

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING  
DENGAN FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS  
MERAH TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL  
DAN KREATININ PADA TIKUS PUTIH (*Rattus  
norvegicus*) MODEL DIABETES MELLITUS  
TIPE 1 INDUKSI *STREPTOZOTOCIN***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:  
**CATUR KESUMA NINGTYAS**  
**155130101111008**



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

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI****PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING DENGAN  
FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP  
HISTOPATOLOGI GINJAL DAN KADAR KREATININ PADA  
TIKUSPUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES  
MELLITUS TIPE 1 INDUKSI *STREPTOZOTOCIN***

**Oleh:**  
**CATUR KESUMA NINGTYAS**  
**NIM. 155130101111008**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
Pada tanggal 07 November 2019  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS**  
NIP. 19520412 198002 1 001

**drh. Herlina Pratiwi, M.Si**  
NIP. 19870518 201012 2 010

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 : Catur Kesuma Ningtyas

NIM : 15513010111008

Program Studi: S1 Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

“Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing dengan Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Histopatologi Ginjal dan Kadar Kreatinin pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Mellitus Tipe 1 Induksi *Sterptozotocin*”

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 tercantum 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, 07 November 2019  
Yang menyatakan,

(Catur Kesuma Ningtyas)  
NIM. 15513010111008

**Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Dengan Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Histopatologi Ginjal Dan Kadar Kreatinin Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Model Diabetes Mellitus Tipe 1 Induksi *Streptozotocin***

**ABSTRAK**

Diabetes mellitus (DM) tipe 1 merupakan penyakit atau gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan hiperglikemi disertai dengan gangguan metabolisme tubuh sebagai akibat dari rusaknya sel  $\beta$  pankreas. Hiperglikemi yang tidak terkontrol menyebabkan terjadinya komplikasi mikrovaskular yang berupa nefropati diabetik. Yoghurt susu kambing dan tepung bekatul beras merah memiliki serat dan antioksidan tinggi yang baik untuk terapi terhadap pasien DM. Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung beras merah dalam terapi DM dengan mengukur kadar kreatinin darah dan melihat gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus putih hewan model DM jantan umur 8-12 minggu diinduksi *streptozotocin* (STZ) 45 mg/kgBB secara intraperitoneal dan tiga hari setelahnya dilakukan terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah selama 14 hari dengan dosis 1 mL/kgBB, 2 mL/kgBB, dan 3 mL/kgBB. Penelitian ini bersifat *True Experimental* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 25 ekor tikus putih yang terbagi dalam 5 kelompok. Analisis data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Analisis data kuantitatif yang digunakan untuk pemeriksaan kadar kreatinin darah menggunakan uji ANOVA dengan taraf kepercayaan  $\alpha = 0,05$  dan dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Data kualitatif yang digunakan yaitu gambaran histopatologi ginjal yang akan dianalisis dan disajikan secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah volume 2 mL/kgBB, dapat memberikan hasil yang sangat nyata terhadap menurunkan kadar kreatinin ( $P < 0,01$ ) dan dapat memperbaiki histopatologi struktur glomerulus dan *bowmann space* pada tikus putih model DM tipe 1 induksi STZ. Kesimpulan dari penelitian ini adalah yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat menurunkan kadar kreatinin serta dapat memperbaiki kerusakan sel ginjal yang terjadi pada tikus putih model DM induksi STZ dengan volume pemberian 2 mL/kgBB.

**Kata Kunci :** Yoghurt susu kambing, Bekatul beras merah, Histopatologi ginjal, Kadar kreatinin, Diabetes mellitus

repository.ub.ac.id

**Effect of Giving Goat Milk Yogurt with the Fortification of Red Rice Bran Flour to Kidney Histopathology and Creatinine Level in the White Rat (*Rattus Norvegicus*) Model of Type 1 Diabetes Mellitus Streptozotocin (STZ) Induction**

**ABSTRACT**

Diabetes mellitus (DM) type 1 is a chronic metabolic disease or disorder characterized by hyperglycemia accompanied by impaired metabolism of the body as a result of damage to pancreatic  $\beta$  cells. Uncontrolled hyperglycemia causes microvascular complications in the form of diabetic nephropathy. Goat milk yogurt and brown rice bran flour have high fiber and antioxidants which are good for the treatment of DM patients. This research was conducted to see the effect of giving goat milk yogurt with fortification of red rice flour in DM therapy by measuring blood creatinine levels and seeing a histopathological picture of the kidney in white rats (*Rattus norvegicus*). Male white rats of animal models DM 8-12 weeks of age were induced by *streptozotocin* (STZ) 45 mg / kgBB intraperitoneally and three days afterwards, yogurt therapy for fortified goat milk fortified red rice bran flour for 14 days at a dose of 1 mL / kgBB, 2 mL / kgBB, and 3 mL / kgBB. This research is True Experimental using a Completely Randomized Design (CRD), with 25 white rats divided into 5 groups. Data analysis was carried out quantitatively and qualitatively. Analysis of quantitative data used for examination of blood creatinine levels using the ANOVA test with a level of confidence  $\alpha = 0.05$  and continued with the Tukey test. Qualitative data used are renal histopathological features to be analyzed and presented descriptively. The results showed that yogurt therapy of goat milk fortification of red rice bran flour volume 2 mL / kgBB, could provide very significant results in reducing creatinine levels ( $P < 0.01$ ) and could improve the histopathology of glomerulus structure and bowmann space in white rats with type 1 DM type STZ induction. The conclusion of this study is that goat milk yogurt fortified red rice bran flour can reduce creatinine levels and can repair kidney cell damage that occurs in white rats with STZ induction DM models with a volume of 2 mL / kgBB.

**Keywords:** Goat milk yogurt, Red rice bran flour, Renal histopathology, Creatinine levels, Diabetes mellitus

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN YOGHURT SUSU KAMBING DENGAN FORTIFIKASI TEPUNG BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL DAN KADAR KREATININ PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES MELLITUS INDUKSI *STERPTOZOTOCIN* (STZ)”**.

Penyusun menyampaikan terimakasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, secara khusus penyusun menyampaikan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M. App. Sc., selaku Dekan FKH UB yang memberikan dukungan demi kemajuan FKH UB.
2. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS., selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, motivasi, waktu, kesabaran, dan bantuan dalam penulisan skripsi ini.
3. Drh. Herlina Pratiwi, M. Si., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, motivasi, waktu, kesabaran, dan bantuan dalam penulisan skripsi ini.
4. Drh. Nurina Titisari, M. Sc., selaku dosen penguji pertama yang telah memberikan waktu, pengarahan, kesabaran, dan masukan selama seminar skripsi ini.
5. Drh. Ajeng Erika Prihastuti Haskito, M. Si., selaku dosen penguji kedua yang telah memberikan waktu, pengarahan, kesabaran, dan masukan selama seminar skripsi ini.
6. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di FKH UB.
7. Keluarga besar penulis (Bapak H. Kasiyanto, S.P., Ibu Hj. Talhah, kakak-kakak tercinta Eka Noor Asmawati, Dwi Amalia Purnama Sari, dan Tri Ibnu

Setiawan) yang tiada henti memberi doa, kasih sayang, perhatian, motivasi, dan semangat.

8. Teman dan sahabat seperjuangan skripsi (Erina Bidari Utomo, Inggrit Resgita Putri, dan Rifah Puri Anggun) yang telah semangat dan bekerja bersama dengan baik menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman dan sahabat sepermainan saya: Housemate (Elga, Iffa, Tiaw, Wena), CACAUP (Cangi dan Ulfa), CINGGU (Angel, Citra, dan Nani), Rafi, Ivan, Maydita, PENGUNGS (Desy, Isma, dan Erin), dan Nakdek x Nyinyir (Liza, Mayang, Dyah, Intan, Wia, Anggun, Yono, Iwot, Inggrit, dan Leli). Atas cinta, persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan, kebersamaan, dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
10. Keluarga besar Asique Class yang dan seluruh kolega di FKH UB yang telah memberikan motivasi, dukungan, kebersamaan, dan semangat.
11. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Mohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penulisan skripsi ini. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat bermanfaat.

Malang, 07 November 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Diabetes Mellitus.....	8
2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus.....	8
2.1.2 Patofisiologi Diabetes Mellitus .....	8
2.1.3 Hubungan Kadar Kreatinin Pada Penderita DM .....	10
2.2 Streptozotocin (STZ) .....	11
2.3 Yoghurt Susu Kambing .....	12
2.4 Bekatul Beras Merah .....	15
2.5 Hewan Coba Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	16
2.5.1 Ginjal Tikus Putih.....	18
2.6 Kreatinin .....	25
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	<b>27</b>
3.1 Kerangka Teori dan Konsep Penelitian .....	27
3.1.1 Kerangka Teori Penelitian.....	27
3.1.2 Kerangka Konsep Penelitian .....	28
3.2 Hipotesis Penelitian .....	30
<b>BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	<b>31</b>
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	31
4.2 Sampel Penelitian .....	31
4.3 Rancangan Penelitian .....	32
4.4 Variabel Penelitian .....	34
4.5 Materi Penelitian .....	34
4.5.1 Alat .....	34



4.5.2 Bahan .....	35
4.6 Tahapan Penelitian .....	35
4.7 Prosedur Kerja.....	36
4.7.1 Persiapan Hewan Coba .....	36
4.7.2 Pembuatan Hewan Model DM dengan STZ .....	36
4.7.3 Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah .....	37
4.7.4 Perlakuan Pada Tikus Putih.....	37
4.7.5 Koleksi darah dan Preparasi Organ Ginjal.....	38
4.7.6 Penentuan Kadar Kreatinin .....	38
4.7.7 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Ginjal .....	39
4.7.8 Analisa Data .....	41
<b>BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>42</b>
5.1 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Kadar Kreatinin Tikus Putih DM induksi STZ.....	42
5.2 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih DM induksi STZ .....	46
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>53</b>
6.1 Kesimpulan .....	53
6.2 Saran .....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>60</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	32
4.2 ANOVA ( <i>Analysis of Variance</i> ) .....	33
5.1 ANOVA ( <i>Analysis of Variance</i> ) Kadar Kreatinin .....	42
5.2 Rata-rata, Standar Deviasi, Uji <i>Tukey</i> , dan Peningkatan-Penurunan Kadar Kreatinin Tikus Putih pada masing-masing kelompok perlakuan.....	43



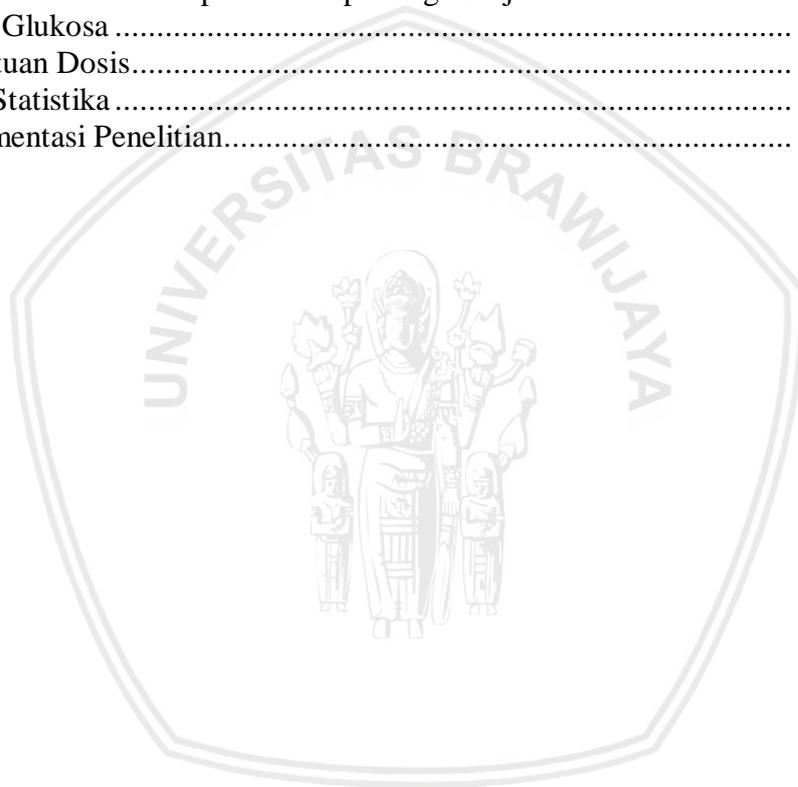
## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	17
2.2 Gambar Histologi ginjal dan Histopatologi ginjal Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) model diabetes mellitus .....	24
3.1 Kerangka Teori Penelitian .....	27
3.2 Kerangka Konsep Penelitian .....	28
5.1 Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok (K+), (K-), (P1), (P2), dan (P3) .....	47



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Laik Etik .....	61
2. Bagan Alur Penelitian .....	62
3. Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah.....	63
4. Diagram Alir Pemeriksaan Kadar Kreatinin .....	64
5. Proses Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal .....	65
6. Kadar Glukosa .....	68
7. Penentuan Dosis.....	69
8. Hasil Statistika .....	70
9. Dokumentasi Penelitian.....	72



**DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG**

%	: Persen
×	: Kali
°C	: Derajat selsius
ADP	: Adenosina difosfat
ATP	: Adenosina trifosfat
BB	: Berat badan
Ca	: Kalsium
cGMP	: Cyclic guanosine monophosphate
dL	: Deciliter
DNA	: Deoxyribo nucleic acid
EDTA	: Ethylene diamine tetra acetic acid
GLUT	: Glucosa transpoters
kg	: Kilogram
Ko-A	: Koenzim A
l	: Lebar
LDL	: Low-density lipoprotein
mg	: Milligram
mL	: Mililiter
mm	: Milimeter
NaCl	: Natrium clorida
NAD+	: Nikotinamida adenina dinukleotida

nm : Nanometer

P : Fosfor

p : Panjang

pH : Potensial hidrogen

SNI : Standar Nasional Indonesia

t : Tinggi



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan kondisi kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah. Tingginya glukosa darah dapat disebabkan karena tubuh tidak dapat memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup atau karena sel-sel tubuh tidak bisa merespon secara baik insulin yang dihasilkan oleh sel beta pankreas (Triandita dkk., 2016). Pada kasus DM tipe 1 gangguan metabolisme tubuh terjadi akibat proses autoimun yang merusak sel  $\beta$  pankreas sehingga produksi insulin berkurang bahkan terhenti. Peningkatan kadar glukosa (hiperglikemia) pada penderita DM yang tidak terkontrol dapat mengakibatkan komplikasi mikrovaskular yaitu nefropati diabetik. Nefropati diabetik merupakan komplikasi DM pada ginjal yang dapat berujung gagal ginjal. Nefropati merupakan komplikasi DM yang merupakan penyebab utama kematian dan kecacatan pada penderita DM (Satria dkk., 2018).

Penderita diabetes mellitus menurut data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2000 menyatakan Indonesia berada di urutan keempat terbanyak kasus diabetes dengan prevalensi mencapai 8,6% dari total penduduk (WHO, 2009). Menurut data *American Diabetes Association* di Amerika Serikat 50% kasus kematian dan kecacatan penderita diabetes disebabkan nefropati diabetik (ADA, 2004). Dan hampir 60% penderita hipertensi dan DM di Asia menderita nefropati diabetik (Mogensen, 2000). Diabetes mellitus tidak hanya terjadi pada manusia namun juga dapat terjadi pada hewan. Pada tahun

2015 telah dilakukan penelitian terhadap 10.000 anjing dan kucing dengan temuan 24 kasus positif DM pada anjing, dan 68 kasus pada kucing, selain itu kasus diabetes terjadi pada hewan yang mengalami obesitas, berusia tua, dan yang sudah dilakukan sterilisasi (Aja, 2016 dan Hoenig, 2003). Sehingga diperlukan tambahan jenis pengobatan diabetes tersebut. Obat antidiabetes yang beredar di pasaran cukup banyak dan bervariasi, namun terapi dengan obat-obatan sintesis sering menemui kegagalan, antara lain disebabkan resistensi terapi, efek samping, dan biaya tinggi akibat pengobatan jangka panjang (Baird dan Susan dkk., 2014).

Penanganan yang paling efektif untuk pasien diabetes adalah dengan cara mengendalikan kadar glukosa darah pasien diabetes dengan memperbaiki pola makan melalui pemilihan makanan yang tepat. Akan tetapi, penderita DM yang telah memperbaiki pola pakan ternyata ada yang masih belum mampu mengendalikan glukosa darah dengan baik sehingga kadar hariannya tetap tinggi. Penyebabnya adalah kurangnya asupan sumber serat dan antioksidan (Hidayati, 2017). Serat mempunyai kemampuan untuk memperlambat penyerapan glukosa dan lemak dengan cara meningkatkan kekentalan feses yang secara tidak langsung menurunkan difusi sehingga kadar glukosa darah, profil lipid dan kolestrol menurun (Sulistyani, 2012). Antioksidan bermanfaat dalam mencegah terjadinya hiperglikemia karena adanya autooksidasi glukosa yang dapat mempercepat pembentukan radikal bebas dengan cara memberikan elektronnya agar dapat menghambat aktivitas senyawa oksidan tersebut (Chelzea dan Wirawanni, 2015). Aktivitas antioksidan juga bermanfaat untuk

menghambat terjadinya fibrosis pada pembuluh darah sehingga dapat mencegah terjadinya komplikasi mikrovaskular diabetes terlebihnya kejadian nefropati diabetes (Widowati, 2008).

Serat tinggi dan antioksidan tinggi dapat ditemukan pada beberapa bahan makanan, seperti bekatul dan yoghurt susu kambing. Bekatul merupakan hasil samping dari proses penggilingan padi dan memiliki beberapa kandungan zat gizi. Bekatul memiliki kandungan vitamin B kompleks, vitamin E komponen bioaktif seperti *oryzanol*, tokoferol, dan asam ferulat dan memiliki lebih dari 20% serat pangan. Vitamin B kompleks sangat dibutuhkan sebagai komponen pembangun tubuh, sedangkan vitamin E merupakan antioksidan yang sangat kuat. Bekatul juga merupakan sumber serat pangan (*dietary fiber*) yang sangat baik selain untuk memperlancar saluran pencernaan, kehadiran serat pangan juga berpengaruh terhadap penurunan kadar kolestrol darah (Marzeline dan Adi, 2017). Sedangkan yoghurt susu kambing merupakan minuman berkualitas yang mengandung protein, mineral, dan vitamin yang lebih tinggi dari yoghurt susu lain. Susu kambing dipilih dalam pembuatan yoghurt ini karena memiliki globula lemak yang lebih kecil dan tinggi *nutrient digestibility* sehingga baik untuk sistem pencernaan, selain itu susu kambing juga tidak memiliki  $\beta$  lactoglobulin sehingga aman dikonsumsi. Yoghurt merupakan minuman multifungsional karena dapat mengatasi berbagai penyakit. Probiotik yoghurt mengandung mikroba dilaporkan memiliki kemampuan untuk memecah protein menjadi molekul yang lebih kecil dan mengaktifkan fungsi protein sehingga berefek menguntungkan pada metabolisme seperti menurunkan LDL-

kolestrol pada penderita diabetes (Wulandari, 2017).

Pembuatan hewan model diabetes mellitus dilakukan dengan menggunakan agen diabetogenik seperti *streptozotocin*. *Streptozotocin* memiliki mekanisme kerja merusak DNA sel  $\beta$  pankreas yang dapat menyebabkan terjadinya gangguan produksi insulin, sehingga metabolisme glukosa terganggu dan terjadi hiperglikemia. Hiperglikemia pada penderita DM menyebabkan keadaan stres oksidatif, dimana terjadi ketidak seimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) terhadap antioksidan. Stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid di membran sel endotel glomerulus dan terjadi peningkatan produk AGE's pada ginjal hal ini menyebabkan kerusakan pada ginjal seperti ekspansi matrix mesangial dan fibrosis vaskular sehingga fungsi filtrasi dari glomerulus menurun dan menyebabkan kadar ureum dan kreatinin serum meningkat (Robbins dkk., 2003).

Uraian diatas menjadi dasar gagasan peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut menggunakan hewan uji tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diinduksi *streptozotocin single dose* 45 mg/kg BB dengan variasi volume pemberian yoghurt dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 1 mL/kgBB, 2 mL/kgBB, dan 3 mL/kgBB dalam terapi diabetes militus dilihat dari kadar kreatinin dan histopatologi ginjal.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat menurunkan kadar kreatinin pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes militus hasil induksi *streptozotocin*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah pada terapi hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes militus hasil induksi *streptozotocin* dilihat berdasarkan gambaran histopatologi ginjal?

### 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka batasan masalah penelitian ini sebagai berikut:

1. Hewan model yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, berumur 8-14 minggu, memiliki berat badan sekitar 150-200 gram, dan diperoleh dari D'Wistar Bandung.
2. Susu kambing bahan dasar yoghurt diperoleh dari Dr. Goat di Jln. Abdul Ghani, Batu. Tepung bekatul beras merah diperoleh di pasar swalayan dan kemudian pembuatan yoghurt dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Universitas Brawijaya.
3. Yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 1 kali sehari secara peroral menggunakan metode sonde lambung selama 14 hari pada pagi hari. Volume yang diberikan 1 mL/kgBB, 2 mL/kgBB, dan 3 mL/kgBB.

4. *Single dose* streptozotocin yang diinduksikan secara intraperitoneal dengan dosis 45 mg/kgBB dengan penentuan kondisi diabetes diukur dengan glukometer digital dan dinyatakan diabetes jika glukosa darah puasa berada pada kisaran 200-400 mg/dL menandakan bahwa tikus tersebut mengalami diabetik sedang (Saputra dkk, 2018).
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar kreatinin dengan metode *Jaffe Reaction* dan gambaran histopatologi ginjal dengan metode pewarnaan *Hematoxylin-Eosin (HE)*.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

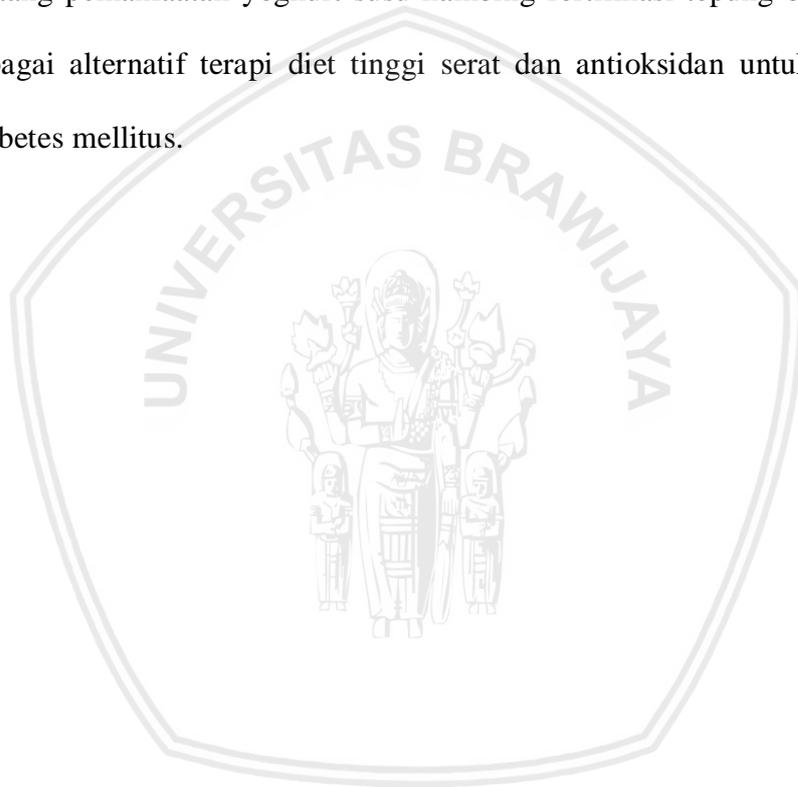
Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi bekatul beras putih dalam menurunkan kadar kreatinin pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes militus hasil induksi *streptozotocin*.
2. Mengetahui pengaruh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah pada terapi hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes militus hasil induksi *streptozotocin* dilihat berdasarkan gambaran histopatologi ginjal.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

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

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai literatur pemanfaatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah sebagai alternatif terapi diet tinggi serat dan antioksidan pada penderita diabetes mellitus dalam dunia kedokteran hewan maupun kedokteran manusia.
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung beras merah sebagai alternatif terapi diet tinggi serat dan antioksidan untuk penderita diabetes mellitus.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Diabetes Mellitus

#### 2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit yang melibatkan hormon endokrin pankreas, antara lain insulin dan glukagon. Manifestasi utamanya mencakup gangguan metabolisme lipid, karbohidrat, dan protein yang merangsang kondisi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia tersebut akan berkembang menjadi diabetes mellitus dengan berbagai macam komplikasi. Menurut WHO, Diabetes Mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat dari insufisiensi fungsi insulin. Pada pasien DM tipe 1 insufisiensi insulin disebabkan oleh gangguan produksi insulin oleh sel-sel beta langerhans kelenjar pankreas (Depkes, 2008). Diabetes Mellitus tidak dapat disembuhkan tetapi kadar gula darah dapat dikendalikan melalui diet, olah raga, dan obat-obatan. Untuk dapat mencegah terjadinya komplikasi kronis seperti nefropati diabetik, diperlukan pengendalian DM yang baik (PERKENI, 2011).

#### 2.1.2 Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 1

Diabetes mellitus (DM) tipe I diperantarai oleh degenerasi sel  $\beta$  Langerhans pankreas akibat infeksi virus, pemberian senyawa toksin, diabetogenik (streptozotosin dan aloksan), atau secara genetik (*wolfram*

*sindrome*) yang mengakibatkan produksi insulin sangat rendah atau berhenti sama sekali. Hal tersebut mengakibatkan penurunan pemasukan glukosa dalam otot dan jaringan adiposa. Secara patofisiologi, penyakit ini terjadi lambat dan membutuhkan waktu yang bertahun-tahun, biasanya terjadi sejak anak-anak atau awal remaja. Penurunan berat badan merupakan ciri khas dari penderita DM I yang tidak terkontrol. Gejala yang sering mengiringi DM I yaitu poliuria, polidipsia, dan polifagia. Peningkatan volume urin terjadi disebabkan oleh diuresis osmotik (akibat peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia) dan benda-benda keton dalam urin. Lebih lanjut, diuresis osmotik tersebut akan mengakibatkan kondisi dehidrasi, kelaparan dan *shock*. Gejala haus dan lapar merupakan akibat dari kehilangan cairan dan ketidak mampuan tubuh menggunakan nutrisi (Nugroho, 2006).

Pada DM I, kadar glukosa darah sangat tinggi, tetapi tubuh tidak dapat memanfaatkannya secara optimal untuk membentuk energi. Oleh karena itu, energi diperoleh melalui peningkatan katabolisme protein dan lemak. Seiring dengan kondisi tersebut, terjadi perangsangan lipolisis serta peningkatan kadar asam lemak bebas dan gliserol darah. Dalam hal ini terjadi peningkatan produksi asetil-KoA oleh hati, yang pada gilirannya diubah menjadi asam asetoasetat dan pada akhirnya direduksi menjadi asam  $\beta$ -hidroksibutirat atau mengalami dekarboksilasi menjadi aseton. Pada kondisi normal, konsentrasi benda-benda keton relatif rendah karena insulin dapat menstimulasi sintesis asam lemak dan menghambat lipolisis. Hanya dibutuhkan kadar insulin yang kecil untuk menghambat lipolisis (Nugroho, 2006).

### 2.1.3 Hubungan Kadar Kreatinin pada Penderita Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus dapat memberikan berbagai komplikasi salah satunya komplikasi kronik yang dapat menyerang berbagai organ seperti mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah. Penyakit yang disebabkan karena komplikasi kronik mikrovaskuler yang terjadi pada pasien DM salah satunya adalah *nefropati diabetika*. *Nefropati diabetika* merupakan suatu keadaan dimana ginjal mengalami penurunan fungsi dan terjadinya kerusakan pada selaput penyaring darah yang disebabkan oleh kadar gula darah yang tinggi. *Nefropati diabetika* dijumpai pada 35-45% pasien DM yang dapat menyebabkan terjadinya gagal ginjal terminal dan menjadi penyebab utama kematian tertinggi pada pasien DM (Padma dkk, 2017).

Pemeriksaan kreatinin serum merupakan pemeriksaan yang spesifik dan salah satu indikator untuk mengetahui kerusakan fungsi ginjal karena, kadar kreatinin serum tidak dipengaruhi oleh konsumsi protein, serta konsentrasi dalam plasma dan ekskresinya di urin dalam 24 jam relatif konstan. Kreatinin merupakan hasil metabolisme endogen dari otot skeletal yang diekskresikan melalui filtrasi glomerulus yang akan dibuang melalui urin dan tidak direabsorpsi atau disekresikan oleh tubulus ginjal. Tinggi rendahnya kadar kreatinin dalam darah digunakan sebagai indikator penting dalam menentukan apakah seorang mengalami gangguan fungsi ginjal sehingga, pemeriksaan kreatinin serum dapat berfungsi sebagai indikator perjalanan penyakit DM yang berpotensi mengalami gagal ginjal dan sebagai kontrol fungsi ginjal pada

penderita DM yang sudah mengalami komplikasi gagal ginjal (Padma dkk, 2017).

## 2.2 *Streptozotocin*

*Streptozotocin* (STZ) diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji. Dosis yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 untuk intravena adalah 40-60 mg/kg, sedangkan dosis intraperitoneal adalah lebih dari 40 mg/kg BB. STZ juga dapat diberikan secara berulang, untuk menginduksi DM tipe 1 yang diperantarai aktivasi sistem imun. Untuk menginduksi DM tipe 2, STZ diberikan intravena atau intraperitoneal dengan dosis 100 mg/kg BB pada tikus yang berumur 2 hari kelahiran, pada 8-10 minggu tikus tersebut mengalami gangguan respon terhadap glukosa dan sensitivitas sel  $\beta$  terhadap glukosa (Nugroho, 2006).

Streptozotocin menembus sel  $\beta$  Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasilkan perubahan DNA sel  $\beta$  pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. Streptozotocin merupakan donor NO (*nitric oxide*) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel tersebut melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP. *Nitric oxide* dihasilkan sewaktu STZ mengalami metabolisme dalam sel. Selain itu, STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif yang mempunyai peran tinggi dalam kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Pembentukan anion superoksida karena aksi STZ dalam mitokondria dan peningkatan aktivitas xantin oksidase. Dalam hal ini, STZ

menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan pengurangan nukleotida sel  $\beta$  (Nugroho, 2006).

Peningkatan defosforilasi ATP akan memacu peningkatan substrat untuk enzim xantin oksidase (sel  $\beta$  pankreas mempunyai aktivitas tinggi terhadap enzim ini), lebih lanjut meningkatkan produksi asam urat. Xantin oksidase mengkatalisis reaksi pembentukan anion superoksida aktif. Dari pembangkitan anion superoksida, terbentuk hidrogen peroksida dan radikal superoksida. *Nitric oxide* dan oksigen reaktif tersebut adalah penyebab utama kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian mengakibatkan penekanan  $\text{NAD}^+$  seluler, selanjutnya penurunan jumlah ATP, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin. Selain itu, kalsium berlebih yang kemungkinan dapat menginduksi nekrosis, tidak mempunyai peran yang signifikan pada nekrosis yang diinduksi STZ (Nugroho, 2016).

### **2.3 Yoghurt Susu Kambing**

Fermentasi susu merupakan salah satu cara pengawetan susu yang melibatkan metabolisme gula susu dengan cara mengubahnya menjadi asam laktat. Produk susu fermentasi yang ada di masyarakat saat ini salahsatunya adalah yoghurt. Pemanfaatan susu fermentasi diantaranya adalah karena dapat memberi efek yang menguntungkan bagi kesehatan konsumennya. Menurut SNI 01-2981 tahun 2009, yoghurt adalah produk yang diperoleh dari fermentasi

susu atau susu rekonstitusi dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan atau bakteri asam laktat lain yang sesuai, dengan/tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. Bahan baku pembuatan susu fermentasi dapat berasal dari susu sapi, susu kerbau atau susu kambing. Susu kambing memiliki kelebihan dibanding susu sapi, diantaranya adalah memiliki rantai asam lemak kaprik dan kaprilik yang mampu menghambat infeksi oleh cendawan dan tidak mengandung senyawa *beta-lactoglobulin* yang merupakan senyawa *allergen* (Zain dan Kuntoro, 2017).

Adapun menurut Larassati (2017) sifat-sifat fisik air susu kambing lebih baik dari pada susu ternak lain, yaitu:

- a. Globula lemaknya lebih kecil dan beremulsi dengan susu, sehingga lemak susu kambing tidak bisa muncul ke permukaan, tanpa dipisahkan dengan mesin pemisah (*mechanical separator*).
- b. Warnanya lebih putih.
- c. Lemak susu kambing bentuknya lebih halus, sehingga mudah dicerna, *card* proteinnya lebih lunak, sehingga protein mudah dicerna dan memungkinkan untuk dipakai membuat keju.
- d. Protein yang lebih mudah dicerna merupakan keuntungan praktis untuk makanan bayi.
- e. Sangat berguna atau cocok untuk menghilangkan gejala-gejala stres *neurotic indigestion* dan air susu kambing mempunyai *nutrient digestibility* tinggi.

- f. Mempunyai efek laxatif yang lembut, serta kandungan vitamin (A, B kompleks, dan E), dan mineral (Ca dan P) lebih tinggi.
- g. Air susu kambing dapat dipakai sebagai pengganti susu sapi, terutama pada orang yang alergi dengan susu sapi dan untuk orang-orang yang mengalami berbagai gangguan pencernaan.

Susu kambing mempunyai kandungan gizi lengkap dan baik bagi kesehatan, sehingga dapat menjadi pilihan bagi penderita *lactose intolerance*, sehingga tidak menimbulkan diare. Keunggulan lainnya, susu kambing tidak memiliki *beta-lactoglobulin*. Senyawa *alergen* itu sering disebut sebagai pemicu reaksi alergi seperti asma, bendungan saluran pernapasan, infeksi radang telinga, eksim, kemerahan pada kulit, dan gangguan pencernaan (Larassati, 2017).

Pembuatan Yoghurt susu kambing memiliki keunggulan dari segi gizi jika dibandingkan dengan susu kambing segar. Selama fermentasi mikroorganisme pada yoghurt memecah laktosa, sehingga kandungan laktosa yoghurt dapat berkurang hingga 30%. Oleh karena itu yoghurt lebih cocok dikonsumsi oleh penderita *lactose intolerance*. Selain itu, mikroorganisme yoghurt juga memecah protein. Hal ini ditunjukkan dengan tingginya kadar asam amino prolin dan glisin sehingga protein pada yoghurt lebih mudah dicerna. Lemak susu juga mengalami perubahan, sebagian besar lemak telah dipecah menjadi asam lemak. Yoghurt mengandung asam lemak linoleat yang lebih tinggi daripada susu (Adolfsson dkk., 2004).

Yoghurt memiliki keasaman kurang dari 1% sehingga dapat menyebabkan bakteri-bakteri patogen seperti *Salmonella spp.* menjadi inaktif. Selain itu,

koliform menjadi tidak mampu bertahan pada kondisi pH rendah dan penghambatan ini diperkuat dengan produksi senyawa-senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh mikroorganisme yoghurt (Prisilia, 2009). *Flavor* dan konsistensi yoghurt bervariasi sesuai dengan daerah dan selera konsumen, tetapi pada prinsipnya terdapat dua jenis bakteri termofilik yang mampu memproduksi asam laktat dengan perbandingan jumlah bakteri yang relatif sama (Rahman dkk., 1992).

#### 2.4 Bekatul Beras Merah

Bekatul merupakan hasil samping dari penggilingan padi menjadi beras. Dahulu banyak orang menilai bahwa bekatul kurang bermanfaat dan dikenal sebagai pakan ternak, akan tetapi melalui perkembangan teknologi yang semakin maju saat ini pemanfaatan bekatul sudah banyak dilakukan dalam berbagai bidang industri pangan. Bekatul beras merah mempunyai kandungan gizi yang beragam diantaranya bekatul mengandung antioksidan *tokoferol* (vitamin E), *oryzanol* dan vitamin B15. Bekatul juga kaya akan pati, protein, lemak, vitamin dan mineral. Umumnya, semua senyawa fitokimia terakumulasi pada perikarp dan testa atau bran kernel beras, karakteristik utama yang menentukan jenis senyawa fenolik pada biji-bijian adalah warna perikarpnya seperti beras merah, ungu, dan hitam. Beras berpigmen dilaporkan mengandung sumber antioksidan yang sangat potensial dan beras merah sangat populer digunakan sebagai pangan fungsional selain beras putih dikarenakan kandungan polifenol dan antosianinnya yang

sangat tinggi. Kandungan fitokimia dan serat pada bekatul beras merah berperan sebagai penangkal penyakit degeneratif serta berperan dalam proses pencernaan.

Kandungan serat pada bekatul lebih tinggi dibandingkan pada tepung terigu (Damayanthi, 2007). Bekatul beras merah dapat diolah menjadi tepung bekatul. Keunggulan dari tepung adalah tepung dapat disimpan dalam jangka waktu yang panjang, mudah dicampur, mudah dibentuk dan lebih mudah untuk diolah menjadi produk olahan, Kandungan protein bekatul beras merah yang tinggi serta kandungan seratnya yang cukup tinggi membuat bekatul beras merah dapat dikembangkan menjadi olahan pangan tinggi serat dan antioksidan (Damardjati, 2000).

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

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau yang dikenal sebagai *Norway rat* merupakan hewan percobaan yang sering digunakan pada penelitian biomedis, pengujian, dan pendidikan. Hal ini dikarenakan genetik yang terkarakteristik dengan baik, galur yang bervariasi dan tersedia dalam jumlah yang banyak (Fauziyah, 2016). Taksonomi dari tikus putih adalah sebagai berikut (Akbar, 2010):

Kingdom	: Animalia
Divisi	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae

Subfamili : Murinae  
Genus : Rattus  
Spesies : *Rattus norvegicus*



**Gambar 2.1** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)  
(Akbar, 2010)

Jenis tikus yang paling umum digunakan adalah jenis albino galur Sprague Dawley (SD), Wistar, dan Long Evans. Galur SD dan Wistar merupakan *outbred stocks* yang merujuk pada hewan yang secara genetik tidak identik atau tidak seragam. Perkawinan antara tikus dilakukan secara acak atau dengan cara menerapkan skema rancangan perkawinan. Hal ini dilakukan untuk menghindari akibat dari inbreeding yaitu menjaga keragaman genetik dan mencegah terjadinya stres. Beberapa keuntungan dari penggunaan *outbred stocks* antara lain rentang hidup yang panjang, resistensi terhadap penyakit yang tinggi, ukuran yang besar, pertumbuhan dan fertilitas yang cepat (Suckowdkk., 2006).

Tikus putih dipilih sebagai hewan coba dalam penelitian karena memiliki respon yang cepat, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, berkembang

biakannya cepat, cepat dewasa kelamin, mudah ditangani, dan harganya relatif murah (Sihombing dkk, 2010).

### **2.5.1 Ginjal Tikus Putih**

#### **A. Anatomi Ginjal**

Ginjal merupakan organ retroperitoneal yang berperan dalam proses ekskresi didalam tubuh dan menempel pada dinding posterior abdomen, dibelakang peritoneum dan dibawah diafragma. Ginjal berbentuk seperti kacang dengan warna merah kecoklatan dan dikelilingi oleh jaringan adiposa. Ginjal melekat pada posisinya karena berikatan dengan suatu massa lemak. Selubung fascia renal fibroelastik membungkus ginjal dan lemak ginjal. Terdapat sepasang ginjal, yaitu kanan dan kiri, bagian kanan jauh lebih rendah daripada ginjal kiri karena adanya organ hati yang terdapat pada bagian kanan (Gartner dan Hiatt, 2012).

Pada irisan sagital ginjal, tampak bagian – bagian ginjal yaitu korteks ginjal dengan warna coklat gelap pada bagian luar ginjal, dan medula ginjal dengan warna lebih terang daripada korteks ginjal pada bagian dalam. Medula renalis terdiri atas piramid renalis yang masing – masing memiliki basis yang menghadap ke korteks ginjal dan apeks (papila renalis) yang menghadap ke medial ginjal. Diantara piramid - piramid ginjal yang berdekatan terdapat bagian korteks yang meluas ke medula disebut kolumna renalis. Setiap piramid ginjal dan korteks diatas setiap basis piramid disebut sebagai lobus ginjal (Faustinawati, 2017).

Setiap papila renalis dikelilingi oleh kaliks minor yang berbentuk seperti corong. Setiap dua atau tiga kaliks minor akan membentuk kaliks mayor. Selanjutnya kaliks mayor akan bergabung 10 menjadi pelvis renalis yang kemudian akan keluar melalui hilum renalis menjadi ureter dan turun ke vesica urinari (Faustinawati, 2017).

Tikus wistar mempunyai anatomi ginjal yang sedikit berbeda dari ginjal manusia. Jumlah nefron pada tikus wistar lebih sedikit dibandingkan manusia, yaitu hanya sekitar 30.000 – 35.000. Pada tikus wistar, ginjalnya mempunyai hanya satu papila renalis (*unipapillate*) sedangkan pada manusia memiliki banyak papila. Bagian korteks ginjal tikus wistar, sama halnya dengan ginjal manusia mengelilingi bagian medula. Bagian korteks ginjal tikus wistar memiliki pembagian yang sedikit berbeda dibandingkan ginjal manusia. Korteks ginjal tikus dibagi menjadi dua bagian, yaitu labirin korteks dan medullary rays. Labirin korteks didalamnya terdapat korpuskulum ginjal dan segmen tubulus yang rumit, sedangkan pada medullary rays dibentuk oleh segmen tubulus ginjal yang lurus. Perbedaan yang lainnya adalah, pada korpuskulum ginjal tikus wistar terletak di tiga bagian ginjal yaitu superfisial, midkortikal, dan nefron jukstamedular, sedangkan pada manusia hanya pada bagian korteks saja (Faustinawati, 2017).

## **B. Fisiologi Ginjal**

Ginjal memerankan berbagai fungsi tubuh, yakni menyaring (filtrasi) sisa hasil metabolisme dan toksin dari darah serta mempertahankan homeostatis cairan dan elektrolit yang kemudian dibuang melalui urine. Pembentukan urin

adalah fungsi ginjal yang paling esensial dalam mempertahankan homeostatis tubuh. Proses pembentukan urine yang pertama terjadi adalah filtrasi, yaitu penyaringan darah yang mengalir melalui arteria aferen menuju kapiler glomerulus yang dibungkus kapsula bowman untuk menjadi filtrat glomerulus yang berisi zat-zat ekskresi. Kapiler glomerulus tersusun atas sel endotel, membrana basalis dan sel epitel. Kapiler glomeruli berdinding porous (berlubang- lubang), yang memungkinkan terjadinya filtrasi cairan dalam jumlah besar. Molekul yang berukuran kecil (air, elektrolit, dan sisa metabolisme tubuh, di antaranya kreatinin dan ureum) akan difiltrasi dari darah, sedangkan molekul berukuran lebih besar (protein dan sel darah) tetap tertahan di dalam darah. Oleh karena itu, komposisi cairan filtrat yang berada di kapsul Bowman, mirip dengan yang ada di dalam plasma, hanya saja cairan ini tidak mengandung protein dan sel darah (Nurachman, 2011).

Volume cairan yang difiltrasi oleh glomerulus setiap satuan waktu disebut sebagai rerata filtrasi glomerulus atau *Glomerular Filtration Rate* (GFR). Selanjutnya cairan filtrat akan direabsorpsi dan beberapa elektrolit akan mengalami sekresi di tubulus ginjal, yang kemudian menghasilkan urine yang akan disalurkan melalui duktus koligentes. Proses dari reabsorpsi filtrat di tubulus proksimal, ansa henle, dan sekresi di tubulus distal terus berlangsung hingga terbentuk filtrat tubuli yang dialirkan ke kalises hingga pelvis ginjal (Nurachman, 2011).

Menurut Nurachman (2011), ginjal merupakan alat tubuh yang strukturnya amat rumit, berperan penting dalam pengelolaan berbagai faal utama tubuh. Beberapa fungsi ginjal:

- a. Regulasi volume dan osmolalitas cairan tubuh
- b. Regulasi keseimbangan elektrolit
- c. Regulasi keseimbangan asam basa
- d. Ekskresi produk metabolit dan substansi asing
- e. Fungsi endokrin
- f. Pengaturan produksi 1,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>
- g. Sintesa glukosa

Fungsi ginjal dapat menurun bisa disebabkan karena salah satu faktor, yaitu adanya penyakit pada organ ini. Pada berbagai keadaan yang menghalangi fungsi ginjal dengan serius dapat menimbulkan gagal ginjal akut maupun kronik. Gagal ginjal akut dapat disebabkan oleh oligouria, disertai azotemia yang baru timbul. Azotemia merupakan suatu kelainan biokimia yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin yang pada umumnya berkaitan dengan menurunnya laju filtrasi glomerulus, sedangkan gagal ginjal kronis ditandai dengan gejala dan tanda uremia yang berkepanjangan yang merupakan hasil akhir dari semua penyakit parenkim ginjal kronik (Robbins dan Cotra, 2009). Salah satu penyakit mengenai tubulus, yaitu nekrosis. Nekrosis merupakan suatu pembengkakan sel yang kemudian mengalami lisis. Sel yang nefrotik terlihat membesar dan

lebih merah dibanding sel normal. Nekrosis ini menyebabkan kematian sel dan memperlihatkan respon peradangan (Kumar dkk, 2010).

### **C. Histologi Ginjal**

Ginjal diliputi oleh kapsula ginjal yang terdiri atas jaringan penyambung padat. Bagian luar ginjal disebut korteks dan bagian dalam disebut medulla. Pada bagian medulla banyak terdapat nefron (unit fungsional ginjal) yang terdiri dari korpus renal, tubulus kontortus proksimal, ansa henle dan tubulus kontortus distalis. Setiap korpus renal bergaris tengah kira-kira 200  $\mu\text{m}$  dan terdiri atas seberkas kapiler glomerulus yang dikelilingi oleh kapsula bowman (Junqueira, 2007).

Nefron terdiri atas bagian yang melebar, korpuskulus renal; tubulus kontortus proksimal, segmen tipis dan tebal ansa Henle; dan tubulus kontortus distal. Pada kutub urinarius pada korpuskulus renal, epitel gepeng dari lapisan parietal kapsul Bowman, berhubungan langsung dengan epitel silindris dari tubulus kontortus proksimal. Tubulus ini lebih panjang dari tubulus kontortus distal dan karenanya tampak lebih banyak dekat korpuskulus renalis dalam labirin korteks. Tubulus ini juga memiliki lumen lebar dan dikelilingi oleh kapiler peritubuler (Junqueira, 2007).

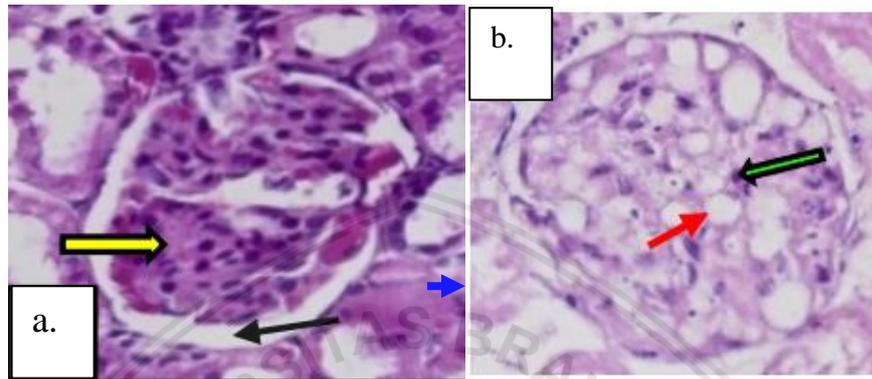
Glomerulus adalah suatu organ epitelio-vaskuler yang dirancang untuk filtrasi ultra dari plasma. Kecuali pada infundibulum yang mengandung arteriol aferen dan eferen, glomerulus secara keseluruhan tertutup oleh kapsula bowman yang berbentuk mangkok dan dilapisi sel epitel parietal. Kapiler glomerulus dilapisi oleh lapisan endothelium, berlubang pori-pori dengan

diameter kurang lebih 100 nm dan terletak pada membrana basalis. Di bagian luar membran basalis adalah sel epitel visceral atau podosit (Robbins, 2007).

Tubulus proksimal berjalan berkelok-kelok dan berakhir sebagai saluran yang lurus di medula ginjal (pars descendens Ansa Henle). Tubulus kontortus proksimal terdapat banyak pada korteks ginjal dengan diameter sekitar 60  $\mu\text{m}$  dan panjang sekitar 14 mm. Tubulus kontortus proksimal terdiri dari pars konvoluta yang berada di dekat korpuskulus ginjal dan pars rekta yang berjalan turun di medulla dan korteks, kemudian berlanjut menjadi lengkung Henle di medula (Gartner dan Hiatt, 2012). Fungsi tubulus kontortus proksimal adalah mengurangi isi filtrate glomerulus 80-85% dengan cara reabsorpsi melalui transport dan pompa natrium. Glukosa, asam amino dan protein seperti bikarbonat akan direasorpsi. Epitel yang melapisi tubulus ini adalah selapis kuboid atau silindris yang menunjang dalam mekanisme absorpsi dan ekskresi. Sel-sel epitel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar. Apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang sekitar 1  $\mu\text{m}$ , yang membentuk suatu *brush border* (Junqueira, 2007).

Pada kutub urinarius dari korpuskulus renal, epitel gepeng dari lapisan parietal kapsula bowman berhubungan langsung dengan epitel silindris dari tubulus kontortus proksimal. Tubulus lebih panjang dari tubulus kontortus distal dan karenanya tampak lebih banyak dekat korpuskulus renal dalam labirin korteks. Tubulus kontortus proksimal dilapisi oleh epitel selapis kuboid atau silindris. Sel-sel epitel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan

oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar. Apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang kira-kira 1  $\mu\text{m}$ , yang membentuk suatu *brush border* yang menambah luas permukaan penyerapan (Junqueira, 2007).



**Gambar 2.2** Gambaran Histologi Ginjal Normal (a) dan gambaran histopatologi ginjal Diabetes Mellitus pada tikus jantan (b) dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dan perbesaran 400 x (Sarwono dkk, 2015).

Keterangan:   → : Ruang Bowman   → : Jaringan stroma yang rusak  
                   → : Glomerulus           → : Inti sel  
                   → : Adhesi glomerulus dan kapsul bowman

Sedangkan menurut Kumar (2010), glomerulus dalam keadaan normal secara keseluruhan tertutup oleh kapsula bowman yang berbentuk mangkok dan dilapisi oleh endothelium berlubang berpori-pori yang terletak pada membran basalis dan dibagian luar membrane basalis adalah sel epitel visceral (podosit). Pada kondisi diabetes mellitus tipe 1 terjadi perubahan pada gambaran histologi ginjal yaitu struktur glomerulus menunjukkan adanya jaringan stroma yang rusak, pelebaran ruang Bowman, serta berkurangnya jumlah inti sel (Sarwono dkk, 2015).

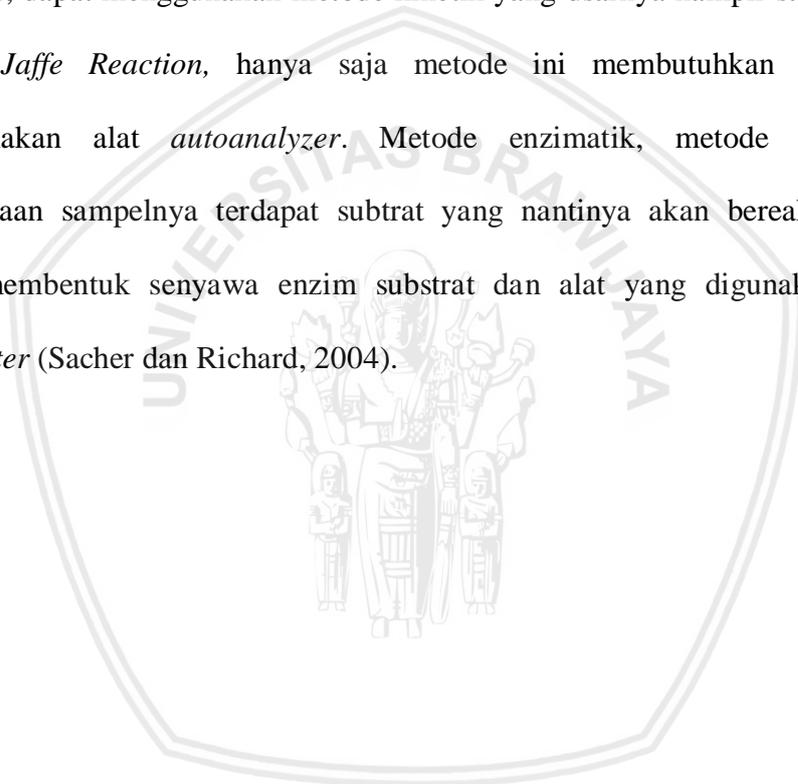
## 2.6 Kreatinin

Kreatin merupakan produk akhir dari metabolisme kreatinin otot dan kreatinin fosfat, yang disintesis di dalam hati dari metionina, glisina, arginina, ditemukan dalam otot rangka dan darah serta disekresikan dalam urin. Terbentuknya kreatinin diawali dengan sintesis ATP. Adenosina difosfat (ATP) yang dihasilkan dari proses glikolisis dan fosforilasi oksidatif ini akan bereaksi dengan kreatinin kemudian membentuk ADP dan fosfokreatin yang mengandung ikatan fosfat energi tinggi (lebih tinggi dari ATP). Fosfokreatin dan ATP memiliki hubungan yang reversible karena apabila banyak terdapat ATP dalam sel, maka sebagian akan dirubah menjadi fosfokreatin sehingga membentuk cadangan energi. Sebaliknya, bila ATP mulai habis maka energi dalam fosfokretin akan ditransfer kembali dalam bentuk ATP. Kreatin fosfat yang dihasilkan akan membentuk kreatin yang akan selanjutnya difiltrasi oleh glomerulus, sebagian kecil di filtrasi oleh tubulus proksimal dan disekresikan oleh ginjal (Sacher dan Richard, 2004).

Kreatinin yang dihasilkan didalam tubuh dapat digunakan untuk mengevaluasi fungsi glomerulus dengan cara melakukan pemeriksaan serum kreatinin. Pemeriksaan serum kreatinin sebagai indeks laju filtrasi glomerulus lebih baik dibanding dengan pemeriksaan ureum karena kecepatan produksi kreatinin pada massa otot hanya sedikit mengalami perubahan karena pada umumnya kreatinin tidak begitu terpengaruh oleh protein. Meningkatnya kreatinin dalam darah dan urin merupakan tanda adanya kerusakan fungsi ginjal.

Peningkatan kreatinin terjadi pada gagal ginjal akut dan kronis, nefropati diabetik dan gagal jantung kongesti (Sutedjo, 2009).

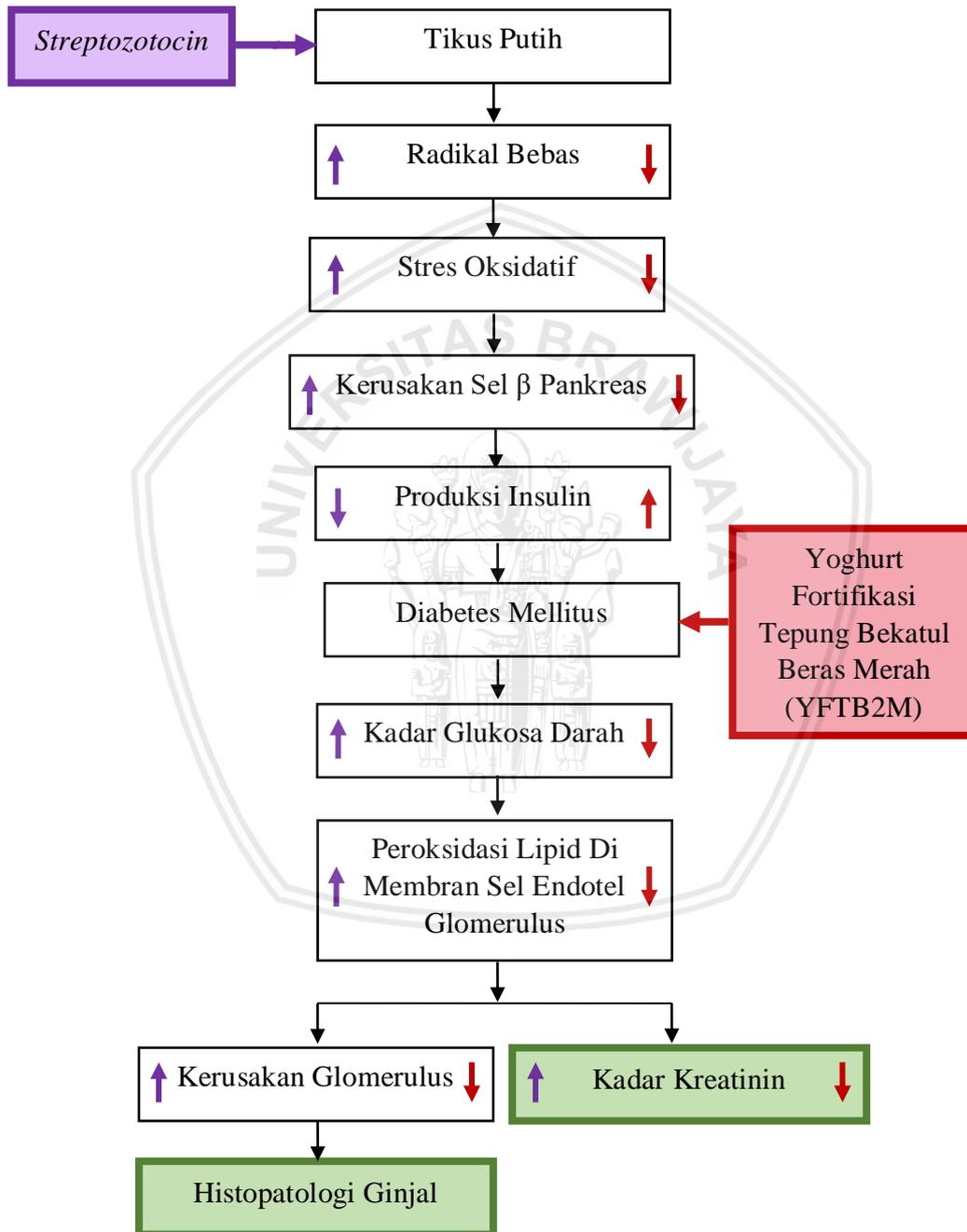
Pemeriksaan kreatinin memiliki beberapa metode seperti *Jaffe Reaction*, yaitu pemeriksaan dalam suasana alkalis, kreatinin dengan asam prikat akan membentuk senyawa berwarna kuning jingga menggunakan alat *photometer*. Selain itu, dapat menggunakan metode kinetik yang dsarnya hampir sama dengan metode *Jaffe Reaction*, hanya saja metode ini membutuhkan pembacaan menggunakan alat *autoanalyzer*. Metode enzimatik, metode ini dalam pemeriksaan sampelnya terdapat subtrat yang nantinya akan bereaksi dengan enzim membentuk senyawa enzim substrat dan alat yang digunakan berupa *photometer* (Sacher dan Richard, 2004).



## BAB 3 KERANGKA TEORI DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Teori dan Konsep Penelitian

#### 3.1.1 Kerangka Teori Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Teori Penelitian

Keterangan:

↑↓ : Efek Streptozotocin

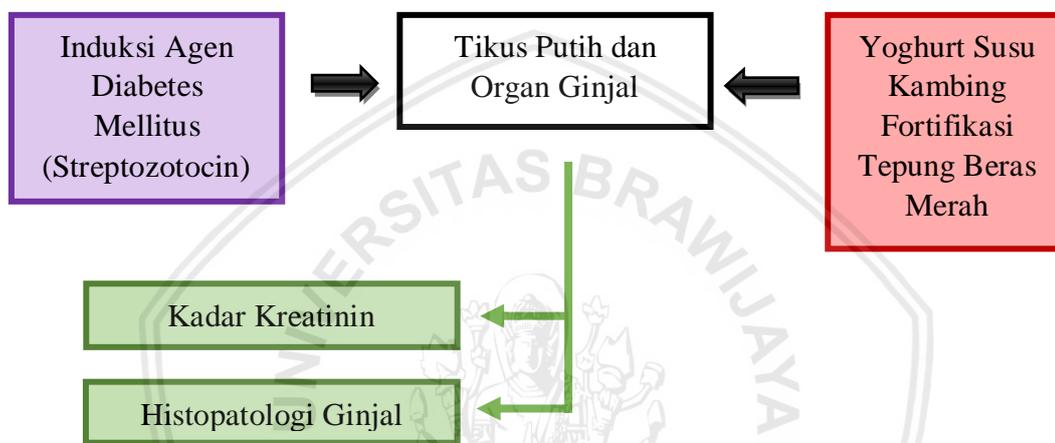
↑↓ : Efek Terapi YFTB2M

□ : Induksi Streptozotocin

□ : Terapi YFTB2M

□ : Parameter yang diteliti

### 3.1.2 Kerangka Konsep Penelitian



**Gambar 3.2** Kerangka Konsep Penelitian

Pembuatan hewan model diabetes mellitus dengan induksi menggunakan agen diabetogenik yaitu *streptozotocin* (STZ) ke tubuh tikus melalui intraperitoneal. *Streptozotocin* mengalami metabolisme dalam sel  $\beta$  pankreas melalui transpoter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasilkan perubahan DNA sel  $\beta$  pankreas melalui alkilasi DNA sehingga terjadi kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Selain itu, STZ juga meningkatkan oksigen reaktif yang berdampak pada penghambatan siklus krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel  $\beta$  pankreas, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin.

Kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas menyebabkan produksi insulin menurun dan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) dimana keadaan ini dapat menjadi indikator diabetes mellitus. Hiperglikemia pada penderita DM menyebabkan autoglukosidase glukosa, glikasi non-enzimatis, dan mekanisme jalur poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif memicu terjadinya peningkatan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada beberapa jaringan seperti ginjal. Hal ini menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid di membran sel endotel glomerulus, fibrosis pembuluh darah, penurunan fungsi ginjal, pembentukan produk AGE's yang memicu ekspansi matriks mesangial sehingga membuat terjadinya kerusakan struktur ginjal serta menurunkan fungsi filtrasi dari glomerulus dan menyebabkan kadar ureum dan kreatinin serum meningkat.

Untuk menurunkan kadar kreatinin dan kerusakan pada ginjal dapat dilakukan terapi dengan antioksidan dan serat tinggi yang diperoleh dari konsumsi yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah. Antioksidan berperan dalam pengobatan diabetes mellitus untuk menghambat kerusakan lebih lanjut pada sel  $\beta$  pankreas dan kerusakan sel seperti obstruksi pada saluran urinari. Adanya penurunan pembentukan oksigen reaktif menyebabkan peroksidase lipid pada membran sel endotel glomerulus berkurang serta terjadi perbaikan jaringan dan vaskular sehingga dapat memperbaiki kerusakan dalam fungsi filtrasi glomerulus dan menyebabkan kadar kreatinin menurun. Selain itu, dengan adanya serat tinggi mampu memperlambat penyerapan glukosa dan lemak sehingga secara tidak langsung menurunkan difusi membuat kadar glukosa darah,

profil lipid dan kolestrol menurun.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah sebagai tindakan terapi diabetes mellitus mampu menurunkan kadar kreatinin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus.
- b. Pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah sebagai tindakan terapi diabetes mellitus mampu memperbaiki kerusakan pada organ ginjal berdasarkan gambaran histopatologi ginjal pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus.

## BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April–Juni 2019. Pembuatan yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner FKH Universitas Brawijaya, Malang. Pemeliharaan hewan coba dan perlakuan dilakukan di Laboratorium Institut Biosains Universitas Brawijaya, Malang. Pembuatan preparat histopatologi ginjal dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Malang dan pengukuran kadar kreatinin dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik FK Universitas Brawijaya, Malang.

### 4.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar. Tikus putih yang digunakan berumur 8-12 minggu. Berat badan tikus putih antara 150-200 gram. Sampel penelitian terbagi ke dalam lima kelompok. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer dalam Abrianto (2018), sebagai berikut:

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan, untuk lima macam kelompok perlakuan dibutuhkan jumlah ulangan 4 kali setiap kelompok, sehingga dalam penelitian ini diperlukan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sejumlah 20 ekor.

### 4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis Rencana Acak Lengkap (RAL) dan bersifat *True Experimental*. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terdiri dari lima kelompok meliputi kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3. Setiap kelompok penelitian terdiri atas 5 ekor tikus dengan perlakuan sebagai berikut:

**Tabel 4.1** Rancangan Penelitian.

Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
K-	K-.1	K-.2	K-.3	K-.4	$\sum_1^5 K -$	$\frac{\sum_1^5 K -}{5}$
K+	K+.1	K+.2	K+.3	K+.4	$\sum_1^5 K +$	$\frac{\sum_1^5 K +}{5}$
P1	P1.1	P1.2	P1.3	P1.4	$\sum_1^5 P1$	$\frac{\sum_1^5 P1}{5}$
P2	P2.1	P2.2	P2.3	P2.4	$\sum_1^5 P2$	$\frac{\sum_1^5 P2}{5}$
P3	P3.1	P3.2	P3.3	P3.4	$\sum_1^5 P3$	$\frac{\sum_1^5 P3}{5}$

#### Keterangan:

Kelompok Negatif : Tanpa diberi perlakuan

Kelompok Positif : *Streptozotocin* 45 mg/kgBB

Tikus Perlakuan P1 : *Streptozotocin* 45 mg/kgBB + Yoghurt  
susu kambing fortifikasi tepung bekatul

beras merah 1 mL/kgBB

Tikus Perlakuan P2 : *Streptozotocin* 45 mg/kgBB + Yoghurt  
susu kambing fortifikasi tepung bekatul

beras merah 2 mL/kgBB

Tikus Perlakuan P3 : *Streptozotocin* 45 mg/kgBB + Yoghurt  
susu kambing fortifikasi tepung bekatul

beras merah 3 mL/kgBB

**Tabel 4.2** ANOVA (*Analysis of Variance*)

S.V	df <sup>x</sup>	SS	MS <sup>xxx</sup>	F <sup>xxx</sup> Calc	F5%	F1%
<b>Treatment</b>	<b>4</b>	<b>SST</b>	<b>MST</b>	<b>MST/MSE</b>	<b>2,77</b>	<b>4,25</b>
<b>Error</b>	<b>15</b>	<b>SSE</b>	<b>MSE</b>			
<b>Total</b>	<b>19</b>					

Keterangan:

- $$\text{d.f varietas (treatment)} = t - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\text{d.f total} = nt - 1 = (4 \times 5) - 1 = 20 - 1 = 19$$

$$\text{d.f error} = \text{df total} - \text{df varietas} = 19 - 4 = 15$$
- $$\text{MS varietas} = \frac{\text{SS Varietas}}{\text{df Varietas}}$$

$$\text{MS error} = \frac{\text{SS error}}{\text{df error}}$$
- $$\text{F. Calculated} = \frac{\text{MS Varietas}}{\text{MS Error}}$$

#### 4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Variabel bebas : Induksi *Streptozotocin* dan Terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatu beras merah.
- b. Variabel tergantung : Kadar kreatinin dan histopatologi ginjal.
- c. Variabel control : Tikus putih (*Rattus norvegicus*), berat badan, jenis kelamin, pakan pellet, air minum, suhu, lingkungan, dan kondisi kandang.

#### 4.5 Materi Penelitian

##### 4.5.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, peralatan untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba yaitu kandang tikus, tempat pakan, tempat minum, timbangan tikus, *thermometer* digital, dan sonde lambung. Peralatan untuk pembuatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah menggunakan kompor, baskom, gelas ukur, *thermometer* raksa, timbangan digital, mikropipet, mortir, sendok kaca pengaduk, panci, inkubator, dan lemari pendingin. Pengambilan darah hewan coba membutuhkan peralatan *sprit*, *needle*, dan tabung venoject. Pengukuran kadar kreatinin total membutuhkan tabung venoject merah, mikropipet, tabung reaksi, *waterbath*, *sentrifuge*, *timer*, *sprit* 3 mL, dan spektrofotometer. Preparasi organ ginjal membutuhkan seperangkat alat bedah, silet, pot sampel, *hand glove*, dan masker. Pembuatan preparat histopatologi ginjal membutuhkan

pisau scalpel, pinset, talenan, saringan, *tissue cassette*, mesin *processor* otomatis, mesin *vaccum*, mesin bloking, *freezer* (-20°C), mesin *microtome*, pisau *microtome*, *waterbath*, *object glass*, *cover glass*, dan mikroskop cahaya.

#### 4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, bahan untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, pakan pellet, air minum, dan desinfektan. Bahan untuk pembuatan yoghurt yaitu susu kambing, tepung bekatul beras merah, starter, *aluminium foil*, dan kapas. Bahan untuk pengukuran kadar kreatinin yaitu sampel serum dan asam prikat. Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi ginjal yaitu organ ginjal, formalin 10%, NaCl fisiologis 0,9%, alkohol asam 1%, alkohol bertingkat 70%, 80%, dan 96%, xylol, paraffin, dan pewarna Hematoxylin-Eosin.

#### 4.6 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Persiapan hewan coba
2. Pembuatan hewan model diabetes mellitus dengan *streptozotocin single high dose*
3. Pembuatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah
4. Perlakuan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)
5. Koleksi darah, *euthanasia* dan preparasi organ ginjal
6. Penentuan kadar kreatinin
7. Pembuatan dan pengamatan preparat histopatologi ginjal

## 8. Analisis data

### 4.7 Prosedur Kerja

#### 4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan. Tikus putih berumur 8-12 minggu dengan berat badan sekitar 150-200 gram. Tikus putih diadaptasikan selama tujuh hari sebelum perlakuan. Masa adaptasi atau aklimatisasi ini bertujuan untuk meminimalkan stres pada hewan coba dan hewan coba dapat mengekspresikan tingkah laku alami. Tikus putih dikandangkan dalam box berukuran  $P \times L \times T$  ( $30 \times 50 \times 12$ )cm, terdiri dari 5 box yang berisi masing-masing 4 tikus putih, dan terbuat dari bahan plastik yang mudah dibersihkan dan difasilitasi botol minum tikus (*nipple*) yang berisi air mineral secara *ad-libitum*, dan pakan standar dan serbuk gergaji sebagai alas. Tikus putih diletakkan pada tempat bebas dari polutan, asap industri, suara bising, sinar matahari langsung, dan memiliki ventilasi udara yang baik.

#### 4.7.2 Pembuatan Hewan Model Diabetes Mellitus dengan STZ

Tikus DM diperoleh dengan cara induksi STZ yang dilarutkan pada *citrate-buffer* saline dengan pH 4,5 lalu diinduksikan secara intraperitoneal tikus dengan single high dose 45 mg/kgBB yang sebelumnya tikus dipuasakan selama 12 jam, kemudian penentuan kondisi diabetes diukur 3 hari pasca induksi STZ dengan glukometer digital yaitu dengan memberi perlakuan pada vena coccygea tikus dengan cara ditusuk dengan spuit 1 mL, tetesan darah yang keluar diposisikan pada rangkaian glukometer dan stik sehingga

memunculkan kadar glukosa darah pada layar glucometer. Tikus dengan kadar gula darah puasa 200-400 mg/dL menandakan bahwa tikus tersebut mengalami diabetik sedang (Saputra et al, 2018).

#### **4.7.3 Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah**

Yoghurt (produk fermentasi susu) dibuat dari susu kambing yang diperoleh dari Dr.Goat Batu, Malang. Susu kambing tersebut kemudian dipasteurisasi dengan High Temperatur Short Time (HTST) suhu 72°C selama 15 detik untuk membunuh semua mikroorganisme patogen, dan hanya menyebabkan kerusakan sekecil mungkin terhadap komponen susu. Selanjutnya susu hasil pasteurisasi didiamkan hingga suhu 45°C dan dilanjutkan dengan inokulasi mother culture 3% yang digunakan untuk memproduksi biakan BAL dan tepung bekatul beras merah 4% (Sugianyar dan Fawzan, 2015) kemudian homogenkan. Setelah homogen di inkubasi pada suhu 45 °C suhu ini merupakan suhu optimal untuk biakan dan perumbuhan BAL, inkubasi dilakukan selama 2-3 jam hingga pH mencapai 4,5-5 sampai diperoleh keasaman, bau, dan rasa yang khas. Simpan yoghurt dilemari pendingin.

#### **4.7.4 Perlakuan pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (A), kelompok kontrol positif (B) dengan induksi *streptozotocin* untuk mengkondisikan hewan dalam keadaan DM, kelompok perlakuan 1 (C) dengan induksi *streptozotocin* 45 mg/kgBB dan terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 1

mL/kgBB, kelompok perlakuan 2 (D) dengan induksi *streptozotocin* 45 mg/kgBB dan terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 2 mL/kgBB, kelompok perlakuan 3 (E) dengan induksi *streptozotocin* 45 mg/kgBB dan terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 3 mL/kgBB (**Lampiran 1**).

#### **4.7.5 Koleksi Darah dan Preparasi Organ Ginjal**

Koleksi darah dilakukan pada semua kelompok perlakuan pada hari ke-22. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) terlebih dahulu di anastesi kemudian dilakukan pembedahan dan kemudian dilakukan pengambilan darah melalui intracardial menggunakan spuit 3cc. Darah ditampung pada tabung *venoject* merah tanpa EDTA untuk koleksi serum.

Preparasi organ ginjal dilakukan pada semua kelompok perlakuan pada hari ke-22. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang telah di anastesi dan pembedahan tikus akan mengalami kematian akibat proses pengambilan darah melalui intracardial sehingga tubuh banyak kehilangan darah, organ ginjal diambil dan dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9%. Selanjutnya organ ginjal disimpan pada pot sampel yang berisi larutan *formaldehyde* 10%.

#### **4.7.6 Penentuan Kadar Kreatinin**

Alat yang digunakan untuk menganalisa kadar kreatinin serum adalah mikrolab 200 Merck®. Kadar kreatinin dinyatakan dalam satuan mg/dL. Nilai normal kreatinin pada tikus 0,3-0,5 mg/dL. Pemeriksaan kadar kreatinin dilakukan untuk mengukur tingkat keparahan kerusakan ginjal. Pengukuran

kadar kreatinin serum dilakukan di Laboratorium Patologi FK Universitas Brawijaya, Malang.

Penetapan kadar kreatinin serum: Analisa serum kreatinin dilakukan dengan cara mencampur 1000  $\mu\text{L}$  reagen *Sodium Hidroxide* dengan 50  $\mu\text{L}$  serum darah tikus, divorteks selama 5 detik, lalu didiamkan selama dua menit. Setelah itu ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  reagen *Picric Acid* , divorteks selama lima detik dan dibaca resapan setelah satu menit (Silitonga, 2013).

#### **4.7.7 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histopatologi Ginjal**

Pembuatan preparat histopatologi ginjal terdiri dari beberapa tahapan yaitu fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *sectioning*, dan *staining*.

##### **a. Fiksasi**

Fiksasi merupakan proses untuk mengawetkan organ atau jaringan. Organ ginjal difiksasi dengan memasukkan kedalam pot sampel berisi formalin 10% selama 18-24 jam, untuk membunuh bakteri-bakteri khususnya bakteri pembusuk.

##### **b. Dehidrasi**

Dehidrasi merupakan proses pengeluaran cairan dari dalam jaringan yang difiksasi. Sampel organ ginjal di *trimming* 1 x 1 cm kedalam *tissue cassette*. Jaringan di *tissue cassette* dimasukkan kedalam aquades selama 1 jam, kemudian di dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 95%, dan etanol absolut I, II, III masing-masing selama 1 jam.

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

Penjernihan (*clearing*) merupakan proses mengeluarkan alkohol dari jaringan sehingga paraffin dapat masuk ke dalam jaringan. Proses *clearing* dilakukan dengan memasukkan jaringan di *tissue cassette* kedalam larutan *xylol* I, II, dan III masing-masing selama 20 menit. Selanjutnya sampel di *tissue cassette* dimasukkan kedalam paraffin cair I, II, III pada suhu 58-60°C.

d. *Embedding*

*Embedding* merupakan proses pemadatan sampel jaringan menggunakan paraffin. *Tissue cassette* dari paraffin III ditaruh diatas kompor listrik dan jaringan ginjal dikeluarkan dari *tissue cassette*. Paraffin IV cair dituang kedalam cetakan paraffin, kemudian jaringan ginjal ditanam pada cetakan paraffin dan ditutup dengan *tissue cassette*.

e. Pemotongan (*Sectioning*) dan Penempelan pada *Object Glass*

Pemotongan (*Sectioning*) merupakan proses pemotongan jaringan pada blok paraffin menggunakan mikrotom. Blok paraffin yang berisi jaringan ginjal dipasang pada alat mikrotom. Blok paraffin dipotong dengan ketebalan 5 mikron. Potongan diletakkan pada *object glasspoly-1-lysin slide*. Potongan diletakkan diatas hot plate 38-40°C hingga kering.

f. Pewarnaan (*Staining*)

Pewarnaan (*Staining*) merupakan proses pewarnaan preparat menggunakan pewarna *Hematoksilin-Eosin* (HE). Pewarnaan hematoksilin dilakukan untuk memberikan warna pada inti sel. Sedangkan pewarnaan eosin dilakukan untuk memberikan warna pada sitoplasma sel.

#### g. Pengamatan

Pengamatan preparat histopatologi ginjal dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX51 dengan perbesaran 100x hingga 400x. Pengamatan dilakukan dengan mengamati bagian korteks ginjal yaitu pada glomerulus.

#### 4.7.8 Analisis Data

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar kreatinin dan gambaran histopatologi ginjal. Analisis data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif yang digunakan yaitu pemeriksaan kadar kreatinin menggunakan uji ANOVA dengan taraf kepercayaan  $\alpha = 0,05$  dan dilakukan analisis lanjutan dengan uji *Tukey* menggunakan aplikasi SPSS 21.0. Data kualitatif yang digunakan yaitu gambaran histopatologi ginjal yang akan dianalisis dan disajikan secara deskriptif.

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah terhadap Kadar Kreatinin Tikus Putih DM Induksi STZ

Hiperglikemia pada pasien DM menyebabkan keadaan stres oksidatif, dimana terjadi ketidak seimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) terhadap antioksidan. Stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid di membran sel endotel glomerulus, hal ini menyebabkan kerusakan pada ginjal sehingga fungsi filtrasi glomerulus menurun menyebabkan kadar kreatinin meningkat. Berikut ini adalah hasil uji statistika kadar kreatinin serum:

**Tabel 5.1** ANOVA (*Analysis of Variance*) Kadar Kreatinin

S.V	df <sup>x</sup>	SS	MS <sup>xxx</sup>	F <sup>xxx</sup> Calc	F5%	F1%
Treatment	4	0,352	0,088	7,333	2,77	4,25
Error	15	0,178	0,012			
Total	19	0,530				

Data uji pada **Tabel 5.1** menunjukkan  $F_{calc} (7.333) > F_{tabel} 1\% (4,25)$ . Dari hasil diatas  $F_{calc} > F_{tabel}$  menunjukkan pengaruh yang sangat nyata sehingga dapat disimpulkan bahwa pada perlakuan terdapat perbedaan sangat signifikan ( $P < 0,01$ ) terhadap penurunan kadar kreatinin. Hasil uji statistika kadar kreatinin secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran 7**. Analisa dilanjutkan dengan uji *tukey* atau BNJ (Beda Nyata Jujur) guna membandingkan rata-rata setiap kelompok perlakuan dari perbedaan notasi yang ada. Hasil uji *tukey* dapat dilihat pada **Tabel 5.2**

**Tabel 5.2** Rata-rata, Standar Deviasi, Uji *Tukey* dan peningkatan-penurunan kadar kreatinin tikus putih pada masing-masing kelompok perlakuan.

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Kadar Kreatinin mg/dL $\pm$ SD	Peningkatan Terhadap (K-)	Penurunan Terhadap (K+)
Kontrol Negatif (K-)	0,4 $\pm$ 0,0816 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol Positif (K+)	0,75 $\pm$ 0,1291 <sup>c</sup>	0,875%	-
Tikus Perlakuan (P1)	0,7 $\pm$ 0,1414 <sup>bc</sup>	-	0,067%
Tikus Perlakuan (P2)	0,5 $\pm$ 0,0816 <sup>ab</sup>	-	0,333%
Tikus Perlakuan (P3)	0,675 $\pm$ 0,0957 <sup>bc</sup>	-	0,100%

Keterangan : Perbedaan notasi a,b,c menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,01$ ) antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa pemberian terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah secara signifikan menurunkan presentase kadar kreatinin ( $P < 0,01$ ) pada tikus putih hewan model DM hasil induksi STZ. Hasil lanjutan dengan menggunakan uji *Tukey* menunjukkan terjadi peningkatan presentase kadar kreatinin yang signifikan ( $P < 0,01$ ) pada kelompok tikus kelompok (K+) jika dibandingkan dengan kelompok (K-), (P1), (P2), dan (P3). Kelompok perlakuan (P1), kelompok perlakuan (P3) berbeda signifikan terhadap (K-) ditandai dengan adanya peningkatan kadar kreatinin sebesar 0,067% (P1) dan 0,100% (P3) terhadap kelompok (K-).

Pada kelompok perlakuan (P2) dengan dosis 2 mL/kgBB merupakan dosis optimal karena memiliki kesamaan signifikan terhadap kadar kreatinin pada kelompok (K-) dan perbedaan signifikan terhadap kadar kreatinin kelompok (K+) dengan presentase penurunan kadar kreatinin lebih besar dari kelompok perlakuan (P1) dan (P3) sebesar 0.333% terhadap kelompok (K+).

Pada kelompok tikus (K-) tanpa perlakuan khusus memiliki kadar kreatinin yaitu 0,4 mg/dL dimana kadar kreatinin tersebut dalam darah merupakan kadar normal hal ini telah sesuai dengan pendapat Giknis and Clifford (2008) bahwa kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,3-0,5 mg/dL. Berbeda dengan kelompok perlakuan tikus (K+) dengan pemberian STZ singel dose 45 mg/kgBB menunjukkan kadar kreatinin 0,75 mg/dL dimana terjadi kenaikan kadar kreatinin dalam darah diatas kadar normalnya. Terjadinya kenaikan kadar kreatinin pada pasien DM dikarenakan terjadinya dampak dari kerusakan ginjal yang ditimbulkan oleh keadaan DM. Ma'sumah dkk (2014) menyatakan didalam tubuh protein disimpan dalam otot, kemudian dimetabolisme sel otot dan dirubah menjadi kreatinin dalam darah. Ginjal akan membuang kreatinin dari darah ke urin. Apabila fungsi ginjal menurun, kadar kreatinin akan meningkat di dalam darah. Peningkatan kadar kreatinin merupakan salah satu dampak dari komplikasi kronik mikrovaskular yaitu *nefropati diabetika* akibat dari gangguan metabolisme pasien DM. *Nefropati diabetika* merupakan suatu keadaan dimana ginjal mengalami penurunan fungsi dan terjadinya kerusakan pada selaput penyaring darah yang disebabkan oleh kadar gula darah yang tinggi dalam aliran darah (Padma dkk, 2017).

Terapi menggunakan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dapat menurunkan kadar kreatinin yang ditunjukan melalui kadar kreatinin *post*-terapi. Meskipun volume pemberian (P1), (P2), dan (P3) menyebabkan penurunan kreatinin dalam darah, tetapi pada kelompok (P2) menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kelompok (K+) dibandingkan

dengan kelompok (P1) dan (P3). Keadaan ini disebut *dose-dependent biphasic effect* dimana pada dosis rendah suatu zat dapat berpengaruh baik dan pada dosis lebih tinggi terjadi efek yang berlawanan (Visser dkk, 2002) hal ini merupakan faktor yang mempengaruhi perbedaan yang bermakna pada kelompok (P2) dan (P3).

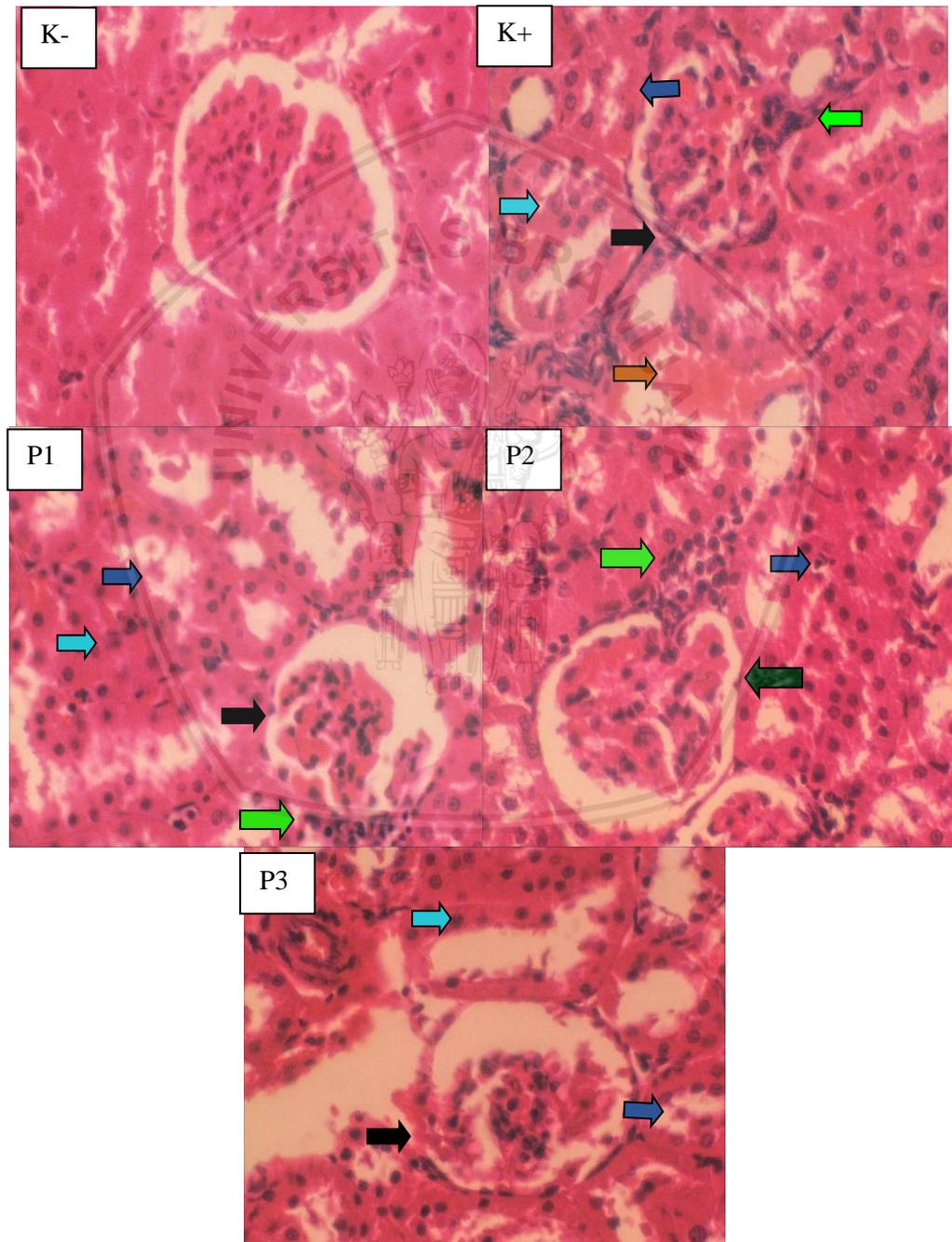
Dari ketiga kelompok perlakuan, kelompok (P2) merupakan kelompok pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah yang paling efektif memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar kreatinin dengan dosis pemberian 2 mL/kgBB. Penurunan kadar kreatinin ditunjukkan oleh pemberian yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dimana kadar kreatinin lebih rendah dibandingkan kelompok (K+). Hal ini diduga karena yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah mengandung serat dan berbagai macam antioksidan seperti peptida bioaktif, flavonoid, fenol,  $\gamma$  oryzanol, tokoferol, tokotrienol, antosianin, dan proantosianin (Setyaningrum, 2017 dan Taurita dkk, 2017). Pada pasien DM dalam kondisi hiperglikemik menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel endotel glomerulus dan terjadi peningkatan produk AGE's pada ginjal hal ini menyebabkan kerusakan pada ginjal seperti ekspansi matrix mesangial dan fibrosis sehingga fungsi filtrasi pada glomerulus menurun dan menyebabkan kadar kreatinin dalam darah meningkat (Robbins dkk, 2003). Adanya aktivitas dari antioksidan tinggi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah tersebut berfungsi dalam perbaikan transpor glukosa dan sensitivitas insulin serta sebagai penghambat peroksidasi

lipid, mengurangi pembentukan AGE's, menjaga fungsi vasodilatasi pembuluh darah dengan cara menangkap atau menetralkan radikal bebas untuk mencegah modifikasi dari lipid, DNA, dan protein sehingga dapat memperbaiki keadaan jaringan yang rusak pada struktur ginjal (Taurita dkk, 2017) (Setiawan, 2005). Selain itu, flavonoid dan fenol memiliki fungsi dalam diuretikum sehingga meningkatkan laju filtrasi glomerulus pada pasien DM (Sari, 2016). Perubahan kadar kreatinin tersebut dikarenakan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah merupakan minuman multifungsional yang mengandung nutrisi lengkap sebagai prebiotik dan probiotik yang baik untuk tubuh. Kandungan-kandungan yang ada dalam yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat membantu pencegahan kerusakan ginjal lebih lanjut lagi dengan meningkatkan metabolisme tubuh sehingga kreatinin dapat dikeluarkan dengan baik oleh ginjal.

## **5.2 Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih DM Induksi STZ**

Histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada masing – masing kelompok diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Hasil pengamatan selanjutnya dijelaskan secara deskriptif kualitatif. Adapun bagian yang diamati yaitu glomerulus, tubulus kontortus proksimal, tubulus kontortus distal dan juga ruang Bowmann. Ginjal tersusun atas unit – unit fungsional kecil yang disebut nefron. Unit nefron terdiri dari glomerulus, tubulus kontortus proksimal, tubulus kontortus distal, lengkung henle, dan tubulus kolektivus. Daerah perifer ginjal dibentuk oleh susunan teratur saluran mikroskopis nefron. Sekitar 80% nefron di ginjal berada pada darah korteks

dan didominasi oleh glomerulus, tubulus kontortus proksimal, dan tubulus kontortus distal, sedangkan 20% nefron berada di medula didominasi oleh lengkung henle dan tubulus kolektifus (Silverthron, 2014). Berikut ini merupakan gambaran mikroskopis ginjal pada setiap kelompok perlakuan:



**Gambar 5.1** Gambaran mikroskopis ginjal kelompok K+, K-, P1, P2, dan P3 perbesaran 400x.

**Keterangan:**

- ➡ Nekrosis tubulus
- ➡ Hemoragi
- ➡ Infiltrasi sel radang
- ➡ Degenerasi cloudy swelling sel tubulus
- ➡ Adhesi glomerulus dan kapsul bowman
- ➡ Perbaikan glomerulus

Hasil pengamatan pada histopatologi ginjal tikus kelompok kontrol negatif (K-) menunjukkan kondisi ginjal dalam keadaan normal, terdiri atas glomerulus yang dikelilingi kapsula Bowman, tubulus kontortus proksimal, dan tubulus kontortus distal. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya ditemukan kerusakan pada glomerulus, epitel kapsula bowman berbentuk skuamus simpleks, dan terdapat ruang antara glomerulus dan kapsula Bowman yang disebut *Bowmann space*, epitel tubulus kontortus berbentuk kuboid simpleks dengan inti sel dan batas antar sel terlihat jelas, berikut juga dengan lumen tubulusnya (Mescher, 2016) (**Gambar 5.1**).

Glomerulus merupakan bagian dari nefron yang berfungsi dalam proses filtrasi darah. Struktur glomerulus tersusun atas anyaman kapiler yang dilapisi oleh lapisan tipis sel endotel, sel matriks mesangial, sel epitel khusus yang disebut podosit dan juga membran basal (Mescher, 2016). Pada tubulus ginjal terdapat perbedaan yang nampak antara tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal yaitu dilihat pada ukuran sel, mikrofili dan bentuk lumen. Kedua tubulus sama-sama tersusun atas epitel kuboid simpleks, namun tubulus proksimal

memiliki sel yang lebih besar, dengan mikrofil yang panjang, dan lumen tubulus kontortus proksimal terlihat berbentuk lonjong dan terkadang terlihat berisi. Sedangkan pada tubulus kontortus distal, sel epitel lebih kecil ukurannya dengan mikrofil yang pendek, lumen berbentuk bulat dan tampak kosong (Mescher, 2016).

Gambaran histopatologi kelompok kontrol positif (K+) yaitu tikus putih hewan model DM tipe 1 yang diberi paparan STZ 45 mg/kgBB secara intraperitoneal menunjukkan perubahan mikroskopis ginjal dibandingkan (K-) seperti adhesi glomerulus dan kapsula bowman, degenerasi *cloudy swelling* pada sel epitel tubulus, hemoragi, infiltrasi sel radang, dan nekrosis pada tubulus. Diabetes mellitus menyebabkan dinding-dinding arteri dan arteriol dalam ginjal dan jaringan lainnya mengalami kerusakan (arteriosklerosis). Arteriosklerosis menyebabkan penebalan dan penyempitan dinding pembuluh darah. Akhirnya, oksigen yang sampai ke jaringan tidak cukup sehingga menyebabkan kematian sel dan berdampak pada kerusakan jaringan salah satu hal yang terlihat yaitu hemoragi (Cintari, 2008). Pada keadaan inflamasi merupakan mekanisme untuk mempertahankan dari bahaya yang mengganggu keseimbangan dan memperbaiki struktur serta gangguan fungsi jaringan yang ditimbulkan. Diabetes mellitus menyebabkan keluarnya ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (nekrosis) (Suharmiati, 2003). Nekrosis ini diawali dengan perubahan morfologi inti sel yaitu piknosis. Tahap berikutnya karioreksis yaitu pecahnya inti sel, dan setelah itu inti menghilang

(kariolisis). Pernyataan ini mendukung hasil pengamatan yang ditunjukkan gambar kelompok (K+).

Kelompok perlakuan 1 (P1) yaitu kelompok tikus DM yang diberi yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan dosis 1 mL/kgBB selama 14 hari (**Gambar 5.1**) terlihat adanya perbaikan struktur glomerulus dan infiltrasi radang, namun masih ada terlihat nekrosis tubulus, degenerasi *cloudy swelling* pada epitel tubulus. Kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan dosis 2 mL/kgBB (**Gambar 5.1**) memiliki gambaran histopatologi ginjal yang tidak jauh berbeda dengan oleh kontrol negatif. Histopatologi yang terlihat terdapat perbaikan struktur glomerulus yaitu tidak ada penyempitan pada *Bowmann's space* atau jarak antara glomerulus dan kapsula Bowman terlihat jelas dan masih terdapat infiltrasi sel radang. Hasil pengamatan pada gambaran histopatologi kelompok 3 (P3) kelompok tikus DM yang diberi yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah dengan dosis 3 mL/kgBB selama 14 hari (**Gambar 5.1**), masih ditemukan kerusakan pada *Bowmann's space* atau jarak antara glomerulus dan kapsula Bowman terlihat tidak jelas, degenerasi *cloudy swelling* pada epitel tubulus, dan nekrosis pada beberapa tubulus (**Gambar 5.1**).

Sesuai dari hasil pengamatan kelompok P1, P2, dan P3 yang ditunjukkan (**Gambar 5.1**) terlihat adanya beberapa perbaikan struktur mikroskopik ginjal tikus. Hal ini sesuai dengan Sunarti dkk (2014) bahwa produk pangan yang mengandung prebiotik dan probiotik dapat bermanfaat bagi kesehatan. Nutrisi dan

serat pada yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah dapat meningkatkan dan memperbaiki metabolisme tubuh. Pada kelompok (P2) menunjukkan perbaikan struktur glomerulus yang signifikan dan berbeda nyata terhadap kelompok (K+) dibandingkan dengan kelompok (P1) dan (P3). Keadaan ini dikarenakan *dose-dependent biphasic effect* dimana pada dosis rendah suatu zat dapat berpengaruh baik dan pada dosis lebih tinggi terjadi efek yang berlawanan (Visser dkk, 2002) hal ini merupakan faktor yang mempengaruhi perbedaan yang bermakna pada kelompok (P2) dan (P3) dalam perbaikan struktur glomerulus ginjal dengan terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah.

Yoghurt susu kambing memiliki kandungan gizi yang cukup lengkap (protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, vitamin B kompleks, dan vitamin E) dan probiotik (bakteri asam laktat) (Larassati, 2017). Kandungan antioksidan dari vitamin dan pemecahan protein dari BAL yoghurt susu kambing berperan dalam peningkatan mobilisasi EPC (sel progenitor endotel) dari *bone marrow* sehingga dapat memperbaiki jaringan beserta vaskularisasinya, menghambat oksidasi askorbat, mengikat ion logam, mengurangi aktivitas dan menangkap radikal anion peroksida, hydrogen peroksida, radikal bebas serta menghambat oksidasi lipid (Rosiana dan Khoiriyh, 2018). Selain itu protein yang cukup tinggi dari yoghurt susu kambing juga membantu berperan dalam pembentukan jaringan (Larassati, 2017).

Dengan adanya fortifikasi tepung bekatul beras merah membuat yoghurt juga mengandung fungsi prebiotik. Tepung bekatul beras merah sendiri

mempunyai kandungan gizi pati, protein, lemak, vitamin, mineral, serat dan berbagai kandungan bioaktif seperti asam fenolik, flavonoid, antosianin, proantosianin, tokoferol, dan  $\gamma$  oryzanol (Damayanthi, 2007). Beberapa kandungan bioaktif ini berperan sebagai antioksidan yang melindungi tubuh dari radikal bebas melalui mekanismenya. Flavonoid,  $\gamma$  oryzanol, dan tokoferol dalam tubuh berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, antivirus, anti-aterosklerosis, kardioprotektif, sitotoksik, antineoplastik, antidiabetes, dan anti-inflamasi (Formica dan Regelson, 1995 dan Damayanthi, 2007). Antioksidan merupakan zat yang mampu mematikan zat yang lain yang membuat sel menjadi rapuh dan mampu memperbaiki sel yang rusak. Bagi pasien DM, antioksidan dapat menurunkan peroksida lipid sehingga kerusakan jaringan akibatnya dapat diminimalkan (Kaviarasan dkk, 2008). Serat dari fortifikasi tepung bekatul beras merah juga membantu untuk memperlambat penyerapan glukosa dan lemak dengan cara meningkatkan kekentalan feses yang secara tidak langsung menurunkan difusi sehingga kadar glukosa darah, profil lipid dan kolesterol menurun (Sulistiyani, 2012).

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 2 mL/kgBB mampu menurunkan kadar kreatinin darah secara signifikan pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi streptozotosin dosis 45 mg/kgBB.
2. Pemberian yoghurt susu kambing dengan fortifikasi tepung bekatul beras merah 4% dengan volume pemberian 2 mL/kgBB berpengaruh terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*), ditandai dengan adanya perbaikan struktur glomerulus, perbaikan *Bowmann space* pada kelompok perlakuan terapi.

### 6.2 Saran

Diperlukan penelitian yang lebih lanjut dalam parameter pendukung seperti pemeriksaan kadar insulin dan tentang pemberian terapi yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah yang lebih lama sehingga nantinya dapat mengetahui pengaruh jangka panjang terapi tersebut dalam tubuh.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abrianto, B. 2018. *Efek Pencegahan Arang Aktif Terhadap Kadar Low Density Lipoprotein (LDL) dan Gambaran Histopatologi Duodenum pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Model Hiperkolesterolemia* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Adolfsson, O., S. N. Meydani and R. M. Russell. 2004. *Yogurt and Gut Function*. Am. J. Clin. Nutr. 80 (2), 245-256.
- Aja, D.S. 2016. *Section One Diabetes Mellitus*. In : State of Pet Health 2016 Report. Banfielt Pet Hospital., California
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press. Jakarta. 1-7.
- American Diabetes Association (ADA). 2004. *Hypertension Management in Adults with Diabetes (Position Statement)*. 1: 65-7
- Baird, Marianne Saunorus dan Susan Bethel. 2014. *Manual of Critical Care Nursing: Nursing Interventions and Collaborative Mannagement* (6th ed.)
- Bilous, R. dan Donelly, R. 2014. *Buku Pegangan Diabetes* Edisi Ke 4. Jakarta: Bumi Medika
- Chelzea, Verhoeven and Wirawanni, Yekti. 2015. *Pengaruh Pemberian Selai Kacang Tanah dengan Substitusi Bekatul Merah terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Diabetes*. Undergraduate thesis, Diponegoro University.
- Cintari, L. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Ceplikan (Ruellia tuberosa L) terhadap Kadar Kreatinin dan Ureum dalam Serum serta Gambaran Histologis Ginjal Tikus Putih (Rattus novergicus) Diabetes Melitus*.Thesis. Program Studi Ilmu dan Kesehatan Masyarakat.UGM, Yogyakarta.

- Damardjati D. S., Widowati, S., N. Azizah, dan L. Sukarno. 2000. *Produksi Fitase dari Bacillus coagulans E.1.4.4. dan Aplikasinya untuk Memperbaiki Gizi Bekatul*. [http://Buletin Agrobio 4\(1\): 33 – 38](http://Buletin Agrobio 4(1): 33 – 38).
- Damayanthi, E., Tjing, L. T., dan Arbianto, L. 2007. *Rice Bran*. Jakarta Penebar Swadaya
- Davey, P. 2006. *At a Glance Medicine*. Jakarta: Erlangga.
- Depkes R.I., 2008. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta
- Fauziyah, Kanti Rahmi. 2016. *Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Galur Wistar Dan Sprague-Dawley* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor
- Formica, J.V. and W. Regelson. 1995. *Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. In Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review*. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*. 8:229-235.
- Gartner LP, dan Hiatt JL. 2012. *Atlas histology berwarna*. Edisi ke-5. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Giknis. L. A., and Clifford. C. B. 2008. *Clinical Laboratory Parameters for Crl:WI(Han)*. Charlesrivers, USA.
- Hidayati, A R. 2017. *Pengaruh Buah Naga Terhadap Kadar Glukosa Darah Pasien Diabetes Melitus Tipe II Di Puskesmas Temon 1 Kulon Progo Yogyakarta*. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Aisyiyah.
- Hoening, M. 2003. *Diabetes in pets*. *Diabetes Voice*. *Mol Cell Endocrinol* 29;197(1-2):221-9.
- Junqueira L.C., J.Carneiro, R.O. Kelley. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi ke-5. Tambayang J., penerjemah. Terjemahan dari Basic Histology. EGC. Jakarta.

- Kaviarasan, K., P. Kalaiarasi, and V. Pugalendi. 2008. *Antioxidant efficacy of flavonoid-rich fraction from *Spermacoce hispida* in hyperlipidemic rats*. J. Applied Biomedicine. 6:165-176.
- Kumar, V., R.S. Citran, dan S.L. Robbins. 2010. *Buku Ajar Patologi Kedokteran EGC*. Jakarta. 12 (1): 189-1.
- Larassati, Dyah Putri. 2017. *Pengaruh Substitusi Kambing Pada Susu Kedelai dan Konsentrasi Asam Asetat Terhadap Sifat Kimia dan Sensori Tahu Susu [skripsi]*. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung
- Marzeline, C.N.L.M., dan Adi, A.C. 2017. *Pengaruh Substitusi Bekatul (Rice Bran) dan Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) Terhadap Kadar Energi, Kadar Serat dan Daya Terima Pada Mini Pao*. Marzeline dan Adi. Amerta Nutr 282-290 DOI: 10.2473/amnt.vol1i4.282-290
- Ma'sumah., Prasetyono. J., I. Hanarida., T. Suhartini., dan Tasliah. 2014. *Drought From A Different Perspective: Improved Tolerance Through Phosphorus Acquisition and Developing Rice with Dual Tolerance Os Phosphorus Driciency and Aluminum Toxicity*. Laporan proyek Generation Challenge Program. BB Biogen
- Mescher, A. 2016. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas 14th Ed*. US: McGraw – Hill Education
- Mogensen, CE. 2000. *Microalbuminuria, Blood Pressure, anda Diabetic Renal Disease: Origin and development of ideas*. 5th ed. Boston Kluwer
- Nugroho, A. E. 2006. *Animal Models of Diabetes Melitus: Pathology and Mechanism of Some Diabetogenics*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM
- Nurachman, E., Angriani, R., 2011, *Dasar-dasar Anatomi dan Fisiologi*. Salemba Medika, Jakarta: 192-196.
- Padma, I. G. A. P.W. S., Arjani, I, A, M, S., dan Jirna, I, N. 2017. *Gambaran Kadar Kreatinin Serum pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 di Rumah*

*Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar. Meditory Journal Vol.5 No.2. Denpasar. Bali.*

PERKENI .2011. *Konsensus Pengelolaan dan pencegahan Diabetes Mellitus tipe 2 tipe 2 di Indonesia.* Jakarta.PB PERKENI.

Prisilia, D. 2009. *Penggunaan Lactobacillus rhamnosus Isolat Asi Sebagai Kultur Starter Untuk Pengembangan Produk Yoghurt.* Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.

Rahman, A., S. Fardiaz., W. P. Rahayu., Suliantari, C., dan C. Nurwitri. 1992. *Teknologi Fermentasi Susu.* Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.

Robbins, S.J., Cotran, R.S., dan Kumar Vinay. 2003. *Basic Phatology.* Edisi 7th. Philladelphia. Saunders

Rosiana, Nita M., dan Khoiriyah, Titik. 2018. *Yoghurt Tinggi Antioksidan dan Rendah Gula dari Sari Buah Apel Rome Beauty dan Madu.* Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak. Volume 13 No.2 Hal: 81-90

Sacher, R.A., dan McPherson, R.A. 2004, *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium.* EGC, Jakarta: 291-293.

Saputra, N. T., Suartha, I. N., dan Dharmayudha, A. A. G. O. 2018. *Agen Diabetagonik Streptozotosin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus.* Buletin Veteriner Udayana. Volume 10 No. 2: 116-121

Sari, D. P. 2016. *Efek Anti Diabetes Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (Tamarindusindica Linn) Terhadap Tikus Putih Jantan (Rattus Novegicus) Yang Diinduksi Streptozotocin.* Skripsi. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Pelita Mas. Palu

Satria, ES Harie., Decroli, Eva., dan Afriwardi. 2018. *Faktor Resiko Pasien Nefropati Diabetik yang Dirawat Di Bagian Penyakit Dalam RSUP DR. M. Djamil Padang.* Jurnal Kesehatan Andalas. Volume. 7 No.2

- Setiawan, Bambang., dan Suhartono, Eko. 2005. *Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Mellitus*. Maj Kedokt Indon. Volume 55 No: 2
- Setyaningrum, A. 2017. *Kasein Yoghurt Susu Kambing Sebagai Antioksidan Pada Tikus Wistar Model Intoksikasi Dioksin (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-P-Dioksin): Kajian Aktivitas Enzim Antioksidan Profil Lemak, Darah, Dan Kadar Enzim Transaminase*. Tesis. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
- Sihombing, M., dan Raflizar. 2010. *Status Gizi dan Fungsi Hati Mencit (Galur CBS-Swiss) dan Tikus Putih (Galur Wistar) di Laboratorium Hewan Percobaan PUSLITBANG Biomedis dan Farmasi*. Jakarta: Media LITBANG Kesehatan Vol. XX, No.1
- Silitonga, Rotua Winata N. 2013. *Efek Nefroprotektif Pemberian Jangka Panjang Ekstrak Etanol Biji Persea americana Mill. Terhadap Kadar Kreatinin dan Gambar Histologis Ginjal pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida* Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma
- Silverthorn, D. U. (2014). *Fisiologi Manusia ( Sebuah Pendekatan Terintegrasi) Edisi 6*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran : EGC
- Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2981-2009. *Yoghurt*. Badan Standarisasi Nasional-BSN. Jakarta
- Suckow, M. A., Steven, H.W., dan Craig, L. F. 2006. *The Laboratory Rat*. Elsevier, ed 2th. United Kingdom, Hal. 72.
- Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Melitus Tumbuhan Obat*. [http://www.kalbe.co.id/files/cdk/06\\_PengujianBioaktivitasAntiDiabetes.pdf/06\\_Pengujian Bioaktivita-Anti-Diabetes. html](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/06_PengujianBioaktivitasAntiDiabetes.pdf/06_Pengujian Bioaktivita-Anti-Diabetes. html).
- Sugianyar, I. M., Dan Fawzan S.A. 2015. *Karakteristik Yoghurt Susu Kambing dengan Penambahan Tepung Bekatul Rendah Lemak*. Bali: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP)

- Sunarti., dan Harry F. LM. 2014. *Peran Makanan Fungsional dalam Penanganan Penyakit Degeneratif dengan Pendekatan Nutrigenomik*. Prosiding Seminar Nasional *Annual Scientific meeting* pokja nutrigenomik. Yogyakarta: 3 Maret 2014
- Sulistiyani. 2012. *Sehat dengan Menu Berserat*. Jakarta: Trubus Agriwijaya.
- Taurita, M. Z. 2017. Pengembangan Bekatul Sebagai Pangan Fungsional: Peluang, Hambatan, dan Tantangan. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor
- Triandita, N., Putri, N. E., Zakaria, F. R., dan Prangdimurti, E. 2016. *Perbaikan Status Antioksidan Penderita Diabetes Tipe 2 dengan Tahu Kedelai Hitam Kaya Serat*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Institut Pertanian Bogor. Vol 27(2): 123-130.
- WHO. 2009. *Diabetes*. <http://www.who.int/>. (12 April 2019)
- Widowati, Wahyu. 2008. *Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes*. Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran Universitas Kristen Maranatha, Bandung. JKM. Volume.7 No.2
- Wulandari, R. 2017. *Kualitas es krim yoghurt sinbiotik dengan kombinasi umbi gembili (*Dioscorea esculenta*) dan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* var. *ayamurasaki*)* [Skripsi]. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta.



# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 1115-KEP-UB

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

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

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

PENELITI : AJENG ERIKA PRIHASTUTI HASKITO

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

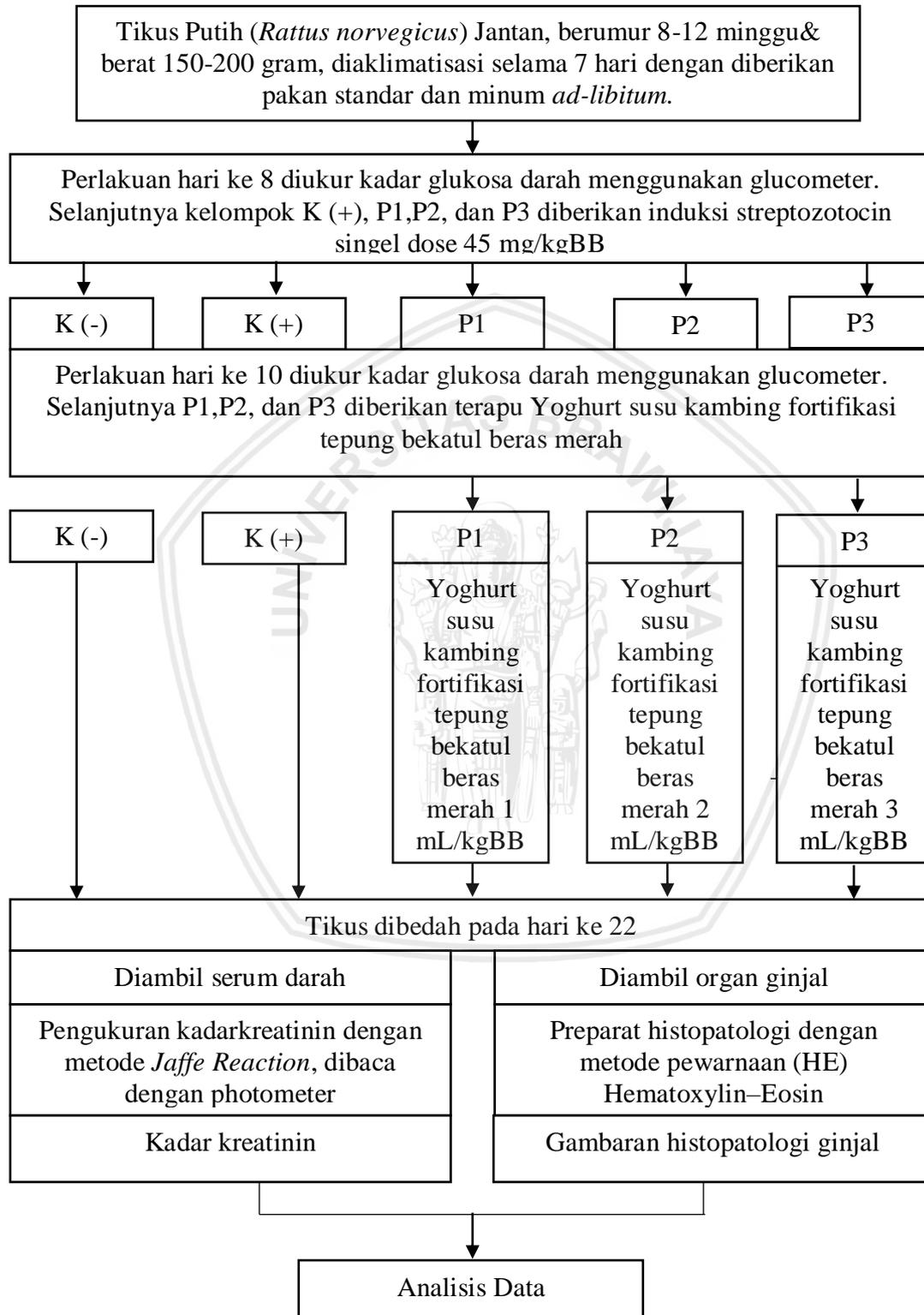
Malang, 24 April 2019  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya

  
Prof. Dr. Erik Ananni'am, DES.  
NIP. 19600511988022001

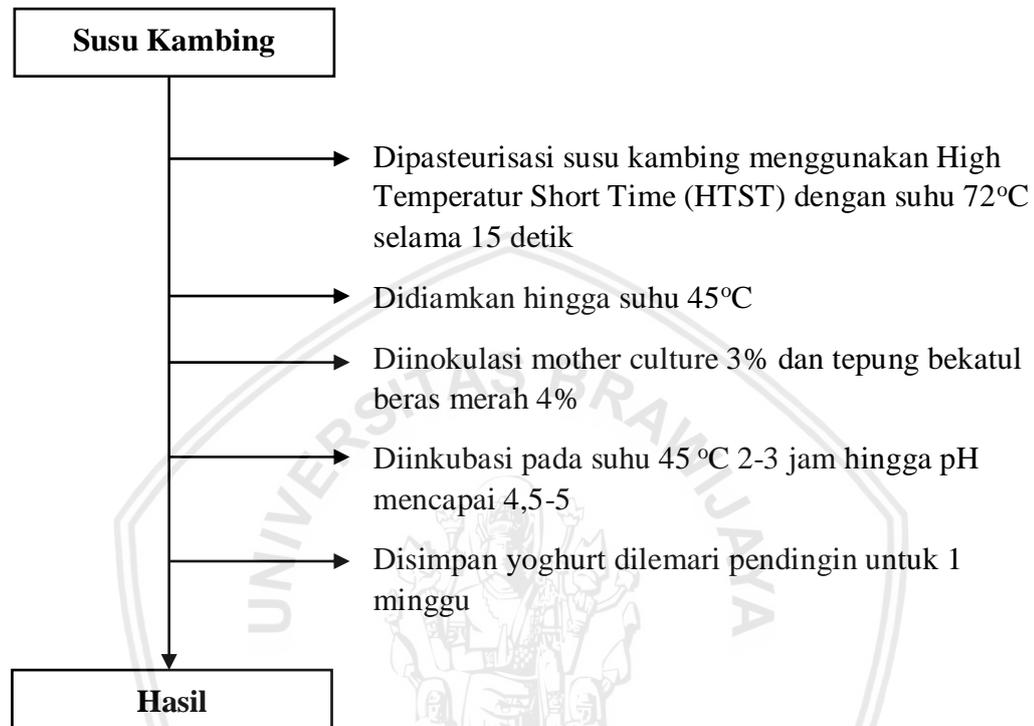


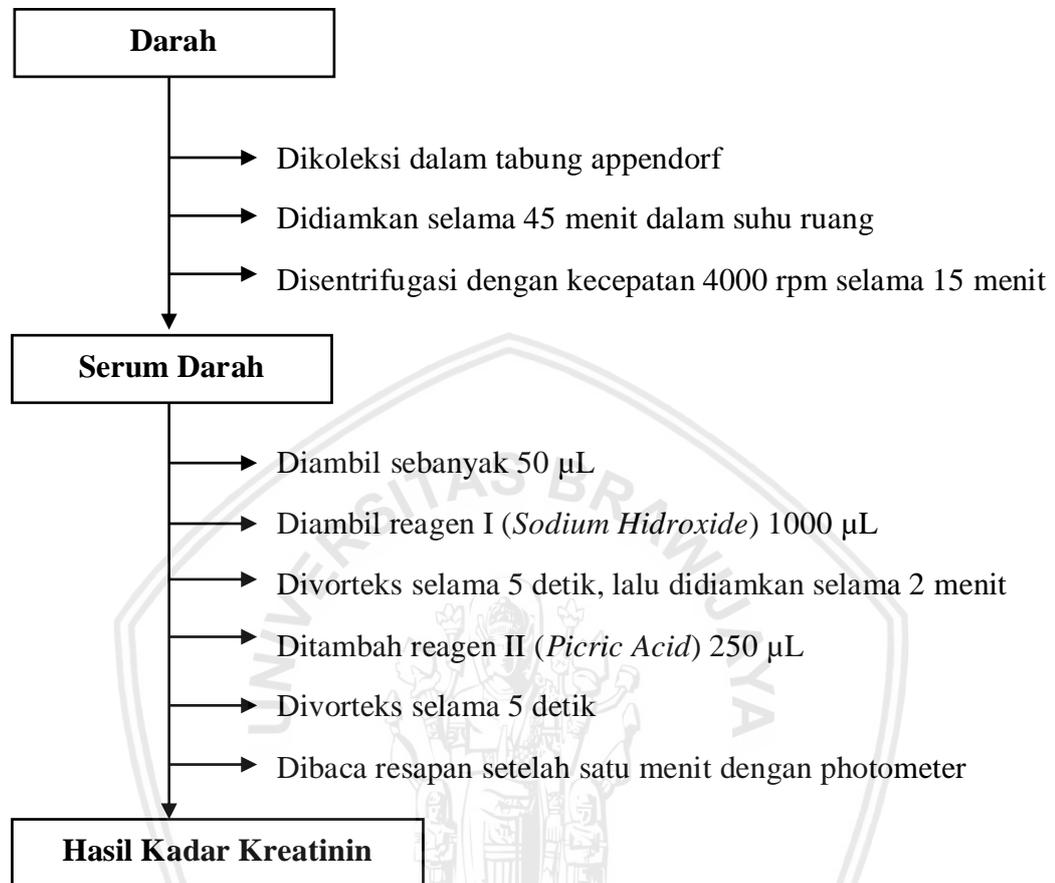
NB: Nama yang terlampir pada sertifikat ini merupakan anggota peneliti

## Lampiran 2. Bagan Alur Penelitian



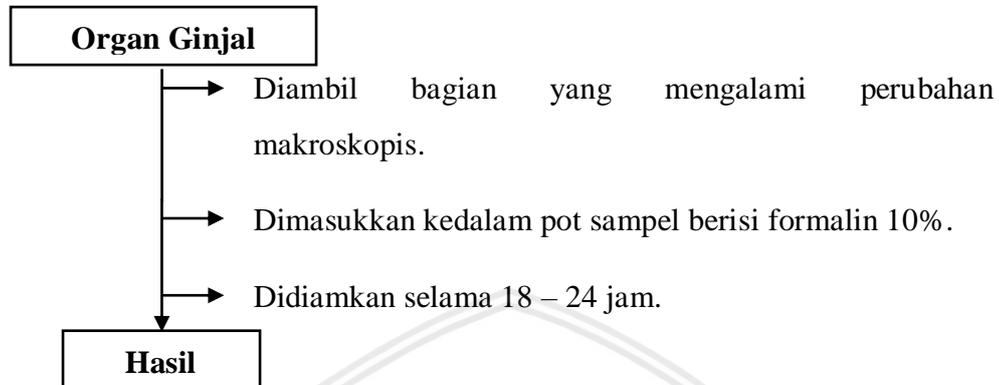
**Lampiran 3.** Pembuatan yoghurt susu kambing fortifikasi tepung bekatul beras merah



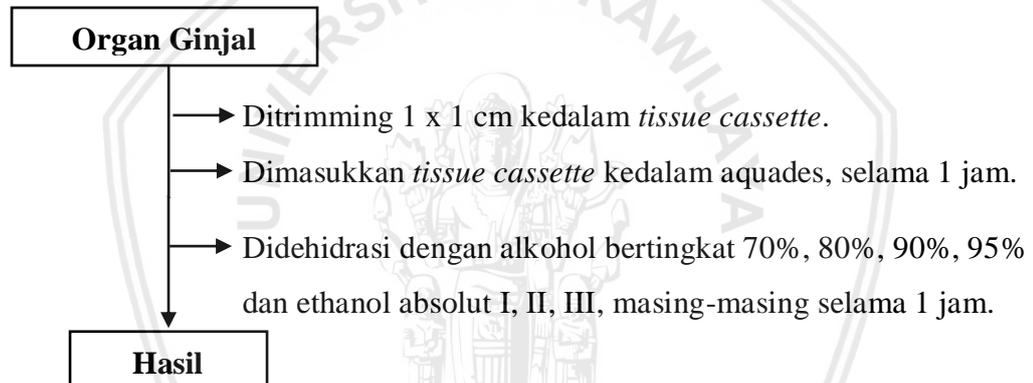
**Lampiran 4.** Diagram Alir Pemeriksaan Kadar Kreatinin

### Lampiran 5. Proses Pembuatan Preparat Histopatologi Ginjal

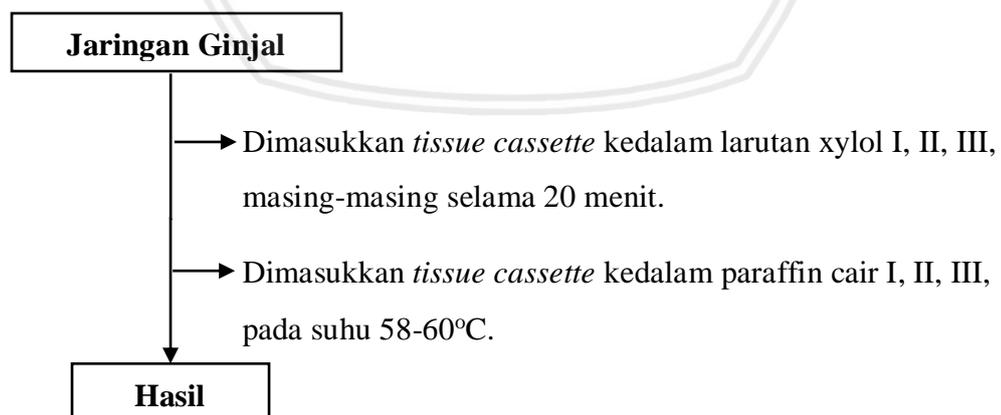
#### A. Fiksasi



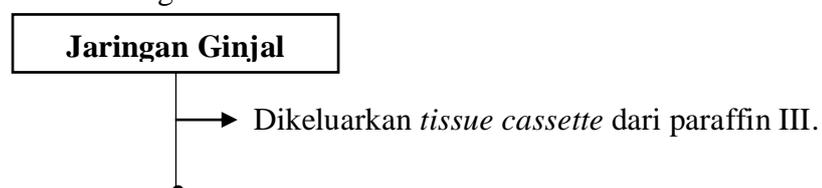
#### B. Dehidrasi

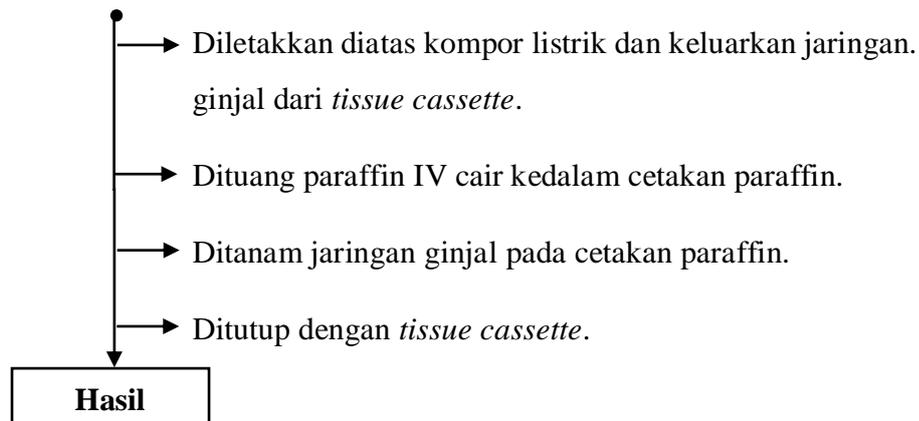


#### C. Penjernihan (*clearing*) dan Infiltrasi Parafin

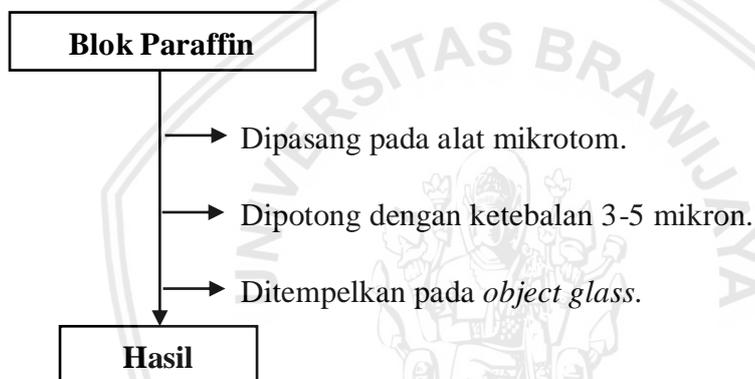


#### D. Embedding

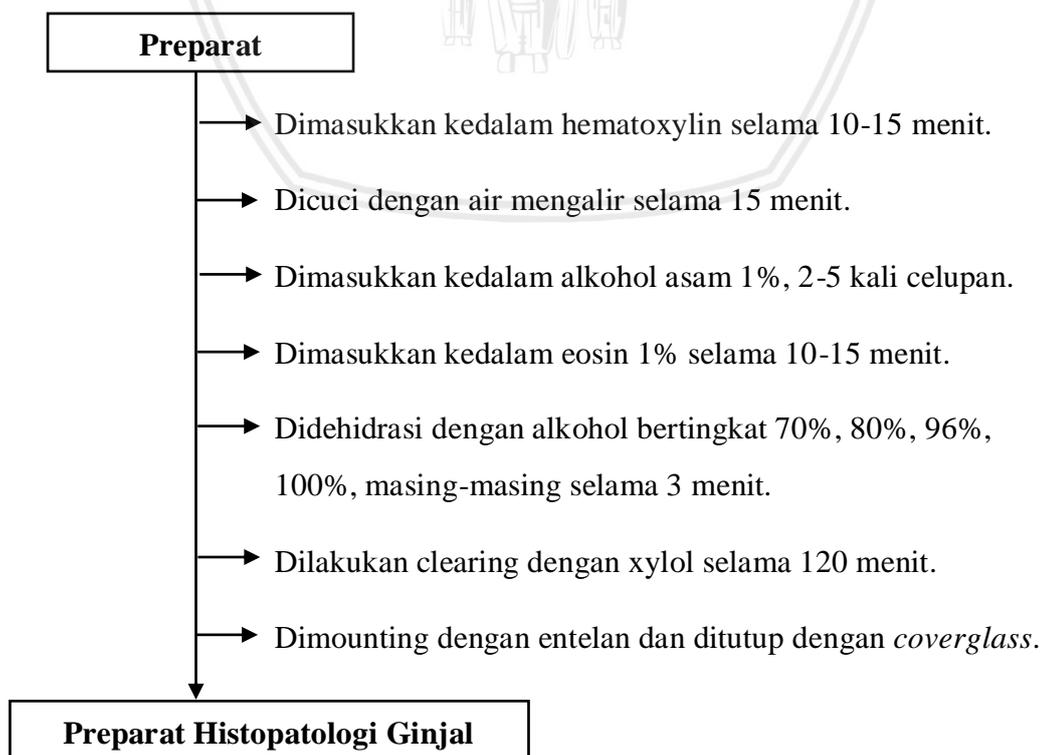




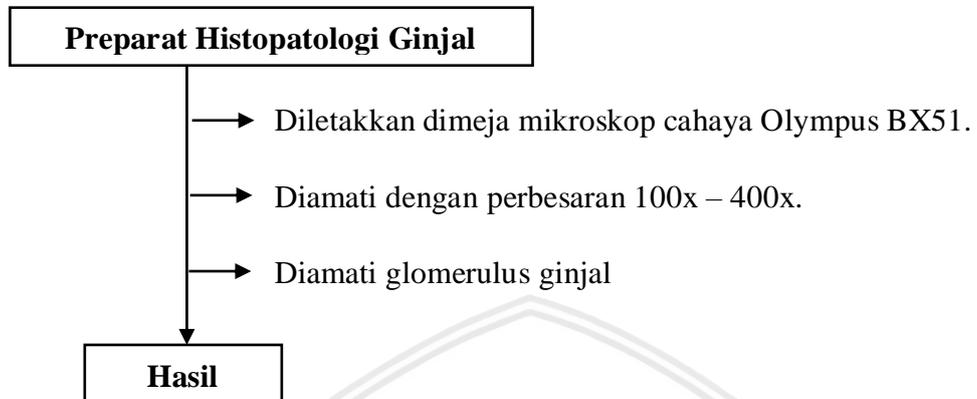
E. Pemotongan (*Sectioning*) dan Penempelan pada *Object Glass*.



F. Pewarnaan (*Staining*).



## G. Pengamatan



**Lampiran 6. Kadar Glukosa**

Kelompok	Nomor	Sebelum diberikan streptozotosin (mg/dL)	Setelah diberikan streptozotosin (mg/dL)	Setelah diberikan terapi (mg/dL)
Kontrol negative	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 7. Penentuan Dosis

- **Perhitungan Dosis STZ**

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

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

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

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

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

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

### Merah

Dalam sehari :

$$\text{Dosis 1} = 1 \text{ mL/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = 0,2 \text{ mL} \times 4 \text{ tikus} = 0,8 \text{ mL}$$

$$\text{Dosis 2} = 2 \text{ mL/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = 0,4 \text{ mL} \times 4 \text{ tikus} = 1,6 \text{ mL}$$

$$\text{Dosis 3} = 3 \text{ mL/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = 0,6 \text{ mL} \times 4 \text{ tikus} = 2,4 \text{ mL}$$

## Lampiran 8. Hasil Statistika Kadar kreatinin

### 8.1 Uji Normalitas

#### Tests of Normality

kreatinin	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ulangan k-	,250	4	.	,945	4	,683
k+	,151	4	.	,993	4	,972
p1	,260	4	.	,827	4	,161
p2	,250	4	.	,945	4	,683
p3	,283	4	.	,863	4	,272

a. Lilliefors Significance Correction

### 8.2 Uji One Way ANOVA

#### ANOVA

ulangan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,352	4	,088	7,437	,002
Within Groups	,178	15	,012		
Total	,530	19			

### 8.3 Uji Beda Nyata Jujur

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: ulangan

Tukey HSD

(I) kreatinin	(J) kreatinin	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
k-	k+	-,3500*	,0769	,003	-,588	-,112
	p1	-,3000*	,0769	,011	-,538	-,062
	p2	-,1000	,0769	,695	-,338	,138
	p3	-,2750*	,0769	,020	-,513	-,037
k+	k-	,3500*	,0769	,003	,112	,588

	p1	,0500	,0769	,964	-,188	,288
	p2	,2500*	,0769	,037	,012	,488
	p3	,0750	,0769	,862	-,163	,313
p1	k-	,3000*	,0769	,011	,062	,538
	k+	-,0500	,0769	,964	-,288	,188
	p2	,2000	,0769	,120	-,038	,438
	p3	,0250	,0769	,997	-,213	,263
p2	k-	,1000	,0769	,695	-,138	,338
	k+	-,2500*	,0769	,037	-,488	-,012
	p1	-,2000	,0769	,120	-,438	,038
	p3	-,1750	,0769	,206	-,413	,063
p3	k-	,2750*	,0769	,020	,037	,513
	k+	-,0750	,0769	,862	-,313	,163
	p1	-,0250	,0769	,997	-,263	,213
	p2	,1750	,0769	,206	-,063	,413

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

#### Tukey HSD<sup>a</sup>

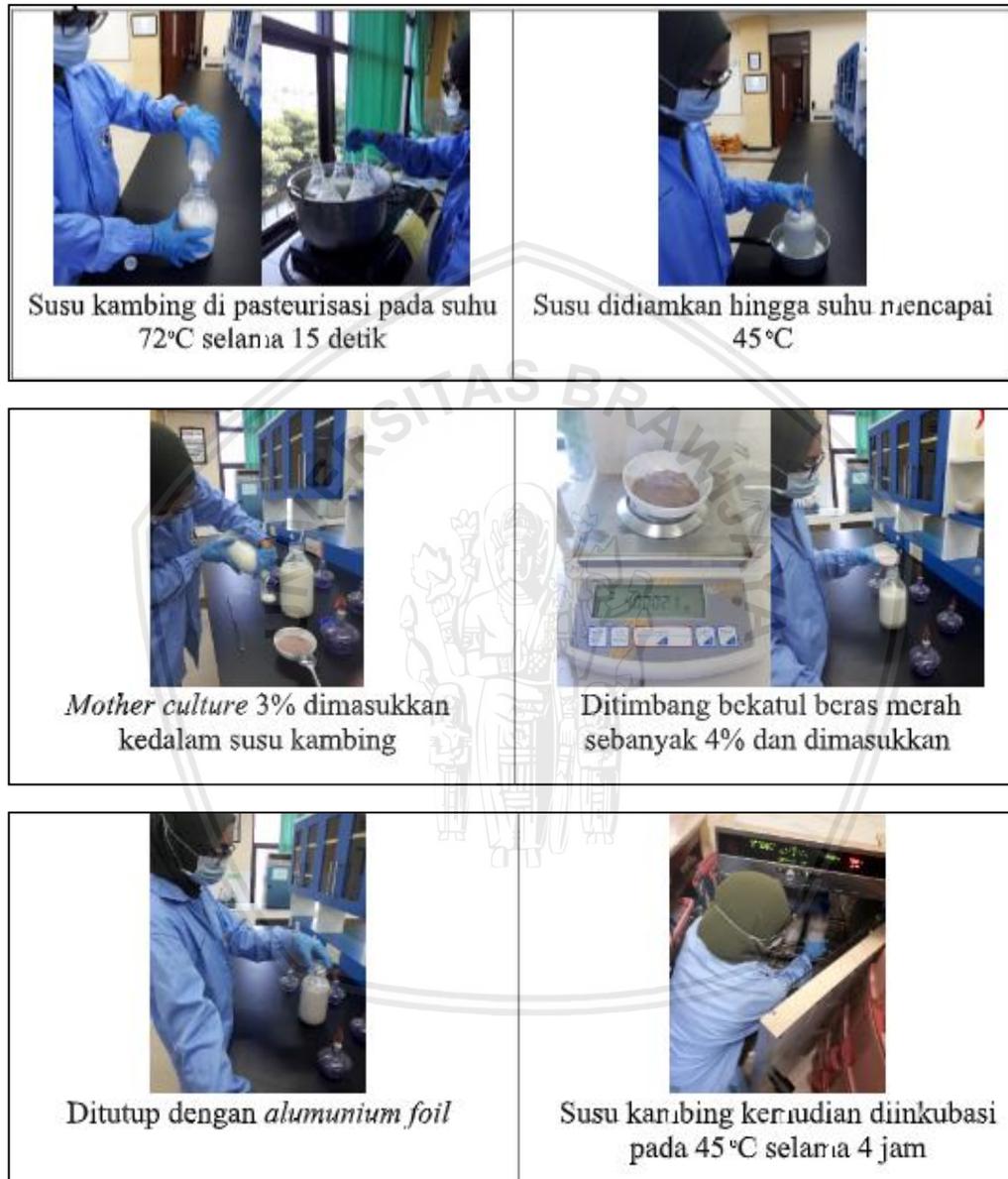
kreatinin	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
k-	4	,400		
p2	4	,500	,500	
p3	4		,675	,675
p1	4		,700	,700
k+	4			,750
Sig.		,695	,120	,862

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

## Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

### 9.1 Pembuatan Yoghurt Susu Kambing Fortifikasi Tepung Bekatul Beras Merah



## 9.2 Pembuatan hewan model DM



## 9.3 Perawatan dan Terapi Kelompok Tikus Putih



### 9.4 Nekropsi dan pengambilan organ



Induksi ketamin sebelum hewan coba dinekropsi



Nekropsi hewan coba dan pengambilan darah melalui intracardial

