

**PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING  
FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS MERAH  
TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE* DAN  
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA HEWAN  
MODEL DIABETES MELLITUS INDUKSI  
STREPTOZOTOSIN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ERINA BIDARI UTOMO**  
**155130101111011**



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

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING  
FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS MERAH  
TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE* DAN  
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA HEWAN  
MODEL DIABETES MELLITUS INDUKSI  
STREPTOZOTOSIN**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :  
**ERINA BIDARI UTOMO**  
**155130101111011**



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

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING FORTIFIKASI TEPUNG  
BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE* DAN  
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA HEWAN MODEL DIABETES  
MELLITUS INDUKSI STREPTOZOTOSIN**

Oleh :  
**ERINA BIDARI UTOMO**  
**155130101111011**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 25 September 2019  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

**Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc**  
NIP. 19580711 199202 2 002

**drh. Ajeng Erika PH, M.Si**  
NIP. 19890516 201504 2 001

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Brawijaya

**Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc**  
NIP. 19631216 198803 1 002

**LEMBAR PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Erina Bidari Utomo  
NIM : 155130101111011  
Program Studi : Kedokteran Hewan  
Penulis Skripsi Berjudul : Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Kadar *Malondialdehyde* dan Histopatologi Pankreas pada Hewan Model Diabetes Mellitus Induksi Streptozotosin

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, 25 September 2019  
Yang menyatakan,

(Erina Bidari Utomo)  
NIM.155130101111011

**PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING FORTIFIKASI  
TEPUNG BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP KADAR  
MALONDIALDEHYDE DAN HISTOPATOLOGI  
PANKREAS PADA HEWAN MODEL  
DIABETES MELLITUS INDUKSI  
STREPTOZOTOSIN**

**ABSTRAK**

Diabetes mellitus adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh berkurangnya produksi hormon insulin. Selain itu, dapat disebabkan oleh peningkatan kadar gula darah. Yoghurt susu kambing dan bekatul beras merah memiliki kandungan antioksidan (peptida bioaktif, tokoferol, oryzanol, dan flavonoid) dan serat tinggi, sehingga baik untuk terapi diabetes mellitus. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah terhadap kadar MDA dan histopatologi pankreas hewan model diabetes mellitus induksi streptozotosin. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 20 ekor tikus putih yang terbagi menjadi lima kelompok, yaitu kontrol negatif tanpa perlakuan apapun. Sementara itu, kontrol positif, perlakuan 1, 2, dan 3 diinduksi streptozotosin secara intraperitoneal dosis 45 mg/kgBB. Setelah diinkubasi selama 3 hari, perlakuan 1, 2, dan 3 diberi terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan volume pemberian 1 mL/kgBB, 2 mL/kgBB, dan 3 mL/kgBB selama 14 hari. Kadar MDA diukur menggunakan spektrofotometer dan histopatologi pankreas diwarnai dengan pewarnaan HE. Analisa data kadar MDA dianalisa dengan uji ANOVA dan uji *Tukey*  $\alpha = 0,05$ , sedangkan histopatologi pankreas secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah volume 1 mL/KgBB, 2 mL/KgBB, dan 3 mL/KgBB dapat menurunkan kadar MDA dan memperbaiki histopatologi pankreas yang ditandai dengan regenerasi pada sel beta pulau Langerhan's pankreas. Kesimpulan pada penelitian ini yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan 2 mL/KgBB adalah volume pemberian terbaik dan menghasilkan hasil yang efektif untuk terapi diabetes mellitus dengan menurunkan kadar MDA dan memperbaiki histopatologi pankreas yang ditandai dengan regenerasi pada sel beta pulau Langerhan's pankreas.

**Kata kunci** : *bekatul beras merah, diabetes mellitus, histopatologi pankreas, MDA, yoghurt susu kambing.*

**THE EFFECT OF GOAT MILK YOUGHURT WITH FORTIFICATION  
OF RED RICE BRAN FLOUR TOWARD THE *MALONDIALDEHYDE*  
LEVELS AND PANCREAS HISTOPATHOLOGY IN  
ANIMAL DIABETES MELLITUS MODELS  
INDUCED BY STREPTOZOTOCIN**

**ABSTRACT**

Diabetes mellitus is a chronic disease caused by the deficiency of insulin hormone. In addition, it can cause the increasing amount of blood sugar levels in despression condition. Goat milk yoghurt and red rice bran flour have high antioxidant (bioactive peptide, tocopherol, oryzanol, and flavonoid) and fiber, therefore it might be good for diabetes mellitus treatment. The propose of this research was to observe the effect of goat milk yoghurt fortification of red rice bran flour towards MDA levels and pancreatic histopathology of diabetes mellitus rats (*Rattus norvegicus*) models induced by streptozotosin. This research used a completely randomized design (CRD) with 20 rats which weight around 130-200 grams and divided into five groups, including negative control without any treatment. Meanwhile positive control, treatment 1, 2, and 3 were intraperitoneal injection of 45 mg/KgBW streptozotosin. After 3 days incubation, treatment 1, 2, and 3 received 1 mL/KgBW, 2 mL/KgBW, and 3 mL/KgBW goat milk yoghurt with fortification of red rice bran flour respectively for 14 days. MDA levels were measured by spectrophotometry and pancreatic histopathology was stained by Hematoxylin eosin. Data of MDA levels were analyzed using ANOVA test and Tukey test  $\alpha = 0,05$ , while pancreatic histopathology were analyzed descriptively. The result showed that 1 mL/KgBW, 2 mL/KgBW, and 3 mL/KgBW of goat milk yoghurt with fortification of red rice bran decreased pancreatic MDA levels and repair the pancreatic histopathology indicated by regeneration in beta cell of Langerhan's island. The conclusion of this research is goat milk yoghurt with fortification of red rice bran with volume of 2 mL/KgBW was effective for theraphy diabetes mellitus by decreasing MDA levels and repairing the pancreatic histopathology indicated by regeneration in beta cell of Langerhan's island.

**Keywords** : *diabetes mellitus, MDA, pancreas histopathology, red rice bran, red rice bran yoghurt goat milk.*



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan anugrah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Kadar *Malondialdehyde* dan Histopatologi Pankreas pada Hewan Model Diabetes Mellitus Induksi Streptozotosin” 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, antara lain:

1. Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc., selaku dosen pembimbing I atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
2. drh. Ajeng Erika PH, M.Si., selaku dosen pembimbing II atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, dan arahan yang diberikan kepada penulis.
3. drh. Fidi Nur Aini EPD, M.Si., selaku dosen penguji I yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat membangun kepada penulis.
4. drh. Aldila Noviatry, M.Biomed., selaku dosen penguji II yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat membangun kepada penulis.
5. drh. Fidi Nur Aini EPD, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan saran yang sangat membangun dan membimbing penulis selama menjalankan studi di FKH UB.
6. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan (FKH UB).
7. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di FKH UB.
8. Keluarga tercinta, yaitu Mama, Papa, Uni Vivi, dan Mas Ricky yang selalu memberi kasih sayang, dorongan, dukungan, dan doa untuk menyelesaikan

studi penulis, serta perhatian akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.

9. Tim Skripsi saya, yaitu Catur Kesuma Ningtyas, Inggrit Resgita Putri, dan Rifah Putri Anggun yang telah semangat bekerja bersama menyelesaikan skripsi ini.
10. Sahabat Saranghae, yaitu Riris Ridha, Rizky Ayu, Ulfa Luluk, dan Kurnia Indah yang telah mensupport, memberikan doa, dan dukungan kepada saya.
11. Keluarga besar DNA 2015 yang telah memberikan semangat dan saran yang membangun.
12. Sahabat Desy Rose, Rowena Yutifri, Catur Kesuma Ningtyas, Ristia Mahfuzah, dan Isma Aulia yang telah membantu, menyemangati, dan memberikan saran kepada saya dalam menyelesaikan skripsi.
13. Sahabat Farah Audina, Alodia Putri, Ayu Amelia, Anisah Fauziah, Metha Klarisa, dan Monica Gusviani yang telah membantu, menyemangati, dan memberikan saran kepada saya dalam menyelesaikan skripsi
14. Penyemangat skripsi, yaitu Lee Hangyul, GOT7, EXO, dan Seventeen yang telah menghibur saya dan menyemangati saya dalam penulisan skripsi.

Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi 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, 25 September 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<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> .....	xii
<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 .....	5
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Diabetes Mellitus .....	7
2.1.1 Pengertian Diabetes Mellitus .....	7
2.1.2 Penyebab Diabetes Mellitus .....	8
2.1.3 Gejala Klinis Diabetes Mellitus .....	8
2.2 Susu Kambing .....	9
2.2.1 Yoghurt Susu Kambing .....	10
2.3 Tepung Bekatul Beras Merah .....	10
2.4 Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ) .....	12
2.5 Streptozotosin .....	14
2.6 Pankreas .....	15
2.6.1 Anatomi Pankreas .....	15
2.6.2 Fisiologi Pankreas .....	15
2.6.3 Histologi Pankreas .....	16
2.7 <i>Malondialdehyde</i> (MDA) .....	19
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	22
3.1 Kerangka Konseptual .....	22
3.2 Hipotesis Penelitian .....	25
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	26
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	26
4.2 Materi Penelitian .....	26
4.2.1 Alat .....	26
4.2.2 Bahan .....	27



4.3 Rancangan Penelitian .....	27
4.3.1 Pengulangan .....	28
4.3.2 Variabel Penelitian .....	29
4.4 Tahapan Penelitian .....	29
4.4.1 Persiapan Hewan Coba .....	29
4.4.2 Pembuatan dan Induksi Streptozotosin.....	30
4.4.3 Pengukuran Kadar Glukosa Darah pada Hewan Coba.....	30
4.4.4 Pembuatan dan Pemberian Terapi Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah.....	31
4.4.5 Pengambilan Sampel Organ Pankreas .....	32
4.4.6 Pengukuran Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) Pankreas.....	32
4.4.7 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Pankreas .	33
4.4.8 Uji <i>Tukey</i> .....	36
4.5 Analisa Data .....	36
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	37
5.1 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Pankreas pada Hewan Model Diabetes Mellitus Induksi Streptozotosin .....	37
5.2 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Pankreas pada Hewan Model Diabetes Mellitus Induksi Streptozotosin .....	43
<b>BAB 6 PENUTUP</b> .....	49
6.1 Kesimpulan .....	49
6.2 Saran .....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	50

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Tabel Perbandingan Komposisi Susu Sapi dan Susu Kambing.....	9
2.2 Komposisi Zat Gizi Bekatul.....	11
2.3 Data Biologis Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	13
4.1 Desain Kelompok Penelitian.....	27
4.2 Kondisi Diabetik Berdasarkan Nilai .....	31
5.1 Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) Pankreas Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) pada 5 Kelompok .....	37



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur Biji Padi .....	11
2.2 Tikus Putih ( <i>Rattus novergicus</i> ).....	12
2.3 Anatomi Organ Pankreas .....	15
2.4 Histologi Organ Pankreas .....	17
2.5 Pulau Langerhan's Pankreas .....	18
2.6 Gambaran Histopatologi Pankreas Induksi Streptozotosin.....	19
2.7 Gambaran Histopatologi Pankreas Induksi Streptozotosin.....	19
3.1 Kerangka Konsep .....	22
5.1.A Gambaran Histopatologi Pankreas Kelompok Kontrol Negatif.....	44
5.1.B Gambaran Histopatologi Pankreas Kelompok Kontrol Positif .....	44
5.1.C Gambaran Histopatologi Pankreas Kelompok Perlakuan 1 .....	44
5.1.D Gambaran Histopatologi Pankreas Kelompok Perlakuan 2 .....	44
5.1.E Gambaran Histopatologi Pankreas Kelompok Perlakuan 3.....	44



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Laik Etik.....	57
2 Kadar Glukosa Darah.....	58
3 Perhitungan Dosis .....	59
4 Bagan Alur Penelitian .....	61
5 Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Merah.....	62
6 Diagram Alir Pemeriksaan Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) Pankreas Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	63
7 Proses Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas.....	64
8 Data Hasil dan Uji Statistik Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	67
9 Dokumentasi Penelitian .....	72



## DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<b>Simbol/ Singkatan</b>	<b>Keterangan</b>
%	Persen
µg	Mikrogram
µm	Mikrometer
ACTH	Adrenokortikotropik
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
BB	Berat badan
cm	Centimeter
dL	desiLiter
DNA	<i>Deoksiribonukleat</i>
g / gr	Gram
GLUT2	<i>Glucose Transporter 2</i>
HE	<i>Hematoxylin Eosin</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
KEP	Komisi Etik Penelitian
Kg	Kilogram
M	Meter
Mg	Milligram
mL	MiliLiter
NaCl	<i>Natrium Chlorida</i>
°C	Derajat <i>celcius</i>
PBSA	<i>Phosphat Buffer Saline Azida</i>
PFA	<i>Paraformaldehida</i>
pH	potensial Hidrogen
Ppm	<i>Parts Per Million</i>
PUFA	<i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
β	Beta
Δ	Delta



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit gangguan metabolisme tubuh yang disebabkan karena kurangnya produksi hormon insulin. Kondisi ini dapat mengakibatkan hiperglikemia yang merupakan peningkatan kadar glukosa dalam darah (Lanywati, 2001). Peningkatan kadar glukosa dalam darah dapat disebabkan oleh hormon glukagon, epinefrin, adrenokortikotropik (ACTH), dan glukokortikoid. Selain itu, penyebab peningkatan kadar glukosa darah, yaitu pada kondisi stres. Pada kondisi stres, manusia maupun hewan dapat mengalami perubahan fisiologis yang dapat merugikan individu (Isnaeni, 2006).

Diabetes mellitus adalah salah satu penyakit yang paling sering terjadi dan penyakit kronik di Indonesia. Beberapa kasus diabetes mellitus tidak mudah di diagnosa karena menunjukkan gejala yang komplikasi. Indonesia menduduki urutan ketujuh di dunia pada kasus ini dengan total 7,6 juta pasien. Prevalensi terjadinya penyakit diabetes mellitus di Indonesia berjalan cepat setiap tahun. Penyakit ini tidak hanya menyerang manusia, tetapi banyak juga menyerang hewan. Hewan yang paling sering terkena diabetes mellitus, yaitu kucing dan anjing. Sering kali penderita diabetes mellitus mengalami hiperglikemia. Diabetes mellitus umumnya menyerang organ pankreas, karena gejala yang ditimbulkan, yaitu penurunan produksi hormon insulin. Penurunan produksi hormon insulin diakibatkan karena kerusakan sel beta pulau Langerhan's pankreas (Soewondo dkk., 2013).

Upaya penanganan penyakit diabetes mellitus dapat dilakukannya dengan cara mengendalikan asupan nutrisi, berolahraga secara teratur, pemberian insulin, serta selalu memantau kadar glukosa darah. Pengendalian asupan nutrisi, seperti jadwal makan yang teratur, jumlah asupan kalori kurang dari 200 mg per-hari, serta asupan serat 25 gram per-hari (Hartono, 2006). Selain macam-macam penanganan diabetes mellitus di atas, dapat diberikan bahan-bahan biologis yang mengandung banyak antioksidan, seperti yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah.

Antioksidan merupakan substansi dalam pangan yang dapat mengurangi dampak buruk (Huang *et al.*, 2005). Manfaat mengkonsumsi antioksidan, yaitu sebagai penangkal radikal bebas, sehingga baik untuk kesehatan (Dziuba dan Dziuba, 2014). Selain itu, antioksidan dapat memperlambat, menghambat, dan mencegah proses oksidasi (Pihlanto, 2006). Susu kambing merupakan bahan makanan yang kaya akan protein, vitamin, serta enzim yang tinggi dibandingkan susu sapi. Peptida yang berasal dari hasil digesti protein memiliki aktifitas antioksidan (Pihlanto, 2006). Apabila susu kambing dijadikan yoghurt, maka nilai gizi akan semakin tinggi dan baik bagi kesehatan. Yoghurt susu kambing mengandung bakteri asam laktat yang dapat menangkal radikal bebas (Rosiana dan Khoriyah, 2018). Selain yoghurt susu kambing, bekatul beras merah pun juga mengandung serat dan senyawa antioksidan yang tinggi karena memiliki pigmen antosianin. Menurut Chen *and* Bergman (2005), antioksidan yang terkandung pada bekatul beras merah, antara lain tokoferol, oryzanol, dan flavonoid. Keberadaan antioksidan tersebut disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil

pada senyawa fenolik yang berperan sebagai penangkap radikal bebas. Bekatul beras merah sudah sering sekali dianjurkan untuk para penderita diabetes mellitus (Irmayani dkk., 2018). Sehingga yoghurt susu kambing dan bekatul beras merah dapat mencegah radikal bebas dan mengembalikan kembali produksi hormon insulin pada pankreas.

Pembuatan hewan model diabetes mellitus dapat diberikan aloksan, streptozotosin, asam urat, asam dialurat, dan asam dehidroaskorbat. Pada penelitian ini pembuatan hewan model diabetes mellitus menggunakan streptozotosin. Streptozotosin berasal dari *streptomyces achromogenes*, dimana dapat digunakan untuk menginduksi diabetes tipe 1 dan 2. Streptozotosin akan menembus sel beta pankreas dan akan merusak melalui proses pembentukan NO dan anion superoksida yang dapat menghambat siklus krebs, serta menurunkan konsumsi oksigen pada mitokondria. Pemberian streptozotosin dapat mengubah histologi pankreas, dimana akan terjadi nekrosis sel pada pulau Langerhan's pada pankreas. Kerusakan sel-sel pulau Langerhan's pankreas akan menurunkan produksi insulin, sehingga terdapat penampakan hiperglikemia pada histopatologi pankreas (Tormo dkk., 2006). Sedangkan, pengaruh pemberian streptozotosin terhadap kadar MDA pada kondisi hiperglikemia dapat mendorong terbentuk ROS dari berbagai jaringan dengan proses autooksidasi, sehingga membentuk radikal bebas yang akan merusak membran sel menjadi lipid peroksida atau MDA (Fitriana dkk., 2017).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah

terhadap kadar MDA dan histopatologi pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus induksi streptozotosin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini, adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah terhadap kadar MDA pada hewan model diabetes mellitus induksi streptozotosin?
2. Bagaimana pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah terhadap histopatologi pankreas pada hewan model diabetes mellitus induksi streptozotosin?

## 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, *strain Wistar*, berumur 8-12 minggu, dan berat badan 130-200 gram. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini sudah di sertifikasi Laik Etik Penelitian dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya.
2. Pembuatan hewan model diabetes mellitus menggunakan *single dose* streptozotosin intraperitoneal dengan dosis 45 mg/kgBB, diinkubasi selama 3 hari, dan penentuan kondisi diabetes diukur menggunakan

glukometer digital, kondisi dinyatakan diabetes jika glukosa darah >200 mg/dl (Hussein, 2010).

3. Susu kambing didapatkan dari peternakan Dr. Goat Batu Malang dan bekatul beras merah menggunakan CRP<sup>®</sup>.
4. Rute pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul merah dilakukan *per-oral* menggunakan sonde lambung dengan volume pemberian 1 ml/kgBB pada kelompok perlakuan 1, volume pemberian 2 ml/kgBB pada kelompok perlakuan 2, dan volume pemberian 3 ml/kgBB pada kelompok perlakuan 3 (Nurliyani, dkk., 2015).
5. Pembuatan yoghurt susu kambing menggunakan yoghurt starter yóourmet<sup>®</sup> yang berisikan 3 BAL, antara lain *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus acidophilus*.
6. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar MDA dan gambaran histopatologi pankreas.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

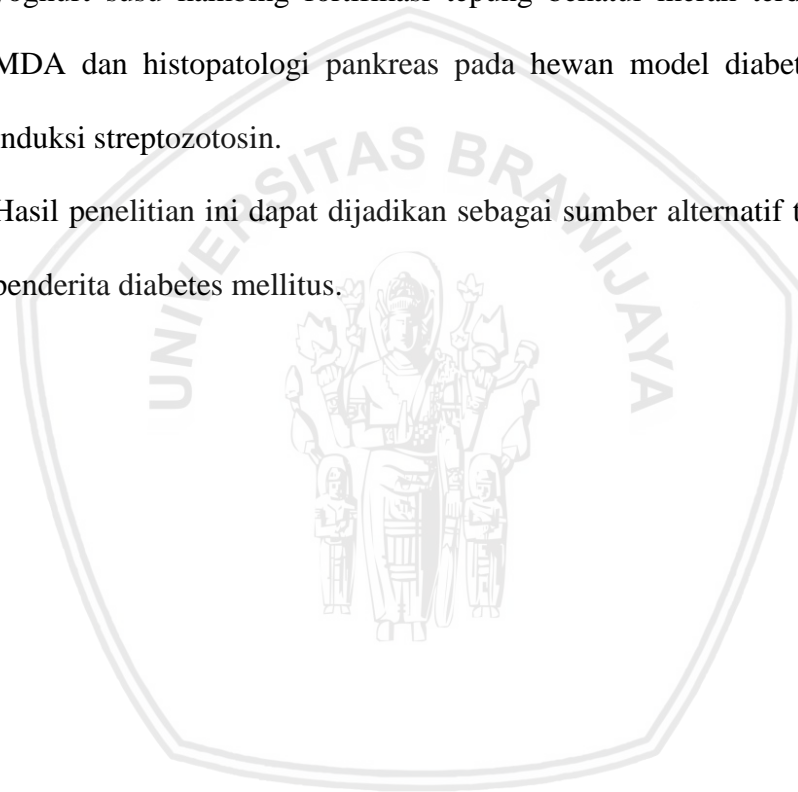
Tujuan penelitian ini, adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul merah terhadap kadar MDA pada hewan model diabetes mellitus induksi streptozotosin.
2. Mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul merah terhadap histopatologi pankreas pada hewan model diabetes mellitus induksi streptozotosin.

### 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 yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul merah terhadap kadar MDA dan histopatologi pankreas pada hewan model diabetes mellitus induksi streptozotosin.
2. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai sumber alternatif terapi untuk penderita diabetes mellitus.





## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Diabetes Mellitus

#### 2.1.1 Pengertian Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit yang disebabkan gangguan pada sistem metabolisme tubuh. Gangguan sistem metabolisme akan menyebabkan penurunan produksi hormon insulin. Hormon insulin dapat mengubah glukosa menjadi energi dan sintesis lemak. Apabila terjadi penurunan hormon tersebut, maka dapat mengakibatkan hiperglikemia (Lanywati, 2001). Menurut Fox dan Kilvert (2010), hiperglikemia merupakan suatu keadaan dimana kadar glukosa darah mengalami peningkatan. Mekanisme kerja hormon insulin, yaitu mengatur keseimbangan kadar gula darah dengan mengubah gugusan gula tunggal menjadi gula majemuk dimana sebagian besar akan disimpan didalam hati (Lanywati, 2001).

Diabetes mellitus merupakan kondisi dimana pankreas tidak dapat lagi memproduksi insulin dalam jumlah yang normal, sehingga glukosa dalam darah tidak dapat diserap didalam tubuh. Energi utama dalam tubuh, yaitu glukosa atau gula sederhana yang dihasilkan dari karbohidrat. Glukosa akan bersirkulasi didalam aliran darah dan menjadi cadangan energi yang siap dipakai. Tetapi hanya beberapa glukosa saja yang dapat dikonversi menjadi energi. Insulin merupakan hormon yang dihasilkan oleh pankreas dimana akan berkerja mengkonversi glukosa menjadi energi (Susianto dkk., 2008).

### 2.1.2 Penyebab Diabetes Mellitus

Penyebab diabetes mellitus secara umum karena keturunan genetik. Tetapi tidak hanya itu saja penyebab terjadi diabetes mellitus. Penyebab terjadi diabetes mellitus, antara lain makan yang berlebihan dan jarang berolahraga atau *exercise*. Makan yang berlebihan dapat menyebabkan gula dan lemak dalam tubuh menumpuk. Kondisi ini membuat pankreas harus bekerja keras menghasilkan hormon insulin untuk mengubah glukosa menjadi energi. Apabila pankreas sudah tidak mampu menghasilkan hormon insulin lagi, maka glukosa tidak dapat diubah lagi dan akan menimbun sampai masuk ke dalam darah serta urin. Jarang berolahraga atau *exercise* membuat zat makanan yang masuk ke dalam tubuh tidak dibakar dan hanya menimbun di dalam tubuh. Maka dari itu, hormon insulin sangat berperan penting dalam perubahan glukosa di dalam tubuh (Lanywati, 2001).

### 2.1.3 Gejala Klinis Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus kadang tidak muncul gejala klinis. Tetapi rata-rata penderita diabetes mellitus sering mengalami poliuria (sering buang air kecil), polifagia (mudah lapar dan banyak makan), serta polidipsia (sering merasa haus). Diabetes mellitus memiliki 2 tipe, antara lain diabetes mellitus tipe I dan diabetes mellitus tipe II. Diabetes mellitus tipe I akan sering mengalami gejala poliuria, polifagia, polidipsia, berat badan menurun, gatal pada kulit, dan cepat lelah. Diabetes mellitus II hampir tidak ada gejala yang dialami. Tipe ini sering muncul tanpa diketahui, lebih mudah terinfeksi, akan

mengalami hipertensi, obesitas, serta komplikasi pada pembuluh darah dan syaraf (Ditjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2005).

## 2.2 Susu Kambing

Susu kambing merupakan cairan putih yang keluar dari kelenjar puting kambing yang dikeluarkan dengan cara pemerahan secara kontinyu tanpa dikurangi atau ditambahkan bahan tambahan apapun (Aritonang, 2010). Menurut Setyawardani (2017), protein kambing lebih mudah dicerna, tidak memiliki efek samping pada individu yang sensitif, serta memiliki nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan susu sapi. Susu kambing memiliki globula lemak yang kecil (1-10 $\mu$ m), warna susu lebih putih, dan konsistensi lebih kental daripada susu sapi. Apabila diolah menjadi suatu produk, tekstur akan menjadi lembut. Tetapi susu kambing memiliki kekurangan pada aroma. Aroma susu kambing yang terlalu amis disebabkan karena susu kambing mengandung asam lemak rantai sedang, seperti asam kaproat, asam kaprilat, dan asam kaprat.

Komposisi susu kambing sedikit mirip dengan komposisi susu sapi. Tabel perbandingan komposisi susu sapi dan susu kambing terdapat pada **Tabel 2.1** dibawah ini.

**Tabel 2.1** Tabel Perbandingan Komposisi Susu Sapi dan Susu Kambing

No.	Komposisi	Susu Sapi (%)	Susu Kambing (%)
1.	Total padatan	11,69	13,41
2.	Kadar air	88,31	86,59
3.	Lemak	3,73	5,32
4.	Protein	2,65	3,84
5.	Laktosa	4,11	3,64
6.	Total padatan tanpa lemak	7,96	8,10

Moeljanto dan Wiryanta, 2002.

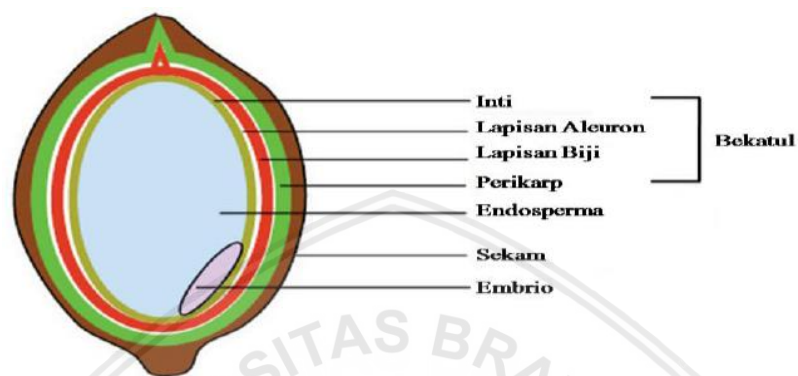
### 2.2.1 Yoghurt Susu Kambing

Yoghurt merupakan hasil produk hewan mamalia yang di fermentasi menggunakan bakteri asam laktat, yaitu *Lactobacillus bulgaris* dan *Streptococcus thermopiles*. Yoghurt memiliki nilai gizi yang sangat tinggi. Komposisi yoghurt sama seperti susu, tetapi beberapa komponen juga ada yang lebih tinggi dari susu, seperti protein, kalsium, dan vitamin B kompleks. Yoghurt dapat diklasifikasi menjadi empat kelompok, yaitu berdasarkan metode pembuatan dan fisik, cita rasa, kandungan lemak, serta proses pasca-fermentasi (Surajudin dkk., 2017). Yoghurt susu kambing sangat baik untuk kesehatan tubuh. Yoghurt susu kambing sering dijadikan sebagai terapi diabetes mellitus, karena mengandung bakteri asam laktat yang mampu menangkal radikal bebas dan menghambat proses peroksidasi lipid (Rosiana dan Khoriyah, 2018).

### 2.3 Tepung Bekatul Beras Merah

Bekatul merupakan kulit ari beras yang terpisah selama proses penyosohan kedua dengan ukuran halus yang sering digunakan sebagai bahan pangan. Bekatul sering cepat menjadi tengik, karena bekatul memiliki kandungan lemak yang tinggi. Ketengikan ini dapat disebabkan oleh enzim lipase, mikroorganisme, dan reaksi bekatul dengan oksigen. Pengawetan adalah salah satu cara untuk mengawetkan bekatul. Selain tinggi akan lemak, bekatul merupakan protein yang baik dan memiliki antioksidan yang tinggi juga (Widowati, 2001). Menurut Sara

(2018), bekatul merupakan limbah hasil penggilingan padi yang kaya akan antioksidan. Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh bekatul dapat mencegah peroksidasi lipid.



**Gambar 2.1.** Struktur Biji Padi (Islam *et al.*, 2011)

Menurut FAO (1972), bekatul terdiri atas lapisan *pericarp*, *seed coat*, *nucellus*, dan *aleurone*. Bekatul dapat berasal dari beras putih, beras merah, beras hitam, jagung, dan kedelai. Dalam proses penggilingan, bekatul hanya diperoleh sebanyak 8-12%. Komposisi zat gizi bekatul menurut penelitian Luh (1991) terdapat pada **Tabel 2.2** dibawah ini

**Tabel 2.2** Komposisi Zat Gizi Bekatul

No.	Komponen	Komposisi
1.	Protein (%)	12 – 15,6
2.	Lemak (%)	15 – 19,7
3.	Serat Kasar (%)	7 – 11,4
4.	Karbohidrat (%)	34,1 – 52,3
5.	Kalsium (mg/g)	0,3 – 1,2
6.	Magnesium (mg/g)	5 – 13
7.	Fosfor (mg/g)	11 – 25
8.	Seng (µg/g)	43 – 258
9.	Thiamin (µg/g)	12 – 24
10.	Riboflavin (µg/g)	1,8 – 4

Islam *et al.* (2011)

Tepung bekatul beras merah sudah sering dilakukan penelitian dan telah terbukti dapat dijadikan terapi untuk penderita diabetes mellitus. Menurut Chen and Bergman (2005), bekatul beras merah mengandung serat dan senyawa antioksidan yang tinggi karena memiliki pigmen antosianin. Macam-macam antioksidan yang terkandung, antara lain tokoferol, tokotrienol, goryzanol, dan flavonoid. Antioksidan tersebut disebabkan oleh keberadaan gugus hidroksil pada senyawa fenolik. Antioksidan yang sangat berperan pada penyembuhan penyakit diabetes mellitus adalah flavonoid. Flavonoid akan menangkap radikal bebas di dalam tubuh, serta memperkuat efek insulin (Tjay dan Rahardja, 2007).

#### 2.4 Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Tikus putih (*Rattus novergicus*) merupakan salah satu hewan coba yang umum digunakan dalam eksperimen laboratorium. Bentuk fisik dari tikus putih (*Rattus novergicus*) dapat dilihat pada **Gambar 2.2**



**Gambar 2.2.** Tikus Putih (*Rattus novergicus*) (Alexandru, 2011)



Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*), sebagai berikut (Sharp and Villano, 2013).

Kerajaan	: Animalia
Divisi	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Menurut Smith and Mangkoewidjojo (1998) tikus memiliki sifat yang berbeda dari hewan coba lain, yaitu tikus tidak dapat muntah. Hal ini karena struktur anatomi esophagus tikus bermuara didalam lambung dan tidak memiliki kantong empedu. Menurut Akbar (2010), keuntungan penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam penelitian, yaitu perkembangbiakan yang cepat, tahan terhadap perlakuan, tempramen yang baik, memiliki kecocokan DNA dengan manusia hingga 99%, dan mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Untuk data biologis tikus putih (*Rattus norvegicus*) terdapat pada **Tabel 2.3**.

**Tabel 2.3.** Data Biologis Tikus Putih

No.	Kriteria	Keterangan
1.	Berat lahir	5-6 gr
2.	Berat badan dewasa Jantan Betina	300-400 gr 250-300 gr
3.	Kecepatan tumbuh	5 gr/hari
4.	Lama hidup	2-4 tahun
5.	Perkawinan kelompok	3:1
6.	Siklus birahi	4-5 hari
7.	Lama bunting	20-22 hari
8.	Jumlah anak	9-20 ekor
9.	Kawin sesudah beranak	1-24 jam

10.	Umur disapih	21 hari
11.	Umur dewasa	40-60 hari
12.	Umur dikawinkan	10 minggu
13.	Volume darah	57-70 ml/KgBB
14.	Aktivitas	Nokturnal (malam)
15.	Konsumsi makanan	10g/100 g BB/hari
16.	Konsumsi air minum	10-12 ml/100g BB/hari

Smith and Mangkoewidjojo (1998).

## 2.5 Streptozotosin

Streptozotosin merupakan agen diabetagonik eksperimental yang paling sering digunakan. Streptozotosin berasal dari *streptomyces achromogenes*, dimana dapat digunakan sebagai penginduksi diabetes mellitus tipe 1 dan 2. Streptozotosin dapat mengakibatkan kerusakan pada sel beta pulau langerhan's pankreas (Yuliantika *et al.*, 2013). Kerusakan sel beta berasal dari proses pembentukan *nitric oxide* (NO) dan anion seuperoksida yang menghambat siklus krebs serta menurunkan konsumsi oksigen pada mitokondria. Penurunan produksi ATP mengakibatkan penurunan nukleotida sel beta pankreas secara drastis (Tormo dkk., 2006). Menurut Wilson dan LeDoux (1989), streptozotosin bekerja dengan membentuk radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan DNA, sehingga mengganggu produksi insulin oleh sel beta.

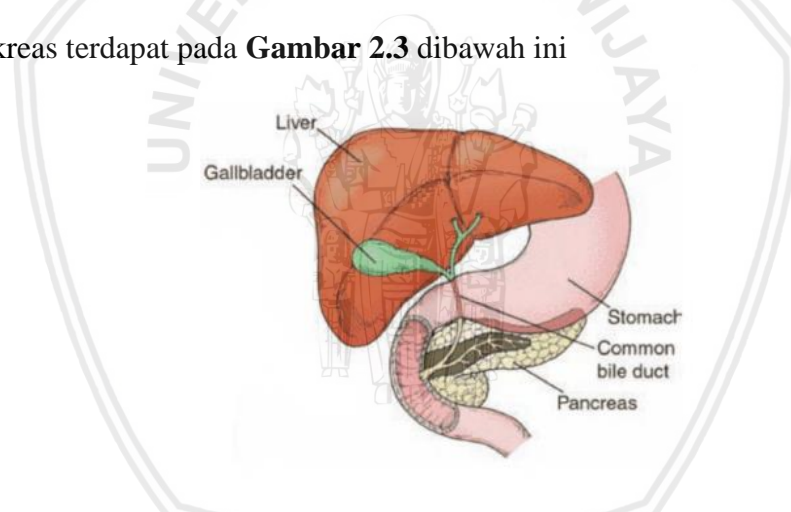
Salah satu mekanisme streptozotosin menyebabkan diabetes mellitus berkaitan dengan pembentukan radikal bebas, seperti NO, O<sub>2</sub>, dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang menyebabkan fragmentasi DNA sel akibat sitotoksik streptozotosin. Radikal bebas memiliki interval waktu yang sangat pendek dalam satuan mikrodetik.

Oleh karena itu, radikal bebas sangat reaktif dan dapat menimbulkan kerusakan di berbagai sel (Utomo *et al.*, 1991).

## 2.6 Pankreas

### 2.7.1 Anatomi Pankreas

Pankreas merupakan organ yang berbentuk tabung seperti bunga karang atau spons, bersifat sebagai organ asesoris pada system pencernaan, terletak pada bagian posterior abdomen yang berhubungan erat dengan duodenum, serta memiliki panjang berkisar 15 cm (Pangkalan Ide, 2012). Anatomi organ pankreas terdapat pada **Gambar 2.3** dibawah ini



**Gambar 2.3** Anatomi Organ Pankreas (Pangkalan Ide, 2012)

### 2.7.2 Fisiologi Pankreas

Pankreas memiliki 2 fungsi utama, yaitu fungsi eksokrin dan fungsi endokrin. Fungsi eksokrin untuk menghasilkan enzim pencernaan, sedangkan fungsi endokrin untuk menghasilkan beberapa hormone penting, seperti insulin yang dihasilkan oleh sel  $\beta$ , *Growth Hormone Secretagogue* (GHS) yang dihasilkan oleh sel epsilon, dan *Growth Hormone-inhibiting Hormone* (GHIH) yang dihasilkan oleh sel  $\delta$  (Pangkalan Ide, 2012).

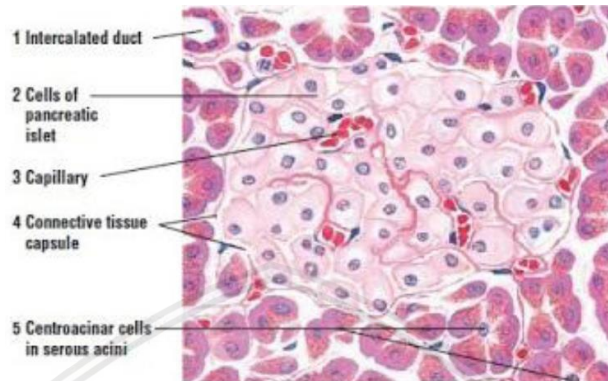
Insulin merupakan protein yang dihasilkan oleh sel beta didalam kelenjar pankreas. Fungsi utama insulin, yaitu menjaga keseimbangan glukosa dalam darah dan mengikat penyerapan glukosa dalam tubuh. Hormon ini bertugas mengubah glukosa menjadi energi. Jika tidak terdapat hormon insulin, glukosa dalam darah tidak dapat masuk kedalam sel jaringan. Hormon insulin dapat menentukan tinggi rendah kadar glukosa dalam darah (Herliana, 2013).

### **2.7.3 Histologi Pankreas**

Pankreas yang bersifat eksokrin terdapat struktur yang bersifat sebagai kelenjar endokrin, yaitu pulau Langerhan's. Pulau Langerhan's menghasilkan hormon insulin dan hormon glukagon. Hormon insulin dapat meningkatkan pengambilan glukosa oleh sel yang menurunkan kadar glukosa darah. Apabila kadar hormon ini rendah, maka akan mengakibatkan diabetes mellitus karena kadar glukosa darah meningkat atau dapat disebut hiperglikemia. Apabila kadar insulin tinggi akan mengakibatkan penurunan kadar glukosa darah atau dapat disebut hipoglikemia. Hormon glukagon dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah (Hestianah dkk., 2014).

Pankreas dilapisi dengan jaringan ikat fibrosa tipis yang berguna membungkus jaringan parenkim. Bagian eksokrin berbentuk seperti buah anggur yang terdiri dari sel asinar. Sel ini berfungsi mensintesis dan menyekresikan enzim pencernaan ke duodenum melalui sistem duktus. Endokrin pankreas terdiri dari pulau Langerhan's yang tersebar dan

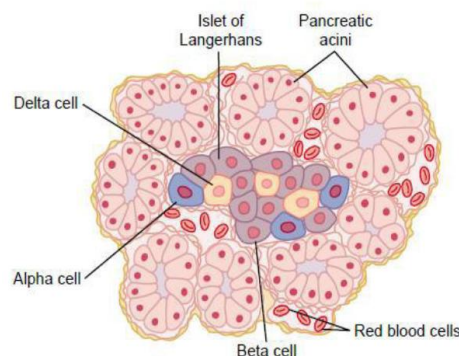
mengandung beberapa sel yang memproduksi hormon insulin, glukagon, somanstatin, dan polipeptida (Wenyan *et. al.*, 2012).



**Gambar 2.4** Histologi Organ Pankreas (Eroschenko, 2007)

Sel eksokrin pankreas menghasilkan enzim digestif yang dibentuk oleh sel asinar dengan struktur yang serupa dengan struktur kelenjar parotis. Sel sentrasinar membentuk bagian intra asinar di duktus interkalaris dan bergabung membentuk duktus interlobular yang berukuran besar dan dilapisi dengan epitel silindris (Mescher, 2012).

Sel endokrin pankreas mengelompok dalam pulau Langerhan's dengan bentuk yang bervariasi, tetapi secara umum berbentuk bulat atau lonjong yang bercampur dengan parenkim pankreas yang bersifat eksokrin. Sel-sel tersebut, antara lain sel  $\alpha$ , sel  $\beta$ , dan sel  $\delta$ . Masing-masing jenis hewan memiliki populasi sel yang berbeda-beda (Hestianah dkk., 2014).

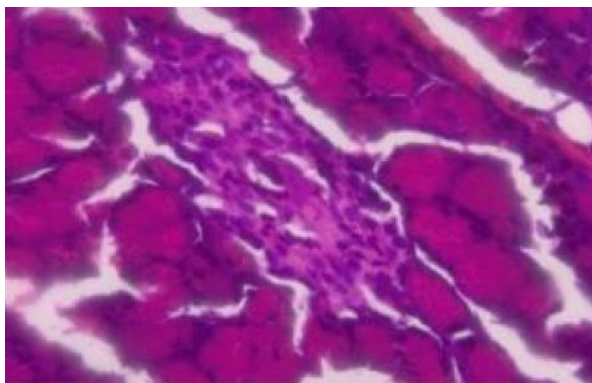


**Gambar 2.5** Pulau Langerhan's (Guyton dan Hall, 2008)

Pulau Langerhan's tampak seperti kumpulan sel ovoid yang tersebar di seluruh bagian pankreas. Semua sel dalam pulau Langerhan's berbentuk polygonal tidak beratur dengan inti di tengah, mitokondria yang kecil berbentuk batang, dan badan golgi yang dipenuhi dengan pembuluh darah untuk menyalurkan hormon kelenjar pankreas. Kebanyakan pulau Langerhan's berukuran 100-200  $\mu\text{m}$  (Longnecker, 2014).

Perubahan gambaran histopatologi organ pankreas hewan model diabetes mellitus induksi streptozotosin akan terlihat sel-sel pulau Langerhan's pada pankreas hancur atau rusak. Kerusakan sel-sel pulau Langerhan's pankreas akan menurunkan produksi insulin, sehingga ada penampakan hiperglikemia pada histopatologi pankreas (Tormo dkk., 2006). Menurut Zubaidah dan Nuril (2015), histopatologi pankreas akan menunjukkan ada lesi pada sel jaringan berupa degenerasi sel endokrin yang menuju nekrosis sel, seperti pada **Gambar 2.6**. Menurut Nadzifa (2010), histopatologi pankreas akan menunjukkan kondisi hiperglikemia, nekrosis pada sel beta, dan gangguan metabolisme insulin seperti pada **Gambar 2.7**





**Gambar 2.6** Gambaran Histopatologi Pankreas Induksi Streptozotosin (Zubaidah dan Nuril, 2015)



**Gambar 2.7** Gambaran Histopatologi Pankreas Induksi Streptozotosin (Nadzifa, 2010)

## 2.8 *Malondialdehyde* (MDA)

*Malondialdehyde* (MDA) adalah salah satu jenis senyawa aldehyd. *Malondialdehyde* (MDA) secara luas banyak digunakan sebagai indikator stress oksidatif yang ditentukan secara spesifik maupun non-spesifik. *Malondialdehyde* (MDA) memiliki rantai karbon dengan rumus molekul  $C_3H_4O_2$ . *Malondialdehyde* (MDA) dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi di dalam tubuh (Winarsi, 2007). Menurut Yuslianti (2018), *malondialdehyde* (MDA) merupakan produk sekunder atau bentuk pembusukan peroksidasi lipid berupa aldehyd aktif yang digunakan sebagai penanda kerusakan suatu sel atau jaringan yang diakibatkan oleh stress oksidatif.

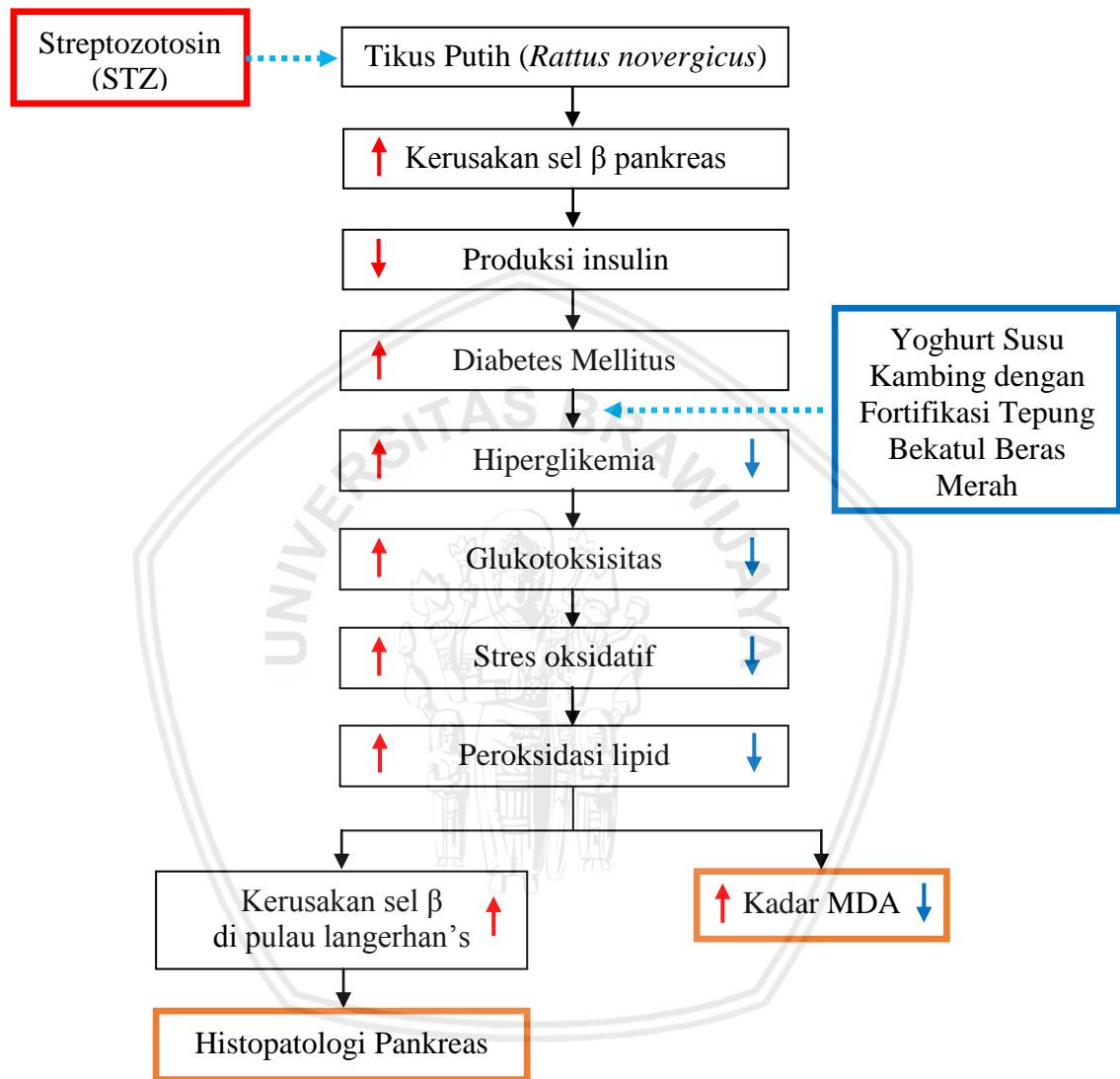
Radikal bebas merupakan kumpulan atom dengan elektron yang tidak saling berpasangan (*unpaired electron*), seperti molekul air ( $H_2O$ ). Molekul air ( $H_2O$ ) atau ikatan atom oksigen dengan hidrogen adalah salah satu ikatan kovalen yang merupakan ikatan kimia yang timbul dikarenakan sepasang elektron dimiliki oleh kedua atom. Radikal bebas memiliki 2 sifat, yaitu reaktivitas yang tinggi karena cenderung menarik elektron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal. Radikal bebas lebih berbahaya apabila dibandingkan dengan oksidan yang bukan radikal. Reaktivitas yang tinggi akan membentuk radikal baru apabila bertemu dengan molekul lain, sehingga terjadi rantai reaksi (*chain reaction*) (Suryohusodo, 2009). *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan senyawa oksidasi turunan oksigen yang memiliki sifat sangat reaktif dan terdiri dari kelompok radikal bebas serta non radikal. Kelompok radikal bebas, yaitu *superoxide anion* ( $O_2^-$ ), *hydroxyl radicals* ( $OH^\cdot$ ), dan *peroxyl radicals* ( $RO_2^\cdot$ ). Sedangkan, kelompok non-radikal seperti *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ) dan *organic peroxides* ( $ROOH$ ). *Reactive Oxygen Species* (ROS) akan dibentuk dalam jumlah yang besar melalui jalur metabolik tubuh. Radikal hidroksil adalah molekul yang paling reaktif dan bereaksi dengan protein, DNA, PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) dalam membran dan semua molekul sehingga dapat merusak jaringan (Sinaga, 2016).

Uji TBA (*thiobarbituric acid-reactive substance*) merupakan pemeriksaan sederhana dari reaksi spektrofotometri yang akan mengukur kadar MDA. Kadar MDA dapat diperiksa di plasma, jaringan maupun urin. TBA akan memberikan warna pink kromogen sehingga dapat dideteksi dengan spektrofotometri. Uji TBA memiliki beberapa metode, antara lain pengukuran reaksi TBA dengan

metode kolometri dan metode fluoresens, serta pengukuran MDA-TBA dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolometri paling sering dilakukan karena mudah dan sederhana, tetapi bersifat tidak spesifik karena mengukur produk aldehid lainnya. pengukuran reaksi TBA dengan metode fluoresens dilakukan menggunakan spektrofotometri dan metode ini lebih baik dibandingkan metode kolorimetri karena tidak terganggu oleh beberapa substansi lain. Pengukuran MDA-TBA dengan HPLC secara spesifik dapat mengukur kompleks MDA-TBA sehingga pengukuran lebih akurat, tetapi membutuhkan kondisi asam dengan suhu tinggi sehingga kemungkinan akan terbentuknya MDA yang tidak dikarenakan oleh peroksidasi lipid (Dalle-Donne, 2006).

### BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konseptual



**Gambar 3.1** Kerangka Konseptual

Keterangan :

- |   |  |
|---|--|
| <span style="border: 1px solid red; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> : Induksi Streptozotocin   | <span style="color: blue;">-.-&gt;</span> : Pemberian  |
| <span style="border: 1px solid blue; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> : Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah | <span style="border: 1px solid orange; display: inline-block; width: 15px; height: 10px; vertical-align: middle;"></span> : Parameter yang diamati |
| ↓ : Patomekanisme   | ↑↓ : Efek induksi streptozotocin   |
|   | ↑↓ : Efek pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah  |

Streptozotosin diberikan ke tikus putih (*Rattus norvegicus*) untuk dijadikan hewan model diabetes mellitus dengan *single dose* 45 mg/kgBB yang diinjeksi melalui intraperitoneal pada kontrol positif, perlakuan ke-1, ke-2, dan ke-3. Hal ini dapat mempercepat proses terjadi diabetes mellitus. Streptozotosin merupakan senyawa yang dapat merusak sel beta pulau Langerhan's pankreas, sehingga dapat menurunkan produksi insulin. Streptozotosin masuk ke dalam sel beta pankreas melalui GLUT2, sehingga mengaktivasi alkilasi DNA dan senyawa oksigen reaktif sel tersebut. Alkilasi DNA merupakan aktivitas poli ADP ribosilasi yang mengakibatkan penekanan NAD<sup>+</sup> pada sel beta, sehingga produksi ATP menurun dan sel menjadi rusak atau sampai mati. Sel beta yang mengalami kerusakan akan mengakibatkan penurunan produksi insulin. Hormon insulin berfungsi untuk mengubah glukosa menjadi energi. Glukosa yang tidak dapat diubah karena sedikit atau tidak adanya hormon insulin menyebabkan kondisi hiperglikemia atau peningkatan kadar glukosa dalam darah. Hiperglikemia merupakan salah satu gejala dari penyakit diabetes mellitus. Hiperglikemia yang terjadi dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan glukotoksisitas. Glukotoksisitas dapat menyebabkan proses auto-oksidasi glukosa, dimana proses ini dikatalisis oleh senyawa logam, sehingga meningkatkan radikal bebas turunan oksigen reaktif, yaitu radikal superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Kedua radikal bebas tersebut merupakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menimbulkan peningkatan stress oksidatif, karena ROS yang melebihi kemampuan sel dalam mengatasi radikal bebas. Radikal bebas yang semakin banyak terakumulasi dan tidak dapat ditangkap oleh antioksidan akan bereaksi

dengan komponen sel sehingga mengakibatkan peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid pada asam lemak tak jenuh dapat meningkatkan senyawa aldehid, seperti *malondialdehyde* (MDA). Selain itu, peroksidasi lipid dapat mengakibatkan kerusakan sel beta pulau Langerhan's pankreas yang semakin parah. Kerusakan tersebut, antara lain vakuola dan nekrosis sel, dimana dapat dilihat dengan histopatologi jaringan pankreas menggunakan pewarnaan HE.

Yoghurt susu kambing mengandung bakteri asam laktat yang berguna untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase pada mikrovili usus. Enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan enzim yang berfungsi memecah karbohidrat menjadi glukosa didalam saluran pencernaan, dan kemudian akan diserap kedalam darah. Enzim ini dapat meningkatkan peningkatan kadar glukosa darah. Penghambatan enzim ini dapat menurunkan kadar glukosa darah, sehingga sel beta pankreas akan mengalami perbaikan dan hormon insulin dapat kembali terproduksi menjadi normal. Selain terdapat bakteri asam laktat, yoghurt susu kambing mengandung mineral, vitamin, dan protein yang tinggi, dimana dapat meningkatkan metabolisme tubuh. Metabolisme tubuh yang meningkat dapat mempercepat perbaikan jaringan dan pertumbuhan sel baru pada jaringan pankreas. Bekatul beras merah juga memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, berupa oryzanol, flavonoid, tokoferol, antosianin dan proantosianin. Antioksidan yang paling tinggi dalam bekatul beras merah, yaitu oryzanol. Oryzanol berfungsi untuk menangkal radikal bebas, sehingga stress oksidatif menurun dan kadar MDA dapat kembali menjadi normal karena tidak adanya proses peroksidasi lipid dari penurunan stress oksidatif.



Yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah digunakan sebagai terapi diabetes mellitus yang diberikan secara peroral menggunakan sonde lambung dengan volume pemberian 1 ml/kgBB pada perlakuan 1, 2 ml/kgBB pada perlakuan 2, dan 3 ml/kgBB pada perlakuan 3. Terapi dilakukan selama 14 hari.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konseptual yang telah diuraikan didapatkan hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah dapat menurunkan kadar MDA pankreas pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model diabetes mellitus induksi streptozotosin.
2. Pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah dapat memperbaiki struktur pankreas yang diamati dari histopatologi pankreas pada tikus putih (*Rattus novergicus*) model diabetes mellitus induksi streptozotosin.



## BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2019 hingga bulan Mei 2019.

Dengan uraian tempat pelaksanaan penelitian sebagai berikut :

- a. Pembuatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
- b. Aklimatisasi, pemeliharaan hewan coba, induksi streptozotosin, pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah, dan pengoleksian sampel dilakukan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.
- c. Pengukuran Kadar MDA dilakukan di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- d. Pembuatan preparat histopatologi pankreas dilakukan di Laboratorium Kessima Medika Malang.
- e. Pembacaan preparat histopatologi pankreas dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

### 4.2 Materi Penelitian

#### 4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain kandang tikus putih (*Rattus norvegicus*), botol minum, tempat makan, timbangan,

termometer, lampu, sonde lambung, sentrifugator, cawan petri, gelas ukur, tabung *Erlenmeyer*, *vortex*, *dissecting set*, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, papan bedah hewan, pipet, stir bar, mikrosentrifugasi poliprolena, kertas saring, mikroskop cahaya, semi-mikrokuvet, spektrofotometer, *magnetic stirrer*, *waterbath*, *tissue cassette*, mesin *processor* otomatis, mesin *blocking*, *freezer* (-20°C), mesin *microtome*, pisau *microtome*, *object glass*, *cover glass* dan *Easy Touch*<sup>®</sup> GCU.

#### 4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), streptozotosin, *aquadest*, makanan pellet, organ pankreas, 2-*thiobarbiturat acid*, asam asetat glacial, natrium hidroksida, MDA bis, PBS, formalin 10%, NaCl fisiologis 0,9%, alkohol asam 1%, alkohol bertingkat 70%, 80%, dan 96%, xylol, paraffin, Normal Saline (NS) Otsuka<sup>®</sup>, sekam, dan pewarna HE.

### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan desain kelompok penelitian pada **Tabel 4.1**.

**Tabel 4.1** Desain kelompok penelitian

Kelompok	Keterangan
<b>K1 (Kontrol Negatif)</b>	Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) hanya diberi pakan BR sebanyak 30 gram/ekor/hari dan air minum <i>ad libitum</i> .
<b>K2 (Kontrol Positif)</b>	Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) diinduksi streptozotosin <i>singledose</i> sebanyak 45 mg/kgBB intraperitoneal hari ke-8 (post-aklimatisasi), diberi pakan BR sebanyak 30 gram/ekor/hari dan air minum <i>ad libitum</i> .

<b>P1</b>	Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) diinduksi streptozotosin sebanyak 45 mg/kgBB dan diberi terapi yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 1 ml/kgBB peroral dengan menggunakan sonde lambung pada hari ke-10 selama 14 hari, diberi pakan BR sebanyak 20 gram/ekor/hari dan air minum <i>ad libitum</i>
<b>P2</b>	Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) diinduksi streptozotosin sebanyak 45 mg/kgBB dan diberi terapi yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 2 ml/kgBB peroral dengan menggunakan sonde lambung pada hari ke-10 selama 14 hari, diberi pakan BR sebanyak 20 gram/ekor/hari dan air minum <i>ad libitum</i>
<b>P3</b>	Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) diinduksi streptozotosin sebanyak 45 mg/kgBB dan diberi terapi yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras merah 3 ml/kgBB peroral dengan menggunakan sonde lambung pada hari ke-10 selama 14 hari, diberi pakan BR sebanyak 20 gram/ekor/hari dan air minum <i>ad libitum</i>

#### 4.3.1 Pengulangan

Berdasarkan desain kelompok penelitian yang menggunakan 4 kelompok perlakuan, maka jumlah ulangan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah pengulangan

Berdasarkan perhitungan diatas, maka untuk 5 kelompok hewan coba diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 4 kali dalam setiap kelompok, sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

#### 4.3.2 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- Variabel Bebas** : *Single dose* sebanyak 45 mg/kgBB induksi streptozotosin dan volume pemberian terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 1 ml/kgBB pada perlakuan 1, 2 ml/kgBB pada perlakuan 2, dan 3 ml/kgBB pada perlakuan 3.
- Variabel Tergantung** : Gambaran histopatologi pankreas dan kadar MDA.
- Variabel Kendali** : Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan, umur 8-12 minggu, strain *Wistar*, berat badan 130-200 gram, pakan basal, dan air minum.

#### 4.4 Tahapan Penelitian

##### 4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sehat dengan berat badan 130-200 gram yang sudah

disertifikasi Laik Etik. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah ulangan minimal 4 kali setiap kelompok perlakuan. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan pakan BR pada semua tikus putih (*Rattus norvegicus*) sekitar 130 gram selama 7 hari.

Kandang tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibuat menggunakan bak plastik dengan ukuran p.l.t = 30x50x12 cm yang dilengkapi dengan botol minum dan serbuk gergaji sebagai alas. Kandang ini akan diberi tutup kayu dan kawat strimin agar tikus putih (*Rattus norvegicus*) tidak kabur.

#### **4.4.2 Pembuatan dan Induksi Streptozotosin**

Streptozotosin dilarutkan dalam 0,01M buffer sitrat dengan pH 4,5 serta selalu disiapkan dalam kondisi segar untuk penggunaan setiap 10-15 menit. Injeksi streptozotosin dapat diberikan intraperitoneal dengan dosis 45 mg/kgBB (Nurdiana, 1998). Injeksi streptozotosin dilakukan sekali pemberian untuk menginduksi diabetes mellitus. Pemberian streptozotosin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), pertama-tama tikus putih (*Rattus norvegicus*) dipuaskan selama 12 jam sebelum diinduksi STZ (Saputra, dkk., 2018). Keesokan nya, tikus putih (*Rattus norvegicus*) direbahkan dengan posisi rebah dorsal, lalu abdomen tikus dioleskan dengan alkohol 70%. Setelah itu, induksi streptozotosin secara perlahan menggunakan *disposable syringe* pada bagian abdomen tikus (Saputra, dkk., 2018).

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

Pengukuran kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan sebelum dan setelah pemberian streptozotosin. Pengukuran ini

dilakukan dengan menggunakan glukometer. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diambil darah dengan cara ujung ekor tikus dipotong sepanjang 1 mm menggunakan gunting, kemudian darah tikus diteteskan pada *stick* glukometer, kemudian melihat angka pada layar glukometer yang menunjukkan kadar glukosa darah. Pengamatan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-3 pasca induksi streptozotosin (Saputra dkk., 2018). Kondisi diabetik berdasarkan nilai terdapat pada **Tabel 4.2** dibawah ini

**Tabel 4.2** Kondisi Diabetik Berdasarkan Nilai

No.	Kondisi Diabetik	Nilai (mg/dL)
1.	Normal	75-150
2.	Ringan	150-200
3.	Sedang	200-400
4.	Berat	>400

Saputra dkk., (2018)

#### **4.4.4 Pembuatan dan Pemberian Terapi Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Merah**

Pembuatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dimulai dengan susu di pasteurisasi pada suhu 72°C selama 5 menit. Kemudian didiamkan hingga suhu susu tersebut menjadi 45 °C. Apabila suhu susu sudah normal, susu diinokulasi dengan *mother culture* 3%, ditambahkan tepung bekatul beras merah, dan diaduk hingga merata. Setelah itu, susu yang sudah difortifikasi dengan tepung bekatul beras merah diinkubasi pada suhu 45 °C selama 2-3 jam sampai mencapai pH berkisar 4,5 sampai 5. Apabila pH sudah sesuai yang diinginkan, yoghurt disimpan di kulkas. Yoghurt ini hanya dapat bertahan dalam kurung waktu 1 minggu saja (**Lampiran 2**).

#### 4.4.5 Pengambilan Sampel Organ Pankreas

Setelah hewan coba diinduksi dengan streptozotosin dan diberi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah sebagai terapi, langkah selanjutnya hewan coba di *euthanasi* dengan cara dislokasi pada *os cervicalis* hewan coba. Kemudian, dilakukan pembedahan dan diambil organ pankreas. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diletakkan dengan posisi *dorsal recumbency* pada papan bedah. Pembedahan dilakukan dengan membuat *incisi* pada bagian abdomen, organ pankreas yang terletak di posterior abdomen dan menempel pada duodenum dipotong, kemudian diisolasi. Pankreas yang sudah diisolasi kemudian dibersihkan dengan NaCl fisiologis 0,9% dan disimpan pada pot sampel yang berisi larutan paraformaldehyde (PFA) 4% sebagai larutan fiksatif untuk pembuatan preparat histologi. Proses fiksasi adalah salah satu proses yang penting pada histoteknik. Tujuan proses fiksasi yaitu untuk mempertahankan bentuk dan struktur jaringan, mengawetkan jaringan dengan mempertahankan bentuk dan struktur alami, serta memudahkan penyerapan zat warna pada proses pewarnaan, sehingga pengamatan jaringan histologi mudah diamati dibawah mikroskop (Fitriani, 2017) (**Lampiran 5**).

#### 4.4.6 Pengukuran Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pankreas

*Malondialdehyde* (MDA) merupakan metabolit utama yang berfungsi sebagai biomarker untuk stress oksidatif. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan mutagenik yang dihasilkan selama peroksidasi lipid dan terbentuk karena degradasi radikal bebas terhadap asam lemak tak jenuh (Singh *et. al.*,



2014). Apabila kadar MDA meningkat dapat menjadi indikator terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh peroksidasi lipid untuk menilai stress oksidatif. Penyimpanan organ pankreas untuk diujikan kadar MDA sekitar 3-5°C, hal ini diharapkan agar organ tidak mengalami perubahan. Pengukuran kadar MDA diukur absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm untuk uji TBA, setelah itu dihitung konsentrasi sampel (Mudassir dkk., 2012) (**Lampiran 4**).

#### **4.4.7 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Organ Pankreas**

Organ pankreas yang telah difiksasi dalam larutan PFA 4%, kemudian dibuat preparat histopatologi. Menurut Hestianah dkk., (2014), proses pembuatan preparat histopatologi terdiri dari pengambilan sampel, fiksasi, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), pengeblokan (*embedding*), pemotongan (*sectioning*), pengecatan (*staining*), dan penutupan sediaan (*mounting*) di *object glass* (**Lampiran 5**).

##### **1. Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel organ dari tubuh hewan yang masih hidup atau selambatnya 4 jam post-mortem untuk menghindari terjadi pencernaan oleh enzim atau bakteri dan mempertahankan struktur jaringan normal. Pemotongan organ harus menggunakan pisau yang tajam, tidak menekan jaringan, dan tidak melebihi 1 cm.

## 2. Fiksasi

Fiksasi dilakukan untuk mencegah kerusakan pada jaringan post mortem, mengeraskan jaringan agar mudah saat dipotong, membunuh mikroorganisme patogen, dan meningkatkan afinitas protoplasma terhadap bahan cat. Fiksasi dapat dilakukan dengan cara dimasukkan kedalam larutan formalin 10%, asam asetat, buffer formalin, *ethyl alcohol*, dan lain-lain.

## 3. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan langkah dimana jaringan dimasukkan kedalam alkohol konsentrasi meningkat yang dimulai dari 70% sampai alkohol absolut. Proses ini bertujuan untuk menarik atau mengeluarkan air didalam jaringan dan diganti dengan alkohol.

## 4. Penjernihan (*Clearing*)

*Clearing* dilakukan untuk membuat jaringan menjadi transparan. Jaringan dipindahkan dari alkohol absolut ke larutan penjernihan selama 1 jam. Macam-macam larutan penjernihan, yaitu xylol, toluol, chloroform, benzene, atau cedar oil. Larutan yang sering dipakai adalah xylol.

## 5. *Embedding*

*Embedding* adalah proses untuk menginfiltrasi parafin kedalam jaringan dengan cara memasukkan potongan sampel jaringan dan paraffin kedalam oven, kemudian dilakukan pencetakan. Jaringan diletakkan kedalam *tissue cassette* dengan mengatur sisi jaringan yang hendak

dipotong. Setelah itu, dituangkan parafin cair kedalam *tissue cassette* dan dibiarkan sampai parafin mengeras.

#### 6. *Sectioning*

*Sectioning* merupakan pemotongan blok parafin yang telah berisi sampel organ dengan menggunakan mikrotom setebal 3-10 mikron. Hasil dari irisan tersebut dimasukkan ke *waterbath* untuk menghindari terjadinya lipatan dan mencairkan parafin yang terpotong bersama sampel. Kemudian, irisan diletakkan ke *object glass*.

#### 7. *Staining*

*Staining* atau pengecatan dilakukan untuk meningkatkan kontras alamiah yang sudah ada dan untuk menonjolkan sel, komponen jaringan, serta bahan ekstrinsik yang akan diamati. Secara umum cat larut dalam air, maka parafin yang tersisa harus dihilangkan dengan xylol dan alkohol konsentrasi menurun yang bertujuan untuk memasukkan air kedalam jaringan kembali. Apabila sudah dimasukkan ke alkohol 70%, maka sediaan siap untuk diberi cat.

#### 8. *Mounting*

Teknik *mounting* dilakukan dengan memberikan satu tetes balsam Canada dan ditutup dengan *cover glass*. Sediaan histopatologi ini siap diamati dan dapat digunakan bertahun-tahun.

Pengamatan preparat histopatologi pankreas dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes

mellitus induksi streptozotosin. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x, 40x, dan 100x dengan tujuan untuk melihat perubahan yang terjadi pada pankreas, antara lain nekrosis dan degenerasi sel pada pulau Langerhans.

#### 4.4.8 Uji Tukey

Uji *tukey* disebut sebagai uji beda nyata yang merupakan perbaikan dari *Least Significance Difference* (LSD), karena uji ini bertujuan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lain (Nainggolan, 2009). Perangkat lunak yang digunakan untuk analisa data adalah *Statistical Program for Social Science* (SPSS) 16 Version 2.9 for Windows.

#### 4.5 Analisa Data

Data penelitian ini berupa pengukuran kadar MDA secara kuantitatif dengan analisis statistika Uji *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* menggunakan *Microsoft Office Excel* dan *Statistical Package for the Science* (SPSS). Hasil pengamatan histopatologi pankreas dianalisa secara deskriptif.

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Pankreas pada Hewan Model Diabetes Mellitus Induksi Streptozotolin

*Malondialdehyde* (MDA) merupakan senyawa yang dihasilkan selama peroksidasi lipid yang terbentuk oleh radikal bebas, sehingga dapat digunakan sebagai indikator adanya stress oksidatif. Pengukuran kadar MDA menggunakan uji TBA yang merupakan pemeriksaan sederhana secara spektrofotometri. Penggunaan uji TBA untuk mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah terhadap kadar MDA organ pankreas pada hewan model diabetes mellitus hasil induksi streptozotolin. Pada penelitian ini hasil dari uji TBA dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *one way* ANOVA dan diteruskan dengan uji *Tukey*, yang terdapat pada **Tabel 5.1**.

**Tabel 5.1** Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) pada 5 Kelompok

Perlakuan	Rata-rata kadar MDA (ng/mL ± SD)	Kadar MDA (%)	
		Peningkatan terhadap kontrol negatif	Penurunan terhadap kontrol positif
K1 (Kontrol negatif)	297,75 ± 34,68 <sup>a</sup>	-	-
K2 (Kontrol positif)	540,13 ± 36,53 <sup>d</sup>	81,40	-
P1	387,66 ± 29,64 <sup>b</sup>	-	28,22
P2	308,27 ± 30,23 <sup>a</sup>	-	42,92
P3	461,58 ± 30,23 <sup>c</sup>	-	14,12

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ).

Kelompok K1 (kontrol negatif) menunjukkan kadar MDA paling rendah, yaitu dengan rata-rata sebesar 297,75 ng/mL apabila dibandingkan dengan kelompok K2 (kontrol positif), P1, P2, dan P3. Hal ini dikarenakan pada kelompok K1 (kontrol negatif) tidak diberikan perlakuan apapun. Pada kondisi normal, tubuh tetap akan menghasilkan MDA dalam jumlah yang normal atau sedikit. Kadar MDA pada kelompok ini dikatakan normal dikarenakan pada kelompok ini tidak diberikan perlakuan apapun dan rata-rata kadar yang didapat berasal dari proses metabolisme tubuh (Kumalaningsih, 2006).

Berdasarkan hasil uji *tukey* didapatkan bahwa kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus pada kelompok K2 (kontrol positif) berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok K1 (kontrol negatif). Kelompok K2 (kontrol positif) yang diinduksi streptozotisin mengalami peningkatan kadar MDA, hal ini terlihat pada **Tabel 5.1** yang menunjukkan peningkatan mencapai 81,40% dengan rata-rata sebesar 540,13 ng/mL. Peningkatan kadar MDA mengindikasikan adanya peningkatan glukosa darah yang dapat menghasilkan radikal bebas untuk merusak jaringan pankreas hewan coba kelompok kontrol positif hasil induksi streptozotisin. Menurut Tormo dkk., (2006), streptozotisin masuk ke dalam sel beta pankreas melalui GLUT2, sehingga mengaktifasi alkilasi DNA dan senyawa oksigen reaktif sel tersebut. Alkilasi DNA dapat mengakibatkan penekanan NAD<sup>+</sup> pada sel beta karena aktivitas poli ADP ribosilasi, sehingga produksi ATP menurun dan sel menjadi rusak. Sel beta yang mengalami kerusakan akan mengalami penurunan produksi insulin. Glukosa yang tidak dapat diubah karena sedikit atau tidak adanya hormon insulin menyebabkan

kondisi hiperglikemia. Hiperglikemia yang terjadi dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan glukotoksisitas. Glukotoksisitas dapat menyebabkan proses auto-oksidasi glukosa, dimana proses ini dikatalisis oleh senyawa logam, sehingga meningkatkan radikal bebas turunan oksigen reaktif, yaitu radikal superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Kedua radikal bebas tersebut merupakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat meningkatkan stress oksidatif. Radikal bebas yang semakin banyak terakumulasi dan tidak dapat ditangkap oleh antioksidan akan bereaksi dengan komponen sel sehingga mengakibatkan peroksidasi lipid. Proses peroksidasi lipid pada asam lemak tak jenuh dapat meningkatkan kadar MDA organ pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Setiawan dan Suhartono, 2005).

Pada kelompok P1, yaitu terapi kuratif yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan volume pemberian 1 mL/KgBB terjadi penurunan kadar MDA sebesar 28,22% dengan rata-rata 387,66 ng/mL (**Tabel 5.1**). Penurunan tersebut membuktikan bahwa kelompok P1 dengan volume pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 1 mL/KgBB berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok K1 (kontrol negatif) dan kelompok K2 (kontrol positif).

Pada kelompok P2, yaitu terapi kuratif yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan volume pemberian 2 mL/KgBB terjadi penurunan kadar MDA sebesar 42,92% dengan rata-rata 308,27 ng/mL (**Tabel 5.1**). Penurunan tersebut membuktikan bahwa kelompok P2 dengan volume pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 2



mL/KgBB tidak berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok K1 (kontrol negatif) dan berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok K2 (kontrol positif).

Pada kelompok P3, yaitu terapi kuratif yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan volume pemberian 3 mL/KgBB terjadi penurunan kadar MDA sebesar 14,12% dengan rata-rata 461,58 ng/mL (**Tabel 5.1**). Penurunan tersebut membuktikan bahwa kelompok P3 dengan volume pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 3 mL/KgBB berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kelompok K1 (kontrol negatif) dan kelompok K2 (kontrol positif). Hal ini dikarenakan penurunan kadar MDA yang sedikit sehingga inflamasi masih terjadi, dan stress oksidatif masih tinggi. Menurut Winarsi dkk., (2012), semakin tinggi kadar stress oksidatif dapat meningkatkan oksidasi lipid dan menurunkan aktivitas enzim SOD. Peroksidasi lipid merupakan suatu marker kerusakan oksidatif (*oxidative injury*) yang dipresentasikan dengan kadar MDA. Hal ini disebabkan volume pemberian pada P3 adalah volume pemberian yang paling tinggi dibandingkan dengan volume pemberian P2 dan P1, sehingga volume pemberian ini tidak memberikan efek reaktif karena zat aktif flavonoid yang berperan sebagai antioksidan dalam dosis dan kadar tertentu dapat memberikan efek toksik (Putri dkk., 2012). Hal tersebut kemudian menyebabkan kadar MDA pada kelompok P3 tidak mengalami penurunan yang berarti karena efek toksik yang ditimbulkan.

Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat menurunkan kadar MDA pada kelompok P1, P2, dan P3. Yoghurt susu kambing mengandung bakteri asam laktat

yang berguna untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase pada mikrovili usus. Enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan enzim yang berfungsi memecah karbohidrat menjadi glukosa didalam saluran pencernaan, dan kemudian akan diserap kedalam darah. Enzim ini dapat meningkatkan peningkatkan kadar glukosa darah. Penghambatan enzim ini dapat menurunkan kadar glukosa darah, sehingga sel beta pankreas akan mengalami perbaikan dan hormon insulin dapat kembali terproduksi menjadi normal. Selain terdapat bakteri asam laktat, yoghurt susu kambing mengandung mineral, vitamin, dan protein yang tinggi, dimana dapat meningkatkan metabolisme tubuh. Metabolisme tubuh yang meningkat dapat menurunkan peroksidasi lipid, sehingga kadar MDA kembali normal. Bekatul beras merah juga memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, berupa oryzanol, flavonoid, tokoferol, antosianin, dan proantosianin. Antioksidan yang paling tinggi dalam bekatul beras merah, yaitu oryzanol. Oryzanol akan menangkal radikal bebas, yaitu radikal superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), sehingga stress oksidatif menurun dan kadar MDA dapat kembali menjadi normal karena tidak adanya proses peroksidasi lipid dari penurunan stress oksidatif (Fadillah dan Tjakrawidjaja, 2016) Penurunan kadar MDA dari ketiga perlakuan tersebut menunjukkan bahwa yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah memberikan hasil yang efektif dalam terapi diabetes mellitus, namun volume pemberian yang terbaik dalam terapi diabetes mellitus berdasarkan kadar MDA pankreas adalah 2 mL/KgBB.

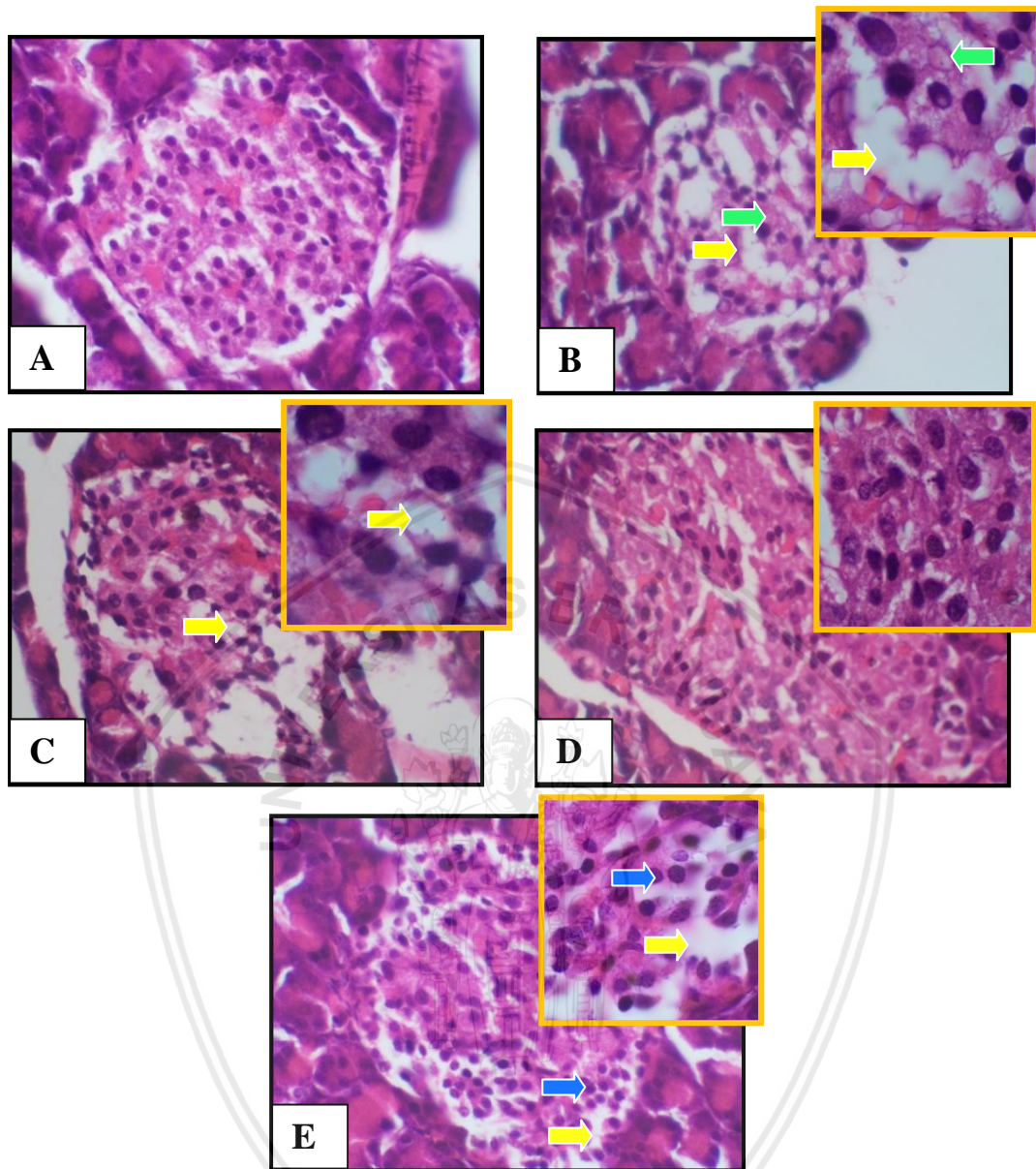
Menurut penelitian Sujono (2016), bahwa yoghurt susu kambing sendiri dapat menurunkan kadar glukosa darah karena pada yoghurt susu kambing

memiliki bakteri asam laktat yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin dengan cara mengurangi peroksidasi lipid dan insulin akan mentransfer glukosa ke dalam sel secara optimal. Kadar glukosa darah pada penelitian ini memiliki hasil yang dapat menurunkan sampai batas normal kadar glukosa darah dalam tubuh, yaitu kurang dari 200 mg/dL. Sedangkan menurut penelitian Sholeha (2019), bahwa ekstrak bekatul beras merah dapat menurunkan kadar MDA dan kadar glukosa darah hingga kondisi normal, yaitu kurang dari 200mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa antioksidan dalam ekstrak bekatul beras merah, yaitu oryzanol, flavonoid, dan  $\alpha$ -tokoferol mampu meredam radikal bebas akibat stress oksidatif dan mampu memperbaiki kerja insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah. Kedua penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa yoghurt susu kambing dan bekatul beras merah dapat digunakan sebagai terapi diabetes mellitus. Penerapan fortifikasi pada kedua bahan tersebut bertujuan untuk meningkatkan kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang dihasilkan dari hiperglikemia. Menurut WHO (2006), fortifikasi pangan merupakan proses penambahan kandungan mikronutrien berupa vitamin dan unsur renik esensial pada makanan yang dilakukan secara sengaja, sehingga diharapkan dapat meningkatkan kualitas gizi dari makanan dan memberikan manfaat untuk kesehatan masyarakat. Pada penelitian ini penggunaan fortifikasi tepung bekatul beras merah selain untuk menambahkan kualitas gizi dari makanan, juga untuk menambahkan cita rasa dan menghilangkan aroma dari susu kambing tersebut.

## 5.2 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas pada Hewan Model Diabetes Mellitus Induksi Streptozotosin

Pengamatan parameter histopatologi pankreas dilakukan untuk mengetahui gambaran kerusakan berdasarkan histopatologi, seperti struktur pulau Langerhan's pankreas pada masing-masing sampel dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Gambaran histopatologi pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) hewan model diabetes mellitus diamati secara deskriptif melalui pewarnaan HE. Pengamatan histopatologi pankreas dilakukan dengan mengamati pada sel  $\beta$  pankreas. Sel  $\beta$  pankreas terletak di pulau Langerhan's dengan jumlah volume yang paling banyak. Pulau Langerhan's merupakan kumpulan sel-sel ovoid yang terdistribusi banyak pada seluruh bagian cauda pankreas. Pulau Langerhan's akan terwarnai lebih terang dibandingkan sel acinar (bagian eksokrin) (Sulistiyowati, 2004). Hasil pengamatan mikroskop pada kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) perlakuan diamati berdasarkan **Gambar 5.1**

Berdasarkan hasil pengamatan preparat histopatologi pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok perlakuan, yaitu kelompok K1 (kontrol negatif) (A) tanpa diinduksi streptozotosin memperlihatkan struktur normal pada pulau Langerhan's, yaitu sel terdistribusi homogen, tidak ada kerusakan pada sel dan ukuran pada pulau Langerhan's terlihat normal (**Gambar 5.1.A**). Terdapat 4 jenis sel pada pulau Langerhan's, yaitu sel  $\alpha$ , sel  $\beta$ , sel  $\delta$ , dan sel  $\gamma$ . Sel  $\alpha$  berfungsi untuk mengeluarkan hormon glukagon. Sel  $\beta$  berfungsi untuk mengeluarkan hormon insulin. Sel  $\delta$  berfungsi untuk menghasilkan hormon somatostatin. Sel  $\gamma$  merupakan sisa sel islet pankreas dimana berfungsi untuk mengsekresi polipeptida pankreas (Sulistiyowati, 2004).



**Gambar 5.1** Gambaran Histopatologi Pulau Langerhan's pada Seluruh Kelompok Perlakuan Penelitian (400x, 1000x).

**Keterangan :** (A) Kelompok K1 (kontrol negatif); (B) Kelompok K2 (kontrol positif); (C) Kelompok P1 volume pemberian 1 mL/KgBB (P1); (D) Kelompok P2 volume pemberian 2 mL/KgBB (P2); (E) Kelompok P3 volume pemberian 3 mL/KgBB (P3); (→) terdapat vakuola lipid; (→) sel mengalami nekrosis kariolisis; (→) terdapat sel radang.



Kelompok K2 (kontrol positif) (B) yang diberi induksi streptozotosin tanpa diberi terapi menunjukkan adanya degenerasi sel kelenjar endokrin dengan banyaknya ruang kosong pada pulau Langerhan's pankreas. Degenerasi sel pada preparat kelompok K2 (kontrol positif) ditandai dengan adanya vakuola. Selain itu, ditemukan juga nekrosis kariolisis (**Gambar 5.1.B**). Menurut Nurdiana dkk (2017), tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin mengalami kerusakan pada sel  $\beta$  pulau Langerhan's, dimana hampir seluruhnya terdapat ruang kosong.

Kerusakan yang terlihat pada gambaran histopatologi pankreas kelompok K2 (kontrol positif) disebabkan oleh induksi dari streptozotosin. Streptozotosin dapat merusak struktur jaringan pada beberapa organ, terutama pada jaringan pankreas. Streptozotosin masuk ke dalam sel beta pankreas melalui GLUT2, sehingga mengaktifasi alkilasi DNA. Alkilasi DNA mengakibatkan penekanan  $NAD^+$  sel beta, sehingga produksi ATP menurun dan sel menjadi rusak atau sampai mati. Sel beta yang rusak akan mengakibatkan penurunan produksi insulin. Glukosa yang tidak dapat diubah karena sedikit atau tidak adanya hormon insulin akan menyebabkan hiperglikemia. Hiperglikemia merupakan salah satu gejala dari penyakit diabetes mellitus. Hiperglikemia yang terjadi dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan glukotoksisitas. Glukotoksisitas dapat menyebabkan proses auto-oksidasi glukosa, dimana proses ini dikatalisis oleh senyawa logam, sehingga meningkatkan radikal bebas turunan oksigen reaktif, yaitu radikal superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Kedua radikal bebas tersebut merupakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat

meningkatkan stress oksidatif. Radikal bebas yang semakin banyak dan tidak dapat ditangkap oleh antioksidan akan bereaksi dengan komponen sel, serta merusak protein, DNA, dan lipid sehingga mengakibatkan peroksidasi lipid (Lenzen, 2008). Proses peroksidasi lipid dapat mengakibatkan kerusakan sel beta pulau Langerhan's pankreas yang semakin parah, sehingga membentuk vakuola lipid seperti ruang kosong dan nekrosis pada inti sel, dimana dapat dilihat dengan histopatologi jaringan pankreas menggunakan pewarnaan HE.

Vakuola merupakan kantung atau ruang kosong didalam sel yang terjadi karena adanya timbunan lemak (Campbell *et al.*, 2002). Vakuola terjadi karena adanya reaksi radikal bebas dari induksi streptozotosin. Vakuola yang berisi lemak karena adanya proses peroksidasi lipid ini akan mendesak inti sel pankreas ke tepi, sehingga terbentuk ruang kosong pada pulau Langerhan's pankreas (Mulyono, dkk., 2009). Selain terdapat vakuola, terdapat nekrosis kariolisis yang terjadi pada inti sel. Nekrosis kariolisis merupakan kematian sel dimana inti sel tidak tampak karena mengalami lisis (Suputri, 2015). Nekrosis ini disebabkan karena rusaknya sel  $\beta$  pankreas yang diberi senyawa diabetagonik streptozotosin. Kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas akan menurunkan produksi insulin, sehingga glukosa tidak dapat dipecah dan akan terjadi penumpukan glukosa didalam darah yang semakin banyak, dimana dapat disebut dengan hiperglikemia. Hiperglikemia yang berkepanjangan akan menyebabkan glukotoksisitas. Glukotoksisitas akan menyebabkan proses auto-oksidasi glukosa, sehingga dapat meningkatkan radikal bebas turunan oksigen reaktif, yaitu radikal superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Kedua radikal bebas tersebut merupakan *Reactive Oxygen*



*Species* (ROS) yang akan masuk kedalam mitokodria, sehingga mitokondria tidak dapat menghasilkan ATP dan sel tersebut akan perlahan mengalami lisis hingga mati (Suarsana, dkk., 2010).

Pada kelompok P1 (C) yang diberi terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan volume pemberian 1 mL/KgBB mengalami perbaikan pada struktur pulau Langerhan's pankreas tetapi belum menjadi normal. Perbaikan struktur tersebut berupa regenerasi sel didalam pulau Langerhan's. Tetapi masih menunjukkan adanya sedikit vakuola pada pulau Langerhan's pankreas (**Gambar 5.1.C**). Pada kelompok P2 (D) yang diberi terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan volume pemberian 2 mL/KgBB mengalami perbaikan pada struktur pulau Langerhan's pankreas yang menjadi normal. Perbaikan struktur tersebut berupa regenerasi sel didalam pulau Langerhan's dimana sudah tidak ada vakuola dan sel tidak mengalami nekrosis (**Gambar 5.1.D**). Pada kelompok P3 (E) yang diberi terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan volume pemberian 3 mL/KgBB mengalami sedikit perbaikan pada struktur pulau Langerhan's pankreas berupa regenerasi sel. Tetapi masih menunjukkan adanya vakuola pada pulau Langerhan's pankreas dan terdapat sel radang (**Gambar 5.1.E**).

Perbaikan yang terlihat pada gambaran histopatologi pankreas pada kelompok P1, P2, dan P3 disebabkan karena pemberian terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah. Yoghurt susu kambing mengandung bakteri asam laktat, antara lain *Lactobacillus bulgaris* dan *Streptococcus thermopiles* sehingga yoghurt dapat disebut dengan makanan

probiotik. Bakteri probiotik mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase pada saluran pencernaan, dimana enzim ini memiliki fungsi memecah karbohidrat menjadi glukosa, sehingga dapat di serap kedalam darah. Karbohidrat yang tidak dapat dipecah karena penghambatan enzim tersebut akan ikut terbuang, sehingga kadar glukosa dalam darah menurun dan produksi insulin kembali menjadi normal. Selain itu, yoghurt susu kambing memiliki vitamin, mineral, dan protein yang tinggi. Komponen tersebut dapat mengembalikan metabolisme tubuh menjadi normal, sehingga dapat mempercepat perbaikan jaringan dan pertumbuhan sel baru pada jaringan pankreas (Rosiana dan Khoriyah, 2018). Bekatul beras merah juga memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, berupa oryzanol, flavonoid, tokoferol, antosianin dan proantosianin. Antioksidan yang paling tinggi dalam bekatul beras merah, yaitu oryzanol. Oryzanol berfungsi untuk menangkal radikal bebas, sehingga stress oksidatif menurun dan sel pada pankreas dapat kembali menjadi normal karena tidak adanya proses peroksidasi lipid dari penurunan stress oksidatif (Suryani, dkk., 2013). Perbaikan dari ketiga perlakuan tersebut menunjukkan bahwa yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah memberikan hasil yang efektif dalam terapi diabetes mellitus, namun volume pemberian yang terbaik dalam terapi diabetes mellitus berdasarkan gambaran histopatologi pankreas adalah 2 mL/KgBB.

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan:

1. Pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat menurunkan kadar MDA pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus induksi streptozotosin dengan volume pemberian terbaik dan efektif 2 mL/KgBB.
2. Pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat memperbaiki struktur pankreas yang diamati dari histopatologi pankreas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus induksi streptozotosin dengan volume pemberian terbaik dan efektif 2 mL/KgBB.

### 6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti, yaitu diperlukan pemeriksaan fitokimia pada yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah untuk mengetahui kuantitatif antioksidan yang terkandung.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta : Adabia Press.
- Alexandru, I. 2011. Experimental Use of Animal in Reasearch Spa. *Balneo-Research Journal*. Vol. 2, No. 1. <http://bioclima.ro/J225eng.pdf>. [Diakses pada 25 Februari 2018].
- Aritonang, S. N. 2010. *Susu dan Teknologi*. Cirebon : Swagati Press.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, dan L. G. Mitchell. 2002. *Biologi*. Edisi ke-5, Jilid ke-1. Jakarta : Erlangga.
- Chen, M.H. and Bergman, C.J. 2005. A Rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol, tokotrienol, and goryzanol contents. *J. of Food Composition and Anal* 18 : 139–151.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. 2006. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. *Clinical Chemistry* 52:4, 616-617.
- Dziuba B. dan Dziuba M. 2014. Milk Proteins-Derived Bioactive Peptides In Dairy Products : Molecular, Biological And Methodological Aspects. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 13: 5–25.
- Eroschenko dan Victor P. 2007. *Atlas Histologi Difiore dengan Korelasi Fungsional: Edisi ke—11*. Jakarta : EGC.
- Fadillah, F. dan F. Tjakrawidaja. 2016. Efek Ekstrak Pomegranat Terhadap Kadar Malondialdehida dan Pembuluh Darah Jantung Tikus. *Artikel Penelitian*, Vol. 4, No. 1. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Fitriani. 2017. *Aplikasi Metode Fiksasi Perfusi dan Modifikasi Metode Emersi Terhadap Gambaran Mikroskopis* [Laporan Akhir]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala.
- Fox, C. dan A. Kilvert. Bersahabat dengan Diabetes Tipe 2. Diterjemahkan oleh Joko Suranto pada tahun 2010. Depok : Penebar Plus<sup>+</sup>.
- Guyton AC, Hall JE. 2008. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi Ke-11. Jakarta : EGC.
- Hartono, A. 2006. *Terapi Gizi dan Diet Rumah Sakit, Ed. 2*. Jakarta : EGC.

- Herliana, E. 2013. *Diabetes Kandas Berkat Herbal*. Jakarta : FMedia.
- Hestianah, E. P., Chairul A., Suryo K., dan Lita R. Y. 2014. *Buku Ajar Histologi Veteriner*. Jilid 2. Halaman 14-19. Surabaya : Revka Petra Media.
- Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., Rior, R.O.L.P. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1841–1856.
- Irmayani, Yusriadi, I. Rosada, M. Ilsan. 2018. Pengembangan Produksi Beras Merah (*Oriza nivara*) untuk Meningkatkan Kesejahteraan Petani Kawasan Pedesaan Berbasis Tenaga Kerja Lokal. *Lecture in Muhammadiyah University of Parepare*, South Sulawesi.
- Islam MS, Reiko N, Kazuyuki O, Takamitsu H, Hiroshi O, Hideki U, Masatoshi H. 2011. Biological abilities of rice bran-derived antioxidant phytochemicals for medical therapy. *Curr Top Med Chem*. 11:1847-1853.
- Isnaeni, W. 2006. *Fisiologi Hewan*. Yogyakarta : KANISIUS.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas*. Surabaya : Trubus Agrisarana.
- Lanywati, E. 2001. *Diabetes Mellitus*. Yogyakarta : KANISIUS.
- Lenzen, S. 2008. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetologia*. 51 (2) : 216-226.
- Longnecker, D. 2014. Anatomy and Histology of The Pancreas Gross Anatomy. *Current Concept Health and Disease*, vol. 1, no. 1: 1-29.
- Luh S. 1991. *Rice Production and Utilition*. Westport (USA): The Avi Publication.
- Mescher, A. L. 2012. *Histologi Dasar Junqyiera: Edisi ke-12*. Jakarta : EGC.
- Moeljanto, R. D. dan B. T. W. Wiryanta. 2002. *Khasiat dan Manfaat Susu Kambing*. Yogyakarta : Agromedia.
- Mudassir, A. Aziz, dan A. Q. Punagi. 2012. Analisa Kadar *Malondialdehid* (MDA) Plasma Penderita Polip Hidung Berdasarkan Dominasi Sel Inflamasi pada Pemeriksaan Histopatologi [Artikel Penelitian]. Fakultas Kedokteran. Universitas Hasanuddin Makassar.

- Mulyono, A., Ristiyanto, dan N. Soesanti. 2009. Karakteristik Histopatologi Hepar Tikus Got Infektif *Leptospira sp.* Jurnal Vektora, Vol. 1 No. 2.
- Nadzifa, I. 2010. Pengaruh Air Perasan Bawang Lanang (*Allium sativum*) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas pada Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Mulana Malik Ibrahim Malang.
- Nainggolan, BMH. 2009. Perbandingan Uji Tukey (Uji Beda Nyata Jujur (BNJ)) dengan Uji Fisher (Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)) dalam Uji Lanjut Data Rancangan Percobaan. *Majalah Ilmiah Panorama Nusantara*, Ed. VII.
- Nurdiana, N. 1998. Efek streptozotocin sebagai bahan diabetogenik pada tikus wistar dengan cara intraperitoneal dan intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*. 14(2): 66-77.
- Nurdiana, S., Y. M. Goh, H. Ahmad, S. Md Dom, N. S. Azmi, N. S. N. M. Zin, dan M. Ebrahimi. 2017. Changes in Pancreatic Histology, Insulin Secretion and Oxidative Status in Diabetic Rats Following Treatment with *Ficus deltoidea* and Vitexin. *Research Article Complementary and Alternative Medicine*, 17:290.
- Nurliyani, A. H. Sadewa, dan Sunarti. 2015. Kefir Properties Prepared with Goat Milk and Black Rice Extract and Its Influence on The Improvement of Pancreatic  $\beta$ -Cells in Diabetic Rats. *Journal of Food and Agriculture*, 27 (10).
- Pangkalan Ide. 2012. *Agar Pankreas Sehat*. Jakarta : Gramedia.
- Pihlanto, A. 2006. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal*. 16: 1306–1314.
- Putri, M. K. D., D. Pringgenies, O. K. Radhasa. 2012. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda Terhadap Larva *Artemia salina*. *Journal of Marine Research*. Vol. 1, No. 2, 58-66.
- Saputra, N. T., I. N. Suartha, dan A. G. Dharmayudha. 2018. Agen Diabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus. *Buletin Veteriner Udayana*, Vol. 10, No. 2:116-121.
- Sara, J. 2018. Pengaruh Ekstrak Air Bekatul Terhadap Kadar Malondialdehid Serum Darah Tikus *Sprague Dawley* yang Diinduksi *High-Fat Diet* dan Propiltiourasil. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.



- Setiawan, B. dan E. Suhartono. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*, vol. 55 no. 2.
- Setyawardani, T. 2017. Membuat Keju, Yoghurt, dan Kefir dari Susu Kambing. Purwokerto : Penebar Swadaya.
- Sharp P. and Jason V. 2013. *The Laboratory Rat. Second Edition*. Boca Raton : CRC Press. Page 1.
- Sholeha, M. 2019. Potensi Ekstrak Bekatul Beras Merah Terhadap Kadar MDA Mencit Diabetes. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- Sinaga, F. A. 2016. *Stress Oksidatif dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal*. Jurnal Generasi Kampus, Volume 9, No. 2. Fakultas Ilmu Keolahragaan, Universitas Negeri Medan.
- Singh, Z., I. P. Karthigesu, P. Singh, and R. Kaur. 2014. Use of Malondialdehyde as a Biomarker for Assessing Oxidative Stress in Different Disease Pathologies: a Review. *Iranian J Publ Health*, vol. 43, Suppl. No.3: 7-16.
- Smith, J.B. dan Mangkoewidjojo S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press.
- Soewondo, P., A Ferrario, and D. L. Tahapary. 2013. *Challenges in Diabetes Management in Indonesia : A Literature Review*. Licensee BioMed Central Ltd, Globalization and Health, 9:6
- 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
- Sujono. 2016. Effect of Goat Milk Yogurt Towards Reducing Uric Acid, Cholesterol, and Blood Glucose Level. *International Journal of Applied Environmental Sciences*, vol. 11 no. 5.
- Sulistyowati, N. 2004. Kelenjar Pankreas. Makalah (Surabaya: Prodi Psikologi Fakultas Dakwah IAIN Sunan Ampel), Hal. 1.
- Suputri, N. K. A. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Merah Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Suryani, N. T., Endang, dan Aulanni'am. 2013. Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Mahoni Terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- $\alpha$



dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 27, No. 3, Februari 2013

- Suryohusodo, P. 2009. *Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas*. Dalam : Ilmu Kedokteran Molekuler. Kapita Selekta. Jakarta : Sagung Seto.
- Susianto, H. Widjaja, dan H. Mailoa. 2008. *Diet Enak Ala Vegetarian*. Depok : Penebar Swadaya.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of Therat Pancreas. *Physio. Res.* 50 (6): 537-546.
- Tjay dan K. Rahardja. 2007. *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-6. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo
- Tormo, M.A., Gil-Exojo I., Romero de Tejada A., Campillo J.E. 2006. White Bean Amylase Inhibitor Administered Orally Reduces Glycemia in Type 2 Diabetic Rats. *British Journal Of Nutrition*, Vol. 96, no. 3: 39-44.
- Utomo, H., A. Hanafiah, L.H. Oen, F.D. Suyatna, dan N. Asikin. 1991. Radikal Bebas, Peroxide Lipid, dan Penyakit Jantung Koroner. *Medika*, no. 5: 373-379.
- Wenyan, H., Zhao G., and Wanget C. 2012. Nonlinear Optical Microscopy for Histology of Fresh Normal and Cancerous Pancreatic Tissues. *Plus One*, Vol. 7, no. 5 : 1-8.
- Widowati S. 2001. Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Padi dalam Menunjang Sistem Agroindustri di Pedesaan. *Bul Agro Bio*. 4(1):33-38.
- Pangkalan Ide. 2012. *Agar Pankreas Sehat*. Jakarta : PT. Gramedia.
- WHO and Agriculture Organization of the United Nations. 2006. *Guidelines on Food Fortification With Micronutrient*.
- Wilson, G.L., A. Roglic, R. Green, and H. King. 2004. Global Prevalence Of Diabetes: Estimates for The Year 2000 and Projections for 2030. *Diabetes Care*, no. 27: 1047-1453.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Halaman 55. Yogyakarta : KANISIUS.
- Winarsi, H., S.P.M. Wijayanti, A. Purwanto. 2012. Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase, Katalase, dan Glutation Peroksidase Wanita Penderita Sindrom Metabolik. *MBK*, vol. 44 No. 01, tahun 2012.

Yuliantika, N.M.R., Gelgel K.T.P, Kardena I.M. 2013. Efek Toksisitas Ekstrak Daun Sirih Merah Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Tikus Putih Diabetik yang Diinduksi Aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*, Vol. 5, no. 2: 114-121.


Zubaidah, E. dan I. Nuril. 2015. *Efek Cuka Apel dan Cuka Salak Terhadap Penurunan Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Tikus Wistar Diabetes*. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.





# LAMPIRAN

## 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. H. A. Wanni'am, DES.  
NIP. 1900051198802 2 001



NB: Nama yang terlampir pada sertifikat ini merupakan anggota peneliti

**Lampiran 2.** Kadar Glukosa

Kelompok	Nomor	Sebelum diberikan streptozotosin (mg/dL)	Setelah diberikan streptozotosin (mg/dL)	Setelah diberikan terapi (mg/dL)
Kontrol negatif	1	65	79 (tidak diberi STZ)	82 (tidak diberi STZ dan terapi)
	2	77	95 (tidak diberi STZ)	77 (tidak diberi STZ dan terapi)
	3	73	88 (tidak diberi STZ)	97 (tidak diberi STZ dan terapi)
	4	93	93 (tidak diberi STZ)	95 (tidak diberi STZ dan terapi)
Kontrol positif	1	79	336	277 (tidak diterapi)
	2	69	322	250 (tidak diterapi)
	3	75	454	311 (tidak diterapi)
	4	79	532	375 (tidak diterapi)
Perlakuan 1	1	69	270	233
	2	89	365	186
	3	75	255	153
	4	82	311	197
Perlakuan 2	1	62	221	103
	2	68	250	124
	3	68	197	100
	4	59	291	118
Perlakuan 3	1	88	280	116
	2	82	237	178
	3	89	237	244
	4	78	202	199

### Lampiran 3. Perhitungan Dosis

- Perhitungan Dosis Streptozotisin**

$$\text{Rumus Volume Obat} = \text{BB (g)} \times \text{Dosis (mg/kgBB)}$$

$$= \text{BB (g)} \times \text{Dosis (mg/1000gBB)}$$

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

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

$$\text{Rata-rata Streptozotisin} = \text{Rata-rata BB (g)} \times \text{dosis (mg/1000gBB)}$$

$$= 200 \text{ g} \times 45 \text{ mg/1000gBB}$$

$$= 9 \text{ mg}$$

$$\text{Vol Streptozotisin} = \text{BB} \times \text{dosis} : \text{rata-rata STZ } 0,5 \text{ ml}$$

$$= 200 \times 45 \text{ mg/1000gBB} : 9 \times 0,5 \text{ ml}$$

$$= 0,5 \text{ ml}$$

Kelompok	BB	Rata-rata 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

- **Perhitungan Dosis Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Bekatul Beras Merah**

Yoghurt susu kambing digunakan sebanyak 1 L selama 14 hari terapi

1 mL yoghurt susu kambing = 4% bekatul beras merah

1 mL = 0,04 gram

1 L = 40 gram

Dalam sehari :

Dosis 1 = 1 mL/KgBB x 0,2 Kg = 0,2 mL x 4 tikus = 0,8 mL

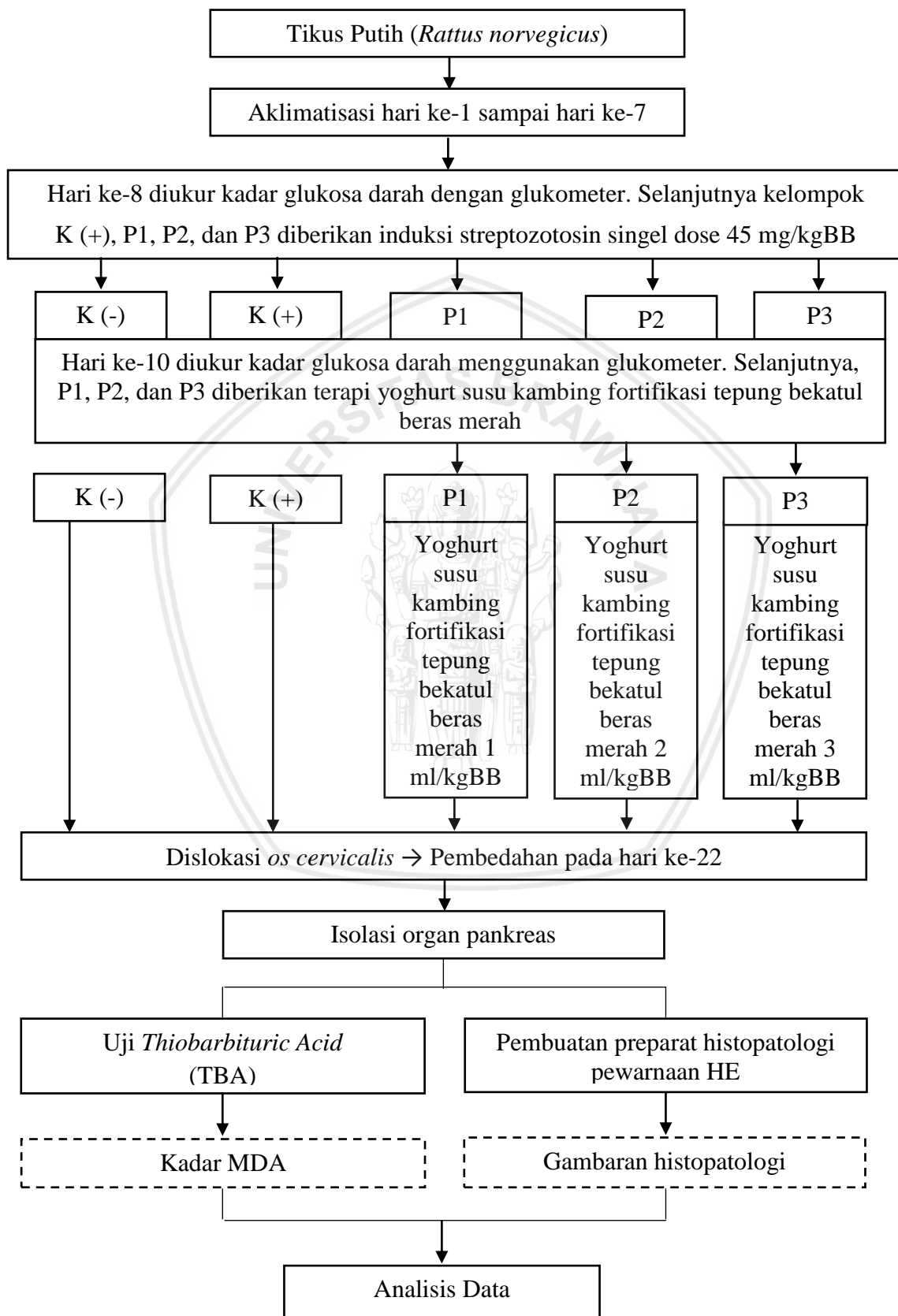
Dosis 2 = 2 mL/KgBB x 0,2 Kg = 0,4 mL x 4 tikus = 1,6 mL

Dosis 3 = 3 mL/KgBB x 0,2 Kg = 0,6 mL x 4 tikus = 2,4 mL

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

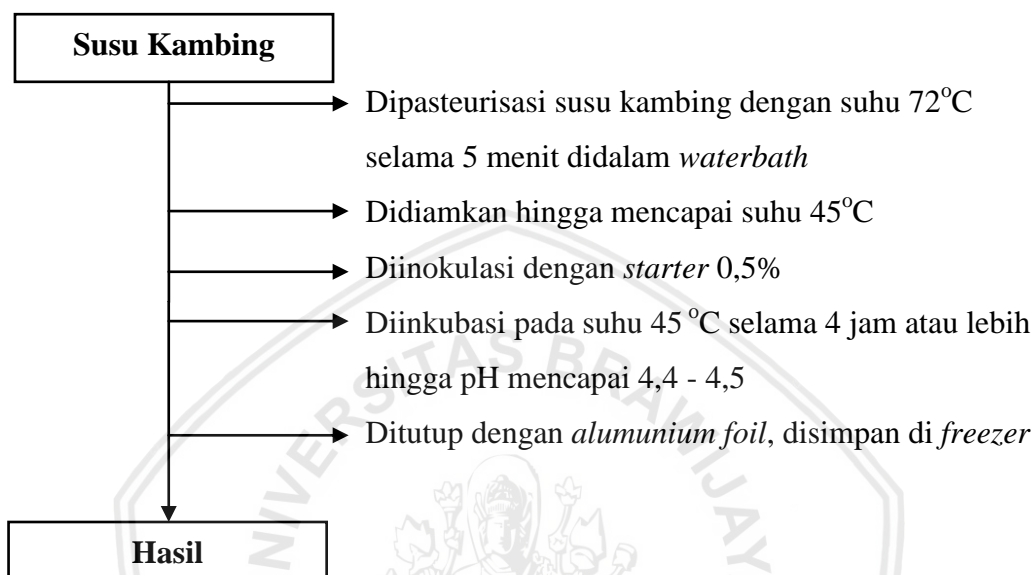


**Lampiran 4.** Bagan Alur Penelitian

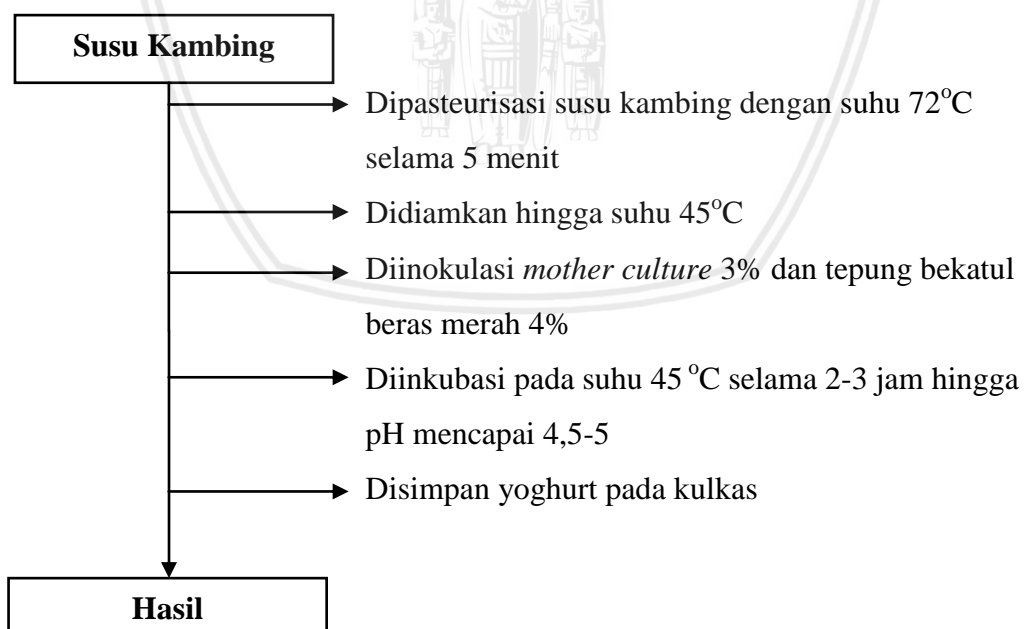


**Lampiran 5.** Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Merah

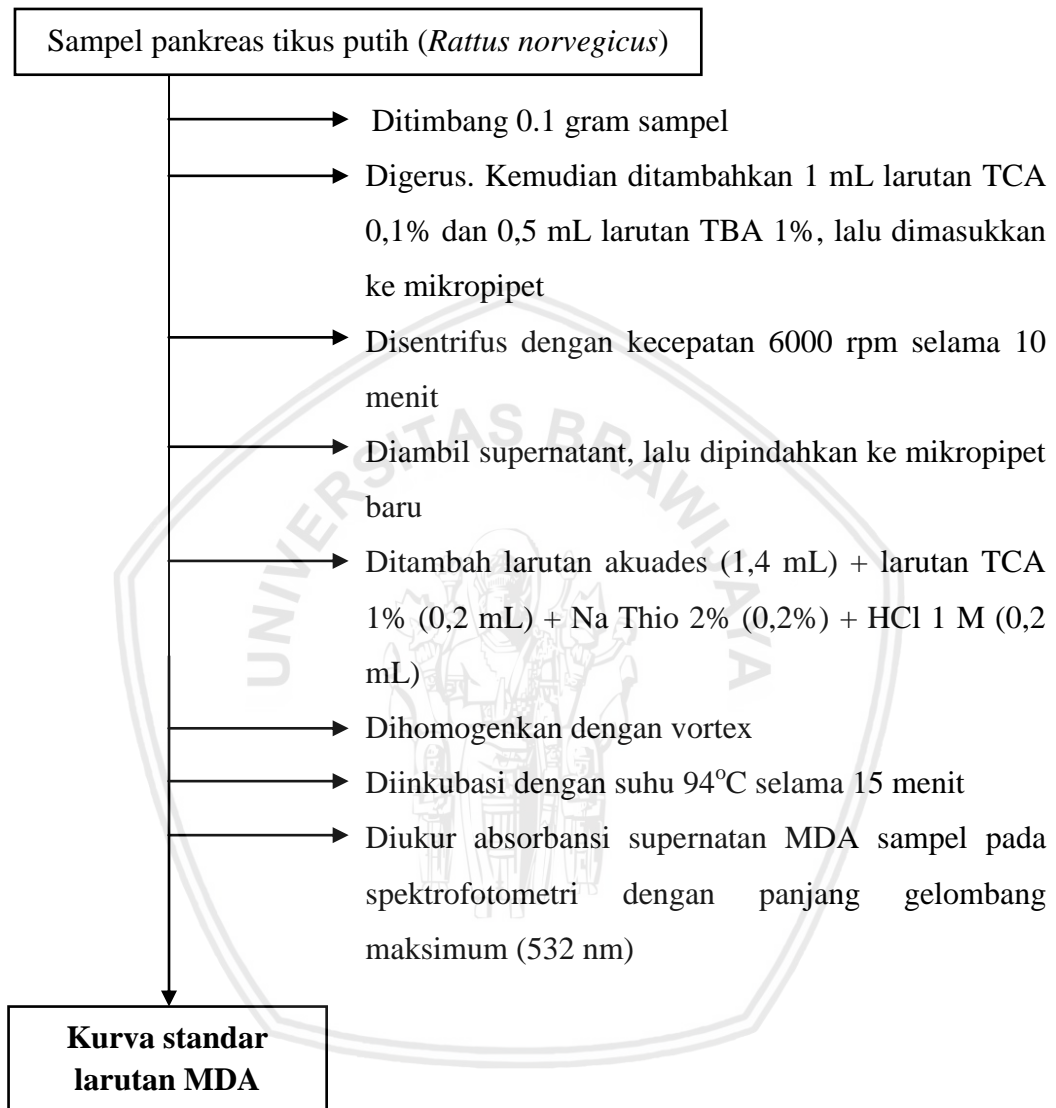
1. Pembuatan *Mother culture*



2. Pembuatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah

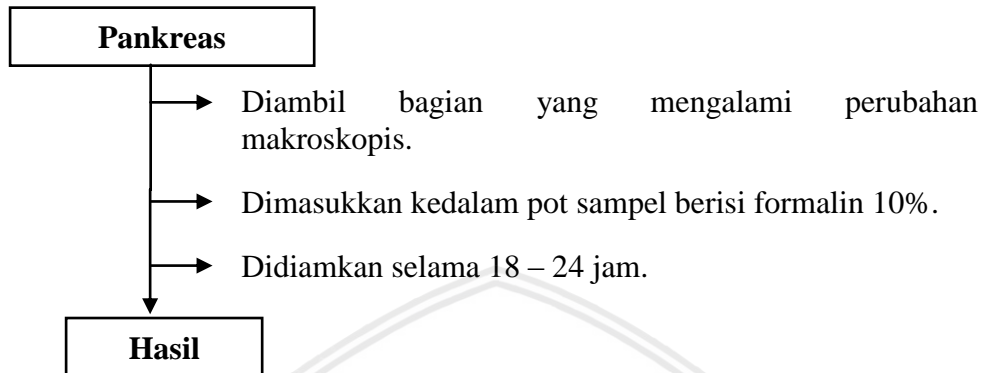


**Lampiran 6.** Diagram Alir Pemeriksaan Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

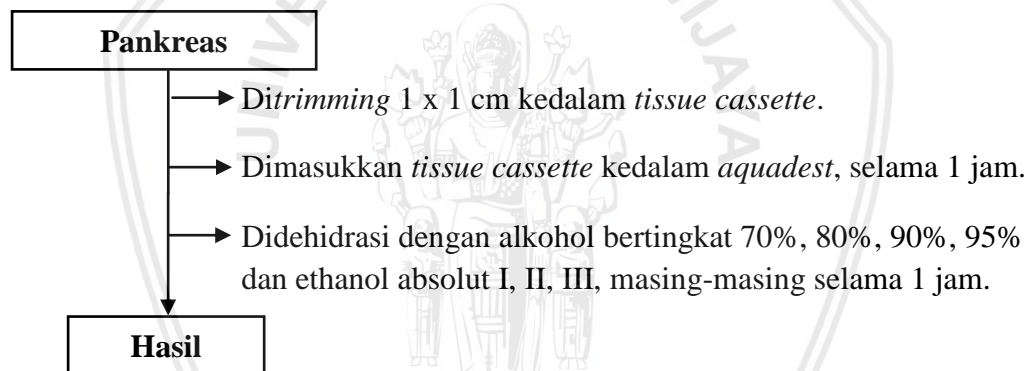


## Lampiran 7. Proses Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas

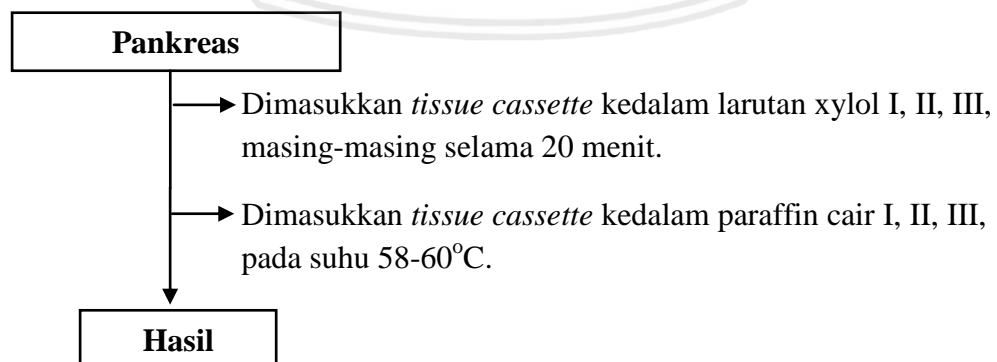
### 1. Fiksasi



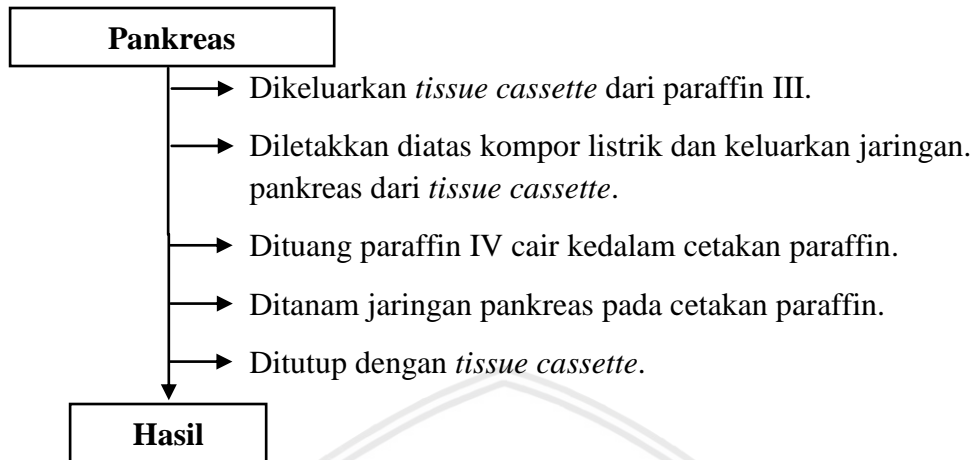
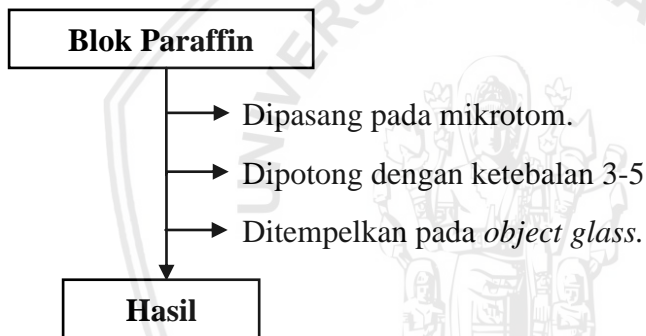
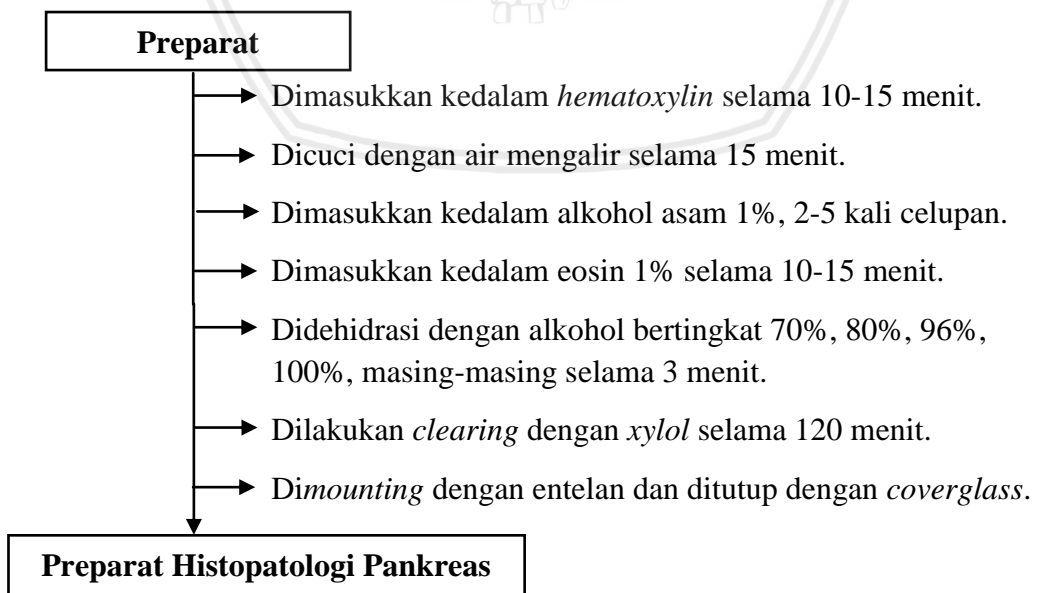
### 2. Dehidrasi



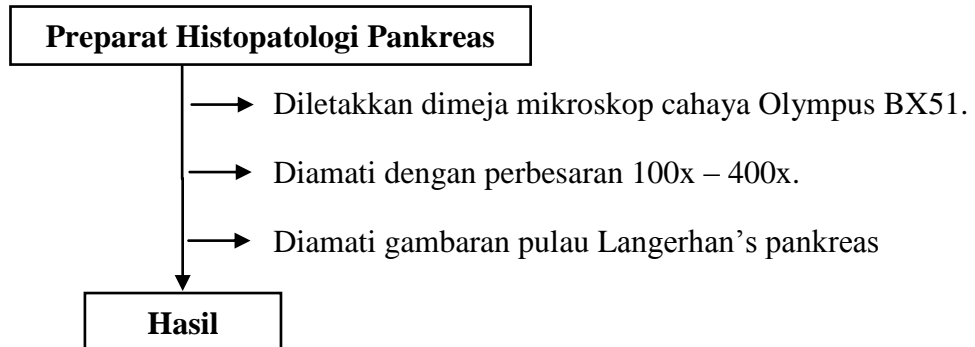
### 3. Penjernihan (*clearing*) dan Infiltrasi Parafin



## 4. Embedding

5. Pemotongan (*Sectioning*) dan Penempelan pada *Object Glass*.6. Pewarnaan (*Staining*).

## 7. Pengamatan



**Lampiran 8.** Data Hasil dan Uji Statistik Kadar *malondialdehyde* (MDA)

- **Kelompok Kontrol Positif**

$$\begin{aligned} \text{Peningkatan kadar MDA (\%)} &= \frac{\text{Kontrol positif} - \text{kontrol negatif}}{\text{Kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{540,13 - 297,75}{540,13} \times 100\% \\ &= 81,40\% \end{aligned}$$

- **Kelompok Terapi 1 mL**

$$\begin{aligned} \text{Peningkatan kadar MDA (\%)} &= \frac{\text{Kontrol positif} - \text{rataan terapi}}{\text{Kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{540,13 - 387,667}{540,13} \times 100\% \\ &= 28,22\% \end{aligned}$$

- **Kelompok Terapi 2 mL**

$$\begin{aligned} \text{Peningkatan kadar MDA (\%)} &= \frac{\text{Kontrol positif} - \text{rataan terapi}}{\text{Kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{540,13 - 308,278}{540,13} \times 100\% \\ &= 42,92\% \end{aligned}$$

- **Kelompok Terapi 3 mL**

$$\begin{aligned} \text{Peningkatan kadar MDA (\%)} &= \frac{\text{Kontrol positif} - \text{rataan terapi}}{\text{Kontrol positif}} \times 100\% \\ &= \frac{540,13 - 463,833}{540,13} \times 100\% \\ &= 14,12\% \end{aligned}$$



- **Descriptives**

### Descriptives

kadar MDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	4	297.7500	34.68141	17.34070	242.5641	352.9359
kontrol positif	4	540.1388	36.53468	18.26734	482.0039	598.2736
perlakuan 1	4	387.6668	29.64998	14.82499	340.4870	434.8465
perlakuan 2	4	308.2778	32.83767	16.41883	256.0257	360.5298
perlakuan 3	4	461.5835	30.23230	15.11615	413.4772	509.6898
Total	20	399.0834	98.94613	22.12503	352.7751	445.3916

### Descriptives

kadar MDA

	Minimum	Maximum
kontrol negatif	256.89	331.22
kontrol positif	493.89	579.33
perlakuan 1	351.11	421.00
perlakuan 2	269.44	341.22
perlakuan 3	421.11	489.00
Total	256.89	579.33

- **Uji Normalitas**

**Tests of Normality**

Kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Kadar MDA kontrol negatif	.252	4	.	.923	4	.552
kontrol positif	.168	4	.	.986	4	.934
perlakuan 1	.147	4	.	.995	4	.982
perlakuan 2	.235	4	.	.942	4	.668
perlakuan 3	.225	4	.	.930	4	.595

a. Lilliefors Significance Correction

- **Uji Homogenitas**

**Test of Homogeneity of Variances**

kadar MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.163	4	15	.954

- **Uji Statistik ANOVA**

**ANOVA**

kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	169789.353	4	42447.338	39.238	.000
Within Groups	16227.026	15	1081.802		
Total	186016.379	19			

- Uji Lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur)

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadar MDA

Tukey HSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval
					Lower Bound
kontrol negatif	kontrol positif	-242.38875*	23.25728	.000	-314.2055
	perlakuan 1	-89.91675*	23.25728	.011	-161.7335
	perlakuan 2	-10.52775	23.25728	.990	-82.3445
	perlakuan 3	-163.83350*	23.25728	.000	-235.6502
kontrol positif	kontrol negatif	242.38875*	23.25728	.000	170.5720
	perlakuan 1	152.47200*	23.25728	.000	80.6553
	perlakuan 2	231.86100*	23.25728	.000	160.0443
	perlakuan 3	78.55525*	23.25728	.029	6.7385
perlakuan 1	kontrol negatif	89.91675*	23.25728	.011	18.1000
	kontrol positif	-152.47200*	23.25728	.000	-224.2887
	perlakuan 2	79.38900*	23.25728	.027	7.5723
	perlakuan 3	-73.91675*	23.25728	.042	-145.7335
perlakuan 2	kontrol negatif	10.52775	23.25728	.990	-61.2890
	kontrol positif	-231.86100*	23.25728	.000	-303.6777
	perlakuan 1	-79.38900*	23.25728	.027	-151.2057
	perlakuan 3	-153.30575*	23.25728	.000	-225.1225
perlakuan 3	kontrol negatif	163.83350*	23.25728	.000	92.0168

kontrol positif	-78.55525*	23.25728	.029	-150.3720
perlakuan 1	73.91675*	23.25728	.042	2.1000
perlakuan 2	153.30575*	23.25728	.000	81.4890

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

- **Notasi pada Uji BNJ**

**kadar MDA**

Tukey HSD<sup>a</sup>







kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	4	297.7500			
perlakuan 2	4	308.2778			
perlakuan 1	4		387.6668		
perlakuan 3	4			461.5835	
kontrol positif	4				540.1388
Sig.		.990	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.



### Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

Proses Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah	
 <p>1. Susu kambing di pasteurisasi pada suhu 72°C selama 15 detik</p>	 <p>2. Susu didiamkan hingga suhu mencapai 45 °C</p>
 <p>3. <i>Mother culture</i> 3% dimasukkan kedalam susu kambing</p>	 <p>4. Ditimbang bekatul beras merah sebanyak 4% dan dimasukkan</p>
 <p>5. Ditutup dengan <i>aluminium foil</i></p>	 <p>6. Susu kambing kemudian diinkubasi pada 45 °C selama 4 jam</p>



Penimbangan hewan coba dengan menggunakan timbangan digital



Proses mengganti sekam kandang hewan coba



Induksi streptozotocin secara intraperitoneal



Pengukuran glukosa darah, darah didapat dari ekor dan proses pembacaan hasil glukosa darah



**Induksi anastesi, nekropsi, dan pemeriksaan kadar MDA**



1. Induksi ketamin sebelum hewan coba dinekropsi



2. Nekropsi hewan coba dan pengambilan darah melalui intracardial



3. Diambil organ pankreas



4. Diambil organ pankreas sebanyak 0,1 gram



5. Digerus



6. Ditambahkan 1 mL larutan TCA 0,1% + 0,5 mL larutan TBA 1%



7. Dimasukkan ke mikropipet



8. Disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit





9. Diambil supernatan, dipindahkan ke mikropipet baru, ditambah 1,4 mL larutan akuades + 0,2 mL larutan TCA 1%



10. Ditambah 0,2 mL Na Thio 2%



11. Ditambah 0,2 mL HCl 1 M



12. Dihomogenkan dengan vortex



13. Diinkubasi dengan inkubator suhu 94°C selama 15 menit



14. Sampel akan berwarna merah muda



15. Diukur absorbansi sampel pada spektrofotometri dengan panjang gelombang 532 nm