



**PENGARUH PEMBERIAN BERAS ANALOG TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL
PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STZ**

SKRIPSI

Oleh

**Prajesiaji Praba Kumara
NIM 142010101008**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**PENGARUH PEMBERIAN BERAS ANALOG TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL
PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STZ**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Prajesiaji Praba Kumara
NIM 142010101008**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, skripsi yang merupakan tahap akhir sekaligus awal perjalanan menuju langkah baru demi dua huruf di depan nama penulis akhirnya dapat terselesaikan. Sholawat dan salam tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad Shallallahu 'Alaihi Wa Sallam beserta keluarga serta sahabatnya yang telah memberikan pedoman kepada saya berupa agama Islam. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, ibu Sunarsih dan bapak Teguh Santoso, kakak Faris Widiyatmoko, keluarga besar mbah Purwosumadyo dan keluarga besar almarhum mbah Sariman yang tak pernah putus mendoakan dan mendukung penulis selama menjalankan studi hingga sampai pada titik ini;
2. guru-guru yang dengan sabar dan tanpa kenal lelah mendidik, membimbing, dan tulus ikhlas membagikan ilmunya kepada penulis sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
3. sahabat dan teman-teman yang senantiasa mendoakan, membantu, dan memotivasi penulis untuk terus semangat dan jangan pernah berputus asa;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTTO

“dan Tuhanmu telah memerintahkan supaya kamu jangan menyembah selain Dia dan hendaklah kamu berbuat baik pada ibu bapakmu dengan sebaik-baiknya...” *)



*) Quran Surah Al-Israa ayat 23

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Prajesiaji Praba Kumara

NIM : 142010101008

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Beras Analog Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Pada Tikus Yang Diinduksi STZ” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 7 September 2017
Yang menyatakan,

Prajesiaji Praba Kumara
NIM 142010101008

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN BERAS ANALOG TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI ORGAN GINJAL
PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STZ**

Oleh

Prajesiaji Praba Kumara
NIM 142010101008

Pembimbing

Dosen pembimbing utama : dr. Hairrudin, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota: dr. Rena Normasari M.Biomed

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Beras Analog Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Pada Tikus Yang Diinduksi STZ” karya Prajesiaji Praba Kumara telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Senin, 28 Desember 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp. Rad
NIP 19760212 200501 2 001

dr. Ancah Caesarina Novi M., Ph.D.
NIP 19820309 200812 2 002

Anggota II,

Anggota III,

dr. Hairrudin M.Kes
NIP 19751011 200312 1 008

dr. Rena Normasari M.Biomed
NIP 19830512 200812 2 002

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP. 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Beras Analog Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Pada Tikus Yang Diinduksi STZ; Prajesiaji Praba Kumara, 142010101008; 2017; 71 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Diabetes Mellitus (DM) merupakan *silent killer* karena sering tidak disadari oleh penyandanginya dan saat diketahui sudah terjadi komplikasi yang cukup berat (Depkes, 2014). Menurut WHO (2016) beberapa komplikasi berat dapat ditimbulkan DM, yakni kerusakan pada ginjal, pembuluh darah, mata, syaraf dan peningkatan risiko gagal jantung serta stroke. Pada kondisi DM, semua jenis sel ginjal termasuk sel endotel, sel tubulointerstisial, sel-sel podosit dan mesangial dapat mengalami kerusakan (Maezawa *et al.*, 2015). Kerusakan sel tersebut selanjutnya akan menyebabkan nefropati diabetik.

Selama ini pengelolaan DM dilakukan dengan kombinasi perencanaan makanan, latihan jasmani, pemberian obat hipoglikemik, dan injeksi insulin. Beras analog merupakan salah satu upaya dalam pengendalian kadar gula darah pada penderita DM. Umumnya, beras analog memiliki kandungan serat yang lebih tinggi dari beras biasa. Diet tinggi serat terbukti dapat memperbaiki pengendalian KGD dan menurunkan hiperinsulinemia pada DM tipe 2 (Chandalia *et al.*, 2000). Makanan tinggi serat juga cenderung memiliki indeks glikemik (IG) yang rendah. Diet rendah IG terbukti dapat mengoptimalkan pengendalian KGD dibandingkan dengan diet tinggi IG (Brand, *et al.*, 1991). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian diet beras analog terhadap gambaran histopatologi ginjal model tikus DM yang diinduksi STZ.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental sebenarnya (*true experimental laboratories*) dengan rancangan *post test only control group design*. Sampel penelitian yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar sebanyak 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K0) yang diberi pakan standar, kelompok tikus diabetes yang diberi beras analog formula 1

(PBA1), kelompok tikus diabetes yang diberi beras analog formula 2 (PBA2) dan kelompok tikus diabetes yang diberi beras biasa (PB).

Lama penelitian ini adalah 68 hari. Adaptasi tikus dilakukan selama 7 hari. Setelah itu diberikan intervensi diet tinggi lemak selama 40 hari (induksi STZ dosis rendah pada hari ke-33). Lalu diberikan diet beras analog selama 21 hari. Tikus diterminasi pada akhir minggu ketiga setelah perlakuan. Tikus dibedah dan diambil ginjalnya lalu disimpan dalam larutan *fiksasi* BNF 10% pada pot organ. Organ ginjal dibuat preparat histopatologi menggunakan pengecatan haematoxylin-eosin (HE). Pengukuran kerusakan ginjal dilakukan dengan mengukur derajat glomerulosklerosis dan kerusakan tubulus menggunakan kriteria Ma *et al.*, 2005 dan Kang *et al.*, 2001.

Diet tinggi lemak dan STZ dosis rendah menyebabkan tikus menjadi diabetes. Hasil uji *Kruskal Wallis* pada kerusakan tubulus dan derajat glomerulosklerosis diperoleh nilai *significancy* $<0,05$. Selanjutnya, pada uji *Mann Whitney*, terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok PB dengan kelompok kontrol yang mengindikasikan bahwa pemberian beras biasa tidak dapat mencegah kerusakan ginjal. Selain itu, pada kelompok PBA1 dan PBA2, hasil uji *Mann Whitney* dengan kelompok PB memperoleh hasil yang signifikan yang berarti pemberian beras analog dapat menghambat terjadinya kerusakan ginjal pada tikus model DM yang diinduksi STZ. Terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok beras analog dengan kelompok kontrol yang mengindikasikan bahwa pencegahan kerusakan ginjal tidak dapat mencapai kondisi normal. Kesimpulannya adalah pemberian beras analog dapat menghambat terjadinya kerusakan ginjal berdasarkan gambaran histopatologi pada tikus DM yang diinduksi STZ.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah pengukuran GDP hanya dilakukan sebelum induksi, setelah induksi, dan setelah perlakuan. Sebaiknya dilakukan pengukuran GDP setiap minggu selama perlakuan sehingga dapat memastikan bahwa tikus masih dalam kondisi hiperglikemia.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Subhanahuwata'ala karena atas segala rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Beras Analog Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Pada Tikus Yang Diinduksi STZ”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S-1) pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Hairrudin M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Rena Normasari M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran hingga skripsi ini dapat terwujud;
2. dr. Alif Mardijana, Sp. KJ selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi;
3. dr. Heni Fatmawati, M.Kes, Sp. Rad selaku dosen penguji utama dan dr. Ancah Caesarina Novi M., Ph.D selaku dosen penguji anggota;
4. para analis laboratorium yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
5. Bapak, Ibu dan Kakakku tercinta yang sudah memberikan banyak doa, kasih sayang, dan motivasi untuk menyelesaikan penulisan ini
6. rekan kerja penelitian Azka Darajat, Monika Roosyadah, Fadiah Ulfa Khairina, Mb. Septiarina Putri dan Khanif Muflikhatum atas kerjasamanya yang luar biasa;
7. keluarga besar IMSAC FK UNEJ, Swayanaka Regional Jember, KKN 81, alumni 12 IPA-4 serta Ibuk Squad atas segala bantuan dan doa yang telah diberikan;
8. sahabat-sahabatku tercinta Heri Puguh, BJ Azmy, Ekvan Danang, Zulfahmi Muslim, Billy Jusup K., Rudy Gunawan, Rifqi Rahadian, M. Dedy Dwi S., A. Hanip Rizki R., Agung Kurniawan, Zulham Qamara, Ridhofar, A. Harris, Dicko C., Riky Pratama, Sandy, Hamigian Ikbar,

Elmia Hidayati, Nusalendri Citra, dan Resaritruli Dinda, atas doa, dukungan, dan motivasinya;

9. rekan-rekan Elixir 2014 Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
10. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Desember 2017

Penulis



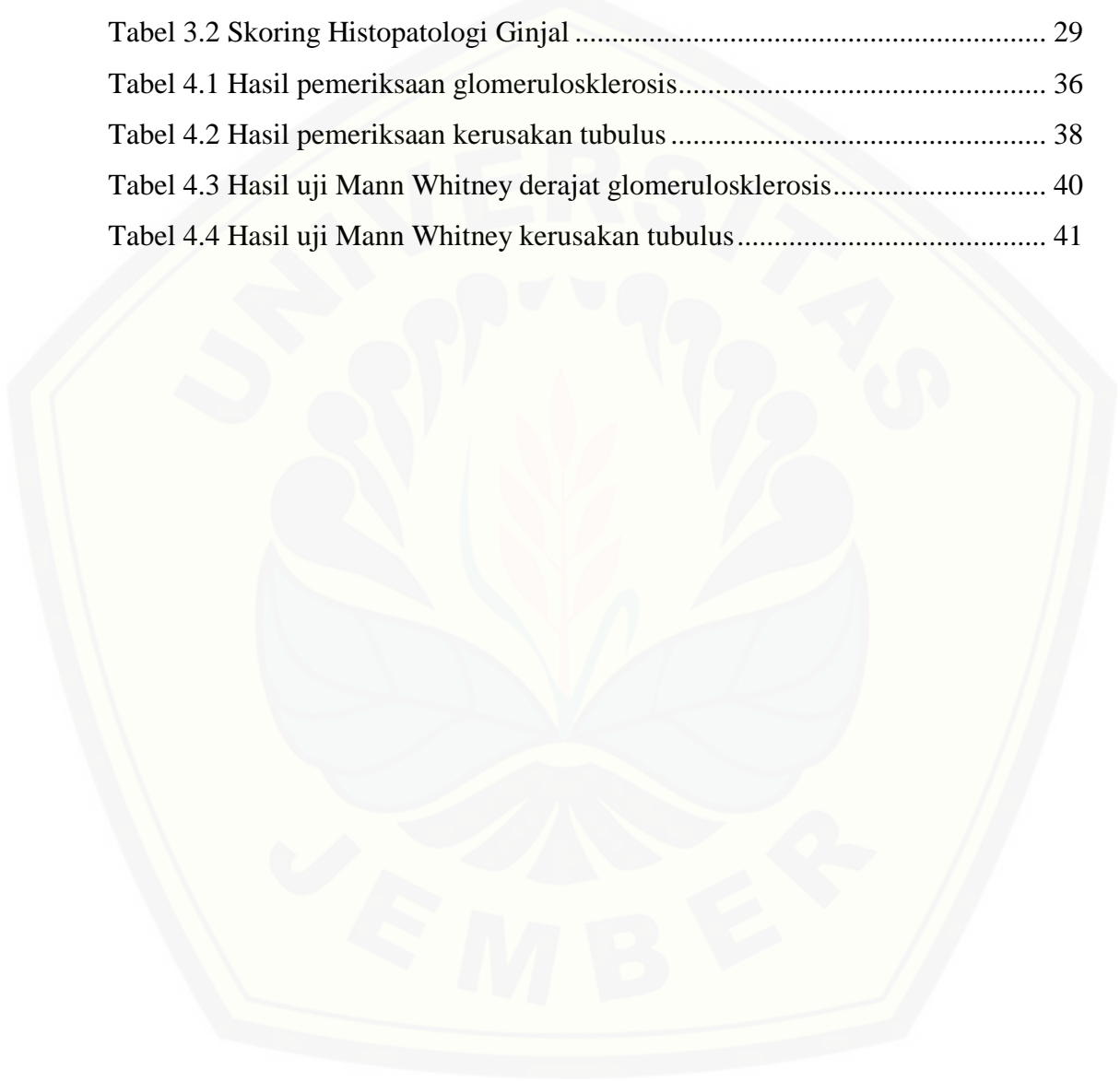
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diabetes Mellitus (DM)	5
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi DM	5
2.1.2 Gejala dan Diagnosis DM	6
2.1.3 Penatalaksanaan DM	7
2.1.4 Komplikasi DM	9
2.2 Model Hewan Coba DM	14
2.2 Histopatologi Ginjal Pada Tikus DM	15
2.3 Beras Analog	17
2.3.1 Potensi beras analog	18
2.3.2 Beras cerdas	19
2.3.3 MOCAF (<i>Modified Cassava Flour</i>)	20
2.3.4 Jagung	20
2.5 Kerangka Konseptual	21
2.6 Hipotesis	23
BAB 3. METODE PENELITIAN	24
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	24
3.2 Besar Sampel	24
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	25
3.3.1 Alat Penelitian	25
3.3.2 Bahan Penelitian	26

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.5 Variabel Penelitian	27
3.5.1 Variabel Bebas (<i>Independent Variable</i>)	27
3.5.2 Variabel Terikat (<i>Dependent Variable</i>)	27
3.5.3 Variabel Terkendali	27
3.6 Definisi Operasional	27
3.6.1 Beras Biasa	27
3.6.2 Beras Analog.....	27
3.6.3 Gambaran Histologi Ginjal.....	28
3.6.4 Pakan Standar	29
3.6.5 Diet Tinggi Lemak.....	29
3.7 Prosedur Penelitian	29
3.7.1 Pemilihan Hewan Coba	30
3.7.2 Adaptasi Dan Perawatan Hewan Coba	30
3.7.3 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	30
3.7.4 Induksi DM.....	31
3.7.5 Penyimpanan Organ.....	31
3.7.6 Pembuatan Preparat Histologi	32
3.7.7 Analisis Data.....	34
3.8 Kerangka Operasional	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Hasil Penelitian	36
4.1.1 Data Hasil Pengamatan Glomerulus	36
4.1.2 Data Hasil Pengamatan Tubulus.....	38
4.1.3 Analisis data.....	39
4.2 Pembahasan	41
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	57

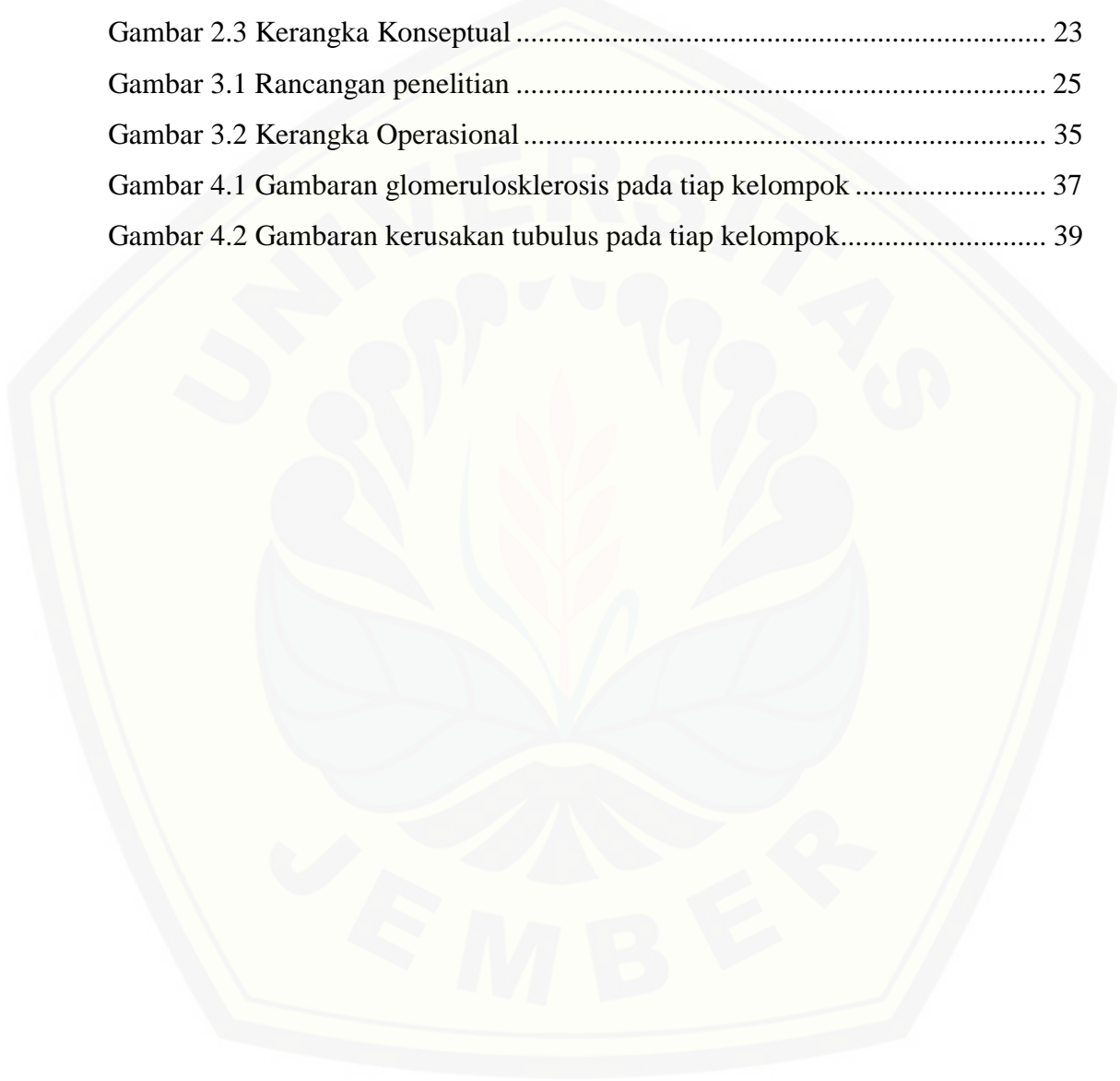
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 komposisi kimia rata-rata biji jagung beserta bagian-bagiannya.....	21
Tabel 3.1 Variasi Komposisi Beras Analog Disusun oleh Hairrudin et al.....	28
Tabel 3.2 Skoring Histopatologi Ginjal	29
Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan glomerulosklerosis.....	36
Tabel 4.2 Hasil pemeriksaan kerusakan tubulus	38
Tabel 4.3 Hasil uji Mann Whitney derajat glomerulosklerosis.....	40
Tabel 4.4 Hasil uji Mann Whitney kerusakan tubulus.....	41



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Gambaran histologis glomerulosklerosis	16
Gambar 2.2	Gambar histologis kerusakan tubulus	17
Gambar 2.3	Kerangka Konseptual	23
Gambar 3.1	Rancangan penelitian	25
Gambar 3.2	Kerangka Operasional	35
Gambar 4.1	Gambaran glomerulosklerosis pada tiap kelompok	37
Gambar 4.2	Gambaran kerusakan tubulus pada tiap kelompok.....	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Susunan Diet Standart per 100 gram	57
Lampiran 3.2 Keterangan Persetujuan Etik	58
Lampiran 3.3 Perhitungan Dosis STZ.....	60
Lampiran 4.1 Data Hasil Pemeriksaan Double Blind Derajat Glomerulosklerosis	61
Lampiran 4.2 Data Hasil Pemeriksaan Double Blind Kerusakan Tubulus	62
Lampiran 4.3 Analisis Data.....	63
Lampiran 4.4 Kadar Gula Darah Puasa Tikus	67
Lampiran 4.5 Perhitungan Kalori Pakan Tikus.....	68
Lampiran 4.6 Metode Pengukuran Beras Analog dan Beras Biasa	70

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia abad 21 dihadapkan pada *diabetes mellitus* (DM) sebagai salah satu ancaman utama bagi kesehatan. *Diabetes mellitus* (DM) merupakan salah satu penyakit tidak menular yang akan meningkat jumlahnya di masa yang akan datang. Berbagai penelitian epidemiologi sudah membuktikan bahwa insidensi DM meningkat di semua tempat di dunia (Setiati *et al.*, 2014). Menurut Data dari *International Diabetes Federation* (IDF) (2015) bahwa sekitar 415 juta orang di seluruh dunia, atau 8,8% dari orang dewasa berusia 20-79 mengalami DM. Sekitar 75% tinggal di negara-negara dengan tingkat ekonomi rendah dan menengah. IDF juga memperkirakan pada tahun 2040 jumlah penderita DM akan mencapai 642 juta jiwa. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 dan 2013 pada usia 15 tahun ke atas didapatkan bahwa proporsi diabetes pada tahun 2013 meningkat hampir dua kali lipat dibanding tahun 2007. Hasil Riskesdas juga menyatakan dari proporsi DM tersebut (6,9% dari penduduk Indonesia) 30,4% telah terdiagnosis sebelumnya dan 69,6% tidak terdiagnosis sebelumnya (Depkes, 2014). Data tersebut memperlihatkan rendahnya kesadaran penduduk Indonesia terhadap DM. Kemungkinan terjadinya peningkatan jumlah penyandang DM di masa mendatang tentu akan menjadi beban yang sangat berat untuk dapat ditangani sendiri oleh dokter spesialis/subspesialis atau bahkan oleh semua tenaga kesehatan yang ada (PERKENI, 2015).

Diabetes Mellitus merupakan *silent killer* karena sering tidak disadari oleh penyandangannya dan saat diketahui sudah terjadi komplikasi yang cukup berat (Depkes, 2014). Menurut WHO (2016) beberapa komplikasi berat dapat ditimbulkan DM, yakni kerusakan pada ginjal, pembuluh darah, mata, syaraf dan peningkatan risiko gagal jantung serta stroke. Komplikasi mikrovaskuler berupa retinopati, neuropati, dan nefropati yang terjadi pada pasien DM, baik tipe 1 atau 2, terkait setidaknya pada lama menderita diabetes dan tingkat pengendalian kadar gula darah (KGD) (Turner & Holman, 1995).

Seseorang dengan DM akan lebih sering mengalami penyakit ginjal (nefropati) dibandingkan orang tanpa DM (IDF, 2015). PERKENI (2013) menyatakan sekitar 20-40% penyandang diabetes akan mengalami nefropati diabetik. Nefropati Diabetik (ND) atau penyakit ginjal diabetik merupakan komplikasi DM pada ginjal yang disebabkan oleh kerusakan kapiler ginjal akibat hiperglikemia. Pada kondisi DM, semua jenis sel ginjal termasuk sel endotel, sel tubulointerstisial, sel-sel podosit dan mesangial dapat mengalami kerusakan (Maezawa *et al.*, 2015). Seperti halnya komplikasi mikrovaskuler yang lain, terdapat hubungan yang kuat antara tingkat pengendalian KGD dengan risiko terjadinya nefropati diabetik (Fowler, 2008). Selain itu, ND merupakan penyebab paling sering dari gagal ginjal stadium akhir sehingga dapat dipahami bahwa masalah terkait ND juga akan mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya prevalensi DM dimasa yang akan datang (Setiati *et al.*, 2014; PERKENI, 2013).

Selama ini pengelolaan DM dilakukan dengan kombinasi perencanaan makanan, latihan jasmani, pemberian obat hipoglikemik, dan injeksi insulin. Pemberian obat hipoglikemik oral selama ini dapat mengendalikan kadar gula darah, akan tetapi memiliki keterbatasan yaitu efikasinya akan hilang setelah digunakan lebih dari 5 tahun. Oleh sebab itu, penatalaksanaan DM tidak bisa hanya menggunakan obat (Fidianingsih, 2011). Terapi yang hanya mengandalkan obat, tanpa diimbangi dengan pengaturan diet makanan, sering kali mengalami kegagalan (Hu *et al.*, 2001).

Penelitian yang dilakukan Chandalia, *et al.*, 2000 mengenai pengaturan diet makanan (diet tinggi serat) terbukti dapat memperbaiki pengendalian KGD dan menurunkan hiperinsulinemia pada pasien DM tipe 2. Hasil serupa juga didapatkan bahwa diet tinggi serat berhubungan dengan peningkatan pengendalian KGD (Fujii, *et al.*, 2013) dan memperlambat perkembangan ND (Kumar & Salimath, 2014). Hal ini mungkin disebabkan karena makanan tinggi serat diabsorpsi lambat oleh saluran pencernaan sehingga tidak menimbulkan peningkatan glukosa darah secara drastis (Chandalia *et al.*, 2000). Makanan tinggi serat juga cenderung memiliki indeks glikemik (IG) yang rendah. Diet rendah IG

terbukti dapat mengoptimalkan pengendalian KGD dibandingkan dengan diet tinggi IG (Brand, *et al.*, 1991).

Masyarakat Indonesia sangat bergantung kepada beras sebagai komoditas makanan yang paling pokok. Beras tidak pernah ditinggalkan meski dalam kondisi sesulit dan seberat apapun (Subagio & Windrati, 2012). Beras merupakan sumber karbohidrat yang cepat dicerna, mudah diabsorpsi dan sebagian besar memiliki indeks glikemik tinggi (Rimbawan & Siagian, 2006). Sehingga pemberian beras pada pasien DM dikhawatirkan dapat membuat pengendalian KGD tidak optimal. Oleh sebab itu, perlu adanya makanan pengganti bagi penderita DM yang memiliki struktur seperti beras namun memiliki ciri kaya serat, dicerna dan diabsorpsi dengan lambat dan tetap memiliki nilai gizi yang baik. Makanan pengganti tersebut misalnya beras analog. Beras analog merupakan beras tiruan yang komposisinya dapat diatur sesuai kebutuhan. Penggunaan beras analog sebagai makanan pengganti bagi penderita DM diharapkan dapat memperlambat komplikasi DM.

Penelitian ini dirancang untuk mengetahui efek dari pemberian beras analog yang sudah disesuaikan komposisinya terhadap perubahan gambaran histopatologi organ ginjal. Peneliti menggunakan tikus wistar model DM yang diinduksi dengan STZ.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah beras analog berpengaruh terhadap gambaran histopatologi organ ginjal pada tikus yang diinduksi STZ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian beras analog terhadap gambaran histopatologi organ ginjal pada tikus DM yang diinduksi STZ.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

- a. Sebagai informasi ilmiah mengenai potensi beras analog sebagai preventif perubahan patologis struktur organ ginjal.
- b. Menjadi acuan dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai potensi beras analog sebagai salah satu pengelolaan dalam DM.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan beras analog sebagai upaya mencegah komplikasi DM.
- b. Dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan bagi tenaga kesehatan dalam melakukan pendampingan pengelolaan DM.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus (DM)

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi DM

Diabetes mellitus (DM) adalah kondisi kronis yang terjadi saat pankreas tidak dapat memproduksi cukup insulin atau saat tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif. Insulin, hormon yang diproduksi di pankreas, diperlukan untuk mengangkut glukosa dari aliran darah ke sel-sel tubuh dimana ia digunakan sebagai energi. Kurangnya atau ketidakefektifan insulin pada seseorang dengan DM menyebabkan glukosa tetap berada pada sirkulasi. Seiring waktu, kadar glukosa darah yang tinggi (hiperglikemia) menyebabkan kerusakan pada banyak jaringan di tubuh yang selanjutnya berkembang menjadi komplikasi kesehatan yang dapat mengancam jiwa dan menyebabkan kecacatan (WHO, 2016; IDF, 2015).

Menurut PERKENI-2015, DM diklasifikasikan menjadi 4 jenis berdasarkan etiologinya.

- a. *Diabetes mellitus* tipe 1 (DMT1), destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut. Ada 2 macam: A. autoimun B. Idiopatik
- b. *Diabetes mellitus* tipe 2 (DMT2), Bervariasi, mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin
- c. *Diabetes mellitus* tipe lain terdiri dari:
 - 1) Defek genetik fungsi sel beta
 - 2) Defek genetik kerja insulin
 - 3) Penyakit eksokrin pankreas
 - 4) Endokrinopati
 - 5) Karena obat atau zat kimia
 - 6) Infeksi
 - 7) Sebab imunologi yang jarang
 - 8) Sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM
- d. *Diabetes Mellitus Gestasional*. Diagnosis *Diabetes gestasional* adalah DM atau toleransi glukosa terganggu (TGT) atau gula darah puasa terganggu (GDPT) yang pertama kali diketahui pada saat kehamilan.

2.1.2 Gejala dan Diagnosis DM

Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penyandang DM. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan seperti:

- a. Keluhan klasik DM: poliuria, polidipsia, polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya.
- b. Keluhan lain: lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur, dan disfungsi ereksi pada pria, serta pruritus vulva pada wanita (PERKENI, 2015).

Pasien diabetes mellitus tipe 1 biasanya menunjukkan gejala mendadak seperti, polidipsia, poliuria, dan berat badan turun drastis. *Diabetes mellitus* tipe 1 biasanya terjadi pada anak di bawah umur 20 tahun, serta akan cenderung mengidap ketoasidosis diabetik (KAD). Bahkan pada pasien DMT1 gejala utama yang sering adalah KAD yaitu pernapasan kussmaul (pernapasan dalam dan frekuensi, hawa nafas sering berbau aseton) (Tjokroprawiro *et al.*, 2015).

Pada *diabetes mellitus* tipe 2 kebanyakan berumur 40 tahun atau lebih dan memiliki berat badan lebih (*overweight*) atau obes-1 dan obes-2. Pasien DMT2 memiliki gejalanya yang bervariasi, seperti banyak kencing (poliuria), banyak minum (polidipsia), dan berat badan menurun (bahkan penurunannya bisa lebih dari 10% dalam kurun waktu 3 bulan); tetapi pada stadium awal (kompensasi), berat badan dapat naik. Pada awalnya, gejala didahului nokturia, ada juga yang didahului gejala kesemutan (*paresthesia*), mudah capai, mengantuk, bahkan sering kencing di siang hari (Tjokroprawiro *et al.*, 2015).

Diagnosis DM ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar glukosa darah. Pemeriksaan glukosa darah yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa secara enzimatis dengan bahan plasma darah vena. Pemantauan hasil pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan glukosa darah kapiler dengan glukometer. Diagnosis tidak dapat ditegakkan atas dasar adanya glukosuria (PERKENI, 2015).

Kriteria diagnosis DM menurut PERKENI (2015) adalah apabila memenuhi salah satu komponen dibawah ini:

- a. Apabila pada pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl. Puasa adalah kondisi tidak ada asupan kalori minimal 8jam.
- b. Pemeriksaan glukosa plasma ≥ 200 mg/dl 2-jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 75 gram.
- c. Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dl dengan keluhan klasik.
- d. Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh National Glycohaemoglobin Standarization Program (NGSP).

Apabila pada pemeriksaan didapatkan hasil yang tidak memenuhi kriteria normal atau kriteria DM digolongkan ke dalam kelompok prediabetes yang meliputi: toleransi glukosa terganggu (TGT) dan glukosa darah puasa terganggu (GDPT). Glukosa darah puasa terganggu (GDPT) adalah apabila pada pemeriksaan glukosa plasma puasa didapatkan hasil antara 100-125 mg/dl dan pada pemeriksaan TTGO glukosa plasma 2-jam < 140 mg/dl. Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) adalah apabila hasil pemeriksaan glukosa plasma 2 -jam setelah TTGO antara 140-199 mg/dl dan glukosa plasma puasa < 100 mg/dl. Prediabetes dapat juga ditegakkan berdasarkan hasil pemeriksaan HbA1c yang menunjukkan angka 5,7-6,4% (PERKENI, 2015).

2.1.3 Penatalaksanaan DM

Penatalaksanaan DM memerlukan integrasi antara terapi obat, diet dan olahraga. Pencegahan dan terapi DM dipengaruhi oleh gaya hidup yang meliputi jenis makanan dan aktivitas (Shaw *et al.*, 2010). Penatalaksanaan DM dimulai dengan menerapkan pola hidup sehat (terapi nutrisi medis dan aktivitas fisik) bersamaan dengan intervensi farmakologis dengan obat anti hiperglikemia secara oral dan/atau suntikan. Obat anti hiperglikemia oral dapat diberikan sebagai terapi tunggal atau kombinasi (PERKENI, 2015). Terapi nutrisi medis (TNM) merupakan hal yang penting dalam upaya preventif dan manajemen DM serta pencegahan atau memperlambat perkembangan komplikasi DM (ADA, 2008).

Penderita DM memerlukan konseling dalam diet makanan sehat dan aktifitas fisik yang disesuaikan dengan kemampuan mereka. Meskipun pedoman manajemen diet DMT2 yang ada tidak memberikan rekomendasi yang sama,

tetapi semuanya menyetujui untuk mengurangi asupan kalori untuk pasien dengan kelebihan berat badan (*overweight*) dan obes, mengganti lemak jenuh dengan lemak tak jenuh, asupan serat makanan sama atau lebih tinggi dari yang dianjurkan untuk masyarakat umum, menghindari penambahan gula, menghindari tembakau (rokok) dan mengurangi penggunaan alkohol yang berlebihan (WHO, 2016). Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada tahun 1975-1978, Tjokroprawiro (2011) telah berhasil menyusun dan meneliti Diet-B untuk pasien DM. Diet-B tersebut memiliki komposisi 68% kalori karbohidrat, 20% kalori lemak, dan 12% kalori protein. Menurut Tjokroprawiro (2011) bahwa diet tinggi karbohidrat bentuk kompleks (bukan monosakarida), yang diberikan dalam dosis terbagi, dapat meningkatkan dan memperbaiki *glukose uptake* jaringan perifer serta memperbaiki kepekaan sel β pankreas untuk sekresi insulin. Diet-B tersebut juga banyak mengandung serat yang berasal dari sayuran. Tingginya serat dapat menekan kenaikan kadar kolesterol darah (Tjokroprawiro, 2011). Sebuah penelitian menyatakan mengkonsumsi makanan tinggi serat (~50 g/hari) dapat menurunkan kadar glukosa darah pada pasien DMT1 dan DMT2 serta menurunkan hiperinsulinemia, dan lipemia pada pasien DMT2 (ADA, 2008).

Latihan jasmani juga merupakan salah satu pilar dalam pengelolaan DMT2 apabila tidak disertai adanya nefropati. Kegiatan jasmani sehari-hari dan latihan jasmani dilakukan secara teratur sebanyak 3-5 kali perminggu selama sekitar 30-45 menit, dengan total 150 menit perminggu. Latihan jasmani selain untuk menjaga kebugaran juga dapat menurunkan berat badan dan memperbaiki sensitivitas insulin sehingga akan memperbaiki kendali glukosa darah. Latihan jasmani yang dianjurkan berupa latihan jasmani yang bersifat aerobik dengan intensitas sedang (50-70% denyut jantung maksimal) seperti: jalan cepat, bersepeda santai, *jogging*, dan berenang. Denyut jantung maksimal dihitung dengan cara mengurangi angka 220 dengan usia pasien (PERKENI, 2015).

Terapi farmakologis diberikan bersama dengan pengaturan makan dan latihan jasmani (gaya hidup sehat). Terapi farmakologis terdiri dari obat oral dan bentuk suntikan.

1) Obat Antihiperqlikemia Oral

Berdasarkan cara kerjanya, obat antihiperqlikemia oral dibagi menjadi 5 golongan:

- a) Pemacu Sekresi Insulin (Insulin Secretagogue) terdiri dari sulfonylurea dan glinid
 - b) Peningkat Sensitivitas terhadap Insulin terdiri dari metformin dan tiazolidindion
 - c) Penghambat Absorpsi Glukosa di saluran pencernaan: Penghambat Alfa Glukosidase.
 - d) Penghambat DPP-IV (Dipeptidyl PeptidaseIV)
 - e) Penghambat SGLT-2 (Sodium Glucose Cotransporter 2)
- 2) Obat Antihiperqlikemia suntik

Termasuk anti hiperqlikemia suntik, yaitu insulin, agonis GLP-1 dan kombinasi insulin dan agonis GLP-1 (PERKENI, 2015).

2.1.4 Komplikasi DM

Tingginya kadar gula darah secara terus menerus dapat mengakibatkan penyakit serius yang mempengaruhi jantung, pembuluh darah, ginjal, mata, dan saraf (IDF, 2015). Komplikasi pada *diabetes mellitus* dapat dibagi menjadi dua kategori mayor yaitu komplikasi metabolik akut dan komplikasi vaskuler kronis (jangka panjang). Komplikasi metabolik akut disebabkan oleh perubahan yang relatif akut dari konsentrasi glukosa plasma. Komplikasi vaskuler jangka panjang melibatkan pembuluh darah kecil (mikrovaskuler) dan pembuluh darah sedang dan besar (makrovaskuler) (Price & Wilson, 2006).

Komplikasi metabolik akut yang rentan terjadi pada pasien DM yaitu ketoasidosis diabetik (KAD) dan koma hiperosmolar. KAD terjadi karena menurunnya konsentrasi insulin efektif dan meningkatnya hormon kontra insulin (katekolamin, kortisol, glukagon, *growth hormone*). Kondisi tersebut menyebabkan hiperqlikemia dan ketosis. Kombinasi defisiensi insulin dan meningkatnya hormone kontra insulin menyebabkan pelepasan asam lemak bebas yang tidak terkontrol dari jaringan adiposa ke sirkulasi. Selanjutnya, terjadi oksidasi asam lemak bebas dalam hepar menjadi benda keton sehingga terjadi

ketonemia dan asidosis metabolik. Perbedaan KAD dengan koma hiperosmolar adalah dehidrasinya yang lebih berat dan ketersediaan insulin endogen yang lebih besar dibanding KAD. Kadar insulin pada koma hiperosmolar tidak cukup untuk memfasilitasi penggunaan glukosa oleh jaringan sensitif insulin, namun mampu mencegah terjadinya lipolisis dan mencegah ketogenesis (Tjokprawiro, 2015).

Morbiditas yang terkait komplikasi kronik DM disebabkan oleh kerusakan pada makrovaskuler dan mikrovaskuler. Kerusakan pada mikrovaskuler yang paling parah terjadi pada retina, ginjal dan saraf perifer yang mengakibatkan retinopati, nefropati dan neuropati. Sedangkan pada makrovaskuler terjadi pembentukan aterosklerosis yang meningkatkan risiko infark miokard, stroke dan iskemia ekstremitas bawah (Kumar *et al.*, 2015).

a. Penyakit mata (retinopati diabetik)

Retinopati diabetik ialah suatu kelainan mata pada pasien DM yang disebabkan kerusakan kapiler retina dalam berbagai tingkatan sehingga menimbulkan gangguan penglihatan mulai dari yang ringan sampai berat bahkan sampai terjadi kebutaan total dan permanen. Patofisiologi retinopati diabetik melibatkan lima proses yang terjadi ditingkat kapiler yaitu pembentukan mikroaneurisma, peningkatan permeabilitas, penyumbatan kapiler, neovaskularisasi dan pembentukan jaringan fibrosis (Setiati *et al.*, 2014).

b. Penyakit Saraf (neuropati diabetik)

Hiperglikemia persisten juga dapat menyebabkan kerusakan saraf (neuropati). Hal ini dapat mempengaruhi pada sistem saraf bagian manapun dalam tubuh. Tipe yang paling sering adalah neuropati perifer yang mempengaruhi sistem saraf sensoris di kaki. Gejala yang muncul dapat berupa nyeri, kesemutan, hingga hilangnya sensasi (*anesthesia*). Rusaknya sistem saraf sensoris di kaki menyebabkan penderitanya kurang menyadari apabila terjadi cedera pada kaki yang selanjutnya berkembang menjadi *ulcerasi*, infeksi yang serius, bahkan beberapa orang berakhir dengan amputasi (IDF, 2015). Manifestasi neuropati

diabetik tergantung pada jenis serabut yang mengalami lesi (sensorik, motorik, atau otonom) dan lokasinya (distal atau proksimal, difus atau fokal). Sehingga manifestasinya bervariasi mulai kesemutan, kebas, mati rasa, rasa terbakar, rasa tertusuk, disebobek, ditikam, dan lain sebagainya (Setiati *et al.*, 2014)

c. Penyakit ginjal (nefropati diabetik)

1) Diagnosis dan perjalanan klinis

Diagnosis nefropati diabetik ditegakkan apabila terdapat kadar albumin >30 mg dalam urin 24 jam pada 2 dari 3 kali pemeriksaan dalam kurun waktu 3-6 bulan, tanpa penyebab albuminuria lainnya (PERKENI, 2015). Perjalanan klinis terjadinya nefropati diabetik hingga akhirnya menjadi gagal ginjal berlangsung melalui beberapa tahap seperti berikut ini:

Tahap I

Pada tahap ini LFG meningkat sampai dengan 40% di atas normal yang disertai pembesaran ukuran ginjal. Albuminuria belum nyata dan tekanan darah biasanya normal.

Tahap II

Terjadi setelah 5-10 tahun ditegakannya diagnosis DM, saat perubahan struktur ginjal berlanjut, dan LFG masih tetap meningkat. Albuminuria hanya akan meningkat setelah latihan jasmani, keadaan stres atau kendali metabolik yang memburuk. Progresivitas biasanya terkait dengan memburuknya kendali metabolik. Tahap ini disebut juga sebagai tahap sepi (*silent stage*).

Tahap III

Ini adalah tahap awal nefropati (*insipient diabetic nephropathy*), saat mikroalbuminuria telah nyata. Tahap ini biasanya terjadi 10-15 tahun diagnosis DM tegak. Secara histopatologis, juga telah jelas penebalan membran basalis glomerulus. LFG masih tetap tinggi dan tekanan darah sudah ada yang mulai meningkat. Keadaan ini dapat bertahan bertahun-tahun dan progresivitas masih mungkin dicegah dengan kendali glukosa dan tekanan darah yang kuat.

Tahap IV

Ini merupakan tahapan saat dimana nefropati diabetik bermanifestasi secara klinis dengan proteinuria yang nyata dengan pemeriksaan biasa, tekanan darah sering meningkat serta LFG yang sudah menurun di bawah normal. Progresivitas ke arah gagal ginjal hanya dapat diperlambat dengan pengendalian glukosa darah, lemak darah dan tekanan darah.

Tahap V

Ini adalah tahap gagal ginjal, saat LFG sudah sedemikian rendah sehingga penderita menunjukkan tanda-tanda sindrom uremik, dan memerlukan tindakan khusus yaitu terapi pengganti, dialisis maupun cangkok ginjal (Setiati *et al.*, 2014).

2) Patofisiologi nefropati diabetik

Pada awalnya hiperglikemia menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi GLUT-1 pada sel mesangial dan glomerulus ginjal sehingga terjadi peningkatan ambilan glukosa. Beberapa jalur yang telah teridentifikasi menjadi aktif akibat peningkatan ambilan glukosa antara lain: AGEs (*Advance Glicosylated End-products*), jalur poliol, *Renin Angiotensin System* (RAS), dan stress oksidatif yang akan mengaktifkan jalur PKC (Protein Kinase C) (Kanwar, 2012).

Hiperglikemia akan menyebabkan peningkatan produk glikosilasi dengan proses non enzimatis yang disebut AGEs (*Advanced Glicosylation End Products*). Proses ini dapat berlangsung di intraseluler dan ekstraseluler. AGEs intraseluler akan mengaktifasi PKC, *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), serta *nuclear factor kappa B* (NF- κ B). Aktivasi ketiga zat ini akan meningkatkan ekspresi *transforming growth factor β* (TGF- β) pada sel mesangial dan sel endotel glomerulus (Kanwar, 2012). TGF- β memainkan peran penting dalam terjadinya glomerulosklerosis dan fibrosis tubulointerstisial dengan menstimulasi sintesis matriks ekstraseluler kolagen tipe I, III, IV dan fibronektin serta menghambat degenerasi matriks ekstraseluler melalui hambatan matriks metaloproteinase (Ziyadeh, 2004). AGEs di ekstraseluler dapat berikatan dengan reseptornya yaitu RAGEs (*Receptor for Advanced Glicosylation End Products*). yang terletak pada

membran sel endotel dan sel mesangial (Brownlee, 2005). Ikatan AGEs dengan RAGE akan menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas dan penipisan sistem antioksidan seluler seperti *glutation peroksidase* (Goldin *et al.*, 2006). Hal tersebut selanjutnya menimbulkan peradangan pembuluh darah, trombogenesis dan merangsang produksi faktor pertumbuhan prosklerotik seperti *Transforming Growth Factor β* - (TGF- β) dan *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF) melalui MAPK, NF-kB dan / atau jalur protein kinase C (PKC) di kedua mesangial dan sel tubulointerstisial ginjal (Fukami *et al.*, 2008).

Hiperglikemia juga akan mengaktifkan jalur poliol. Jalur poliol terjadi melalui dua reaksi, yaitu reduksi glukosa menjadi sorbitol dan oksidasi sorbitol menjadi fruktosa. Reduksi glukosa menjadi sorbitol diperantarai oleh enzim aldosa reduktase dan kofaktor NADPH. Oksidasi sorbitol menjadi fruktosa diperantarai oleh enzim sorbitol dehidrogenase dan kofaktor NAD⁺ (Ohshiro, 2005). Aktifnya jalur poliol ditandai dengan peningkatan aldose reduktase (AR) pada korteks ginjal tikus dengan DM (Lanaspa *et al.*, 2014).

Dalam keadaan normal, konsentrasi sorbitol di dalam sel rendah. Akan tetapi, apabila terjadi keadaan hiperglikemia, konsentrasi sorbitol meningkat. Degradasi sorbitol ini berjalan lambat sehingga sorbitol menumpuk dalam sel, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel tubulus proksimal dan mengalami nekrosis sel (Schrijvers 2004).

Fruktosa (secara endogen) juga dihasilkan melalui jalur poliol. Sebuah penelitian menyatakan bahwa produksi fruktosa endogen atau fruktoneogenesis pada tikus DM di tubulus proksimal dapat menyebabkan kerusakan ginjal dengan ciri inflamasi dan disfungsi tubulointerstisial. Hal tersebut disebabkan oleh metabolisme fruktosa endogen oleh fruktokinase-ketoheksokinase (KHK) (Lanaspa *et al.*, 2014).

Hepar dan tubulus proksimal merupakan tempat utama pembentukan fruktokinase-ketoheksokinase (KHK) (Lanaspa *et al.*, 2012). Fruktokinase merupakan enzim kunci dari metabolisme fruktosa menjadi fruktosa 1-fosfatase. Metabolisme fruktosa melalui KHK mengakibatkan kenaikan asam urat, stres oksidatif dan menyebabkan depleksi ATP. Lebih lanjut lagi, metabolisme fruktosa

menyebabkan aktivasi NF- κ B, inflamasi kortikal, dan infiltrasi makrofag di korteks ginjal melalui sitokin dan kemokin proinflamatori (IL-1b, IL-6, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), TGF- β tubular, FN-1). Semua itu bertanggung jawab terhadap kerusakan tubulointerstisial (Lanaspa *et al.*, 2014).

Kenaikan asam urat di sirkulasi (akibat metabolisme fruktosa di hepar) pada tikus dapat menyebabkan hipertensi sistemik dan glomerular serta menyebabkan kerusakan mikrovaskuler, glomerular dan tubulointerstisial. (Sánchez-Lozada *et al.*, 2007, Sánchez-Lozada *et al.*, 2005). Asam urat juga dapat mengaktifasi jalur RAS (*renin angiotensin system*) yang dapat menyebabkan kerusakan mikrovaskuler, mengganggu autoregulasi ginjal dan meningkatkan tekanan hidrostatik glomerulus (Sánchez-Lozada *et al.*, 2005, Sánchez-Lozada *et al.*, 2008). Selain itu, Aktivasi jalur RAS juga meningkatkan angiotensin II yang menyebabkan vasokonstriksi sistemik, meningkatkan tahanan kapiler arterioler glomerulus, pengurangan luas permukaan filtrasi, stimulasi protein matriks ekstra selular, serta stimulasi kemokin yang bersifat fibrogenik. (DeFronzo 1996).

Hiperglikemia pada DM juga dapat memicu peningkatan *reactive oxygen species* (ROS). Stress oksidatif merupakan keadaan penurunan fungsi enzim-enzim antioksidan karena produksi ROS yang berlebihan. Kadar ROS yang berlebihan menstimulasi pengeluaran sitokin pro inflamasi. Sitokin pro inflamasi tersebut adalah IL-1, IL-6, IL-8, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), NF κ B, MCP-1, *cellular adhesion molecules* (CAMs), nitric oxide (NO), peroksinitrit (ONOO-), CTGF, dan TGF- β yang mengakibatkan kerusakan struktural dan fungsional ginjal (Elmarakby & Sullivan 2010).

2.2 Model Hewan Coba DM

Streptozotocin (STZ) atau 2-Deoxy-2-[[[(methylnitrosoamino)-carbonyl] amino]-D-glucopyranose merupakan salah satu agen diabetogenik dengan kemampuan toksiknya yang dapat mendestruksi sel β pankreas. Secara struktur, STZ adalah derivat N-nitrosurea dari D-glukosamin yang diisolasi dari *Streptomyces achromogenes* (Raza & John, 2013). Pemberian STZ dosis 100-150 mg/kgBB dapat menyebabkan DM tipe-1, dikarenakan pemberian dengan dosis

tersebut akan mengakibatkan kerusakan sel β pankreas secara absolut. Sedangkan pemberian STZ dengan dosis 35-60 mg/kgBB dapat menyebabkan DM tipe-2, dikarenakan pemberian dengan dosis tersebut akan terjadi degenerasi reversibel pada sel β pankreas (Akbarzadeh *et al.*, 2007).

Menurut Srinivasan *et al.*, (2005), bahwa pada tikus yang diinduksi STZ dengan dosis rendah yaitu 35 mg/kgBB yang disertai pemberian makanan tinggi lemak, dapat menyebabkan kondisi yang menyerupai DM tipe-2, yaitu diabetes yang memiliki kondisi hiperglikemia namun tidak disertai peningkatan kadar gula darah yang drastis. Tikus diabetes tipe 2 (induksi STZ dosis rendah dengan diet tinggi lemak) memperlihatkan gambaran kerusakan ginjal lebih nyata dibandingkan dengan tikus diabetes tipe 1 (induksi STZ dosis tinggi) (Danda *et al.*, 2005). Pembuatan tikus model diabetes dengan cara ini selama 21 hari terbukti secara signifikan meningkatkan serum trigliserida dan kolesterol total yang berhubungan dengan peningkatan risiko ND. Secara histopatologi, terjadi kerusakan pada ginjal berupa kongesti, proteinuria, haemorrhage dan degenerasi tubular (Chaudhari *et al.*, 2012).

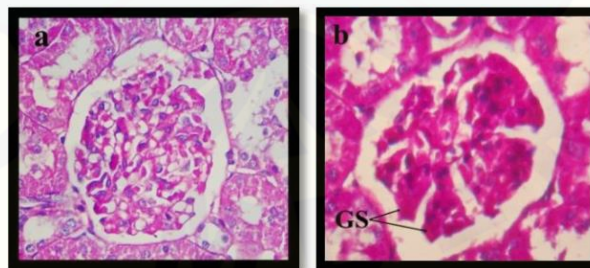
2.2 Histopatologi Ginjal Pada Tikus DM

Pada kondisi DM, semua jenis sel ginjal termasuk sel endotel, sel tubulointerstisial, sel-sel podosit dan mesangial dapat mengalami kerusakan. Di sisi lain, cedera dan disfungsi salah satu jenis sel dapat meluas ke semua jenis sel ginjal dan mempengaruhi fungsi ginjal (Maezawa *et al.*, 2015). Kerusakan sel-sel tersebut secara progresif akhirnya akan menimbulkan nefropati diabetik. Perubahan histologis nefropati diabetik pada tikus sangat mirip dengan yang terjadi pada manusia (Yamamoto *et al.*, 1993). Beberapa faktor yang terkait dengan ND diantaranya adalah genetik, hiperglikemia, aktivasi poliol, aktivasi sistem renin-angiotensin, spesies oksigen reaktif (ROS), aktivasi jalur protein kinase C, peningkatan produk akhir glikosilasi (AGE) dan hiperfiltrasi glomerulus (Ziyadeh, 2004).

Perubahan struktur yang terjadi pada glomerulus dapat berupa hipertrofi, ekspansi matriks mesangial, glomerulosklerosis, dan penebalan membran basal

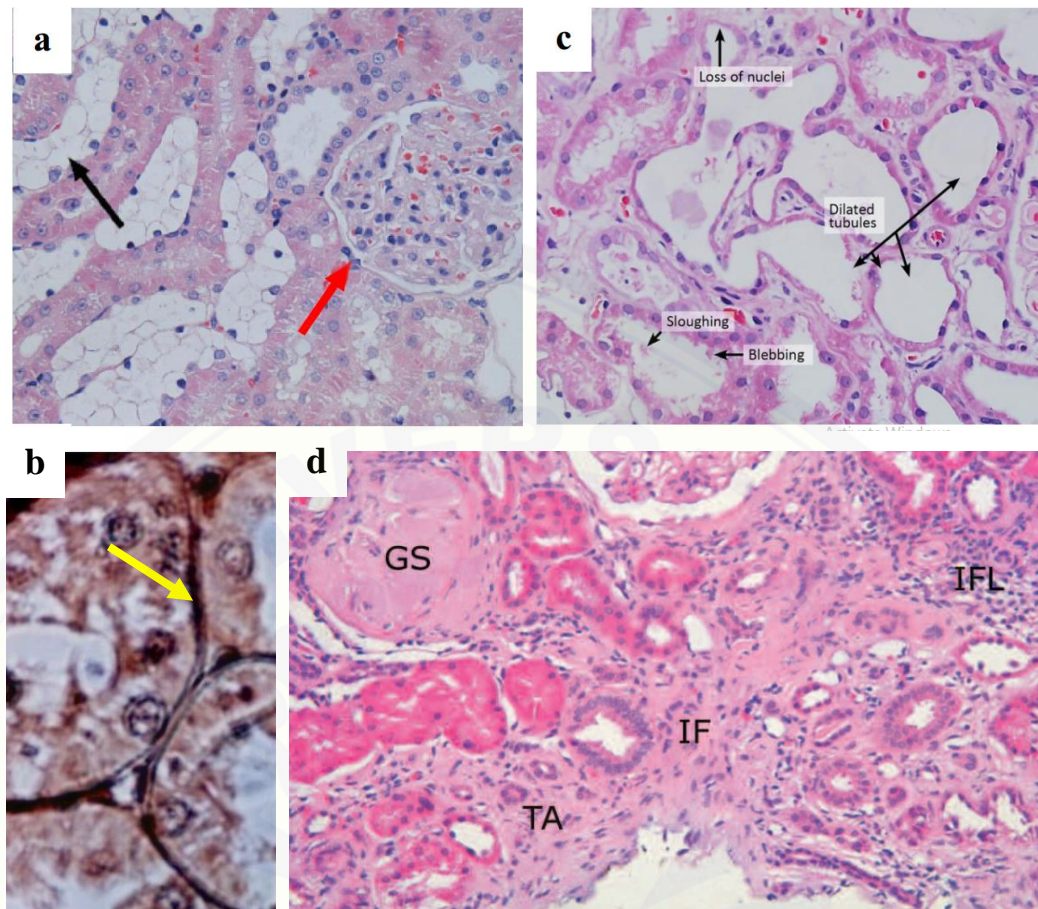
glomerulus. Studi morfometri menunjukkan bahwa matriks mesangial dan ketebalan membran basal memiliki korelasi yang erat dengan ND (Pourghasem *et al.*, 2014). Penebalan membran basal pada glomerulus dan tubulus, serta akumulasi komponen matriks ekstraselular diakibatkan karena adanya peningkatan ekspresi gen dan sintesis protein seperti kolagen IV, laminin, dan fibronektin (Ziyadeh, 2004). Pada manusia, glomerulosklerosis muncul dalam 2 bentuk yaitu difus dan nodular, namun menurut penelitian, pada tikus hanya tampak lesi difus dan tidak ada laporan yang menunjukkan bentuk nodular (Alsaad & Herzenberg, 2007; Pourghasem *et al.*, 2015). Contoh gambar kerusakan glomerulus pada ND dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Penelitian yang dilakukan Singh dan Farrington menunjukkan bahwa perubahan struktur histologi dan fungsi tubulus terjadi terlebih dahulu sebelum terjadi perubahan pada glomerulus (Singh & Farrington, 2010). Perubahan awal yang sering terjadi pada tubulus diantaranya hipertrofi tubular, penebalan membran basal tubular dan peradangan interstisial dengan infiltrasi sel mononuklear (Najafian & Alpers, 2011). Progresifitas kelainan tubulointerstitium selanjutnya menyebabkan fibrosis tubulointerstisial dan atrofi tubular (IFTA). Contoh gambar kerusakan tubulus pada ND dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Keterangan : a = glomerulus normal; b = glomerulosklerosis

Gambar 2.1 Gambaran histologis glomerulosklerosis (Perkasa *et al.*, 2012)



Keterangan : panah merah = ekspansi mesangial; panah hitam = degenerasi vacuolar; panah kuning = penebalan membrane basal tubulus; GS = global sclerosis; IF = fibrosis interstisial; TA = atrofi tubulus; IFL = inflamasi interstisial

Gambar 2.2 Gambar histologis kerusakan tubulus (Liu et al., 2015; Kolset et al., 2012; Pourghasem et al., 2015; Ananworanich et al., 2014)

2.3 Beras Analog

Beras analog adalah produk olahan yang dibuat dari sebagian atau seluruhnya bahan non beras yang memiliki bentuk seperti butiran beras padi (Mishra *et al.*, 2012). Beras tiruan juga dikenal dengan sebutan beras analog, beras artifisial, beras mutiara, atau beras cerdas (Herawati *et al.*, 2014). Metode pembuatan beras analog terdiri atas dua cara yaitu metode granulasi dan ekstrusi. Perbedaan pada kedua metode ini adalah tahapan gelatinisasi adonan dan tahap pencetakan. Hasil cetakan metode granulasi adalah butiran sedangkan hasil

cetakan metode ekstrusi adalah bulat lonjong dan sudah lebih menyerupai beras (Widara, 2012).

2.3.1 Potensi beras analog

Beras analog tersusun bahan-bahan yang kaya karbohidrat, sebagaimana fungsi beras pada umumnya yang merupakan sumber karbohidrat. Tepung sorgum, jagung, maizena, mocaf (pati singkong termodifikasi), sagu aren, dan umbi-umbian, merupakan sumber karbohidrat yang banyak dijadikan sebagai bahan utama pembuatan beras analog. Bahan-bahan tersebut selain berfungsi sebagai bahan utama, tetapi juga mampu berkontribusi dalam pencegahan penyakit, baik karena fungsionalitas bahan itu sendiri maupun akibat dari proses pembuatan beras analog (Sadek *et al.*, 2015). Misalkan saja pembuatan beras analog oleh Kurniawati *et al.*, (2015) dari campuran jagung, sagu, bekatul, kedelai, dan gliseril monostearat menghasilkan indeks glikemik (IG) rendah (54), yang disebabkan oleh kandungan serat dan bahan penyusunnya yang memiliki indeks glikemik rendah. Menurut pendapat Franz (2012) dan Siagian (2004), makanan IG rendah tidak menimbulkan peningkatan glukosa darah secara cepat sehingga mampu memperbaiki sensitivitas insulin serta bermanfaat dalam pengendalian glukosa darah penderita DMT2. Indeks glikemik yang rendah diduga berkaitan dengan kandungan serat, amilosa dan protein yang tinggi pada beras analog (Sadek *et al.*, 2015). Konsumsi pangan tinggi serat dan amilosa, juga mampu memperbaiki sensitivitas insulin, menurunkan laju penyerapan glukosa, serta bermanfaat dalam pengendalian glukosa darah sehingga dapat menurunkan risiko komplikasi pada penderita DMT2 (Riccardi *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2007; Franz, 2012)

Kadar serat pangan yang tinggi dapat bertindak sebagai penghambat aktifitas enzim pencernaan dan laju makanan pada saluran pencernaan. Hal ini menyebabkan proses pencernaan menjadi lambat dan respon glukosa darah akan lebih rendah sehingga IG-nya cenderung rendah (Trinidad *et al.*, 2010). Protein dalam makanan dapat menghalangi gelatinisasi pati, melalui pembentukan matriks di luar granula pati. Akibatnya, pencernaan pati menjadi terhambat sehingga dapat

menurunkan indeks glikemik. Amilosa yang merupakan polimer glukosa dengan struktur tidak bercabang sehingga mudah berikatan dengan sesamanya membentuk struktur yang kompak, melalui ikatan hidrogen. Dengan struktur tersebut, amilosa menjadi lebih sukar dihidrolisis oleh enzim pencernaan sehingga daya cerna pati juga menjadi rendah (Sadek *et al.*, 2015).

Penggunaan teknologi ekstrusi dalam pembuatan beras analog juga dapat memberikan kontribusi dalam mencegah penyakit degeneratif. Terbentuknya pati resisten selama proses ekstrusi memiliki manfaat dalam menurunkan kolesterol dan indeks glikemik serta memiliki efek kesehatan pada usus besar (Sadek *et al.*, 2015).

2.3.2 Beras cerdas

Beras cerdas merupakan beras analog yang dikembangkan oleh Subagio (2011) dengan bahan utama dari *Modified Cassava Flour* (MOCAF). Mocaf merupakan produk modifikasi dari tepung singkong. Secara definitif, MOCAF adalah produk tepung dari singkong (*Manihot esculenta Crantz*) yang diproses menggunakan prinsip memodifikasi sel singkong secara fermentasi, dimana mikrobial BAL (Bakteri Asam Laktat) mendominasi selama fermentasi tepung singkong ini (Subagio & Windrati, 2012).

Pembuatan Beras Cerdas dimulai dengan mencampur bahan MOCAF dan tepung beras. Perbandingan komposisi MOCAF dan tepung beras dibuat bervariasi. Campuran tersebut selanjutnya ditambahkan air sebesar 30 persen dari berat total (59,55 ml) yang bertujuan untuk menambah kandungan air sehingga mempermudah proses pra gelatinisasi, kemudian kedua bahan dikukus selama 10 menit agar terjadi pra gelatinisasi. Setelah itu pembentukan adonan dengan menambahkan air panas agar terjadi gelatinisasi, serta ditambahkan bahan-bahan lain yaitu isolate protein kedelai, dan minyak sawit. Selanjutnya adonan dicetak dalam mesin ekstruder dingin, dan dipotong-potong membentuk butiran-butiran beras. Setelah itu butiran beras di kukus selama 5 menit agar terjadi gelatinisasi yang optimal, kemudian dilakukan tempering selama 1 menit agar terjadi

retrogadasi sehingga mempermudah dalam pengeringan, dan dikeringkan pada suhu 50°C selama 12 jam (Subagio & Windrati, 2012).

2.3.3 MOCAF (*Modified Cassava Flour*)

Mocaf atau mocal adalah singkatan dari *Modified Cassava Flour* yang berarti tepung singkong yang telah mengalami modifikasi. Cara pembuatan mocaf yaitu singkong dikupas, dikerik lendirnya kemudian dicuci sampai bersih. Singkong yang bersih dipotong-potong dan difermentasi selama 12-72 jam. Singkong yang telah difermentasi kemudian dikeringkan dan ditepungkan sehingga dihasilkan tepung singkong termodifikasi (Subagio *et al.*, 2008).

Selama proses fermentasi Mikroba yang tumbuh menghasilkan enzim pektinolitik dan selulolitik yang dapat menghancurkan dinding sel singkong, sedemikian rupa sehingga terjadi liberasi granula pati. Hal tersebut membuat cita rasa mocaf menjadi netral dengan menutupi cita rasa singkong sampai 70% (Subagyoyo *et al.* 2008). Mocaf mengandung karbohidrat berupa pati dan serat dalam jumlah besar tetapi minim protein. Kandungan serat mocaf yang tinggi cocok untuk pencernaan. Mocaf juga memiliki indeks glikemik yang rendah sehingga sesuai untuk penderita DM (Hidayat & Zaein, 2011). Selain itu, kandungan protein mocaf yang lebih sedikit mempengaruhi sifat fisiknya yaitu warna yang lebih putih dibandingkan dengan tepung singkong biasa (Subagyoyo *et al.*, 2008).

2.3.4 Jagung

Jagung (*Zea mays*) merupakan salah satu jenis tanaman padi-padian dengan spesies *mays* (*mahiz*). Biji jagung terdiri atas empat bagian pokok, yaitu kulit (*perikarp*), endosperm, lembaga, dan *tip cap* (Damardjati *et al.*, 2000). Jagung merupakan sumber karbohidrat yang berpotensi sebagai alternatif pengganti beras (Widara, 2012). Jagung dapat diolah menjadi produk-produk jagung. Biji jagung yang muda dapat diolah menjadi sayur, sedangkan biji jagung yang tua dapat diolah menjadi emping, beras jagung, nasi jagung, grits maupun

tepung jagung. Tepung jagung menurut SNI adalah tepung yang diperoleh dengan cara menggiling biji jagung yang baik dan bersih (SNI 01-3727-1995). Penggilingan jagung menjadi tepung jagung dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu penggilingan basah dan penggilingan kering. Penggilingan kering lebih mengutamakan pemisahan endosperm dari bagian-bagian lembaga dan *tip cap* dapat menghasilkan *grits*, *meal*, *flour*, dan *germ*.

Jagung mengandung serat pangan yang dibutuhkan tubuh (*dietary fiber*) dengan indeks glikemik (IG) relatif rendah dibanding beras dari padi sehingga beras jagung menjadi bahan yang dianjurkan bagi penderita diabetes. Kisaran IG beras/ padi adalah 50-120 dan beras jagung 50-90 (Suarni & Yasin, 2011). Jagung mengandung beta karoten yang selain berfungsi sebagai provitamin A, juga banyak dilaporkan dapat berperan sebagai antioksidan alami. Senyawa ini dapat meningkatkan imunitas tubuh, serta menghambat kerusakan degeneratif sel dengan cara menangkal radikal bebas (Mayne, 1996; Hongmin *et al.*, 1996). Komposisi kimia pada jagung dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 komposisi kimia rata-rata biji jagung beserta bagian-bagiannya

Komponen	Jumlah %					
	Protein	Lemak	Serat kasar	Abu	Pati	Gula
Biji utuh	3,7	1,0	86,7	0,8	71,3	0,34
Endosperma	8,0	0,8	2,7	0,3	87,6	0,62
Lembaga	18,4	33,2	8,8	10,5	8,3	10,8
Kulit ari	3,7	1,0	86,7	0,8	7,3	0,34
Tip cap	9,1	3,8	-	1,6	5,3	1,6

(Sumber: inglett, 1987)

2.5 Kerangka Konseptual

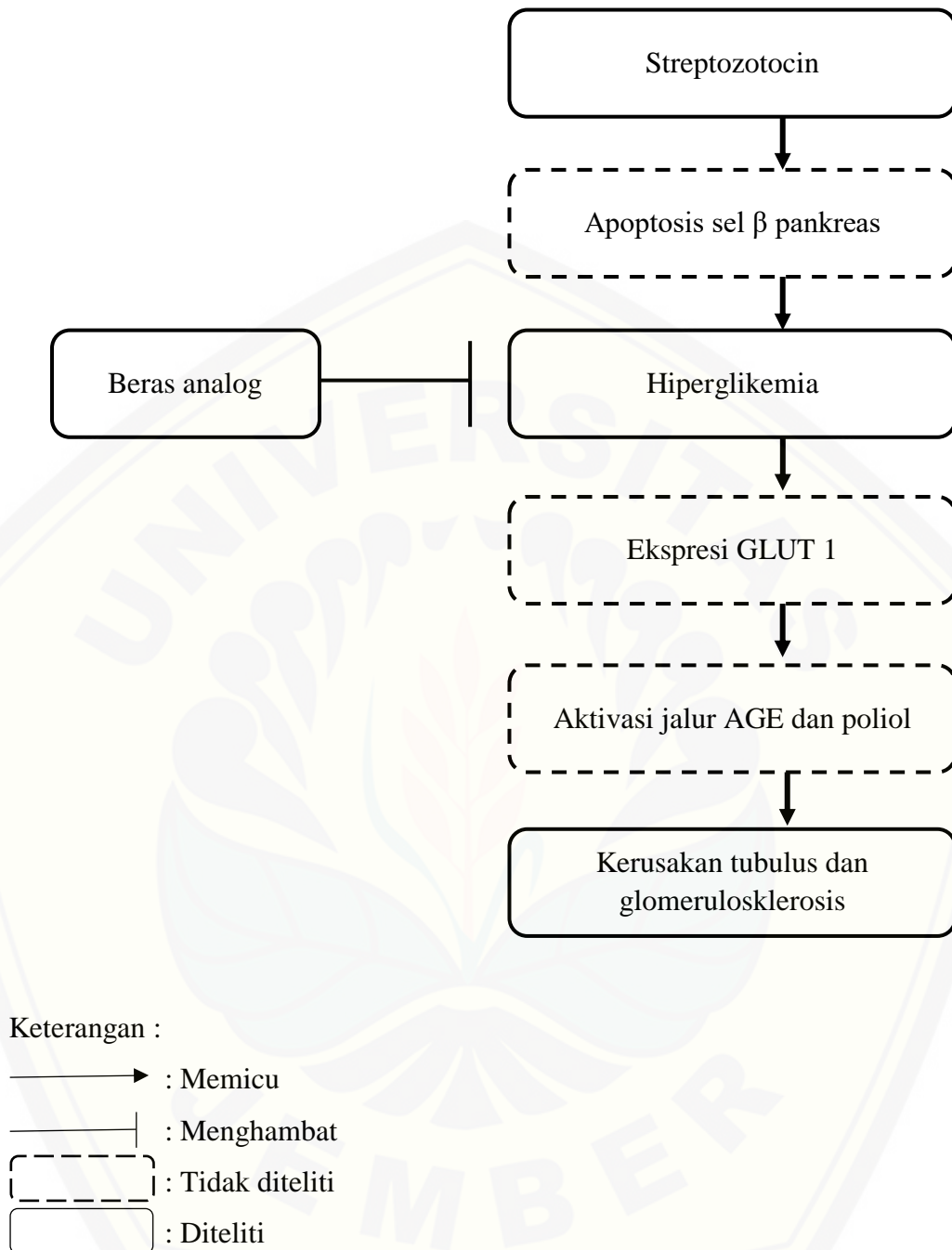
Kerangka konseptual pada penelitian ini ditunjukkan pada gambar 2.3. Streptozotocin merusak sel islet β pankreas dengan menghambat O-GlcNacase (OGA) sehingga terjadi *hyper-O-GlcNacylation* dan mengaktifkan jalur stress yang mengarah ke apoptosis sel β pankreas (Pathak *et al.*, 2008). Rusaknya sel β pankreas menginduksi hiperglikemia yang tidak terkontrol.

Hiperglikemia menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi GLUT-1, sehingga terjadi peningkatan ambilan glukosa. Jalur poliol menjadi aktif akibat

peningkatan ambilan glukosa. (Kanwar, 2012). Pada jalur poliol ini terjadi dua reaksi, yaitu reduksi glukosa menjadi sorbitol dan oksidasi sorbitol menjadi fruktosa (Ohshiro, 2005). Degradasi sorbitol yang berjalan lambat mengakibatkan penumpukan dalam sel sehingga dapat menyebabkan peningkatan tekanan osmotik dan selanjutnya dapat merusak sel tubulus proksimal dan mengalami nekrosis sel (Schrijvers, 2004). Selanjutnya, metabolisme fruktosa oleh enzim fruktokinase-ketoheksokinase (KHK) yang dihasilkan dari jalur poliol mengakibatkan kenaikan asam urat, stress oksidasi, mendorong terbentuknya sitokin dan kemokin proinflamatori (IL-1b, IL-6, MCP-1, TGF- β tubular, FN-1) serta menyebabkan deplesi ATP yang berperan dalam terjadinya kerusakan tubulointerstisial (Lanaspa *et al.*, 2014).

Peningkatan ambilan glukosa juga mengaktifkan jalur AGEs. AGEs intraseluler akan mengaktifasi protein kinase C, MAPK, serta NF- κ B. Aktivasi ketiga zat ini akan meningkatkan ekspresi *transforming growth factor β* (TGF- β) pada sel mesangial dan sel endotel glomerulus (Kanwar, 2012). TGF- β memainkan peran penting dalam terjadinya glomerulosklerosis dan fibrosis tubulointerstisial (Ziyadeh, 2004).

Beras analog diduga memiliki indeks glikemik rendah. Indeks glikemik yang rendah diduga berkaitan kandungan serat, amilosa dan protein yang tinggi pada beras analog akibat dari bahan-bahan penyusunnya. Serat dapat memperlama waktu penyerapan dan transit dari zat gizi makanan seperti karbohidrat, protein, dan lemak (ADA, 2002) sehingga dapat meningkatkan pengendalian KGD. Pengendalian KGD yang baik dapat mencegah terjadinya kerusakan pada glomerulus dan tubulus ginjal.



Gambar 2.3 Kerangka Konseptual

2.6 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah beras analog berpengaruh terhadap gambaran histopatologi organ ginjal pada tikus yang diinduksi STZ.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental sebenarnya (*true experimental laboratories*) secara *in vivo* dengan perlakuan randomisasi dalam pengelompokan sampel. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Pengukuran atau pengamatan dilakukan setelah dilakukan intervensi pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, dan Laboratorium Patologi Anatomi RSD. dr. Soebandi Jember. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.

3.2 Besar Sampel

Sampel dipilih dengan menggunakan teknik random sampling yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok. Besar sampel tiap kelompok dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer, yaitu $(n - 1)(p - 1) \geq 15$.

$$\text{Jika } p = 4, \text{ maka } (n - 1)(5 - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

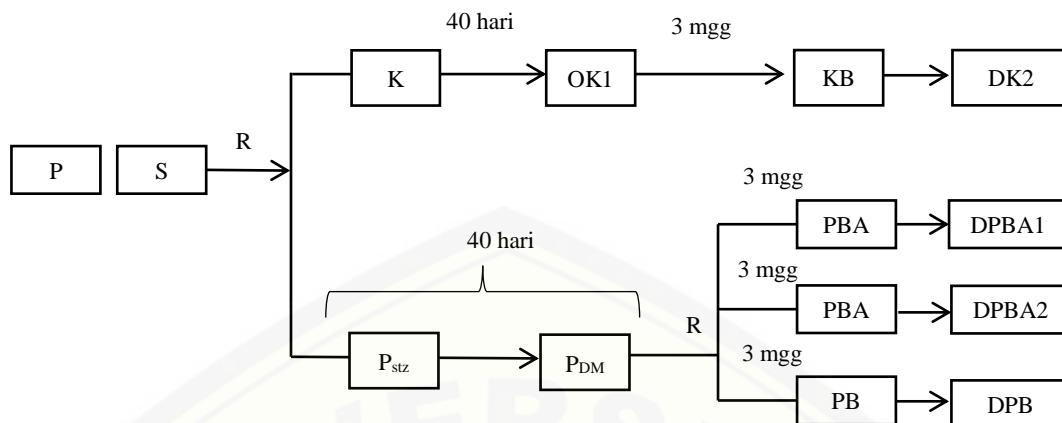
$$n \geq 6$$

Keterangan:

n : jumlah sampel,

p : jumlah perlakuan.

Hasil penghitungan dengan rumus di atas didapatkan $n \geq 6$ sehingga jumlah sampel tiap perlakuan kurang lebih 6 ekor tikus wistar. Jadi, dalam penelitian ini jumlah sampel keseluruhan yang digunakan adalah 24 ekor tikus wistar dalam 4 kelompok.



Keterangan:

P :Populasi

S :Sampel

R :Random alokasi

K :Kelompok kontrol yang tidak diinduksi DM dan diberi pakan biasa

P_{STZ} :Kelompok yang diberi pakan tinggi lemak dan pakan ayam tinggi protein serta diinduksi STZ dosis rendah pada hari ke-33

OK1 :Pemeriksaan KGD kelompok kontrol setelah diberi pakan biasa selama 40 hari

P_{DM} :Kelompok tikus DM, yaitu kelompok P_{stz} yang memiliki GDP_≥135 mg/dl, GDP diukur 1 minggu setelah diinduksi

KB :Kelompok kontrol yang diberi pakan standart selama 3 minggu

PBA1 :Kelompok tikus DM yang diberi beras analog 1 selama 3 minggu

PBA2 :Kelompok tikus DM yang diberi beras analog 2 selama 3 minggu

PB :Kelompok tikus DM yang diberi beras biasa selama 3 minggu

DK2 :Data kelompok kontrol

DPBA1 :Data kelompok perlakuan PBA1

DPBA2 :Data kelompok perlakuan PBA2

DPB :Data kelompok perlakuan PB

Gambar 3.1 Rancangan penelitian

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

- Instrumen untuk pemeliharaan tikus meliputi kandang tikus dari plastik ukuran 30x40x40 cm dengan penutup dari anyaman kawat, tempat makanan, botol minuman, spidol, solasi kertas dan anjang (alas dari anyaman kawat).

- b. Instrumen untuk pembuatan tikus DM meliputi timbangan (Camry), spuit 1 ml.
- c. Instrumen pembuatan preparat histopatologi adalah mikrotom, *waterbath*, alat bedah, meja fiksasi.
- d. Instrumen pengamatan gambaran histopatologi organ ginjal meliputi *object glass*, *cover slip* dan mikroskop cahaya.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Bahan untuk pembuatan tikus DM meliputi Streptozotocin dan diet tinggi lemak (lemak 22,8%)
- b. Bahan untuk pakan meliputi beras IR 64, MOCAF, tepung jagung, *soy protein isolate*, minyak sawit, sodium alginate, pakan ternak dan aquadest untuk minum
- c. Bahan untuk mengorbankan tikus meliputi eter, kapas, dapar sitrat.
- d. Bahan untuk menyimpan ginjal tikus sementara meliputi pot organ, *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, NaCl 0,9%
- e. Bahan untuk pengecatan preparat histopatologi ginjal menggunakan pengecatan HE (Haris Hematoxyline, alcohol, amonium air, counter staining)

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan tikus, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pengamatan gambaran histopatologi dan Laboratorium Patologi Anatomi RSD. dr. Soebandi Jember untuk pembuatan preparat histologi organ ginjal. Waktu penelitian adalah bulan Februari-Mei 2017.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah beras analog dengan 2 formula yang berbeda dengan label BA1 dan BA2 serta beras biasa.

3.5.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi organ ginjal tikus.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah jenis kelamin, usia, berat badan, perawatan, sanitasi kandang tikus.

3.6 Definisi Operasional

3.6.1 Beras Biasa

Beras biasa dalam penelitian ini adalah beras IR64 yang diperoleh dari pedagang beras pasar tanjung Jember. Beras tersebut dimasak terlebih dahulu menggunakan *rice cooker*, dengan cara sama seperti memasak/menanak nasi pada umumnya sampai menjadi nasi. Selanjutnya nasi dikeringkan menggunakan *oven dryer* pada suhu 60° C sampai kering. Nasi yang sudah kering kemudian dijadikan tepung dan selanjutnya dijadikan *pellet* dengan cara disubstitusi pada *pellet* diet standar dengan perbandingan 60% beras dan 40% *pellet* standar (lihat Lampiran 3.1). Komponen karbohidrat pada *pellet* diet standar diganti dengan tepung yang dihasilkan. *Pellet* yang dihasilkan diberi tanda diet B dan diberikan kepada tikus kelompok PB. *Pellet* diletakkan pada kandang selama 3 minggu dan diganti setiap pagi (20 gram/hari).

3.6.2 Beras Analog

Beras analog pada penelitian ini adalah beras buatan dengan bahan baku utama beras IR64, MOCAF dan jagung dengan 2 jenis perbandingan (lihat Tabel

3.1). Jagung yang digunakan dalam penelitian ini merupakan jagung biji kuning yang didapatkan di pasar tanjung Jember dengan ciri semua biji dalam tongkolnya berwarna kuning merata. Beras analog tersebut dibuat menggunakan teknik (Subagio *et al.*, 2012) dengan mereduksi komponen lemak sampai kandungan kalorinya sama dengan beras biasa. Selanjutnya beras analog tersebut dimasak kemudian dikeringkan menggunakan *oven dryer* pada suhu 60°C sampai kering, kemudian dijadikan tepung dan selanjutnya dijadikan *pellet* dengan cara disubstitusi pada *pellet* diet standar dengan perbandingan 60% beras dan 40% *pellet* srantar (lihat Lampiran 3.1). Komponen karbohidrat pada *pellet* diet standar diganti dengan tepung beras analog yang dihasilkan. *Pellet* yang dihasilkan masing-masing diberi tanda diet BA1 dan BA2 selanjutnya diberikan kepada tikus kelompok PBA1 dan PBA2. *Pellet* diletakkan pada kandang selama 3 minggu dan diganti setiap pagi (20 gram/hari).

Tabel 3.1 Variasi Komposisi Beras Analog Disusun oleh Hairrudin *et al.*

No	Bahan-bahan	Formula 1 (g)	Formula 2 (g)
1	MOCAF	2700	4050
2	Tepung beras	3600	2250
3	Soy protein isolate	310	180
4	Minyak sawit	340	420
5	Sodium Alginat	350	400
6	Tepung jagung	2700	2700
Total		10.000	10.000

(Sumber : Hairrudin *et al.*, 2017)

3.6.3 Gambaran Histologi Ginjal

Gambaran histologi ginjal diperiksa dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x untuk menilai kerusakan ginjal yang telah dicat haematoxylin-eosin (HE). Kerusakan ginjal pada penelitian ini terdiri dari kerusakan tubulus dan glomerulosklerosis. Kerusakan tubulus ginjal *Rattus Norvergicus* didapatkan secara semikuantitatif dengan menghitung persentase kerusakan tubulus (%) seperti yang didiskripsikan oleh Kang *et al.*, 2001 (skoring lihat Tabel 3.2). Kerusakan tubulus didefinisikan sebagai dilatasi tubulus, atrofi tubulus, *tubular cast formation*, vakuolisasi, degenerasi and pelepasan sel epitel

tubulus, atau penebalan membran basal tubulus. Persentase kerusakan tubulus dihitung menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang kortikal tubulus. Sedangkan, kerusakan pada glomerulus (glomerulosklerosis) dinilai berdasarkan derajat glomerulosklerosis menurut Ma *et al.*, 2005 (skoring lihat Tabel 3.2). Derajat glomerulosklerosis dihitung dengan memilih 25 glomerulus secara acak pada setiap preparat ginjal. Sklerosis adalah kolaps dan/atau hilangnya gelung glomerulus diikuti dengan terdapatnya materi hialin dan/atau penambahan matriks.

Tabel 3.2 Skoring Histopatologi Ginjal

Parameter	Persentase Kerusakan	Skor Kerusakan
Kerusakan tubulus	0%	0
	≤ 10%	1
	11 - 25%	2
	26 - 50%	3
	51 - 75%	4
	> 75%	5
Glomerulosklerosis	0%	0
	< 25%	1
	25 - 50%	2
	> 50 - 75%	3
	> 75%	4

(Sumber : Kang *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2005)

3.6.4 Pakan Standar

Pakan standar dalam penelitian ini adalah pakan yang dibuat sesuai dengan komposisi diet standar pada Lampiran 3.1.

3.6.5 Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak adalah pemberian diet pelet tinggi lemak (lemak 22,8%) kepada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* strain *wistar*) secara *ad libitum* dua kali sehari selama 40 hari.

3.7 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan perizinan *ethical clearance* terhadap prosedur penelitian ke komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran

Universitas Jember (Lampiran 3.2). Langkah-langkah pengujian dalam penelitian adalah sebagai berikut.

3.7.1 Pemilihan Hewan Coba

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jenis kelamin jantan, usia dewasa sekitar 3 bulan, berat badan 150-200g yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia FK Universitas Airlangga. Dari populasi tersebut selanjutnya diambil sampel sebanyak 24 ekor tikus. Sampel diseleksi menurut kriteria inklusi dan eksklusi agar didapatkan sampel yang homogen. Kriteria inklusi sampel penelitian sebagai berikut.

- a. Tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus strain Wistar*).
- b. Tikus wistar berbulu putih, mata jernih, feses baik, dan bergerak aktif selama penelitian berlangsung.
- c. Umur ± 3 bulan.
- d. Berat 150-200 gram.
- e. Kadar gula darah puasa normal selama proses adaptasi.

Kriteria eksklusi pada sampel penelitian adalah tikus wistar yang tidak mau makan, diare dan mati selama penelitian berlangsung.

3.7.2 Adaptasi Dan Perawatan Hewan Coba

Seluruh hewan coba dikondisikan dengan laboratorium/lingkungan dan pakan standart selama 7 hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebelum randomisasi dilakukan. Alas kandang, tempat pakan dan minum, sisa pakan dan kotoran tikus setiap hari dibersihkan untuk menghindari timbulnya penyakit dan stres pada hewan coba. Makanan pelet dan minuman diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang.

3.7.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus wistar. Dari 24 ekor dilakukan random alokasi dengan cara diambil 6 ekor tikus

untuk dijadikan kelompok kontrol (K0). Kelompok kontrol diberikan pakan standar selama perlakuan. Semua tikus pada kelompok sisanya diberikan pakan diet tinggi lemak selama 40 hari dan diinduksi streptozotocin dosis 35 mg/kgBB pada hari ke-33, kemudian tepat pada hari ke-40 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa. Tikus dikatakan menderita DM jika memiliki kadar glukosa darah puasa >135 mg/dl (Etuk, 2010). Tikus yang sudah DM dibagi dalam 3 kelompok secara random sampling, yaitu :

1. PBA1 : Kelompok tikus DM yang diberi beras analog 1
2. PBA2 : Kelompok tikus DM yang diberi beras analog 2
3. PB : Kelompok tikus DM yang diberi beras biasa

Masing-masing tikus diberikan pakan sesuai kelompoknya selama tiga minggu secara *ad libitum*. Setelah tiga minggu, tikus diterminasi. Sebelum diterminasi dilakukan anestesi menggunakan eter, kemudian tikus dibedah dan diambil organ ginjalnya.

3.7.4 Induksi DM

Tikus DM didapatkan dengan cara diinduksi dengan streptozotocin secara intraperitoneal dan dikombinasikan dengan diet tinggi lemak. Induksi dan diet tersebut dapat menghasilkan model tikus DM tipe 2. Dosis streptozotocin yang digunakan adalah dosis rendah, yaitu 35 mg/kgBB yang dilarutkan di dalam dapar sitrat dengan konsentrasi 0,05 M. pH 4,3-4,5. (Srinivasan *et al.*, 2005). Perhitungan dosis STZ dapat dilihat pada Lampiran 3.3. Diet tinggi lemak menggunakan lemak babi yang dijadikan *pellet*. Tikus diberikan diet tinggi lemak selama 40 hari pasca adaptasi. Pada hari ke 33 diinjeksi streptozotocin intraperitoneal. Satu minggu pasca induksi dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Tikus yang memiliki kadar glukosa darah ≥ 135 mg/dl dijadikan model tikus DM (Etuk, 2010).

3.7.5 Penyimpanan Organ

Tikus diterminasi pada akhir minggu ketiga pasca diberikan perlakuan. Sebelum diterminasi tikus diambil darahnya untuk menghitung kadar gula darah

puasa setelah dilakukan perlakuan. Tikus yang akan dikorbankan dianestesi menggunakan anestesi inhalasi eter lalu dibedah menggunakan scalpel, gunting bedah dan pinset di papan bedah. Setelah itu diambil ginjalnya lalu organ dicuci berulang-ulang dengan NaCl 0,9% dan disimpan dalam larutan *fiksasi* BNF 10 % pada pot organ.

3.7.6 Pembuatan Preparat Histologi

Organ ginjal diproses menjadi preparat histopatologi menggunakan pengecatan *Hematoxilin Eosin* (HE) yang dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSD dr. Soebandi Jember. Pembacaan gambaran histopatologi ginjal dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Jember.

Organ ginjal dimasukkan ke dalam *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% untuk mencegah autolisis oleh berbagai enzim. Setelah organ dimasukkan ke dalam larutan fiksatif, organ dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan ketebalan 0,3- 0,5 mm dan disusun ke dalam *tissue cassette*. Sejumlah *tissue cassette* selanjutnya dimasukkan ke dalam keranjang khusus untuk kemudian dimasukkan ke dalam mesin *processor* otomatis. Setelah itu jaringan akan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut : etanol 70% (2 jam); etanol 80% (2 jam); etanol 90% (2 jam); etanol absolut (2 jam); etanol absolut (2 jam); xylol (2 jam); xylol (2 jam); parafin cair (2 jam); parafin cair (2 jam). Setelah putaran waktu selesai, keranjang berisi *tissue cassette* dikeluarkan dan masuk ke tahap selanjutnya, yaitu proses penghilangan udara di dalam jaringan dengan mesin vakum bersuhu sebesar 60 °C. Selanjutnya cetakan dari *stainles steel* dihangatkan di atas api bunsen lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Sementara itu telah disiapkan parafin cair dalam tempat khusus. Parafin cair dituangkan ke dalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin. Selanjutnya blok parafin dilepas dari cetakannya dan disimpan terlebih dahulu sebelum dilakukan pemotongan di *freezer* (-20 °C).

Jaringan dalam blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalam 3-4 µm. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas

permukaan air di dalam *waterbath* bersuhu 46 °C. Kemudian bentuk irisan dirapikan dan diletakkan di atas *object glass* yang telah diolesi ewith sebagai perekat dengan hati-hati. *Object glass* dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator (60 °C) sampai preparat siap untuk diwarnai.

Tahapan selanjutnya merupakan tahap pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxilin Eosin* (HE). Tahapannya meliputi deparafinisasi, rehidrasi, pewarnaan I, differensiasi, *blueing*, pewarnaan II, dehidrasi dan *mounting*. Berikut merupakan tahapan pewarnaan HE :

a. Deparafinisasi

Deparafinisasi bertujuan menghilangkan/ melarutkan parafin yang terdapat pada jaringan. Zat yang digunakan adalah xylol.

b. Rehidrasi

Tujuan rehidrasi adalah memasukkan air ke dalam jaringan. Air akan mengisi rongga-rongga jaringan yang kosong. Zat yang digunakan adalah alkohol absolut, alkohol 90 %, alkohol 80 %.

c. Pewarnaan I

Pewarnaan I adalah memberi warna pada inti dan sitoplasma pada jaringan dengan menggunakan hematoxylin.

d. Differensiasi

Tujuan differensiasi untuk mengurangi warna biru pada inti dan menghilangkan warna biru pada sitoplasma. Zat yang digunakan adalah HCl 0,6%

e. *Blueing*

Tujuan *blueing* untuk memperjelas warna biru pada inti sel. Zat yang digunakan adalah lithium carbonat 0,5%

f. Pewarnaan II

Tujuan pewarnaan II untuk memberi warna merah pada sitoplasma sel dengan menggunakan zat eosin.

g. Dehidrasi

Tujuan dehidrasi untuk menghilangkan air dari jaringan. Zat yang digunakan adalah Alkohol 80 %, Alkohol 90 %, Alkohol 100 % (absolut).

h. *Mounting*

Tujuan *mounting* untuk mengawetkan jaringan yang telah diwarnai. Zat yang digunakan adalah entellan/ canada balsam.

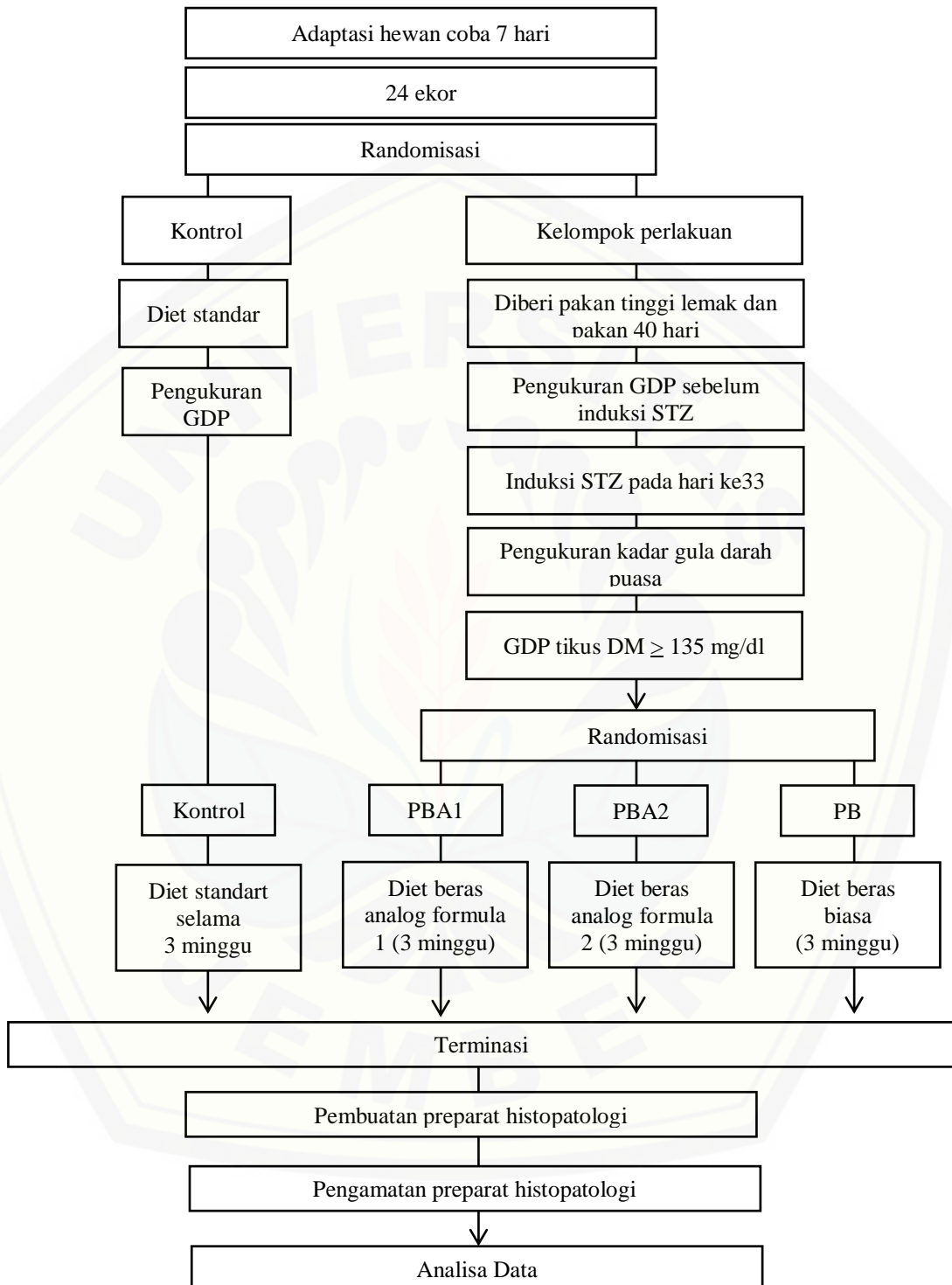
Setelah dilakukan pewarnaan, *object glass* ditutup dengan *cover slip* secara hati-hati agar tidak menghasilkan gelembung.

3.7.7 Analisis Data

Preparat histologi dibaca di Laboratorium Patologi Anatomi FK Universitas Jember. Pembacaan dilakukan secara *double blinding*. Gambaran histologi ginjal *Rattus Novergicus* didapat secara semikuantitatif dengan menghitung persentase kerusakan tubulus dan derajat glomerulosklerosis.

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis*. Kemudian dilanjutkan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan dalam setiap kelompok. Perbedaan pada tiap kelompok dinilai bermakna apabila nilai $p < 0,05$.

3.8 Kerangka Operasional



Gambar 3.2 Kerangka Operasional

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian beras analog dapat menghambat terjadinya kerusakan ginjal berdasarkan gambaran histopatologi pada tikus DM yang diinduksi STZ.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan peneliti pada penelitian ini adalah sebagai berikut

- a. beras analog terbukti dapat menghambat kerusakan ginjal sehingga dapat dijadikan sebagai landasan ilmiah prevensi perubahan patologis ginjal.
- b. Saran untuk penelitian selanjutnya :
 - 1). diharapkan dilakukan pengukuran kadar GDP setiap minggu setelah induksi STZ untuk memastikan tikus tetap dalam kondisi DM selama perlakuan,
 - 2). ditambah kelompok tikus model DM yang mendapat pakan standar (kontrol positif) sebagai pembanding terhadap kelompok perlakuan sehingga memastikan tikus pada kelompok perlakuan tetap dalam kondisi DM dan penurunan KGD merupakan akibat dari pemberian beras analog.
 - 3). dilakukan pengukuran nilai indeks glikemi beras analog agar dapat dibandingkan dengan beras yang ada, dan
 - 4). pengukuran terhadap GFR, albuminuria, serta kreatinin serum sebagai indikator lain kerusakan ginjal.
- c. pasien DM disarankan mengkonsumsi beras analog karena terbukti dapat menghambat terjadinya kerusakan ginjal.
- d. bagi tenaga kesehatan, beras analog dapat digunakan dalam pengelolaan DM karena terbukti dapat menghambat kerusakan ginjal

DAFTAR PUSTAKA

- Akbarzadeh, A., D. Norouzian, M. R. Mehrabi, S. H. Jamshidi, A. Farhangi, dan A. A. Verdi. 2007. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochem.* 22(2): 60-64.
- Almatsier, S. 2003. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Alsaad, K. O., A. M. Herzenberg. 2007. Distinguishing diabetic nephropathy from other causes of glomerulosclerosis: an update. *Journal of Clinical Pathol.* 60. 18-26.
- American Diabetes Association. 2002. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber . *Journal of The American Dietetic Association.* 102: 993 – 1000.
- American Diabetes Association. 2008. Nutritional recommendations and Interventions for Diabetes: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 31: 61-78.
- Ananworanich, J., A. Datta, J. L. K. Fletcher, N. Townamchai, N. Chomchey, E. Kroon, I. Sereti, V. Valcour, dan J. H. Kim. 2014. Acute tubular nephropathy in a patient with acute HIV infection: review of the literature. *AIDS Research and Therapy.* 11(34). 1-6.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penerbit Balitbangkes.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 1995. Standar Tepung Jagung (SNI 01-3727-1995). www.bsn.go.id. [5 Oktober 2017].
- Behall, K. M. dan J. Hallfrisch. 2002. Plasma glucose and insulin reduction after consumption of bread varying in amylose content. *European Journal of Clinical Nutrition.* 56(9): 913-920.
- Brand, J. C., S. Colagiuri, S. Crossman, A. Allen, D. C. K. Roberts, dan A. S. Truswell. 1991. Low glycemic foods improve long-term glycemic control in NIDDM. *Diabetes Care.* 14: 95–101.
- Brown, J. E. 2005. *Nutrition through the life cycle*. Edisi Kedua. USA: ThomsonWadsworth.
- Brownlee, M. 2005. The Pathobiology of Diabetic Complications a Unifying Mechanism. *Diabetes.* 54: 1615–1625

- Chandalia, M., A. Garg, D. Lutjohann, K. V. Bergmann, S. M. Grundy, dan L. J. Brinkley. 2000. Beneficial Effects Of High Dietary Fiber Intake In Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine*. 342: 1392-1398.
- Chaudhari, H. S., U. Bhandari, dan G. Khanna. 2013. Embelia Ribes Extract Reduces High Fat Diet And Low Dose Streptozotocin-Induced Diabetic Nephrotoxicity In Rats. *EXCLI Journal*. 12: 858-871
- Cunningham, J. J. 1998. The glucose/insulin system and vitamin C: Implications in insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of The American College of Nutrition*. 17(2): 105-8.
- Danda, R. S., N. M. Habiba, H. Rincon-Choles, B. K. Bhandari, J. L. Barnes, H. E. Abboud, dan P. E. Pergola. 2005. Kidney involvement in a nongenetic rat model of type 2 diabetes. *Kidney International*. 68: 2562-2571.
- Damardjati, D. S., S. Widowati, J. Wargiono, dan S. Purba. 2000. Potensi dan Pendayagunaan Sumber Bahan Lokal Serealia, Umbia-umbian, dan Kacang-kacangan untuk Penganekaragaman Pangan. *Makalah Pusat Penelitian dan Pengembangan Pangan*. Jakarta: Makalah pada Lokakarya Pengembangan Pangan Alternatif.
- DeFronzo, R. A., 1996. *Diabetic Nephropathy*. In: *Ellendberg & Rifkin's Diabetes Mellitus*. 5th ed. Connecticut. Appleton Lange: McGraw-Hill Publishing.
- Denardin, C. C., N. Bouffleur, P. Reckziegel, L. P. da Silva, dan M. Walter. 2012. Amylose content in rice (*Oryza sativa*) affects performance, glycaemic and lipidic metabolism in rats. *Ciência Rural*. 42(2): 381-387.
- Departemen Kesehatan RI (Depkes RI). 1996. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Departemen Kesehatan RI (Depkes RI). 2014. *Infodatin-diabetes: Waspada Diabetes Eat Well Live Well*. Jakarta: Depkes.
- Dipnaik, K., dan P. Kokare. 2017. Ratio of Amylose and Amylopectin as indicators of glycaemic index and in vitro enzymatic hydrolysis of starches of long, medium and short grain rice. *International journal of research in medical sciences*. 5(10): 4502-4505.
- Elmarakby, A. A. dan J. C. Sullivan. 2010. Relationship Between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines. *Cardiovascular Therapeutics*. 00. 1-11.

- Etuk, E. (2010). Animal model for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 1(2):130-134.
- Fidianingsih, I. (2011). Pengaruh Suspensi Bubuk Kedelai Kuning terhadap Struktur Histologik Ginjal Tikus Diabetik Diinduksi Streptozotocin. *Mutiara Medika*. 11(2): 79-87.
- Foster-Powell, K., S. H. A. Holt, dan J. C. Brand-Miller. 2002. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *The American of Journal Clinical Nutrition*. 76: 5-56.
- Fowler, M. J. 2008. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Clinical Diabetes*. 26(2). 77-82.
- Franz, M. J. 2012. *Medical Nutrition Therapy for Diabetes Mellitus and Hypoglycemia of Nondiabetic Origin*. In: Mahan LK, Escott-stump S, Janice LR, editors. *Krause's Food and the Nutrition Care Process*. Edisi 13th. Philadelphia: WB Saunders Company. 675-710.
- Fujii, H., M. Iwase, T. Ohkuma, S. Ogata-Kaizu, H. Ide, Y. Kikuchi, Y. Idewaki, T. Joudai, Y. Hirakawa, K. Uchida, S. Sasaki, U. Nakamura dan T. Kitazono. 2013. Impact of dietary fiber intake on glycemic control, cardiovascular risk factors and chronic kidney disease in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: the Fukuoka Diabetes Registry. *Nutrition Journal*. 12(159). 1-8.
- Fukami, K., S. Yamagishi, S. Ueda, dan S. Okuda. 2008. Role of AGEs in Diabetic Nephropathy. *Current Pharmaceutical Design*. 14: 946-952.
- Goldin, Alison., Beckman, A. Joshua, Schmidt, A. Marie, Creager. dan A. Mark. 2006. Advanced Glycation End Products sparking the development of diabetic vascular injury. <http://circ.ahajournals.org/content/114/6/597.full>. [Diakses pada 6 Desember 2015]
- Herawati, H., F. Kusnandar, D. R. Adawiyah, dan S. Budijanto. 2014. Teknologi Proses Produksi Beras Tiruan Mendukung Diversifikasi Pangan. *Jurnal Litbang Pertanian*. 33. 87-94.
- Hermanianto, J., B. Nurtama, P. Hariyadi, S. Widowati, dan L. Sukarno. 1997. Proses ekstrusi untuk pengolahan dan pengawetan hasil samping industri penggilingan padi. *Laporan Hasil Penelitian*. Lembaga Penelitian Institut Pertanian Bogor.
- Hidayat, N., dan M. N. C. Zaein. Atasi Krisis Pangan dengan Si Beras Cerdas. Surabaya. Gatra. 14 September 2011. 60.

- Hongmin, L., G. Xiaoding dan M. Daifu. 1996. Orange-flesh sweetpotato, a potensial source for β -karoten production. In E.T. Rasco and V.R. Amante (Eds.). *Selected Research Papers July 1995-June 1996*. 2. 126-130.
- Hu, F., J. E. Manson, M. J. Stampfer, G. Colditz, S. Liu, C. G. Solomon, dan W. C. Willett. 2001. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *The New England Journal of Medicine*. 345(11): 791-797.
- IDF. 2015. *Diabetes Atlas 7th Edition*. Brussels: International Diabetes Federation.
- Indrasari, S. D. 2009. Beras untuk Penderita Diabetes. <http://pustaka.litbang.pertanian.go.id/publikasi/wr312093.pdf>. [Diakses pada 30 November 2017].
- Inglett, G. E. 1987. *Kernel, structure, composition and quality. ed. Corn: Culture. Processing and Products*. Westport: Avi Publishing Company.
- Jassim, J. M. 2010. Effect of using local fish meal (Liza abu) as protein concentration in broiler diets. *The Journal of Poultry Science*. 9(12). 1097-1099.
- Jeevetha, S., M. Y. Barakatun-Nisak, H. Ngan, A. Ismail, dan A. Azlan. 2014. Relationship between amylose content and glycemic index of commonly consumed white rice. *IOSR-JAVS*. 7(9):12-8.
- Jeszka-Skowron, M., E. Flaczyk, J. Jeszka, Z. Krejpcio, E. Król, M. S. Buchowski. 2014. Mulberry leaf extract intake reduces hyperglycaemia in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats fed high-fat diet. *Journal Of Functional Foods*. 8C. 9–17
- Kabir, M., S. W. Rizkalla, M. Champ, J. Luo, J. Boillot, F. Bruzzo dan G. Slama. 1998. Dietary amylose-amylopectin starch content affects glucose and lipid metabolism in adipocytes of normal and diabetic rats. *The Journal of Nutrition*. 128: 35-43.
- Kang, D. H., Y. G. Kim, T. F. Andoh, K. L. Gordon, S. Suga, M. Mazzali, J. A. Jefferson, J. Hughes, W. Bennett, G. F. Schreiner, dan R. J. Johnson. 2001. Post-cyclosporine mediated hypertension and nephropathy: amelioration by vascular endothelial growth factor. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 280: F727–F736.
- Kanwar, Y. S., J. Wada, L. Sun, P. Xie, dan W. Elisabeth. 2012. Diabetic Nephropathy: Mechanisms of Renal Disease Progression. *Experimental and Biology Medicine*. 233: 4-11.

- Kolset, S. O., F. P. Reinholt, dan T. Jenssen. 2012. Diabetic Nephropathy and Extracellular Matrix. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 60(12). 976–986
- Koswara. 1992. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bharata Karya Aksara
- Kumar, G. S., dan P. V. Salimath. 2014. Effect of spent turmeric on kidney glycoconjugates in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 13(78). 1-9
- Kumar V., A. K. Abbas, dan J. C. Aster. 2015. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. Ninth edition. Canada: Elsevier.
- Kurniawati M., S. Budijanto, N. D. Yuliana. 2015. Karakterisasi Dan Indeks Glikemik Beras Analog Berbahan Dasar Tepung Jagung. *Jurnal Gizi Pangan, November*. 11(3): 169-174.
- Lanaspa, M. A., T. Ishimoto, C. Cicerchi, Y. Tamura, C. A. Roncal-Jimenez, W. Chen, K. Tanabe, A. Andres-Hernando, D. J. Orlicky, E. Finol, S. Inaba, N. Li, C. J. Rivard, T. Kosugi, L. G. Sanchez-Lozada, J. M. Petrash, Y. Y. Sautin, A. A. Ejaz, W. Kitagawa, G. E. Garcia, D. T. Bonthron, A. Asipu, C. P. Diggle, B. Rodriguez-Iturbe, T. Nakagawa, dan R. J. Johnson. 2014. Endogenous fructose production and fructokinase activation mediate renal injury in diabetic nephropathy. *Journal of The American Society Nephrology*. 25: 2526–2538.
- Lanaspa MA, L. G. Sanchez-Lozada, Y. J. Choi, C. Cicerchi, M. Kanbay, C. A. Roncal-Jimenez, T. Ishimoto, N. Li, G. Marek, M. Duranay, G. Schreiner, B. Rodriguez-Iturbe, T. Nakagawa, D. H. Kang, Y. Y. Sautin, dan R. J. Johnson. 2012. Uric acid induces hepatic steatosis by generation of mitochondrial oxidative stress: potential role in fructose-dependent and -independent fatty liver. *Journal of Biology Chemistry*. 287: 40732–40744.
- Lee, S. M. 1982. The Effect of a High Fibre Diet on Diabetic Nephropathy in the db/db Mouse. *Diabetologia*. 22: 349-353.
- Liu, X., R. Hu, H. Lian, Y. Liu, J. Liu, J. Liu, G. Lin, L. Liu, X. Duan, K. Yong, L. Ye. 2015. Dual-color immunofluorescent labeling with quantum dots of the diabetes-associated proteins aldose reductase and Toll-like receptor 4 in the kidneys of diabetic rats. *International Journal of Nanomedicine*. 10. 3651–3662
- Ma, L. J., S. Nakamura, J. C. Aldigier, M. Rossini, H. Yang, X. Liang, I. Nakamura, C. Marcantoni dan A. B. Fogo. 2005. Regression of glomerulosclerosis with high-dose angiotensin inhibition is linked to

- decreased plasminogen activator inhibitor-1. *Journal of The American Society Nephrology*. 16: 966–976
- Maezawa, Y., M. Takemoto, K. Yokote. 2015. Cell biology of diabetic nephropathy: roles of endothelial cells, tubulointerstitial cells and podocytes. *Journal of Diabetes Investigation*. 6. 3-15.
- Mayne, S. T. 1996. Beta-carotene, carotenoids and disease prevention in humans. *FASEB. J.* 10: 690-701.
- Miller, J. B., E. Pang, dan L. Brasmall. 1992. Rice: a high or low glycemic index foods. *American Journal of Clinical Nutrition*. 56: 1034-1036.
- Mishra A., H. N. Mishra, dan P. S. Rao. 2012. Preparation of rice analogues using extrusion technology. *International Journal of Food Science Technology*. 9: 1789-1797.
- Najafian, B., C. E. Alpers, A. B. Fogo. 2011. Pathology of human diabetic nephropathy. *Contribution to Nephrology*. 170. 36-47.
- Ohshiro, Y., L. Lee, dan G. L. King. 2005. Mechanism of Diabetic Nephropathy : Role of Protein Kinase-C Activation. *Advanced Studies in Medicine*. 5(1A): 5-19.
- Padayatty, S. J., A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, JH. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, SK. Dutta, dan M. Levine. 2003. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *The Journal of American College of Nutrition*. 22(1):18-35
- Pathak, S., H. C. Dorfmüller, V. S. Borodkin, dan D. M. F. Aalten. 2008. “Chemical Dissection of the Link between Streptozotocin, OGlcnAc, and Pancreatic Cell Death” <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2568864/> [Diakses pada 5 Juli 2017].
- Perkumpulan Endokrin Indonesia (PERKENI). 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. PB. Perkeni
- Post R. E., A. G. Mainous, D. E. King dan K. N. Simpson. 2012. Dietary Fiber for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis. *The Journal of The American Board of Family Medicine*. 25: 16-23.
- Pourghasem, M., E. Nasiri, H. Shafi H. 2014. Early Renal Histological Changes in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*. 3. 11-15.

- Pourghasem, M., H. Shafi, Z. Babazadeh. 2015. Histological changes of kidney in diabetic nephropathy. *Caspian Journal of Intern Medicine*. 6(3). 120-127.
- Price, S. A., dan Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*, Edisi 6. Alih bahasa oleh Hartanto. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rimbawan, & Siagian. 2006. Pengaruh indeks glikemik, komposisi, dan cara pemberian pangan terhadap respon glikemik pada subyek obes dan normal. *Jurnal Penelitian Ilmiah*.
- Raza, H., dan John, A. 2013. Steptozotocin-Induced Cytotoxicity, Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Human Hepatoma HepG2 Cells. *International Journal of Molecular Science*. 13: 5751-5767.
- Riccardi, G., A. A. Rivellese, dan R. Giacco. 2008. Role of glycemic Index and Glycemic Load in the Healthy State, in Prediabetes, and in Diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*. 87: 269-274.
- Sadek N. F., N. D. Yuliana, E. Prangdimurt, B. P. Priyosoeryanto, dan S. Budijanto. 2016. Potensi Beras Analog sebagai Alternatif Makanan Pokok untuk Mencegah Penyakit Degeneratif. *Pangan*. 25(1). 61-70.
- Sánchez-Lozada L. G., E. Tapia, A. Jiménez, P. Bautista, M. Cristóbal, T. Nepomuceno, V. Soto, C. Avila-Casado, T. Nakagawa, R. J. Johnson, J. Herrera-Acosta, M. Franco. 2007. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 292: F423–F429.
- Sánchez-Lozada L. G., E. Tapia, J. Santamaría, C. Avila-Casado, V. Soto, T. Nepomuceno, B. Rodríguez-Iturbe, R. J. Johnson, J. Herrera-Acosta. 2005. Mild hyperuricemia induces vasoconstriction and maintains glomerular hypertension in normal and remnant kidney rats. *Kidney International*. 67: 237–247.
- Sánchez-Lozada L. G. , E. Tapia, V. Soto, C. Avila-Casado, M. Franco, L. Zhao, R. J Johnson. 2008. Treatment with the xanthine oxidase inhibitor febuxostat lowers uric acid and alleviates systemic and glomerular hypertension in experimental hyperuricaemia. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 23: 1179–1185.
- Schrijvers, B. F., A. S. de Vriese, dan A. Flyvbjerg. 2004. From Hyperglycemia to Diabetic Kidney Disease: The Role of Metabolic, Hemodynamic, Intracellular Factors and Growth factors/Cytokines Endocrine. *Reviews*. 25(6): 971–1010.

- Setiati, S., I. Alwi, A. W. Sudoyo, Marcellus, B. Setiyohadi, dan A. F. Syam. 2014. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi VI. Jakarta: Interna Publishing
- Setiyaningsih P. 2008. Karakterisasi sifat fisiko kimia dan indeks glikemik beras berkadar amilosa sedang. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
- Shaw, J., R. Sicree, dan P. Zimmet. (2010). Global Estimates of The Prevalence of Diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 87: 4-14.
- Siagian, R. A. 2004. *Faktor Faktor yang Mempengaruhi Indeks Glikemik Pangan, Indeks Glikemik dan Beban Glikemik Beberapa Jenis Pangan Indeks Glikemik Pangan: Cara Mudah Memilih Pangan yang Menyehatkan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Singh, D. K., K.Farrington. 2010. The tubulointerstitium in early diabetic nephropathy : prime target or bystander? *International Journal of Diabetes in Developing Country*. 30(4). 185-190.
- Srinivasan K., B. Viswanad, L. Astrat, C. L. Kaul, dan P. Ramarao. 2005. Combination of high fat diet and low dose streptozotocin treated red: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological research*. 52: 313-320.
- Suarni dan M. Yasin. 2011. Jagung Sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Iptek Tanaman Pangan*. 6(1): 41-56.
- Subagio, A. 2011. Beras cerdas alternatif makanan pokok non-beras. *Laporan Program Riset Terapan*.
- Subagio, A. dan W. S. Windrati. (2012). Pengaruh Komposisi MOCAF (Modified Cassava Flour) dan Tepung Beras pada Karakteristik Beras Cerdas. *Majalah Pangan*. 21(1): 29-38.
- Subagio A., W. Siti, Y. Witono dan F. Fahmi. 2008. Prosedur Operasi Standar (POS) Produksi Mocal Berbasis Klaster. Rusnas Diversifikasi Pangan Pokok. Trenggalek.
- Tjokroprawiro, A. 2011. *Hidup Sehat Bersama Diabetes: Panduan Lengkap Pola Makan untuk Penderita Diabetes*. Edisi Revisi ke-3. Jakarta. Kompas Gramedia.
- Tjokroprawiro, A., P. Boedi, C. Effendi dan D. S. Santoso. 2015. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga*. Surabaya: Airlangga University Press.

- Trinidad, T. P., A. C. Mallillin, R. S. Sagum, dan R. R. Encabo. 2010. Glycemic indeks of commonly consumed carbohydrate foods in the Philippines. *Journal of Functional Food*. 2: 271-274.
- Turner R. C., dan R. R. Holman. 1995. Lessons from UK prospective diabetes study. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 28: 151–157.
- United States Department of Agriculture (USDA). 2016. National Nutrient Database for Standard Reference Release 28: Basic Report: 20014, Corn grain, yellow. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/6485?fgcd=Cereal+Grains+and+Pasta&manu=&lfacet=&format=&count=&max=50&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=corn&ds=Standard+Reference&qt=&qp=&qd=&qn=&q=&ing=>. [Diakses pada 5 Januari 2018].
- Widara, S. S. 2012. Studi Pembuatan Beras Analog Dari Berbagai Sumber Karbohidrat Menggunakan Teknologi Hot Extrusion. *Skripsi*. Bogor: Faculty of Agricultural Technology, Bogor Agricultural University.
- WHO. 2016. *Global Reports on Diabetes*. Geneva: WHO Press
- Wolever, T. M., P. Spadafora, dan H. Eshuis. 1991. Interaction between colonic acetate and propionate in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 53: 681-687.
- Yamamoto, T., T. Nakamura, N. A. Noble, E. Ruoslahti, W. A. Border. 1993. Expression of transforming growth factor beta is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 90. 1814-1818.
- Zhang, W. Q., H. W. Wang, Y. M. Zhang, Y. X. Yang. 2007. Effects of resistant starch on insulin resistance of type 2 diabetes mellitus patients. *Chinese journal of preventive medicine*. 41(2): 101-104.
- Zheng, X., L. Zhang, W. Wang, Y. Wu, Q. Zhang, W. Feng. 2011. Anti-diabetic activity and potential mechanism of total flavonoids of *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring in rats induced by high fat diet and low dose STZ. *Journal of Ethnopharmacology*. 137. 662–668
- Ziyadeh FN. 2004. Mediators of diabetic renal disease: the case for TGF-beta as the major mediator. *Journal of the American Society of Nephrology*. 15(1): 555–557.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Susunan Diet Standart per 100 gram

No	Komponen	Jumlah (g)
1.	Tepung ikan	23
2.	Kedelai	6
3.	Dedak padi	4
4.	Beras	35
5.	Jagung	20
6.	Tepung terigu	5
7.	Mineral	2
8.	Lemak	0
9.	Tetes	2
10.	Multivitamin	0,5
11.	Garam	0,5
Total		100

(Sumber : Harrudin *et al.*, 2017)

Lampiran 3.2 Keterangan Persetujuan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA

Nomor : 1.171 /H25.1.11/KE/2017

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :


PENGARUH PEMBERIAN BERAS ANALOG TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STZ

Nama Peneliti Utama : Prajesiaji Praba Kumara
Name of the principal investigator

NIM : 142010101008

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 20 Oktober 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian

Dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

- Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (Penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R : *Reduced, Reused, Redefined*)
- Mohon diperhatikan kontrol kualitas pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi ginjal agar didapat sediaan yang memenuhi syarat pembacaan.
- Pembacaan preparat histopatologi ginjal dilakukan oleh orang yang kompeten, minimal oleh 2 orang serta menggunakan metode blinding.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 10 Oktober 2017

Reviewer

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.3 Perhitungan Dosis STZ

1. Dosis STZ = 35 mg/KgBB
2. Kebutuhan STZ untuk 1 ekor tikus BB 180 gr
 $180 \times 35 : 1000 = 6,3 \text{ mg/ekor}$
3. Kebutuhan STZ untuk 18 ekor tikus BB 180 gr
 $6,3 \times 18 = 113,4 \text{ mg}$
4. Konsentrasi STZ dalam *buffer sitrat* adalah 22,5 mg/mL. Jumlah yang diinjeksikan ke setiap tikus secara intra peritoneal adalah sebagai berikut
 $6,3 \times 1 : 22,5 = 0,28 \text{ mL}$

Lampiran 4.1 Data Hasil Pemeriksaan *Double Blind* Derajat Glomerulosklerosis

Perlakuan		Derajat Glomerulosklerosis	Skor
Kontrol	1	18%	1
	2	0%	0
	3	2%	1
	4	0%	0
	5	0%	0
	6	4%	1
Median		1%	0,5
PBA1	1	16%	1
	2	4%	1
	3	28%	2
	4	16%	1
	5	8%	1
	6	2%	1
Median		12%	1,0
PBA2	1	58%	3
	2	20%	1
	3	40%	2
	4	54%	3
	5	12%	1
	6	44%	2
Median		42%	2,0
PB	1	46%	2
	2	76%	4
	3	60%	3
	4	80%	4
	5	68%	3
	6	52%	3
Median		64%	3,0

Lampiran 4.2 Data Hasil Pemeriksaan Double Blind Kerusakan Tubulus

Perlakuan		Persentase Kerusakan Tubulus	Skor
Kontrol	1	10.7%	1
	2	14.8%	2
	3	10.5%	1
	4	7.9%	1
	5	10.8%	1
	6	10.2%	1
Median		11%	1,0
PBA1	1	26.1%	3
	2	29.8%	3
	3	20.0%	2
	4	19.7%	2
	5	17.2%	2
	6	34.1%	3
Median		23%	2,5
PBA2	1	35.2%	3
	2	32.4%	3
	3	31.0%	3
	4	31.6%	3
	5	32.1%	3
	6	30.6%	3
Median		32%	3,0
PB	1	69.3%	4
	2	62.3%	4
	3	56.7%	4
	4	77.4%	5
	5	51.1%	4
	6	60.1%	4
Median		61%	4,0

Lampiran 4.3 Analisis Data

1. Uji *Kruskal Wallis*

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
SkorGlomerulus	kontrol	6	5.25
	PBA1	6	9.67
	PBA3	6	14.67
	PB	6	20.42
	Total	24	
SkorTubulus	kontrol	6	3.75
	PBA1	6	10.75
	PBA3	6	14.00
	PB	6	21.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	Skor Glomerulus	SkorTubulus
Chi-Square	16.817	21.105
df	3	3
Asymp. Sig.	.001	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

2. Uji *Mann Whitney*

a. Kelompok Kontrol dengan PBA1

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SkorGlomerulus	kontrol	6	4.75	28.50
	PBA1	6	8.25	49.50
	Total	12		
SkorTubulus	kontrol	6	3.75	22.50
	PBA1	6	9.25	55.50
	Total	12		

Test Statistics^a

	SkorGlomerulus	SkorTubulus
Mann-Whitney U	7.500	1.500
Wilcoxon W	28.500	22.500
Z	-2.021	-2.815
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.093 ^b	.004 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

b. Kelompok Kontrol dengan PBA2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SkorGlomerulus	kontrol	6	4.00	24.00
	PBA2	6	9.00	54.00
	Total	12		
SkorTubulus	kontrol	6	3.50	21.00
	PBA2	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	SkorGlomerulus	SkorTubulus
Mann-Whitney U	3.000	.000
Wilcoxon W	24.000	21.000
Z	-2.519	-3.207
Asymp. Sig. (2-tailed)	.012	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.015 ^b	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

c. Kelompok Kontrol dengan PB

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SkorGlomerulus	kontrol	6	3.50	21.00
	PB	6	9.50	57.00
	Total	12		
SkorTubulus	kontrol	6	3.50	21.00
	PB	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	SkorGlomerulus	SkorTubulus
Mann-Whitney U	.000	.000
Wilcoxon W	21.000	21.000
Z	-2.950	-3.108
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

d. Kelompok PBA1 dengan PBA2

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SkorGlomerulus	PBA1	6	4.83	29.00
	PBA2	6	8.17	49.00
	Total	12		
SkorTubulus	PBA1	6	5.00	30.00
	PBA2	6	8.00	48.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	SkorGlomerulus	SkorTubulus
Mann-Whitney U	8.000	9.000
Wilcoxon W	29.000	30.000
Z	-1.805	-1.915
Asymp. Sig. (2-tailed)	.071	.056
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.132 ^b	.180 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

e. Kelompok PBA1 dengan PB

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SkorGlomerulus	PBA1	6	3.58	21.50
	PB	6	9.42	56.50
	Total	12		
SkorTubulus	PBA1	6	3.50	21.00
	PB	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	SkorGlomerulus	SkorTubulus
Mann-Whitney U	.500	.000
Wilcoxon W	21.500	21.000
Z	-2.939	-3.035
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

f. Kelompok PBA2 dengan PB

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
SkorGlomerulus	PBA2	6	4.50	27.00
	PB	6	8.50	51.00
	Total	12		
SkorTubulus	PBA2	6	3.50	21.00
	PB	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	SkorGlomerulus	SkorTubulus
Mann-Whitney U	6.000	.000
Wilcoxon W	27.000	21.000
Z	-2.015	-3.207
Asymp. Sig. (2-tailed)	.044	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065 ^b	.002 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Lampiran 4.4 Kadar Gula Darah Puasa Tikus

Kelompok	$\bar{X} \pm$ Standar Deviasi		
	Sebelum STZ	Sesudah STZ	Sesudah Perlakuan
PBA1	$88 \pm 9,919$	$410,67 \pm 104,546$	$74,67 \pm 11,20$
PBA2	$96,16 \pm 12,967$	$370 \pm 119,788$	$97,17 \pm 23,44$
PB	$87 \pm 20,089$	$379 \pm 136,866$	$89,33 \pm 19,32$
KO	$83,33 \pm 12,738$	$98,83 \pm 18,02683$	$75,83 \pm 6,76$



Lampiran 4.5 Perhitungan Kalori Pakan Tikus

a. Intake kalori tikus per hari

Kelompok	Kalori pakan (kkal/100 g)	Pakan/hari	\bar{X} sisa pakan/hari	\bar{X} intake pakan/hari	Intake kalori
PBA1	366.7744*	20 g	1.86 g	18.14 g	66.5442
PBA2	378.4687*	20 g	1.61 g	18.39 g	69.6175
PB	353.0705*	20 g	1.49 g	18.51 g	65.3609
KO	367.6252*	20 g	2.82 g	17.18 g	63.1711

* lihat poin d dan e

b. Hasil uji *Mann Whitney* intake kalori

	PBA1	PBA2	PB	KO
PBA1		0,078	0,522	0,016*
PBA2	0,078		0,010*	0,004*
PB	0,522	0,010*		0,337
KO	0,016*	0,004*	0,337	

*berbeda signifikan

c. Komponen kimia dan kalori beras analog

Kandungan	BA1 (%)	BA2 (%)	PB (%)
Serat	1,7749	1,0642	0,4053
Amilosa	19,1345	20,4738	16,1429
Amilopektin	31,3199	35,5057	40,1496

(Sumber : Hairrudin *et al.*, 2017)

d. kalori beras analog

	Karbohidrat (%)	Protein (%)	Lemak (%)	Kalori (kkal/100gram)*
BA1	78,3942	8,4844	2,1400	366,7744
BA2	81,6924	6,4180	2,8919	378,4687
PB	77,6475	9,4481	0,5209	353,0705

*perhitungan kalori berdasarkan faktor konversi Atwater (satu gram karbohidrat = 4kkal, satu gram protein = 4kkal, satu gram lemak = 9kkal) menurut Almtsier (2003)

e. Kalori diet standar per 100 gram

Komponen	Jumlah (g)	Karbohidrat (%)	Protein (%)	Lemak (%)	Kalori (kkal)*
Tepung ikan ⁽¹⁾	23	33.76	60	2.54	91.517
Kedelai ⁽²⁾	6	34.8	34.9	18.1	26.502
Dedak padi ⁽³⁾	4	67.15	9.29	10.28	15.9312
Beras ⁽⁴⁾	35	88	10.9	0.6	140.35
Jagung ⁽⁵⁾	20	74.26	9.45	4.74	75.5
Tepung terigu ⁽⁶⁾	5	77.3	8.9	1.3	17.825
Mineral	2	-	-	-	-
Lemak	0	-	-	-	-
Tetes	2	-	-	-	-
Multivitamin	0,5	-	-	-	-
Garam	0,5	-	-	-	-
Total	100				367.6252

*perhitungan kalori berdasarkan faktor konversi Atwater (satu gram karbohidrat = 4kkal, satu gram protein = 4kkal, satu gram lemak = 9kkal) menurut Almtsier (2003)

Sumber : (1) = Jassim (2010)
 (2) = Koswara (1992)
 (3) = Hermanianto *et al.*, (1997)
 (4) = Setyaningsih (2008)
 (5) = USDA (2016)
 (6) = Departemen Kesehatan RI (1996)

Lampiran 4.6 Metode Pengukuran Beras Analog dan Beras Biasa

a. Metode pengukuran serat

Sampel kering sebanyak 2 gram diekstraksi lemaknya dengan soxhlet kemudian dipindahkan ke dalam erlenmeyer 600 ml dan kalau ditambahkan 0,5 gram asbes yang telah dipijarkan dan 3 tetes anti buih. Kemudian ditambahkan 200 ml larutan H₂SO₄ mendidih (1,25 g H₂SO₄ pekat/100 ml = 0,225 N H₂SO₄) dan ditutup pendingin balik kemudian dididihkan selama 30 menit dan digoyang-goyang. Suspensi kemudian disaring dengan kertas saring dan residu yang tertinggal dalam erlenmeyer dicuci dengan aquades mendidih. Residu dalam kertas saring dicuci sampai air cucian tidak bersifat asam lagi (uji dengan kertas lakmus). Residu dalam kertas saring dipindahkan secara kuantitatif ke dalam erlenmeyer kembali dengan spatula dan sisanya dicuci dengan larutan NaOH mendidih (1,25 g NaOH/100 ml = 0,313 N NaOH) sebanyak 200 ml sampai semua residu masuk ke dalam erlenmeyer. Cairan kemudian dididihkan dengan pendingin balik selama 30 menit sambil digoyang-goyangkan. Residu kemudian disaring dengan kertas saring yang diketahui beratnya sambil dicuci dengan larutan K₂SO₄ 10%. Residu kemudian dicuci dengan aquades mendidih dan dicuci dengan lebih kurang 15 ml alkohol 95%. Kertas saring dengan isinya kemudian dikeringkan pada suhu 110°C sampai berat konstan (1-2 jam), didinginkan dalam eksikator dan ditimbang.

$$\text{Kadar serat (\%)} = \frac{\text{berat serat kasar (g)}}{\text{berat serat sampel (g)}} \times 100\%$$

b. Metode pengukuran amilosa

Kadar amilosa ditentukan menggunakan metode spektrofotometri dengan prinsip pewarnaan menggunakan iodine dan dihitung sebagai *blue value*. Sempel sebanyak 100mg ditempatkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 1 ml etanol 95% dan 9 ml NaOH 1N. campuran dipanaskan dalam air

mendidih hingga terbentuk gel dan selanjutnya seluruh gel dipindahkan ke dalam labu takar 100ml. Gel ditambahkan dengan air dan dikocok, kemudian ditepatkan hingga 100ml dengan air. Sebanyak 5 ml larutan dimasukkan ke dalam labu takar 100ml dan ditambahkan dengan 1ml asam asetat 1 N dan 2ml larutan iod. Larutan ditepatkan hingga 100ml, kemudian dikocok dan dibiarkan selama 20 menit. Intensitas warna biru diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 625nm. Kadar amilosa dihitung berdasarkan persamaan kurva standar amilosa. Kadar amilopektin dihitung berdasarkan selisih antara kadar pati dan amilosa.

c. Metode pengukuran pati

Sebanyak 3 gram sampel dimasukkan dalam gelas piala 250ml, kemudian ditambahkan 50ml aquades dan diaduk selama 1 jam. Suspensi disaring dengan kertas saring dan dicuci dengan aquades sampai volume filtrasi 250ml. Filtrate ini mengandung karbohidrat yang larut dan dibuang. Residu pada kertas saring dicuci 5 kali dengan 10ml ether, biarkan ether menguap dari residu, kemudian cuci lagi dengan 150ml alkohol 10% untuk membebaskan lebih lanjut karbohidrat yang terlarut. Residu dipindahkan secara kuantitatif dari kertas saring ke dalam Erlenmeyer dengan pencucian 200ml aquades dan tambahkan 20 ml HCl ± 25%, tutup pendingin balik dan panaskan di atas penagas air mendidih selama 2,5 jam. Setelah dingin netralkan dengan larutan NaOH 45% dan encerkan sampai volume 100ml, kemudian disaring. Penentuan kadar pati yang dinyatakan sebagai glukosa dari filtrate yang diperoleh. Penentuan glukosa menggunakan cara spektrofotometri dengan metode *Nelson-somogyi*. Berat glukosa dikali 0,9 merupakan berat pati.