



BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

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

4.1.1. Karakteristik Fisik Teripang Pasir

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 diselimuti lapisan kapur. Tubuh teripang kesat, berotot tebal dengan kulit berbintik-bintik. Karakteristik ini sesuai dengan karakteristik teripang pasir (*Holothuria scabra* J) (Dewi 2008, Karnila 2012). Secara lengkap bentuk teripang yang digunakan sebagai bahan baku dapat dilihat pada Gambar 2.



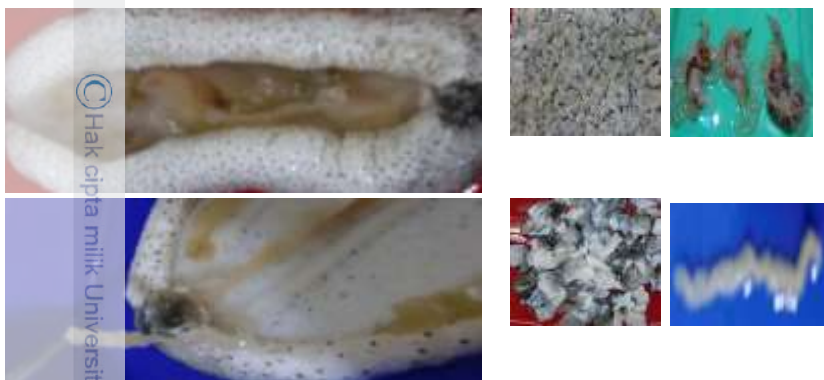
Gambar 2. Bahan baku teripang pasir



4.1.2. Persentase Bagian Tubuh Teripang Pasir

Panjang rata-rata teripang yang digunakan pada penelitian ini berkisar antara 25-30cm dengan bobot antara 200-400 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 (Karnila 2012). 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 (Karnila 2012). Bagian-bagian tubuh teripang setelah dilakukan pembedahan dapat dilihat pada Gambar 3. Pembedahan dilakukan pada bagian bawah tubuh dari bagian anterior ke bagian posterior. Perbandingan bagian-bagian tubuh teripang pasir dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 3. Bagian tubuh teripang pasir



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

Tabel 1. Persentase bagian tubuh teripang pasir

No	Bagian Tubuh Teripang	Berat (gram)*	Persentase (%) Bobot*
1	Daging	126,20	37,62
2	Jeroan dan Gonad	32,40	9,66
3	Kulit	74,22	22,13
4	Air dan Kotoran	102,60	30,59
	Total	335,42	100

*hasil dari tiga kali pengukuran

Proporsi antara bagian tubuh daging: jeroan dan gonad: kulit: air dan kotoran adalah 4:3:2:1 (b/b) (Karnila 2012). Persentase terbesar adalah bagian daging yang mencapai 37,62%. 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 22,13%. 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 tertempel 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 30,59%. Sistem pencernaan teripang berbentuk



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

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.

4.1.3. Analisis Kimia (Proksimat) Kulit Teripang Pasir

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

Tabel 2. Hasil analisis kimia (proksimat) kulit teripang pasir

Pengukuran	Kadar Air (%)	Kadar Abu (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Protein (%)	Karbohidrat (%)
1	63.67	28.46	1.18	5.73	0.96
2	65.40	27.82	1.32	4.68	0.78
Rata-rata	64.54	28.14	1.25	5.21	0.87

Kadar protein daging teripang pada Tabel 2 terlihat cukup tinggi yaitu rata-rata 5,21%. Kondisi ini menunjukkan bahwa kulit teripang memiliki nilai nutrisi yang baik sebagai sumber protein. Protein di dalam tubuh dapat berupa cadangan makanan, zat pembangun dan zat pengatur (enzim, antibodi, dan lain-lain). 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,



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

yang berperan dalam reproduksi baik untuk meningkatkan libido maupun pembentukan spermatozoa.

Kandungan lemak daging teripang rata-rata 1,25%. Kandungan lemak kulit 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).

Kadar abu kulit teripang rata-rata 28,14%, menunjukkan sangat tinggi, disebabkan 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%bb (Dewi 2008) dan 48,3%bb (Wibowo *et al.* 1997).

Secara keseluruhan hasil analisis kandungan nutrisi (proksimat) kulit teripang pasir dapat disimpulkan bahwa kulit teripang memiliki mengandung nutrisi yang cukup tinggi yaitu 64,54% air, 5,21% protein, 1,25% lemak, 28,14% abu, dan 0,87% karbohidrat. Kandungan nutrisi tersebut dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein, sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomis teripang.



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

4.2. Pembuatan Hidrolisat, Isolat, dan Konsentrat Kulit Teripang

4.2.1. Tepung Kulit Teripang

Rendemen merupakan parameter penting dalam proses pembuatan tepung teripang. Tepung kulit teripang yang dihasilkan berwarna abu-abu kusam. Proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan freeze dryer, bertujuan untuk mempertahankan kandungan nutrisi kulit teripang disamping untuk mencegah terjadinya *browning* atau perubahan warna menjadi coklat. Rendemen diperoleh dengan cara menghitung total tepung yang dihasilkan, kemudian dibagi berat kulit teripang segar yang digunakan dikalikan seratus persen. Hasil perhitungan rendemen yang dihasilkan pada pembuatan tepung kulit 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%.

Tabel 3. Rendemen pembuatan tepung kulit teripang pasir

Ulangan	Berat Kulit Teripang (gram)	Hasil Freeze Dryer Kulit Teripang (gram)		Penepungan Freeze Dryer (gram)	Rendemen Tepung (%)
		Berat (gram)	Persentase (%)		
1	1200	125.8	10.48	114.74	9.56
2	1300	127.66	9.82	118.64	9.13
3	1500	138.4	9.23	126.54	8.44
Rerata	1333.33	130.62	9.84	119.97	9.04

Analisis kandungan nutrisi (proksimat) dilakukan untuk mengetahui kandungan lemak, protein, kadar abu, dan



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

kadar air yang dikandung tepung kulit teripang dengan bahan baku bagian kulit teripang. Hasil analisis kandungan nutrisi (proksimat) tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengukuran kandungan nutrisi (proksimat) tepung kulit teripang pasir

Ulangan	Kadar Air (%)	Kadar Abu (%)	Kadar Lemak (%)	Kadar Protein (%)	Kadar Karbohidrat (%)
1	11,60	32,28	1,40	59,12	2,60
2	10,28	30,54	1,20	62,02	2,30
Rerata	10,94	31,41	1,30	60,57	2,45

Dari Tabel 4 terlihat bahwa dari 4 kali pengukuran, kandungan lemak tepung kulit teripang rata-rata 1,30%, sedangkan kandungan protein rata-rata 60,57%. Protein dalam tubuh berfungsi sebagai cadangan makanan, zat pembangun dan pengatur, pembentuk jaringan baru, sebagai sumber energi, enzim serta membentuk antibodi dan 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 cukup tinggi dengan rata-rata 31,41%. 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).

4.2.2. Hidrolisat Kulit Teripang

Hidrolisat protein merupakan produk hasil dari hidrolisis protein yang prinsip pembuatannya adalah



2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

pemutusan ikatan peptida pada protein dengan menggunakan enzim. Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis protein teripang dalam penelitian ini adalah enzim tripsin. Enzim tripsin merupakan sebuah rantai tunggal polipeptida, terdiri dari 223 residu asam amino dan diproduksi sebagai proenzyme tidak aktif, yakni tripsinogen. Tripsinogen merupakan enzim inaktif yang harus diaktifkan terlebih dahulu oleh enzim enterokinase yang dihasilkan oleh usus halus, selanjutnya tripsinogen berubah menjadi tripsin yang aktif. Tripsin termasuk golongan enzim monomerik dan bekerja spesifik memotong rantai peptida terutama di sisi karboksil dari asam amino lisin atau arginin (Jones & Persaud 2010). Proses hidrolisis protein menggunakan enzim tripsin dilakukan selama 24 jam, sehingga diharapkan dapat menghasilkan hidrolisat dengan kandungan asam amino dalam bentuk bebas yang tinggi.

Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan hidrolisat protein kulit teripang ini dapat dilihat pada Tabel 5

Tabel 5. Rendemen pembuatan hidrolisat protein kulit teripang pasir

Percobaan	Berat Sampel /Tepung Kulit (g)*	Hasil Dryer (g)		Freeze	Rendemen (%)			Rata-rata rendemen (%)
		1	2		1	2	3	
I	2	0.86	0.68	0.74	43	34	37	38,00
II	3	1.26	1.08	1.07	42	36	35,67	37,89
II	4	1.48	1.56	1.24	37	39	31	35,67

* Tiga kali ulangan

4.2.3. Isolat Kulit Teripang

Isolat protein merupakan bentuk protein yang paling murni. Isolat dibuat dengan proses penghilangan komponen non-protein, sehingga kandungan proteinnya maksimal 80% berat kering atau lebih, dan produk ini hampir bebas dari



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

karbohidrat, serat, dan lemak, sehingga sifat fungsionalnya jauh lebih baik daripada bentuk protein lainnya. Kandungan protein yang cukup tinggi menjadikan isolat dapat digunakan secara luas dalam pembuatan formulasi pangan serta menghasilkan sifat fungsional yang diinginkan dalam proses pembuatan pangan. Isolat protein yang diperoleh dapat berbentuk pasta atau tepung, dan mempunyai kadar protein lebih tinggi dibandingkan dengan bahan asalnya. Pada prinsipnya isolasi protein terdiri dari tahap ekstraksi protein dalam medium pengeksrak, penghilangan bahan tidak larut dengan sentrifuse, filtrasi, atau kombinasinya, pengendapan, pencucian dan pengeringan isolat. Penelitian ini menggunakan metode pemisahan protein dengan pengaturan pH yaitu menggunakan pH sekitar 11 untuk melarutkan protein teripang, kemudian dilakukan pengendapan pada pH isoelektriknya sekitar pH 3, selanjutnya dilakukan proses sentrifugasi dan pengeringan.

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

Tabel 6. Rendemen pembuatan isolat protein kulit teripang pasir

Percobaan	Berat Sampel /Tepung Kulit (g)*	Hasil Freeze Dryer (g)			Rendemen (%)			Rata-rata rendemen (%)
		1	2	3	1	2	3	
I	50	2.12	1.88	2.28	4.24	3.76	4.56	4.19
II	75	2.80	3.2	2.92	3.73	4.27	3.89	3.96
III	100	2.94	3.45	3.60	2.94	3.45	3.60	3.33
Rata-rata								3,83

4.2.4. Konsentrat Kulit Teripang

Konsentrat protein merupakan produk pekatan protein yang memiliki kandungan protein minimal 70%. Konsentrat protein dibuat dengan cara menghilangkan komponen non-protein seperti lemak, karbohidrat, mineral, dan air, sehingga kandungan protein produk menjadi lebih tinggi dibandingkan



Repository Universitas Riau
https://repository.unri.ac.id/

1. bahan baku aslinya. Penghilangan komponen non-protein pada pembuatan konsentrat protein dapat dilakukan dengan proses ekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan menggunakan larutan alkohol atau larutan asam. Pelarut alkohol yang digunakan merupakan pelarut organik yang bersifat polar yang memiliki kemampuan untuk memisahkan ekstraksi gula larut air dan lemak tanpa melarutkan proteinnya. Pelarut yang dapat digunakan adalah aseton (Amoo *et al.* 2006). Aseton dikenal sebagai propanon, dimetil keton, 2-propanon, propan-2-on, dimetilformaldehida, dan β -ketopropana merupakan senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna, larut dalam air, etanol, eter, kloroform, dan minyak. Aseton memiliki konstanta dielektrik 20.7, suhu didih 56.2 °C, dan suhu lebur - 94.3 °C.

2. Rendemen yang dihasilkan pada pembuatan konsentrat protein kulit teripang ini dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 Rendemen pembuatan konsentrat protein kulit teripang pasir

Perco baan	Berat Sampel / Tepung Kulit (g)*	Hasil Freeze Dryer (g)			Rendemen (%)			Rata-rata rendemen (%)
		1	2	3	1	2	3	
I	50	40.12	42.3	38.88	80.24	84.6	77.76	80.87
II	75	60.40	58.46	54.3	80.53	77.95	72.40	76.96
III	100	80.98	76.54	79.82	80.98	76.54	79.82	79.11
Rata-rata								78.98

* Tiga kali ulangan

Rendemen merupakan parameter penting dalam proses pembuatan hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang. Rendemen diperoleh dengan cara menghitung total hidrolisat, konsentrat, dan isolat yang dihasilkan, kemudian dibagi berat bahan baku yang digunakan (tepung kulit teripang) dikalikan seratus persen.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Perbedaan rendemen yang dihasilkan ini, disebabkan oleh perbedaan metode yang digunakan. Konsentrat protein kulit teripang memiliki rendemen paling tinggi, karena tahapannya pembuatannya melakukan ekstraksi dengan aseton yang bertujuan hanya untuk penghilangan komponen non-protein berupa lemak saja, sehingga konsentrat protein kulit teripang yang dihasilkan masih mengandung komponen-komponen lain selain lemak. Isolat protein kulit teripang memiliki rendemen yang rendah, diduga pH kelarutan protein teripang dan pH isoelektriknya yang belum tepat. Rendemen hidrolisat protein kulit teripang yang dihasilkan dapat dikategorikan cukup tinggi, karena penggunaan enzim pada proses hidrolisisnya sehingga kerjanya lebih spesifik dan tingkat kerusakan protein lebih kecil.

4.2.5. Komposisi Kimia Hidrolisat, Isolat, dan Konsentrat Protein Kulit Teripang

Hasil pengukuran proksimat (kadar air, protein, lemak, abu, karbohidrat), jenis dan kadar asam amino total untuk hidrolisat, isolat dan konsentrat protein kulit teripang dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Analisis proksimat hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang pasir

Komponen	Hidrolisat	Konsentrat	Isolat
Air (%bb)	14.20	13.90	10.26
Abu (%bk)	10.22	15.32	13.54
Lemak (%bk)	1.52	1.60	1.70
Protein (%bk)	83.10	68.15	76.30
Karbohidrat (%bk)	1.88	7.40	5.50

4.2.6. Jenis dan Kadar Asam Amino Total dan Bebas

Berdasarkan beberapa hasil penelitian sebelumnya, telah diketahui bahwa asam amino dapat dikelompokkan



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

menjadi dua kelompok yaitu kelompok asam amino yang telah diketahui kemampuannya menstimulasi sekresi insulin (asam amino penstimulasi insulin) dan asam amino yang belum diketahui kemampuannya menstimulasi sekresi insulin (asam amino non-penstimulasi insulin). Kelompok asam amino penstimulasi insulin terdiri dari leusin, arginin, lisin, alanin, fenilalanin, isoleusin, dan metionin. (Newsholme *et al.* 2007, Liu *et al.* 2008, dan Kanetro 2009). Hasil analisis jenis dan kadar asam amino total dan bebas pada hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang disajikan pada Tabel 9

Tabel 9. Profil asam amino total dan bebas hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang pasir

Kelompok asam amino	Asam Amino	Profil asam amino total (%bk)			Profil asam amino bebas (%bk)		
		HPT	KPT	IPT	HPT	KPT	IPT
Penstimulasi insulin	Leusin	1.90	1.98	1.78	0.18	0.00	0.00
	Arginin	2.12	3.70	2.71	0.20	0.00	0.01
	Lisin	0.09	1.10	1.34	0.23	0.02	0.01
	Alanin	4.66	3.20	2.48	0.08	0.01	0.01
	Fenilalanin	1.20	0.78	1.58	0.44	0.06	0.06
	Isoleusin	1.60	1.41	1.36	0.01	0.00	0.00
	Metionin	0.20	0.41	0.43	0.14	0.00	0.01
Jumlah		11.77	12.58	11.68	1.38	0.09	0.10
Non-penstimulasi insulin	As. aspartat	3.22	2.50	3.18	0.01	0.00	0.00
	As. glutamat	7.28	5.22	6.70	0.09	0.04	0.06
	Serin	1.10	0.90	1.08	0.08	0.00	0.02
	Histidin	0.10	0.06	0.00	0.08	0.00	0.00
	Glisin	7.02	5.30	3.60	0.06	0.00	0.00
	Treonin	2.16	1.88	2.45	0.06	0.01	0.02
	Tirosin	1.20	1.10	1.18	0.20	0.00	0.01
	Valin	3.15	2.42	1.60	0.60	0.01	0.00
Jumlah		26.33	19.38	19.79	1.18	0.06	0.11
Total		38.10	31.96	31.47	2.56	0.15	0.21

Kadar asam amino total menunjukkan perbedaan tidak terlalu besar antara hidrolisat, konsentra, dan isolat, baik untuk kelompok asam amino penstimulasi insulin maupun non-penstimulasi insulin. Asam amino penstimulasi insulin didominasi oleh asam amino alanin, sedangkan non-stimulasi



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

insulin didominasi oleh asam glutamat dan glisin. Sebaliknya untuk kadar asam amino bebas, hidrolisat memiliki kadar asam amino bebas jauh lebih tinggi dibandingkan konsentrat dan isolat, baik untuk kelompok asam amino penstimulasi insulin maupun non-penstimulasi insulin. Jenis asam amino bebas penstimulasi insulin pada hidrolisat didominasi oleh asam amino fenilalanin, lisin dan arginin, sedangkan non penstimulasi insulin didominasi oleh asam valin dan tirosin. Tingginya kadar asam amino bebas pada hidrolisat disebabkan oleh terjadinya degradasi protein yang dikatalisis oleh enzim tripsin.

Proses hidrolisis protein kulit teripang menggunakan enzim tripsin dapat meningkatkan kadar asam amino yang dibebaskan oleh enzim tersebut pada hidrolisat yang dihasilkan dibandingkan proses isolasi menggunakan pengaturan pH titik isoelektrik dan proses ekstraksi menggunakan pengestrak aseton. Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis menggunakan enzim tripsin telah mengakibatkan degradasi protein yang dikatalisis oleh enzim tripsin yang bekerja secara endopeptidase yaitu mendegradasi protein mulai dari bagian tengah rantai peptida, kemudian degradasi dilanjutkan oleh peptida hidrolase menjadi asam amino bebas.

4.3. Aktivitas Hipoglikemik

Hasil pengukuran kadar glukosa darah seluruh sampel uji (hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang) dibuat dalam bentuk kurva dan dibandingkan aktivitas hipoglikemiknya. 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



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
 2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.
- manusia sebagaimana hasil penelitian Marsono *et al.* 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. Aktivitas hipoglikemik hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang dapat ditentukan dengan cara menghitung perubahan kadar glukosa darah, yaitu selisih antara kadar glukosa darah setelah konsumsi hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang terhadap kadar glukosa darah puasa (Tabel 10, 11, dan 12). Data tersebut kemudian diplot pada kurva dan aktivitas hipoglikemik ditunjukkan dengan luas area di bawah kurva dari masing-masing perlakuan. Semakin besar luas area di bawah kurva atau semakin tinggi respon glikemiknya berarti aktivitas hipoglikemiknya semakin rendah (Widowati 2007).
- Tabel 10. Perubahan kadar glukosa darah tikus setelah pemberian hidrolisat protein kulit teripang terhadap kadar glukosa darah puasa**
- | No | Perlakuan | Perubahan kadar glukosa darah (mg/dl) | | | | | | | Luas kurva (mm ²) |
|----|-------------------------|---------------------------------------|---|------|-----|------|-------|---------|-------------------------------|
| | | Puasa | Setelah pemberian perlakuan Hidrolisat Protein Kulit Teripang | | | | | | |
| | | | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | | |
| 1. | KN | 0 | 1.7 | 0.9 | 0.3 | 1.9 | 0.7 | 498.45 | |
| 2. | KP | 0 | 4.4 | 14.4 | 2.6 | -5.8 | -11.2 | 2678.40 | |
| 3. | Acarbose | 0 | 6.1 | 4.4 | 5.6 | -2.2 | -4.6 | 864.60 | |
| 4. | 100 mg/kg bb Hidrolisat | 0 | 5.8 | 3.4 | 2 | -1.4 | -4.9 | 1788.96 | |
| 5. | 200 mg/kg bb Hidrolisat | 0 | 8.8 | 6 | 2.4 | 0.8 | -1.5 | 1540.78 | |
| 6. | 300 mg/kg bb Hidrolisat | 0 | 8.1 | 7.6 | 1.9 | -0.4 | -5.4 | 1120.38 | |
- Hasil sidik ragam (ANOVA) aktivitas hipoglikemik perlakuan hidrolisat protein kulit teripang menunjukkan



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap luas area di bawah kurva kadar glukosa darah. Uji lanjut Duncan menunjukkan kelompok perlakuan hidrolisat protein kulit teripang 300 mg/kg bb memiliki luas area di bawah kurva sangat nyata lebih kecil dibandingkan kelompok perlakuan kontrol positif (tikus DM). Hal tersebut berarti perlakuan pemberian hidrolisat protein kulit teripang 300 mg/kg bb memiliki kemampuan dan sifat hipoglikemik terbaik.

Perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap luas area di bawah kurva kadar glukosa darah, juga diperlihatkan oleh perlakuan konsentrat protein kulit teripang berdasarkan hasil sidik ragam (ANOVA). Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan kelompok perlakuan konsentrat protein kulit teripang 300 mg/kg bb memiliki luas area di bawah kurva sangat nyata lebih kecil dibandingkan kelompok perlakuan kontrol positif (tikus DM). Hasil ini berarti perlakuan pemberian konsentrat protein kulit teripang 300 mg/kg bb memiliki kemampuan dan sifat hipoglikemik terbaik.

Tabel 11. Perubahan kadar glukosa darah tikus setelah pemberian konsentrat protein kulit teripang terhadap kadar glukosa darah puasa

No	Perlakuan	Perubahan kadar glukosa darah (mg/dl)						Luas kurva (mm ²)
		Puasa	Setelah pemberian perlakuan Hidrolisat Protein Kulit Teripang					
			30	60	90	120	150	
1.	KN	0	1.7	0.9	0.3	1.9	0.7	498.45
2.	KP	0	44	14.4	2.6	-5.8	-11.2	2678.40
3.	Acarbose	0	6.1	4.4	5.6	-2.2	-4.6	864.60
4.	Konsentrat 100 mg/kg bb	0	21.2	15.6	0.7	-1.1	-1.3	2367.10
5.	Konsentrat 200 mg/kg bb	0	19	16.3	7.5	3.2	0.8	2298.42
6.	Konsentrat 300 mg/kg bb	0	15.9	10.5	0.5	-1.1	-2.2	1886.34



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh sidik ragam (ANOVA) pada pemberian perlakuan isolat protein kulit teripang yang berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap luas area di bawah kurva kadar glukosa darah. Selanjutnya hasil uji lanjut Duncan memperlihatkan kelompok perlakuan isolat protein kulit teripang 300 mg/kg bb memiliki luas area di bawah kurva yang sangat nyata lebih kecil dibandingkan kelompok perlakuan kontrol positif (tikus DM), sedangkan kelompok perlakuan isolat protein kulit teripang 100 dan 200 mg/kg bb tidak berbeda nyata. Data ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan pemberian isolat protein kulit teripang 300 mg/kg bb memiliki kemampuan dan sifat hipoglikemik terbaik.

Tabel 12. Perubahan kadar glukosa darah tikus setelah pemberian isolat protein kulit teripang terhadap kadar glukosa darah puasa

No	Perlakuan	Perubahan kadar glukosa darah (mg/dl)						Luas kurva (mm ²)
		Puasa	Setelah pemberian perlakuan Hidrolisat Protein Kulit Teripang					
			30	60	90	120	150	
1.	KN	0	1.7	0.9	0.3	1.9	0.7	498.45
2.	KP	0	44	14.4	2.6	-5.8	-11.2	2678.40
3.	Acarbose	0	6.1	4.4	5.6	-2.2	-4.6	864.60
4.	Isolat 100 mg/kg bb	0	17.5	15.4	12.2	7	3.6	2190.20
5.	Isolat 200 mg/kg bb	0	13.9	9.6	5.1	2.8	0.7	2038.00
6.	Isolat 300 mg/kg bb	0	11.4	5.9	6.8	2.2	-4.2	1658.70

KN=kontrol negatif, KP=kontrol positif, Acarbose= kontrol obat.

4.4. Komposisi Kimia Ransum Tikus Percobaan

Komposisi ransum tikus percobaan disusun berdasarkan ransum standar metode AOAC (1995). Sebanyak 35 ekor tikus percobaan digunakan pada tahap ini, yang terlebih dahulu diadaptasikan selama satu minggu. Selama percobaan tikus diberi minum secara *ad libitum* dan ransum



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

ransum standar (AOAC 1995) dengan formulasi terlihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Formulasi ransum standar tikus percobaan (per 100 g, AOAC 1995)

Komposisi	Jumlah (%)	Bahan	Berat ditimbang (g)
Protein	10	Kasein	11.99
Lemak	8	Minyak Jagung	7.98
Air	5	Aquades	3.81
Mineral	5	Mineral mix	4.91
Serat	1	CMC	0.98
Vitamin	1	Fitkom	1
Karbohidrat	70	Pati Jagung	69.33

Sumber protein yang digunakan adalah kasein, dengan sumber lemak adalah minyak jagung (*corn oil*). Mineral yang digunakan adalah *mineral mix* yang terdiri dari KI 0.79 g, NaCl 139.30 g, KH_2PO_4 389.99 g, MgSO_4 anhidrat 53.70 g, CaCO_3 381.40 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 27 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.01 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.55 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.48 g dan $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.02 g (Muchtadi 2010). Air yang digunakan adalah aquades, dengan sumber serat yaitu CMC. Vitamin yang digunakan adalah fitkom rasa jeruk yang terdiri dari beberapa jenis vitamin yaitu vitamin A, vitamin B₁, vitamin B₂, vitamin B₆, vitamin B₁₂, vitamin C, vitamin D₃, nicotinamidum, kalsium pantotenat dan vitamin E. Sedangkan jenis pati yang digunakan adalah pati jagung (*corn starch*).

4.5. Hewan Model Diabetes Melitus dan Induksi Aloksan

Hewan model yang banyak digunakan secara luas dalam penelitian diabetes adalah tikus, kelinci, maupun hewan primata. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa penggunaan hewan model ini dapat menggambarkan dengan baik berbagai keadaan diabetes pada manusia baik dari aspek fisiologis, morfologi maupun homogenitas



genetiknya. Hewan model juga merupakan sarana yang baik untuk memanipulasi keadaan yang tidak memungkinkan dilakukan pada manusia (Widowati 2007). Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan *Sparague Dawley*. Hewan ini telah diketahui sifatnya dengan baik, mudah dipelihara, relatif sehat dan peka terhadap pengaruh perlakuan dalam komponen dietnya.

Tikus percobaan diperoleh dari Pusat Studi Biofarmaka LPB, dengan berat badan antara 150-200 g. Tikus percobaan sebelum digunakan, terlebih dahulu dilakukan adaptasi selama satu minggu dengan tujuan agar tikus percobaan terbiasa dengan lingkungannya. Selama masa adaptasi, tikus diberi ransum standar dan diberi minum secara *ad libitum*.

Hewan model untuk diabetes melitus yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan hasil induksi eksperimental, dengan bahan kimia diabetogenik. Aloksan dan streptozotosin (STZ) merupakan senyawa diabetogenik, dengan dosis tertentu dapat menyebabkan kerusakan selektif terhadap sel-sel beta pankreas sehingga menghasilkan hiperglikemia permanen yang merupakan salah satu ciri DM tipe I (IDDM). Penelitian ini menggunakan aloksan dengan dosis tunggal 110 mg/kg berat badan tikus (Wresdiyati *et al.* 2008). Penggunaan dosis ini setelah dua hari dapat menghasilkan tikus hiperglikemia permanen sekitar 85%. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Widowati (2007) dan Karnila (2012) dengan dosis yang sama menghasilkan tikus hiperglikemia permanen sekitar 90%. Penggunaan dosis ini masih dalam kisaran yang dilaporkan oleh Szkudelski (2001) yaitu 70-120 mg/kg bb. Tikus percobaan sebelum diinduksi aloksan, kadar gula darah tikus diukur terlebih dahulu untuk memastikan bahwa tikus dalam keadaan normal dan sehat atau tidak menderita diabetes melitus.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

4.6. Perubahan Kadar Glukosa Darah Tikus Percobaan

Beberapa peneliti melaporkan bahwa dosis aloksan yang dapat menghasilkan kondisi hiperglikemia permanen tergantung dari jenis, umur dan kondisi hewan percobaan. Cooperstein dan Watkins (1981) melaporkan bahwa penggunaan aloksan mempengaruhi kadar glukosa darah, dan apabila diplotkan dalam kurva terbagi menjadi tiga fase. Fase pertama terjadi hiperglikemia yang berlangsung selama 1-4 jam setelah injeksi, yang diikuti fase hipoglikemia antara 6-12 jam, dan fase ketiga hiperglikemia permanen pada 12-24 jam setelah injeksi. Kadang-kadang sebelum fase pertama, terjadi hipoglikemia singkat yaitu 20-30 menit setelah injeksi aloksan. Hal ini yang menyebabkan seleksi tikus DM dalam penelitian ini dilakukan setelah dua hari injeksi aloksan. Awalnya penelitian ini ingin menggunakan tikus dengan variasi kadar gula darah awal antar hewan model yang kecil, yaitu berkisar 250-300 mg/dl (DM sedang). Namun ternyata sangat sulit untuk mendapatkan kondisi yang diinginkan, oleh karena itu semua tikus percobaan DM dengan kadar glukosa awal lebih dari 200 mg/dl digunakan dalam penelitian ini.

Kemampuan hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus percobaan dievaluasi melalui pengukuran kadar glukosa darah tikus selama masa percobaan. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setiap 4 hari dalam 28 hari masa percobaan. Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus tampak pada Tabel 14. Hasil penelitian menunjukkan kadar glukosa darah tikus percobaan yang diberi perlakuan hidrolisat, konsentrat, dan isolat protein kulit teripang mengalami penurunan dibandingkan kontrol positif yang cenderung sedikit fluktuatif dan meningkat sampai akhir masa percobaan, sedangkan kontrol negatif kadar glukosa



darahnya tetap normal. Rata-rata kadar glukosa awal masing-masing kelompok berkisar antara 315 mg/dl sampai dengan 378.6 mg/dl.

Tabel 14. Rata-rata kadar glukosa darah tikus selama 28 hari percobaan (mg/dl) (n=5)

Hari ke-	Kelompok Perlakuan				
	KN	KP	DM+HPKT	DM+KPKT	DM+IPKT
0	121.0	315.0	316.8	342.6	378.6
4	118.4	488.6	338.6	380.2	388.4
8	120.8	520.4	320.4	402.4	380.2
12	121.6	512.8	318.6	382.6	352.4
16	121.8	514.6	300.2	370.6	348.8
20	122.2	500.2	288.4	365.8	350.4
24	121.4	494.4	280.2	344.4	332.8
28	122.8	508.8	244.8	326.2	318.2

KN=kontrol negatif (tikus normal), KP=kontrol positif (tikus DM), DM+HPKT=kelompok DM yang diberi hidrolisat protein kulit teripang, DM+KPKT=kelompok DM yang diberi konsentrat protein kulit teripang, DM+IPKT=kelompok DM yang diberi isolat protein kulit teripang.

Hasil penelitian memperlihatkan kadar glukosa darah kelompok tikus perlakuan kontrol positif (tikus DM) berfluktuasi dan mengalami kenaikan selama 28 hari percobaan, sebaliknya untuk kelompok tikus DM yang diberi perlakuan HPKT, KPKT, dan IPKT cenderung mengalami penurunan kadar glukosa darah selama 28 hari percobaan, sedangkan kelompok tikus kontrol negatif (tikus normal) kadar glukosa darahnya tetap normal (121.0-122.8 mg/dl). Kelompok tikus perlakuan DM+HPKT memiliki penurunan rata-rata kadar glukosa paling besar yaitu 72.0 mg/dl (22.79%), dibandingkan kelompok perlakuan DM+IPKT (60.4 mg/dl atau 15.9%), dan kelompok DM+KPKT (16.4 mg/dl atau 4.8%), apalagi dengan kelompok tikus kontrol positif yang memiliki kadar glukosa darah terus meningkat dengan rata-rata peningkatan 193.8 mg/dl (61.5%). Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan HPKT memiliki kemampuan lebih baik dalam menghambat laju kenaikan kadar glukosa



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

darah pada individu yang menderita DM. Hal ini tentu saja belum bisa digunakan sebagai acuan secara langsung, namun demikian hidrolisat protein kulit teripang telah memberikan dampak dalam pengendalian kadar glukosa darah pada tikus percobaan. Hidrolisat protein kulit teripang bukan obat atau pengganti obat, namun ada harapan apabila dikonsumsi dapat membantu mengendalikan kadar glukosa darah penderita DM.

Kemampuan hidrolisat protein kulit teripang menekan kenaikan kadar glukosa darah pada tikus diabetes diduga melalui kemampuan asam amino bebas yang dikandung hidrolisat protein teripang yang dapat menstimulasi sel beta untuk mensekresi insulin. Hal ini terkait dengan penelitian Newsholme *et al.* (2007) dan Karnila (2012) yang menyatakan bahwa beberapa asam amino seperti leusin, arginin, lisin, alanin, fenilalanin, isoleusin, dan metionin dalam bentuk bebas mampu menstimulasi sekresi insulin. Kenaikan kadar insulin dapat meningkatkan dan mempercepat metabolisme glukosa sehingga kadar glukosa darah menjadi normal kembali. Kadar insulin yang tinggi dapat pula menstimulasi sebagian besar komponen karbohidrat diubah menjadi energi.

4.7. Perubahan Berat Badan Tikus Percobaan

Salah satu ciri umum penderita diabetes adalah terjadinya perubahan berat. Sardesai (2003) menyatakan bahwa DM ditandai dengan poliurea, polidipsia, poliphagia dan penurunan berat badan serta lemah. Kadar glukosa darah melebihi 180 mg/dl, menyebabkan terjadinya pembuangan glukosa ke urine, karena ginjal tidak dapat menahan lagi, sehingga kadar glukosa urine tinggi dan akan menarik air dalam jumlah besar karena adanya daya osmotik dari gula. Kondisi ini menyebabkan volume urine akan meningkat dan



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.
- penderita DM akan sering kencing (poliurea). Penarikan air yang terlalu banyak, akan mengganggu neraca air di dalam tubuh, sehingga menimbulkan rasa haus terus-menerus (polidipsia). Penderita DM memiliki kadar glukosa berlebihan dalam darah, namun tidak dapat dimanfaatkan menjadi sumber energi sel (*glucose-storred state*), sehingga tubuh menjadi lemah dan mengakibatkan terjadinya rasa lapar yang berlebihan (poliphagia). Selanjutnya untuk memenuhi kebutuhan energi, tubuh harus melakukan perombakan sumber energi lain yaitu lemak dan protein, akibatnya akan terjadi penurunan berat badan.
- Pengukuran berat badan tikus selama masa percobaan dilakukan setiap 4 hari selama 28 hari percobaan. Hasil pengukuran berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 15. Kelompok tikus kontrol negatif (tikus normal) selama masa percobaan menunjukkan berat badan yang stabil, bahkan meningkat terus sesuai dengan karakteristik tikus sehat. Kondisi berbeda terlihat pada kelompok tikus kontrol positif (tikus DM) yang menunjukkan kecenderungan penurunan berat badan. Kelompok tikus perlakuan pemberian hidrolisat, konsentrat dan isolat protein kulit teripang menunjukkan peningkatan berat badan.



Tabel 15. Rata-rata berat badan tikus selama 28 hari percobaan (gram) (n=5)

Hari ke-	Kelompok Perlakuan				
	KN	KP	DM+HPKT	DM+KPKT	DM+IPKT
0	175.2	168.4	180.2	174.8	168.0
4	179.4	160.2	182.8	172.2	167.8
8	188.6	142.8	190.6	174.8	169.4
12	193.4	130.4	194.4	178.4	174.4
16	197.2	118.4	196.8	179.0	176.6
20	202.8	111.0	198.2	181.6	181.8
24	210.2	110.4	201.8	182.6	182.6
28	215.4	105.2	203.6	184.6	183.4

KN=kontrol negatif (tikus normal), KP=kontrol positif (tikus DM), DM+HPKT=kelompok DM yang diberi hidrolisat protein kulit teripang, DM+KPKT=kelompok DM yang diberi konsentrat protein kulit teripang, DM+IPKT=kelompok DM yang diberi isolat protein kulit teripang.

Hasil penelitian menunjukkan kelompok tikus perlakuan kontrol positif (tikus DM) mengalami penurunan berat badan selama 28 hari percobaan, sebaliknya untuk kelompok tikus DM yang diberi perlakuan HPKT, KPKT, dan IPKT mengalami peningkatan berat badan. Kelompok tikus perlakuan DM+HPKT memiliki persentase kenaikan berat badan paling besar yaitu 23.4 g (13.0%), dibandingkan dengan kelompok tikus perlakuan DM+IPKT (15.4 g atau 9.23%) dan kelompok DM+KPKT (9.8 g atau 5.6%). Berat badan kelompok tikus kontrol negatif (tikus normal) mengalami peningkatan rata-rata sebesar 63.2 g (37.5%), sebaliknya kelompok tikus kontrol positif (tikus DM) mengalami penurunan berat badan sebesar 40.2 g (22.9%). Penurunan berat badan yang sangat nyata mulai terjadi pada hari ke-4 dst. Data ini menunjukkan bahwa perlakuan HPKT memiliki kemampuan lebih baik dalam menghambat laju penurunan berat badan pada individu yang menderita DM.

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian Chandra *et al.* (2007) dan Karnila (2012) yang melaporkan bahwa berat badan tikus normal selama masa penelitian terus



4.8. Analisis Histologi Jaringan Pankreas

50



4.8.1. Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Hasil penelitian telah menunjukkan bahwa tikus DM mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans bahkan terkadang tidak ditemukan satupun pulau Langerhans. Sedangkan pada tikus normal per lapang pandang masih ditemukan lebih dari satu pulau Langerhans. Pengamatan pulau Langerhans per lapang pandang, pada tikus kontrol negatif (tikus normal) sangat mudah ditemukan dan ukurannya besar, sedangkan pada tikus kontrol positif (tikus DM) sangat sulit ditemukan dan jika ada ukurannya kecil.

Hasil penghitungan jumlah pulau Langerhans per lapang pandang pada pembesaran 20x ditampilkan pada Tabel 16. Hasil penelitian menunjukkan jumlah pulau Langerhans per lapang pandang pada kelompok tikus perlakuan DM+HPKT lebih banyak dibandingkan kelompok tikus perlakuan kontrol positif (tikus DM). Sedangkan kelompok perlakuan DM+KPKT dan DM+IPKT menunjukkan jumlah pulau Langerhans lebih sedikit dibandingkan kelompok tikus perlakuan kontrol negatif dan kelompok tikus perlakuan DM+HPKT serta tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan kontrol positif.

Kelompok tikus perlakuan DM+HPKT memiliki ukuran pulau Langerhans lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan DM+IPKT, DM+KPKT, dan kelompok perlakuan kontrol positif (tikus DM). Namun ukuran tersebut masih lebih kecil dibandingkan kelompok perlakuan kontrol negatif (tikus normal).

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.



Tabel 16. Rata-rata jumlah pulau Langerhans pada jaringan pankreas tikus percobaan per lapang pandang pada pembesaran 20x

Perlakuan	Jumlah P.Langerhans
KN	2.84
KP	1.34
DM+HPKT	2.58
DM+KPKT	1.68
DM+IPKT	1.80

KN=kontrol negatif (tikus normal), KP=kontrol positif (tikus DM), DM+HPKT=kelompok DM yang diberi hidrolisat protein kulit teripang, DM+KPKT=kelompok DM yang diberi konsentrat protein kulit teripang, DM+IPT= kelompok DM yang diberi isolat protein kulit teripang.

Kerusakan pulau Langerhans pada kelompok tikus DM disebabkan pengaruh toksik aloksan terhadap pankreas. Aloksan di dalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan (Szkudelski 2001). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan tikus DM+HPKT memiliki kemampuan lebih baik dalam menahan laju kerusakan pulau Langerhans dibandingkan kelompok perlakuan tikus DM+KPKT dan DM+IPKT. Hal ini diduga karena kandungan asam amino bebas yang lebih banyak pada HPT. Menurut Van Loon *et al.* 2003, Kim *et al.* 2004, Sans *et al.* 2006, Yang *et al.* 2006, dan Kanetro (2009) pemberian glukosa yang dikombinasikan dengan protein atau asam amino pada pengujian secara *in vivo* dan *in vitro* akan mencegah kerusakan pulau Langerhans tikus DM, sehingga akan meningkatkan sekresi insulin dan menurunkan kadar glukosa darah.

4.8.2. Pewarnaan Imunohistokimia terhadap Sel Beta Pankreas

Jumlah dan ukuran pulau Langerhans yang diamati pada pewarnaan HE belum bisa memperlihatkan produksi dan sekresi insulin oleh sel beta pankreas. Hal ini disebabkan



1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

pewarnaan HE belum dapat membedakan antara sel beta pankreas dengan sel-sel lainnya yang ada dalam pulau Langerhans, untuk mengetahui jumlah sel beta pankreas yaitu sel yang memproduksi insulin maka dilakukan pewarnaan imunohistokimia. Pengamatan menggunakan antibodi monoklonal terhadap insulin sehingga akan terdeteksi hormon insulin pada inti dan sitoplasma sel beta pankreas.

Sekitar 60-70% dari keseluruhan sel di dalam pulau Langerhans pankreas merupakan sel beta, yang berperan menghasilkan dan mensekresikan insulin. Sekitar 30-40% lainnya merupakan sel alfa, sel gama dan sel delta yang berturut-turut menghasilkan hormon glukagon, somatostatin dan polipeptida pankreas. Sel beta pankreas merupakan sel yang paling sensitif terhadap keberadaan glukosa di dalam darah, sehingga penderita DM akan mengalami perubahan morfologi pada sel beta, baik dalam ukuran maupun dalam jumlahnya (Guz *et al.* 2001, Butler *et al.* 2001, dan Widowati 2007). Berdasarkan hal tersebut, jumlah sel beta dalam pulau Langerhans pankreas menjadi suatu parameter yang sangat penting untuk menentukan tingkat kerusakan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh aloksan tampak nyata pada tikus DM yang menyebabkan kerusakan sel beta pulau Langerhans, meskipun terdapat variasi di antara individu tikus. Hasil penghitungan sel beta pankreas menunjukkan jumlahnya yang berbeda sangat nyata untuk masing-masing kelompok perlakuan. Hal ini terlihat dari besarnya pulau Langerhans dan banyaknya sel beta pankreas. Hasil penelitian memperlihatkan kelompok tikus perlakuan DM+HPKT memiliki sel beta pulau Langerhans yang positif insulin (warna coklat) lebih banyak dibandingkan kelompok perlakuan DM+KPKT, DM+IPKT, dan kelompok perlakuan



2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.

kontrol positif (tikus DM), namun masih lebih sedikit dibandingkan kelompok tikus kontrol negatif (tikus normal).

Selanjutnya hasil penelitian juga memperlihatkan kelompok tikus perlakuan DM+HPKT mempunyai rata-rata jumlah sel beta lebih banyak dibandingkan dengan kelompok tikus perlakuan DM+KPKT, DM+IPKT, dan kelompok tikus perlakuan kontrol positif (tikus DM), namun masih lebih rendah dari kelompok tikus perlakuan kontrol negatif (tikus normal) (Tabel 17).

Tabel 17. Rata-rata jumlah sel beta pulau Langerhans pancreas tikus percobaan per lapang pandang

Perlakuan	Jumlah sel beta
KN	66.20
KP	9.30
DM+HPKT	28.40
DM+KPKT	14.60
DM+IPKT	18.20

KN=kontrol negatif (tikus normal), KP=kontrol positif (tikus DM), DM+HPKT=kelompok DM yang diberi hidrolisat protein kulit teripang, DM+KPKT=kelompok DM yang diberi konsentrat protein kulit teripang, DM+IPKT=kelompok DM yang diberi isolat protein kulit teripang

Berdasarkan hasil penelitian di atas terlihat bahwa hasil histologi jaringan pankreas dengan pewarnaan imunohistokimia sejalan dan mendukung hasil pewarnaan HE, yaitu kelompok perlakuan tikus DM+HPKT memiliki kemampuan lebih baik dalam menghambat kerusakan sel beta pulau Langerhans dibandingkan kelompok tikus perlakuan DM+KPKT dan DM+IPKT. Hal ini diduga karena HPKT memiliki kandungan asam amino bebas lebih tinggi dibandingkan KPKT dan IPKT, sehingga memiliki kemampuan menstimulasi sekresi insulin, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Kemampuan hidrolisat protein teripang menahan atau menghambat lebih lanjut kerusakan sel beta pulau Langerhans pankreas yang bersifat progresif akibat radikal



bebas dari aloksan maupun akibat efek hiperglikemia, diduga karena hidrolisat protein teripang yang memiliki kadar protein dan asam amino bebas lebih tinggi serta kemungkinan terbentuknya peptida-peptida pendek bioaktif yang lebih banyak selama proses hidrolisis dapat berperan sebagai antioksidan, sehingga mampu meredam aktivitas radikal bebas dengan cara mencegah reaksi berantai. Diduga sifat antioksidan hidrolisat protein teripang ditunjukkan melalui kandungan beberapa peptida yang terbentuk selama proses hidrolisis memiliki sifat *scavenging* radikal dikarenakan kemampuannya mendonorkan hidrogen dan dapat pula bereaksi dengan radikal untuk mengubah menjadi produk yang lebih stabil, sehingga menghentikan reaksi rantai radikal (Binsan *et al.* 2008).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa asam amino bebas yang terdapat pada hidrolisat protein teripang diduga dapat meningkatkan stimulasi sekresi insulin, sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah tikus DM. Selanjutnya kondisi ini diduga pula akan memberikan pengaruh terhadap penurunan produksi radikal bebas, sehingga dapat menghambat laju kerusakan sel beta pulau Langerhans.

1. Dianggap mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dianggap mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan Universitas Riau.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Riau.