

**EFEK PATI TAHAN CERNA TIPE 3 SINGKONG KUNING
(*Manihot esculenta* Crantz) TERHADAP KADAR GLUKOSA
DARAH PUASA TIKUS WISTAR MODEL DIABETES
MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:

T. Ariani Widiastini

NIM 142010101108

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2017



**EFEK PATI TAHAN CERNA TIPE 3 SINGKONG KUNING
(*Manihot esculenta* Crantz) TERHADAP KADAR GLUKOSA
DARAH PUASA TIKUS WISTAR MODEL DIABETES
MELLITUS**

SKRIPSI

**diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1) dan mencapai
gelar Sarjana Kedokteran**

Oleh:

T. Ariani Widiastini

NIM 142010101108

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS JEMBER

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas segala rahmat dan karunia-Nya yang tak pernah henti membuat saya bersyukur dan yang telah menjadi penerang dan pedoman dalam proses belajar selama ini;
2. Ayah I Nengah Wijana dan Ibu Luh Arini sebagai orang tua saya, Arya Wijaya, Arie Winarni sebagai kakak saya, dan almarhumah Nenek Sukranis yang selalu memberikan dukungan, motivasi, nasihat, dan kasih sayang serta tak lupa selalu mendoakan saya dalam setiap hal;
3. Guru-guru saya yang telah mendidik saya dengan penuh kesabaran mulai dari Taman Kanak-Kanak hingga Perguruan Tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

“You have a right to perform your prescribed duty, but you are not entitled to the fruits of action. Never consider yourself the cause of the results of your activities, and never be attached to not doing your duty”^{)}*



^{*)} Bhagavad-gītā chapter 2 verse 47

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : T. Ariani Widiastini

NIM : 142010101108

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Pati Tahan Cerna Tipe 3 Singkong Kuning (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Wistar Model Diabetes Mellitus” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta 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, Desember 2017
Yang menyatakan,

T. Ariani Widiastini
NIM 142010101108

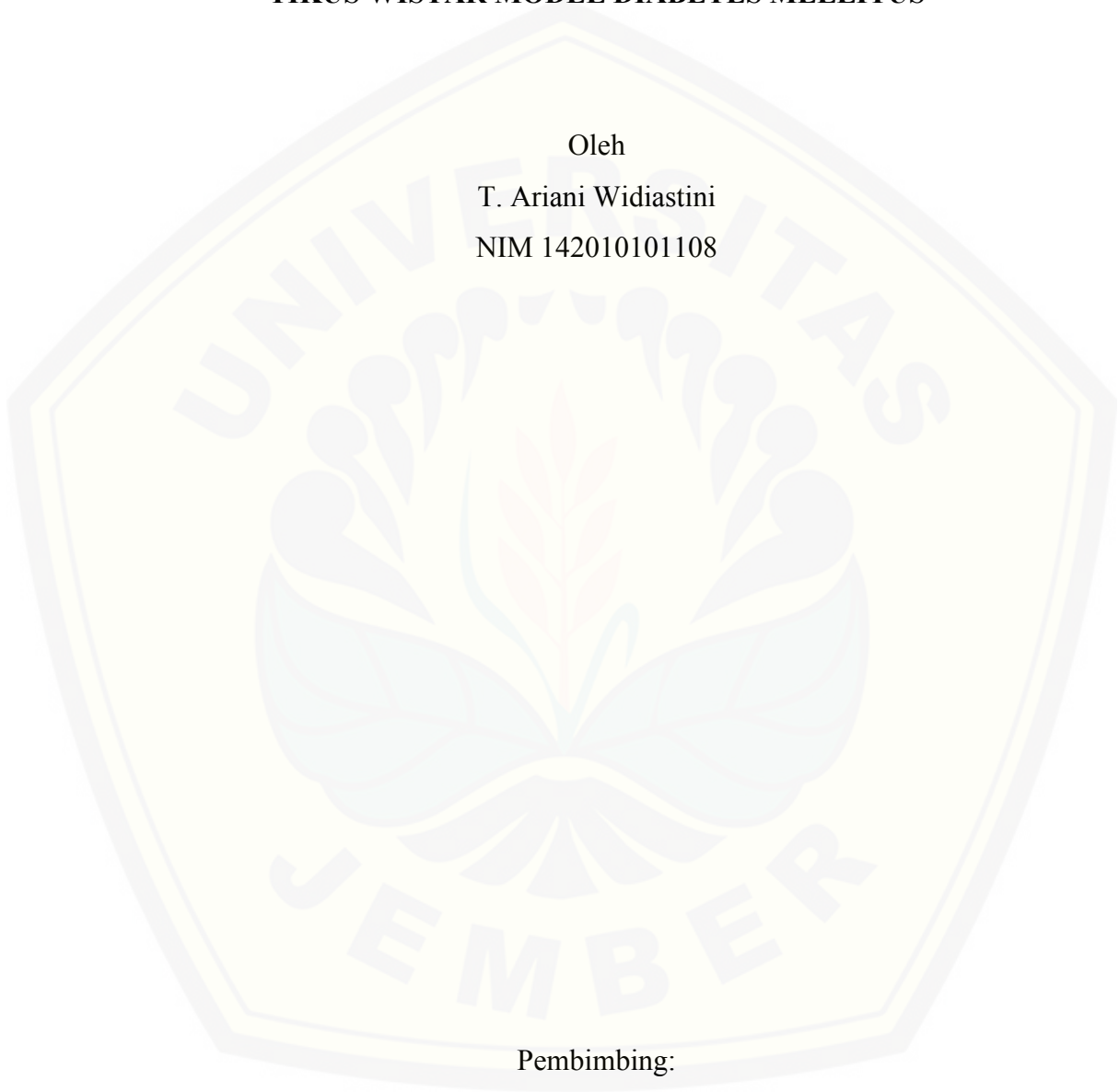
SKRIPSI

**EFEK PATI TAHAN CERNA TIPE 3 SINGKONG KUNING (*Manihot
esculenta* Crantz) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH PUASA
TIKUS WISTAR MODEL DIABETES MELLITUS**

Oleh

T. Ariani Widiastini

NIM 142010101108



Pembimbing:

Dosen Pembimbing I : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si.
Dosen Pembimbing II : dr. Yudha Nurdian, M. Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Pati Tahan Cerna Tipe 3 Singkong Kuning (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Wistar Model Diabetes Mellitus” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Jumat, 22 Desember 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I

dr. Rini Riyanti, Sp. PK
NIP. 19720328 199903 2 001

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

Anggota II,

Anggota III,

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si.
NIP. 19840916 200801 2 003

dr. Yudha Nurdian, M.Kes.
NIP. 19711019 199902 1 001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

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

RINGKASAN

Efek Pati Tahan Cerna Tipe 3 Singkong Kuning (*Manihot Esculenta* Crantz) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Wistar Model Diabetes Mellitus; T. Ariani Widiastini; 142010101108; 2017; 74 halaman; Program Studi Pendidikan Dokter; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. Saat ini diperkirakan 9,1 juta orang penduduk Indonesia didiagnosis sebagai penyandang DM. Salah satu pilar perencanaan khususnya pada DMT2 adalah dengan perencanaan diet yang disesuaikan dengan kebutuhan dan kondisi pasien untuk mengendalikan glukosa darah basal (puasa dan setelah makan). Pati tahan cerna (RS), yaitu sejumlah pati dan produk degradasi pati yang tidak diserap di usus kecil sehingga berpotensi untuk digunakan dalam mendorong pertumbuhan bakteri probiotik melalui proses fermentasi oleh bakteri probiotik di dalam usus besar. Hasil fermentasi ini akan menghasilkan asam lemak rantai pendek atau *Short chain fatty acids* (SCFA) yang melalui serangkaian mekanisme diakui dapat mempertahankan kadar glukosa darah pada pasien diabetes, antara lain melalui mekanisme aktivasi reseptor Ffar2 dan Ffar 3 dengan meningkatkan hormon GLP-1 dan PYY dan aktivasi AMP-activated protein kinase (AMPK) di hepar. Singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu bahan makanan pokok sumber karbohidrat yang diproduksi dalam jumlah besar di Indonesia, selain beras dan jagung. Kadar amilosa pati singkong kuning 28,57% dan amilopektin 51,24%. Kadar pati tahan cerna singkong kuning dapat ditingkatkan kadarnya melalui teknik modifikasi yaitu melalui metode *autoclaving-cooling* sehingga semakin tahan terhadap enzim amilase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efek pemberian pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) tikus wistar model diabetes mellitus.

Desain penelitian yang digunakan adalah *quasy experimental post-test only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-April 2017. Jumlah sampel penelitian adalah 16 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol normal (KN), kontrol negatif (K-), Perlakuan 1 (P1), dan Perlakuan 2 (P2). Tikus dilakukan adaptasi selama 7 hari. Setelah dilakukan adaptasi dilakukan pengukuran BB dan GDP untuk mengetahui karakteristik awal tikus. Kemudian K-, P1, dan P2 diberi pakan HFD kuning telur 0,01 mg/kgBB selama 28 hari dan diikuti injeksi STZ dosis rendah 35 mg/kgBB. Seminggu setelah diinjeksi STZ, kadar BB dan GDP diperiksa kembali untuk memastikan telah terbentuknya tikus model diabetes mellitus. Selanjutnya tikus diberi diet pati singkong atau diet RS Tipe 3 yang dikombinasi dengan pakan standar selama 28 hari dengan masing masing dosis KN 30 g pakan standar, K- 30 g pakan standar, P1 20 g pati singkong dan 10 g pakan standar, P2 20 g RS Tipe 3 dan 10 g pakan standar. Setelah itu tikus diambil darahnya melalui intrakardiak dan pengukuran kadar GDP dilakukan dengan metode GOD-PAP. Setelah didapat data, dilakukan analisis varian *One Way ANOVA*. Hasil penelitian didapatkan peningkatan GDP pada K- serta penurunan GDP pada P1 dan P2 namun analisis secara statistik tidak terdapat perbedaan kadar GDP yang bermakna antarkelompok kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Hal ini disebabkan oleh karena tidak ada beda rata-rata *intake* makanan antarkelompok perlakuan, lama pemberian diet yang tergolong akut sehingga mikroflora usus belum dapat beradaptasi sepenuhnya, bentuk diet yang diberikan mempengaruhi tingkat konsumsi tikus, dan stress selama perlakuan. Penelitian lebih lanjut disarankan untuk menggunakan parameter lainnya seperti TTGO, insulin, dan GLP-1 karena kompleksitas homeostasis glukosa yang tidak hanya dinilai melalui satu parameter. Pada penelitian ini belum didapatkan bukti yang efektif RS Tipe 3 sebagai bahan alternatif hipoglikemik namun konsumsi diet tinggi serat pada penderita DMT2 tetap disarankan.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Ida Sang Hyang Widhi Wasa karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat waktu. Skripsi ini disusun untuk memenuhi tugas akhir yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember, dengan judul “Efek Pati Tahan Cerna Tipe 3 Singkong Kuning (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Wistar Model Diabetes Mellitus”.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Ulfa Elfiah, Sp. BP-RE selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memeberikan bimbingan dan motivasi selama penulis menjadi mahasiswa;
3. dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Yudha Nurdian, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu dan meluangkan waktu, pikiran, serta perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini;
4. dr. Rini Riyanti, Sp. PK, selaku dosen penguji I dan dr. Ancah Caesarina Novi M., Ph.D. selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu untuk menguji skripsi ini;
5. Kedua orang tua saya, Ayah I Nengah Wijana dan Ibu Luh Arini yang selalu memotivasi, mendoakan, dan membimbing saya ke arah yang lebih baik;
6. Kakak-kakak saya tercinta, Arya Wijaya dan Arie Winarni yang selalu memberikan nasehat dan motivasi;
7. Maria Ulfa dan Novia Adhitama, rekan karya sekelompok penelitian yang selalu sabar, memberi semangat serta tidak ragu untuk membantu penulis menyusun tugas akhir;

8. Sahabat-sahabat saya Eka Evayanti Dewi, Pradnya Ayu, Wira Ashari, Puteri Diah, Raka Mery, Trisna Rosiana, Yogi Narendra, Dwi Octavanny, Danny Agus, Harfiyanto Dharma yang memberikan semangat dan motivasi;
9. Faradila Praginta, Saskia Mediawati, Aprilia Tiyan, Systriana Esi, Izza Alimatus, Afifatun Hasanah rekan seperjuangan pre-klinik yang selalu memberikan semangat dari awal kuliah hingga saat ini dan memotivasi untuk segera menyelesaikan skripsi ini;
10. Mbak Nuris dan Mas Agus, analis yang selalu sabar membimbing dan menemani penulis selama proses penelitian berlangsung;
11. Rekan – rekan satu pengurus di SRCR yang telah memberikan pengalaman luar biasa dalam membentuk pribadi penulis yang lebih baik, serta selalu menginspirasi penulis untuk terus berkarya;
12. Keluarga 2014 (Elixir) yang sudah berjuang bersama selama ini;
13. Seluruh civitas Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang membantu dalam urusan skripsi ini;
14. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Jember, Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Diabetes Mellitus	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Patogenesis DMT2	7
2.1.3 Manifestasi Klinis	10
2.1.4 Interpretasi Pemeriksaan Glukosa Darah DM	10
2.1.5 Terapi	12
2.2 Pati Tahan Cerna	15
2.2.1 Definisi	15
2.2.2 Klasifikasi	16
2.2.3 Analisis Pati Tahan Cerna	17
2.2.4 Efek RS Tipe 3 Terhadap Metabolisme Glukosa	20
2.3 Singkong Kuning (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	22
2.3.1 Deskripsi Singkong Kuning (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	22
2.3.2 Klasifikasi Singkong Kuning (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	24
2.3.3 Komposisi Singkong Kuning (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)	24
2.4 Model Hewan Coba Diabetes Mellitus	26
2.5 Kerangka Teori	29
2.6 Kerangka Konseptual Penelitian	30
2.7 Hipotesis Penelitian	31
BAB 3. METODE PENELITIAN	32
3.1 Rancangan Penelitian	32
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	33

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	33
3.3.1 Populasi	33
3.3.2 Sampel	33
3.3.3 Besar Sampel	33
3.4 Variabel Penelitian	34
3.4.1 Variabel Bebas	34
3.4.2 Variabel Terikat	34
3.4.3 Variabel Terkendali	34
3.5 Definisi Operasional	34
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	35
3.6.1 Alat Penelitian.....	35
3.6.3 Bahan Penelitian	35
3.7 Prosedur Penelitian.	35
3.7.1 Ekstraksi Pati Singkong Kuning	35
3.7.2 Pembuatan RS Tipe 3	36
3.7.3 Pembuatan Tikus Model Diabetes Mellitus	37
3.7.4 Pemberian Diet Pati Singkong Kuning dan RS Tipe 3	37
3.7.5 Pengambilan Darah.....	38
3.7.6 Pengukuran Kadar GDP.....	38
3.8 Analisis Data	39
3.9 Etik Penelitian	39
3.10 Alur Penelitian	40
3.10.1 Alur Ekstraksi Pati Singkong Kuning.....	40
3.10.2 Alur Modifikasi Pati Singkong Kuning (RS Tipe 3)	40
3.10.3 Alur Perlakuan Hewan Coba	41
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Hasil Penelitian	42
4.2 Analisis Data	46
4.3 Pembahasan	47
4.3.1 Pembentukan Tikus Model Diabetes Mellitus	47
4.3.2 Analisis Pati Singkong Kuning dan RS Tipe 3 dengan SEM	49
4.3.3 Efek Pemberian RS Tipe 3 Terhadap Kadar GDP.....	50
4.4 Keterbatasan Penelitian	53
BAB 5. PENUTUP	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kriteria diagnosis DM	11
2.2 Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa sebagai patokan penyaring dan diagnosis DM.....	11
2.3 Data produksi singkong kuning di Indonesia tahun 2002-2006	24
2.4 Komposisi kimia singkong kuning	25
3.5 Definisi operasional	34
4.1 Karakteristik awal sampel penelitian.....	43
4.2 Rata-rata hasil pengukuran BB	44
4.3 Rata-rata hasil pengukuran GDP	45
4.4 Rata-rata <i>intake</i> makanan tikus.....	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Mekanisme Lipotoksisitas	9
2.2 Mekanisme RS Tipe 3 dalam metabolisme glukosa.....	22
2.3 Kerangka Teori	29
2.4 Kerangka Konseptual Penelitian	30
3.1 Rancangan Penelitian.....	32
3.2 Alur Ekstraksi Pati Singkong Kuning.....	40
3.3 Alur Modifikasi Pati Singkong Kuning (RS Tipe 3).....	40
3.4 Alur Perlakuan Hewan Coba	41
4.1 Hasil pengamatan pati singkong kuning dengan SEM	42
4.2 Hasil pengamatan RS Tipe 3 dengan SEM	42
4.3 Grafik pengukuran BB.....	44
4.4 Grafik pengukuran GDP	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Keterangan Persetujuan Etik Penelitian	63
3.2 Lembar Determinasi Tanaman Singkong Kuning	67
3.3 Perhitungan Dosis	68
3.4 Perhitungan Besar Sampel	69
4.1 Data Pengukuran BB Tikus	70
4.2 Data Pengukuran Kadar GDP	70
4.3 Uji Normalitas Rata-Rata Intake Makanan.....	71
4.4 Uji Normalitas <i>Pre Test</i>	71
4.5 Uji Normalitas dan Homogenitas <i>Post Test</i>	71
4.6 Uji <i>Kruskall-Wallis</i> Rata-Rata Intake Makanan	72
4.7 Uji <i>Kruskall-Wallis Pre Test</i>	72
4.8 Uji <i>One-Way ANOVA Post Test</i>	72
4.9 Dokumentasi Penelitian	73

DAFTAR SINGKATAN

DM	: diabetes mellitus
DMT1	: diabetes mellitus tipe 1
DMT2	: diabetes mellitus tipe 2
GDS	: glukosa darah sewaktu
GDP	: glukosa darah puasa
FFA	: <i>free fatty acid</i>
RS	: <i>resistant starch</i>
IG	: indeks glikemik
TNF- α	: <i>tumor necrosis factor alpha</i>
IL-6	: interleukin-6
PEPCK	: <i>phosphoenolpyruvate carboxykinase</i>
NF- κ B	: <i>nuclear factor kappa beta</i>
GLUT2	: <i>glucose transporter 2</i>
TGT	: toleransi glukosa terganggu
SOCS	: <i>supressor of cytokine signalling</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
TTGO	: tes toleransi glukosa oral
TNM	: terapi nutrisi medis
SCFA	: <i>short chain fatty acid</i>
GPR41	: <i>G-couple protein receptor 41</i>
GPR43	: <i>G-couple protein receptor 41</i>
Ffar2	: <i>free fatty acid receptor 2</i>
Ffar3	: <i>free fatty acid receptor 3</i>
GLP-1	: <i>glucagon like peptide-1</i>
PYY	: <i>peptide YY (peptide tyrosine tyrosine)</i>
AMPK	: <i>AMP-activated protein kinase</i>
BB	: berat badan
STZ	: streptozotocin
GOD-PAP	: <i>glucose oxidase-peroxidase aminoantypirin</i>
HFD	: <i>high fat diet</i>
SREBP	: <i>sterol regulatory binding protein</i>
SEM	: <i>scanning electron microscope</i>

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. DM ditegakkan bila terdapat gejala khas berupa poliuria, polidipsia, polifagi, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya dan pemeriksaan Glukosa Darah Sewaktu (GDS) ≥ 200 mg/dl dan pemeriksaan Glukosa Darah Puasa (GDP) ≥ 126 mg/dl (Perkeni, 2015). Saat ini diperkirakan 9,1 juta orang penduduk Indonesia didiagnosis sebagai penyandang DM. Dengan angka tersebut Indonesia menempati peringkat ke-5 dunia, atau naik dua peringkat dibandingkan data IDF tahun 2013 yang menempati peringkat ke-7 di dunia dengan 7,6 juta penyandang DM (Anonim, 2015).

Diabetes Mellitus Tipe 2/DMT2 (tidak tergantung insulin atau awitan dewasa), adalah kondisi sekresi insulin mungkin normal atau bahkan meningkat, tetapi sel sasaran insulin kurang peka terhadap hormon ini dibandingkan sel normal (Sherwood, 2009). Obesitas sebagai salah satu faktor predisposisi DMT2 memodulasi peningkatan *free fatty acid* (FFA) yang mengakibatkan peningkatan lipolisis adiposa yang meningkatkan konsentrasi FFA di sirkulasi sehingga mengganggu jalur *signaling insulin* (DeFronzo, 2004). Keadaan ini menyebabkan terganggunya uptake glukosa di perifer (Tjandrawinata, 2016a). Selain itu juga terjadi peningkatan glukoneogenesis di hepar sehingga terjadi dua input glukosa di sirkulasi darah (DeFronzo, 2004). Ketika sel beta pankreas tidak mampu mengompensasi melalui peningkatan sekresi insulin, maka sel beta pankreas akan mengalami defek dan insulin plasma tidak mampu mengembalikan kondisi glukosa basal *postprandial* dan terjadilah peningkatan kadar hiperglikemia puasa (Tjandrawinata, 2016b).

Tujuan penatalaksanaan DMT2 secara umum adalah meningkatkan kualitas hidup penyandang. Pengendalian glukosa darah, tekanan darah, berat badan, dan profil lipid melalui pengelolaan pasien secara komprehensif dilakukan

untuk mencapai tujuan tersebut. Salah satu pilar perencanaan DMT2 adalah dengan perencanaan diet yang disesuaikan dengan kebutuhan dan kondisi pasien untuk mengendalikan glukosa darah basal (puasa dan setelah makan). *American Diabetes Association (ADA)* merekomendasikan bahwa komposisi nutrisi enteral untuk penderita DM adalah 50% asupan kalori berasal dari karbohidrat atau lebih rendah lagi yaitu 33-40% lemak sebesar 30% dan kebutuhan protein antara 1-1,5 gr/kgBB bila tidak didapatkan gangguan fungsi ginjal. Salah satu pemilihan diet yang tepat adalah melalui konsumsi pati tahan cerna/*resistant starch (RS)*, yaitu sejumlah pati dan produk degradasi pati yang tidak diserap di usus kecil sehingga berpotensi untuk digunakan dalam mendorong pertumbuhan bakteri probiotik melalui proses fermentasi oleh bakteri probiotik di dalam usus besar (Sajilata *et al.*, 2006). Hasil fermentasi ini akan menghasilkan asam lemak rantai pendek/*Short chain fatty acids (SCFA)* yang melalui serangkaian mekanisme diakui dapat mempertahankan kadar glukosa darah pada pasien diabetes, antara lain melalui mekanisme aktivasi reseptor Ffar2 dan Ffar 3 dengan meningkatkan hormon GLP-1 dan PYY (Besten *et al.*, 2013) dan aktivasi AMP-*activated protein kinase (AMPK)* di hepar (Sakakibara *et al.*, 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al* (2012) dengan memberikan diet kombinasi asetat, butirat, dan propionat yang merupakan produk akhir fermentasi RS diberikan selama 4 minggu menunjukkan penurunan kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) secara signifikan. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Mustaghfiroh dan Probosari (2014) dilakukan dengan pemberian diet kombinasi tepung tempe dan pati garut termodifikasi dengan metode *autoclaving-cooling* pada tikus model diabetes. Hasil menunjukkan bahwa tidak terjadi penurunan GDP yang signifikan pada semua kelompok baik kontrol maupun perlakuan setelah 14 hari perlakuan. Pemberian diet ini diduga kurang efektif sebagai alternatif bahan hipoglikemik dengan beberapa kemungkinan yaitu pembentukan tikus diabetes yang belum tepat sebagai model hewan coba dan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah yang tidak seharusnya yang disebabkan oleh kandungan bahan makanan pada pati garut maupun tepung tempe.

Singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu bahan makanan pokok sumber karbohidrat yang diproduksi dalam jumlah besar di

Indonesia, selain beras dan jagung (Asbar *et al.*, 2014). Kandungan gizi pada pati singkong kuning yaitu karbohidrat 34,7 g, protein 1,2 g, lemak 0,3 g (Marsono, 2002). Indeks Glikemik (IG) pada pati singkong kuning yaitu $59,34 \pm 32,42$ pada pasien diabetes dan $40,12 \pm 25,27$ pada pasien non diabetes (Itam *et al.*, 2012). Angka ini termasuk rendah bila dibandingkan dengan beras yang merupakan sumber pangan pokok masyarakat Indonesia memiliki IG 99,26 (Idril *et al.*, 2013). IG merupakan parameter yang penting dalam menilai suatu kualitas makanan yang mengandung glukosa murni. Nilai IG menentukan kekuatan suatu makanan dalam meningkatkan konsentrasi glukosa individu setelah makan. Konsumsi makanan dengan indeks glikemik tinggi ($IG \geq 70$) akan memperburuk kondisi resistensi insulin begitu juga sebaliknya (Arif *et al.*, 2013). Kadar amilosa pati singkong kuning 28,57% dan amilopektin 51,24%. Kadar pati tahan cerna memiliki kandungan alami pada setiap tanaman namun dalam konsentrasi yang berbeda-beda (Nugent, 2005) dan dapat ditingkatkan kadarnya melalui teknik modifikasi yaitu melalui metode *autoclaving-cooling* atau siklus pemanasan bertekanan dan pendinginan (Setiarto, 2015). Pada metode ini pati akan mengalami proses retrogradasi dan gelatinisasi sehingga semakin tahan terhadap enzim amilase (Setiarto, 2015).

Kadar GDP adalah salah satu metode pengukuran homeostasis glukosa yang umum dilakukan, mudah, cepat, terjangkau seluruh pasien, dan menandakan kondisi basal (Suyono, 2014). Metode ini digunakan untuk mendiagnosis DM dan sebagai kontrol individu dengan DM yang melakukan pemeriksaan rutin tiap bulannya dengan sensitivitas 83%-95% dan spesifitas 96,6% (Anonim, 2003). Berdasarkan kandungan potensi singkong kuning dan modifikasi pati singkong dengan penambahan metode *autoclaving-cooling* sehingga terbentuk RS tipe 3, penulis ingin meneliti tentang perbedaan efek pemberian pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) tikus wistar model diabetes mellitus.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana perbedaan efek pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap kadar glukosa darah puasa tikus wistar model diabetes mellitus.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan efek pemberian pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap kadar glukosa darah puasa tikus wistar model diabetes mellitus.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian pati singkong kuning terhadap kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) tikus wistar model diabetes mellitus.
- b. Untuk mengetahui pengaruh pemberian pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning terhadap kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) tikus wistar model diabetes mellitus.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah, dan tujuan di atas, manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut.

1.4.1 Bagi ilmu pengetahuan

Memberikan landasan teori mengenai efektivitas pemberian pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning sebagai inovasi terapi Diabetes Mellitus.

1.4.2 Bagi masyarakat

Mengetahui manfaat dari pemberian pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning dalam menurunkan kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) pada model hewan coba diabetes dan dapat dijadikan bahan pertimbangan dokter dalam terapi Diabetes Mellitus setelah melalui berbagai tahap uji klinis.

1.4.3 Bagi institusi

Memberikan tambahan baru bagi teman sejawat dan civitas akademika terhadap salah satu produk pangan lokal berbasis kesehatan milik Universitas Jember, serta dapat digunakan sebagai dasar penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Definisi

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. Menurut RISKESDAS 2007, prevalensi nasional DM di Indonesia untuk usia di atas 15 tahun sebesar 5,7%. Berdasar data IDF 2014, saat ini diperkirakan 9,1 juta orang penduduk didiagnosis sebagai penyandang DM. Dengan angka tersebut Indonesia menempati peringkat ke-5 di dunia, atau naik dua peringkat dibandingkan data IDF tahun 2013 yang menempati peringkat ke-7 di dunia dengan 7,6 juta orang penyandang DM.

DM terdiri atas dua jenis yaitu DM Tipe 1/DMT1 (tergantung insulin atau awitan remaja), yang berjumlah sekitar 10% dari semua kasus diabetes, ditandai oleh kurangnya sekresi insulin. Sel beta pankreas tidak atau sedikit menghasilkan insulin maka pengidap diabetes tipe 1 memerlukan insulin eksogen untuk bertahan hidup. DM Tipe 2/DMT2 (tidak tergantung insulin atau awitan dewasa), sekresi insulin mungkin normal atau bahkan meningkat, tetapi sel sasaran insulin kurang peka terhadap hormon ini dibandingkan sel normal (Sherwood, 2009). Pada penderita DMT2 terjadi hiperinsulinemia tetapi insulin tidak bisa masuk ke dalam jaringan karena terjadi resistensi insulin yang merupakan turunya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa oleh hepar. Oleh karena terjadinya resistensi insulin (reseptor insulin sudah tidak aktif karena dianggap kadarnya masih tinggi dalam darah) akan mengakibatkan defisiensi relatif insulin. Hal tersebut dapat mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin pada adanya glukosa bersama bahan sekresi insulin lain sehingga sel beta pankreas akan mengalami desentisasi terhadap adanya glukosa (Ndraha, 2014).

2.1.2 Patogenesis DMT2

Insulin sebagai hormon utama dalam regulasi glukosa, dan secara umum, keadaan normoglikemi dipertahankan melalui mekanisme yang seimbang antara aksi insulin dan sekresi insulin. Sel beta pankreas yang normal dapat beradaptasi pada perubahan aksi insulin, contohnya ketika terjadi penurunan aksi insulin maka akan diikuti oleh peningkatan sekresi insulin. Pada pasien dengan toleransi glukosa terganggu (TGT) dan DMT2, fungsi sel beta menurun pada tingkatan tertentu. Oleh karena itu, disfungsi sel beta merupakan komponen penting dalam patogenesis DMT2 (Stumvoll, *et al.*, 2005).

Beberapa hormon, sitokin, dan bahan bakar metabolisme seperti FFA yang berasal dari sel adiposit memodulasi aksi insulin. Ketika trigliserida disimpan dalam jumlah yang besar, baik di viseral atau sub kutaneus adiposa, maka hal ini akan menyebabkan massa adiposit yang besar menjadi resisten terhadap kemampuan insulin untuk menekan lipolisis. Hal ini akan menyebabkan peningkatan pelepasan dan level sirkulasi FFA dan juga gliserol yang memperberat resistensi insulin di otot dan hepar. Peningkatan konsentrasi FFA dan faktor inflamasi lainnya (TNF- α , IL-6) mempengaruhi proses *signalling* insulin. FFA menghambat metabolisme glukosa yang distimulasi insulin di otot rangka dan menstimulasi gluconeogenesis di hepar. TNF- α meningkatkan lipolisis adiposa yang meningkatkan FFA di sirkulasi dan memberikan efek negatif secara langsung pada jalur *signalling* insulin. IL-6 menghambat *signalling* insulin dengan menambahkan ekspresi protein SOCS (DeFronzo, 2004).

Pada individu dengan DMT2 dengan respon insulin plasma normal atau meningkat, fase awal sekresi insulin sudah terganggu. Ketika kadar GDP melebihi 110-120 mg/dl mekanisme kompensasi sudah tidak berfungsi kembali, yang secara konstan akan menyebabkan peningkatan konsentrasi glukosa plasma yang berlebihan dan berlangsung lama setelah makan (hiperglikemia *postprandial*). Kondisi ini menstimulasi sel beta pankreas untuk mensekresi insulin sebagai mekanisme kompensasi sehingga kadar GDP menjadi normal. Jika keadaan resistensi insulin menetap atau bahkan

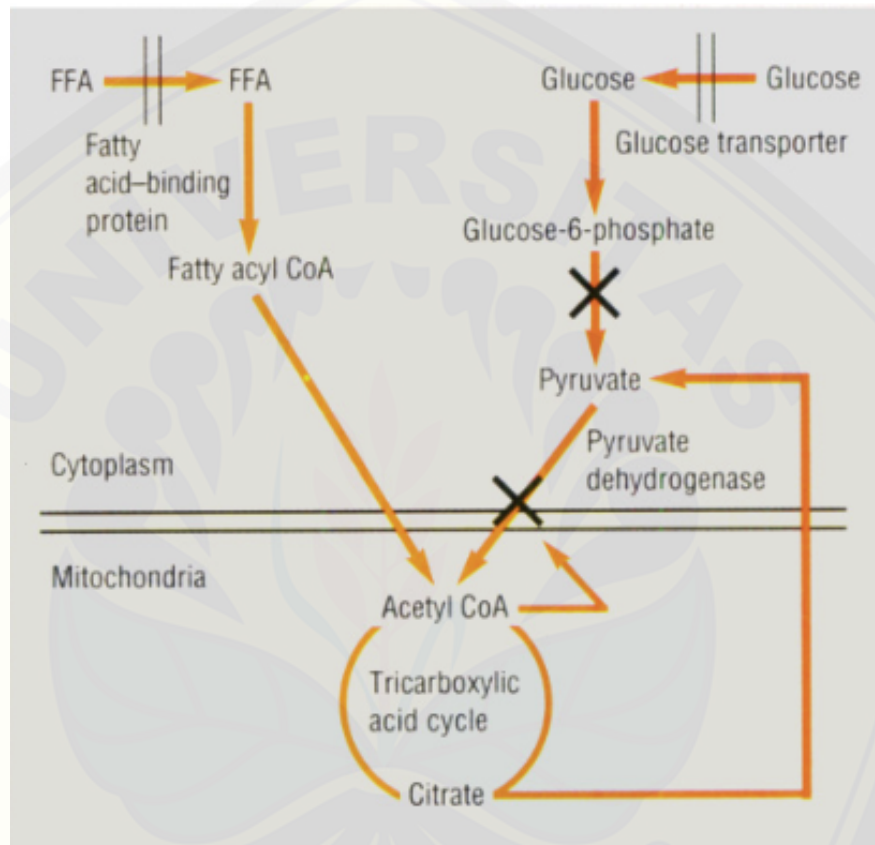
meningkat (dalam beberapa tahun), maka sel beta pankreas akan mengalami defek dan insulin plasma tidak mampu mengembalikan kondisi glukosa basal *postprandial* dan terjadilah peningkatan kadar GDP (Tjandrawinata, 2016b). Hiperglikemia puasa akan memberikan stimulus yang tetap ke pankreas untuk lebih mensekresi dan terjadilah hiperinsulinemia puasa. Hiperinsulinemia akan menyebabkan penurunan ikatan insulin dengan reseptornya sehingga terjadilah mekanisme resistensi insulin (DeFronzo, 1987). Resistensi insulin sebagai *early onset* DMT2 terjadi di sel perifer (utamanya sel otot dan lemak) di tubuh dan hepar.

Hiperglikemia puasa juga berhubungan dengan produksi glukosa endogen di hepar. Ketika penyerapan glukosa insulin disekresikan ke vena porta sehingga dapat mensupresi produksi glukosa endogen. Jika hepar tidak mendapatkan *signal* insulin dan tetap memproduksi glukosa, maka akan terjadi dua input glukosa di tubuh, baik dari hepar dan saluran pencernaan. Hal ini akan memperparah keadaan hiperglikemia puasa dan biasanya ditemukan pada individu dengan kadar GDP melebihi 140 mg/dl dimana terjadi percepatan berlebihan pada output glukosa di hepar baik melalui mekanisme glikogenolisis dan glukoneogenesis (DeFronzo, 2004). Mekanisme resistensi insulin lainnya yang terjadi di hepar salah satunya adalah melalui aktivitas *phosphoenolpyruvate carboxykinase* (PEPCK). Pemberian HFD dan diet tinggi sukrosa meningkatkan glukoneogenesis melalui peningkatan fluks PEPCK (Gastadelli, 2011).

Jika respon insulin terganggu semakin progresif, maka akan terjadi defek pada sel beta pankreas. Sel beta pankreas mengalami perubahan dinamis yang konstan diikuti regenerasi *islet* dan apoptosis yang simultan. Kedua abnormalitas ini menyebabkan gangguan keseimbangan antara proses neogenesis *islet* dan apoptosis. Terdapat dua faktor didapat yang menyebabkan defek sel beta pankreas yaitu glukotoksisitas dan lipotoksisitas (DeFronzo, 2004; Guthrie and Guthrie, 2004).

Glukotoksisitas diartikan sebagai proses kerusakan yang timbul akibat *adverse effect* hiperglikemia kronis pada jaringan target insulin dan sel beta pankreas sehingga memunculkan suatu pemikiran bahwa glukosa itu sendiri

bersifat toksik terhadap sel beta pankreas. Glukotoksisitas juga menyebabkan gangguan pada tahap akhir dari eksositosis insulin. Metabolisme glukosa yang bersifat oksidatif di sel beta pankreas akan menyebabkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang akan menyebabkan kerusakan sel beta. ROS akan mengaktifkan NF- κ B yang merupakan jalur apoptosis (Stumvol, *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 Mekanisme Lipotoksisitas (Sumber: Sivitz, 2015)

Bukti bahwa lipotoksisitas berperan dalam defek sel beta pankreas adalah ditemukannya penumpukan lemak dari pemeriksaan post mortem pada sel beta pankreas DMT2. Normalnya, paparan sel beta pankreas terhadap FFA menstimulasi sekresi insulin. Di sel beta, asam lemak rantai panjang dikonversi menjadi fatty-acyl CoA derivatif yang menyebabkan meningkatnya pembentukan asam fosfatidic dan diasilgliserol. Lipid-lipid ini kemudian mengaktifasi protein kinase C isoform yang meningkatkan eksositosis insulin sehingga menyebabkan penutupan kanal potassium

(K⁺ATPase) dan menstimulasi kanal Ca²⁺ATPase yang meningkatkan kalsium di intraseluler yang akhirnya menambah dan meningkatkan sekresi insulin. Mekanisme ini menjadi kronis ketika paparan sel beta terhadap fatty acyl CoA yang meningkat yang menghambat sekresi insulin melalui suatu mekanisme yang disebut *Randle Cycle*. Peningkatan fatty acyl CoA juga menstimulasi sintesis ceramide yang menginduksi sintesis nitrit oksida. Peningkatan nitrit oksida meningkatkan ekspresi TNF- α , IL-1 yang menyebabkan terganggunya fungsi sel beta dan mendorong mekanisme apoptosis sel beta. Resistensi insulin di adiposit, otot, dan hepar bersamaan dengan terganggunya sekresi insulin oleh sel beta pankreas membentuk suatu *harmonious quartet*, yang merepresentasikan empat abnormalitas organ mayor yang berperan dalam patogenesis DMT2 (DeFronzo, 2004).

2.1.3 Manifestasi Klinis

Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penyandang diabetes. Kecurigaan adanya DM perlu dipertimbangkan apabila terdapat manifestasi klinis sbagai berikut (Perkeni, 2015):

- a. Keluhan klasik berupa poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya.
- b. Keluhan lain dapat berupa lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur dan disfungsi ereksi pada pria serta pruritus vulvae pada wanita.

2.1.4 Interpretasi Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah DM

Diagnosis DM ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar glukosa darah. Pemeriksaan yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa secara enzimatik dengan bahan plasma vena. Diagnosis DM dapat ditegakkan melalui tiga cara. Pertama, jika keluhan klasik ditemukan, maka pemeriksaan glukosa sewaktu ≥ 200 mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Kedua dengan pemeriksaan glukosa plasma puasa yang lebih mudah dilakukan, mudah diterima oleh pasien serta murah. Ketiga dengan TTGO. Meskipun TTGO dengan beban 75 g glukosa lebih sensitif dan spesifik dibanding dengan pemeriksaan glukosa plasma puasa, namun memiliki keterbatasan

yaitu TTGO sulit untuk dilakukan berulang-ulang dan dalam praktiknya sangat jarang dilakukan (Suyono, 2014).

Tabel 2.1 Kriteria diagnosis DM

1) Gejala klasik DM + glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L). Glukosa plasma sewaktu merupakan hasil pemeriksaan sesaat pada suatu hari tanpa memperhepakan waktu makan terakhir. atau
2) Gejala klasik DM + Kadar glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L). Puasa diartikan pasien tidak mendapat kalori tambahan sedikitnya 8 jam. atau
3) Kadar glukosa plasma 2 jam pada TTGO ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L). TTGO dilakukan dengan standar WHO, menggunakan beban glukosa yang setara dengan 75 gr glukosa anhidrus yang dilarutkan ke dalam air. atau
4) Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh <i>National glycohaemoglobin Standardization Program (NGSP)</i> .

Sumber: Purnamasari, 2014

Pada keadaan yang tidak memungkinkan dan tidak tersedia fasilitas pemeriksaan TTGO, maka pemeriksaan penyaring dengan menggunakan glukosa darah kapiler, diperbolehkan untuk patokan diagnosis DM. Dalam hal ini harus diperhepakan adanya perbedaan hasil glukosa darah plasma vena dan glukosa darah kapiler seperti pada tabel berikut.

Tabel 2.2 Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa sebagai patokan penyaring dan diagnosis DM

		Bukan DM	Belum pasti DM	DM
Kadar glukosa darah sewaktu (mg/dl)	Plasma vena	<100	100-199	≥ 200
	Darah kapiler	<90	90-199	≥ 200
Kadar glukosa darah puasa (mg/dl)	Plasma vena	<100	100-125	≥ 126
	Darah kapiler	<90	90-99	≥ 100

Sumber: Purnamasari, 2014

Pemeriksaan TTGO pada pasien DMT2 dengan kadar glukosa darah lebih sensitif dibandingkan pengujian kadar GDP untuk mendiagnosa pre-diabetes. Pemeriksaan TTGO menandakan kondisi pre-diabetes yaitu kondisi pasien yang mengalami hiperglikemia akut pasca pembebanan dengan kadar glukosa plasma 140-199 mg/dl awalnya mencerminkan resistensi insulin. Sel beta pankreas melakukan kompensasi dengan meningkatkan sekresi insulin sehingga terjadi hiperinsulinemia (Merentek, 2006). Peningkatan sekresi insulin yang progresif ini dapat dianggap sebagai proses adaptasi pankreas untuk menekan kerusakan homeostasis glukosa yang progresif (Tjandrawinata, 2016a). Namun seiring dengan progresivitas peningkatan kadar FFA disirkulasi yang mengganggu uptake glukosa oleh insulin di perifer sehingga glukosa dalam sirkulasi darah semakin sulit dimetabolisme di sel-sel yang responsif insulin (Yuliasih, 2009). Hal ini menyebabkan jaringan perifer yang sensitif insulin semakin tidak mampu melakukan *uptake* glukosa. Sel beta pankreas yang tidak dapat lagi mempertahankan sekresi insulin dengan kecepatan tinggi lama kelamaan akan mengalami defek sehingga terjadi keadaan hipoinsulinemia. Keadaan ini tentunya akan menyebabkan pelepasan insulin yang tidak mencukupi untuk mengimbangi glukosa yang berlebihan sehingga mengakibatkan peningkatan kadar GDP ≥ 126 mg/dl (Tjandrawinata, 2016b). Selain disebabkan oleh karena hipoinsulinemia akibat defek sel beta pankreas, peningkatan laju produksi glukosa puasa ini juga disebabkan defek pada kerja insulin di hepar sehingga menyebabkan peningkatan glukoneogenesis, glikogenolisis pasien DMT2 (Basu *et al*, 2013; Ali Santosa, komunikasi personal, 8 Desember 2017). Pelepasan glukosa hati meningkat, mengakibatkan kadar glukosa plasma akan semakin meningkat pula. Keadaan inilah yang mencerminkan keadaan peningkatan glukosa darah puasa atau hiperglikemia puasa (Merentek, 2006).

2.1.5 Terapi

Tujuan penatalaksanaan secara umum adalah meningkatkan kualitas hidup penyandang diabetes. Tujuan penatalaksanaan meliputi:

- a. Tujuan jangka pendek: menghilangkan keluhan DM, memperbaiki kualitas hidup, dan mengurangi risiko komplikasi akut.
 - b. Tujuan jangka panjang: mencegah dan menghambat progresivitas penyulit mikroangiopati dan makroangiopati.
 - c. Tujuan akhir pengelolaan adalah turunnya morbiditas dan mortalitas DM.
- Untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan pengendalian glukosa darah, tekanan darah, berat badan, dan profil lipid, melalui pengelolaan secara komprehensif.

Penatalaksanaan DM dimulai dengan menerapkan pola hidup sehat (terapi nutrisi medis dan aktivitas fisik) bersamaan dengan intervensi farmakologis dengan obat anti hiperglikemia oral yang dapat diberikan sebagai terapi tunggal maupun kombinasi.

Prinsip terapi nutrisi medis (TNM) atau pengaturan makanan pada penyandang DM hampir sama dengan anjuran makan untuk masyarakat umum, yaitu makanan yang seimbang dan sesuai dengan kebutuhan kalori dan zat gizi masing-masing individu. TNM pada dasarnya adalah melakukan pengaturan pola makan yang didasarkan pada status gizi, kebiasaan makan dan kondisi atau komplikasi yang telah ada. TNM dapat dipakai sebagai pencegahan timbulnya diabetes bagi penderita yang mempunyai risiko diabetes, terapi pada penderita yang telah terdiagnosis diabetes serta mencegah atau memperlambat laju berkembangnya komplikasi diabetes. Tujuan TNM bagi diabetisi adalah:

- a. untuk mencapai dan mempertahankan kadar glukosa darah,
- b. untuk mencegah dan memperlambat laju berkembangnya komplikasi kronis diabetes dengan melakukan modifikasi asupan nutrisi serta perubahan gaya hidup,
- c. nutrisi diberikan secara individual dengan memperhitungkan kebutuhan nutrisi dan memperhatikan kebiasaan makan diabetisi.

Semua organisasi profesional diantaranya ADA (*American Diabetes Association*), EASD (*European Association Study of Diabetes*), Perkeni sepakat bahwa susunan TNM berdasar atas distribusi makronutrien protein, total lemak, SFA (*saturated fatty acid*), MUFA (*mono unsaturated fatty*

acid), PUFA (*poly unsaturated fatty acid*), dan karbohidrat. Penyandang DM perlu diberikan penekanan mengenai pentingnya pengaturan jadwal makan, jenis dan jmlah kandungan kalori.

ADA merekomendasikan bahwa komposisi nutrisi enteral untuk penderita DM adalah 50% asupan kalori berasal dari karbohidrat atau lebih rendah lagi yaitu 33-40% (sebagai sumber energi sebagian karbohidrat diganti dengan MUFA), lemak sebesar 30% dan kebutuhan protein antara 1-1,5 gr/kgBB bila tidak didapatkan gangguan fungsi ginjal. Sedangkan kebutuhan asupan kalori penderita DM yang dirawat di rumah sakit adalah antara 25-35 kcal/kgBB. Kebutuhan cairan rata-rata sekitar 30ml/kgBB kecuali pada penderita gagal jantung, gagal ginjal, dan asites yang memerlukan restriksi cairan. Ada beberapa cara pemberian nutrisi enteral, yaitu kontinyu, nutrisi diberikan secara terus-menerus 24 jam; berkala (*intermiten*), pada penderita DM nutrisi enteral lebih cocok diberikan secara berkala oleh karena sesuai dengan pola makan penderita dan diberikan setiap 3 jam sebanyak 6 kali pemberian. Kebutuhan tersebut dapat ditambah atau dikurangi bergantung beberapa faktor, yaitu jenis kelamin, umur, aktivitas, berat badan, dan lain-lain (Tjokroprawiro dan Murtiwi, 2014).

Terapi farmakologis diberikan bersama dengan pengaturan makan dan latihan jasmani. Terapi farmakologis yang diberikan dapat berupa oral atau IV (Soegondo, 2014).

a. Obat Antihiperglikemia oral

berdasarkan cara kerjanya, obat anti-hiperglikemia oral dibagi menjadi 5 golongan:

- 1) Pemacu sekresi insulin: sulfonilurea, glinid
- 2) peningkat sensitivitas terhadap insulin: metformin, tiazolidindion
- 3) penghambat absorpsi glukosa di saluran pencernaan: acarbose
- 4) penghambat DPP-IV (*Dipeptidyl Peptidase-IV*)
- 5) penghambat SGLT-2 (*Sodium Glucose Co-Transporter 2*)

b. Obat Antihiperglikemia Suntik

termasuk anti hiperglikemia suntik, yaitu insulin, agonis GLP-1.

2.2 Pati Tahan Cerna

2.2.1 Definisi

Pati merupakan jenis karbohidrat yang paling banyak dikonsumsi oleh manusia dan berperan sebagai sumber energi utama. Hampir 60-70% dari total energi yang dibutuhkan manusia berasal dari karbohidrat. Pati tersedia dalam jumlah besar di alam, antara lain berupa padi-padian, kacang-kacangan, dan umbi-umbian (Sari, 2013). Pati terdiri atas amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan bagian dari rantai lurus yang dapat memutar dan membentuk daerah sulur ganda yang tahan terhadap amilase. Amilosa merupakan fraksi gerak, artinya dalam granula pati letaknya tidak satu tempat dan umumnya terletak antara molekul-molekul amilopektin dan secara acak berada selang-seling di daerah amorf dan kristal. Amilopektin merupakan molekul dengan rantai yang memiliki tingkat percabangan yang tinggi, ukurannya lebih besar, dan strukturnya lebih kompak. Kedua fraksi ini dapat dipisahkan dalam air panas. Amilosa, karena memiliki gugus hidroksil akan membentuk lapisan transparan apabila dipanaskan sedangkan amilopektin tidak terjadi retrogradasi (Herawati, 2011).

Di antara banyak ragam pati, salah satu yang menarik perhatian dikarenakan manfaatnya bagi kesehatan adalah pati tahan cerna atau *Resistant Starch* (RS) (Sari, 2013). RS mulai diperkenalkan pada tahun 1980 oleh Hans Englyst yang menemukan bahwa ada beberapa pati yang tahan terhadap enzim amilase. *European Flair Concerted Action on Resistant Starch* (EURESTA) (1992) mendefinisikan RS sebagai sejumlah pati dan produk degradasi pati yang tidak diserap di usus kecil sehingga berpotensi untuk digunakan dalam mendorong pertumbuhan bakteri probiotik dan dapat difermentasi oleh bakteri probiotik dalam usus besar, seperti *Bifidobacterium* sehingga menghasilkan asam lemak rantai pendek (*short chain fatty acid/SCFA*). RS mempunyai sifat fisiko kimia seperti kemampuan mengembang, mengalami peningkatan viskositas, kemampuan membentuk gel, dan kemampuan mengikat air sehingga dapat digunakan dalam pengolahan berbagai makanan (Fausto *et al*, 1997). RS memiliki kandungan alami pada setiap tanaman namun dalam konsentrasi yang berbeda-beda

(Nugent, 2005). Kandungan RS bahan makanan dipengaruhi oleh rasio amilosa dan amilopektin, konsentrasi enzim pululunase, konsentrasi pati, suhu pemanasan, siklus pemanasan dan pendinginan, kondisi penyimpanan, dan adanya lipid atau substansi bermolekul rendah seperti gula (Sajilata *et al.*, 2006). Semakin tinggi kandungan amilosa maka akan semakin menurunkan daya cerna pati sehingga ada korelasi positif antara amilosa dengan pembentukan formasi RS (Meutia, 2010).

2.2.2 Klasifikasi

RS terdiri dari empat kategori, yaitu pati yang secara fisik terperangkap di antara dinding sel bahan pangan sehingga pati ini tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan (RS Tipe 1), granula pati yang secara alami tahan terhadap enzim pencernaan (RS Tipe 2), pati retrogradasi yang dihasilkan melalui proses pengolahan makanan (RS Tipe 3), dan pati yang dimodifikasi secara kimia (RS Tipe 4). Kadar RS pada pati dapat ditingkatkan melalui retrogradasi untuk menghasilkan RS Tipe 3 ataupun modifikasi kimia untuk menghasilkan RS Tipe 4 (Juliana, 2007).

RS Tipe 1 merupakan pati yang terdapat secara alamiah dan secara fisik terperangkap dalam sel-sel tanaman dan matriks dalam bahan pangan kaya pati, terutama biji-bijian dan sereal. Jumlah RS Tipe 1 dipengaruhi oleh proses pengolahan dan dapat dikurangi atau dihilangkan melalui proses penggilingan. RS Tipe 2 merupakan pati yang secara alami sangat resisten terhadap pencernaan oleh enzim alfa amilase dan umumnya granulanya berbentuk kristalin. Sumber RS Tipe 2 antara lain pisang dan kentang yang masih mentah, serta jenis pati jagung dengan kadar amilosa yang tinggi. RS Tipe 3 adalah pati teretrogradasi yang diproses dengan pemanasan *autoclave* (121°C), *annealing*, *heat moisture treatment* (HMT), dan dilanjutkan dengan pendinginan pada suhu rendah (4°C) maupun suhu ruang sehingga mengalami retrogradasi. Retrogradasi pati terjadi melalui reasosiasi (penyusunan kembali) ikatan hidrogen antara amilosa rantai pendek yang terbentuk setelah proses pemanasan *autoclave* dan dipercepat melalui proses pendinginan. RS Tipe 4 adalah pati termodifikasi secara kimia seperti pati ester maupun pati

ikatan silang (Asp dan Bjorck, 1992; Sajilata *et al.*, 2006; dan Zaragoza *et al.*, 2010).

Dari semua jenis RS, RS Tipe 3 adalah yang paling menarik perhatian karena RS tipe ini dapat mempertahankan karakteristik organoleptik ketika ditambahkan pada makanan. RS Tipe 3 relatif tahan panas dibandingkan RS tipe lainnya sehingga stabil selama proses pengolahan pangan. RS Tipe 3 merupakan jenis RS yang paling banyak digunakan sebagai bahan baku fungsional berbasis RS. Kandungan RS Tipe 3 dalam bahan pangan alami umumnya rendah, oleh karena itu perlu ditingkatkan kadarnya melalui teknik modifikasi yaitu melalui metode *autoclaving-cooling* atau siklus pemanasan bertekanan dan pendinginan (Setiarto, 2015). Pati yang digunakan sebagai bahan akan mengalami proses retrogradasi ketika dipanaskan. Kristal pati akan meleleh dan granula pati akan tergelatinisasi sehingga menjadi lebih mudah dicerna. Pada saat gelatinisasi pati, sifat *birefringence* granula pati hilang akibat penambahan air secara berlebih dan pemanasan pada waktu dan suhu tertentu, sehingga granula pati membengkak dan tidak dapat kembali pada kondisi semula. Pemanasan suspensi pati di atas suhu gelatinisasi dapat menyebabkan terjadinya pemutusan (disosiasi ikatan hidrogen dari struktur *double helix* amilopektin, pelelehan (*melting*) bagian kristalit dan pelepasan amilosa dari granulanya (*amylose leaching*). Kemudian gelatin pati melalui proses pendinginan karena sifat setelah pemanasan tidak stabil. Proses pendinginan akan membentuk kristal kembali sehingga tahan terhadap hidrolisis enzim amilase/pati tahan cerna (Zaragoza *et al.*, 2010).

2.2.3 Analisis Pati Tahan Cerna

a. Analisis Kadar Air

Pengukuran kadar air dapat dilakukan dalam beberapa metode, yaitu metode pengeringan (Thermogravimetri), menguapkan air yang ada dalam bahan dengan jalan pemanasan kemudian menimbang bahan sampai berat konstan; metode destilasi (Thermovolumetri), menguapkan air dengan cairan kimia yang terkandung dalam bahan yang mempunyai titik didih lebih tinggi daripada air yang tidak

bercampur dengan air serta mempunyai berat jenis lebih rendah dari air; metode kimiawi, dan metode fisis. Terdapat beberapa cara penentuan kadar air dengan metode kimiawi, yaitu titrasi *Carl Fischer*, kalsium karbid, dan asetil korida. Penentuan dengan metode fisis dapat dilakukan dengan tetapan dielektrikum, konduktivitas listrik, dan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) (Mauer *et al.*, 2010).

Metode yang sering digunakan untuk menganalisa kadar air adalah metode pengeringan, prinsipnya adalah menguapkan air yang ada dalam bahan makanan dengan jalan pemanasan. Kemudian bahan ditimbang sampai berat yang konstan yang menandakan bahwa semua air sudah diuapkan. Pada metode ini dilakukan perhitungan selisih berat bahan sebelum dan sesudah pengeringan yang hasil tersebut akan menunjukkan jumlah air yang teruapkan dan dihitung sebagai kadar air bahan. Umumnya, penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan oven pada suhu 105^0 - 110^0 C selama 3 jam atau sampai berat konstan didapatkan. Metode lain dapat digunakan yaitu dengan suhu rendah dan tekanan vakum sehingga diperoleh hasil yang mencerminkan kadar air yang sebenarnya (Mauer *et al.*, 2010). Metode ini memiliki beberapa kelemahan, yaitu bahan lain di samping air juga ikut menguap dan ikut hilang bersama dengan uap air misal alkohol, asam asetat, minyak atsiri, dan lain-lain; dapat terjadi reaksi selama pemanasan yang menghasilkan air atau zat mudah menguap lain; dan bahan yang mengandung bahan yang dapat mengikat air secara kuat sulit melepaskan airnya meskipun sudah dipanaskan (Sudarmadji, 2003).

b. Uji Daya Cerna Pati

Uji daya cerna pati merupakan suatu kemampuan suatu enzim pemecah untuk menghidrolisis pati menjadi unit-unit yang lebih kecil. Daya cerna pati ditentukan dengan banyaknya pati yang dapat dihidrolisis menjadi komponen sederhana dalam waktu tertentu. Daya cerna pati dipengaruhi oleh proses pengolahan, interaksi antar pengolahan dan penyimpanan (Rhama, 2014).

Penentuan daya cerna pati dilakukan secara *in vitro* dengan metode yang dikembangkan dengan menggunakan enzim α -amilase. Prinsip pengujian ini adalah pengukuran jumlah maltose hasil hidrolisis pati oleh enzim α -amilase (Muchtadi, 1993). Enzim ini mampu mengkatalis proses hidrolisa pati untuk menghasilkan molekul lebih sederhana melalui tiga tahapan yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. Kelompok enzim ini memiliki banyak variasi dalam aktivitasnya, sangat spesifik. Daya cerna pati sampel dinyatakan sebagai persen relatif terhadap standar pati murni (*soluble starch*) (Juliana, 2007).

Daya cerna pati dapat dijadikan sebagai parameter awal keberadaan pati resisten. Semakin tinggi daya cerna pati menunjukkan semakin tinggi pula pati diubah menjadi glukosa, sehingga semakin tinggi kemampuan pati untuk menaikkan glukosa darah. Semakin rendah persen sampel dalam pengujian daya cerna maka RS dalam bahan semakin tinggi dan relatif lebih sempurna tersuspensi di dalam air dan lebih homogen (Asbar *et al.*, 2014).

c. Analisis Kadar Amilosa

Metode iodo kolorimetri digunakan sebagai metode untuk menguji kadar amilosa. Standardisasi amilosa dilakukan untuk mendapatkan kurva standar yang menunjukkan hubungan antara penyerapan cahaya dengan konsentrasi amilosa (Juliano, 1971). Amilosa akan berikatan dengan iodine pada pH rendah (4,5-4,8) menghasilkan kompleks heliks berwarna biru. Intensitas warna biru ini kemudian diukur menggunakan spektrofotometer. Semakin tinggi intensitas warna yang terukur, maka kadar amilosa akan semakin tinggi (Akhyar, 2009).

Amilosa adalah polimer gula sederhana yang tidak bercabang. Struktur yang tidak bercabang ini membuat amilosa lebih kuat sehingga sulit tergelatinisasi akibatnya mudah dicerna. Penelitian terhadap pangan yang memiliki kadar amilosa tinggi menunjukkan bahwa kadar glukosa darah dan respon insulin lebih rendah. Pati dengan kadar

amilosa tinggi sangat cocok digunakan dalam pembuatan RS Tipe 3 (Juliana, 2007).

d. Analisis Struktur Melalui *Scanning Electron Microscope* (SEM)

SEM adalah sebuah mikroskop electron yang didesain untuk menyelidiki permukaan dari objek solid secara langsung. SEM memiliki perbesaran 10-100000x, kedalaman lapang 4-0,4 mm dan resolusi sebesar 1-10nm. Fungsi utama mikroskop ini antara lain untuk mengetahui topografi (*Backscatter Electron Imaging*), yaitu ciri-ciri permukaan dan tekstur; morfologi (*Secondary Electron Imaging*), yaitu bentuk dan ukuran partikel penyusun objek; komposisi, yaitu data kuantitatif unsur senyawa yang terkandung di dalam objek (titik lebur, kereaktifan, kekerasan); dan informasi kristalografi. Pengaplikasian SEM luas, hasil tiga dimensi yang detail, dan gambar topografi serba guna yang bisa menangkap banyak informasi. Hasil bisa didapatkan dalam waktu kurang dari lima menit dan pengoperasiannya cukup mudah (Anonim, 2014).

Cara kerja dari SEM adalah sinar lampu dipancarkan pada lensa kondensor, sebelum masuk pada lensa kondensor terdapat pengatur dari pancaran sinar electron yang ditembakkan. Sinar yang melewati lensa kondensor diteruskan lensa objektif yang dapat diatur maju dan mundur. Sinar yang melewati lensa objektif diteruskan pada specimen yang diatur miring pada pencekamnya, specimen ini disinari oleh x-ray yang menghasilkan sebuah gambar yang diteruskan pada layar monitor (Respati, 2008).

2.2.4 Efek RS Tipe 3 Terhadap Metabolisme Glukosa

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa RS memiliki nilai fungsional bagi penderita diabetes terutama terkait dengan kemampuannya untuk membantu menurunkan level gula darah setelah makan (*postprandial blood glucose*) dan meningkatkan sensitivitas insulin pada subjek yang mengonsumsi pati jenis ini. Selain itu, diabetes biasanya diikuti dengan peningkatan produksi radikal bebas atau dengan kata lain terjadi kegagalan

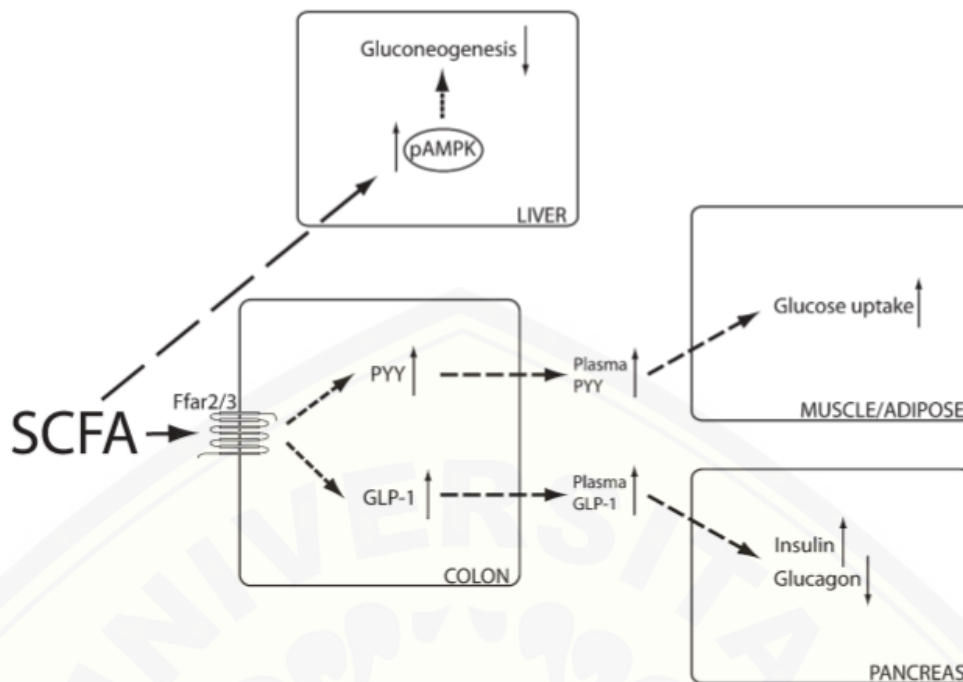
pada fungsi pertahanan antioksidan dalam tubuh. Pati tahan cerna dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Kwak *et al.*, 2012).

Toleransi glukosa yang tidak optimal dan ketidaksensitifan insulin menjadi penyebab awal dari munculnya penyakit diabetes dan hal ini dimodulasi oleh pola konsumsi karbohidrat merupakan determinan mendasar dari respon insulin dan gula darah. Pati tahan cerna menghambat peningkatan gula darah dengan mengurangi kecepatan dan jumlah karbohidrat yang dicerna, dengan demikian diharapkan dapat menurunkan respon insulin (Sari, 2013). Keberadaan RS Tipe 3 dalam usus dapat menurunkan respons glikemik dan insulinemik pada penderita diabetes dan penderita hiperinsulinemia melalui suatu mekanisme aktivasi hormon pencernaan (Okoniewska dan Witwer, 2007).

SCFA sebagai produk akhir fermentasi RS, terdiri atas asetat, propionat, butirat (>95%) dan format, valerat, dan kaproat dalam jumlah yang kecil (5%). SCFA yang berasal dari sekum, kolon ascending, dan kolon transversum disalurkan menuju vena mesenterica superior sedangkan SCFA pada kolon descending dan sigmoid disalurkan melalui vena mesenterica inferior dan vena cava inferior. Asetat, butirat, dan propionat memiliki reseptor GPR41 (Ffar3) dan GPR43 (Ffar2) yang ditemukan di jaringan lemak, otot, dan hepar sehingga SCFA memengaruhi metabolisme glukosa secara langsung di perifer (Canfora *et al.*, 2015).

Pemberian acetate dan propionat secara oral mereduksi hiperglikemia pada tikus model KK-A(y). Terdapat bukti tidak langsung yang menunjukkan penurunan glukoneogenesis di hepar. Aktivasi AMP-*activated protein kinase* (AMPK) di hepar menurunkan ekspresi gen enzim glukoneogenesis *glucose-6-phosphatase* (G6Pase) dan *phosphoenolpyruvate carboxynase* (PEPCK). Kadar GDP dan insulin level menurun dengan peningkatan toleransi glukosa (Sakakibara *et al.*, 2006).

RS Tipe 3 sebagai salah satu dari produk SCFA mampu mempengaruhi kadar glukosa plasma dengan meningkatkan hormon PYY dan GLP-1 melalui aktivasi receptor Ffar2 dan Ffar3. PYY diketahui sebagai hormon yang mendorong fungsi insulin pada pembuangan glukosa baik di sel otot maupun



Gambar 2.2 Mekanisme RS Tipe 3 dalam metabolisme glukosa (Sumber: Besten *et al*, 2013)

di jaringan adiposa. Reseptor Ffar2 dan Ffar3 berikatan dengan sel L enteroendokrin yang mengandung PYY yang menunjukkan penurunan ekspresi PYY dan toleransi glukosa. Sedangkan, GLP-1 secara tidak langsung memberikan efek regulasi glukosa darah dengan meningkatkan sekresi insulin dan menurunkan sekresi glukagon di pankreas (Besten, 2013).

2.3 Singkong Kuning (*Manihot esculenta* Crantz)

2.3.1 Deskripsi Singkong Kuning (*Manihot esculenta* Crantz)

Singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) pertama kali dikenal di Amerika Selatan yang dikembangkan di Brazil dan Paraguay pada masa prasejarah. Singkong kuning memiliki potensi sebagai bahan makanan pokok penduduk asli Amerika Selatan pada masa tersebut. Ketika bangsa Spanyol menginvasi daerah tersebut, budidaya tanaman singkong kuning dilanjutkan oleh kolonial Portugis dan Spanyol (Chan, 1983). Di Indonesia, singkong kuning dari Brazil diperkenalkan oleh bangsa Portugis pada abad ke-16 dan ditanam secara komersial di wilayah Indonesia sekitar tahun 1810 dan kini

menjadi bahan makanan yang merakyat dan tersebar di Indonesia (Bargumono dan Suyadi, 2013).

Singkong kuning atau biasa disebut dengan ubi kayu merupakan jenis umbi-umbian yang mempunyai nilai ekonomi lebih dibandingkan dengan jenis umbi-umbian lainnya. Hal ini disebabkan oleh karena singkong kuning mudah didapat, mudah ditanam (umur panen mencapai 6-8 bulan), dan kaya akan karbohidrat yang bisa menggantikan fungsi nasi sebagai bahan pangan pokok masyarakat Indonesia (Bargumono dan Suyadi, 2013). Singkong kuning umumnya diolah menjadi olahan pangan dan olahan non pangan. Selain dikukus, direbus, atau digoreng untuk dikonsumsi dapat digunakan sebagai bahan baku industri pangan, kimia, farmasi dan tekstil. Berdasarkan kandungan asam sianida (HCN) yang terdapat dalam umbinya, singkong kuning dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu kandungan HCN <50ppm (*innocieous*), 50-100ppm (*moderately toxic*), dan >100ppm (*dangerously toxic*) (Ferrero *et al*, 1992). Varietas singkong kuning yang memiliki HCN rendah digunakan untuk bahan pangan sedangkan varietas yang berkadar HCN tinggi digunakan sebagai bahan baku industri (Suyamto dan Wargiono, 2006).

Pohon singkong kuning dapat tumbuh hingga 1-4 meter dengan daun besar menjari dengan 5 hingga 9 belahan lembar daun (Rubatzky dan Yamaguchi, 1995). Daun ubi kayu mengandung vitamin A yang tinggi dan batangnya dapat digunakan sebagai bahan bakar atau stek untuk mengembangbiakkan tanaman baru (Bargumono dan Suyadi, 2013). Bagian ubi singkong kuning berbentuk silinder, kerucut, atau oval. Panjang ubi berkisar 15 hingga 100 cm dan diameternya 3 hingga 15 cm. Satu pohon singkong kuning umumnya menghasilkan sekitar 5-10 ubi dengan berat hingga 15 kg (Rubatzky dan Yamaguchi, 1995). Sentra utama produksi ubi kayu di Indonesia terletak di Jawa Tengah dan Jawa Timur dengan produktivitas yang cukup tinggi yaitu 12,2 ton/ha. Berikut adalah data produksi singkong kuning di Indonesia tahun 2002-2006 menurut BPS (2006).

Tabel 2.3 Data produksi singkong kuning di Indonesia tahun 2002-2006 (dalam ton)

Tahun	Produksi
2002	16.913.104
2003	18.523.810
2004	19.424.707
2005	19.321.183
2006	19.907.304

Sumber: BPS, 2006

2.3.2 Klasifikasi Singkong Kuning (*Manihot esculenta Crantz*)

Klasifikasi Singkong kuning (*Manihot esculenta Crantz*) menurut *United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service* (2003) adalah:

- a. Nama Umum
 - 1) Indonesia: Singkong kuning, ketela pohon, ubi kayu
 - 2) Inggris: *cassava, tapioca plant*
- b. Taksonomi
 - 1) Kingdom: Plantae
 - 2) Subkingdom: Tracheobionta
 - 3) Super Divisi: Spermatophyta
 - 4) Divisi: Magnoliophyta
 - 5) Kelas: Magnoliopsida
 - 6) Sub Kelas: Rosidae
 - 7) Ordo: Euphorbiales
 - 8) Famiili: Euphorbiaceae
 - 9) Genus: *Manihot*
 - 10) Species: *Manihot esculenta Crantz*

2.3.3 Komposisi Singkong kuning (*Manihot esculenta Crantz*)

Pada masa pertumbuhan, kandungan karbohidrat umbi singkong kuning semakin meningkat dan mencapai titik optimal saat umbi siap dipanen (6-8 bulan). Apabila sampai umur 12 bulan belum dipanen, singkong kuning tidak bertambah besar dan kualitasnya menurun. Kadar air umbi akan meningkat, sedangkan protein, tepung, HCN menurun. Dalam proses penyimpanan

singkong kuning segar hanya mampu bertahan berkisar 4-5 hari. Apabila disimpan lebih dari masa segarnya maka akan terlihat perubahan kulit singkong kuning menjadi warna hitam atau biru (Bargumono dan Suyadi, 2013).

Kandungan gizi pada umbi singkong kuning yaitu karbohidrat 37,9 g, protein 0,8 g, lemak 0,3 g. Indeks Glikemik (IG) pada pati singkong kuning yaitu $59,34 \pm 32,42$ pada pasien diabetes dan $40,12 \pm 25,27$ pada pasien non diabetes (Itam *et al.*, 2012). Angka ini termasuk rendah bila dibandingkan dengan beras yang merupakan sumber pangan pokok masyarakat Indonesia memiliki IG 99,26 (Idril *et al.*, 2013). Kadar amilosa dan amilopektin pati singkong kuning secara berurutan yaitu 28,57% dan 51,24% (Kustyawati, 2013). Suatu bahan dengan kadar amilopektin lebih tinggi menunjukkan bahwa bahan tersebut terdapat kandungan pati. Perbandingan amilosa dan amilopektin ini memengaruhi sifat kelarutan dan derajat gelatinisasi pati. Semakin besar kandungan amilosa, maka pati makin bersifat kering dan kurang lengket, dan sebaliknya. Penambahan metode *autoclaving-cooling* (pembentukan pati tahan cerna) yang terdiri proses retrogradasi (dipanaskan) dilanjutkan dengan pendinginan pada pati singkong kuning nantinya akan membentuk gelatin pati yang tahan terhadap hidrolisis enzim amilase (Rohmah, 2013).

Tabel 2.4 Komposisi kimia singkong kuning per 100 gram bahan

No.	Komponen	Singkong Kuning
1.	Kalori (kkal)	157,00
2.	Protein (g)	0,80
3.	Lemak (g)	0,30
4.	Karbohidrat (g)	37,90
5.	Air (g)	60,00
6.	Kalsium (mg)	33,00
7.	Fosfor (mg)	40,00
8.	Besi (mg)	0,70
9.	Asam askorbat (mg)	30,00
10.	Thiamin (mg)	0,06
11.	Vitamin A (IU)	385,00
12.	Bagian yang dapat dimakan (%)	75,00

SSumber: Departemen Kesehatan, 2005

2.4 Model Hewan Coba Diabetes Mellitus

Terapi efektif DM hingga saat ini menjadi urgensi. Peneliti memerlukan tikus model DM diperlukan sebagai sarana untuk mencapai target tujuan pengujian terapi terbaru. Tikus yang dibutuhkan dalam uji coba terapi yaitu tikus yang secara genetis telah memiliki DM dan tikus yang diberikan induksi bahan atau diet tertentu sehingga menjadi tikus model diabetes. Pada tikus yang sengaja diberikan induksi biasanya diberikan pakan tinggi lemak (*High Fat Diet/HFD*) maupun streptozotocin (STZ). Pemberian HFD diharapkan mampu memberikan kondisi hiperinsulinemia, resistensi insulin, dan/atau intoleransi glukosa yang kemudian diikuti dengan pemberian toksin sel beta yaitu STZ yang akhirnya menghasilkan fungsi sel beta yang menurun secara massal (Skovsko, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Sa'adah dan Pratiwi (2016) menggunakan kombinasi minyak babi dan kuning telur itik (perbandingan 1:1) serta ditambah kolesterol murni (2%) secara oral pada tikus wistar selama 30 hari. Volume yang diberikan pada tikus sebanyak 1% dari berat badan (BB) tikus. Telur itik dan minyak babi merupakan contoh HFD yang mengandung banyak lemak jenuh dan kolesterol. Pada telur itik, setiap 100gr nya mengandung 1000 mg kolesterol dan 31,85% asam lemak jenuh. Kadar asam lemak jenuh yang tinggi pada HFD tersebut dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol darah sebesar 15-25%. Diet HFD dapat menyebabkan hipertrofi dan hiperplasia adiposit melalui aktivasi suatu faktor transkripsi *Sterol Regulatory Binding Protein* (SREBP). SREBP memegang peranan penting untuk mengatur gen adiposit, antara lain sintesis asam lemak, lipoprotein lipase (LPL), dan metabolisme asam lemak. Hipertrofi adiposit yang distimulasi oleh SREBP akan membentuk adiposit-adiposit baru melalui *insulin growth factor-1* (IGF-1) sehingga terjadi hiperplasi adiposit sehingga terjadi penumpukan lemak visceral dan FFA plasma yang semakin meningkat (Unger dan Orci, 2001). Peningkatan FFA memengaruhi kerja insulin, menurunkan ambilan glukosa, sintesis glikogen (Marwati *et al*, 2012).

STZ adalah derivat nitrosuria glukopiranose yang diisolasi dari fermentasi *Streptomyces achromogenes* yang memiliki fungsi sebagai anti-

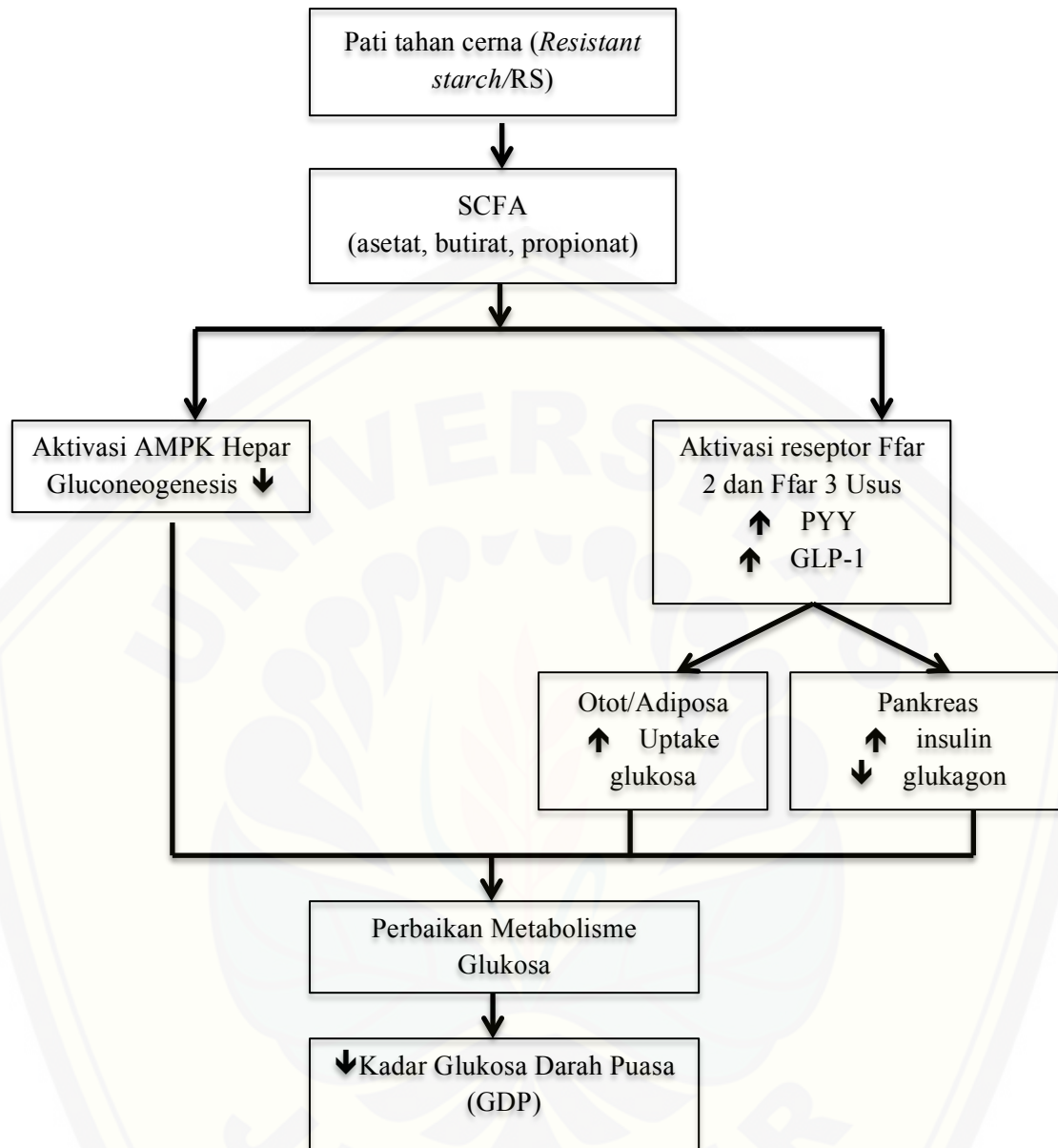
neoplasma dan antibiotik. STZ mencegah sintesis DNA pada mamalia dan sel bakteri. Pada sel bakteri, STZ mengalami reaksi dengan kelompok sitosin dan menyebabkan degenerasi dan destruksi DNA sedangkan pada mamalia mekanisme biokimiawi mengakibatkan kematian sel. STZ adalah analog glukosa toksik yang akan terakumulasi di sel-sel β pankreas melalui transporter *Glucose Transporter 2* (GLUT2) afinitas rendah. Induksi STZ dapat memicu terjadinya DM tipe 1 maupun tipe 2 tergantung dosis dan perlakuan terhadap hewan coba. STZ memiliki rentang dosis yang lebih lebar dan jarang menyebabkan ketosis. Hiperglikemia yang disebabkan oleh STZ mampu dipertahankan dalam waktu lama sehingga dapat memudahkan dalam mengamati patofisiologi dan komplikasi diabetes (Zulkarnain, 2013).

Ada banyak penelitian sebelumnya mengenai perkembangan pembentukan tikus model diabetes mellitus. Reed *et al.* (2000) memberikan 40% kkal lemak ke tikus selama dua minggu. Resistensi insulin ditentukan berdasarkan hasil observasi terhadap kadar glukosa darah tikus yang diberikan lemak mengalami peningkatan. Tikus dipuaskan selama semalam kemudian diberikan injeksi STZ (50 mg/kgBB), setelah berlalu tiga hari menunjukkan tikus mengalami peningkatan kadar glukosa darah plateau dan dilakukan respon tikus terhadap pemberian metformin. Pemberian metformin mampu menurunkan kadar glukosa darah menunjukkan bahwa tikus ini memenuhi syarat sebagai model diabetes yang cukup relevan dengan kondisi pada manusia dengan DM2. Namun, penelitian selanjutnya dimodifikasi oleh Zhang *et al.* (2008) yaitu dengan memberikan HFD selama empat minggu diikuti STZ dosis rendah (15 mg/kgBB) menunjukkan destruksi sel beta yang diinduksi oleh inflamasi dan bukan induksi yang menyebabkan kematian sel beta secara spontan seperti pada efek pemberian STZ dosis tinggi (50 mg/kgBB).

Sebuah studi yang dilakukan oleh Srinivasan *et al.* (2005) dalam mengembangkan tikus model diabetes disebut paling ideal dan mendekati dari karakteristik metabolik pasien DM2. Penelitian ini memberikan perlakuan diet HFD pada tikus selama 2 minggu yang diikuti injeksi STZ dengan dosis yang berbeda pada tiap kelompok tikus dengan tujuan untuk

mendapatkan dosis STZ serendah mungkin sehingga mampu mencetuskan tikus model DMT2 tanpa adanya defisiensi insulin yang absolut. Tiga dosis STZ berbeda yang diberikan, yaitu 25, 35, 45, 55 mg/kgBB. Pada pemberian STZ dengan dosis 45 dan 55 mg/kgBB menunjukkan penurunan berat badan yang drastis pada tikus dan beberapa diantaranya mati dalam kurun waktu 2 minggu. Terapi farmakologi berupa glipizide dan pioglitazone diberikan tetapi tidak mampu menghambat komplikasi pada tikus. Sehingga, tikus ini dinyatakan relevan dengan kondisi pasien DMT1. STZ dengan dosis 25mg/kgBB tidak menunjukkan kondisi hiperglikemia. Pemberian STZ 35 mg/kgBB dikatakan paling mendekati dengan kondisi pasien DMT2. Hal ini dikarenakan terjadi peningkatan marginal pada berat badan tikus dan peningkatan kadar glukosa darah yang stabil dalam kurun waktu 10 minggu. Oleh karena itu, tikus model ini dapat digunakan dalam penelitian yang memerlukan kurun waktu yang lama termasuk dalam penelitian lebih lanjut mengenai komplikasi-komplikasi yang dapat timbul.

2.5 Kerangka Teori

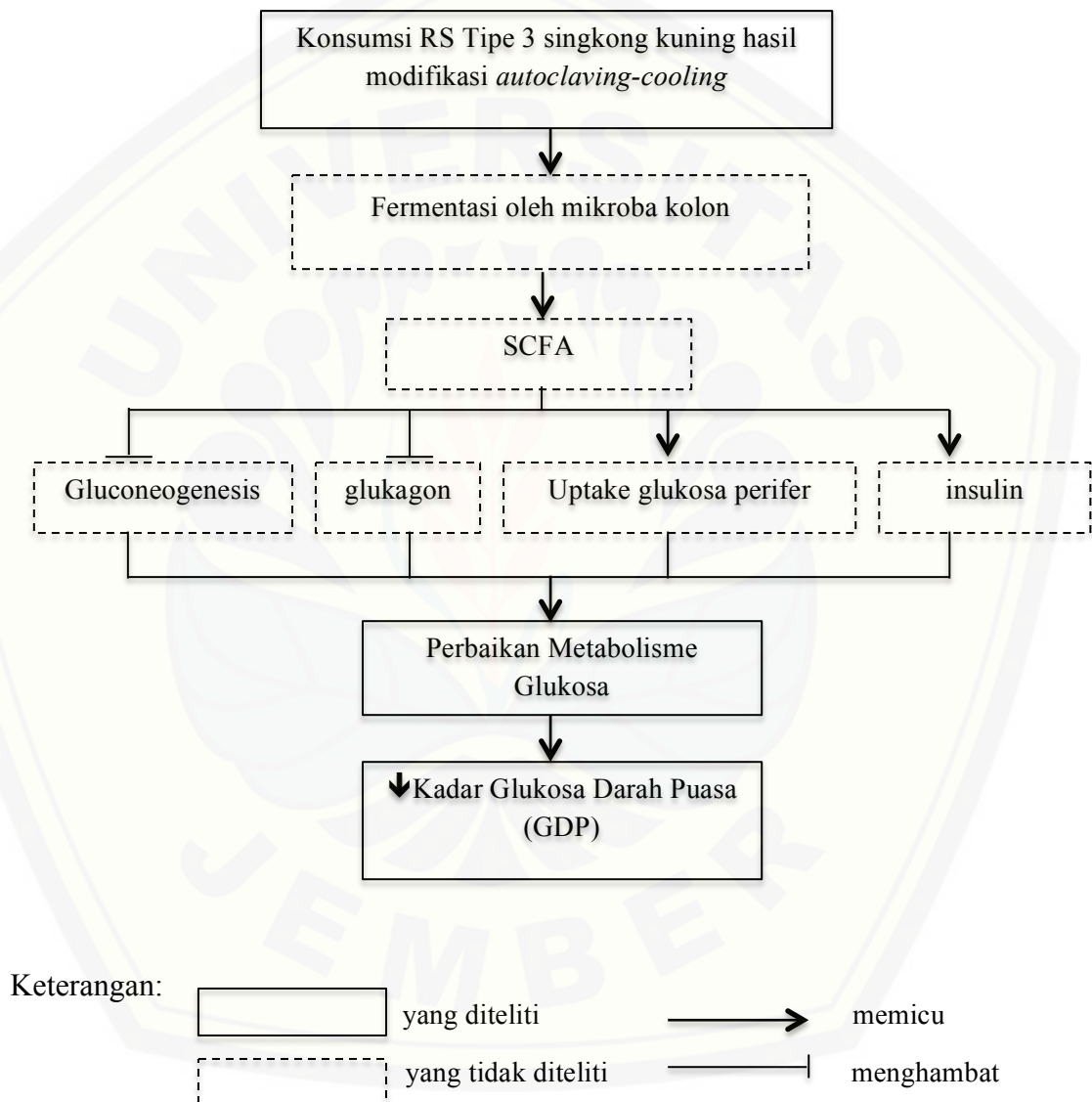


Gambar 2.3 Kerangka Teori (Sumber: Besten *et al*, 2013)

Hasil fermentasi pati tahan cerna (RS) akan menghasilkan produk akhir SCFA yang terdiri dari asetat, butirrat, dan propionat. SCFA akan menyebabkan Aktivasi AMP-activated protein kinase (AMPK) di hepar yang menurunkan ekspresi gen enzim glukoneogenesis *glucose-6-phosphatase* (G6Pase) dan *phosphoenolpyruvate carboxynase* (PEPCK) sehingga proses glukoneogenesis di hepar dapat ditekan. Selain itu SCFA melalui reseptor Ffar2/3 yang terdapat di usus akan meningkatkan aktifitas PYY dan GLP-1

sehingga meningkatkan uptake glukosa pada otot dan jaringan adiposa serta meningkatkan kerja insulin dan glukagon pada pankreas. Mekanisme tersebut berperan dalam perbaikan metabolisme glukosa pada individu dengan DMT2 dengan manifestasi berupa penurunan Kadar GDP.

2.6 Kerangka Konseptual Penelitian



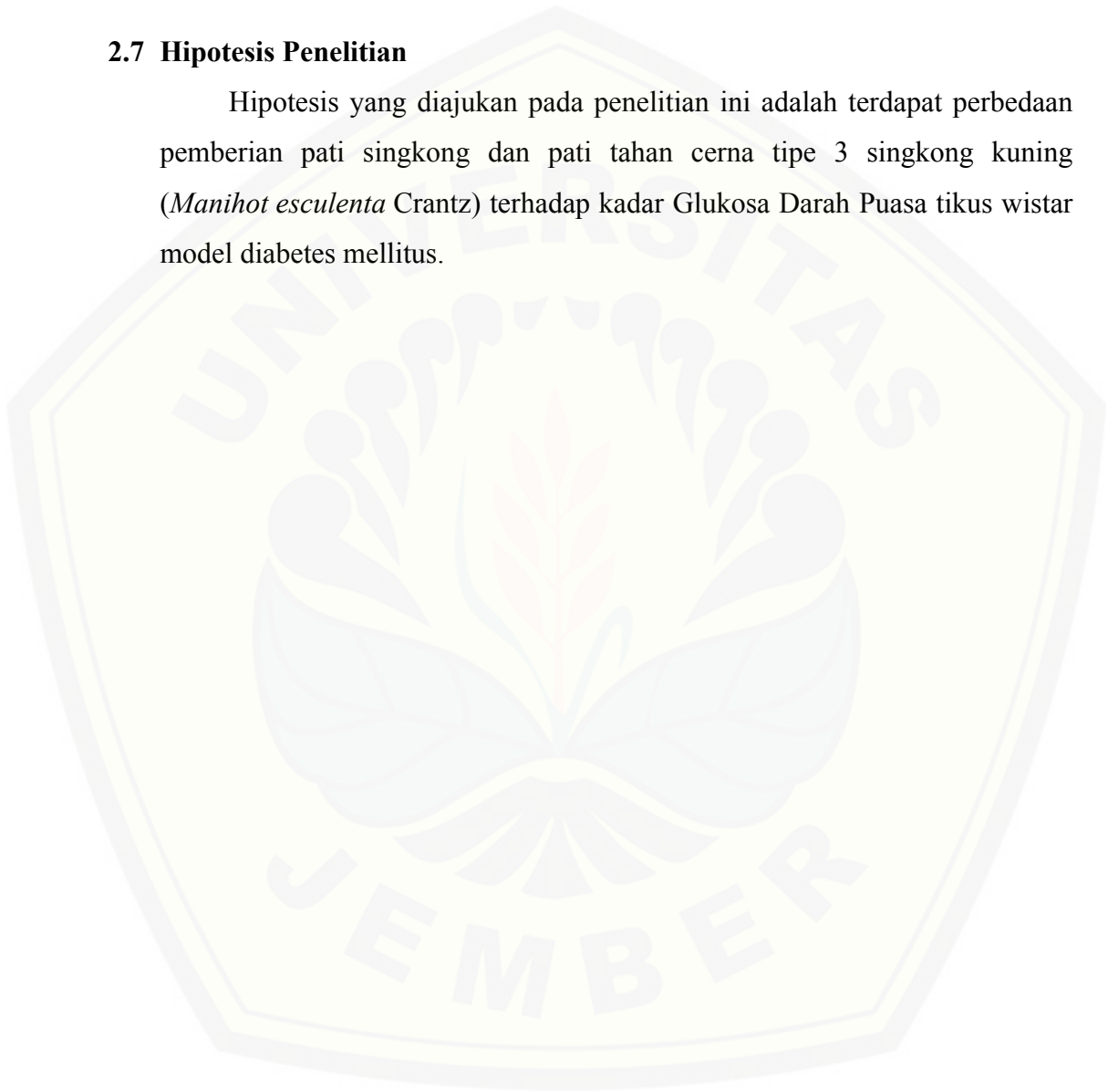
Gambar 2.4 Kerangka Konseptual Penelitian

Konsumsi RS Tipe 3 singkong kuning hasil modifikasi *autoclaving-cooling* akan melewati sistem pencernaan di usus halus kemudian di fermentasi oleh mikroba yang terdapat di kolon. Hasil fermentasi berupa

SCFA yang melalui beberapa mekanisme aktivasi reseptor akan memicu peningkatan uptake glukosa di perifer dan sekresi insulin serta menghambat glukoneogenesis dan sekresi glukagon. Hal tersebut menyebabkan perbaikan metabolisme glukosa pada DM2 dengan manifestasi berupa penurunan Kadar GDP.

2.7 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat perbedaan pemberian pati singkong dan pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap kadar Glukosa Darah Puasa tikus wistar model diabetes mellitus.

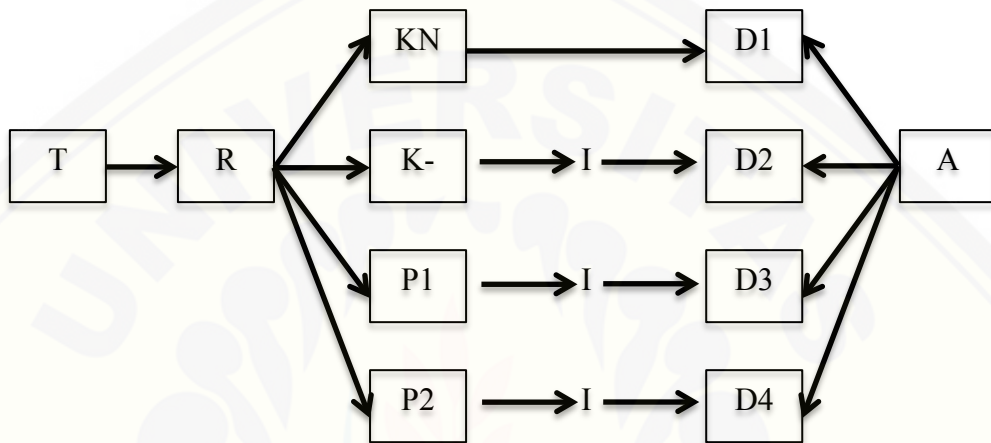


BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *quasy experimental post test only control group design*. Hal ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian RS Tipe 3 singkong kuning terhadap kadar GDP tikus model diabetes.

Secara skematis rancangan penelitian dapat digambarkan sebagai berikut.



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan:

T : tikus

R : randomisasi

KN : kelompok kontrol normal (tikus normal dengan diet pakan standar)

K- : kelompok kontrol negatif (tikus model diabetes dengan diet pakan standar)

P1 : kelompok perlakuan 1 (tikus model diabetes dengan diet pakan standar dan diet pati singkong kuning)

P2 : kelompok perlakuan 2 (tikus model diabetes dengan diet pakan standar dan diet RS Tipe 3 singkong kuning)

I : induksi diabetes dengan STZ

D : data hasil pengukuran kelompok 1,2,3,4

A : analisis data

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan hewan coba, perlakuan hewan coba, dan pengambilan sampel dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Proses modifikasi pati singkong kuning dan pengukuran GDP dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Analisis RS Tipe 3 dilakukan di Lab Biosains Politeknik Negeri Jember. Penelitian ini berlangsung selama 10 minggu dari bulan Februari sampai dengan April 2017.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan yang diambil di peternakan tikus di Kota Malang.

3.3.2 Sampel

Sampel yang ada di penelitian ini terdapat kriteria inklusi dan eksklusi yang bertujuan untuk membuat homogen sampel yang akan digunakan. Kriteria inklusi sampel penelitian adalah sebagai berikut:

- a. berat badan 150-200 gram,
- b. tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan,
- c. umur 2-3 bulan, dan
- d. sehat fisik ditandai dengan nafsu makan baik dan berperilaku normal.

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah tikus yang selama penelitian tidak mau makan, diare, dan mati sebelum maupun selama penelitian berlangsung.

3.3.3 Besar Sampel

Perhitungan jumlah sampel menggunakan aplikasi perhitungan sampel G Power versi 3.1. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek perbedaan pemberian pati singkong kuning dan RS Tipe 3 singkong kuning sehingga uji yang dilakukan adalah *F test One Way ANOVA*. Hasil perhitungan sampel untuk jumlah kelompok perlakuan 4, didapatkan total minimal sampel yang dibutuhkan yaitu 16 ekor tikus dengan 4 ekor tikus di tiap kelompok. Hasil perhitungan besar sampel dapat dilihat pada lampiran 3.3.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian diet pati singkong kuning dan RS Tipe 3 singkong kuning.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar GDP tikus Wistar.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel yang dapat dikendalikan dalam penelitian ini meliputi umur hewan coba, berat badan hewan coba, jenis kelamin, pemeliharaan hewan coba, lama perlakuan, dan jenis perlakuan hewan coba.

3.5 Definisi Operasional

Variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Skala
Variabel bebas	Diet pati singkong kuning	Pemberian diet hasil ekstraksi singkong kuning sebanyak 20 gram dikombinasikan dengan pakan normal 10 gram.	Rasio
Variabel bebas	Diet RS Tipe 3 singkong kuning	Pemberian diet hasil modifikasi pati singkong kuning dengan metode <i>autoclaving-cooling</i> sebanyak 20 gram dikombinasikan dengan pakan normal 10 gram.	Rasio
Variabel bebas	Analisis RS Tipe 3 singkong kuning	Pengamatan menggunakan SEM dengan perbesaran 1000x dilakukan untuk memastikan terbentuknya RS Tipe 3.	-
Variabel Terkendali	High Fat Diet	Pemberian diet pakan tinggi lemak dengan menggunakan kuning telur bebek dengan 0,01 mg/kgBB (Ariantari, 2010).	Rasio
Variabel Terkendali	STZ	Suatu bahan yang diinjeksikan secara intraperitoneal dengan dosis 35 mg/kgBB dalam sodium buffer sitrat 0.1 M ph 4.5	Rasio
Variabel Terikat	Kadar GDP	Pengukuran kadar glukosa darah saat puasa (8 jam) dengan metode GOD-PAP. Pembacaan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 546 nm. GDP normal <100 mg/dl (Zhang, 2011).	Rasio

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Alat yang digunakan untuk pemeliharaan tikus seperti kandang, tempat makan, tempat minum, dan spuit 3 cc untuk injeksi STZ secara intraperitoneal.
- b. Instrumen yang digunakan untuk menimbang adalah timbangan untuk menimbang tikus dan Neraca OHAUS untuk menimbang diet.
- c. Instrumen yang digunakan dalam pembuatan pati dan modifikasi pati singkong kuning yaitu saringan 100mesh, oven, *autoclave*, bak plastik, *freezer*, blender, dan timbangan.
- d. Instrumen yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah puasa yaitu spuit 5 cc, tabung EDTA, tabung reaksi, rak tabung reaksi, sentrifuge, vortex, mikro pipet, mikro tip, cuvet, dan spektrofotometer.

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Bahan yang digunakan untuk pemberian makanan adalah pakan standar turbo 521.
- b. Bahan yang digunakan untuk induksi diabetes adalah STZ dan sodium buffer citrate 0,1 M pH 4,5.
- c. Bahan yang digunakan untuk membuat diet adalah singkong kuning.
- d. Bahan yang digunakan untuk pengukuran GDP adalah reagen GOD-PAP merk Diasys satu kit.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Ekstraksi Pati Singkong Kuning

Dalam penelitian ini pati singkong kuning diekstraksi patinya dengan cara: umbi dikupas, dicuci, dihancurkan, diekstraksi dengan air (umbi:air = 1:4), disaring, diendapkan selama 24 jam, dan dikeringkan dengan oven (suhu 40⁰C), dan terakhir disaring dengan saringan 100 mesh.

3.7.2 Pembuatan RS Tipe 3 dengan Metode *Autoclaving-cooling* (Modifikasi Lehmann *et al.*, 2002)

Prinsip dari teknik pembuatan RS Tipe 3 adalah pati disuspensikan dalam air. Suspensi pati tersebut kemudian dipanaskan dengan menggunakan *autoclave* yang mengakibatkan pati tergelatinisasi secara sempurna dan keluarnya fraksi amilosa dari granula pati. Selanjutnya pasta pati didinginkan sehingga dapat menyebabkan fraksi amilosa mengalami retrogradasi. Proses pemanasan pada suhu tinggi (*autoclaving*) menyebabkan suspensi pati mengalami gelatinisasi. Pada saat gelatinisasi pati, sifat *birefringence* granula pati hilang akibat penambahan air secara berlebihan dan pemanasan pada waktu dan suhu tertentu, sehingga granula pati membengkak dan tidak dapat kembali pada kondisi semula (*irreversible*) (Zabar *et al.*, 2008). Pemanasan *autoclaving-cooling* secara berulang dapat menyebabkan semakin banyaknya pembentukan fraksi amilosa terretrogradasi atau terkristalisasi. Rekrystalisasi amilosa ini terjadi selama proses pendinginan (*cooling*). Amilosa terretrogradasi (RS Tipe 3) bersifat lebih stabil terhadap panas, sangat kompleks, dan tahan terhadap enzim amylase. Faktor lain yang berpengaruh terhadap pembentukan RS Tipe 3 melalui proses *autoclaving-cooling* adalah konsentrasi pati dan suhu *autoclave*. Pembentukan RS Tipe 3 berlangsung paling optimum apabila konsentrasi suspensi pati dalam air sebesar 20% (b/b) dengan suhu *autoclave* sebesar 121⁰C

Sebanyak 20 gram pati singkong kuning dalam labu Erlenmeyer 300 ml yang disuspensikan dalam akuades (20% b/b). Sampel kemudian dipanaskan pada suhu tinggi dalam autoklaf 121⁰C selama 1 jam. Pasta pati didinginkan pada suhu ruangan selama 2 jam, dibekukan pada suhu -20⁰C, terakhir dikeringkan di dalam oven bersuhu 60⁰C. RS Tipe 3 yang terbentuk kemudian digiling dan diayak 60 mesh.

Hasil pembuatan RS Tipe 3 singkong kuning dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk memastikan terbentuknya RS Tipe 3. Morfologi permukaan granula pati dan RS Tipe 3 diamati dibawah SEM. Serbuk pati maupun RS Tipe 3 diletakkan di atas tempat sampel dengan menggunakan isolasi *double-side*. Sampel kemudian dilapisi dengan

emas, lalu dimasukkan ke dalam instrument SEM. Struktur pati diamati di layar monitor dengan menggunakan skala pembesaran 1000 kali.

3.7.3 Pembuatan Tikus Model Diabetes Mellitus

Sebelum perlakuan, hewan coba terlebih dahulu diaklimatisasikan dengan kondisi tempat penelitian, pakan dan minum selama 7 hari. Tikus dipelihara dalam ruangan yang bersuhu $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ dan diberi cahaya selama 12 jam (06.00 WIB – 18.00 WIB). Hewan coba tersebut dikandangkan secara tertutup dengan kondisi cahaya tidak terkontrol, ventilasi udara di dalam kandang cukup, temperatur udara pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan dan pengukuran kadar glukosa darah.

Pembuatan tikus model diabetes tipe 2 yaitu pemberian HFD dengan pemberian kuning telur bebek 0,01 (Ariantari, 2010). Empat minggu setelah pemberian diet, tikus dipuasakan semalam, hewan kemudian diinjeksikan STZ dengan dosis rendah (35mg/kgBB dalam 0.1M, pH 4.5) secara intraperitoneal (Srinivasan *et al.*, 2005). Kemudian ditunggu 1 minggu dan diukur kadar GDP untuk mengonfirmasi keadaan diabetes pada hewan coba. Hewan coba diberikan diet sesuai kelompok dan air minum secara *ad libitum* selama 28 hari.

3.7.4 Pemberian Diet Pati Singkong kuning dan RS Tipe 3

Pemberian diet bertujuan untuk memberikan efek kuratif terhadap pasien DM sehingga diet diberikan sesudah konfirmasi diabetes pada tikus. Pemberian dua tipe diet yang berbeda untuk membandingkan efek kuratif kontrol glukosa darah puasa antara kombinasi diet pakan standar dan diet pati singkong kuning dengan diet pakan standar dan diet RS Tipe 3 singkong kuning dimana dilakukan pencatatan sisa pakan yang dikonsumsi oleh tikus tiap harinya. Menurut Rahmawati dan Yunita (2008) kebutuhan makan tikus wistar 20-30 g/ekor/hari sehingga kebutuhan energi tikus per hari adalah 68,6 kkal. Pada penelitian ini kelompok kontrol diberikan diet pakan normal sebanyak 30 g. Pakan perlakuan diformulasikan untuk mencapai isokalori dengan 2/3 dari total kalori digantikan pati singkong kuning dan modifikasi

pati singkong kuning (RS Tipe 3). Berikut uraian pemberian diet pada tikus perlakuan selama 28 hari:

- a. KN : kelompok kontrol normal (tikus normal dengan diet pakan standar 30 g)
- b. K- : kelompok kontrol negatif (tikus model diabetes dengan diet pakan standar 30 g)
- c. P1 : kelompok perlakuan 1 (tikus model diabetes dengan diet pakan standar 10 g dan diet pati singkong kuning 20 g)
- d. P2 : kelompok perlakuan 2 (tikus model diabetes dengan diet pakan standar 10 g dan diet RS Tipe 3 20 g)

3.7.5 Pengambilan Darah

Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan selama 8 jam. Pengambilan darah diambil melalui sinus orbitalis sebanyak 3 ml. Darah kemudian di *sentrifuge* untuk memisahkan cairan serum dengan plasma. Kemudian cairan serum diambil dan disimpan didalam *container*.

3.7.7 Pengukuran Kadar GDP

Kadar GDP ditentukan dengan metode Glucose-Oxidase-Phenol 4-Aminoantipirin (GOD-PAP). Prinsip metode ini adalah glukosa ditentukan setelah oksidasi enzimatik dengan adanya glukosa oksidase, hydrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan adanya peroksidase dengan phenol serta 4-aminophenazone menjadi warna quinoneimine yang berwarna merah violet. Hal ini terjadi setelah serum dicampur dengan reagen glucose liquiqolor dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20⁰C-25⁰C atau selama 5 menit pada suhu 37⁰C. Kemudian mengukur absorbansi standar dan absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546nm. Adapun perhitungan kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP.

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{kadar standar} \left(100 \frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right)$$

3.8 Analisis Data

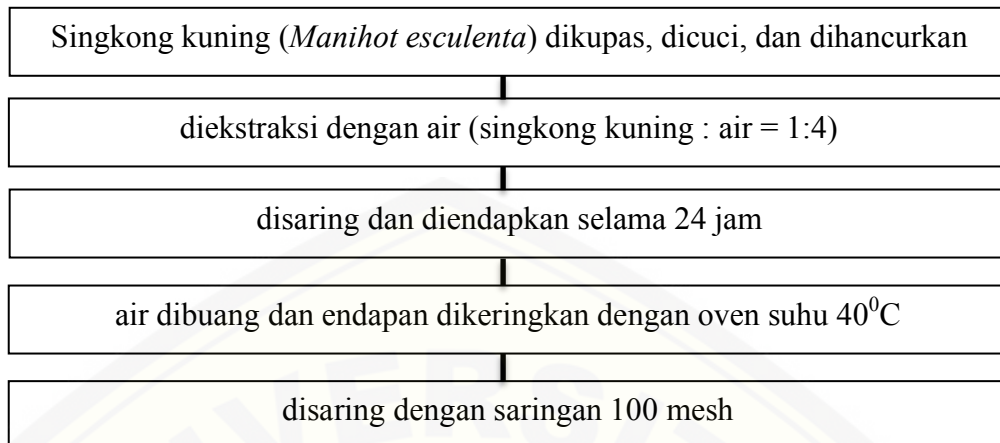
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan efek antarkelompok dengan menggunakan data numerik. Sebelum dilakukan uji komparasi, telah dilakukan uji normalitas dan homogenitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene*. Pada analisis GDP awal didapatkan data yang tidak terdistribusi normal sehingga dilanjutkan menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dengan nilai ($p > 0,05$). Analisis GDP *posttest* didapatkan data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai $p > 0,05$ sehingga dilanjutkan uji statistik *One Way ANOVA* dengan nilai $p > 0,05$. *Software* yang digunakan dalam pengolahan data adalah IBM SPSS *Statistics* versi 23.0.

3.9 Etik Penelitian

Perijinan penelitian *quasy experimental* telah disetujui oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

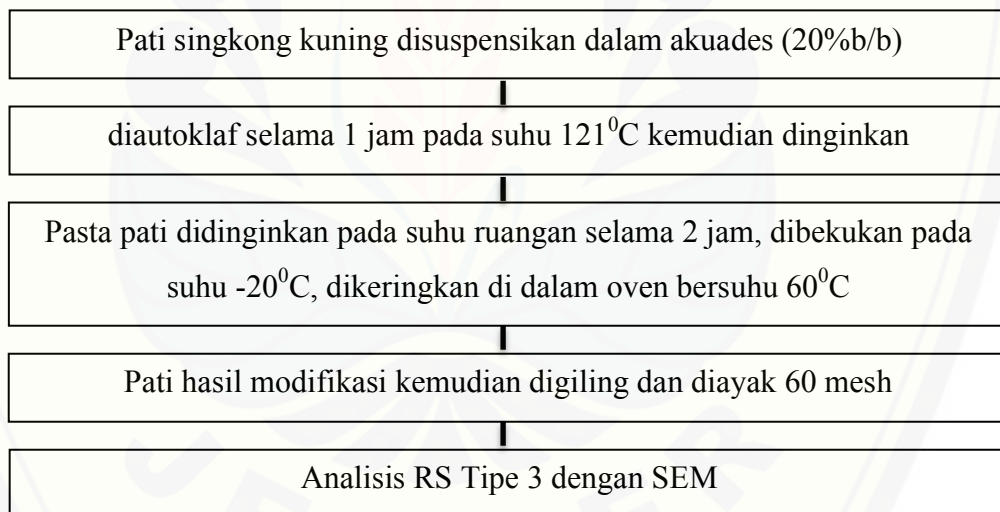
3.10 Alur Penelitian

3.10.1 Alur Ekstraksi Pati Singkong Kuning



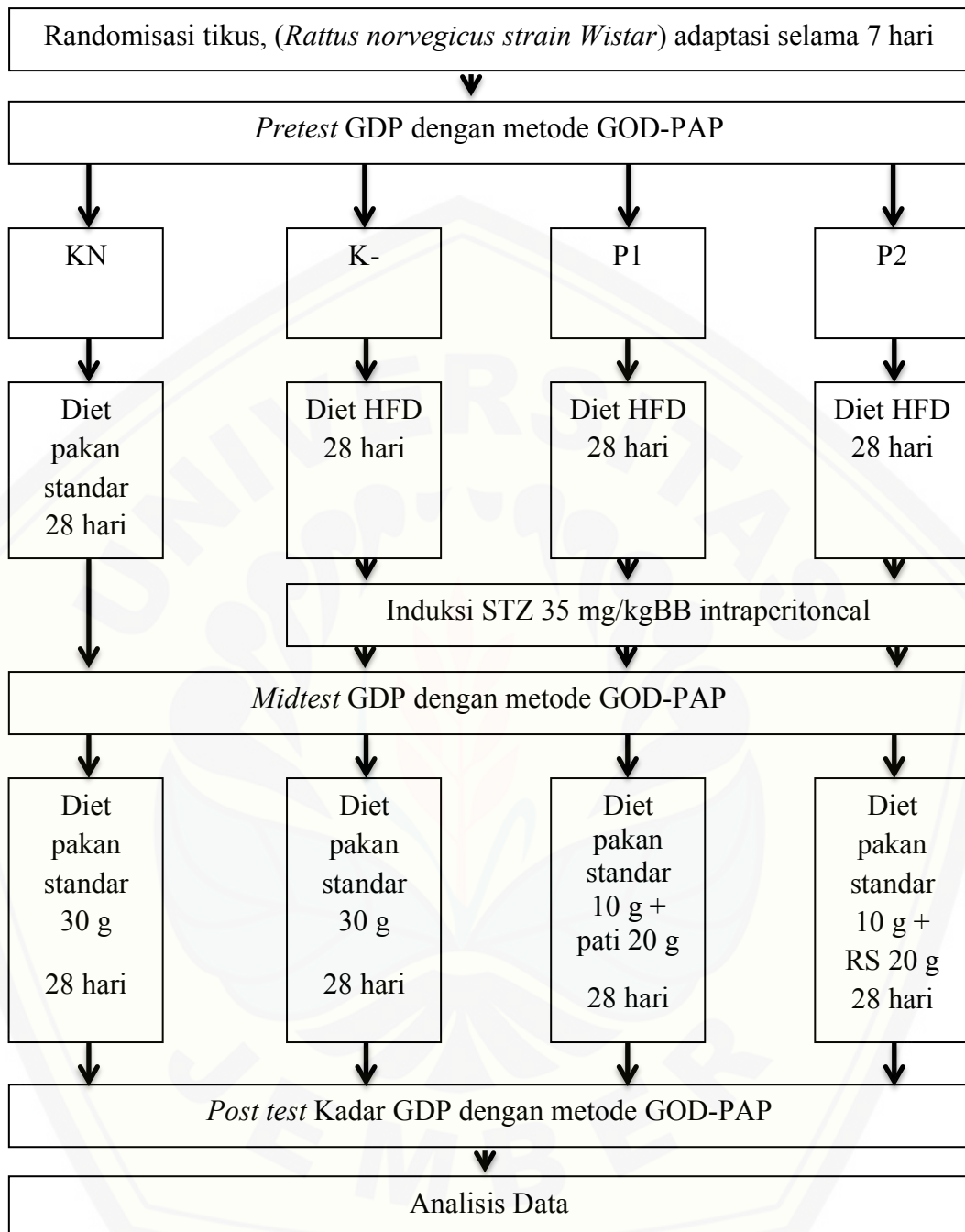
3.2 Alur Ekstraksi Pati Singkong Kuning

3.10.2 Alur Modifikasi Pati Singkong kuning (RS Tipe 3)



3.3 Alur Modifikasi Pati Singkong Kuning (RS Tipe 3)

3.10.3 Alur Perlakuan Hewan Coba



3.4 Alur Perlakuan Hewan Coba

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Tidak terdapat perbedaan efek pemberian pati singkong kuning dan pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning (*Manihot esculentas* Crantz) terhadap kadar Glukosa Darah Puasa tikus model diabetes mellitus.
2. Terdapat pengaruh pemberian pati singkong kuning terhadap penurunan kadar Glukosa Darah Puasa tikus model diabetes mellitus.
3. Terdapat pengaruh pemberian pati tahan cerna tipe 3 singkong kuning terhadap penurunan kadar Glukosa Darah Puasa tikus model diabetes mellitus.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan parameter lainnya untuk menilai homeostasis glukosa seperti TTGO dan insulin untuk memastikan bahwa telah terbentuk kondisi resistensi insulin.
2. Diperlukan tambahan waktu pemberian diet RS Tipe 3 untuk menimbulkan perubahan mikroflora pada sistem pencernaan sehingga pemberian diet RS Tipe 3 dapat benar-benar memberikan efek terhadap homeostasis glukosa.
3. Pada penelitian ini belum didapatkan bukti yang efektif RS Tipe 3 sebagai bahan alternatif hipoglikemik namun konsumsi diet tinggi serat pada penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 tetap disarankan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2003. Screening for Type 2 Diabetes: Report of a World Health Organization and International Diabetes Federation Meeting. http://www.who.int/diabetes/publications/en/screening_mnc03.pdf [Diakses pada 3 Desember 2017].
- Anonim. 2014. Handbook of Analytical Methods for Materials. Materials Evaluation and Engineering, Inc. http://www.mee-inc.com/files/1014/2118/3300/HAMM_2014-ScanningElectronMicroscopy.pdf [Diakses pada 1 Desember 2017].
- Anonim. 2015. IDF Diabetes Atlas, Seventh Edition. <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html> [Diakses pada 8 Juni 2017].
- Akhyar. 2009. Pengaruh proses pratanak terhadap mutu gizi dan indeks glikemik berbagai varietas beras Indonesia. *Tesis*. Bogor: IPB.
- Alpert, C., S. Sczesny, B. Gruhl, dan M. Blaut. 2008. Long-term stability of the human gut microbiota in two different rat strains. *Current Issue Molecular Biology* 10:17-24.
- Ariantari, N.P., S.C. Yowani dan D.A. Swastini. 2010. Uji Aktivitas Penurunan Kolesterol Produk Madu Herbal yang Beredar di Pasaran Pada Tikus Putih Diet Lemak Tinggi. *Jurnal Kimia* 4(1): 15-19.
- Arif A.B., B. Agus dan Hoerudin. 2013. Nilai Indeks Glikemik Produk Pangan dan Faktor-Faktor yang Memengaruhinya. *Jurnal Litbang Pertanian* 32(3): 91-99.
- Asbar, R., S. Sugiyono dan H. Bambang. 2014. Peningkatan Pati Resisten Tipe 3 Pada Tepung Singkong kuning Modifikasi (Mocaf) Dengan Perlakuan Pemanasan-pendinginan Berulang dan Aplikasinya Pada Pembuatan Mi Kering. *Tesis*. Bogor: IPB.
- Asp, N.G. dan I. Bjorck. 1992. Resistant starch. *Trends Food Science Technology* 3(5): 111-114.
- Balcombe, J.P., N.D. Barnard, dan C. Sandusky. 2004. Laboratory Routines Cause Animal Stress. *American Association for Laboratory Animal Science* 43(6): 42-51.
- Bargumono, H. M. dan W. Suyadi. 2013. *9 Umbi Utama Sebagai Pangan Alternatif Nasional*. Yogyakarta: Leutika prio.

- Basu, R., C. Barosa, J. Jones, S. Dube, R. Carter, A. Basu, dan A.A. Rizza. 2013. Pathogenesis of Prediabetes: Role of the Liver in isolated fasting hyperglycemia and combined fasting and postprandial hyperglycemia. *JCEM* 98(3): 409-417.
- Besten, G.D., V.E. Karen, K.G. Albert, V. Koen, J.R. Dirk, dan M.B. Barbara. 2013. The Role of Short-Chain Fatty Acids in The Interplay Between Diet, Gut Microbiota, and Host Energy Metabolism. *Journal of Lipid Research* 54(9): 2325-2340.
- Bodinham, C. L., N.M. Al-Mana, L. Smith, dan M.D. Robertson. 2013. Endogenous plasma glucagon-like peptide-1 following acute dietary fibre consumption. *British Journal Nutrition* 110: 1429–1433.
- Canfora, E.E., J.W. Jocken dan E.E. Blaak. 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology* 11: 577-591.
- Chan, H. T., JR. 1983. *Handbook Of Tropical Foods*. New York: Marcel Dekker Inc.
- DeFronzo R.A. 2004. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *The Medical Clinics of North America* 88: 787-835.
- DeFronzo R.A. 1987. The Triumvirate: beta-cell, muscle, and liver. *Diabetes* 37: 667-687.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan. 2005. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI.
- [EURESTA] *European Flair Concerted Action on Resistant Starch*. 1992. Newsletter III. Department of Human Nutrition Wageningen Agricultural University, Germany.
- Fausto, F.D., A.I. Kaachi, dan D. Mehta. 1997. Starch Product in Confectionery. *Beverage and Food World* 24(4): 4-16.
- Ferrero, M.T. dan L. Villegas. 1992. *Effect of rainfall on HCN content in cassava roots*. 25-28 August 1992. *CBN Columbia*.
- Food and Agricultural Organization. 2008. Food Consumption Nutrient Sheets. http://www.fao.org/fileadmin/templates/ess/documents/food_security_statistics/FoodConsumptionNutrients_en.xls [Diakses pada 15 November 2017]
- Gastadelli, A. 2011. Role of beta-cell dysfunction, ectopic fat accumulation and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 93S: S60-S65.

- Guthrie, R.A. dan D.W. Guthrie. 2004. Pathophysiology of Diabetes Mellitus. *Critical Care Nursing Quarterly* 27(2): 113-125.
- Herawati, H. 2010. Potensi Pengembangan Produk Pati Tahan Cerna Sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Litbang Pertanian* 30(1): 31-39.
- Idril, I.N., D.Aly, dan F.W. Abdullah. 2013. Preliminary study: glycemic index of brown and white rice variant IR64 in healthy adult men. *IJIHS* 1(1): 37-41.
- Institute of Medicine. 2005. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids (Macronutrients)*. Washington DC: National Academies Press.
- Itam, E.H., A.H.Itam, M.O.Odey, R.Ejemot-Nwadiaro, M.E.Asenye, dan N.N. Ezike. 2012. Effect of Processing Method on The Glycemic Index of Some Carbohydrate Staples (*Manihot esculenta*, *Ipomoea batata*, and *Dioscorea rotundata*) in Both Normal and Diabetic Subjects. *Annals of Biological Research* 3(12): 5507-5510.
- Jeon, T.I. dan T.F. Osborne. 2012. SREBPs: Metabolic integrators in physiologi and metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 23(2): 65-72.
- Juliana, R. 2007. Resistant Starch Tipe 3 dan Tipe IV Singkong kuning (*Manihot esculenta* Crantz), Suweg (*Amorphophallus campanulatus*), dan Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) sebagai Prebiotik. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Juliano, B.O. 1971. A Simplified Assay for Milled Rice Amylose Measurement. *Journal of Cereal Science Today* 16:334-336.
- Kustyawati, M.E., M. Sari, dan T. Haryati. 2013. Efek fermentasi dengan *Saccharomyces cereviciae* terhadap karakteristik biokimia tapioca. *Agritech*; 33(1).
- Kwak, J.H., J.K.Paik, H.I.Kim, O.Y.Kim, D.Y.Shin, H.J.Kim, J.H.Lee, dan J.H. Lee. 2012. Dietary treatment with rice containing resistant starch improves markers of endothelial function with reduction of postprandial blood glucose and oxidative stress in patients with prediabetes or newly diagnosed type 2 diabetes. *Atherosclerosis.Epub* 224(2): 457-64.
- Lehmann U., G.Jacobash, dan D.Schmiedl. 2002. Characterization of Resistant Starch Type III from Banana (*Musa acuminata*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 50(18): 5236-5240.

- Lenzen, S. 2008. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia* 51(2): 216-226.
- Lin, H.V., A. Frasseti, E.J. Kowalik, A.R. Nawrocki, M.M. Lu, J.R. Kosinski, J.A. Hubert, D. Szeto, X. Yao, G. Forrest, D.J. Marsh. 2012. Butyrate and Propionate Protect Against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones via Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms. *PloS ONE* 7(4): e35240.
- Lozupone, C.A., J.I. Stombaugh, J.I. Gordon, J.K. Jansson, R. Knight. 2012. Diversity, stability, and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 489(7415): 220-230.
- Maki K.C., C.L. Pelkman, E.T. Finocchiaro, K.M. Kelley, A.L. Lawless, A.L. Schild, dan T.M. Rains. 2012. Resistant Starch from High-Amylose Maize Increases Insulin Sensitivity in Overweight and Obese Man. *The Journal of Nutrition and Disease* 142(4): 717-723.
- Marsono, Y. 2002. Indeks Glikemik Umbi-Umbian. *Agritech* 22: 13-16.
- Marwati, H., R. Ratnawati, dan D. Lyrawati. 2012. *Epigallocatechin Gallate* Menghambat Resistensi Insulin pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 27(1): 43-50.
- Mauer, L.J. dan R.L. Bradley. 2010. Moisture and Total Solids Analysis. Dalam Nielsen Food Analysis Edisi 4. *Springer*: 257-286.
- Merentek, E. 2006. Resistensi Insulin pada Diabetes Mellitus Tipe 2. *Cermin Dunia Kedokteran* 150: 38-41.
- Meutia, Y.R. 2010. Pati Resisten: Struktur, Preparasi, dan Efek Fisiologisnya. *Journal of Agro-Based Industry* 27(1): 72-84.
- Muchtadi, D., N.S. Palupi, dan M. Astawan. 1993. *Metabolisme Zat Gizi : Sumber, Fungsi dan Kebutuhan Bagi Tubuh Manusia*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Mustagfiroh I.T. dan E. Probosari. 2014. Pengaruh Pemberian Tepung Tempe dan Pati Garut (*Marantha arundinacea*) Termodifikasi Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Hiperglikemi. *Journal of Nutrition College* 1(3); 76-82.
- Ndraha, S. 2014. Diabetes Mellitus Tipe 2 dan Tatalaksana Terkini. *Medicinus* (27)2: 9-16

- Nugent, A.P. 2005. Health Properties of Resistant Starch. *British Nutritional Foundation Nutritional Bulletin* 30:27-54.
- Okoniewska, M. and R.S. Witwer. 2007. Natural resistant starch: An overview of health properties a useful replacement for flour, resistant starch may also boost insulin sensitivity and satiety. *Agritech* 34(2): 146-150.
- Otzurk, Z. 2016. High-fat Diet and Low-dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes: A Methodological Critique. *Applied Medical Research* 2(2): 41-42.
- Perkeni. 2015. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia 2015*. Jakarta: PB Perkeni.
- Polakof, S., M. E.Díaz-Rubio, D.Dardevet, dan J.F. Martin. 2013. Resistant starch intake partly restores metabolic and inflammatory alterations in the liver of high-fat-diet-fed rats. *Journal Nutrition Biochemistry* 24: 1920–1930.
- Purnamasari, D. 2014. Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Mellitus. Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi VI. Editor Setiati S., A.Idrus, W.S.Aru, S.K.Marcellus, S. Bambang, dan F.S. Ari. Jakarta: Internal Publishing.
- Reed M.J., K.Meszaros, L.J.Entes, M.D.Claypool, J.G.Pinkett, T.M.Gadbois, dan G.M. Reaven. 2000. A New Rat Model of Type 2 Diabetes: the fat fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* 49: 1390-1394.
- Respati, S.M.B. 2008. Macam-macam mikroskop dan cara penggunaan. *Momentum*; 4(2): 42-44.
- Rhama, D., D. Astuti, dan S. Lusiawati. 2014. Daya Cerna Pati. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- [RISKESDAS] Riset Kesehatan Dasar. 2007. *Prevalensi dan Faktor Risiko Kejadian Diabetes Mellitus*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia.
- Robertson, M.D. 2012. Dietary-resistant starch and glucose metabolism. *Clinical Nutrition* 15(4): 362-367
- Robertson MD, J.W. Wright, dan E. Loizon. 2012. Insulin-sensitizing effects on muscle and adipose tissue after dietary fiber intake in men and women with metabolic syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 97: 3326-3332.
- Roden, M. 2004. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal tissue. *News physiological science*; 19: 92-96.


- Rohmah, M. 2013. Kajian Kandungan Pati, Amilosa, dan Amilopektin Tepung dan Pati pada beberapa Kultivar Pisang (*Musa pp*). Seminar Nasional Kimia. Samarinda: Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman.
- Rubatzky, V. E. dan M. Yamaguchi. 1995. *World Vegetables*. USA: AVI Publishing Company. Terjemahan Catur Herison. 1998. *Sayur Dunia I*. Bandung: ITB.
- Sajilata M.G., Rekha S.S., dan Puspha R.K. 2006. Resistant Starch a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5(1): 1-17.
- Sakakibara, S., T.Yamauchi, Y.Oshima, Y.Tsukamoto, dan T.Kadowaki. 2006. Acetic acid activates hepatic AMPK and reduces hyperglycemia in diabetic KK-A(y) mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 344: 597–604.
- Sari, D.K. 2013. Pati Tahan Cerna Untuk Pencegahan Diabetes Tipe 2. http://pustaka.unpad.ac.id/wpcontent/uploads/2013/11/pustaka_unpad_Pati_-_Tahan_-_Cerna.pdf. [Diakses pada 20 September 2017].
- Sa'adah, N.N. dan R.Pratiwi. 2016. Profil Lipid dan Indeks Aterogenik Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Hiperlipidemia. <https://www.researchgate.net/publication/314434474> [Diakses pada 3 Desember 2017].
- Setiarto, R.H.B. 2015. Peningkatan Pati Resisten Tepung Talas Melalui Fermentasi dan Pemanasan Bertekanan-Pendinginan Serta Evaluasi Sifat Prebiotiknya. *Tesis*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian.
- Sherwood, L. 2009. *Human Physiology: From Cells to Systems*. 6th Edition. Singapore: Cengage. Tejemahan B.U. Pendit. 2011. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC.
- Silva, C. S., D.Haenen, S. J.Koopmans, dan G. Hooiveld. 2014. Effects of resistant starch on behaviour, satiety-related hormones and metabolites in growing pigs. *Animal* 8: 1402–1411.
- Sivitz, W.I. 2015. Lipotoxicity and Glucotoxicity in type 2 Diabetes. *Postgraduate Medicine Journal* 109(4): 55-64
- Skovsko, S. 2014. Modelling Type 2 Diabetes in Rats Using High Fat Diet and Streptozotocin. *Journal of Diabetes Investigation* 5(4): 348-358.
- Srinivasan K., B.Viswanad, A.Lydia, C.L.Kaul, dan P. Ramarao. 2005. Combination of high-fat diet-fed and low dose streptozotocin-induced ype 2 diabetes rat model and pharmacological screening. *Pharmacological Research* 52: 313-320.

- Sudarmadji, I. B. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi ke 2, Vol. III). Yogyakarta, DIY, Indonesia: Liberty.
- Suyanto dan J. Wargiono. 2006. *Prospek, Strategi, dan Teknologi Pengembangan Ubi Kayu untuk Agroindustri dan Ketahanan Pangan*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Suyono, S. 2014. *Diabetes Mellitus Di Indonesia*. Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi VI. Editor Setiati S., A.Idrus, W.S.Aru, S.K.Marcellus, S. Bambang, dan F.S. Ari. Jakarta: Internal Publishing.
- Soegondo S. 2014. *Farmakoterapi Pada Pengendalian Glikemia Diabetes Mellitus Tipe 2*. Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi VI. Editor Setiati S., A.Idrus, W.S.Aru, S.K.Marcellus, S. Bambang, dan F.S. Ari. Jakarta: Internal Publishing.
- Stumvol M., B.J Goldstein., dan T.W. vanHaeften. 2005. *Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. The Lancet* 365: 1333-1346.
- Ting Wong, T.H. dan J.C. Yu Louie. 2016. *The relationship between resistant starch and glycemic control: A review on current evidence and possible mechanisms. Starch Journal* 68: 1-9.
- Tjandrawinata, R.R. 2016a. *Mekanisme molekuler dan seluler pada keadaan resistensi insulin*. <https://www.researchgate.net/publication/292971125> [Diakses pada 28 Oktober 2017].
- Tjandrawinata, R.R. 2016b. *Patogenesis Diabetes Tipe 2: resistensi Insulin dan Defisiensi Insulin*. <https://www.researchgate.net/publication/292615802> [Diakses pada 11 Desember 2017].
- Tjokroprawiro A. dan S.Murtiwi 2014. *Terapi Nonfarmakologi Pada Diabetes Mellitus*. Dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II Edisi VI. Editor Setiati S., A.Idrus, W.S.Aru, S.K.Marcellus, S. Bambang, dan F.S. Ari. Jakarta: Internal Publishing.
- Unger, R.H. dan L.Orsi. 2001. *Diseases of Liporegulation: New Perspective on Obesity and Related Disorders. FEBS Journal*; 15(2): 312-321.
- United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service*. 2003. *Cassava (Manihot esculenta Crantz)*. https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/cs_maes.pdf [Diakses pada 20 September 2017].
- Yuliasih, W. 2009. *Obesitas abdominal sebagai faktor risiko peningkatan kadar glukosa darah. Skripsi*. Semarang: Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

- Zabar S., E.Shimoni, dan P.H. Blanco. 2008. Development of nanostructure in Resistant Starch Type III during thermal treatments and cycling. *Journal of Macromolecule Bioscience* 8(2): 163-170.
- Zaragoza E.F., M.J. Riquelme-Navarrete, Z.E.Sanchez, and J.A. Perez-Alvarez. 2010. Resistant Starch As Functional Ingredient: A review. *Food Research International* 43(4): 931-942.
- Zhang M., Y.L.Xiao, L.Jing, G.X.Zhi, dan C.Li. 2008. The Characterization of high-fat diet and multiple low dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes*: 704045.
- Zhang, P. 2011. Glucose Tolerance Test in Mice. *Bio-protocol*: e159.
- Zhou, J., R. J.Martin, , R. T.Tulley, dan A.M. Raggio. 2008. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 295: E1160–E1166.
- Zhu, L., M.Gu, dan X.Meng. 2011. High-amylose rice improves indices of animal health in normal and diabetic rats. *Plant Biotechnol Journal*: 353-362.
- Zulkarnain, Z. 2013. Perubahan kadar glukosa darah puasa pada tikus *Spraguedawley* yang diinduksi streptozotocin dosis rendah. *JKS 2013* 2:71-76.

LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Keterangan Persetujuan Etik Penelitian

 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 : 1.135 /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 :

EFEK MODIFIKASI PATI SINGKONG (*MANIHOT ESCULANTA CRANTZ*) DENGAN *Autoclaving – Cooling* TERHADAP SENSITIVITAS INSULIN

Nama Peneliti Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si (NIDN. 0016098401)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 12 Juni 2017
Ketua Komisi Etik

Riya Riyanti, Sp.PK


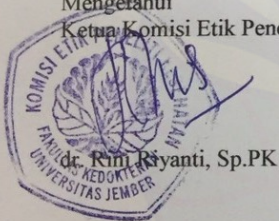
Tanggapan Anggota Komisi Etik

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

Peneliti ini menggunakan hewan coba tikus yg perlu diperhatikan jumlahnya seminimal mungkin

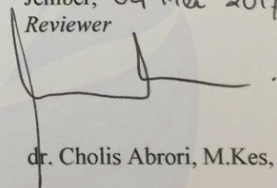
Kesimpulan penelitian dapat disimpulkan

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Ryanti, Sp.PK

Jember, 04 Mei 2017
Reviewer



dr. Cholis Abrori, M.Kes, M.Pd.Ked



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 : 1.203 /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 :

**EFEK RESISTANT STARCH TIPE 3 SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH PUASA TIKUS MODEL DIABETES**

Nama Peneliti Utama : T. Ariani Widiastini.
Name of the principal investigator

NIM : 142010101108

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

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

Jember, 10 November 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian



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)

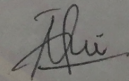
Review Proposal :

- 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 Resistant Starch Tipe 3 Singkong agar didapatkan kontrol yang diinginkan.
- Perlakuan dengan injeksi intraperitoneal dan pengambilan darah dari sinus orbitalis dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan dengan cepat dan tepat agar tidak melukai hewan coba).
- Mohon diperhatikan luka akibat pengambilan darah dari sinus orbitalis hewan coba (hewan coba harus bebas dari nyeri dan infeksi pasca pengambilan darah).
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas reagen pada pemeriksaan gula darah puasa (GDP).
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK


Jember, 06 November 2017
Reviewer


dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.2 Lembar Determinasi Tanaman Singkong Kuning



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 Jln. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Kotak Pos 159 Jember 68121
 Telp. (0331) 334293 Fax (0331) 330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 15 /2017

Ketua Laboratorium Botani Jurusan Biologi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh:

Nama : T. Ariani Widiastuti
 NIP/NIM/NIK : 142010101108
 Institusiasal : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Pada tanggal 10 Oktober 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan Bakhuizen van den Brink Jr. adalah :

No.	Genus	Species	Family
1.	Manihot	<i>Manihot esculenta</i> Crantz.	Euphorbiaceae

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Jember, 10 Oktober 2017

Ketua Laboratorium Botani

Dra. Dwi Setyati, M.Si.

NIP. 196404171991032001

Determined by Dra. Dwi Setyati, M.Si

Lampiran 3.3 Perhitungan Dosis

3.3.1 Dosis Induksi Streptozotocin

Induksi STZ dosis rendah adalah 35 mg/kgBB

Rata-rata berat badan tikus post HFD adalah 175gr

Dosis yang dibutuhkan adalah $\frac{175}{1000} \times 35 = 6,125$ mg/ekor

Kebutuhan untuk 18 ekor tikus adalah $6,125 \times 18 = 110,25$ mg

STZ dilarutkan dalam sodium buffer sitrat dengan konsentrasi 22,5 mg/ml

Volume STZ yang diinjeksi $\frac{6,125}{22,5} \times 35 = 0,272$ ml

Volume larutan yang dibuat adalah $0,272 \times 18 = 4,9$ ml

3.3.2 Dosis Pemberian Diet Pati Singkong kuning dan RS Tipe 3

a. Tikus (200 g)

Kebutuhan energi harian 68,6 kkal

Setara dengan diet standar 30 g

Penggantian 2/3 isokalori 20 g

Kebutuhan untuk empat ekor tikus adalah $20 \times 4 = 80$ g/hari

Kebutuhan selama 28 hari penelitian adalah $80 \times 28 = 2240$ g

b. Manusia (70 kg)

Kebutuhan energi harian orang Indonesia adalah 2550 kkal (FAO, 2008)

Kebutuhan karbohidrat harian adalah

$$\frac{(45-65\% \times \text{total energi})}{4} = 286,875-414,375 \text{ g (Institute of Medicine)}$$

Penggantian 2/3 asupan karbohidrat 191,25-276,25 g

Kebutuhan untuk satu kali makan adalah 63,75-92,08 g

Catatan: Kebutuhan energi harian setiap orang berbeda tergantung jenis kelamin, usia (U), berat badan (BB dalam kg), dan tinggi badan (TB dalam cm). Untuk mengetahui *basal metabolic rate* (BMR) atau kebutuhan kalori minimal tubuh untuk beraktivitas bisa menggunakan rumus Harris-Benedict:

$$\begin{aligned} \text{BMR pria} &= 66 + (13,7 \times \text{BB}) + (5 \times \text{TB}) - (6,8 \times \text{U}) \\ \text{BMR wanita} &= 655 + (9,6 \times \text{BB}) + (1,8 \times \text{TB}) - (4,7 \times \text{U}) \end{aligned}$$

Lampiran 3.4 Perhitungan Besar Sampel

F tests - ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way

Analysis Input:

A priori: Compute required sample size
 Effect size f = 1
 α err prob = 0,05
 Power (1- β err prob) = 0,8
 Number of groups = 4

Output parameters:

Noncentrality parameter λ = 16,0000000
 Critical F = 3,4902948
 Numerator df = 3
 Denominator df = 12
 Total sample size = 16
 Actual power = 0,8224325

The screenshot shows the G*Power 3.1 software interface. The main window displays the following information:

- Central and noncentral distributions** | **Protocol of power analyses**
- [32] -- Wednesday, December 27, 2017 -- 08:26:18
- F tests - ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way**
- Analysis:** A priori: Compute required sample size
- Input:**
 - Effect size f = 1
 - α err prob = 0,05
 - Power (1- β err prob) = 0,8
 - Number of groups = 4
- Output:**
 - Noncentrality parameter λ = 16,0000000
 - Critical F = 3,4902948
 - Numerator df = 3
 - Denominator df = 12
 - Total sample size = 16
 - Actual power = 0,8224325

Below the main window, the following settings are visible:

- Test family:** F tests
- Statistical test:** ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way
- Type of power analysis:** A priori: Compute required sample size - given α , power, and effect size
- Input parameters:**
 - Determine
 - Effect size f: 1
 - α err prob: 0,05
 - Power (1- β err prob): 0,8
 - Number of groups: 4
- Output parameters:**
 - Noncentrality parameter λ : 16,0000000
 - Critical F: 3,4902948
 - Numerator df: 3
 - Denominator df: 12
 - Total sample size: 16
 - Actual power: 0,8224325

Lampiran 4.1 Data Pengukuran BB Tikus

No.	Sampel Penelitian	BB Awal	BB <i>post</i> HFD dan STZ	BB <i>post</i> Diet
1.	K11	179	248	197
2.	K12	185	193	234
3.	K13	147	150	322
4.	K14	170	209	252
5.	K21	187	309	336
6.	K22	157	224	200
7.	K23	149	245	294
8.	K24	152	254	296
9.	P11	174	221	208
10.	P12	172	240	224
11.	P13	149	182	158
12.	P14	153	202	146
13.	P21	158	248	190
14.	P22	148	226	207
15.	P23	153	208	143
16.	P24	148	222	174

Lampiran 4.2 Data Pengukuran Kadar GDP

No.	Sampel Penelitian	GDP Awal	GDP <i>post</i> HFD dan STZ	GDP <i>post</i> Diet
1.	K11	98.79	86.8	108.05
2.	K12	117.96	106.11	92.18
3.	K13	108.50	98.47	114.48
4.	K14	99.03	99.24	99.24
5.	K21	116.02	118.85	93.79
6.	K22	101.94	109.37	150.11
7.	K23	96.84	101.53	122.76
8.	K24	154.37	100	106.90
9.	P11	88.83	105.16	146.90
10.	P12	88.59	96.29	70.34
11.	P13	88.35	177.44	136.09
12.	P14	98.30	162.14	126.44
13.	P21	110.19	157.93	77.47
14.	P22	97.57	105.35	118.62
15.	P23	84.22	144.74	155.63
16.	P24	93.93	80.5	98.39

Lampiran 4.3 Uji Normalitas Rata-Rata Intake Makanan

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
makanan	KN	.307	4	.	.729	4	.024
	K(-)	.271	4	.	.848	4	.220
	P1	.251	4	.	.927	4	.574
	P2	.292	3	.	.923	3	.463

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4.4 Uji Normalitas *Pre Test*

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDPPre	Kelompok Normal	.280	4	.	.871	4	.301
	Kontrol Negatif	.270	4	.	.864	4	.274
	Diet Pati	.424	4	.	.668	4	.005
	Diet RS tipe 3	.209	4	.	.984	4	.927

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4.5 Uji Normalitas dan Homogenitas *Post Test*

Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDP Post	kontrol normal	.179	4	.	.981	4	.905
	kontrol negatif	.181	4	.	.979	4	.894
	diet pati						
	singkong kuning	.326	4	.	.842	4	.203
	diet RS tipe III	.182	4	.	.970	4	.841

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

GDP

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.258	3	12	.333

Lampiran 4.6 Uji *Kruskal-Wallis Rata-Rata Intake Makanan*Test Statistics^{a,b}

	makanan
Chi-Square	6.852
df	3
Asymp. Sig.	.077

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompokLampiran 4.7 Uji *Kruskal-Wallis GDP Pre Test*Test Statistics^{a,b}

	GDPawal
Chi-Square	7.346
df	3
Asymp. Sig.	.062

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
KelompokLampiran 4.8 Uji *One-Way ANOVA Post Test*

ANOVA

GDP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	664.514	3	221.505	.297	.827
Within Groups	8943.413	12	745.284		
Total	9607.928	15			

Lampiran 4.9 Dokumentasi Penelitian



Pembuatan RS Tipe 3 Singkong Kuning



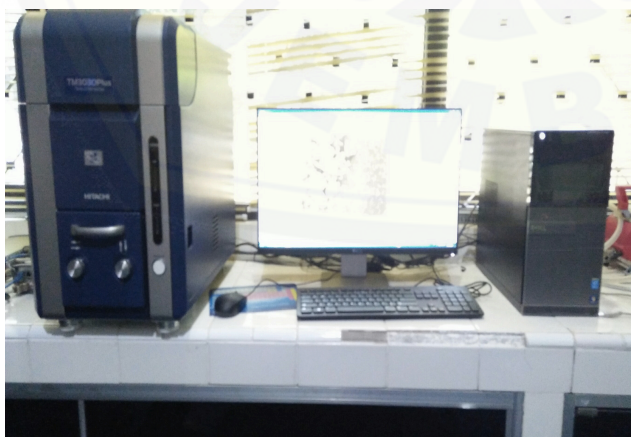
Aklimatisasi Tikus



Terminasi dan Pengambilan Darah Intrakardiak



Pengukuran kadar GDP



Analisis RS Tipe 3 dengan SEM



Pembacaan dengan spektrofotometer