

PENGARUH DIET EKSTRAK PROTEIN KEDELAI TERHADAP GLUKOSA SERUM PADA TIKUS DIABETIK INDUKSI ALLOXAN¹

(EFFECT OF SOYPROTEIN EXTRACT DIET ON SERUM GLUCOSE OF ALLOXAN-INDUCED DIABETIC RATS)

Wisaniyasa, N.W.², Y. Marsono³, Zuheid Noor³

ABSTRACT

Hypoglycemic property of soyprotein extract were evaluated in alloxan-induced diabetic rats. The objectives of this research were to evaluate the effects of soyprotein extract feeding on glucose concentration in both normal-cholesterol and hypercholesterol alloxan-induced diabetic rats.

Twenty-eight male Sprague-Dawley (SD) rats (250-300 g) were provided and divided into four groups of seven rats. They were (1) Standard-Placebo (SP), (2) Standard-Alloxan (SA), Soyprotein-Alloxan (PKA) and (4) Hypercholesterol-Soyprotein-Alloxan (HPKA) groups. Three groups were diabetic induced by alloxan injection (80 mg/Kg of body weight by intra-muscular injection) and one group (SP) was injected with aquabidest (placebo). HPKA groups were fed hypercholesterol diet 2 weeks prior to the alloxan injection. SP and SA groups were fed standard diet whereas PKA and HPKA were fed soy protein diet for 28 days. Concentration of serum glucose were determined before injection (0 day), 1, 7, 14, 21, and 28 days after injection.

It was found that alloxan injection increased serum glucose concentration of SA, PKA and HPKA rats. In 28 days intervention, soybean protein diet decreased the serum glucose concentration from 405 mg/dL to 201mg/dL (50%) in PKA and from 428 mg/dL to 210 mg/dL (51%) in HPKA groups, but standard diets (SP and SA) were failed to decrease the serum glucose of the rats.

Keywords: diabetic, alloxan-induced, hypoglycemic, hypercholesterol, soybean protein

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat dunia, termasuk Indonesia. Pada tahun 1994 diperkirakan terdapat minimal 2,5 juta penderita DM di Indonesia dan diperkirakan akan melonjak menjadi kurang lebih 5 juta pada tahun 2010 (Gunawan dan Tandra, 1998). Jumlah penderita tersebut akan menjadi masalah kesehatan nasional sehingga penanganan dan atau pencegahannya perlu mendapat perhatian serius dari semua pihak.

Terapi diabetes biasanya dilakukan dengan pemberian obat-obatan hipoglisemik seperti insulin dan obat anti diabetes oral. Namun obat-obatan tersebut sifatnya hanya perawatan dan tidak untuk penyembuhan/pencegahan komplikasi (Zuheid Noor, 1998). Bila diabetes mellitus dibiarkan, dapat menimbulkan berbagai komplikasi pada jantung, mata, ginjal dsb. (Boedisantoso, 1992).

Pengendalian tingginya kadar glukosa plasma dari

penderita diabetes mellitus sangatlah penting untuk menghindari komplikasi yang lebih lanjut (Boedisantoso, 1992). Oleh karena itu dalam pengaturan diet penderita diabet diperlukan bahan makanan yang bersifat hipoglisemik.

Dilaporkan bahwa protein kedelai mempunyai sifat hipoglisemik karena berperan dalam peningkatan konsentrasi insulin plasma pada hewan percobaan (Iritani *et al.*, 1997). Protein kedelai juga telah terbukti bersifat hipokolesterolemik dibandingkan sumber protein lainnya (Bakht *et al.*, 1994; Potter *et al.*, 1996; Morita *et al.*, 1997 dan Sabudi, 1997). Penelitian-penelitian terdahulu belum satupun yang mengungkap bagaimana pengaruh protein kedelai terhadap kadar gula serum pada individu normal dan hiperkolesterol. Oleh karena itu perlu diteliti pengaruh protein kedelai terhadap kadar gula tikus diabetic normal dan hiperkolesterol.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh pemberian protein kedelai terhadap kadar glukosa serum pada tikus diabetik induksi alloxan baik yang normal kolesterol maupun hiperkolesterol.

BAHAN DAN METODA PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah kedelai varietas Slamet yang diperoleh dari Balai Benih Gading, Gunung Kidul, Yogyakarta. Untuk pengujian bioassay digunakan tikus jantan jenis Sprague-Dawley (SD) dan komposisi pakan mengacu formula American Institute of Nutrition 1993 (AIN 1993) (Reeves *et al.*, 1993).

Cara Penelitian

Ekstrak protein kering diperoleh dengan cara ekstraksi tepung kedelai dalam alkali yang dilanjutkan pengendapan asam dan pengeringan (Zuheid Noor, 2000). Diet yang digunakan dalam penelitian ini ada tiga macam yaitu diet standard, diet protein kedelai dan diet hiperkolesterol yang komposisinya dapat dilihat pada Tabel 1.

Digunakan tikus Sprague Dawley (SD) sebanyak 28 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri dari 7 ekor tikus yaitu kelompok: (1) Standar-placebo (injeksi aquabidest) (SP); (2) Standar-injeksi alloxan (SA); (3). Protein kedelai-injeksi alloxan (PKA); (4). Hiperkolesterol-protein kedelai-injeksi alloxan (HPKA).

¹) Sebagian data dalam paper ini pernah disampaikan pada Seminar Nasional Teknologi Pangan, Semarang 9-10 Oktober 2001.

²) Staf Pengajar Program Studi Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Denpasar

³) Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta

Table 1. Composition of Standard Diet (1), Soyprotein Diet (2) and Hipercholesterol Diet (3), g/kg

Diet Component	Diet		
	Standard	Soy protein	Hyper cholesterol
Corn starch	620,7	555,5	535,2
Casein	140	-	140
Soyprotein extract	-	220,7	-
Sucrose	100	100	100
Corn oil	40	20,1	-
Coconut oil	-	-	120
CMC	50	50	50
Cholesterol	-	-	5
Mineral mix (AIN-93-MX)*	35	29,6	35
Vitamine mix (AIN-93-VX)*	10	10	10
Cholin bitartrate	2,5	2,5	2,5
L-cystin	1,8	1,8	1,8
Total	1000	990,1	999,5
Total energy (kcal)/kg	3346,4	3384,7	3468

*) Reeves *et al.*, 1993.

Keempat kelompok tikus tersebut di atas dikandangkan secara individual dengan kondisi cahaya dan ventilasi yang cukup (temperatur kamar). Adaptasi dilakukan selama 3 hari dilanjutkan dengan pemberian pakan perlakuan selama 28 hari. Pengamatan kadar gula serum dilakukan pada hari ke 0, dan dipantau setiap 7 hari sampai hari ke 28. Untuk kelompok HPKA sebelum mendapatkan pakan perlakuan (diet protein kedelai), tikus dibuat hiperkolesterolemia dengan pemberian pakan tinggi lemak dan kolesterol (diet hiperkolesterol, Tabel 1) selama 14 hari. Konsumsi pakan dihitung tiap hari sedang berat badan tikus dipantau seminggu sekali.

Metoda Analisis

Terhadap kedelai dan ekstrak kering protein kedelai dilakukan analisis proksimat. Analisis kadar air dilakukan dengan metode thermogravimetri (AOAC, 1970). Kadar abu ditentukan dengan metode pembakaran, lemak dengan metode Soxhlet, sedang kadar protein dengan metode Mikro-Kjeldahl (AOAC, 1970).

Glukosa serum ditentukan dengan menggunakan metoda GOD-PAP (Barham dan Trinder, 1972). Analisis statistik menggunakan analisis varians (ANAVA) dan bila terdapat perbedaan yang nyata ditindak lanjuti dengan uji Duncan Multiple Range Test (Gomez and Gomez, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis proksimat tepung kedelai dan ekstrak protein kering kedelai varietas *Slamet* dapat dilihat pada Tabel 2.

Table 2. Chemical composition of Soy flour and Dry soyprotein Extract of *Slamet cultivar* (% db)

Component	Soyflour	Dry Soyprotein Extract
Protein	34,0	56,8
Fat	21,7	9,5
Ash	5,9	2,6
Total carbohydrate (by diff)	38,4	31,2

Dari Tabel 2 terlihat bahwa kadar protein tepung kedelai varietas *Slamet* sebesar 34 %. Hasil ini sedikit lebih kecil dibandingkan yang dilaporkan Markley (1951) serta Snyder and Kwon (1987) yang melaporkan bahwa rata-rata kandungan protein tepung kedelai sebesar 40 %. Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh perbedaan varietas, seperti yang dinyatakan oleh Liu (1999) bahwa kadar protein kedelai antara lain dipengaruhi oleh varietas dan kondisi pertumbuhannya. Ekstrak protein kering kedelai mengandung protein sebesar 56,8 % (db), atau meningkat sebesar 67% dari tepung kedelainya. Ekstrak ini belum bisa disebut sebagai konsentrat, sebab konsentrat protein harus mengandung protein paling sedikit 70% (Snyder and Kwon, 1987). Kalau dikehendaki peningkatan protein mencapai 70% sebenarnya memang bisa dilakukan dengan cara ekstraksi minyak tepung kedelai sebelum ekstraksi protein. Tetapi penelitian ini memang tidak dirancang untuk mengevaluasi protein konsentrat.

Konsumsi Pakan

Pengaruh pemberian pakan perlakuan dan injeksi alloxan terhadap tingkat konsumsi pakan harian tikus dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 dapat dilihat bahwa sampai hari ke-7 tingkat konsumsi pakan semua kelompok tikus mengalami penurunan. Penurunan tingkat konsumsi pakan terlihat lebih nyata pada kelompok yang diinjeksi alloxan dibandingkan yang diinjeksi aquabidest. Penurunan tingkat konsumsi pada kelompok injeksi alloxan disamping kesakitan karena pengaruh injeksi juga disebabkan oleh alloxan itu sendiri. Ini terbukti setelah hari ketujuh terjadi peningkatan konsumsi pada semua kelompok, tetapi pada kelompok injeksi alloxan peningkatannya lebih kecil, yaitu 1,7g, 1,2 g dan 0,9 g masing-masing untuk kelompok SA, PKA dan HPKA, selama 21 hari.

Table 3. Feed intake of rats (g/day/rat) consuming the Standard-Placebo (SP), Standard-Alloxan (SA), Soyprotein-Alloxan (PKA) and Hypercholesterol Soyprotein- Alloxan (HPKA) diets for 28 days of experiment

Days of feeding	Dietary group			
	SP	SA	PKA	HPKA
0	15,2 ^{bc}	15,7 ^{aq}	15,6 ^{aq}	17,2 ^{ap}
7	13,3 ^{ca}	12,0 ^{cr}	12,7 ^{car}	15,3 ^{bcp}
14	15,6 ^{bp}	12,4 ^{ca}	13,2 ^{bcq}	14,6 ^{cp}
21	16,0 ^{bp}	12,6 ^{bcq}	13,4 ^{bcq}	15,2 ^{bcp}
28	17,6 ^{ap}	13,7 ^{br}	13,9 ^{br}	16,2 ^{abq}

*) superscript (a,b,c) of any column or (p,q,r) of any row not sharing the same letter were significantly different ($P \leq 0,05$)

Pada periode yang sama kelompok SP (tanpa aloksan) kenaikan konsumsi mencapai 4,3 g. Pengamatan serupa juga pernah dilaporkan oleh Zuheid Noor (1998) dan Dwianna (2000) yang menyatakan bahwa terjadi penurunan nafsu makan pada tikus yang diinjeksi alloxan pada minggu pertama, namun pada minggu kedua terjadi peningkatan kembali yaitu tepatnya pada hari ke-13 (Zuheid Noor, 1998) dan hari ke-10 (Dwianna, 2000).

Berat Badan

Pengaruh pemberian pakan perlakuan dan injeksi alloxan terhadap berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 4.

Table 4. Body weight (g) of rats consuming the Standard-Placebo (SP), Standard-Alloxan (SA), Soyprotein-Alloxan (PKA) and Hypercholesterol Soyprotein-Alloxan (HPKA) diets for 28 days of experiment

Days of feeding	Dietary groups			
	SP	SA	PKA	HPKA
0	273 ^{bp}	263 ^{ap}	261 ^{ap}	279 ^{ap}
7	271 ^{bp}	222 ^{bq}	234 ^{abq}	278 ^{ap}
14	285 ^{abp}	199 ^{bcq}	228 ^{bcq}	276 ^{ap}
21	295 ^{abp}	189 ^{bcr}	231 ^{bcq}	276 ^{ap}
28	308 ^{ap}	185 ^{cr}	231 ^{bq}	277 ^{ap}

*) superscript (a,b,c) of any column or (p,q,r) of any row not sharing the same letter were significantly different ($P \leq 0,05$)

Sampai akhir penelitian, kelompok SP mengalami kenaikan berat badan sebesar 13%. Peningkatan berat badan ini sejalan dengan jumlah konsumsi pakan. Ini menunjukkan bahwa dalam kondisi normal, kenaikan konsumsi pakan akan menaikkan berat badan secara signifikan. Sebaliknya pada kelompok tikus injeksi aloksan, meskipun ada kenaikan konsumsi tetapi ternyata terjadi penurunan berat badan sebesar 30% (SA) dan 11% (PKA). Sedang pada kelompok HPKA tidak terjadi penurunan berat secara signifikan. Fenomena ini cukup menarik dan mengindikasikan bahwa pada kelompok injeksi aloksan terutama SA telah terjadi pembongkaran protein dan lemak, yang merupakan indikasi klinis dari penderita diabetes. Ini sesuai dengan pendapat Ganong (1980) yang menyatakan bahwa pada penderita diabetes terjadi penurunan *uptake* glukosa sehingga untuk mempertahankan keseimbangan energi digunakan-lah cadangan energi yang bersumber dari protein dan lemak. Fenomena serupa juga pernah dilaporkan oleh Zuheid Noor (1998) yang mengamati terjadinya penurunan berat badan pada kelompok tikus yang diinjeksi alloxan-pakan standar sebesar 14% sampai hari ke-13.

Pada kelompok diet protein kedelai (PKA dan HPKA) meskipun terjadi penurunan berat badan tetapi lebih kecil dari kelompok diet standard (bahkan pada diet HPKA tidak terjadi penurunan berat badan) mengindikasikan bahwa ada peran yang nyata dari diet protein kedelai yang dikonsumsi tikus diabetik. Peran tersebut bisa berupa membantu proses regenerasi sel beta pankreas seperti yang dilaporkan oleh Kaluti (2000) atau lewat mekanisme lain.

Kadar Glukosa Serum

Pengaruh pemberian pakan perlakuan dan injeksi alloxan terhadap kadar glukosa serum dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 menunjukkan bahwa injeksi aloksan mengakibatkan kenaikan kadar glukosa sangat signifikan. Pemberian diet protein kedelai mampu menurunkan kadar glukosa secara bertahap baik pada kelompok tikus PKA (50%) maupun HPKA (51%), sementara pada kelompok standard (SA) pemberian pakan sampai dengan hari ke 28 tidak berhasil menurunkan kadar glukosa serum. Data ini mengindikasikan bahwa protein kedelai memiliki potensi menurunkan kadar glukosa serum pada tikus percobaan.

Table 5. Serum glucose concentration (mg/dL) of rats consuming the Standard-Placebo (SP), Standard-Alloxan (SA), Soyprotein-Alloxan (PKA) and Hypercholesterol Soyprotein-Alloxan (HPKA) diets for 28 days of experiment

Days of feeding	Dietary groups			
	SP	SA	PKA	HPKA
0	66,9 ^{ap}	67,3 ^{bp}	66,0 ^{cp}	66,2 ^{cp}
7	130,1 ^{aq}	408,9 ^{ap}	404,6 ^{ap}	428,3 ^{ap}
14	113,7 ^{aq}	405,8 ^{ap}	365,1 ^{abp}	389,5 ^{abp}
21	97,9 ^{ar}	411,6 ^{ap}	330,5 ^{bcq}	345,5 ^{bcq}
28	83,3 ^{ar}	412,1 ^{ap}	293,3 ^{cq}	302,8 ^{cq}
	81,3 ^{ar}	418,4 ^{ap}	200,8 ^{dq}	210,0 ^{dq}

*) superscript (a,b,c,d,e) of any column or (p,q,r) of any row not sharing the same letter were significantly different ($P \leq 0,05$)

Hasil serupa juga dilaporkan oleh peneliti terdahulu, misalnya Hurley *et al.*, (1995), Iritani *et al.*, (1997), Narsito Wulan (2000) dan Dwianna (2000). Hurley *et al.*, (1995) berpendapat bahwa protein kedelai mengakibatkan *uptake* glukosa oleh sel-sel tubuh menjadi lebih intensip, tetapi bagaimana mekanismenya belum diketahui dengan jelas. Penurunan glukosa serum sebagai akibat konsumsi protein kedelai kemungkinan juga disebabkan oleh kemampuan protein kedelai untuk memperbaiki resistensi insulin dan meningkatkan sensitivitas insulin pada binatang diabetik seperti yang dilaporkan oleh Iritani *et al.*, (1997). Pendapat yang lain menyatakan bahwa protein kedelai dapat memicu peningkatan sekresi insulin (Zuheid Noor *et al.*, 2000) atau memicu produksi insulin (Narsito Wulan, 2000) yang ditandai dengan regenerasi sel-sel beta pankreas.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa konsumsi ekstrak protein kedelai pada tikus diabetik normalkolesterol mampu menurunkan kadar glukosa sebesar 50%, sedangkan pada tikus diabetik hiperkolesterol sebesar 51%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Proyek Hibah Tim Pascasarjana Batch IV (URGE), atas bantuan dana untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Association of Official Analytical Chemist (AOAC), 1970. Official methods of analysis, AOAC, Washington.
- Bakhit, R.M., B.P. Klein, D. Essex-Sorlie, J.O. Ham, J.W. Erdman and S.M. Potter. 1994. Intake of 25 g of Soybean Protein with or Without Soybean Fiber Alters Plasma Lipids in Men with Elevated Cholesterol Concentrations. *J.Nutr.* 124:213-222.
- Boedisantoso, R., 1992. *Metabolik Endokrinologi Rongga Mulut*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Barham, D. and P. Trinder, 1972. *Analyst* 97; 142-145
- Dwianna, A.D. 2000. *Pengujian Efek Hipoglisemik Diet Protein Kedelai dan Asam Fitat pada Tikus Diabetik*. Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ganong, W.F. 1980. *Review of Medical Physiology*. Sanfransisco California.
- Gomez, K.A. and A.A.Gomez. 1995. *Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian, Edisi ke-2*. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Gunawan, A. dan H. Tandra, 1998. *Patogenesis diabetes mellitus Tidak tergantung Insulin (DMTII)*. Pusat Diabetisi dan Nutrisi RSUD. Dr. Soetomo-FK. Unair. *Majalah Diabetes*. Vol.4 No.1. Surabaya
- Hurley, C., I. Galibois, H. Jacques, 1995. Fasting and Postprandial Lipid glucose metabolism are modulated by dietary proteins and carbohydrates: Role of plasma insulin concentrations. *J. Nutr. Biochem.* 6: 540-546.
- Iritani, N., T. Sugimoto, H. Fukuda, M. Komiya and H. Ikeda. 1997. Dietary Soybean Protein Increases Insulin Receptor Gene Expression in Wistar Fatty rats whwn Dietary Polyunsaturated Fatty Acid Level is Low. *J. Nutr.* 127: 1077-1083.
- Kaluti, R., Zuheid Noor & Y. Marsono, 2000. *Histologi Pankreas tikus diabetik yang diberi pakan antitripsin*. Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan 2000 : 327-334.
- Liu, KS. 1999. *Chemistry and Nutritional Value of Soybean Component*, In: *Soybeans, Chemistry, Technology and Utilization*. pp. 25-113. Aspen Publisher. Gaithersburg Maryland.
- Markley, K.S. 1951. *Soybeans and Soybean Products*. Volume II. Interscience Publishers, Inc. New York.
- Morita, T., A. Oh-hashii, K. Takei, M. Ikai, S. Kasaoka and S. Kiriyama. 1997. Cholesterol Lowering Effects of Soybean, Potato and Rice proteins depend On Their Low Methionine Contents In Rats fed a Cholesterol-Free Purified Diet. *J. Nutr.* 127: 470-477
- Narsito Wulan, S. 2000. *Pengujian Efek Antioksidatif dan Hipoglisemik Kedele, Fraksi Protein Kedele dan Tempe pada Tikus yang Diinduksi Diabetes dengan Injeksi Alloxan*. Tesis. FTP-UGM, Yogyakarta
- Potter, S.M., J. Pertile and M.D. Berber-Jimenez. 1996. Soy Protein Concentrate and Isolated Soy Protein Similarly Lower Blood Serum Cholesterol but Differently Affect Thyroid Hormones in Hamsters. *J. Nutr.* 126: 2007-2011.
- Reeves, P.G., F.H. Nielsen and G.C. Fahey. 1993. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institue of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J. Nutr.* 123: 1939-1951.
- Snyder, H.E. and K.W. Kwon. 1987. *Soybean Utilization*. An Avi Book Van Nostrand Reinhold Company. New York.
- Sabudi, N.S., 1997. *Pengaruh Tempe Sebagai Sumber Protein terhadap Profil Lipida pada Tikus*. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Zuheid Noor. 1998. *Penjajagan Kemungkinan Penggunaan Kedelai sebagai Komponen Makanan Fungsional*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi. PAU Pangan dan Gizi. UGM. Yogyakarta.
- Zuheid Noor, Y. Marsono dan Mary Astuti. 2000. *Sifat Hipoglisemik Komponen Kedelai*. Proceeding Seminar Nasional Industri Pangan PATPI. Vol.2.; 160-174