

EFEK HIPOGLIKEMIK POLISAKARIDA LARUT AIR GEMBILI (*Dioscorea esculenta*) YANG DIEKSTRAK DENGAN BERBAGAI METODE

[Hypoglycaemic Effect of Water Soluble Polysaccharides Extracted from Gembili (*Dioscorea esculenta*) by Various Methods]

Harijono¹⁾, Teti Estiasih^{1)*}, Wenny Bektu Sunarharum¹⁾, dan I Komang Suwita²⁾

¹⁾Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang

²⁾Jurusan Gizi, Politeknik Kesehatan, Kementerian Kesehatan, Malang

Diterima 05 November 2010 / Disetujui 22 November 2011

ABSTRACT

The hypoglycaemic effect of water soluble polysaccharide (WSP) extracted from gembili tuber was studied in this experiment. Extracts from three different methods, an aqueous (water-WSP), papain assisted (papain-WSP), and tempeh inoculum assisted (tempeh-WSP) extractions, were compared. The effects were evaluated by means *in vivo* test on hyperglycaemic-induced rats by performing the so called blood glucose response, followed by *in situ* glucose absorption test and short chain fatty acids (SCFA) analysis. A nested experimental design was employed in the experiment. All the three extracts reduced the blood glucose level. The effect of tempeh-WSP extract was comparable to that of the papain-WSP extract, but was not significantly different from the water-WSP. However, the water-WSP extract tended to have a weaker effect than that of the other extracts. Similar result was found on the SCFA level. The highest SCFA level was found on the rats treated with tempeh-WSP extracts. It was likely that the hypoglycaemic effect of the tempeh-WSP extract was the best.

Key words: gembili (*Dioscorea esculenta*), hypoglycaemic, water soluble polysaccharides

PENDAHULUAN

Gembili (*Dioscorea esculenta*) merupakan umbi dari keluarga *Dioscoreaceae*. Kelompok *Dioscoreaceae* yang ada di Indonesia meliputi *Dioscorea alata*, *Dioscorea hispida*, *Dioscorea pentaphylla*, dan *Dioscorea bulbifera* (Kasno *et al.*, 2006). Keluarga *Dioscoreaceae* mempunyai keunggulan dapat tumbuh di bawah tegakan hutan tetapi sampai saat ini masih merupakan tanaman subsiten, yaitu bukan tanaman pokok yang dibudidayakan, karena pemanfaatannya masih terbatas. Hal yang menarik dari kelompok *dioscorea* adalah mengandung senyawa bioaktif atau senyawa fungsional, selain komponen yang berperan sebagai bahan pangan. Hasil-hasil penelitian yang telah ada dari keluarga *Dioscoreaceae* yang lain (*D. alata*, *D. batatas*, *D. bulbifera*, *D. opposita*) menunjukkan bahwa keluarga *Dioscoreaceae* mengandung senyawa bioaktif berupa *dioscorin* (Hou *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2007; Chan *et al.*, 2006), *diosgenin* (Chou *et al.*, 2006; Braun, 2008; Yang dan Lin, 2008), dan polisakarida larut air (PLA) (Liu dan Lin *et al.*, 2009).

Umbi *Dioscoreaceae* mengandung lendir yang kental berupa glikoprotein (Fu *et al.*, 2006; Ohizumi *et al.*, 2009). Lendir dalam tanaman umbi-umbian biasanya berasosiasi dengan protein (Myoda *et al.*, 2006). Umbi gembili mengandung bahan aktif yaitu polisakarida berupa serat pangan. Menurut Schoeninger *et al.* (2000) terdapat 3 gram serat pangan dalam 100 gram berat kering *Dioscorea esculenta*. Sampai akhir tahun 1970 diyakini bahwa mencerna serat tertentu dapat memperbaiki toleransi glukosa pada orang normal dan pada

penderita penyakit diabetes. Konsentrat kaya glukosa dari oat atau produk *barley*, serta PLA dari *psyllium* menyebabkan perbaikan respon glikemik. Menurut Lunn dan Burtiss (2007), asupan tinggi serat direkomendasikan bagi penderita diabetes. Sifat PLA yang kental dan membentuk gel dapat menghambat penyerapan makronutrien dan menurunkan respon glukosa *postprandial*. Fermentasi PLA di kolon menghasilkan asam lemak rantai pendek (SCFA, *short chain fatty acids*) seperti asetat, propionat, dan butirrat. Sebelumnya Juntunen *et al.* (2003) menyatakan bahwa roti tinggi PLA dari *rye* meningkatkan sekresi insulin.

Dengan adanya kandungan glikoprotein atau polisakarida-protein pada *Dioscoreaceae* yang sulit dipisahkan, maka dalam penelitian ini dilakukan beberapa metode ekstraksi untuk memisahkan ikatan kompleks tersebut agar diperoleh ekstrak PLA yang lebih murni sehingga dapat meningkatkan kemampuannya dalam menurunkan kadar glukosa darah. Metode ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak kasar PLA non-pati dari umbi gembili meliputi ekstraksi dengan menggunakan air, ekstraksi menggunakan papain sebagai enzim protease untuk mendegradasi protein yang terikat dengan polisakarida, dan ekstraksi secara fermentatif dengan ragi tempe yang mempunyai aktivitas amilolitik dan proteolitik.

Aktivitas amilolitik kapang diharapkan dapat mendegradasi pati sehingga polisakarida lebih mudah terpisah. Untuk mengetahui potensi ekstrak kasar PLA gembili yang diekstrak dengan berbagai metode tersebut, maka dilakukan pengujian penurunan gula darah pada tikus hiperglikemia, pengujian respon glukosa darah, pengujian absorpsi glukosa secara *in situ*, dan analisis asam lemak rantai pendek (SCFA, *Short Chain Fatty Acid*).

*Korespondensi Penulis :
Email : teties@yahoo.co.id

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah umbi gembili berumur 8–10 bulan sejak penanaman sampai panen yang diperoleh dari Kecamatan Buring-Kota Malang. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian adalah etanol teknis 96%, akuades, NaOH, kertas saring, asam pikrat, asam asetat, NaOH, serbuk iod, KI, indikator PP, K₂SO₄, H₂SO₄, H₂BO₃, indikator metil merah, indikator metil biru, dietil eter, amilosa murni, buffer fosfat, aloksan monohidrat, glukosa, *reagen glucose* GOD-FS, *glucose anhidrat*, reagensia Nelson, *reagen arsenomolibdat*, Cu₂O, standar asam asetat, propionat, dan butirat. Bahan untuk analisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC, *high performance liquid chromatography*) meliputi CH₂CN, standar glukosa dan manosa (Sigma Co.). Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar, umur 2-3 bulan dengan berat badan berkisar 131-239 gram.

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan gelas, neraca analitik (Mettler Toledo), vortex, sentrifuse merk Hettich EBA 8, spektrofotometer UV-VIS (UV-2100), pH meter (Inolab), oven, desikator, *muffle furnace*, soxhlet, perangkat Kjeldahl, *shaker waterbath*, sonde, hematokrit, tabung *vacutainer*, kromatografi gas (GC-14B, Shimadzu), integrator (Chromatopac C-RGA, Shimadzu), dan kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan kolom Sugar Pak (Waters, Waters Co., MS).

Ekstraksi PLA

Ekstraksi polisakarida larut air (PLA) dilakukan dengan tiga cara berbeda, yaitu dengan air; air ditambah papain, dan air ditambah inokulum ragi tempe (Harijono *et al.*, 2009). Preparasi sampai penghancuran bahan dilakukan dengan cara yang sama. Umbi gembili segar dikupas dan diblansing dengan uap air panas, ditambah air dan dihancurkan dengan *blender* hingga menjadi bubur. Selanjutnya, bubur umbi disaring dengan kain kasa dan filtratnya diambil untuk percobaan. Filtrat ditambah papain dan dinkubasikan untuk perlakuan ekstraksi menggunakan papain, sedangkan ekstraksi menggunakan ragi tempe adalah filtrat diberi ragi tempe dan diinkubasikan. Inkubasi dilakukan pada suhu 35°C selama 12 jam. Filtrat tanpa perlakuan adalah perlakuan ekstraksi dengan air. Setelah itu, dilakukan pemisahan pati dan penggumpalan PLA. Gumpalan PLA basah dipisahkan dan dikeringkan, selanjutnya digiling sehingga diperoleh ekstrak PLA bubuk kering.

Karakterisasi umbi gembili segar

Umbi gembili segar dianalisis meliputi kadar air, abu, protein, lemak, kadar karbohidrat *by difference*, kadar amilosa, dan kadar serat kasar (AOAC, 1990).

Karakterisasi ekstrak PLA

Karakterisasi ekstrak PLA yang dilakukan meliputi jenis-jenis gula bebas (HPLC, modifikasi Charles *et al.*, 2008), kadar protein metode Kjeldahl, serat kasar, amilosa (AOAC, 1990), viskositas relatif, dan rendemen.

Pengujian efek hipoglikemik (Ruzaidi *et al.*, 2008)

Bioassay secara *in vivo* dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak PLA gembili sebagai penurun kadar gula darah pada kondisi diabetes. Pengujian untuk ekstrak PLA gembili dilakukan sebagai berikut: sebanyak 24 ekor tikus *Wistar* dimasukkan ke dalam kandang kolektif dengan suhu ruang 20-25°C. Tikus diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Semua tikus diadaptasikan selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan. Percobaan dilakukan selama 4 minggu, berat badan tikus ditimbang setiap 3 hari sekali dan kadar gula darah tikus dianalisis setiap minggu. Tikus dibagi kedalam 4 kelompok, 3 kelompok sesuai perlakuan metode ekstraksi PLA dan 1 kelompok kontrol. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

Masing-masing grup tikus diberi ransum standar AIN-93M (Reeves *et al.*, 1993). Ransum standar AIN-93M terdiri dari 62,0692% maizena, 14% kasein, 10% sukrosa, 4% minyak kedelai, 5% *carboxy methyl cellulose* (CMC), 3,5% AIN *mineral mix*, 0,18% L-sistin, 1,0% AIN *vitamin mix*, 0,25% kolin bitartrat, dan 0,0008% TBHQ. Pemberian PLA gembili dilakukan setiap hari selama 28 hari secara *force feeding* dengan dosis 400 mg/kg berat badan. Induksi aloksan digunakan untuk menginduksi tikus menjadi hiperglikemia. Induksi aloksan dilakukan 3 hari sebelum tikus diberi perlakuan. Setelah dipuasakan 16 jam, tikus diambil darahnya untuk mengetahui kadar glukosa awal, dan kemudian diinjeksi aloksan secara *intraperitoneal* dengan konsentrasi 80 mg/kg berat badan.

Tiga hari setelah injeksi aloksan, darah diambil melalui *retro orbital plexus* dengan menggunakan hematokrit untuk memastikan bahwa tikus pada kondisi hiperglikemik. Sebelum diambil darahnya, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam. Hanya tikus dengan kadar glukosa darah puasa >126 mg/dl yang digunakan. Penentuan kadar glukosa serum dilakukan pada minggu penelitian ke 0, 1, 2, 3, dan 4. Sebanyak 5 mL darah diambil dari *retro orbital plexus* ke dalam tabung *vacutainer*. Sampel kemudian disentrifugasi pada 4000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang. Supernatan diambil dan diukur kadar serum glukosa dengan menggunakan metode glukosa oksidase (Zhao *et al.*, 2007).

Prosedur penelitian yang dilakukan telah mendapat sertifikat laik etik dari Komisi Etik – Program Kedokteran Hewan – Universitas Brawijaya.

Pengujian respon glukosa darah (modifikasi Xie *et al.*, 2004)

Masing-masing kelompok tikus yang terdiri dari 3 ekor tikus normal terlebih dahulu diadaptasikan terhadap pakan selama 3 hari, dan dipuasakan selama 16 jam kemudian diberi PLA sesuai dengan kelompok perlakuan dan glukosa secara oral (*force feeding*, modifikasi dari Xie *et al.*, 2004 yang memberi polisakarida secara *intraperitoneal*) dengan konsentrasi PLA 400 mg/kg berat badan (modifikasi Xie *et al.*, 2004, yang memberi polisakarida dengan kadar 50 dan 150 mg/kg bb secara *intraperitoneal*) dan glukosa 2 g/kg berat badan. Kadar glukosa serum ditentukan dengan mengambil darah melalui *retro orbital plexus* (modifikasi Xie *et al.*, 2004, yang mengambil darah dari *tail vein*) pada menit ke 0, 30, 60, 90, dan 120 setelah pemberian PLA dan glukosa secara oral.

Pengujian absorpsi glukosa secara *in situ* menggunakan kantung usus terbalik

Pada hari ke-33, tikus dianestesi kemudian usus diambil dan dibalik. Uji absorpsi glukosa dilakukan dengan menggunakan larutan PLA 10% dan glukosa 20%. Usus terbalik dimasukkan ke dalam tabung yang sudah berisi larutan campuran PLA dan glukosa. Masukkan larutan garam fisiologis 0,9% ke bagian dalam usus. Kemudian dimasukkan ke dalam *water bath shaker* pada suhu 36°C. Larutan dari bagian dalam usus diambil setiap 10 menit mulai dari menit ke- 10, 20, 30, dan 40 kemudian kadar glukosa dianalisis dengan metode Nelson-Somogyi.

Analisis kadar asam lemak rantai pendek (SCFA, Short Chain Fatty Acids) (Modifikasi Henningson et al., 2002)

Pada saat pembedahan untuk pengambilan usus, *caecum* tikus diambil dan digesta dikeluarkan. Digesta kemudian disentrifugasi 14000 rpm selama 15 menit dan supernatan diambil. Kadar SCFA pada supernatan dianalisis dengan menggunakan kromatografi gas.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan rancangan percobaan Rancangan Tersarang (*Nested Design*). Jika perlakuan berpengaruh nyata, uji dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

tempe disebabkan oleh aktivitas kapang pada ragi tempe diduga mengubah PLA menjadi komponen lain seperti oligosakarida. Pada ekstraksi PLA dengan papain didapat rendemen yang lebih tinggi, karena pada proses ekstraksi menggunakan enzim papain hanya dapat menghidrolisis protein PLA sehingga kemungkinan PLA lebih mudah terekstrak. Kadar amilosa terendah terdapat pada ekstrak PLA yang menggunakan ragi tempe. Kapang tempe mempunyai aktivitas relatif yang dapat menghidrolisis pati (Angulo-Bejarano et al., 2008).

Kadar protein ekstrak PLA dari berbagai metode ekstraksi rata-rata masih tinggi, yaitu antara 1,97-3,00%. Kadar protein terendah terdapat pada ekstrak PLA yang menggunakan papain yang disebabkan protein terhidrolisis menjadi peptida-peptida yang sebagian larut air dan terpisah dari PLA. Ekstraksi PLA dengan air tidak menyebabkan protein terhidrolisis sehingga protein tetap terikat dengan PLA. Tingginya protein yang terdapat pada PLA yang diekstrak dengan ragi tempe kemungkinan disebabkan oleh *biomassa* dari ragi tempe. Sumangat et al. (2003) menyatakan bahwa setelah proses fermentasi, terjadi pertumbuhan kapang pada substrat sehingga terbentuk *biomassa* yang merupakan sumber protein. Ekstrak PLA menggunakan ragi tempe mengandung serat kasar yang paling rendah (0,35%), diikuti ekstraksi menggunakan papain (0,4%), dan ekstraksi air (0,42%). Ekstrak PLA menggunakan ragi tempe mempunyai serat kasar yang terendah kemungkinan karena serat terhidrolisis oleh enzim selulolitik dari ragi tempe. Menurut Chiang et al. (2010) fermentasi menggunakan *Rhizopus oligosporus* pada bungkil *rapeseed* menurunkan serat kasar sebesar 25,5%.

Hasil analisis jenis gula bebas menunjukkan bahwa PLA gembili mengandung glukosa dan manosa. Gula bebas tertinggi terdapat pada ekstrak yang diperoleh menggunakan ragi tempe. Pada proses fermentasi diduga dihasilkan enzim yang dapat menghidrolisis PLA sehingga terjadi peningkatan kadar gula bebas. Fu et al. (2006) melaporkan bahwa lendir *Dioscorea* jenis Keelung dan Hualien No. 3 mengandung manosa (93,90-95,40%), serta glukosa, galaktosa, arabinosa, dan xilosa dengan kadar kurang dari 5%. Kadar glukosa dan manosa bebas dalam ekstrak PLA bervariasi bergantung pada metode ekstraksi. Pada ekstrak PLA yang diekstraksi dengan air, kadar manosa bebas lebih tinggi daripada glukosa bebas. Sebaliknya untuk ekstrak dari ekstraksi papain dan ragi tempe. Kadar glukosa dan manosa bebas tertinggi terdapat pada ekstraksi dengan menggunakan ragi tempe. Diduga pada proses fermentasi, terjadi proses hidrolisis PLA sehingga kadar glukosa dan manosa bebas meningkat. Ada dugaan kemampuan hidrolisis glukosa lebih tinggi dari manosa sehingga kadar glukosa lebih tinggi dari manosa. Hal ini berbeda dengan ekstraksi dengan air yaitu kadar manosa lebih tinggi dari glukosa.

Tabel 1 menunjukkan perbedaan viskositas PLA yang diekstrak dari berbagai metode ekstraksi. Viskositas terendah adalah PLA yang diekstrak dengan papain dan tertinggi PLA yang diekstrak dengan menggunakan ragi tempe. Papain merupakan enzim proteolitik yang dapat menghidrolisis protein. Lendir dari kelompok *Dioscoreaceae* merupakan glikoprotein yang terdiri dari polisakarida dan protein. Hidrolisis protein menyebabkan kemampuan penyerapan air menurun sehingga kemampuan meningkatkan viskositas juga menurun.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik umbi gembili segar dan PLA gembili

Karakteristik umbi gembili segar dan PLA gembili yang diekstraksi dengan tiga metode dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik umbi gembili segar dan ekstrak PLA gembili

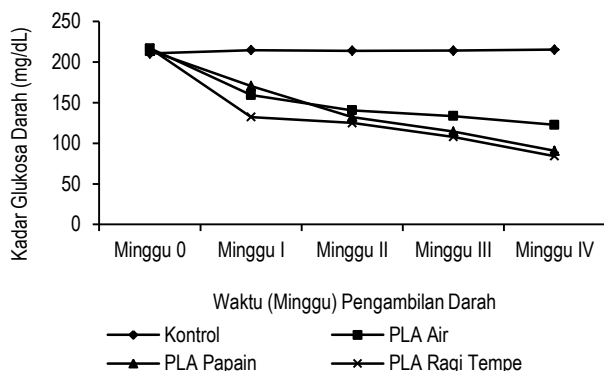
Komponen	Gembili Segar	PLA Ekstraksi Air	PLA Ekstraksi Papain	PLA Ekstraksi Ragi Tempe
Rendemen (% bb)	t.a.	4,24	4,86	3,43
Amilosa (% bb)	1,07	16,00	17,20	2,34
Protein (% bb)	2,80	2,52	1,97	3,00
Serat Kasar (% bb)	2,16	0,42	0,40	0,35
Gula Bebas				
Glukosa (ppm)	t.a.	110,68	612,58	833,07
Manosa (ppm)	t.a.	178,14	296,83	541,88
Air (% bb)	79,37	t.a.	t.a.	t.a.
Abu (% bb)	2,41	t.a.	t.a.	t.a.
Lemak (%)	0,66	t.a.	t.a.	t.a.
Karbohidrat (by difference, % bb)	14,76	t.a.	t.a.	t.a.
Viskositas (cps)	t.a.	0,109	0,107	0,111

Keterangan : t.a. = tidak dianalisis

Tabel 1 menunjukkan rendemen ekstrak PLA yang tertinggi adalah ekstraksi dengan menggunakan papain, dilanjutkan ekstraksi air, dan ekstraksi dengan menggunakan ragi tempe. Rendahnya rendemen hasil ekstraksi PLA menggunakan ragi

Efek hipoglikemik PLA gembili

Perubahan kadar glukosa darah tikus yang diberi ekstrak PLA dari berbagai metode ekstraksi dibandingkan dengan kadar glukosa darah tikus yang tidak diberi PLA dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perubahan kadar glukosa darah pada uji *in vivo* akibat perlakuan ekstrak PLA gembili dari berbagai metode ekstraksi

Penurunan kadar gula darah yang paling tajam terdapat pada perlakuan pemberian ekstrak PLA yang menggunakan ragi tempe, diikuti oleh ekstrak PLA menggunakan papain dan air. Dari Gambar 1 terlihat bahwa hiperglikemia kembali normal (kisaran kadar gula darah 70 – 110 mg/dL) setelah diberi PLA gembili selama 3 minggu untuk ekstrak PLA menggunakan ragi tempe, 4 minggu untuk ekstrak PLA menggunakan papain, dan untuk ekstrak PLA menggunakan ekstraksi air selama 4 minggu pemberian PLA belum mencapai normal walaupun terjadi penurunan.

Menurut Weickert dan Pfeiffer (2008), serat makanan dapat menurunkan glukosa *postprandial* yang berkaitan dengan sifatnya yang membentuk gel dan larutan yang kental. Larutan yang kental yang terbentuk karena PLA membentuk viskositas yang tinggi yang menghambat penyerapan gula di pencernaan akibat gula terperangkap dalam struktur gel yang lemah. Hasil penelitian Torsdottir *et al.* (1991) menunjukkan bahwa pemberian alginat pada penderita diabetes menyebabkan penurunan kecepatan pengosongan lambung dibandingkan asupan bebas serat. Ekstrak PLA menggunakan papain lebih mampu menurunkan kadar gula darah dibandingkan ekstrak air. Diduga kemurnian PLA berpengaruh terhadap kemampuan penurunan kadar gula darah.

Hal yang menarik adalah ekstrak PLA menggunakan ragi tempe mempunyai kemampuan penurunan kadar gula darah yang paling tinggi dibandingkan ekstrak lain. Hasil penelitian Shin *et al.* (2006) menunjukkan bahwa fermentasi tepung *Chineseyam* (*Dioscorea batatas* Decne) dengan *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Bifidobacterium bifidus* menyebabkan perbaikan kadar glukosa *postprandial*. Kiho *et al.* (2001) menunjukkan bahwa hidrolisis polisakarida larut air dari *Tremella aurantia* dengan menggunakan asam menyebabkan penurunan kadar glukosa plasma yang diduga disebabkan pembentukan senyawa bioaktif.

Bergantung pada substrat, senyawa bioaktif dapat terbentuk selama fermentasi dengan kapang tempe seperti pembentukan isoflavon aglikon yang mempunyai bioaktivitas yang lebih baik dari isoflavon dalam bentuk glikosida (Mortensen *et al.*, 2009). Senyawa bioaktif dalam *Dioscorea* adalah *dioscorin* (Hou *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2007; Chan *et al.*, 2006), *diosgenin* (Chou *et al.*, 2006; Braun, 2008; Yang dan Lin, 2008), dan polisakarida larut air (PLA) (Liu dan Lin, 2009). *Dioscorin* merupakan protein yang mempunyai aktivitas antihipertensi. Hidrolisis *dioscorin* menyebabkan peningkatan aktivitasnya dalam menurunkan tekanan darah (Hsu *et al.*, 2002). Diduga pada ekstraksi PLA gembili dengan menggunakan kapang tempe menghasilkan senyawa bioaktif yang ikut berperan dalam aktivitas penurunan kadar glukosa darah. *Diosgenin* termasuk ke dalam golongan steroidal saponin yang dapat mengalami transformasi menjadi saponin (Niño *et al.*, 2007). Saponin dalam keluarga *Dioscoreaceae* disebut *diosgenin*. Adanya saponin pada *fenugreek* (*Trigonella foenum*) berperan terhadap kemampuan penurunan kadar glukosa darah (Al-Habori dan Raman, 1998).

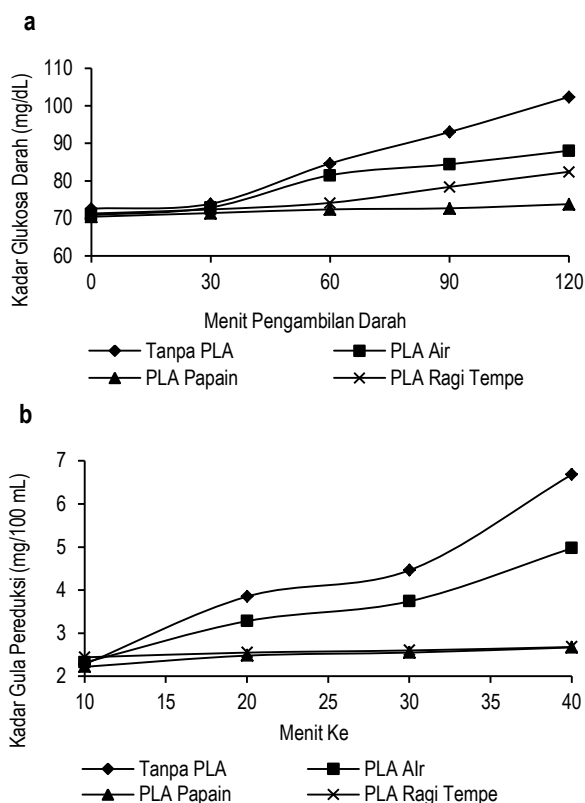
Hasil penelitian Lee *et al.* (2007) menunjukkan bahwa proses fermentasi *Dioscorea* dengan menggunakan kapang merah *Monascus purpureus* NTU 568 menghasilkan efek hipokolesterolemik yang lebih tinggi dibandingkan tanpa fermentasi yang diduga disebabkan pembentukan senyawa bioaktif *monacolin K*. Diduga kuat pada proses ekstraksi PLA gembili dengan menggunakan kapang tempe mengakibatkan pembentukan senyawa bioaktif yang ikut berperan menurunkan kadar glukosa darah.

Penurunan kadar glukosa darah pada tikus yang diberi ekstrak yang menggunakan papain lebih tinggi dibandingkan ekstrak air. Ekstrak yang menggunakan papain mempunyai kadar protein yang lebih rendah karena kemungkinan sebagian protein yang terikat PLA terhidrolisis. PLA yang lebih murni ini yang menyebabkan efek hipoglikemik yang lebih tinggi.

Respon glukosa darah

Pengujian respon glukosa darah menunjukkan bahwa penghambatan penyerapan glukosa paling tinggi terdapat pada ekstrak yang menggunakan papain diikuti oleh ekstrak menggunakan ragi tempe dan ekstrak dari ekstraksi air (Gambar 2). Tikus yang tidak diberi ekstrak PLA menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah yang paling tinggi. Pengujian respon glukosa darah menunjukkan kemampuan penyerapan glukosa sesaat setelah glukosa masuk ke dalam pencernaan. Gambar 2 menunjukkan bahwa tanpa adanya PLA dari gembili, penyerapan glukosa yang diberikan secara oral meningkat dengan tajam. Adanya PLA gembili menyebabkan perlambatan peningkatan kadar glukosa darah. Hal ini menunjukkan bahwa salah satu mekanisme penurunan kadar gula darah adalah PLA gembili menghambat penyerapan glukosa oleh pencernaan.

PLA yang diekstrak dengan bantuan enzim papain menunjukkan penghambatan yang paling tinggi. Hal ini berkaitan dengan kemurnian PLA yang lebih tinggi akibat protein yang terikat PLA terhidrolisis oleh papain. Peningkatan kemurnian PLA menyebabkan PLA lebih mampu menghambat penyerapan glukosa. Penghambatan penyerapan lebih baik pada PLA yang diekstrak dengan bantuan ragi tempe dibandingkan ekstraksi air.



Gambar 2. Peningkatan kadar glukosa darah pada pengujian toleransi terhadap glukosa (a) dan penyerapan glukosa secara *in situ* dengan kantung usus terbalik (b)

Berdasarkan hasil analisis statistik 5 (Tabel 2), jenis ekstrak PLA yang diekstrak dengan air, papain, dan ragi tempe berpengaruh terhadap penyerapan glukosa ke dalam darah, sedangkan pengujian dengan kantung usus terbalik tidak berpengaruh nyata. Hal ini kemungkinan viskositas dari masing-masing ekstrak di dalam pencernaan relatif berbeda sehingga perbedaan penghambatan penyerapannya yang signifikan jika diuji dengan respon glukosa darah. Pengujian secara *in situ* menggunakan usus terbalik kemungkinan menyebabkan viskositas antar jenis PLA tidak berbeda sehingga tidak menyebabkan perbedaan penyerapan *in situ* yang signifikan.

Pola penghambatan penyerapan glukosa dengan pengujian respon glukosa darah mempunyai pola hampir sama dengan penghambatan penyerapan glukosa secara *in situ*. Kedua pengujian ini menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan penyerapan terhadap glukosa dipengaruhi oleh kemurnian PLA. Bila dihubungkan dengan viskositas pada Tabel 1, terlihat

bahwa viskositas semua ekstrak hampir sama. Viskositas tersebut kemungkinan tidak mencerminkan viskositas sebenarnya dalam pencernaan karena pengukuran dilakukan pada suhu ruang dan pH netral sehingga dampaknya terhadap respon glukosa darah yang berbeda nyata secara statistik.

Kedua pengukuran tersebut menunjukkan penghambatan penyerapan glukosa oleh PLA dalam pencernaan. Pengujian respon glukosa darah menunjukkan penghambatan penyerapan glukosa dalam sistem pencernaan sesaat setelah glukosa masuk ke dalam pencernaan. Hal ini tidak menunjukkan efek jangka panjang asupan PLA seperti pengaruh pembentukan asam lemak rantai pendek di kolon.

Serat larut merupakan senyawa yang dapat membentuk gel ketika tersedia air dalam perut dan usus halus. Gel yang terbentuk memperlambat pengosongan perut, mempercepat waktu transit di usus halus, dan mengendalikan penyerapan nutrisi. Hal ini berdampak pada penyerapan glukosa dalam darah dan nilai indeks glikemik bahan pangan (Lunn dan Buttriss, 2007).

Hasil penelitian Madar *et al.* (1988) menunjukkan bahwa diit yang diberi serat pangan dari biji kapas pada subyek penderita diabetes menunjukkan peningkatan kadar glukosa yang lebih rendah pada menit ke 30, 60, dan 180 setelah konsumsi dibandingkan diit tanpa serat. Serat pangan dari biji kapas juga memperpendek waktu transit dan meningkatkan berat feses. Serat pangan secara teoritis menurunkan difusi nutrisi untuk diabsorpsi oleh mukosa usus sehingga menyebabkan penurunan kadar glukosa. Hal ini yang menyebabkan ekstrak PLA gembili mampu menghambat penyerapan glukosa.

Lebih lanjut Madar *et al.* (1988) menyatakan bahwa efek metabolik serat makanan dibagi menjadi dua kategori yaitu akut dan kronis. Perubahan akut dapat terlihat setelah serat dikonsumsi. Penghambatan peningkatan kadar glukosa darah berkaitan dengan penundaan absorpsi nutrisi atau penurunan waktu transit. Pada kategori akut, serat makanan memperbaiki toleransi terhadap glukosa dan menurunkan kecepatan absorpsi pada jejunal. Bentuk fisik serat juga berpengaruh terhadap kemampuan dalam menghambat penyerapan glukosa. Menurut Madar *et al.* (1988), serat kedelai dalam bentuk bubuk tidak mampu menghambat penyerapan glukosa, akan tetapi jika diformulasikan dalam roti, serat tersebut dapat menghambat peningkatan kadar gula darah. Ada dugaan bahwa ekstrak PLA menggunakan ragi tempe telah terhidrolisis sehingga secara fisik berbeda dengan ekstrak PLA menggunakan papain yang lebih utuh, sehingga penghambatan penyerapan ekstrak papain lebih baik. Dilihat dari kemurnian, keduanya lebih murni dari ekstrak air karena protein dapat terhidrolisis selama proses baik oleh papain maupun aktivitas ragi tempe.

Tabel 2. Pengaruh metode ekstraksi terhadap respon glukosa darah dan kantung usus terbalik

Metode Ekstraksi	Respon Glukosa Darah (mg/dL), menit ke					Rerata	Kantung Usus Terbalik (mg/100 mL), menit ke					Rerata
	0	30	60	90	120		10	20	30	40		
Kontrol, tanpa PLA	72,60 ^a	73,90 ^b	84,63 ^c	93,01 ^d	102,37 ^d	85,30 ^d	2,28 ^a	3,85 ^a	4,46 ^a	6,68 ^a	4,32 ^b	
Air	70,87 ^a	72,92 ^{a^b}	81,49 ^b	84,41 ^c	88,03 ^c	79,54 ^c	2,32 ^a	3,28 ^a	3,74 ^a	4,97 ^a	3,58 ^a	
Papain	70,44 ^a	71,41 ^a	72,40 ^a	72,69 ^a	73,79 ^a	72,15 ^a	2,22 ^a	2,48 ^a	2,55 ^a	2,67 ^a	2,48 ^a	
Ragi Tempe	71,30 ^a	72,38 ^{a^b}	74,14 ^a	78,39 ^b	82,42 ^b	75,73 ^b	2,44 ^a	2,55 ^a	2,60 ^a	2,68 ^a	2,57 ^a	

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang angka pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (p<0,05)

Asam lemak rantai pendek pada Caecum

Tidak semua karbohidrat dalam diit dapat diabsorpsi dalam usus halus, dan sejumlah tertentu masuk ke dalam kolon dan difermentasi oleh bakteri yang ada di kolon (Lunn dan Buttriss, 2007). Serat makanan dapat mempengaruhi metabolisme dan produksi asam lemak rantai pendek di kolon (Marsman dan McBurney, 1996). Berbagai penelitian telah mengkaji hubungan antara serat dengan kadar glukosa dan insulin (de Leeuw *et al.*, 2004). Gambar 3 menunjukkan pengaruh pemberian ekstrak PLA dari berbagai metode ekstraksi terhadap produksi asam lemak rantai pendek pada *caecum* tikus.

Secara umum, kadar asam lemak rantai pendek *caecum* pada kelompok tikus kontrol yang tidak diberi ekstrak PLA gembili lebih rendah dibandingkan kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak PLA gembili. Produksi asam lemak rantai pendek tertinggi terdapat pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstraksi PLA menggunakan papain, diikuti ekstraksi PLA menggunakan ragi tempe, dan ekstraksi air. Kemurnian PLA diduga berhubungan dengan kemampuannya untuk difermentasi oleh mikroflora dalam kolon. Ekstraksi PLA menggunakan papain kemungkinan menghasilkan PLA yang lebih murni karena protein yang terikat PLA dapat terhidrolisis oleh papain.

Oligosakarida yang tidak dapat dicerna berperan bagi kesehatan pencernaan melalui fermentasi dan proliferasi spesies bakteri yang menguntungkan kesehatan. Jenis oligosakarida berpengaruh terhadap jenis asam lemak rantai pendek yang dihasilkan (Campbell *et al.*, 1997). Kemampuan serat makanan untuk difermentasi dan menghasilkan asam lemak rantai pendek bergantung pada jenis serat. Profil atau jenis-jenis asam lemak rantai pendek juga bervariasi bergantung pada jenis serat. Efek fisiologis serat tersebut bergantung pada beberapa faktor termasuk fermentasi di kolon dan produk fermentasi yang dihasilkan. Produk akhir fermentasi adalah asam lemak rantai pendek dan gas (CO₂, CH₄, dan H₂) (Henningsson *et al.*, 2002).

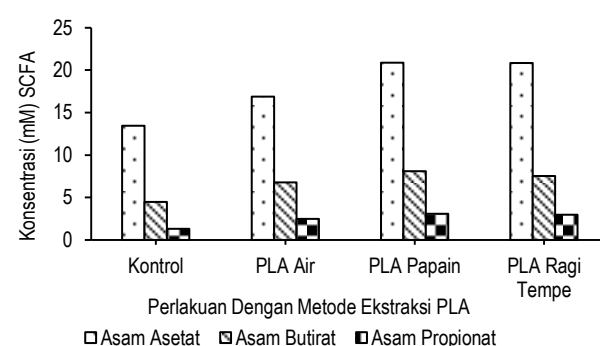
Tingginya asam lemak rantai pendek yang dihasilkan oleh PLA gembili yang diekstrak dengan bantuan papain hampir sebanding dengan PLA gembili yang diekstrak dengan bantuan ragi tempe. Kedua PLA tersebut lebih murni dibandingkan PLA yang diekstrak dengan air. Jenis gula dalam struktur PLA diduga adalah manosa dan glukosa karena analisis gula bebas dari ekstrak PLA menunjukkan bahwa jenis gula yang terdeteksi adalah glukosa dan manosa (Tabel 1). Glukomanan dari PLA gembili kemungkinan bersifat dapat difermentasi yang ditunjukkan oleh peningkatan produksi asam lemak rantai pendek jika dibandingkan dengan kontrol.

Dari Gambar 3 terlihat bahwa jenis asam lemak rantai pendek yang dominan dihasilkan dari proses fermentasi di kolon adalah asam asetat, diikuti asam butirat, dan asam propionat. Menurut Lunn dan Buttriss (2007) ketiga jenis asam lemak rantai pendek tersebut merupakan jenis asam lemak rantai pendek dominan yang dihasilkan dalam pencernaan. Konsentrasi asam lemak rantai pendek beragam bergantung pada jenis polisakarida yang difermentasi, walaupun secara umum asetat merupakan jenis asam lemak rantai pendek terbanyak, dan butirat paling sedikit.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa PLA gembili menghasilkan butirat yang lebih tinggi dibandingkan propionat. Hal ini menguntungkan karena menurut Henningsson *et al.* (2002), butirat memacu apoptosis sel kanker kolon. Peningkatan produksi asam lemak rantai pendek menguntungkan karena menurunkan produksi glukosa oleh hati (Weickert dan Pfeiffer, 2008). Peningkatan kadar SCFA dalam vena porta menyebabkan aktivasi AMPK (AMP *activated protein kinase*) dalam hati. AMPK berfungsi sebagai pengatur produksi energi dalam sel dan regulasi homeostatis metabolik (Hu *et al.*, 2010).

Lebih lanjut Weickert dan Pfeiffer (2008) menjelaskan bahwa tidak hanya kemampuan polisakarida untuk difermentasi saja yang berperan menurunkan kadar gula darah. Konsumsi serat makanan berkontribusi terhadap sejumlah efek metabolik termasuk sensitivitas insulin, modulasi sekresi hormon dalam pencernaan, dan berbagai proses metabolisme yang berkaitan dengan sindrom metabolik.

Gambar 3 menunjukkan bahwa komposisi SCFA *caecum* baik pada tikus kontrol maupun tikus yang diberi perlakuan hampir sama yaitu didominasi asam asetat, dan kadar asam butirat lebih tinggi dari asam propionat. Perbedaan metode ekstraksi tampaknya tidak berpengaruh terhadap komposisi SCFA *caecum*.



Gambar 3. Jenis dan kadar asam lemak rantai pendek *caecum* dari berbagai ekstrak PLA gembili

KESIMPULAN

Ekstrak PLA gembili merupakan polisakarida yang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada kondisi hiperglikemia. Metode ekstraksi yang berbeda mengakibatkan kemampuan penurunan kadar glukosa darah yang juga berbeda. Mekanisme penurunan kadar glukosa darah oleh PLA gembli berkaitan dengan penghambatan penyerapan glukosa dan fermentasi PLA menghasilkan asam lemak rantai pendek. Ekstrak PLA menggunakan ragi tempe mempunyai potensi penurunan kadar glukosa darah yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak PLA menggunakan papain atau air. Ada dugaan terdapat efek sinergis ragi tempe dalam menurunkan kadar glukosa darah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat – Direktorat

Jenderal Pendidikan Tinggi – Kementerian Pendidikan Nasional atas dana Hibah Penelitian Kompetitif sesuai Prioritas Nasional Batch I Tahun 2009 dan Sdr Yuliyanto atas bantuan teknis selama pengujian dan analisis *in vivo* dan *in situ*.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Habori, Raman A. 1998. Antidiabetic and hypocholesterolaemic effects of fenugreek. *Phytother Res* 12: 233–242.
- Angulo-Bejarano PI, Verdugo-Montoya NM, Cuevas-Rodríguez EO, Milán-Carrillo J, Mora-Escobedo R, Lopez-Valenzuela JA, Garzón-Tiznado JA, Reyes-Moreno C. 2008. Tempeh flour from chickpea (*Cicer arietinum* L.) nutritional and physicochemical properties. *Food Chem* 106: 106–112.
- AOAC [Association of official Analytical Chemist]. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. AOAC, Washington DC, USA.
- Braun L. 2008. Wild yam *Dioscorea* sp. *Complementary Medicine* 7: 40-42.
- Campbell JM, Fahey Jr GC, Wolf BR. 1997. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J Nutr* 127: 130–136.
- Chan YC, Hsu CK, Wang MF, Liao JW, Su TY. 2006. Beneficial effect of yam on the amyloid β -protein, monoamine oxidase B and cognitive deficit in mice with accelerated senescence. *J Sci Food Agric* 86: 1517–1525.
- Chiang G, Lu WQ, Piao XS, Hu JK, Gong LM, Tracker PA. 2010. Beneficial effects of *Rhizopus oligosporus* fermentation on reduction of glucosinolates, fibre and phytic acid in rapeseed (*Brassica napus*) Meal. *Asian-Aust J of Anim Sci* 23: 263-271.
- Chou ST, Chiang BH, Chung YC, Chen PC, Hsu CK. 2006. Effects of storage temperatures on the antioxidative activity and composition of yam. *Food Chem* 98: 618–623.
- de Leeuw JA, Jongbloed AW, Verstegen MWA. 2004. Dietary fiber stabilizes blood glucose and insulin levels and reduces physical activity in sows (*Sus scrofa*). *J Nutr* 134: 1481–1486.
- Fu Y, Ferng LA, Huang P. 2006. Quantitative analysis of allantoin and allantoinic acid in yam tuber, mucilage, skin and bulbil of the *Dioscorea* species. *Food Chem* 94: 541–549.
- Harijono, Estiasih T, Sunarharum WB. 2009. Ekstraksi polisakarida bioaktif dari gadung dan gambili dan potensinya untuk terapi diabetes dan penurunan kadar kolesterol darah. Laporan Hibah Kompetitif Penelitian sesuai Prioritas Nasional Batch I dibiayai oleh DIKTI. LPPM Universitas Brawijaya, Malang.
- Henningson AM, Bjorck IME, Nyman EMGL. 2002. Combinations of indigestible carbohydrates affect short-chain fatty acid formation in the hindgut of rats. *J Nutr* 132: 3098–3104.
- Hou WC, Lee MH, Chen HJ, Liang WL, Han CH, Liu YW, Lin YH. 2001. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. *J Agric Food Chem* 49: 4956-4960.
- Hsu FH, Lin YH, Lee MH, Lin CL, Hou WC. 2002. Both dioscorin, the tuber storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv. Tainong No. 1), and its peptic hydrolysates exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activities. *J Agric Food Chem* 50: 6109-6113.
- Hu GX, Chen GR, Xu H, Ge RS, Lin J. 2010. Activation of the AMP activated protein kinase by short-chain fatty acids is the main mechanism underlying the beneficial effect of a high fiber diet on the metabolic syndrome. *Med Hypotheses* 74: 123-126.
- Juntunen KS, Laaksonen DE, Poutanen KS, Niskanen LK, Mykkanen HM. 2003. High-fiber rye bread and insulin secretion and sensitivity in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 77: 385–91.
- Kasno A, Saleh N, Ginting E. 2006. Pengembangan pangan berbasis kacang-kacangan dan umbi-umbian guna pemantapan ketahanan pangan nasional. *Buletin Palawija* 12:43-51.
- Kiho T, Kochi M, Usui S, Hirano K, Aizawa K, Inakum T. 2001. Antidiabetic effect of an acidic polysaccharide (TAP) from *Tremella aurantia* and its degradation product (TAP-H). *Biol Pharm Bull* 24: 1400-1403.
- Lee CL, Hung HK, Wang JJ, Pan TM. 2007. Improving the ratio of monacolin K to citrinin production of *Monascus purpureus* NTU 568 under *Dioscorea* medium through the mediation of pH value and ethanol addition. *J Agric Food Chem* 16: 6493-6502.
- Liu YW, Shang HF, Wang CK, Hsu FL, Hou WC. 2007. Immunomodulatory activity of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv. Tainong no.1) tuber. *Food and Chem Toxicol* 45: 2312-2318.
- Liu YM, Lin KW. 2009. Antioxidative ability, dioscorin stability, and the quality of yam chips from various yam species as affected by processing method. *J Food Sci* 74: C118-C125.
- Lunn J, Buttriss JL. 2007. Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition Bulletin* 32: 21–64.
- Madar M, Nir M, Trostler N, Norenberg C. 1988. Effects of cottonseed dietary fiber on metabolic parameters in diabetic rats and non-insulin-dependent diabetic humans. *J Nutr* 118: 1143 -1148.
- Marsman K, McBurney M. 1996. Dietary fiber and short-chain fatty acids affect cell proliferation and protein synthesis in isolated rat colonocytes. *J Nutr* 126: 1429-1437.
- Mortensen A, Kulling SE, Schwartz H, Rowland I, Ruefer CE, Rimbach G, Cassidy A, Magee P, Millar J, Hall WL, Birkved FB, Sorensen IK, Sontag G. 2009. Analytical and compositional aspects of isoflavones in food and their biological effects. *Mol Nutr Food Res* 53: S266-S309.
- Myoda T, Matsuda Y, Suzuki T, Nakagawa T, Nagai T, Nagashima T. 2006. Identification of soluble proteins and interaction with mannan in mucilage of *Dioscorea opposita* Thunb. (Chinese yam tuber). *Food Sci Technol Res* 12: 299-302.

- Niño J, Jiménez DA, Mosquera OM, Correa YM. 2007. Diosgenin quantification by HPLC in a *Dioscorea polygonoides* tuber collection from Colombian flora. *J Braz Chem Soc* 18: 1073-1076.
- Ohizumi Y, Gaidamashvili M, Ohwada S, Matsuda K, Kominami J, Sachiko N, Hirabayashi J, Naganuma T, Ogawa T, Muramoto K. 2009. Mannose-binding lectin from yam (*dioscorea batatas*) tubers with insecticidal properties against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Agric Food Chem* 57: 2896–2902.
- Reeves PG, Nilson FH, Fahey GC. 1993. Purified diet for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of AIN-76 a rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
- Ruzaidi A, Maleyki A, Amin I, Nawalyah AG, Muhajir H, Pauliena MBSMJ, Muskinah MS. 2008. Hypoglycaemic properties of Malaysian cocoa (*Theobroma Cacao*) polyphenols-rich extract. *IFRJ* 15: 305-312.
- Schoeninger MJ, Bunn HT, Murray SS, Marlett JA. 2000. Composition of tubers used by hadza foragers of Tanzania. *J of Food Compos and Anal* 14: 15-25.
- Shin KO, Jeon JR, Lee JS, Kim JY, Lee CH, Kim SD, Yu YS, Nam DH. 2006. Lactic acid fermentation of Chinese yam (*Dioscorea batatas* Decne) flour and its pharmacological effect on gastrointestinal function in rat model. *Biotechnol and Bioprocess Eng* 11: 240-244.
- Sumangat D, Sembiring BS, Winarti C. 2003. Biokonversi buah semu jambu mente menjadi konsentrat protein mikrobial. *Buletin TRO* 14: 1-8.
- Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg A, Tolli K. 1991. A small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J Nutr* 121: 795-799.
- Weickert MO, Pfeiffer AFH. 2008. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr* 138: 439–442.
- Xie JT, Wu JA, Mehendale S, Aung HH, Yuan CS. 2004. Anti-hyperglycemic effect of the polysaccharides fraction from American ginseng berry extract in ob/ob mice. *Phytomedicine* 11: 182-187.
- Yang DJ, Lin JT. 2008. Effects of different storage conditions on steroidal saponins in yam (*Dioscorea pseudojaponica* Yamamoto) tubers. *Food Chem* 110: 670–677.
- Zhao Y, Son YO, Kim SS, Jang YS, Lee JC. 2007. Antioxidant and anti hyperglycemic activity of polysaccharide isolated from *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. *J of Biochem and Molecular Biol* 40: 670-677.