Hasil Freeze Dryer (gram)			Rendemen (%)			Rata-rata rendemen (%)
		1	2	3	1	2	3	
I	30	2,20	2,48	2,28	7,33	8,27	7,6	7,73
II	40	3,48	3,20	3,65	8,70	8,00	9,13	8,61
II	50	3,94	4,12	4,85	7,88	8,24	9,70	8,61
<b>Rata-rata</b>								<b>8,32</b>

Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan isolat protein daging teripang dihitung dengan cara menghitung total isolat yang dihasilkan, kemudian dibagi berat tepung daging teripang segar yang digunakan dikalikan seratus persen. Penelitian dilakukan dengan menggunakan berat awal tepung teripang yang berbeda yaitu 20, 40, dan 50 gr serta diulang sebanyak tiga kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk berat sampel tepung teripang awal 20 gr menunjukkan kisaran rendemen yang dihasilkan sekitar 7,33-8,27%, dengan rata-rata 7,73%. Untuk berat sampel awal tepung teripang 40 gr kisaran rendemen yang dihasilkan adalah 8,00-9,13%, dengan rata-rata 8,61%. Sedangkan jika berat awal tepung teripang 50 gr, maka rendemen yang dihasilkan sekitar 7,885-9,70%, rata-rata

8,61%. Berdasarkan hasil ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata rendemen yang dihasilkan terhadap perbedaan berat awal tepung daging teripang yang digunakan.

Rendemen isolat protein daging teripang dari bahan tepung daging teripang cukup rendah. Jumlah ini menunjukkan bahwa isolat protein kering dapat diperoleh sekitar 8,32% dari total tepung daging teripang yang dipakai sebagai bahan untuk membuat isolat protein. Menurut Koswara (1992), isolat protein hampir bebas dari karbohidrat, serat dan lemak sehingga sifat fungsionalnya jauh lebih baik dibandingkan dengan konsentrat protein maupun tepung bubuk.

**e. Kadar dan Jenis Asam Amino Total Tepung Hidrolisat, Isolat, dan Konsentrat (Presipitat Ekstraksi) Protein Daging Teripang**

Hasil analisa kadar dan jenis asam amino total dalam tepung, hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang disajikan pada Tabel 8. Tepung, hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang mengandung berbagai macam asam amino esensial dan non esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang tidak dapat disintesa dalam tubuh manusia, tetapi sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia tersebut. Sepuluh jenis asam amino yang dibutuhkan manusia adalah arginin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, triptofan, treonin dan valin (Crim dan Munro 1994), terdapat di dalam tepung, hidrolisat, isolat dan konsentrat protein teripang, kecuali triptofan, bahkan asam amino histidin yang merupakan asam amino esensial untuk bayi dan tidak divutuhkan orang dewasa (Linder 2006), juga terdapat dalam keempat produk protein teripang tersebut.

Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian Chen (2005) dan Nurjanah (2008), yang menyatakan bahwa teripang pasir (*Holothuria scabra* J) mengandung hampir semua asam amino esensial kecuali triptofan. Perbedaan hanya terdapat pada jenis asam amino fenilalanin, dimana hasil penelitian Chen (2005) tidak terdapat fenilalanin. Fenilalann merupakan asam amino yang sangat dibutuhkan dalam perkembangan bayi (Smith dan Waisman 1971) dan untuk mengatur keseimbangan kadar nitrogen dalam darah (Stehle *et al.* 1996). Fenilalanin merupakan prekursor tirosin yang bertanggungjawab terhadap perkembangan otak semasa bayi. Kekurangan asam amino fenilalanin pada bayi

akan menyebabkan terganggunya perkembangan mental (Smith dan Waisman 1971).

**Tabel 8. Profil asam amino total tepung, hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang pasir (*Holothuria scabra* J)**

No	Jenis Asam Amino	Kadar Asam Amino (% bk)			
		Tepung	Hidrolisat	Isolat	Konsentrat
1.	Leusin	0,33	0,66	0,55	0,42
2.	Arginin	1,15	1,96	1,78	1,63
3.	Alanin	0,52	0,89	0,80	0,63
4.	Phenilalanin	0,54	1,05	0,80	0,68
5.	Isoleusin	0,37	0,64	0,60	0,47
6.	Lysin	1,43	2,23	2,08	2,01
7.	Serin	0,63	1,02	0,98	0,73
8.	Histidin	1,07	1,72	1,66	1,66
9.	Glysin	2,84	4,67	4,06	3,03
10.	Threonin	0,35	0,64	0,69	0,53
11.	Tyrosin	0,49	0,67	0,56	0,57
12.	Valin	0,64	1,10	1,01	0,82
13.	Asam aspartat	1,82	3,11	3,00	2,05
14.	Asam Glutamat	2,98	6,03	5,80	3,23
15.	Prolin	3,65	7,45	6,33	5,17
16.	Methionin	0,66	1,21	1,11	0,90
17.	Sistin	0,55	0,89	0,85	0,80
<b>Protein Total</b>		<b>20,02</b>	<b>35,94</b>	<b>32,66</b>	<b>25,33</b>

Prolin dan asam glutamat merupakan asam amino yang kandungannya tertinggi pada tepung, hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang. Prolin dan asam glutamat sangat berguna dalam pembentukan hormon androgen, yaitu testosteron yang berperan dalam reproduksi, baik dalam peningkatan libido maupun pembentukan spermatozoa. Asam amino tersebut merupakan bahan pembentuk GnRH yang mempengaruhi pembentukan hormon *Lutenizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) (Okada *et al.* 2003) sebagai hormone yang menstimulasi spermatogenesis (Hafez *et al.* 2000). Beberapa asam amino yang juga berfungsi sama dengan prolin dan asam glutamat adalah arginin, histidin, leusin, glisin, serin dan tirosin. Glutamat sebagai asam amino nonesensial juga sangat berguna dalam metabolisme seluler dan sebagai



transmitter atau penghubung antara sistem syaraf otak dengan syaraf tulang belakang (Beart dan O'Shea 2007)

Arginin disamping berfungsi sebagai pembentuk hormon GnRH, juga merupakan bahan baku *nitric oxide* (NO) yang berperan dalam fungsi ereksi (Moody *et al.* 1997). NO yang bekerja sebagai neurotransmitter pada *corpus cavernosum* akan menyebabkan ereksi pada penis. NO diproduksi di dalam penis dari asam amino arginin oleh enzim *nitric oxide synthase* (NOS) (Penson *et al.* 1996). NOS merupakan enzim yang mengubah arginin menjadi NO dipengaruhi oleh adanya hormon steroid testosteron. Leusin merupakan asam amino yang sangat berguna dalam sintesa protein pada pembentukan otot (Anthony *et al.* 1999). Leusin yang dikonsumsi masuk ke dalam plasma darah dan sel, selanjutnya akan membentuk protein tubuh (Crim dan Munro 1994).

Hasil penelitian analisa asam amino pada Tabel 10 juga menunjukkan bahwa tepung, hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang mengandung asam amino yang berperan dalam menstimulasi sekresi insulin. Berbagai macam asam amino tersebut berturut-turut mulai dari kemampuannya dalam menstimulasi sekresi insulin paling tinggi adalah Leusin, Arginin, Alanin, Fenilalanin, Isoleusin, Lisin, dan Methionin.

#### f. Uji Aktifitas Daya Hambat Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Enzim  $\alpha$ -glukosidase berfungsi memecah karbohidrat menjadi glukosa dan monosakarida lainnya (Kim *et al.* 2007), oleh karena itu senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim tersebut menunjukkan indikasi sebagai antidiabetes. Penghambatan reaksi enzim dapat pula dimanfaatkan sebagai salah satu strategi utama dalam perancangan pangan fungsional, karena dapat menghambat jalur metabolik utama dengan memblok pembentukan suatu metabolit esensial maupun metabolit yang tidak diinginkan. Penderita diabetes mellitus, penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat menyebabkan penghambatan absorpsi glukosa, sehingga menurunkan keadaan hiperglikemia setelah makan. Acarbose merupakan obat golongan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase dan dipasarkan dengan nama glucobay. Acarbose merupakan suatu oligosakarida yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis*. Acarbose

merupakan serbuk berwarna putih dengan berat molekul 645,6. Rumus empiriknya adalah  $C_{25}H_{43}NO_{18}$  (Slagle 2002; Bayer 2004).

Penelitian uji daya hambat aktivitas  $\alpha$ -glukosidase secara *in vitro* ini menggunakan  $p$ -nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida sebagai substrat. Enzim  $\alpha$ -glukosidase akan menghidrolisis  $p$ -nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida menjadi  $p$ -nitrofenol (berwarna kuning) dan glukosa. Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi  $p$ -nitrofenol, apabila hidrolisat, isolat dan konsentrat protein teripang memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase maka  $p$ -nitrofenil yang dihasilkan akan berkurang. Hasil penelitian uji daya hambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang menunjukkan adanya daya hambat terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase (Tabel 9).

Hidrolisat protein teripang mempunyai aktivitas daya hambat tertinggi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase yaitu 86,25% pada konsentrasi 500 ppm, 74,14% (300 ppm), dan 71,74% (100 ppm). Isolat protein teripang 73,24% pada konsentrasi 500 ppm, 66,52% (300 ppm), dan 58,15% (100 ppm). Sedangkan konsentrat protein teripang 59,19% pada konsentrasi 500 ppm, 52,02% (300 ppm) dan 46,34% (100 ppm). Kemampuan penghambatan oleh hidrolisat, isolat dan konsentrat protein teripang ini disebabkan terjadinya perlambatan penyerapan karbohidrat *postprandial* sehingga menurunkan gula darah.

Acarbosa sebagai kontrol positif memiliki kemampuan penghambatan lebih besar daripada hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang yaitu 98,65% pada konsentrasi 500 ppm, 77,53% (300 ppm), dan 74,16% (100 ppm). Hirsh *et al.* (1997) melaporkan penggunaan 0,1 mg/ml acarbose pada tikus dapat menurunkan absorpsi glukosa sebesar 20%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa acarbosa sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase bekerja secara khusus terhadap pemasukan glukosa ke dalam lumen jejunum dan ini berarti acarbosa dapat menurunkan hiperglikemia *postprandial*.

**Tabel 9. Persentase inhibisi hidrolisat, isolat, dan konsentrat teripang pasir (*Holothuria scabra* J) terhadap aktivitas enzim alfa glukosidase**

No	Jenis sampel	% Inhibisi pada berbagai konsentrasi sampel (ppm)		
		500	300	100
1	Hidrolisat	86,25	74,14	71,74
2	Isolat	73,24	66,52	58,15
3	Konsentrat	59,19	52,02	46,34
4	Acarbose	98,65	77,53	74,16

#### **4. 3. Uji Efek Hipoglikemik Hidrolisat, Isolat dan Konsentrat Pada Tikus Coba**

Pada tahap percobaan ini, sampel berupa hidrolisat, isolat dan konsentrat protein teripang dicobakan aktivitas hipoglikemiknya pada hewan percobaan yaitu tikus putih (*Sparague Dawley*) jantan dengan berat sekitar 120-150 g. Peningkatan kadar glukosa darah normal pada hewan coba hingga mencapai kondisi hiperglikemik sesaat dapat dilakukan dengan pemberian glukosa, sukrosa atau karbohidrat. Data respon kadar glukosa darah diamati pada menit ke- 0, 30, 60, 120, dan 150 menit setelah pemberian D-glukosa 10% dan sampel yang akan diuji.

Uji aktivitas hipoglikemik ini, dilakukan dengan terlebih dahulu memuaskan tikus percobaan selama satu malam, tetapi tetap diberi minum secara *ad libitum*. Keesokan harinya dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dengan menggunakan glukometer, hasil pengkuran ini ditetapkan sebagai kadar gula darah puasa (pengukuran pada menit ke-0). Selanjutnya tikus diberi sampel uji berupa hidrolisat, isolat, dan konsentrat protein teripang dengan konsentrasi masing-masing 100, 200, dan 300 mg/kg berat badan. Ketiga sampel uji tersebut dilarutkan dalam 1 ml aquades dan diberikan secara oral. Setelah 30 menit, tikus coba diberi larutan D-glukosa 10% sebanyak 1 ml secara oral. Tiga puluh menit kemudian, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dengan glukometer

(pengukuran menit ke-30). Selanjutnya dilakukan pengukuran yang sama pada menit ke 60, 90, 120, dan 150. Hasil pengukuran kadar glukosa darah seluruh sampel uji (hidrolisat, isolat dan konsentrat) dibuat dalam bentuk kurva dan dibandingkan aktivitas hipoglikemiknya.

Rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus (n=7) pada saat puasa dan selama uji aktivitas hipoglikemiknya disajikan pada Tabel 10. Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi pada perubahan kadar glukosa darah tikus. Kondisi ini dipengaruhi oleh kadar glukosa darah puasa dan respon individu. Variasi respon glikemik yang ditimbulkan ini, tidak hanya terjadi pada hewan percobaan, tetapi juga pada manusia, sebagaimana hasil penelitian Marsono (2002) menunjukkan bahwa adanya variasi kadar glukosa darah relawan yang diukur pada pengujian indeks glikemik (IG). Berdasarkan hal tersebut, untuk melihat respon glikemik tidak dapat dibandingkan secara langsung dengan cara memplotkan data pada kurva. Oleh karena itu, aktivitas hipoglikemik hidrolisat, isolat dan konsentrat dapat ditentukan dengan cara menghitung perubahan kadar glukosa darah, yaitu selisih antara kadar glukosa darah setelah konsumsi hidrolisat, isolat, dan konsentrat terhadap kadar glukosa darah puasa (Tabel 11). Data tersebut kemudian diplot pada kurva (Gambar 6) dan aktivitas hipoglikemik ditunjukkan dengan luas area dibawah kurva dari masing-masing perlakuan (Widowati 2007).

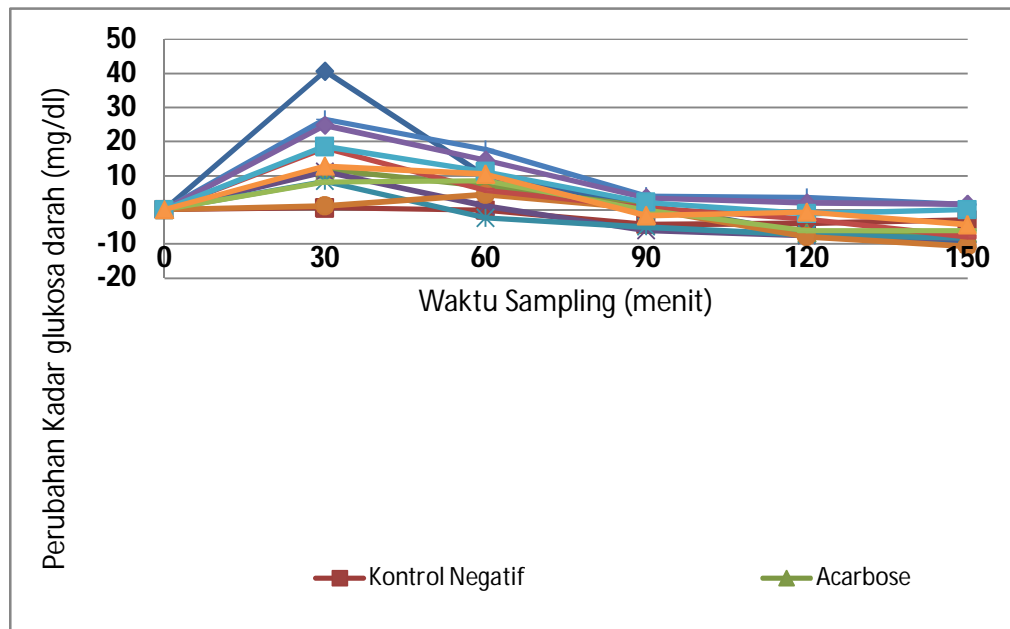
**Tabel 10. Hasil pengukuran kadar glukosa darah (mg/dl) pada pengujian efek hipoglikemik hidrolisat, isolat, konsentrat, dan acarbose (n=7)**

No	Perlakuan	Kadar Glukosa Darah (mg/dl) menit ke-					
		Puasa	30	60	90	120	150
1	Kontrol Positif	89,3	130,0	99,3	90,7	82,3	79,8
2	Kontrol Negatif	93,0	93,5	92,8	88,7	89,0	90,0
3	Acarbose	95,5	107,3	102,5	96,5	88,7	88,8
4	Hidrolisat 100 mg/kgBB	93,2	104,3	94,3	87,0	85,7	84,5
5	Hidrolisat 200 mg/kgBB	97,7	106,0	95,2	92,7	90,3	89,3
6	Hidrolisat 300 mg/kgBB	97,0	98,2	101,5	97,2	89,2	86,3
7	Isolat 100 mg/kgBB	89,0	115,5	106,7	93,0	92,5	90,5
8	Isolat 200 mg/kgBB	94,7	112,7	100,3	95,2	91,8	86,8
9	Isolat 300 mg/kgBB	95,3	103,5	103,8	95,2	89,2	89,2
10	Konsentrat 100 mg/kgBB	80,3	105,2	94,8	83,7	82,3	82,0
11	Konsentrat 200 mg/kgBB	86,0	104,5	97,2	88,2	84,8	86,0
12	Konsentrat 300 mg/kgBB	91,0	103,8	101,5	89,3	90,3	86,7

**Tabel 11. Perubahan kadar glukosa darah tikus setelah konsumsi hidrolisat, isolat, konsentrat dan acarbose terhadap kadar glukosa darah puasa (n=7)**

No	Perlakuan	Kadar Glukosa Darah (mg/dl) menit ke-					
		0	30	60	90	120	150
1	Kontrol Positif	0	40,7	10,0	1,3	-7,0	-9,5
2	Kontrol Negatif	0	0,5	-0,2	-4,3	-4,0	-3,0
3	Acarbose	0	11,8	7,0	1,0	-6,8	-6,7
4	Hidrolisat 100 mg/kgBB	0	11,2	1,2	-6,2	-7,5	-8,7
5	Hidrolisat 200 mg/kgBB	0	8,3	-2,5	-5,0	-7,3	-8,3
6	Hidrolisat 300 mg/kgBB	0	1,2	4,5	0,2	-7,8	-10,7
7	Isolat 100 mg/kgBB	0	26,5	17,7	4,0	3,5	1,5
8	Isolat 200 mg/kgBB	0	18,0	5,7	0,5	-2,8	-7,8
9	Isolat 300 mg/kgBB	0	8,2	8,5	-0,2	-6,2	-6,2
10	Konsentrat 100 mg/kgBB	0	24,8	14,5	3,3	2,0	1,7
11	Konsentrat 200 mg/kgBB	0	18,5	11,2	2,2	-1,2	0,0
12	Konsentrat 300 mg/kgBB	0	12,8	10,5	-1,7	-0,7	-4,3

Respon glikemik ditunjukkan melalui luas area dibawah kurva kadar glukosa darah setelah mengkonsumsi perlakuan (Gambar 7). Semakin besar luas area dibawah kurva atau semakin tinggi respon glikemiknya berarti aktivitas hipoglikemiknya semakin rendah. Aktivitas hipoglikemik dipengaruhi oleh karakteristik bahan secara simultan (Foster-Powell *et al.* 2002).



**Gambar 7. Grafik perubahan kadar glukosa darah tikus setelah konsumsi hidrolisat, isolat, konsentrat dan acarbose terhadap kadar glukosa darah puasa.**

Peningkatan kadar glukosa darah setelah pemberian larutan D-glukosa (b/v) disebabkan karena terjadi peningkatan absorpsi glukosa pada usus. Data kadar glukosa darah normal pada tikus menurut Gulfraz *et al.* (2007) antara 99-127 mg/dl, sedangkan menurut Kim *et al.* (2006) kadar glukosa darah normal pada tikus berkisar antara 90-142 mg/dl. Pada penelitian ini diperoleh kadar glukosa darah puasa tikus 89,3-97,7 mg/dl. Oleh karena itu, kadar glukosa darah pada tikus percobaan yang diinduksi D-glukosa pada menit ke 30 (rata-rata 107,04 mg/dl) berada di atas batas nilai normal yang menandakan bahwa tikus dalam keadaan hiperglikemia.

Respon kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemik yang diberi hidrolisat protein daging teripang cenderung meningkat pada 30 menit pertama, lalu turun dan mencapai kadar normal pada menit ke-150. Pemberian hidrolisat protein daging teripang dosis 100 dan 200 mg/kg bb, terutama pada menit ke-30 kadar glukosa darah masih terlalu tinggi (104,3 dan 106 mg/dl) atau tikus masih dalam kondisi hiperglikemik. Pada tikus hiperglikemik yang diberi hidrolisat protein daging teripang dosis 300 mg/kg bb, sudah memperlihatkan daya hipoglikemiknya, terutama pada menit ke-30 yang mana kadar glukosa darah tikus 98,2 mg/dl.

Respon kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemik yang diberi isolat protein daging teripang cenderung meningkat pada 30-60 menit pertama, lalu turun dan mencapai kadar normal pada menit ke-150. Pemberian isolat protein daging teripang dosis 100 dan 200 mg/kg bb, terutama pada menit ke-30 kadar glukosa darah masih terlalu tinggi (115,5 dan 112,7 mg/dl) atau tikus masih dalam kondisi hiperglikemik. Pada tikus hiperglikemik yang diberi isolat protein daging teripang dosis 300 mg/kg bb, sudah memperlihatkan daya hipoglikemiknya, terutama pada menit ke-90 yang mana kadar glukosa darah tikus 95,2 mg/dl.

Respon kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemik yang diberi konsentrat protein daging teripang cenderung meningkat pada 30 menit pertama, lalu turun dan mencapai kadar normal pada menit ke-150. Pemberian konsentrat protein daging teripang dosis 100 dan 200 mg/kg bb, terutama pada menit ke-30 kadar glukosa darah masih terlalu tinggi (105,2 dan 104,5 mg/dl) atau tikus masih dalam kondisi hiperglikemik. Pada tikus hiperglikemik yang diberi konsentrat

protein daging teripang dosis 300 mg/kg bb, sudah memperlihatkan daya hipoglikemiknya, terutama pada menit ke-90 yang mana kadar glukosa darah tikus 89,3 mg/dl.

Kadar glukosa darah tikus hiperglikemik yang diberi acarbose pada menit ke-30 adalah 107,3 mg/dl, sedangkan pada tikus hiperglikemik kadar glukosa darah tikus adalah 130 mg/dl. Penurunan kadar glukosa darah tikus yang diberi obat acarbose, disebabkan karena acarbose merupakan obat oral antihiperglikemik yang termasuk ke dalam golongan inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase yang bekerja dengan cara menghambat secara kompetitif enzim tersebut di dalam saluran usus sehingga menurunkan penyerapan glukosa *postprandial* (Inzucchi 2002).

Pemberian hidrolisat, isolat dan konsentrat protein daging teripang dosis 300 mg/kg bb telah mampu mencegah terjadinya peningkatan kadar glukosa darah setelah pemberian larutan D-glukosa. Daya hipoglikemik ini disebabkan karena komponen bioaktif yang terdapat pada hidrolisat, isolat dan konsentrat protein daging teripang mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase di usus. Mekanisme kerja diperkirakan menyerupai obat acarbose, yaitu idrolisat, isolat dan konsentrat protein daging teripang berperan sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase di dalam usus, sehingga akan memperlambat penguraian karbohidrat menjadi glukosa, selanjutnya akan memperlambat penyerapan glukosa di membran *brush border* usus. Akibat dari mekanisme ini, kenaikan kadar glukosa darah *postprandial* dapat ditekan dan tidak terjadi kenaikan kadar glukosa darah secara tiba-tiba.

Menurut Inzucchi (2002), enzim  $\alpha$ -glukosidase terletak di dalam membran *brush border* pada bagian proksimal usus kecil. Enzim ini berfungsi memecah ikatan disakarida atau karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana. Oleh karena itu, hambatan yang bersifat kompetitif terhadap enzim ini menyebabkan absorpsi karbohidrat diperlambat dan mengurangi pemanfaatan glukosa *potprandial*.

## BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

1. Proporsi antara bagian tubuh daging: jeroan dan gonad: kulit: air dan kotoran adalah 4:3:2:1 (b/b).
2. Proksimat kandungan nutrisi daging teripang kadar protein (9,94%bb), kadar lemak (0,54%bb), kadar abu (1,86%bb), kadar air (87,03%), dan karbohidrat (0,64% *by different*). Untuk tepung daging teripang adalah protein (61,31%), kadar lemak (3,68%), kadar abu (12,52%), kadar air (9,13%), dan karbohidrat (0,64% *by different*) dengan rendemen sebesar 10,16%.
3. Proses ekstraksi untuk mendapatkan konsentrat protein diperoleh dengan rendemen sebesar 9,87%, pembuatan hidrolisat dengan rendemen 48,33-53,67%, sedangkan isolat dengan rendemen rata-rata 8,32%.
4. Kandungan asam amino total pada konsentrat, hidrolisat dan isolat didominasi oleh asam amino prolin dan asam glutamat, yaitu 5,17 dan 3,23% untuk konsentrat, 7,45 dan 6,03% untuk hidrolisat, serta 6,33 dan 5,80 untuk isolat protein daging teripang.
5. Uji daya hambat enzim  $\alpha$ -glukosidase menunjukkan hidrolisat protein teripang mempunyai aktivitas daya hambat tertinggi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase yaitu 86,25% pada konsentrasi 500 ppm, 74,14% (300 ppm), dan 71,74% (100 ppm). Isolat protein teripang 73,24% pada konsentrasi 500 ppm, 66,52% (300 ppm), dan 58,15% (100 ppm). Sedangkan konsentrat protein teripang 59,19% pada konsentrasi 500 ppm, 52,02% (300 ppm) dan 46,34% (100 ppm).
6. Uji aktifitas hipoglikemik memperlihatkan hidrolisat protein daging teripang dengan dosis 300 mg/kg bb, sudah memperlihatkan daya hipoglikemiknya pada menit ke-30 dengan kadar gula darah 98,2 mg/dl. Untuk isolat baru memperlihatkan daya hipoglikemiknya pada menit ke-90 dengan kadar glukosa darah tikus 95,2 mg/dl. Sedangkan konsentrat dengan dosis 300 mg/kg bb, memperlihatkan daya hipoglikemiknya pada menit ke-90 dengan kadar glukosa darah tikus 89,3 mg/dl.



## **5.2. Saran**

1. Analisis kandungan nutrisi untuk bagian kulit, jeroan dan gonad teripang sangat diperlukan untuk lanjutan penelitian ini.
2. Analisis kandungan komponen bioaktif yang terdapat pada teripang sangat diperlukan terutama untuk keperluan pangan fungsional dan peningkatan nilai ekonomis dari teripang

## DAFTAR PUSTAKA

- [ADA] American Diabetes Association. 2004. Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 27: S88-S90.
- [Dep.Kes] Departemen Kesehatan RI. 2005. Jumlah penderita diabetes Indonesia ranking ke-4 di dunia. *Berita Dep.Kes.RI*. 5 Seotember 2005.
- [DKP] Departemen Kelautan dan Perikanan. 2005. Statistik Perikanan Tangkap Indonesia 2004. Jakarta Departemen Kelautan dan Perikanan.
- [NDIC] National Diabetes Information Clearinghouse. 2005. Diabetes, Heart Disease, and Stroke. <http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/stroke/index.htm> [1 Desember 2007].
- [WHO] World Health Organization. 1980. Expert Committee on Diabetes Mellitus:Second Report. WHO Technical Report Series 646:1-80.
- [WHO] World Health Organization. 2006. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en>. [1 Desember 2007].
- Ansel HC. 1989. Introduction to Pharmaceutical Dosage Form. Lea and Febiger, Inc. New York.
- Anthony JC, Anthony TG, Layman DK. 1999. Leucine Supplementation Enhances Skeleton Muscle Recovery in Rats Following Exercise. *The Journal of Nutrition* 129: 1102-1106.
- Antoine F.R, C.I. Wei, R.C. Little and M.R. Marshall. 1999. HPLC method for analysis of free amino acids in fish using o-ptaldehyde precolumn derivatization. *J. Agric. Food Chem* 47:5100-5107.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. Publ, Washington DC.
- AOAC. 1995. Official methods of analysis of AOAC international sixteenth edition. Association of Official Analytical Chemist, Maryland.
- Arisandi A. 2007. Efektifitas Ekstrak Steroid Teripang untuk Memanipulasi Kelamin Udang Galah. Thesis. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Asikin N. 2001. Antioksidan endogen dan penilaian status antioksidan. Di dalam: *Prosiding Kursus Penyegar radikal bebas dan antioksidan dalam kesehatan: dasar aplikasi dan pemanfaatan bahan alam*. Jakarta 16 April 2001. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Astawan M, Wahyuni M, Yasuhara T, Yamada K, Tadokoro T, Maekawa A. 1994. Effects of Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Substances Derived from Indonesian Dried-salted fish on Blood Presure of Rats. *Biosci.Biotech.Biochem* 59(3):425-429.

- Baine M dan Forbes B. 2004. The taxonomy and exploitation of sea cucumbers in Malaysia. <http://www.sidsnet.org/pacific/spc/coasfish/news/BDM/10/1Baine.htm>. [12 April 2004].
- Bayer. 2004. Precose (Acarbose Tablets). <http://www.drugs.com> [12 juli 2011]
- Beart PM, O'Shea RD. 2007. Transportation for L-Glutamate: An Update on their Molecular Pharmacology and Pathological Involvement. *British Journal of Pharmacology* 150: 5-17.
- Boudreau MD, Taylor HW, Baker DG, Means JC. 2006 Dietary exposure to 2-aminoanthracene induces morphological imunocytochemical changes in pancreatic tissues of fisher-334 rats. *Toxicol Sci* 93:50-61.
- Carolyn D.B. 2001. Diabetes and Nutrition. The Mitochondrial Part 1,2. *J. Nutr.* 131:344S-353S.
- Chen J. 2005. Present Status and Prospect of Sea Cucumber Industry in China. FAO: [www.fao.org](http://www.fao.org) [20 Agustus 2007].
- Dalimartha S. 2004. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dewi K.H. 2008. Kajian Ekstraksi Steroid Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J) Sebagai Sumber Testosteron Alami.
- Dominiczak MH. 2005. Glucose homeostasis, fuel metabolism and insulin. Di dalam Baynes JW dan Dominiczak MH Editor. *Medical Biochemistry*. Second Edition. Elsvier Mosby. Hlm 197-273.
- Fardiaz D dan S. Fardiaz. 1987. Teknik Penelitian Protein. Monograf. Lab. Kimia dan Biokimia Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB Bogor.
- Farr AK, Braun RD, Cefalu WT, Bell-Farrow AD, Wang ZQ, Hatchell DL. 1999. Increased non enzymatically glycosylated protein in vitreous humor of diabetic animals. *Lab Anim Sci* 49:58-62
- Fechter H. 1969. *The Sea Cucumber*. Grzimek B, editor. *Grzimek's Animal Life Encyclopedia*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Firth F.E. 1974. *The Encyclopedia of Marine Resources*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Godwin M, Muirhead M, Huynh J, Helt B, Grimmer J. 1999. Prevalence of gestational diabetes mellitus among Swampy Cree women in Moose Factory, James Bay. *CMAJ* 160:1299-1302.
- Gosner K.L. 1971. *Guide to Identification of Marine and Estuarine Invertebrates*. New York: John Wiley & Sons.
- Gulfraz M, Qadir G, Noshhen F, Parveen Z. 2007. Antihyperglycemic effects of *Berberis lyceum* royle in alloxan induced diabetic rats. *Diabetologia croatic* 36 (3):49-54.
- Halliwell B. 2006. Reactive spesies and antioxidants: Redox biology I a fudamntal theme of aerobic life. *Plant physiology* 141:312-322.
- Hartono A. 2006. *Terapi Gizi dan Diet Rumah Sakit*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Hartono. 1992. Histologi Veteriner Organologi. Jilid ke-2. Laboratorium Histologi. Fakultas Kedokteran Hewan. IPB. Bogor.
- Hayden MR, Karuparthi PR, Manrique CM, Lastra G, Habibi J, Sowers JR. 2007. Longitudinal ultrastructure study of islet amyloid in the HP rat model of type 2 diabetes mellitus. *Exp Biol Med* 232:772-779.
- Hirsh AJ, Yao SY, Young DJ, Cheeseman CI. 1997 Inhibition of glucose absorption in the rat jejunum: A novel action of alpha-D-glucosidase inhibitors. *Gastroenterology* 113:205-211.
- Hough T, Kjuul AK, Styrvoid OB, Sandsdalen E, Olsen OM, Stensvag K. 2002. Antibacterial Activity in *Strongylocentrotus droebachiensis* (Echinoidea), *Cucurmaria frondosa* (Holothuroidea), and *Asferias rubens* (Asteroides). *Journal of Invertebrate Pathology* 81: 94-102.
- Inzucchi SE. 2002. Oral antihyperglycemic for type 2 diabetes: scientific review *JAMA* 287:360-372..
- Jacque S.R, Linda M.F, Heidi A.F, Delisa J.A, Rose L. 2004. Canine and Feline Diabetes Mellitus: Nature or Nature?. *J. Nutr.* 134:2072S-2080S.
- Jamiah J, June F, Ismail H, Idid S.Z and Ridzwan B.H. 2000. The effect ethanol extract from *Stichopus variegatus* Semper on the activity of adenosine deaminase and the level of serotonin in rats induced pleurisy. 15<sup>th</sup> Scien. Meeting of malay. Soc.Pharmac.Physiol. 8<sup>th</sup>-9<sup>th</sup>, USM, Kota Bharu.
- Johson AH and Peterson MS. 1974. *Encyclopedia of Food Technology*. Vol II. Westport: The AVI publ.Co.Inc.
- Kaswandi M.A, Lian H.H, Nurzakiah S, Ridzwan B.H, Ujang S, Samsudin M.W, Jasnizar S and Ali A.M. 2000. Crystal saponin from three sea cucumber genus and their potential as antibacterial agents. 9<sup>th</sup> Scientific Conference Eletron Microscopic Society. 12-14 November 2000. Kota Bharu, Kelantan. 273-276.
- Kerato M, Yamaguchi K, Takei S, Kino T, Yazawa K. 2006. Inhibitory effects of Pasuchaca (*Geranium dielsianum*) extract on  $\alpha$ -glukosidase in mouse. *Biosci Biotechnol Biochem* 70:1482-1484.
- Kim JS, Ju JB, Choi CW, Kim SC.2007. Hypoglycemic and antihyperlipidemic effect of four Korean medicinal plants in alloxan induced diabetic rats. *Am J Biochem and Biotech* 2:154-160.
- Kirk RE dan Othmer JB. 1953. *Encyclopedia of Food Technology*. Vol IX. New York: The Interscience Encyclopedia Inc.
- Kohen R, Nyska A. 2002. Oxidation of biological systems:oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reaction and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 30:620-650.
- Koswara S. 1992. Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadi Makanan Bermutu. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Kustiariyah. 2006. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Biologis Senyawa Steroid dari Teripang sebagai Aprodisiaka Alami. Thesis. Sekolah Pasca Sarjana. IPB

- Lehninger AL. 1993. Dasar Biokimia I. Thenawidjaja M. Penerjemah. Terjemahan: *Principles of Biochemistry*. Jakarta. Penerbit Erlangga.
- Lender HC. 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian Secara Klinis*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Lian H.H, Weng S.N, Ji S.M, Choi S, Jang S, and Lee S.K. 2003. A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activities astrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. *J of Steroid Biochem. And Mol. Biol.* 84:463-468.
- Linder MC. 2006. Nutrisi dan Metabolisme Karbohidrat. Parakksi A, penerjemah; Linder MC (ed). *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*. Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: *Nutritional Biochemistry and Metabolism*.
- Litwak KN, Cefalu WT, Wagner JD. 1998. Streptozotocin-induced diabetes mellitus in cynomolgus monkeys: Changes in carbohydrate metabolism, skin glycation and pancreatic islets. *Lab . Anim Sci.* 48:172-178.
- Martoyo J, Aji N dan Winanto Tj. 2004. *Budidaya Teripang*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nurjanah S. 2008. Identifikasi Steroid Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) dan Bioassay Produk Teripang sebagai Sumber Aprodisiaka Alami dalam Upaya Peningkatan Nilai Tambah Teripang. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Okada Y, Kawano AM, Kakar AA, Winter SJ. 2003. Evidence that GonadotropinReleasing Hormone (GnRH) II Stimulates Luteinizing Hormones and Follicle Stimulating Secreting from Monkey Pituitary Cultures by Activating GnRH I Receptor. *Biology of Reproduction* 69: 1356-1362.
- Penson DF, Ng C, Cai L, Raifer J, Cadavid NFG. 1996. Androgen and Pituitary Control of Penile Nitric Oxide Synthase and erectile Function in Rat. *Biology of Reproduction* 55: 567-574
- Pigeolet E, Phillipe C, Andree H, Dominique L, Carine M, Martine R, Marie DZ, Jose R. 1990. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase inactivation by peroxides and oxgen derived free radicals. *Mechanism of Aging and Development* 51:283-297.
- Ping L.S, Noor I, Lian H.H, Kaswandi M.A, Nurzakiah S and Ridzwan B.H. 2000. The effects of methanol extracts from sea cucumber *Holothuria atra* and *Stichopus variegatus* on wound healing in guinea pigs. 9<sup>th</sup> Scientifict Conference lectron Microscopic Society. 12-14 November 2000, Kota Bharu, Kelantan. 270-272.
- Purwati, P. 2005. Teripang Indonesia: Komposisi Jenis dan Sejarah Perikanan. *Oseana*, Vol XXX, No 2, 2005. LIPI. Oseanologi. Jakarta. Hal 11-18.
- Rimbawan dan Siagian A. 2004. *Indeks Glikemik Pangan*. Penebar Swadaya. Jakarta

- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V. 2004. B-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes* 53:S119-S124.
- Rubin A.L. 2004. *Diabetes for Dummies*, 2nd edition, Wiley Publishing, Indiana.
- Shaviklo GR. 2006. Quality assessment of fish protein isolates using surimi and standard methods. UNU- Fisheries Training Programme.
- Slagle M. 2002.  $\alpha$ -glukosidase inhibitors. *Souther Med Journal* [12juli 2011]
- Smith AB, Waisman HA. 1971. Adequate Phenylalanine Intake for Optimum Growth and Development in the Treatment of Phenylketonuria. *The American Journal of Clinical Nutrition* 24: 423-431.
- Soewoto H. 2001. Antioksidan eksogen sebagai lini pertahanan kedua dalam menanggulangi peran radikal bebas. Di dalam: *Prosiding Kursus Penyegar radikal bebas dan antioksidan dalam kesehatan: dasar aplikasi dan pemanfaatan bahan alam*. Jakarta 16 April 2001. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Stehle P, Weber S, Frst P. 1996. Parenteral Glycyl-L-Tyrosine Maintains Tyrosine Pools and Support Growth and Nitrogen Balance in Phenylalanine-Deficient Rats, *The Journal of Nutrition* 126(3): 663-667.
- Subagio A, Windrati W.S, Fauzi M, dan Witono Y. 2004. Karakterisasi protein myofibril dari Ikan Kuniran (*Upeneus moluccensis*) dan Ikan Mata Besar (*Selar crumenophthalmus*). *J.Tek & Indus Pang.* XV (1).2004.
- Supelco. 1985. Chromathography supplies GC, HPLC, capillari chemical standar 20<sup>th</sup> anniversary. International catalog 24.
- Takada J.2008. Metabolic recovery of adipose tissue is associated with improvement in insulin resistance in a model of experimental diabetes. *J.Endocrinology* 198:51-60.
- Tan C.L, Ridzwan B.H, dan Idid S.Z. 2000. Antinociceptive effect of water extracts and coelomic fluid from several species of sea cucumber in mice. 15<sup>th</sup> Scien. Meeting of Malay. Soc. Phaemac. Physio 18<sup>th</sup>-9<sup>th</sup>, USM, Kota Bharu.
- Tug T, Karatas F, Terzi SM, Ozdemir N. 2005. Comparison of serum malondialdehyde levels determined by two different methods in patients with COPD:HPLC or TBARS Methods. *Science* 36:41-44.
- Valko M, Leibfritz, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem & Cell Biol* 39:44-84.
- Wibowo S, Yunizal, Setiabudi E, Erlina MD dan Tazwir. 1997. *Teknologi Penanganan dan Pengolahan Teripang (Holothuridea)*. Jakarta IPPL. Slipi.
- Widowati S. 2007. Pemanfaatan Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis O. Kuntze*) dalam Pengembangan Beras Fungsional untuk Penderita Diabetes Mellitus. Disertasi. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Winarno FG. 1983. Enzim pangan. Cetakan kedua. Jakarta. PT Gramedia.  
Yildiz F. 2010. Amino Acid, Oligopeptides, Polypeptides, and Proteins. Yildiz F  
(ed). Advances in Biochemistry. CRC Press: USA. pp 51-60.