

**PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING  
DENGAN FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS  
MERAH TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH  
DAN TRIGLISERIDA PADA TIKUS WISTAR  
MODEL DIABETES MELITUS INDUKSI  
STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**RIFAH PUTRI ANGGUN**  
**155130100111006**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING  
DENGAN FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS  
MERAH TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH  
DAN TRIGLISERIDA PADA TIKUS WISTAR  
MODEL DIABETES MELITUS INDUKSI  
STREPTOZOTOCIN**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :  
**RIFAH PUTRI ANGGUN**  
**155130100111006**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**



**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rifah Putri Anggun  
NIM : 155130100111006  
Program Studi : Kedokteran Hewan  
Penulis Skripsi berjudul : **Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Dengan Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Trigliserida Pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus Induksi Streptozotocin**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 7 Agustus 2019  
Yang menyatakan,

(Rifah Putri Anggun)  
NIM.155130100111006

## Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Dengan Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Trigliserida Pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus Induksi Streptozotocin

### ABSTRAK

Diabetes Melitus adalah penyakit metabolisme kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah sebagai akibat organ pankreas tidak mampu memproduksi hormon insulin sesuai kebutuhan tubuh atau terjadi resistensi terhadap hormon insulin. Diabetes Melitus yang diinduksi oleh streptozotocin terjadi karena adanya kerusakan sel  $\beta$  pankreas melalui mekanisme stres oksidatif. Diabetes Melitus diketahui dapat terjadi pada hewan terutama anjing dan kucing. Yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah dapat digunakan sebagai terapi DM dikarenakan mengandung antioksidan yang tinggi serta mengandung banyak serat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah terhadap kadar glukosa darah dan trigliserida pada tikus putih yang diinduksi streptozotocin. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan umur 8-12 minggu dengan berat badan 130-200 gram dibagi menjadi 5 kelompok dengan 4 ulangan, yaitu K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif yang diinduksi Streptozotocin), P1, P2, dan P3 merupakan kelompok terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 1 mL, 2 mL, dan 3 mL selama 14 hari. Induksi streptozotocin diberikan sebanyak 45mg/kgBB sekali pemberian. Analisis data secara kuantitatif menggunakan uji statistik ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey*  $\alpha = 0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat menurunkan kadar glukosa darah dan trigliserida. Volume pemberian sebanyak 2 mL merupakan volume pemberian yang efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah dan trigliserida sebanyak 75,3 % dan 63,3%.

**Kata kunci:** *diabetes melitus, yoghurt susu kambing, bekatul beras merah*

## The Effect of Giving Goat Milk Yogurt with Fortification of Red Rice Bran Flour to Blood Glucose Levels and Triglycerides in Wistar Mice Model Diabetes Mellitus from Streptozotocin Induction

### ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic disease characterized by increased levels of calcium in the blood because the pancreatic organs are unable to produce the hormone insulin according to the body's needs or there is resistance to insulin. Streptozotocin induced Diabetes Mellitus occurs due to pancreatic  $\beta$  cell damage by stress oxydative. Diabetes Mellitus can occur in Cats and Dogs. Goat milk yogurt fortified with red rice bran can be used as stz therapy which contains many antioxidants and lots of fiber. This study aims to determine the effect of goat milk yogurt fortification of brown rice bran flour on blood glucose levels and triglycerides in white rats induced by streptozotocin. This study used a completely randomized design with 20 male white rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain aged 8-12 weeks with a weight of 130-200 grams divided into 5 groups with 4 repetitions, namely K1 (negative control), K2 (positive control, untreated diabetic rats), P1, P2, and P3 were the treatment groups of goat milk yogurt fortified with 4% red rice bran with a volume of 1 mL, 2 mL, and 3 mL for 14 days. Induction of streptozotocin given as much as 45 mg / kg body weight once given. Analysis using quantitative data analysis using ANOVA statistical tests and continued with Tukey test  $\alpha = 0.05$ . The results showed that goat milk yogurt therapy fortified red rice bran flour can reduce blood glucose and triglyceride levels. The volume of administration of 2 mL is an effective volume to reduce blood glucose and triglyceride levels by 75.3% and 63.3%.

**Keywords:** *diabetes mellitus, goat milk yogurt, brown rice bran*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan anugerah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Dengan Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Trigliserida Pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus Induksi Streptozotocin” ini dapat terselesaikan.

Selama menyusun skripsi, penulis banyak mendapatkan arahan, bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi yaitu :

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan dan kemudahan dalam menempuh pendidikan Sarjana di Universitas Brawijaya.
2. drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P., M.Biotech selaku Wakil Dekan I Bidang Akademik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
3. Dr. Husnul Khotimah S.Si., M.Kes selaku dosen pembimbing I atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
4. drh. Herlina Pratiwi, M.Si selaku dosen pembimbing II atas segala motivasi, kesempatan, kebijakan, beserta kemudahan-kemudahan dalam proses penyelesaian proposal.
5. drh. Dodik Prasetyo, M.Vet selaku dosen penguji I yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat membangun kepada penulis.
6. drh. Ajeng Erika PH, M.Si selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat membangun kepada penulis.
7. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

8. Keluarga penulis, ibunda Fatmawati dan ayahanda Nasharuddin, adik Nur Quraisy Fitri yang telah memberi dukungan, kasih sayang, motivasi serta doa yang tiada hentinya untuk penulis.
9. Tim Skripsi saya, yaitu Inggrit Resgita Putri, Catur Kesuma Ningtyas, dan Erina Bidari Utomo yang telah semangat bekerja bersama menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman sepermainan Penulis selama perkuliahan; Wia, Ernita, Intan, Dyah, Inggrit, Catur, Liza, Triyana, Mayang dan Leli yang sudah saling memotivasi dan menguatkan.
11. Rekan-rekan mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan khususnya angkatan tahun 2015 (DNA) atas kerja sama serta motivasi yang diberikan sejak masa perkuliahan sampai penulisan skripsi ini selesai.
12. Anggota Lima. Kikay, Aldo, Rizal dan Bayu yang selalu menghibur penulis disaat masa-masa penulisan proposal.

Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa. Membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan hasil dari penelitian ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 7 Agustus 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN</b> .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Masalah .....	4
1.4 Tujuan Penelitian .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Diabetes Millitus .....	7
2.1.1 Klasifikasi Diabetes Millitus .....	7
2.1.2 Patogenesis Diabetes Millitus .....	8
2.2 Streptozotocin .....	9
2.3 Glukosa Darah .....	10
2.4 Trigliserida .....	10
2.5 Hubungan Kadar Glukosa Darah dan Trigliserida pada Penderita Diabetes Melitus .....	11
2.6 Yoghurt Susu Kambing .....	12
2.7 Bekatul Beras Merah .....	14
2.8 Hewan Coba Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	15
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	17
3.1 Kerangka Konseptual .....	17
3.2 Hipotesis Penelitian .....	20
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	21
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	21
4.2 Alat dan Bahan .....	21
4.3 Rancangan Penelitian .....	21
4.4 Variabel Penelitian .....	23
4.5 Tahapan Penelitian .....	23
4.6 Prosedur Kerja .....	24
4.6.1 Persiapan Hewan Coba .....	24



4.6.2 Pembuatan dan Pemberian Yoghurt Susu Kaming Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah 4% .....	24
4.6.3 Pembuatan dan Induksi Streptozotocin .....	25
4.6.4 Pengukuran Kadar Glukosa Darah pada Hewan Coba.....	25
4.6.5 Euthanasi Hewan Coba .....	26
4.6.6 Pengambilan Darah dan Proses Pengambilan Serum.....	26
4.6.7 Pengukuran Kadar Trigliserida Pada Hewan Coba .....	26
4.7 Analisis Data .....	27
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>28</b>
5.1 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fotifikasi Tepung Bekatul Beras Merah 4% Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) dengan Induksi Streptozotocin .....	28
5.2 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fotifikasi Tepung Bekatul Beras Merah 4% Terhadap Kadar Trigliserida pada Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) dengan Induksi Streptozotocin.....	35
<b>BAB 6 PENUTUP</b> .....	<b>41</b>
6.1 Kesimpulan .....	41
6.2 Saran .....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>47</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Rancangan penelitian .....	22
5.1 Rata-rata kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok.....	29
5.2 Rata-rata kadar trigliserida pada masing-masing kelompok.....	35



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Strain Wistar.....	16
5.1 Grafik rata-rata kadar relatif glukosa darah pada masing-masing kelompok perlakuan.....	29
5.2 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Strain Wist Grafik rata-rata kadar relatif trigliserida pada masing-masing kelompok perlakuan ar .....	36



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Kode Etik .....	48
2. Kerangka Penelitian .....	49
3. Diagram Alir .....	50
4. Perhitungan dosis .....	53
5. Data Hasil Uji Statistik Glukosa Darah .....	55
6. Data Hasil Uji Statistik Trigliserida .....	59
7. Dokumentasi Penelitian .....	63



## DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<u>Simbol/ Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
μL	Mikroliter
%	Persen
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
BAL	Bakteri Asam Laktat
C	<i>Celcius</i>
Cm	Sentimeter
DM	Diabetes Melitus
g	Gram
IDDM	<i>Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
KEP	Komisi Etik Penelitian
kgBB	Kilogram Berat Badan
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
m	Meter
mg	Miligram
mL	Mililiter
mm	Milimeter
NaCl	<i>Natrium Chlorida</i>
NIDDM	<i>Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
NO	nitrit oxyde
RAL	Rancangan Acak lengkap
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
STZ	Streptozotocin
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu penyakit yang sering dijumpai dan menjadi masalah pada kesehatan masyarakat. Menurut Tjokroprawiro (2001), diabetes tercantum dalam urutan keempat prioritas penelitian nasional untuk penyakit degeneratif setelah penyakit kardiovaskuler, serebrovaskuler, rheumatik dan katarak. Diabetes Melitus adalah keadaan dimana kadar gula dalam darah meningkat dan didalam urin ditemukan gula. Diabetes Melitus mendapat julukan "*The silent killer*" karena komplikasi yang dapat ditimbulkannya dan hingga kini masih belum tuntas penanganannya. (Dalimuthe, 2004). Tingginya presentase penderita DM di dunia menurut *International Diabetes Federation* (IDF) (2013) mencapai 382 orang pada tahun 2013, sedangkan di Indonesia penderita DM mencapai 8,5 juta orang.

Diabetes juga dapat terjadi pada hewan peliharaan, penelitian di Swedia menyatakan 860 anjing menderita diabetes, sedangkan pada kucing di Inggris dilaporkan cukup tinggi yaitu 1 ekor dari 200 ekor populasi kucing. Diabetes pada anjing biasanya ditemukan pada anjing tua karena sel  $\beta$  yang tidak responsif sehingga insulin yang diproduksi tidak maksimal (Hoening, 2002). Faktor pemicu lain dari terjadinya DM dilaporkan karena terjadinya obesitas, kurangnya *exercise* dan umur terutama pada hewan yang tua. Kucing dilaporkan kebanyakan mengalami DM pada umur 10-13 tahun, namun tidak menutup kemungkinan DM dapat terjadi pada semua usia, jenis kelamin, maupun jenis kucing (McCann *et al.*, 2007).

Diabetes melitus memiliki dua tipe, yaitu diabetes melitus tipe 1 yang dapat disebut dengan *Insulin Dependent Diabetes Mellitus/IDDM* yang munculnya tergantung dari kadar insulin, dan diabetes melitus tipe 2 atau biasa disebut *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus/NIDDM* yang munculnya akibat dari berkurangnya jumlah reseptor insulin pada permukaan sel yang menyebabkan penggunaan insulin kurang efektif (Erwin dkk., 2013).

Salah satu tanda dari penyakit diabetes melitus adalah keadaan hiperglikemia atau kadar glukosa dalam darah tinggi. Keadaan ini disebabkan karena terjadi kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas dalam memproduksi insulin. Hal ini menyebabkan defisiensi insulin yang mengakibatkan insulin tidak dapat mengontrol glukosa dalam darah. Sedangkan trigliserida adalah bentuk simpanan lemak utama dalam tubuh yang disintesis di jaringan adiposa dan sel hati. Kadar trigliserida serum selalu dipertahankan dalam keadaan normal terutama oleh hormon insulin (Adam, 2014). Manaf (2014), menyebutkan bahwa resistensi insulin pada diabetes melitus secara klinis mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah dan kemudian berlanjut pada peningkatan kadar trigliserida serum.

Terapi yang tepat untuk penderita DM adalah dengan memperbaiki pola makan, salah satunya dengan memberikan diet tinggi serat dan antioksidan yang dapat menekan peningkatan kadar glukosa darah penderita. Diet tinggi serat diperlukan untuk mengontrol kadar glukosa darah yang berguna untuk memperlambat pengosongan lambung. Diet tinggi antioksidan berguna untuk mempercepat pembentukan radikal bebas dengan memberikan elektronnya agar menghambat aktivitas senyawa oksidan tersebut (Chelzea dan Wirawanni, 2015).

Salah satu bahan makanann yang mengandung antioksidan dan serat yang tinggi adalah bekatul dan produk olahan dari susu kambing (Mahdi, 2019).

Yoghurt merupakan produk berbasis susu yang mengalami proses fermentasi dan telah dikonsumsi sejak lama karena banyak memiliki efek baik. Yoghurt salah satunya dapat dibuat dari susu kambing. Pembuatan susu kambing menjadi yoghurt akan meningkatkan nilai jual susu, nilai gizi dan kesukaan konsumen terhadap susu kambing. Adapun keuntungan dari proses fermentasi susu kambing menjadi yoghurt adalah untuk menghilangkan bau “prengus” atau bau khas dari susu kambing yang kurang disukai (Baarri, 2003). Awemu (2009) melaporkan bahwa susu kambing merupakan sumber peptida bioaktif jika dikembangkan dengan pengolahan yang tepat salah satunya dengan teknik fermentasi. Bakteri Asam Laktat (BAL) mampu menghidrolisa peptida bioaktif dengan enzim proteolitik, sehingga dapat dihasilkan peptida bioaktif yang cukup banyak pada produk olahan susu fermentasi. Fungsi dari peptida bioaktif salah satunya adalah sebagai antioksidan.

Di Indonesia produksi bekatul sangat melimpah namun pemanfaatannya paling banyak hanya sebagai pakan ternak. Perkiraan produksi gabah kering tahun 2010 di Indonesia sebanyak 66,8 juta ton sehingga dapat diperkirakan produksi bekatul 5,3-6,7 juta ton per tahun, jumlah yang sangat melimpah apabila hanya digunakan untuk pakan ternak. Bekatul merah merupakan bahan makanan tinggi serat, hal tersebut dapat mendukung pengobatan diabetes melitus dikarenakan penderita DM dianjurkan diet tinggi serat dalam upaya menurunkan kadar glukosa darah. Tuarita (2017) menyebutkan bahwa bekatul juga kaya akan antioksidan

salah satunya adalah  $\gamma$ -oryzanol, sehingga berpotensi sebagai penangkal radikal bebas.

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi bekatul merah terhadap kadar glukosa darah dan trigliserida pada hewan model diabetes melitus hasil induksi streptozotocin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hewan model diabetes melitus?
2. Apakah pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah dapat menurunkan kadar trigliserida pada hewan model diabetes melitus?

## 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dari D'Wistar Bandung yang disediakan oleh Laboratorium Hewan Institut Biosains Universitas Brawijaya, galur *Wistar* jantan, berumur 8-12 minggu, dan berat badan 130-200 gram. Penggunaan hewan coba dalam

penelitian ini disertifikasi Laik Etik Penelitian dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya.

2. Pembuatan hewan model diabetes melitus menggunakan streptozotocin (STZ) secara intraperitoneal dengan dosis 45mg/kgBB sekali pemberian (Nurdiana, 1998). Hewan lalu diinkubasi selama 3 hari dan selanjutnya dilakukan kembali pengecekan glukosa darah, penentuan kondisi diabetes diukur menggunakan Glukometer digital dan dinyatakan diabetes jika gula darah diatas batas maskimal gula darah normal 150 mg/dL (Saputra dkk, 2018).
3. Susu kambing didapatkan dari peternakan Dr. Goat Batu Malang dan proses pembuatan yoghurt dilakukan di Laboratorium Kesmavet Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Bekatul beras merah didapatkan dari supermarket dengan merek dagang CRT Bekatul Beras Merah.
4. Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% diberikan dengan volume pemberian 1 mL pada kelompok perlakuan 1, 2 mL pada kelompok perlakuan 2 dan 3 mL pada kelompok perlakuan 3 secara peroral dengan sonde lambung selama 14 hari (Nurliyani dkk, 2015).
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah yang diukur menggunakan *glucometer* sebelum diberikan STZ, setelah diinduksi STZ dan setelah terapi pada hari ke 15 dan kadar trigliserida diukur dengan metode GPO-PAP.

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini, adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah terhadap kadar glukosa darah pada hewan model diabetes melitus.
2. Mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah terhadap kadar trigliserida pada hewan model diabetes melitus.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat yang diharapkan oleh penulis dari penelitian ini, adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pengaruh pemberian terhadap kadar glukosa darah pada hewan model diabetes melitus.
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pengaruh pemberian terhadap kadar trigliserida pada hewan model diabetes melitus.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Diabetes Melitus

Diabetes mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas atau disebabkan kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (Ditjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005). Berdasarkan *International Diabetes Federation* (IDF), prevalensi Diabetes Melitus di dunia adalah 1,9%. Diabetes Melitus merupakan penyebab kematian urutan ke-7 di dunia. Hasil riset kesehatan pada tahun 2008, prevalensi Diabetes Melitus disebabkan oleh faktor-faktor resiko misalnya jenis kelamin, umur dan faktor lainnya (Adnan, 2003).

#### 2.1.1 Klasifikasi Diabetes Melitus

Menurut Mealy and Thomas (2006), secara umum diabetes melitus dibagi menjadi dua tipe :

a. Diabetes Melitus tipe 1 (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*)

Diabetes melitus tipe 1 diakibatkan oleh defisiensi hormon insulin. Defisiensi hormon insulin disebabkan karena adanya kerusakan sel  $\beta$  pankreas karena adanya reaksi autoimun sehingga dapat terjadi ketoasidosis. Keadaan ini ditandai terjadinya glikosuria, hiperglikemia, hiperketonemia, ketonuria dan hipoinsulinemia. Faktor yang menyebabkan terjadinya DM tipe 1 antara lain faktor genetik,

imunologis, faktor lingkungan, gangguan metabolisme dan endokrinologi.

b. Diabetes Melitus tipe 2 (*Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus*)

Diabetes melitus tipe 2 terjadi karena resistensi insulin. Pada tipe ini insulin masih dihasilkan, sehingga tingkat kejadian ketoasidosis lebih rendah dibandingkan dengan DM tipe 1. Diabetes Melitus tipe 2 menunjukkan hiperglikemia yang berangsur tanpa gejala sehingga DM tipe 2 sedikit lebih sukar untuk didiagnosa. Peningkatan lemak terjadi pada DM tipe 2, sehingga terjadi penumpukan lemak atau terjadi obesitas. Jaringan adiposa berperan penting dalam perkembangan resistensi insulin. Peredaran asam lemak bebas dari adiposit mengalami peningkatan serta berperan dalam terjadinya resistensi insulin yaitu dengan menghambat penyerapan glukosa, sintesis glikogen dan glikolisis serta meningkatkan produksi glukosa hepar.

### 2.1.2 Patogenesis Diabetes Melitus

Pada DM tipe 1 atau yang disebut IDDM (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) terjadi hilangnya insulin yang signifikan, sehingga penderita membutuhkan pasokan insulin dari luar. Kondisi ini disebabkan karena adanya lesi pada sel beta pankreas. Pembentukan lesi ini disebabkan karena mekanisme gangguan autoimun dan infeksi virus yang terlibat dalam kerusakan sel-sel beta. Adanya antibodi atau autoimun yang menyerang sel beta biasanya dideteksi beberapa tahun sebelum timbulnya penyakit. Diabetes Melitus dapat berkembang tiba-

tiba, dengan tiga gejala pokok yaitu meningkatnya glukosa darah, meningkatnya penggunaan lemak untuk energi dan pembentukan kolesterol di hati, dan berkurangnya protein tubuh (Gyuton *and* Hall, 2011).

## 2.2 Streptozotocin

Streptozotocin (STZ) adalah suatu antimikroba yang disintesis dari mikroorganisme tanah yaitu *Streptomyces achromogenes* yang mempunyai fungsi sebagai antibakteri spektrum luas, antitumor bahkan karsinogenik dan secara selektif menghancurkan sel  $\beta$  pada pulau langerhans. Diabetes melitus dapat diperoleh dari pemberian STZ atau toksik lain. Streptozotocin bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel beta langerhans pankreas. Streptozotocin langsung bekerja untuk merusak beta pankreas dengan sitokinnya dan dimediasi oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga dapat digunakan untuk bahan induksi diabetes melitus (Yuliantika, 2013). Dosis yang dapat menumbulkan diabetes melitus adalah 40-60 mg/kgBB melalui intravena, sedangkan pemberian intraperitoneal diberikan lebih dari 40 mg/kgBB. Dosis STZ yang dapat digunakan untuk induksi secara intraperitoneal adalah 45 mg/kgBB, dan diberikan sekali untuk menginduksi diabetes melitus (Saputra, 2018).

### 2.3 Glukosa Darah

Glukosa darah merupakan gula yang terdapat dalam darah yang berasal dari karbohidrat dalam makanan dan dapat disimpan dalam bentuk glikogen dalam hati dan otot rangka (Joyce, 2007). Glukosa merupakan salah satu bentuk hasil metabolisme karbohidrat yang berfungsi sebagai sumber energi utama yang dikontrol oleh insulin. Pada proses metabolisme, glukosa merupakan bentuk karbohidrat yang beredar di dalam tubuh dan di dalam sel. Keadaan normal dalam sistem saraf pusat hanya dapat menggunakan glukosa sebagai sumber energi. Glukosa dalam bentuk bebas hanya terdapat dalam bahan makanan dengan jumlah terbatas (Almatsier, 2004).

*Normoglycaemia* adalah kondisi dimana kadar glukosa darah yang ada mempunyai resiko kecil untuk dapat berkembang menjadi diabetes atau menyebabkan munculnya penyakit jantung dan pembuluh darah, sedangkan keadaan dimana kadar glukosa darah dalam tubuh yang meningkat disebut *hyperglycemia* yang menjadi salah satu gejala penyakit diabetes melitus (Syamiah, 2014). Menurut Mayes (2001), umumnya tingkat glukosa dalam darah tikus bertahan pada batas 70-150 mg/dL. Diatas batas tersebut, kondisi diabetik dibagi menjadi tiga yaitu diabetik ringan 150-200 mg/dL, sedang 200-400 mg/dL dan kondisi diabetik berat di atas 400 m/dL (Saputra dkk, 2018).

### 2.4 Trigliserida

Trigliserida merupakan salah satu jenis lemak yang terdapat dalam darah dan berbagai organ tubuh. Trigliserida terbentuk dari gliserol dan lemak yang

berasal dari makanan dengan rangsangan insulin atau kelebihan dari kalori akibat makan berlebihan. Kelebihan kalori akan diubah menjadi trigliserida dan disimpan sebagai lemak dibawah kulit (Arifnaldi, 2014). Menurut Soeharto (2004), trigliserida adalah bentuk lemak yang paling efisien untuk penyimpanan kalor yang penting untuk proses-proses yang membutuhkan energi dalam tubuh. Trigliserida selain digunakan sebagai sumber energi dapat dikonversi menjadi kolesterol, fosfolipid dan bentuk lipid lain jika dibutuhkan.

Metabolisme trigliserida dalam tubuh terutama terjadi di hepar dan dibagi menjadi 2 jalur, diantaranya jalur eksogen dan jalur endogen. Trigliserida pada jalur eksogen berasal dari makanan dalam usus dibawa sebagai kilomikron dan diangkut dalam darah. Dalam jaringan lemak, trigliserid dan kilomikron akan mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase yang terdapat pada permukaan sel endotel dan menghasilkan asam lemak. Asam lemak bebas ini yang kemudian akan masuk ke dalam jaringan lemak atau sel otot yang kemudian akan diubah menjadi trigliserida atau dioksidasi. Sedangkan pada jalur endogen trigliserida disintesis hati dan diangkut dalam bentuk *Very Low Density Lipoprotein (VLDL)* kaya trigliserida dan dihidrolisis oleh lipoprotein lipase menjadi partikel yang lebih kecil yaitu *Intermediate Density Lipoprotein (IDL)* dan *Low Density Lipoprotein (LDL)* (Sulistia, 2005).

## **2.5 Hubungan Kadar Glukosa Darah dan Trigliserida pada Penderita Diabetes Melitus**

Diabetes melitus merupakan penyakit yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah. Tingginya kadar gula karena kurang maksimalnya

pemanfaatan gula oleh tubuh sebagai sumber energi karena kurangnya hormon insulin yang diproduksi pankreas atau hormon insulin tidak berfungsi dalam menyerap gula secara maksimal (Handelsman *et al*, 2011). Resistensi insulin juga mengakibatkan gangguan pada metabolisme karbohidrat sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah puasa. Hal tersebut terjadi akibat adanya produksi glukosa endogen dihati secara berlebihan (Manaf, 2014). Resistensi ini akan mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah yang kemudian berlanjut pada peningkatan kadar trigliserida serum.

Karena pengaruh berbagai faktor dan hormon insulin yang dihasilkan oleh pankreas, sehingga hati dapat mengatur kadar glukosa. Bila kadar glukosa dalam darah meningkat, maka glukosa akan diubah menjadi glikogen. Kadar glukosa yang tinggi merangsang pembentukan gikogen dari kolesterol dari glukosa, sintesis asam lemak dan kolesterol dari glukosa yang nantinya akan mempercepat pembentukan trigiserida dalam hati (Ekawati, 2012).

## **2.5 Yoghurt Susu Kambing**

Susu kambing memiliki komposisi nutrisi dan karakteristik yang unik dibandingkan dengan susu sapi. Susu kambing memiliki komposisi kaya akan lemak, protein, mineral, vitamin A maupun vitamin B (riboflavin). Susu kambing memiliki globula atau butiran lemak dengan ukuran kecil, hal ini yang nantinya akan mempermudah proses pencernaan dalam tubuh. Namun, susu kambing identik dengan aroma prengus yang dihasilkan oleh lemak susu yang mengandung asam lemak kaprat, kaprilat dan kaprolat (Yangliar, 2013). Bau prengus dapat

dihilangkan melalui proses fermentasi. Proses fermentasi berguna untuk meningkatkan nilai nutrisi, dan citarasa sehingga akan memberikan tambahan nilai suatu produk (Kustyawati dkk, 2012). Produk fermentasi yang digemari salah satunya adalah yoghurt drink.

Yoghurt merupakan minuman yang berasal dari bahan baku susu yang telah difermentasi dan memiliki tekstur lebih kental dari susu dengan rasa yang lebih asam. Salah satu bahan baku susu yang dapat diolah menjadi yoghurt adalah susu kambing. Yoghurt memiliki banyak kandungan Bakteri Asam Laktat (BAL) antara lain *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobaccillus acidophilus*. Bakteri-bakteri tersebut akan terus berkembang dan mempengaruhi jumlah pH dari yoghurt (Khoiriyah dan Fatchiyah, 2013).

Padaga dkk (2009) menyebutkan pada penelitinya bahwa pada susu kambing memiliki protein spesifik seperti kasein. Protein spesifik ini berpotensi menurunkan proses peradangan dan terbukti berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi dan imunomodulator dalam perbaikan jaringan target pada tikus. Yoghurt juga memiliki fungsi sebagai anti-diabetes melalui mekanisme penghambatan  $\alpha$ -glukosidase. Yoghurt menghasilkan peptida bioaktif selama proses fermentasi susu melalui aktivitas proteolisis. Peptida bioaktif ditemukan dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase. Enzim  $\alpha$ -glukosidase berperan dalam memecah karbohidrat menjadi glukosa pada saluran pencernaan. Menurut Wihansah *et al* (2018) probiotik yang terdapat pada yoghurt juga memiliki fungsi sebagai anti-diabetes, dengan bertindak sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. Enzim  $\alpha$ -glukosidase yang dihambat dapat membatasi kadar glukosa darah dengan

memperlambat atau menunda proses hidrolisis dan absorpsi karbohidrat (Holidah dkk., 2018).

## 2.7 Bekatul Beras Merah

Bekatul merupakan lapisan luar dari beras yang terlepas saat penggilingan padi. Bekatul adalah hasil samping dari penggilingan padi yang sebenarnya merupakan selaput inti biji padi. Bekatul terdiri dari lapisan *pericarp*, *seed coat*, *nucellus*, dan *aleurone*. Bekatul dapat berasal dari beras merah, jagung, kedelai, gandum dan lain-lain. Bekatul beras merah merupakan sumber yang baik akan protein, serat, lemak dan vitamin E. Minyak pada bekatul mengandung antioksidan alami seperti *orizanol*, *tokoferol* dan *tokotrienol*, selain itu kandungan protein beras merah lebih tinggi dibandingkan beras putih yaitu 18,52%, sedangkan beras putih 15,34%. Bekatul beras merah sebanyak 50 gram mengandung 44% serat dan 8% air (Auliana, 2011). Komponen dalam bekatul beras merah yang berpotensi menurunkan kadar glukosa darah adalah flavonoid. Flavonoid memiliki beberapa khasiat, yang terpenting adalah daya antioksidan yang kuat, dapat menetralkan radikal bebas, juga berkhasiat untuk memperkuat efek insulin sehingga mampu meregulasi kadar glukosa darah (Tjay dan Rahardjo, 2002).

Salah satu faktor makanan yang mempengaruhi indeks glikemik adalah kadar serat pada makanan. Serat terlarut dapat meningkatkan viskositas isi intestinal karena dapat mengikat air serta memperlambat interaksi antara pati dan enzim pencernaan sehingga proses absorpsi semakin lambat. Beras merah

mengandung serat sebanyak 42,91%, makanan dengan jumlah serat yang relatif tinggi biasanya mengandung kadar glukosa rendah dan kadar lemak yang rendah (Susanti, 2018). Bekatul beras merah juga mengandung mineral magnesium yang tinggi. Magnesium merupakan mineral yang berperan sebagai kofaktor lebih dari 300 enzim, termasuk enzim yang berperan dalam penyediaan glukosa tubuh dan sekresi insulin (Utami, 2013).

Bekatul memiliki lebih dari seratus antioksidan yang terkandung didalamnya. Bekatul yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah bekatul beras merah sebesar 58,69% lebih tinggi dibandingkan dengan bekatul beras putih yang memiliki aktivitas antioksidan sebesar 43,44%. Kandungan bioaktif dari bekatul yang berperan sebagai antioksidan, yaitu tokoferol (isomer vitamin E), dimana vitamin E merupakan antioksidan yang larut dalam lemak dan berfungsi untuk mencegah metabolit oksidasi yang bersifat toksik, seperti lipid peroksida dengan cara menangkap radikal bebas. Tokoferol merupakan isomer vitamin E yang kuat dan berfungsi sebagai antioksidan yang memecah rantai ROS yang terdapat di membran sel (Zettira, 2018).

## **2.8 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Menurut Maula (2014), klarifikasi dari tikus putih yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
Phylum : Chordata  
Subphylum : Vertebrata  
Class : Mammalia

Ordo : Rodentia  
Family : Muridae  
Genus : Rattus  
Species : *norvegicus*

Tikus termasuk hewan mamalia, sehingga untuk hewan coba hasil yang didapat pada tikus tidak akan jauh berbeda dengan mamalia lain. Tikus memiliki lama hidup 2-3 tahun. Berat tikus dewasa 300-400 g untuk jantan dan 250-300 g untuk tikus betina dewasa. Tikus putih cocok digunakan sebagai hewan coba karena memiliki kelebihan dibanding tikus liar yaitu mudah dalam perawatan, proses pendewasaan cepat dan kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntingan yang cepat (Maula, 2014).



Gambar 2.1 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Agita, 2016).

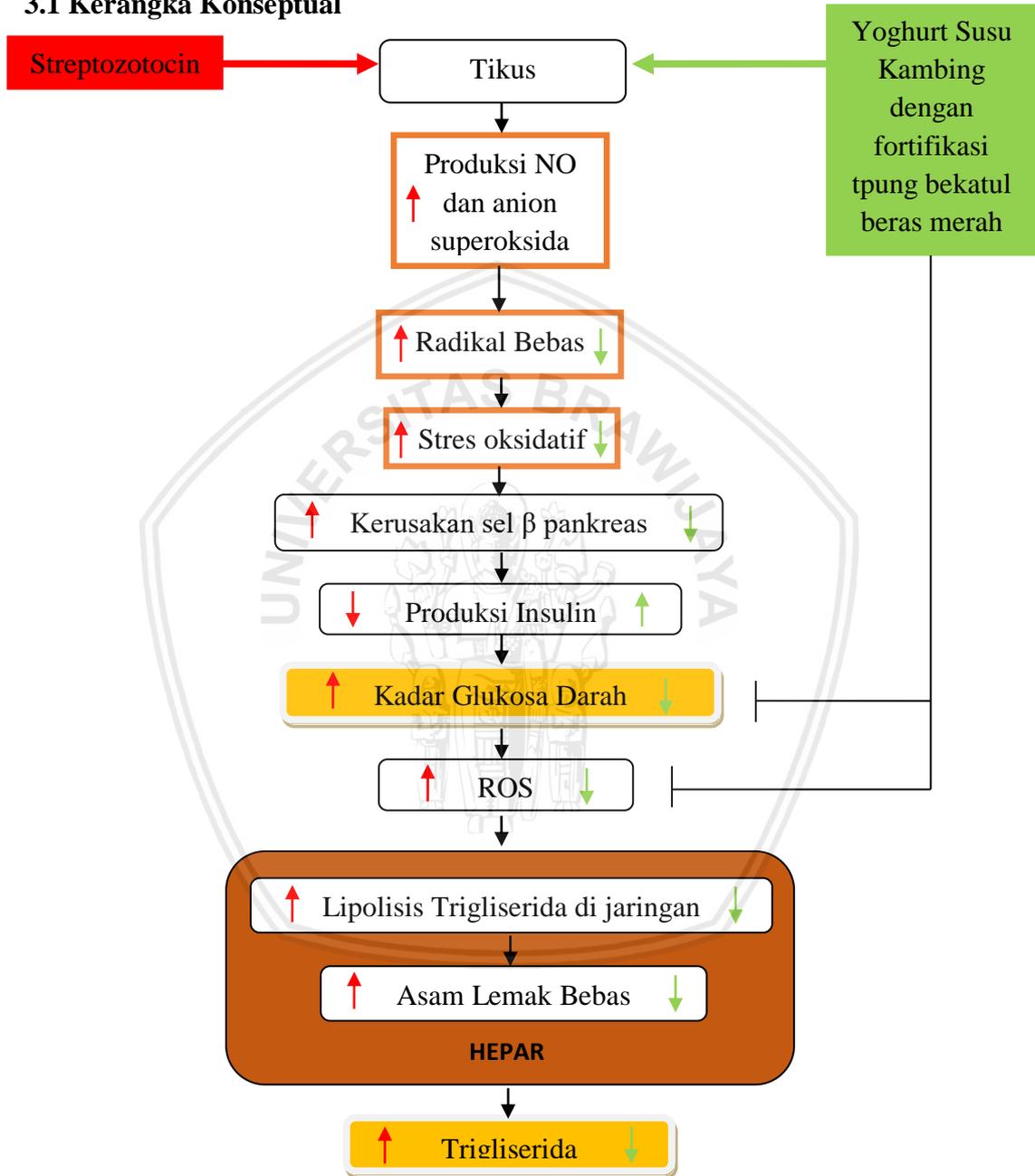
Hendrich (2006) menuliskan bahwa *Rattus norvegicus* sering digunakan sebagai hewan coba karena memiliki kebutuhan asam amino esensial yang sama seperti manusia. Fungsi, bentuk organ dan proses biokimia tikus dan manusia memiliki kemiripan sehingga penelitian dapat diaplikasikan ke manusia. Sifat utama yang membedakan tikus dengan hewan coba lainnya adalah

ketidakmampuan tikus untuk memuntahkan isi perutnya karena struktur anatomi yang unik dari esofagus ke dalam lambung sehingga memudahkan proses pencekakan menggunakan sonde lambung dan tidak memiliki kantung empedu (Mas'ud dkk, 2009).



### BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

	: Parameter yang diteliti
	: Streptozotocin
	: Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Bekatul Beras Merah
	: Efek streptozotocin
	: Efek Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Bekatul Beras Merah

Pembuatan hewan model diabetes melitus dengan menggunakan senyawa diabetogenik yaitu streptozotocin (STZ) ke tubuh tikus melalui intraperitoneal. Streptozotocin merupakan donor NO (*nitrit oxide*) yang akan berkontribusi terhadap kerusakan sel  $\beta$  pankreas melalui transporter glukosa GLUT2 dan menyebabkan alkilasi. Streptozotocin bekerja pada tingkat sel dengan membebaskan nitrit oksida. Nitrit oksida menyebabkan stres oksidatif yang dapat merusak sel, dengan terjadinya penurunan produksi ATP yang akan meningkatkan substrat yaitu xanthine oksidase karena adanya hambatan pada siklus Krebs. Xanthine oksidase akan memproduksi anion peroksida, sehingga terjadi peningkatan ROS atau radikal bebas yang meningkatkan stres oksidatif sel.

Kerusakan paada sel  $\beta$  pankreas menyebabkan produksi insulin menurun dan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) dimana keadaan ini dapat menjadi indikator diabetes melitus. Ekspose sel  $\beta$  pankreas terlalu lama dalam keadaan hiperglikemia dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Sel  $\beta$  sangat sensitif terhadap ROS karena sel  $\beta$  kekurangan *free-radical quenching enzyme* antara ain katalase, glutathione peroksidase, superoksidase dismutase, sehingga stres oksidatif yang merusak mitokondria pankreas akan merusak sekresi insulin. Dimana stres oksidatif ini akan

menimbulkan oksidasi dari protein intraseluler, termasuk protein yang berperan dalam transkripsi gen dan mengganggu fungsi sel  $\beta$  pankreas serta resistensi insulin.

Pada keadaan diabetes melitus, terjadi peningkatan glukosa yang disebabkan oleh pemecahan glikogen (glikogenesis) dan glukogenesis. Terjadinya peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) karena glukosa yang diserap oleh usus dari makanan kemudian masuk ke dalam darah dan tidak dapat dipindahkan ke dalam sel otot, ginjal, adiposit dan tidak dapat diubah menjadi glikogen ataupun lemak. Kadar glukosa yang berlebih dalam darah tidak dapat dibentuk menjadi energi sehingga pembentukan energi diambil dari lemak dan protein, akibatnya terjadi peningkatan lipolisis trigliserida di jaringan adiposa. Lipolisis trigliserida merupakan proses pemecahan lemak yang tersimpan di dalam sel-sel lemak yang melibatkan hidrolisis trigliserida. Pada proses ini, asam lemak bebas dilepaskan ke dalam aliran darah dan beredar ke seluruh tubuh yang sebagian akan digunakan untuk sumber energi dan sebagian akan dibawa ke hati, selanjutnya hati akan beradaptasi dengan cara *mitochondrial fatty acid  $\beta$  oxidation*, *re-esterifikasi* asam lemak bebas menjadi trigliserida.

Yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% diberikan pada tikus melalui sonde peroral. Yoghurt susu kambing dan bekatul beras merah mengandung banyak serat dan antioksidan, selain itu yoghurt susu kambing juga mengandung Bakteri Asam Laktat (BAL), protein spesifik dan peptida bioaktif. Peptida bioaktif ini dapat menghambat aktifitas enzim  $\alpha$ -glukosidase yang dapat membatasi kadar glukosa darah dengan memperlambat

proses hidrolisis dan absorpsi karbohidrat. Penyerapan karbohidrat yang sedikit dari makanan oleh usus dapat menurunkan hiperglikemik dengan memperbaiki sel  $\beta$  pankreas, sehingga produksi insulin stabil. Kandungan protein spesifik pada yoghurt susu kambing dan tokoferol yang terbukti berfungsi sebagai antioksidan, antioksidan yang tinggi dapat meredam stres oksidatif dengan memecah metabolit oksidasi dan memecah rantai ROS yang terdapat di membran sel. Penurunan kadar glukosa dapat menekan produksi lipolisis trigliserida di jaringan adiposa sehingga dapat menurunkan kadar trigliserida.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Berasarkan kerangka konsep penelitian, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dapat menurunkan kadar glukosa darah.
2. Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dapat menurunkan kadar trigliserida darah.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2019 yang bertempat di Laboratorium Hewan Institut Biosains Universitas Brawijaya, Malang. Pembuatan Yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner FKH UB, Malang. Pembacaan Kadar Glukosa Darah dan Trigliserida dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

### 4.3 Alat dan Bahan

Alat digunakan dalam penelitian ini antara lain *sentrifuge*, cawan petri, *dissecting set*, timbangan, gelas ukur, tabung erlenmeyer, vortex, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, papan pembedahan hewan, lancet, glukometer digital Nesco® Multicheck, strip glukosa, dan kandang tikus. Sedangkan untuk bahan yang digunakan antara lain tikus putih (*Rattus norvegicus*), streptozotosin, *disposable syringe* 1 mL, 3mL, 10 mL, sentrifuge tube 15 mL, pot sampel, *yellow tip*, Normal Saline (NS) Otsuka®, pakan tikus BR-1®, sekam.

### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan estimasi besar sampel dihitung menggunakan rumus *Steel and Torrie* (1995) :

$$P(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

P = jumlah kelompok (terdiri dari tiga macam perlakuan)

n = jumlah pengulangan

Dari perhitungan diatas, maka didapatkan hasil bahwa untuk 5 perlakuan dengan ulangan 4 kali dalam setiap kelompok, dibutuhkan 20 ekor hewan coba. Rincian dapat dilihat pada **Tabel 4.1** Rancangan penelitian.

**Tabel 4.1** Rancangan penelitian

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Perlakuan</b>
<b>Kontrol Negatif</b>	Tanpa di beri perlakuan.
<b>Kontrol Positif</b>	Diberi Streptozotocin sebanyak 45 mg/kgBB
<b>Tikus Perlakuan (P1)</b>	Diberi Streptozotocin sebanyak 45 mg/kgBB dan terapi menggunakan Yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 1 mL.
<b>Tikus Perlakuan (P2)</b>	Diberi Streptozotocin sebanyak 45 mg/kgBB dan terapi menggunakan Yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 2 mL.
<b>Tikus Perlakuan (P3)</b>	Diberi Streptozotocin sebanyak 45 mg/kgBB dan terapi menggunakan Yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 3 mL.

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini meliputi:

- Variabel bebas : Induksi streptozotocin dan terapi yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah
- Variabel tergantung : Kadar glukosa darah dan trigliserida
- Variabel kontrol : Tikus, jenis kelamin, umur, berat badan, suhu, pakan

#### 4.5 Tahapan Penelitian

1. Pembuatan yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah.
2. Penentuan dosis terapi yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 4%.
3. Pembuatan larutan Streptozotocin.
4. Pengukuran kadar glukosa darah tikus sebelum induksi Streptozotocin.
5. Induksi dengan Streptozotocin sebanyak 45 mg/kgBB sekali pemberian.
6. Pengukuran kadar glukosa tikus setelah tiga hari pemberian Streptozotocin.
7. Terapi yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah dengan volume pemberian 1 mL, 2 mL, dan 3 mL selama 14 hari.
8. Pengujian kadar glukosa darah dan trigliserida pada hewan coba.
9. Analisis data.

## 4.6 Prosedur Kerja

### 4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sehat dengan berat badan 130-200 gram umur 8-12 minggu yang disertifikasi layak etik. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah ulangan minimal 4 kali setiap kelompok perlakuan dengan pemberian pakan pada semua tikus.

Kandang tikus dibuat menggunakan bak plastik dengan ukuran p.l.t=30 x 50 x 12 cm dengan jumlah sesuai dengan jumlah tikus yang digunakan dilengkapi dengan botol minum tikus (nipple) yang berisi air mineral dan pakan standar basal standart dan air minum *ad libitum* dilengkapi serbuk gergaji sebagai alas. Kandang ini akan diberi tutup kayu dan kawat strimin agar tikus tidak keluar dari kandang.

### 4.6.2 Pembuatan dan Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah 4%

Pembuatan yoghurt diawali dengan pembuatan *mother culture* dengan merebus susu kambing menggunakan teknik *High Temp Short Time* (HTST) dengan susu 72°C selama 15 detik. Lalu didiamkan hingga suhu mencapai 45°C dan kemudian starter 0,5% diinokulasikan. Setelah *mother culture* dibuat, susu di pasteurisasi dan diinokulasikan *mother culture* sebanyak 3% dan bekatul beras merah 4%. Diinkubasi selama 2-3 jam hingga pH mencapai 4,5-5. Yoghurt dapat bertahan pada penyimpanan pada suhu dingin dan tahan hingga 1 minggu. Terapi menggunakan yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah

diberikan pada tikus menggunakan sonde lambung dengan dosis 1 mL, 2 mL, dan 3 mL selama 14 hari (**Lampiran 3**).

#### **4.6.3 Pembuatan dan Induksi Streptozotocin**

Streptozotocin dilarutkan dalam 0,01M buffer sitrat, pH 4,5 kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex lalu larutan disimpan pada suhu 4°C. Induksi Streptozotocin diberikan secara intrapreitoneal dan dosis ditentukan berdasarkan berat badan tikus. Dosis Streptozotocin yang diberikan 45mg/kgBB (Nurdiana, 1998). Injeksi Streptozotocin dilakukan hanya sekali untuk menginduksi diabetes melitus. Tikus direbahkan dorsal lalu dioleskan alkohol 70% sebelum diinduksikan STZ secara perlahan menggunakan spuit pada bagian abdomen.

#### **4.6.4 Pengukuran Kadar Glukosa Darah pada Hewan Coba**

Pengukuran kadar glukosa pada tikus dilakukan sebelum dilakukan induksi streptotocin sehingga diketahui kadar glukosa sebelum hewan coba terkena diabetes melitus. Dilakukan kembali pengukuran kadar glukosa setelah dilakukan injeksi streptozotocin dimana apabila kadar glukosa tikus sudah diatas 150 mg/dl bahwa tikus sudah terkena diabetes melitus. Pengukuran kadar glukosa dilakukan setelah 14 hari sekali dilakukan setelah diberikan yoghurt susu kambing fotifikasi bekatul beras merah yang bertujuan untuk mengetahui kadar glukosa darah tikus untuk mengetahui apa efek yang diberikan setelah terapi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan glukomter dengan cara mengambil darah melalui

ujung ekor tikus dengan menggunakan *blood lancet*, darah yang keluar lalu diteteskan pada ujung *blood strip* dan di lihat hasil yang ditunjukkan ada layar glukometer digital.

#### **4.6.5 Euthanasi Hewan Coba**

Euthanasi dan pengambilan darah pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke 15. Sebelum dilakukan euthanasia, hewan coba diinjeksi dengan ketamin dengan dosis 2 mg/kgBB sebagai anastesi umum untuk mengurangi rasa sakit, setelah itu dilakukan pengambilan darah.

#### **4.6.6 Pengambilan Darah dan Proses Pengambilan Serum**

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke 15. Darah diambil melalui jantung dengan menggunakan spuit, kemudian langsung dimasukkan kedalam tabung *vacum venojact*. Darah yang sudah diambil didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Serum yang terbentuk dipisahkan menggunakan pipet mikro.

#### **4.6.7 Pengukuran Kadar Trigliserida Pada Hewan Coba**

Pengukuran kadar trigliserida menggunakan metode *glycerol-3-phosphatase oxidase – phenol aminophenazone* (GPO-PAP). Metode ini menggunakan prinsip oksidase dan hidrolisis enzimatis. Sebanyak 0.01 mL serum direaksikan dengan reagen triglisrida sebanyak 1 mL lalu diinkubasi pada suhu 20°C selama 10 menit atau pada suhu 37°C selama 5 menit. Pengukuran kadar trigliserida dilakukan

terhadap *reagent blank/method blank*. Serapannya diukur pada panjang gelombang 500 nm terhadap blanko. Kadar total gliserida diukur menggunakan

rumus

$$C = \frac{A \text{ Sampel} \times Cst}{A \text{ Standar}}$$

Keterangan :

C = kadar trigliserida (mg/dL)

A = serapan

Cst = kadar trgliserida standar (200 mg/dL)

#### 4.7 Analisis Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah dan trigliserida. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah berupa data kuantitatif. Data kuantitatif meliputi kadar glukosa darah dan trigliserida yang dianalisa dengan Analisis Varian (ANOVA) pola searah dengan taraf kepercayaan  $\alpha = 0,05$  lalu dilanjutkan dengan uji Tukey ( $p < 0,05$ ) menggunakan aplikasi SPSS 24.

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

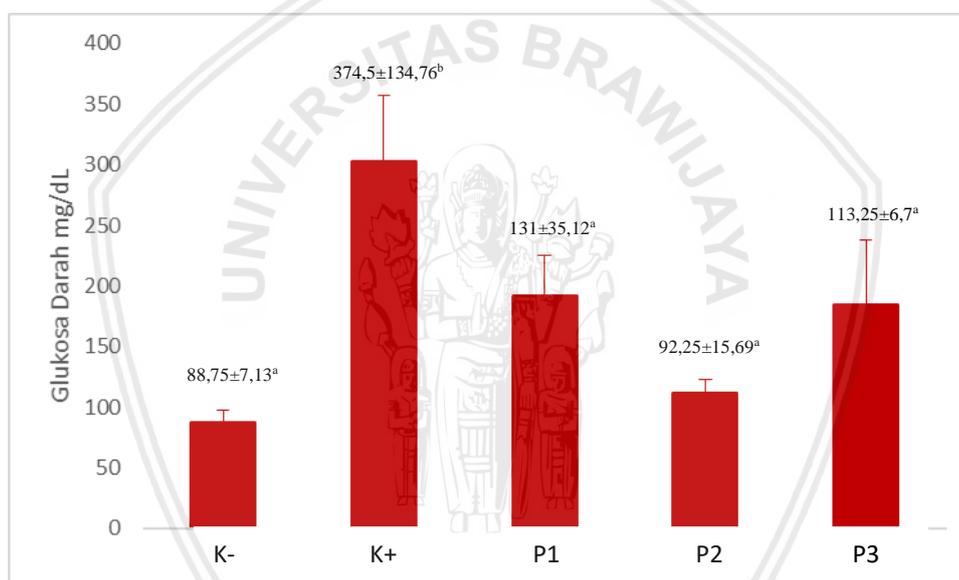
### 5.1 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah 4% Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Induksi Streptozotocin

Pembuatan hewan coba model Diabetes melitus menggunakan cara injeksi streptozotocin dengan dosis 45 mg/kgBB dengan rute pemberian melalui intraperitoneal sekali pemberian. Penelitian ini menggunakan 20 tikus yang dibagi menjadi lima kelompok untuk mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% terhadap kadar glukosa darah dan trigliserida tikus yang diinduksi streptozotocin. Pengamatan kadar glukosa darah dilakukan pada semua kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), kelompok terapi dengan volume pemberian 1 mL (P1), kelompok terapi dengan volume pemberian 2 mL (P2), dan kelompok terapi dengan volume pemberian 3 mL (P3). Analisis kadar glukosa darah dilakukan menggunakan alat glukometer yang nantinya alat ini akan menunjukkan kadar glukosa darah pada layarnya. Darah didapatkan dari ujung ekor hewan model dengan cara menusukkan *blood lancet*, selanjutnya darah yang keluar ditampung di *glukostick*. Pemeriksaan dilakukan sebelum pemberian STZ, hari ke 3 setelah pemberian STZ, dan hari ke 15 setelah pemberian terapi. Hasil pada pemeriksaan kadar glukosa darah dapat dilihat pada **Tabel 5.1**.

**Tabel 5.1** Rata-rata kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar Glukosa Darah (mg/dL) $\pm$ SD	Kadar Glukosa Darah (%)	
		Peningkatan terhadap Kontrol Negatif	Penurunan terhadap Kontrol Positif
Kontrol Negatif (K-)	88,75 $\pm$ 7,13 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol Positif (K+)	374,5 $\pm$ 134,76 <sup>b</sup>	321,9	-
Dosis 1 mL (P1)	131 $\pm$ 35,12 <sup>a</sup>	-	65
Dosis 2 mL (P2)	92,25 $\pm$ 15,69 <sup>a</sup>	-	75,3
Dosis 3 mL (P3)	113,25 $\pm$ 6,7 <sup>a</sup>	-	69,7

Keterangan : Notasi a dan b menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok perlakuan



**Gambar 5.1** Grafik rata-rata kadar relatif glukosa darah pada masing-masing kelompok perlakuan. (Keterangan : K- : kontrol negatif, K+ : kontrol positif, P1 : volume pemberian 1 mL, P2 : volume pemberian 2 mL, P3 : volume pemberian 3mL)

Kadar glukosa darah dianalisis dengan ragam ANOVA dan dilakukan analisa lanjutan dengan uji *Tukey* ( $p < 0,05$ ) menunjukkan bahwa pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% berpengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar glukosa darah hewan model diabetes melitus yang diinduksi dengan streptozotocin. Pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar glukosa pada kelompok kontrol positif berbeda bermakna

( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok negatif, kelompok tikus perlakuan dosis 1 mL (P1), kelompok tikus perlakuan dosis 2 mL (P2), dan kelompok tikus perlakuan dosis 3 mL (P3). Pada kelompok tikus perlakuan dosis 1 mL (P1), kelompok tikus perlakuan dosis 2 mL (P2), dan kelompok tikus perlakuan dosis 3 mL (P3) menunjukkan kadar glukosa darah yang tidak berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok tikus kontrol negatif (K1). Hasil ini menunjukkan bahwa berdasarkan analisis statistik terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dapat menurunkan rerata kadar glukosa darah dengan dosis terapi 2 mL.

Kadar glukosa darah pada tikus kelompok kontrol positif (K+) mengalami peningkatan sebesar 321,9% terhadap kelompok negatif (K-). Kondisi ini menunjukkan bahwa induksi streptozotocin yang menyebabkan tikus mengalami diabetes melitus dapat meningkatkan kadar glukosa darah secara signifikan. Pada kelompok negatif hewan model tidak mendapatkan perlakuan induksi STZ, tikus menunjukkan angka glukosa darah yang masih berada pada batas normal glukosa darah tikus. Kadar glukosa normal pada tikus dewasa yang sehat berkisar dibawah 150 mg/dL dan memiliki fungsi sebagai sumber utama energi tubuh yang dikontrol oleh insulin (Almatsier, 2004). Rerata kadar glukosa darah pada kelompok kontrol positif telah menunjukkan keadaan hiperglikemia. Menurut Saputra (2018) tikus dinyatakan diabetes melitus apabila kadar glukosa dalam darah diatas 150 mg/dL. Peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok positif menandakan menurunnya sekresi insulin yang disebabkan karena adanya kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas akibat aktivitas streptozotocin. Streptozotocin

bekerja dengan cara membentuk radikal bebas yang sangat reaktif sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada sel membran, protein dan DNA pada pankreas (Erwin dkk, 2013).

Kerusakan sel  $\beta$  pankreas dengan pemberian seyawa diabetogenik mengakibatkan nekrosis dan degenerasi sel  $\beta$  pankreas, bahkan 40-50% sel  $\beta$  pankreas mengalami nekrosis. Menurut Suarsa dkk (2010) inti sel  $\beta$  pankreas mengalami kariolisis, komponen sitoplasma mengalami disintegritas, batas-batas sel tidak jelas dan terdapat masa debris yang mengandung fragmen-fragmen inti serta nekrosis. Selain nekrosis juga terdapat deposisi amyloid sekitar 60-70% di dalam sel  $\beta$  pankreas (Suarsa dkk, 2010).

Streptozotocin bekerja langsung pada sel  $\beta$  pankreas dengan meningkatkan oksigen reaktif yang berperan dalam kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Di dalam mitokondria, streptozotocin mampu membentuk anion superoksida (Nugroho, 2006). Streptozotocin mampu menghambat siklus krebs dan mengakibatkan konsumsi oksigen dalam sel berkurang. Hal ini menyebabkan penurunan produksi ATP dalam sel tersebut dapat mengganggu sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas sehingga dapat memicu hiperglikemia (Masharani dkk, 2001).

Pada penderita diabetes melitus tipe I terjadi peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) karena glukosa yang diserap oleh usus masuk ke dalam darah tetapi tidak mampu dipindahkan ke dalam sel otot, ginjal adiposit dan tidak dapat diubah menjadi glikogen dan lemak. Keadaan tersebut disebabkan berkurangnya sekresi insulin yang mengakibatkan banyak glukosa yang tertimbun dalam darah (hiperglikemia) (Santoso, 2001). Kerusakan sel  $\beta$  pankreas menjadi

lebih parah apabila tubuh dalam keadaan hiperglikemia. Hiperglikemia kronis dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas (ROS) melalui jalur metabolisme glukosa seperti autooksidasi glukosa, metabolisme pembentukan metilglukosial dan fosforilasi oksidatif. Radikal bebas berlebih dalam tubuh dapat meningkatkan stres oksidatif dan merusak sel  $\beta$  pankreas (Suarsana, 2010). Selain itu, hiperglikemia juga terlibat dalam proses pembentukan radikal bebas. Hiperglikemia yang terjadi pada DM menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif (Droge, 2002).

Pada penelitian ini pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% terhadap kadar glukosa darah hewan model diabetes melitus dengan induksi streptozotocin, volume pemberian 2 mL merupakan dosis yang optimal, ditunjukkan dengan rerata kadar glukosa darah kelompok P2 yang menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol positif yaitu sebesar 75,3%. Adanya *dose-dependent biphasic effect*, yaitu keadaan dimana pada dosis rendah suatu zat dapat berpengaruh baik sedangkan pada dosis yang lebih tinggi terjadi efek yang berlawanan merupakan faktor yang mempengaruhi perbedaan bermakna antara P2 dan P3. Terdapatnya hubungan *biphasic effect* pada suatu penelitian dapat berkaitan dengan struktur kimia zat, stres fisik hewan coba, dan aspek biologik lain.

Rerata nilai dan presentase kadar glukosa darah menggambarkan bahwa pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat menurunkan nilai glukosa darah pada tikus, hal tersebut dibuktikan dengan adanya

penurunan kadar glukosa darah hewan coba. Kadar glukosa yang rendah disebabkan oleh kemampuan peptida bioaktif yang terdapat di yoghurt susu kambing berfungsi sebagai antioksidan. Padaga (2018) menyebutkan bahwa peptida dari susu kambing menunjukkan aktivitas *free redical-scavenging* (menangkap radikal bebas) dan mampu menghambat peroksidasi lipid secara enzimatis maupun non enzimatis. Peptida bioaktif yang terkandung dapat menstabilkan superoksida dengan mendonorkan atom H. Radikal superoksida yang telah ditangkap oleh peptida bioaktif dari kasein yoghurt susu kambing akan mencegah radikal bebas yang bersifat tidak stabil dan menghambat transfer elektron molekul oksigen pada radikan peroksil serta mencegah radikal bebas yang bereaksi dengan oksigen.

Peptida bioaktif yoghurt susu kambing juga berperan sebagai antidiabetes dengan mekanisme penghambatan  $\alpha$ -glukosidase, dimana  $\alpha$ -glukosidase memiliki peran sebagai pemecah karbohidrat menjadi glukosa pada saluran pencernaan dengan menghambat atau menunda proses hidrolisis dan absorpsi karbohidrat (Holidah, 2018). Proses pemecahan karbohidrat yang dihambat oleh peptida bioaktif nantinya akan menurunkan kadar glukosa darah yang berpengaruh pada kondisi hiperglikemia.

Bekatul beras merah mengandung berbagai macam vitamin E yang diantaranya tokoferol dan tokotrienol (Zettira, 2017). Tokoferol dan tokotrienol dapat menstabilkan ROS dengan mencegah peroksidasi lipid. Tokoferol dan tokotrienol merupakan antioksidan non enzimatis yang berasal dari vitamin E. Antioksidan ini dapat melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan

mendonorkan satu elektron bebas ke radikal bebas atau menerima satu elektron yang tidak stabil sehingga menjadi lebih stabil (Andarina dan Djauhari, 2017). Bekatul juga mampu meningkatkan sensitivitas insulin seperti mekanisme salah satu obat antidiabetogenik yaitu metformin. Mekanisme penurunan kadar glukosa darah oleh metformin hampir sama dengan mekanisme penurunan kadar glukosa darah oleh bekatul, yaitu dengan stimulasi sel  $\beta$  pankreas yang masih berfungsi untuk meningkatkan pelepasan insulin (Tjay dan Rahardja, 2002). Efek kerja insulin salah satunya adalah membantu transpor glukosa dari darah ke dalam sel. Insulin yang dihasilkan akan membantu glukosa dari dalam darah didistribusikan ke dalam sel, sehingga kadar glukosa dalam darah akan menurun.

Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi bekatul beras merah 4% dengan dosis 3 mL pada penelitian ini justru menunjukkan penurunan efek hipoglikemik dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan dosis 2 mL. Kemungkinan penurunan efek hipoglikemik dapat disebabkan adanya zat aktif dalam bekatul beras merah yang dapat menurunkan efek hipoglikemik dari flavanoid (*Side Effect Eliminating Substance*), sehingga pada penambahan dosis tidak menambah aktivitas dari hipoglikemik. Tjay dan Rahadja (2002) juga menyebutkan di samping itu adanya toleransi reseptor terhadap flavonoid karena adanya penambahan dosis dapat mengurangi kemampuan flavonoid untuk menurunkan kadar glukosa darah.

## 5.2 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah 4% Terhadap Kadar Trigliserida pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dengan Induksi Streptozotocin

Hasil pengukuran kadar trigliserida pada tikus wistar dilakukan analisis statistika menggunakan *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) dengan uji normalitas dan homogenitas didapatkan data yang homogen ( $p < 0,05$ ) (**Lampiran 6**), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) yang selanjutnya dianalisa statistika menggunakan uji Tukey yang menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Hasil kadar trigliserida dalam serum darah tikus putih yang diinduksi STZ dan diterapi menggunakan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% disajikan dalam **Tabel 5.2**

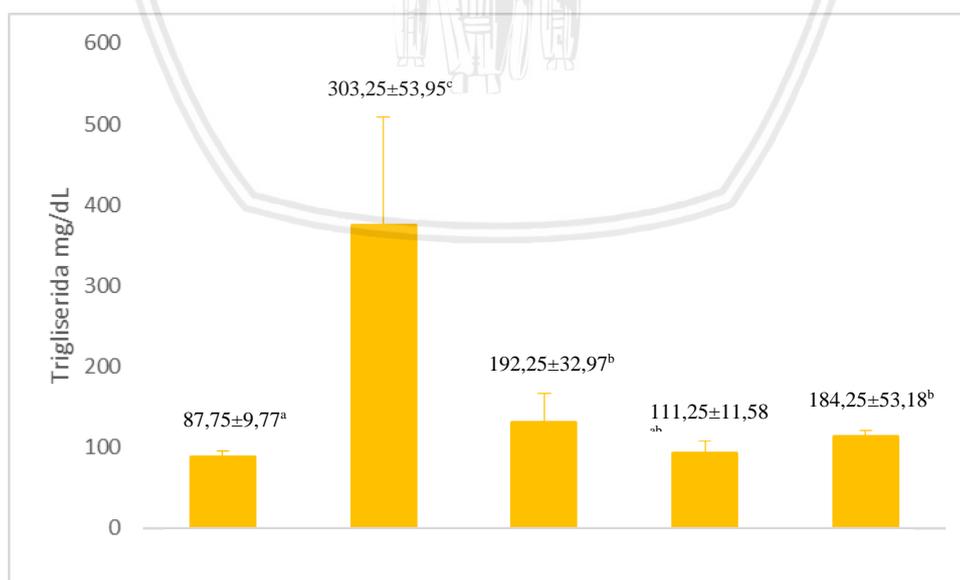
**Tabel 5.2** Hasil kadar trigliserida dalam darah tikus wistar model diabetes melitus

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar Trigliserida (mg/dL) $\pm$ SD	Kadar Trigliserida (%)	
		Peningkatan terhadap Kontrol Negatif	Penurunan terhadap Kontrol Positif
Kontrol Negatif (K-)	87,75 $\pm$ 9,77 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol Postitif (K+)	303,25 $\pm$ 53,95 <sup>c</sup>	254,5	-
Dosis 1 mL (P1)	192,25 $\pm$ 32,97 <sup>b</sup>	-	36,6
Dosis 2 mL (P2)	111,25 $\pm$ 11,58 <sup>ab</sup>	-	63,3
Dosis 3 mL (P3)	184,25 $\pm$ 53,18 <sup>b</sup>	-	39,2

Keterangan : Notasi a dan b menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok perlakuan

Hasil analisis secara statistik *One Way Analysis of Variant* (ANOVA) menunjukkan bahwa pemberian terapi yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 4% secara signifikan ( $p < 0,05$ ) menurunkan presentase kadar trigliserida pada tikus wistar model diabetes melitus yang diinduksi menggunakan streptozotocin. Hasil lanjutan menggunakan *Tukey* menunjukkan terjadi

peningkatan kadar trigliserida yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada kelompok tikus kontrol positif ( $K+$ ) jika dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol negatif ( $K-$ ), kelompok tikus perlakuan dosis 1 mL ( $P1$ ), kelompok tikus perlakuan dosis 2 mL ( $P2$ ), dan kelompok tikus perlakuan dosis 3 mL ( $P3$ ). Kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 3 memiliki notasi yang sama dan berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif ( $K+$ ) ditandai dengan adanya penurunan kadar trigliserida sebesar 36,6% untuk kelompok perlakuan 1 ( $P1$ ) dan 39,2% untuk kelompok perlakuan 2 ( $P2$ ) terhadap kontrol positif ( $K+$ ). Dosis 2 mL merupakan dosis optimum karena memiliki kesamaan notasi dengan kelompok kontrol negatif yang secara statistik tidak ada perbedaan signifikan dengan kontrol negatif dan berbeda signifikan dengan kontrol positif ( $K+$ ) dengan presentase penurunan lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 dan 3 sebesar 63,3% terhadap kelompok kontrol positif ( $K+$ ).



**Gambar 5.2** Grafik rata-rata kadar relatif trigliserida pada masing-masing kelompok perlakuan. (Keterangan :  $K-$  : kontrol negatif,  $K+$  : kontrol positif,  $P1$  : volume pemberian 1 mL,  $P2$  : volume pemberian 2 mL,  $P3$  : volume pemberian 3mL)

Kadar trigliserida normal pada tikus adalah 26-145 mg/dL (Gani dkk, 2013). Berdasarkan **Tabel 5.2** di atas menunjukkan bahwa kelompok A sebagai kontrol negatif yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan apapun didapatkan rerata kadar trigliserida  $87,75 \pm 9,77^a$ . Kadar trigliserida pada kelompok K- masih berada pada kadar normal trigliserida tikus. Kelompok K+ sebagai kontrol positif yaitu kelompok yang diberikan STZ tanpa diberikan terapi menunjukkan kadar trigliserida sebesar  $303,25 \pm 53,95^c$  mg/dL. Kadar K+ melebihi batas normal kadar trigliserida tikus dan menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif (K-) yaitu sebesar 254,5%.

Terjadinya kenaikan angka kadar trigliserida adalah akibat dari salah satu gangguan metabolisme pada diabetes melitus yaitu metabolisme lipid, sehingga penderita diabetes melitus selain memerlukan kontrol glikemik juga memerlukan kontrol lipid darah. Glukosa tidak dapat diproses menjadi energi, sehingga energi diproduksi dari sumber lain yaitu dari lemak dan protein (Johansen, 2005). Trigliserida akan terbentuk pada saat tubuh membutuhkan energi, maka enzim yang ada di dalam sel lemak tubuh (lipase) memecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak lalu melepaskannya ke pembuluh darah, terutama pada sel-sel yang membutuhkan komponen ini. Trigliserida yang ada di pembuluh darah kemudian di bakar untuk menghasilkan energi, karbondioksida dan air. Trigliserida kemudian masuk ke dalam plasma darah dalam dua bentuk, yaitu sebagai kilomikron yang berasal dari penyerapan usus dan sebagai kolesterol padat yang disebut VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) yang dibentuk oleh hepar dengan bantuan insulin.

Dengan adanya pengurangan produksi insulin maka semakin meningkatkan produksi trigliserida dalam hati (Lukman, 2015).

Dari ketiga kelompok perlakuan, kelompok perlakuan 2 (P2) dengan volume pemberian 2 mL merupakan kelompok yang menunjukkan perubahan paling signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kontrol positif yaitu sebanyak 63,3%. Lebih berpengaruhnya volume pemberian pada P2 dibandingkan dengan P3 dikarenakan adanya *dose-dependent biphasic effect*, yaitu keadaan dimana pada dosis rendah suatu zat dapat berpengaruh baik sedangkan pada dosis yang lebih tinggi terjadi efek yang berlawanan. Terdapatnya hubungan *biphasic effect* pada suatu penelitian dapat berkaitan dengan struktur kimia zat, stres fisik hewan coba, dan aspek biologik lain.

Pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 4% terbukti dapat menurunkan kadar trigliserida, dilihat dari angka kadar trigliserida pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 yang sebagian besar sudah menunjukkan angka normal jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-). Hal tersebut menurut Setyaningrum (2017) dikarenakan yoghurt susu kambing mengandung peptida bioaktif yang memiliki aktivitas antioksidan. Pada proses fermentasi susu oleh BAL (Bakteri Asam Laktat) akan melepaskan peptida bioaktif dari protein utama susu. Peptida bioaktif sebagai antioksidan yang berasal dari susu terdiri dari 5-15 asam amino hidrofobik, antara lain prolin, histidine, tyrosine atau tryptophan yang berfungsi sebagai *scavenger* atau mencegah pembentukan radikal bebas atau menghambat proses peroksidase lipid. Bakteri asam laktat mampu mengurangi akumulasi ROS pada saat proses pencernaan

makanan serta mempunyai kemampuan untuk mendegenerasi anion superoxide dan hidrogen peroksida. Penurunan kadar trigliserida terjadi karena adanya inulin dan BAL. Mekanisme penurunan trigliserida oleh inulin adalah dengan menghambat aktivitas enzim lipogenik dalam mensintesis trigliserida di hati. Kaur (2002) menyebutkan bahwa pengaruh inulin dapat menghambat enzim lipogenik yang mensintesis asam lemak di hati sehingga menurunkan kadar trigliserida. Mekanisme penurunan kadar trigliserida oleh probiotik yaitu bakteri asam laktat (BAL) memfermentasi inulin menjadi asam lemak rantai pendek seperti asam butirat dan propionat. Propionat memiliki peran dalam menghambat proses lipogenesis di hati sedangkan asetat berperan sebagai substrak lipogenesis. Dengan terhambatnya proses lipogenesis, maka kadar trigliserida dapat menurun.

Bekatul kaya akan antioksidan sehingga berpotensi sebagai penangkal radikal bebas. Antioksidan yang terdapat dalam bekatul yaitu asam fenolik, flavanoid, antosianin, proantosianin, tokoferol, tokotrienol,  $\gamma$ -orizanol dan asam fitat (Taurita dkk., 2017). Pada tepung bekatul beras merah terkandung serat sebagai penghambat penyerapan glukosa darah dan  $\alpha$ -tokoferol dan tocotrienol yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan ini dapat menetralkan metabolik toksik dari hasil metabolisme STZ dan memiliki kemampuan mengikat radikal bebas. Menurut Ayustaningwarno dan Mumpuni (2013), tokoferol dan tokotrienol merupakan antioksidan non polar bagian dari vitamin E yang berfungsi menghambat peroksidasi lipid dan mencegah terjadinya stres oksidatif. Tokoferol berfungsi mempertahankan integritas membran dengan cara bekerja sebagai *scavenger* radikal bebas oksigen, peroksidasi lipid, dan *silent* oksigen.  $\gamma$ -oryzanol

mempunyai kemampuan menurunkan trigliserida dan kolesterol dengan cara menekan lipogenesis di hepar dan meningkatkan eksresi lemak melalui feses (Tuarita, 2017).

$\gamma$ -oryzanol merupakan antioksidan non polar yang mempunyai fungsi menghambat peroksidasi lipid dan mencegah stres oksidatif. Kadar antioksidan yang semakin tinggi akan menyebabkan semakin tinggi laju penghambatan peroksidasi lipid oleh radikal bebas (Ayustaningwarno dan Mumpuni, 2013). Penurunan kadar trigliserida didukung dengan fungsi dari  $\gamma$ -oryzanol yaitu menghambat peroksidasi lipid. Sehingga kadar trigliserida akan semakin cepat mengalami penurunan.

Terapi bekatul dapat menurunkan kadar trigliserida yang ditunjukkan melalui perubahan kadar trigliserida *post*-terapi. Perubahan kadar trigliserida tersebut dikarenakan bekatul mengandung serat dan antioksidan yang dapat membantu menurunkan kadar trigliserida. Serat mempunyai fungsi mempercepat laju pakan dalam mengikat asam empedu sehingga proses pengeluaran asam empedu lebih cepat, akibatnya tubuh akan membentuk asam empedu baru dari kolesterol yang berlebih dalam darah dan menyebabkan jumlah kolesterol dalam darah menurun dan menekan penguraian kolesterol menjadi trigliserida (Teru, 2017).

## BAB 6 PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

1. Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 1 mL, 2 mL, 3 mL mampu menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi streptozotocin dosis 45 mg/kgBB dengan volume pemberian yang paling optimal yaitu 2 mL.
2. Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 1 mL, 2 mL, 3 mL mampu menurunkan kadar trigliserida secara signifikan pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi streptozotocin dosis 45 mg/kgBB dengan volume pemberian yang paling optimal yaitu 2 mL.

### 6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti pengamatan histopatologi pankreas dan parameter pendukung seperti insulin, GLUT-1, GLUT-2, GLUT-4 dan histopatologi hepar untuk mengetahui adanya kerusakan organ pada hewan model diabetes melitus serta menggunakan parameter kerusakan oksidatif dan kerusakan dalam tingkat molekuler.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, J.M.F. 2007. *Diabetes Melitus Gestasional*. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi IV, Jakarta: FKUSI
- Adnan, M., Mulyati, T., Isworo, TJ. 2013. *Hubungan Indeks Massa Tubuh (IMT) Dengan Kadar Gula Darah Penderita Diabetes Melitus (DM) Tipe 2 Rawat Jalan Di RS Tugurejo Semarang*. Jurnal Gizi Universitas Muhammadiyah Semarang
- Agita, V.S. 2016. *Studi Ekspresi IL-1 pada Histopatologi Kulit Tikus (Rattus norvegicus) Model Diabetes Mellitus yang Diterapi Ekstrak Daun Krokot (Portulaca oleracea)* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya
- Ayustaningwarno, Fitriyono. 2013. *Teknologi Pangan: Teori Praktis dan Aplikasi*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Almatsier, S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Umum.
- Arifin, H dan Delvita, V. 2007. *Pengaruh Pemberian vitmin C terhadap fetus pada mencit diabetes*. *Jurnal sains dan teknologi farmasi*. 12 (1): 32-40.
- Arifnaldi, M. S. 2014. *Hubungan Kadar Trigliserida Dengan Kejadian Stroke Iskemik Di Rsud Sukoharjo*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Auliana, R., 2011. *Manfaat Bekatul dan Kandungan Gizi*. Yog yakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Awemu, E.M.I. 2009. *Bioactive Components inn Yoghurt Products*. Bioactive Components in Milk and Dairy Products Text Book. 235-250
- Baari, A.N. 2003. *Analisis perbedaan kolom pada determinasi karbohidrat susu fermentasi dengan metode HPLC*. *Journal of The Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 28(1): 27-32.
- Chelzea, v., dan Y. Wirawanni. 2015. *Pengaruh Pemberian selai kacang tanah dengan substitusi bekatul beras merah terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes*. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 1 (2): 1-9.
- Dalimunthe, S. 2004. *Kimia Dari Inhibitor Korosi*. Teknik Kimia, Universitas Sumatera Utara, Medan.

- Ditjen Bina Farmasi dan Alkes. 2005. *Pharmaceutical Care untuk penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 9, 29, 30, 32, 39, 43
- Droge W. 2002. *Free Radicals In The Physiological Control Of Cell Function*. *Physiol Rev*. 82 : 47-95.
- Ekawati E. 2012. *Hubungan Kadar Glukosa Darah Terhadap Hypertriglyceridemia Pada Penderita Diabetes Mellitus*. Prosiding Seminar Nasional Gramedia
- Erwin, E. Muttaqien, Pangestiningih, TW dan S. Widyarini. 2013. *Eksresi Insulin pada Pankreas Mencit (Mus musculus) yang Diinduksi dengan Streptozotocin Berulang*. *Jurnal Kedokteran*. [99-100].
- Gani, N., 2013. *Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (Abelmoschus manihot L.)*. Jurusan Kimia FMIPA Unsrat. Manado.
- Guyton, A. C. and Hall, J.E; alihbahasa, Irawati; editor Rachman L. Y, . 2011. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed. 11, Jakarta: EGC.
- Handelsman Y, Mechanick J, Blonde L, Grunberger G. 2011. *American association clinical endocrinologists medical guidelines for clinical practice for developing a diabetes mellitus comprehensive care plan*. AACE Diabetes Care Plan Guidelines, Endocrine Practice.
- Hendrich, H.J. 2006. *Taxonomy and stocks and strains*. in: Suckow, M.A., S.H wishbroth, and C.L Franklin. *The Laboratory rat*. 2nd ed. Elsevier, Boston: V + 912 hlm.
- Hoenig, M. 2003. *Diabetes in pets*. *Diabetes Voice*. *Mol Cell Endocrinol* 29;197(1-2):221-9.
- Holidah, D, Christianty FM. 2018. *Uji aktivitas antidiabetes ekstrak teh hitam, teh olong dan teh hijau secara in vivo*. Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development: Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis.
- IDF, 2013. *IDF Diabetes Atlas*. International Diabetes Federatiom
- Johansen JS, Harris AK, Rhycly D., Ergul A. 2005. *Oxidative Stress and The Use of Antioxidant in Diabetes : Linking Basic Science to Clinical Practise*. *Cardiovascular Diabetology*;4 (5) : 1-11

- Jorns, A., R. Munday, M. Tiege And S. Lenzen. 1997. *Comparative Toxicity Of Alloxan, N-Alkylalloxans And Ninhydrin To Isolated Pancreatic Islet In Vitro*. *J. Endocrinol.* 155: 283-293.
- Joyce Le Fever. 2007. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium dan Diagnostik*. Edisi 6. Jakarta : ECG
- Kaur N & Gupta A K. 2002. *Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition*. *J. Biosci.* [27 703–714]
- Khoiriyah, L.K Dan Fatchiyah. 2013. *Karakter Biokimia Dan Profil Protein Yoghurt Kambing PE Difermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL)*. *J.Exp. Life Sci.* Vol.3 No.1 Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kustyawati, M. E., Tobing, S. D., & Trimaryanto. 2012. *Profil asam lemak & asam amino susu kambing segar & terfermentasi fatty acid and amino acid profile of fresh & fermented goat milk*. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 23(1), 47–52.
- Mahdi, C. 2019. *Pemanfaatan pangan fungsional berbasis antioksidan peptida bioaktif yoghurtr susu kambing fortifikasi tepung bekatul hitam untuk penanganan diabetes melitus*. Program riset kolaborasi Indonesia.
- Manaf A., Pandelaki K., Sukran A., Soewondo P., Soebagijo A., Sambo A., Yunir Em., Saraswati R., 2011. *Petunjuk Praktis Terapi Insulin*. pp. 1-35
- Maula, I. F. 2014. *Uji Antifertilitas Ekstrak N-Heksana Biji Jarak Pagar (Jatropha Curcas L.) Pada Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) Galur Sprague Dawley Secara In Vivo*. [SKRIPSI]. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Masharani U., Karam. J.H. 2001. *Pancreatic Hormones & Diabetes Mellitus In : Basic & Clinical Endocrinology. 6 th Edition*. New York: Mc Graw Hill. P.623-48
- Mealey, B.L and Thomas W.Oates., 2006. *Diabetes Mellitus and Periodontal Disease*. *J. Periodontol.* Vol.77 No.8.
- Mumpuni, P.D. dan Ayustaningwarno, F. 2013. *Analisis Kadar Tokoferol,  $\gamma$ -Oryzanol Dan B-Karoten Serta Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul Kasar*. *Journal of Nutrition College* 2(3) : 350-357.
- Murray R. K, Granner D. K, Mayes P. A, Rodwell V. W. 2001. *BIOKIMIA HARPER*, 25, Hartono. A, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

- Novita, C.I. 2005. *Performans Reproduksi, Produksi dan Kualitas Susu kambing Peranakan Ettawah yang Diberi Ransum Komplit Berbasis Jerami Padi Terfermentasi*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurdiana N. 1998. *Efek streptozotocin sebagai bahan diabetogenik pada tikus wistar dengan cara intraperitoneal dan intravena*. Majalah Kedokteran Unibraw. 14(2): 66-77.
- Nugroho AE. 2006. *Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Padaga MC., Sawitri ME. dan Murwani S. 2009. *Potensi Protein Spesifik Susu Kambing sebagai Imunomodulator And Imugen: Upaya Pengembangan Pangan Nutrasetika: Laporan Penelitian Serangan Jantung*. Edisi Ketiga.
- Salistia W, Puspitawati S, Nugroho DK. 2005. *Hubungan tingkat kepatuhan minum obat hipoglikemik oral dengan kadar glukosa darah pada pasien diabetes melitus tipe 2*. Berita Kedokteran Masyarakat. 2011;27:p.219.
- Santoso BI. (ed). 2001. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC, pp: 663-676.
- Saputra, N. T., Suartha, I. N., Dharmayudha, A. A. G. O. 2018. *Agen Diabetagonik Streptozotocin Untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus*. Bulletin Veteriner Udayana 10 (2) : 116-121.
- Sarwono, B. 2007. *Beternak Kambing Unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Setyaningrum, A. 2017. *Kasein Yogurt Susu Kambing Sebagai Antioksidan Pada Tikus Wistar Model Intoksikasi Dioksin (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-P-Dioxin): Kajian Aktivitas Enzim Antioksidan, Profil Lemak Darah, Dan Kadar Enzim Transaminase*. [Tesis] Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.
- Soeharto, I. 2004. *Penyakit jantung coroner dan serangan jantung*. Edisi ketiga. Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hal: 63- 85.
- Steel R.G.D, and Torrie J.H. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Sumantri B, penerjemah. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.

- Suarsana I.N., Priosoeryanto B.P., Bintang M., Wresdiyati T., 2010. *Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan*. JITV. 15
- Susanti, A. 2018. *Penentuan indeks glikemik dan beban glikemik pada cookies tepung beras merah (Oryza nivara) dan biji kecipir (Psophocarpus tetragonolobus. L)*. Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Respati Yogyakarta.
- Syamiyah N. 2014. *Faktor risiko kejadian diabetes mellitus tipe 2 pada wanita di puskesmas kecamatan Pesanggraha Jakarta Selatan tahun 2014* [Skripsi]. Jakarta: Program Studi Kesehatan Masyarakat Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah; 2014.
- Tjay TH, and Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya. Edisi ke-6*. Jakarta : Elex Media Komputindo, pp : 568-9, 582.
- Tjokroprawiro, A. 2001. *Ilmu Penyakit Dalam*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Tuarita, M.Z. 2017. *Pengembangan bekatul sebagai pangan fungsional : peluang, hambatan, dan tantangan*. a Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Dramaga Bogor.
- Utami, W. 2013. *Perbedaan Ph Saliva dan Indeks Glikemik Setelah Mengonsumsi Nasi Yang Berasal Dari Beras Putih Dan Beras Merah* [skripsi]. Jember: Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Yangliar, F. 2013. *As a potentially functional food: goats' milk and products*. Journal of Food and Nutrition Research, 1(4), 68– 81.
- Yuliantika NMR, Gelgel KTP, Kardena IM. 2013. *Efek Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Merah Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih Diabetik Yang Diinduksi Aloksan*. Bul.Vet. Udayana. 5(2): 114-121.
- Zettira, O.Z. 2018. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Bekatul Beras Merah Terhadap Perubahan Diameter Lumen Arteri Koronaria Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan Galur Sprague dawley Yang Diinduksi Paparan Asap Rokok Kretek*. [Skripsi] Universitas Lampung.



### Lampiran 1. Surat Keterangan Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 1115-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING  
DENGAN FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS  
MERAH PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
MODEL DIABETES MELLITUS INDUKSI  
STREPTOZOTOCIN**

**PENELITI : AJENG ERIKA PRIHASTUTI HASKITO**

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**DINYATAKAN : LAIK ETIK**

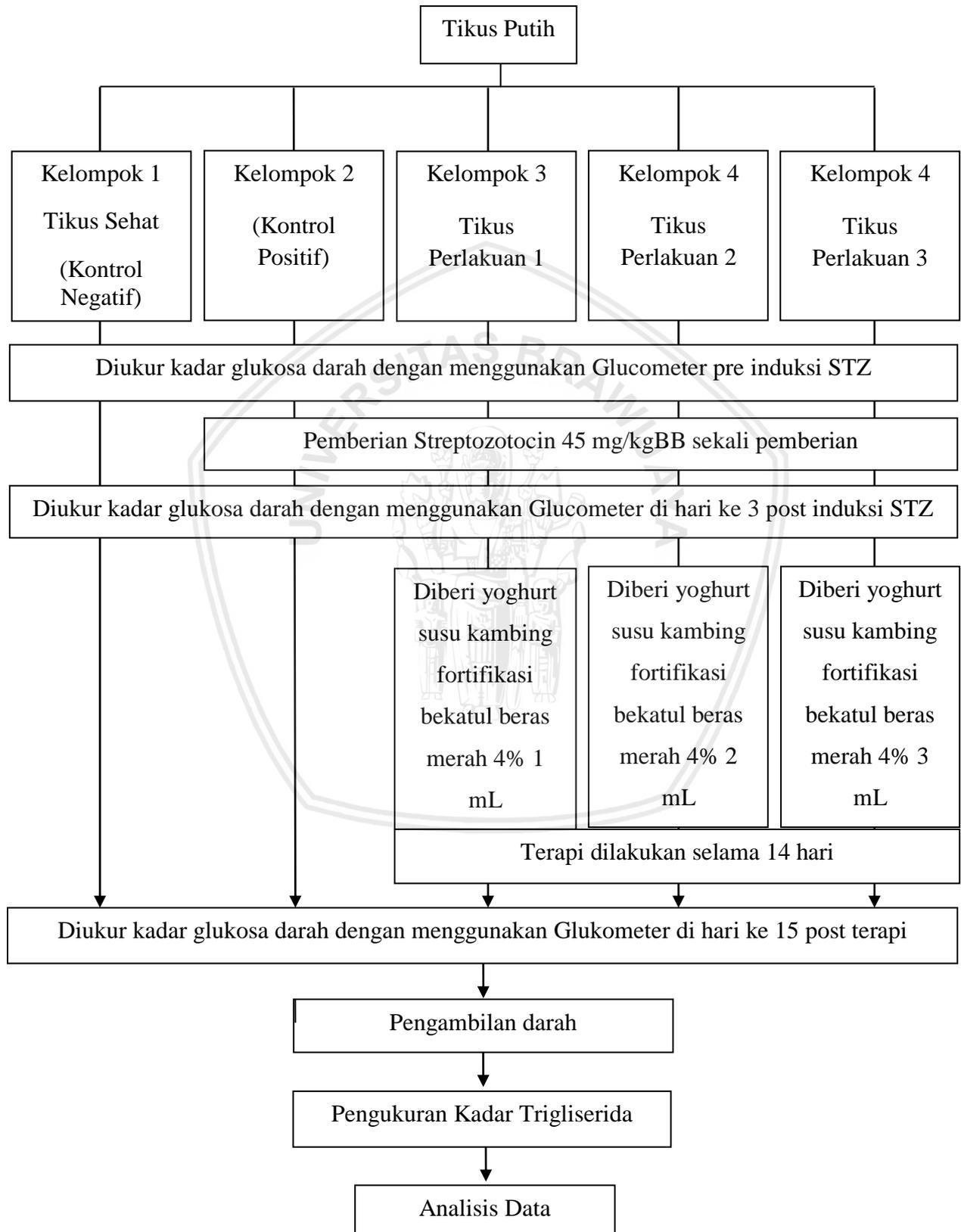
Malang, 24 April 2019  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Erik Sulhanni'am, DES.  
NIP. 196005131988022001

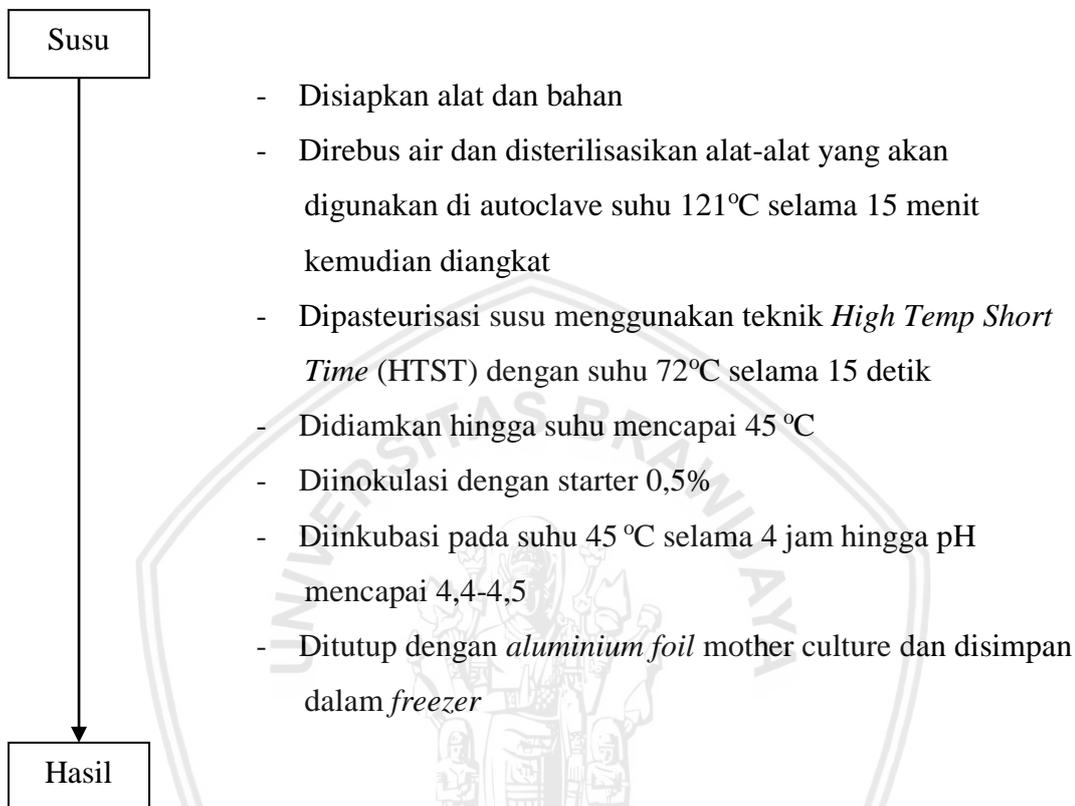
NB: Nama yang terlampir pada sertifikat ini merupakan anggota peneliti

## Lampiran 2. Kerangka Penelitian

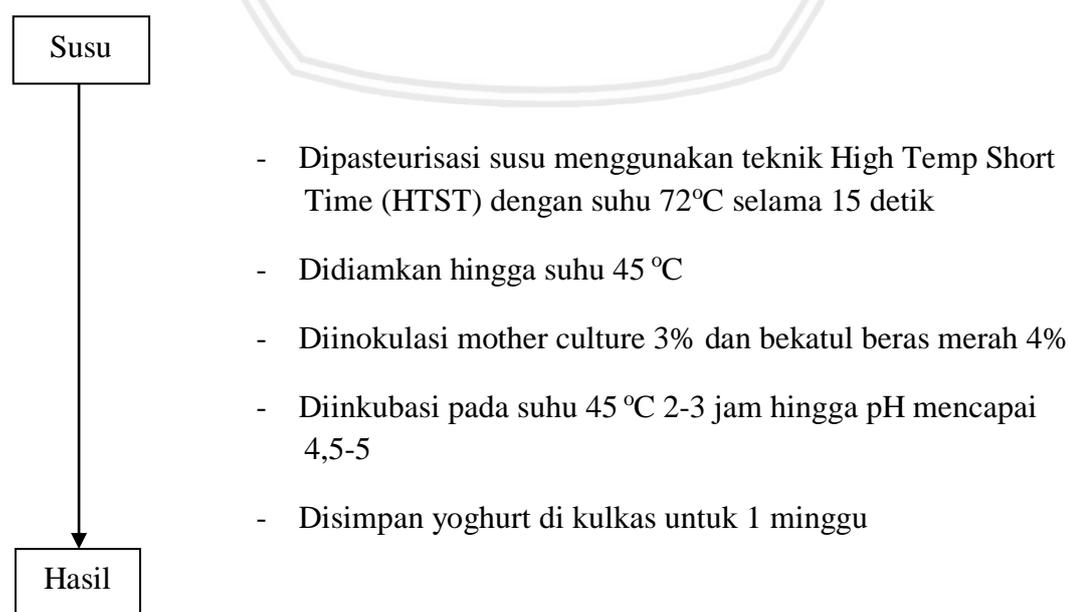


### Lampiran 3. Diagram Alir

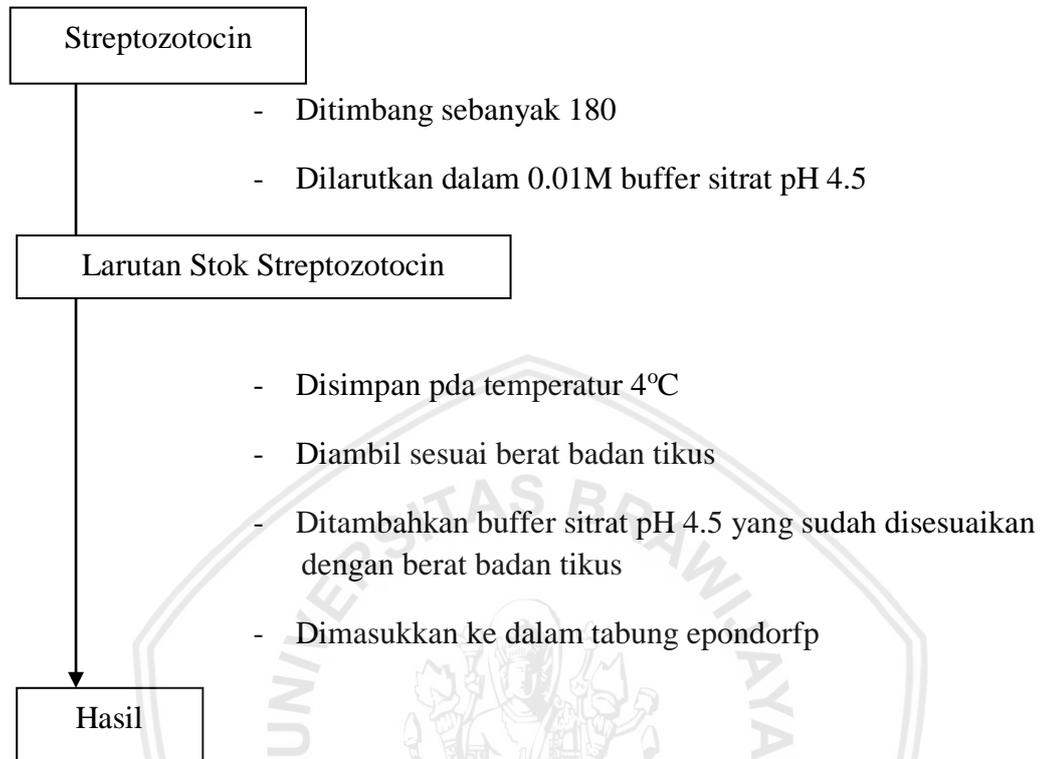
#### 3.1 Pembuatan Mother Culture



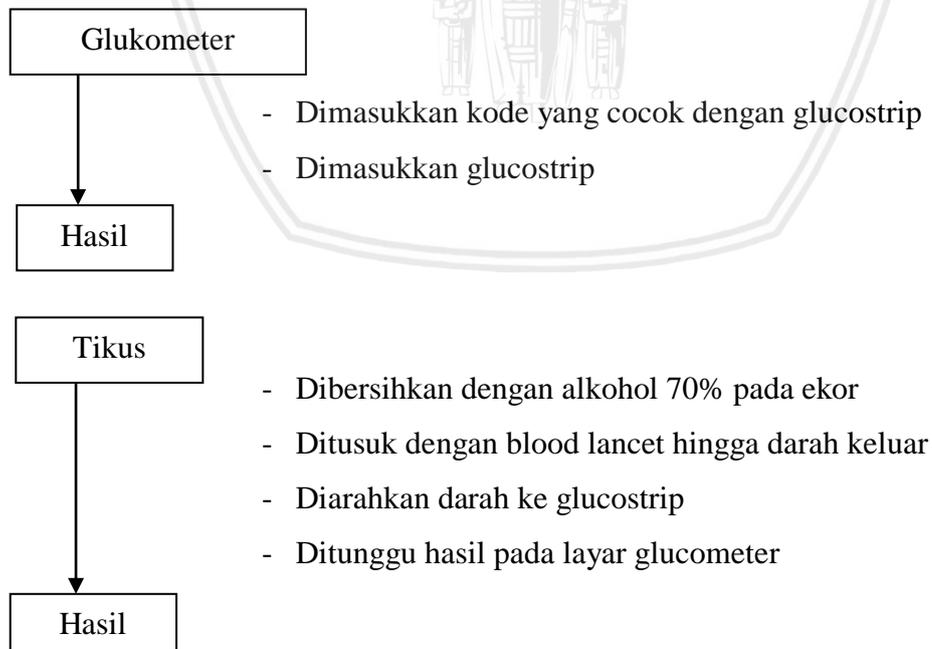
#### 3.2 Pembuatan Yoghurt



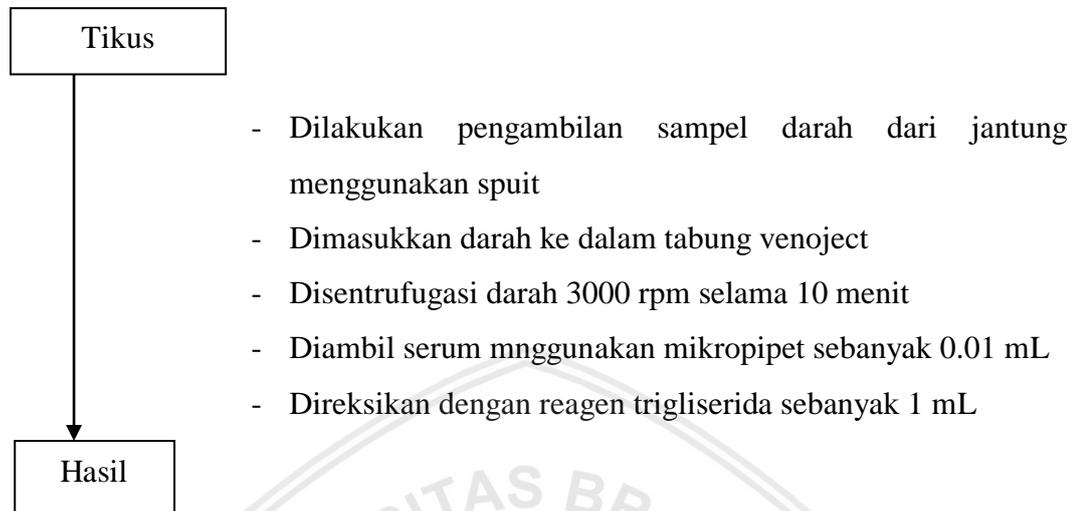
### 3.3 Pembuatan Larutan Streptozotocin



### 3.4 Pengukuran Kadar Glukosa Darah



### 3.4 Pengukuran Kadar Triglicerida



## Lampiran 4. Perhitungan Dosis

### 4.1 Perhitungan Dosis STZ

$$\begin{aligned}\text{Rumus Dosis} &= \text{BB (g)} \times \text{Dosis (mg/kgBB)} \\ &= \text{BB (g)} \times \text{Dosis (mg/1000gBB)}\end{aligned}$$

$$\text{Dosis STZ} = 45 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Volume pemberian larutan 0.01M buffer sitrat (pH 4,5)} = 0,5 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata STZ} &= \text{Rata-rata BB (g)} \times \text{dosis (mg/1000gBB)} \\ &= 200 \text{ g} \times 45 \text{ mg/1000gBB} \\ &= 9 \text{ mg/ekor}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Vol Larutan STZ} &= \text{BB} \times \text{dosis} : \text{rata-rata STZ} \times 0,5 \text{ mL} \\ &= 200 \times 45 \text{ mg/1000gBB} : 9 \times 0,5 \text{ mL} \\ &= 0,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Kelompok	BB	STZ (mg)	Vol. STZ (mL)
K-	175	7,875	0,53566
	192	8,64	0,587695
	167	7,515	0,511172
	203	9,135	0,621365
K+	174	7,83	0,532599
	169	7,605	0,517294
	175	7,875	0,53566
	162	7,29	0,495868
P1	144	6,48	0,440771
	176	7,92	0,538721
	150	6,75	0,459137
	168	7,56	0,514233
P2	171	7,695	0,523416
	146	6,57	0,446893
	150	6,75	0,459137
	152	6,84	0,465259
P3	143	6,435	0,43771
	140	6,3	0,428528
	173	7,785	0,529538
	137	6,165	0,419345
Jumlah	3267	147,015	10
Rata-rata	163,35	7,35075	0,5

#### 4.2 Perhitungan Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Bekatul Beras Merah 4%

Susu kambing yang digunakan 100 mL

Mother culture 3% =  $3 \times 100 \text{ mL} / 100 = 3 \text{ mL}$

Tepung bekatul beras merah 4% = 4 mg

Yoghurt susu kambing fortifikasi tepung

bekatul beras merah 4%	= 4 mg bekatul beras merah
	3 mL <i>mother culture</i>
	97 mL yoghurt susu kambing
	100 mL

#### 4.3 Perhitungan Volume Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Bekatul Beras Merah 4%

Dalam sehari :

Volume Pemberian 1 =  $1 \text{ mL} \times 0,2 \text{ kg} = 0,2 \text{ mL} \times 4 \text{ tikus} = 0,8 \text{ mg}$

Volume Pemberian 2 =  $2 \text{ mL} \times 0,2 \text{ kg} = 0,4 \text{ mL} \times 4 \text{ tikus} = 1,6 \text{ mg}$

Volume Pemberian 3 =  $3 \text{ mL} \times 0,2 \text{ kg} = 0,6 \text{ mL} \times 4 \text{ tikus} = 2,4 \text{ mg}$

Kelompok	BB	Vol. Pemberian 1 mL/kgBB	Vol. Pemberian 2 mL/kgBB	Vol. Pemberian 3 mL/kgBB
P1	225	0,225		
	180	0,18		
	234	0,234		
	137	0,137		
P2	154		0,308	
	214		0,428	
	212		0,424	
	186		0,372	
P3	181			0,543
	181			0,543
	248			0,744
	191			0,573

### Lampiran 5. Data hasil dan uji statistik kadar glukosa darah

Kadar Glukosa Darah (mg/dL) sebelum pemberian STZ				
Kelompok (-)	Kelompok (+)	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
65	79	69	62	88
77	69	89	68	82
73	75	75	68	89
93	79	82	59	78

Kadar Glukosa Darah (mg/dL) 3 hari setelah pemberian STZ				
Kelompok (-)	Kelompok (+)	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
79	336	270	221	280
95	322	365	250	237
88	454	255	197	237
93	532	311	291	202

Kadar Glukosa Darah (mg/dL) Post-Terapi				
Kelompok (-)	Kelompok (+)	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
82	277	233	103	116
77	250	186	124	178
97	311	153	100	244
95	375	197	118	199

#### Kelompok Kontrol Positif

$$\begin{aligned}
 \text{Peningkatan kadar glukosa darah (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan K(-)}}{\text{Rataan K(-)}} \times 100\% \\
 &= \frac{374,5 - 88,75}{88,75} \times 100\% \\
 &= 321,9 \%
 \end{aligned}$$

#### Kelompok Terapi 1 mL

$$\begin{aligned}
 \text{Penurunan kadar glukosa darah (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan terapi 1 mL}}{\text{Rataan K(+)}} \times 100\% \\
 &= \frac{374,5 - 131}{374,5} \times 100\% \\
 &= 65\%
 \end{aligned}$$

**Kelompok Terapi 2 mL**

$$\begin{aligned}
 \text{Penurunan kadar glukosa darah (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan terapi 2 mL}}{\text{Rataan K(+)}} \times 100\% \\
 &= \frac{374,5 - 92,25}{374,5} \times 100\% \\
 &= 75,3\%
 \end{aligned}$$

**Kelompok Terapi 1 mL**

$$\begin{aligned}
 \text{Penurunan kadar glukosa darah (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan terapi 3 mL}}{\text{Rataan K(+)}} \times 100\% \\
 &= \frac{374,5 - 113,25}{374,5} \times 100\% \\
 &= 69,7\%
 \end{aligned}$$

**Uji Normalitas****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		20
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	.0000000
	Std. Deviation	1.39622393
Most Extreme Differences	Absolute	.143
	Positive	.143
	Negative	-.125
Kolmogorov-Smirnov Z		.639
Asymp. Sig. (2-tailed)		.808

a. Test distribution is Normal.

**Uji Homogenitas****Test of Homogeneity of Variances**

kadar glukosa darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.775	4	15	.011

## Uji Statistik ANOVA

### ANOVA

kadar glukosa darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	234813.700	4	58703.425	14.872	.000
Within Groups	59209.250	15	3947.283		
Total	294022.950	19			

## Uji Lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur)

### Multiple Comparisons

kadar glukosa darah

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-285.75000*	44.42569	.000	-422.9332	-148.5668
	P1	-42.25000	44.42569	.872	-179.4332	94.9332
	P2	-3.50000	44.42569	1.000	-140.6832	133.6832
	P3	-24.50000	44.42569	.980	-161.6832	112.6832
K+	K-	285.75000*	44.42569	.000	148.5668	422.9332
	P1	243.50000*	44.42569	.001	106.3168	380.6832
	P2	282.25000*	44.42569	.000	145.0668	419.4332
	P3	261.25000*	44.42569	.000	124.0668	398.4332
P1	K-	42.25000	44.42569	.872	-94.9332	179.4332
	K+	-243.50000*	44.42569	.001	-380.6832	-106.3168
	P2	38.75000	44.42569	.903	-98.4332	175.9332
	P3	17.75000	44.42569	.994	-119.4332	154.9332
P2	K-	3.50000	44.42569	1.000	-133.6832	140.6832
	K+	-282.25000*	44.42569	.000	-419.4332	-145.0668

	P1	-38.75000	44.42569	.903	-175.9332	98.4332
	P3	-21.00000	44.42569	.989	-158.1832	116.1832
P3	K-	24.50000	44.42569	.980	-112.6832	161.6832
	K+	-261.25000*	44.42569	.000	-398.4332	-124.0668
	P1	-17.75000	44.42569	.994	-154.9332	119.4332
	P2	21.00000	44.42569	.989	-116.1832	158.1832

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Notasi pada Uji BNJ**

**kadar glukosa darah**

Tukey HSD

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K-	4	88.7500	
P2	4	92.2500	
P3	4	113.2500	
P1	4	131.0000	
K+	4		374.5000
Sig.		.872	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



### Lampiran 6. Data hasil dan uji statistik kadar trigliserida

Kadar Trigliserida (mg/dL)				
Kelompok (-)	Kelompok (+)	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
79	275	117	69	122
95	368	123	100	114
88	288	102	103	111
93	567	182	97	106

#### Kelompok Kontrol Positif

$$\begin{aligned}
 \text{Peningkatan kadar trigliserida (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan K(-)}}{\text{Rataan K(-)}} \times 100\% \\
 &= \frac{303,25 - 87,75}{87,75} \times 100\% \\
 &= 254,5 \%
 \end{aligned}$$

#### Kelompok Terapi 1 mL

$$\begin{aligned}
 \text{Penurunan kadar trigliserida (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan terapi 1 mL}}{\text{Rataan K(+)}} \times 100\% \\
 &= \frac{303,25 - 192,25}{303,25} \times 100\% \\
 &= 36,6\%
 \end{aligned}$$

#### Kelompok Terapi 2 mL

$$\begin{aligned}
 \text{Penurunan kadar trigliserida (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan terapi 2 mL}}{\text{Rataan K(+)}} \times 100\% \\
 &= \frac{303,25 - 111,25}{303,25} \times 100\% \\
 &= 63,3\%
 \end{aligned}$$

#### Kelompok Terapi 1 mL

$$\begin{aligned}
 \text{Penurunan kadar trigliserida (\%)} &= \frac{\text{rataan K(+)} - \text{rataan terapi 3 mL}}{\text{Rataan K(+)}} \times 100\% \\
 &= \frac{303,25 - 184,25}{303,25} \times 100\% \\
 &= 39,2\%
 \end{aligned}$$

### Uji Normalitas

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		20
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	,0000000
	Std. Deviation	1,45095035
Most Extreme Differences	Absolute	,155
	Positive	,155
	Negative	-,155
Test Statistic		,155
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 <sup>c,d</sup>

- a. Test distribution is Normal.  
 b. Calculated from data.  
 c. Lilliefors Significance Correction.  
 d. This is a lower bound of the true significance.

### Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

kadar trigliserida

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,996	4	15	,147

### Uji Statistik ANOVA

#### ANOVA

kadar trigliserida

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	114020,000	4	28505,000	20,197	,000
Within Groups	21169,750	15	1411,317		
Total	135189,750	19			

### Uji Lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur)

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadar trigliserida

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
k-		-215,50000*	26,56423	,000	-297,5283	-133,4717
	P1	-104,50000*	26,56423	,010	-186,5283	-22,4717
	P2	-23,50000	26,56423	,898	-105,5283	58,5283
	P3	-96,50000*	26,56423	,018	-178,5283	-14,4717
K+	k-	215,50000*	26,56423	,000	133,4717	297,5283
	P1	111,00000*	26,56423	,006	28,9717	193,0283
	P2	192,00000*	26,56423	,000	109,9717	274,0283
	P3	119,00000*	26,56423	,003	36,9717	201,0283
P1	k-	104,50000*	26,56423	,010	22,4717	186,5283
	K+	-111,00000*	26,56423	,006	-193,0283	-28,9717
	P2	81,00000	26,56423	,054	-1,0283	163,0283
	P3	8,00000	26,56423	,998	-74,0283	90,0283
P2	k-	23,50000	26,56423	,898	-58,5283	105,5283
	K+	-192,00000*	26,56423	,000	-274,0283	-109,9717
	P1	-81,00000	26,56423	,054	-163,0283	1,0283
	P3	-73,00000	26,56423	,093	-155,0283	9,0283
P3	k-	96,50000*	26,56423	,018	14,4717	178,5283
	K+	-119,00000*	26,56423	,003	-201,0283	-36,9717
	P1	-8,00000	26,56423	,998	-90,0283	74,0283
	P2	73,00000	26,56423	,093	-9,0283	155,0283

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Notasi pada Uji BNJ

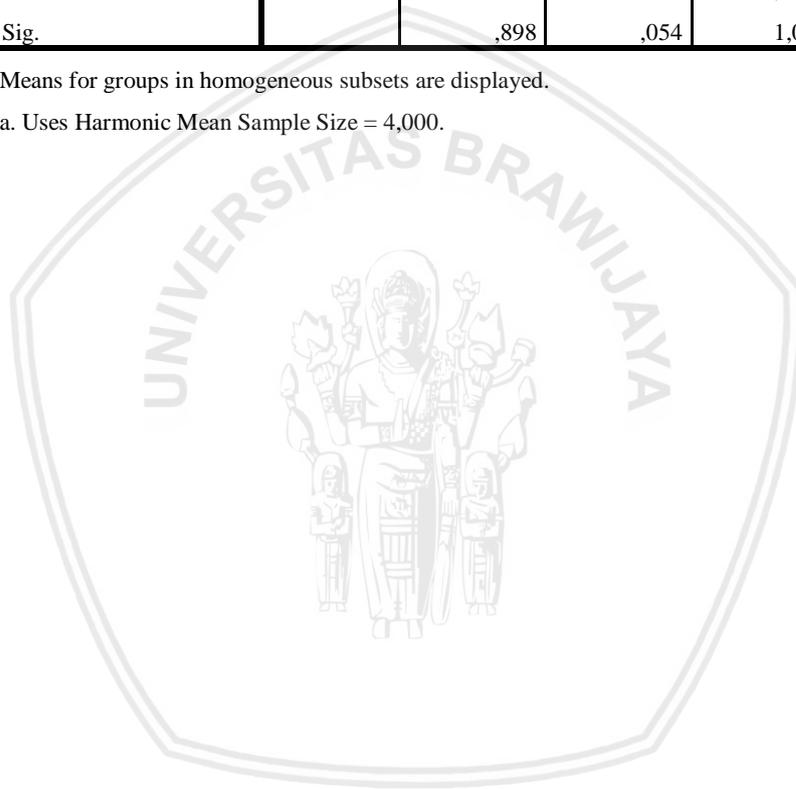
**kadar trigliserida**

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
k-	4	87,7500		
P2	4	111,2500	111,2500	
P3	4		184,2500	
P1	4		192,2500	
K+	4			303,2500
Sig.		,898	,054	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.





Susu kambing di pasteurisasi pada suhu 72°C selama 15 detik



Susu didiamkan hingga suhu mencapai 45 °C



Mother culture 3% dimasukkan kedalam susu kambing



Ditimbang bekatul beras merah sebanyak 4% dan dimasukkan



Ditutup dengan *aluminium foil*



Susu kambing kemudian diinkubasi pada 45 °C selama 4 jam



<p>Penimbangan hewan coba dengan menggunakan timbangan digital</p>	<p>Proses mengganti sekam kandang hewan coba</p>
 <p>Induksi streptozotocin secara intraperitoneal</p>	 <p>Pengukuran glukosa darah, darah didapat dari ekor dan proses pembacaan hasil glukosa darah</p>
 <p>Induksi ketamin sebelum hewan coba dinekropsi</p>	 <p>Nekropsi hewan coba dan pengambilan darah melalui intracardial</p>