



**PENGARUH PEMBERIAN DIET BERAS ANALOG  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
ARTERI KORONER JANTUNG  
TIKUS DM TIPE 2**

**SKRIPSI**

Oleh

**Monika Roosyidah  
NIM 142010101106**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**PENGARUH PEMBERIAN DIET BERAS ANALOG  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
ARTERI KORONER JANTUNG  
TIKUS DM TIPE 2**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Monika Roosyidah  
NIM 142010101106**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas segala rahmat dan anugerah yang diberikan kepada saya;
2. Nabi Muhammad SAW sebagai suri tauladan;
3. Bapak Mulyono dan Ibu Khusnul Khotimah yang senantiasa memberikan motivasi dan doanya kepada saya serta kasih sayang yang tidak akan pernah terbalas sepanjang masa;
4. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik dengan penuh kesabaran;
5. Keluarga besar angkatan 2014 Elixir Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

### MOTO

Dan janganlah kamu berputus asa dari rahmat Allah. Sesungguhnya tiada berputus asa dari rahmat Allah melainkan orang-orang yang kufur (terhadap karunia Allah).

(terjemahan Surat *Yusuf* ayat 87)<sup>\*)</sup>



---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemahan Makna ke Dalam Bahasa Indonesia*. Bogor: Sygma.

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Monika Roosyidah

NIM : 142010101106

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah saya yang berjudul “Pengaruh Pemberian Diet Beras Analog terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koroner Jantung Tikus DM Tipe 2” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 12 Desember 2017

Yang menyatakan,

Monika Roosyidah  
NIM 142010101106

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN DIET BERAS ANALOG  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
ARTERI KORONER JANTUNG  
TIKUS DM TIPE 2**

Oleh  
Monika Roosyidah  
NIM 142010101106

Pembimbing:

Dosen Pembimbing I : dr. Erfan Efendi, Sp.An  
Dosen Pembimbing II : dr. Hairrudin, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Diet Beras Analog terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koroner Jantung Tikus DM Tipe 2” ini telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada:

Hari , Tanggal : Selasa, 12 Desember 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji :

Penguji I,

Penguji II,

dr. Rena Normasari, M.Biomed  
NIP 198305122008122002

dr. Suryono, Sp.JP.FIHA  
NIP 196910112000031001

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Erfan Efendi, Sp.An  
NIP 196803281999031001

dr. Hairrudin, M.Kes  
NIP 197510112003121008

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 197002141999032001

## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Diet Beras Analog terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koroner Jantung Tikus DM Tipe 2;** Monika Roosyidah, 142010101106; 72 halaman; 2017; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

*Diabetes Mellitus* (DM) merupakan salah satu penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia karena gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Kasus terbanyak populasi DM di Indonesia adalah DM tipe 2 yang mencapai 90% (Kemenkes, 2013). Kadar glukosa yang tinggi dan tidak terkontrol pada penderita DM menyebabkan komplikasi misalnya penyakit jantung koroner. Penyakit jantung koroner adalah penyakit jantung yang disebabkan karena penyempitan arteri koroner akibat proses aterosklerosis atau spasme atau keduanya. Hiperglikemia pada penderita DM mencetuskan pembentukan lesi aterosklerosis. Tanda adanya proses aterosklerosis pada arteri koroner dapat diamati melalui gambaran histopatologi arteri koroner jantung hewan coba. Pada gambaran histopatologi arteri koroner yang mengalami aterosklerosis dapat ditemukan disfungsi endotel, proliferasi sel otot polos, infiltrasi sel busa, aktivasi platelet dan peningkatan sel inflamasi (Siracuse dan Chaikof, 2012).

Beras analog kaya serat merupakan salah satu terobosan untuk diet penderita DM. Beras analog umumnya memiliki kandungan serat yang lebih tinggi dari beras biasa. Diet tinggi serat terbukti dapat mengendalikan kadar glukosa pada penderita DM tipe 2 (Chandalia dkk., 2000; Subagio dkk., 2012).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian diet beras analog terhadap gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2. Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni secara *in vivo* dengan rancangan *post test only control group design*. Sampel penelitian sebanyak 24 ekor terdiri dari satu kelompok kontrol (K) dan tiga kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok PBA1, PBA2, dan PBB. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah beras analog dengan 2 formula yang berbeda

dan beras biasa. Variabel terikat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2.

Tikus DM tipe 2 didapatkan dengan cara induksi *streptozotosin* (STZ) secara intraperitoneal dan dikombinasikan dengan diet tinggi lemak. Tikus diberikan diet tinggi lemak selama 40 hari. Pada hari ke-33 diinjeksi STZ intraperitoneal. Satu minggu pasca induksi dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa. Tikus yang memiliki kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dl dijadikan model tikus DM tipe 2 (Srinivasan dkk., 2005; Jung dkk., 2011). Lalu tikus diberikan diet beras analog dan beras biasa selama 21 hari. Tikus dikorbankan pada akhir minggu ketiga pasca diberikan diet beras analog. Tikus dibedah dan diambil jantungnya lalu disimpan dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* 10% pada pot organ. Arteri koroner jantung diproses menjadi preparat histopatologi menggunakan pengecatan *Hematoxilin Eosin*.

Data yang didapatkan dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2 berupa jumlah sel busa yang terbentuk pada setiap kelompok perlakuan dan tanda-tanda disfungsi endotel. Hasil rata-rata sel busa adalah kelompok K  $1,67 \pm 0,803$ ; PBA1  $1,83 \pm 0,401$ ; PBA2  $2,67 \pm 0,760$ ; PBB  $9 \pm 2,108$ . Jumlah sel busa tidak dapat diuji secara parametrik sehingga dilakukan uji nonparametrik dengan *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* adalah terdapat perbedaan signifikan jumlah sel busa antara kelompok perlakuan dengan  $p < 0,05$ . Uji dilanjutkan dengan *Mann-Whitney U* untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing kelompok. Hasil uji tersebut adalah terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K dengan PBB dan kelompok PBA1 dengan PBB. Kesimpulan yang didapatkan adalah pemberian diet beras analog dengan formula yang berbeda terbukti mampu memberikan pengaruh perbaikan gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2 berdasarkan jumlah sel busa yang terbentuk.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Diet Beras Analog terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koroner Jantung Tikus DM Tipe 2”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. 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;
3. dr. Ulfa Elfiah Sp.B.RE selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
4. dr. Erfan Efendi, Sp.An selaku Dosen Pembimbing Utama, dan dr. Hairrudin, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran serta perhatiannya untuk penulisan skripsi dan pelaksanaan penelitian ini;
5. dr. Rena Normasari, M.Biomed selaku Dosen Penguji Utama dan dr. Suryono, Sp.JP.FIHA selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran untuk penulisan skripsi ini;
6. Bapak Mulyono dan Ibu Khusnul Khotimah, kedua orang tua tercinta yang telah memberikan dukungan baik materi maupun moril, serta doa dan kasih sayang yang tidak terbatas kepada penulis;
7. Sahabat-sahabatku Fadiah Ulfa Khairina, Annisa Sarfina, Nastiti Widoretno, Nastiti Bakti, Fairuza Nafilah, Khanif Muflikhatun, Prajesi Aji P., Azka Darajat, Rudy Gunawan, M. Zulkarnain, Desy Dwikawati,

Wahyu Dian Puspita, Mandalina Jayanti yang telah membantu serta memotivasi penulis selama pengerjaan penelitian dan penulisan skripsi;

8. Teman-teman angkatan 2014 tercinta yang telah bersama-sama berjuang untuk meraih gelar sarjana kedokteran;
9. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat.

Jember, 12 Desember 2017

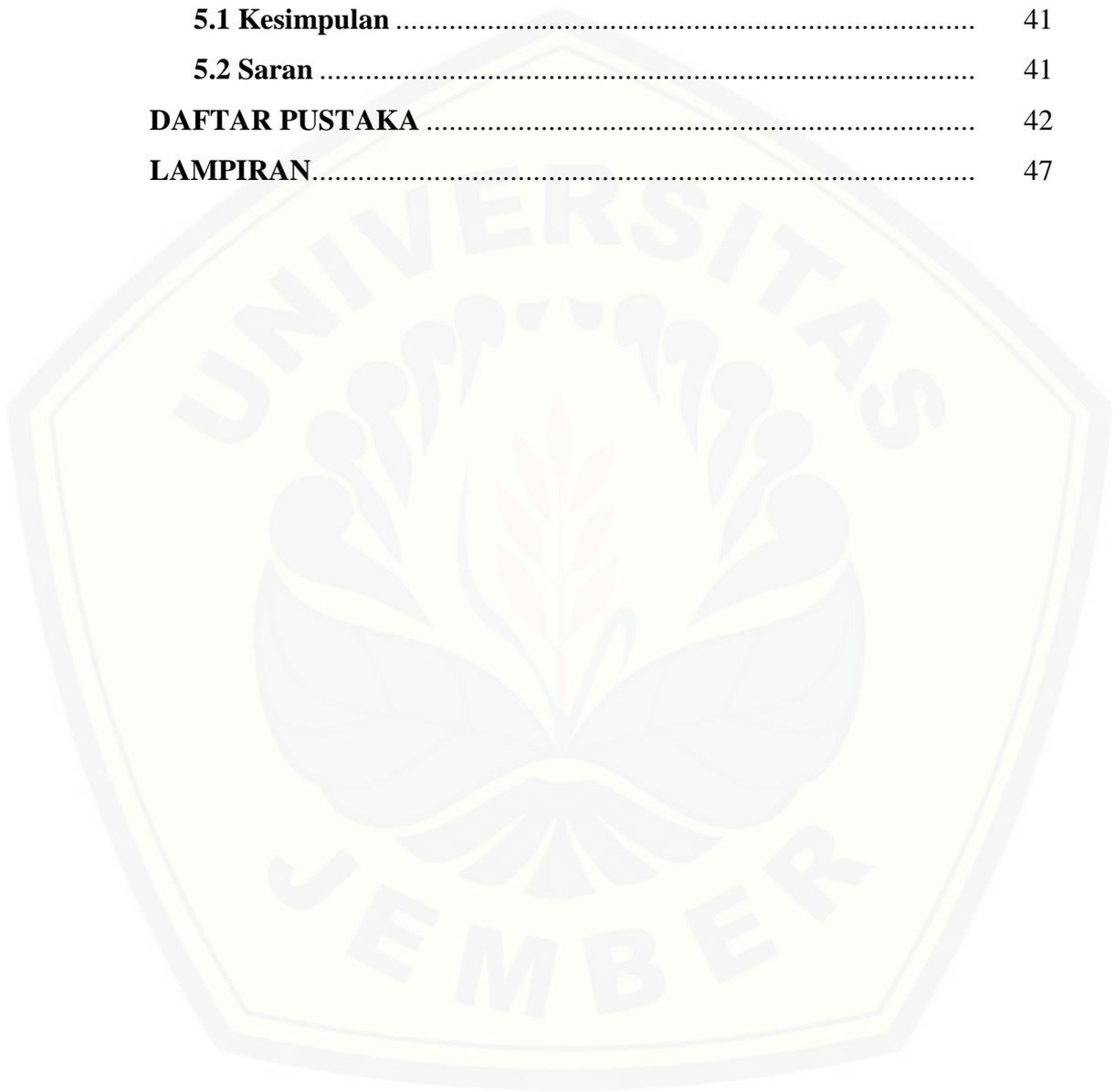
Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINAJUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Diabetes Mellitus</b> .....	5
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi DM.....	5
2.1.2 Faktor Risiko <i>Diabetes Mellitus</i> (DM).....	5
2.1.3 Patofisiologi <i>Diabetes Mellitus</i> Tipe 2 (DM Tipe 2).....	7
2.1.4 Diagnosis <i>Diabetes Mellitus</i> (DM) .....	8
2.1.5 Komplikasi <i>Diabetes Mellitus</i> (DM).....	9
2.1.6 Komplikasi DM : Penyakit Jantung Koroner ....	10
<b>2.2 Streptozotocin</b> .....	12

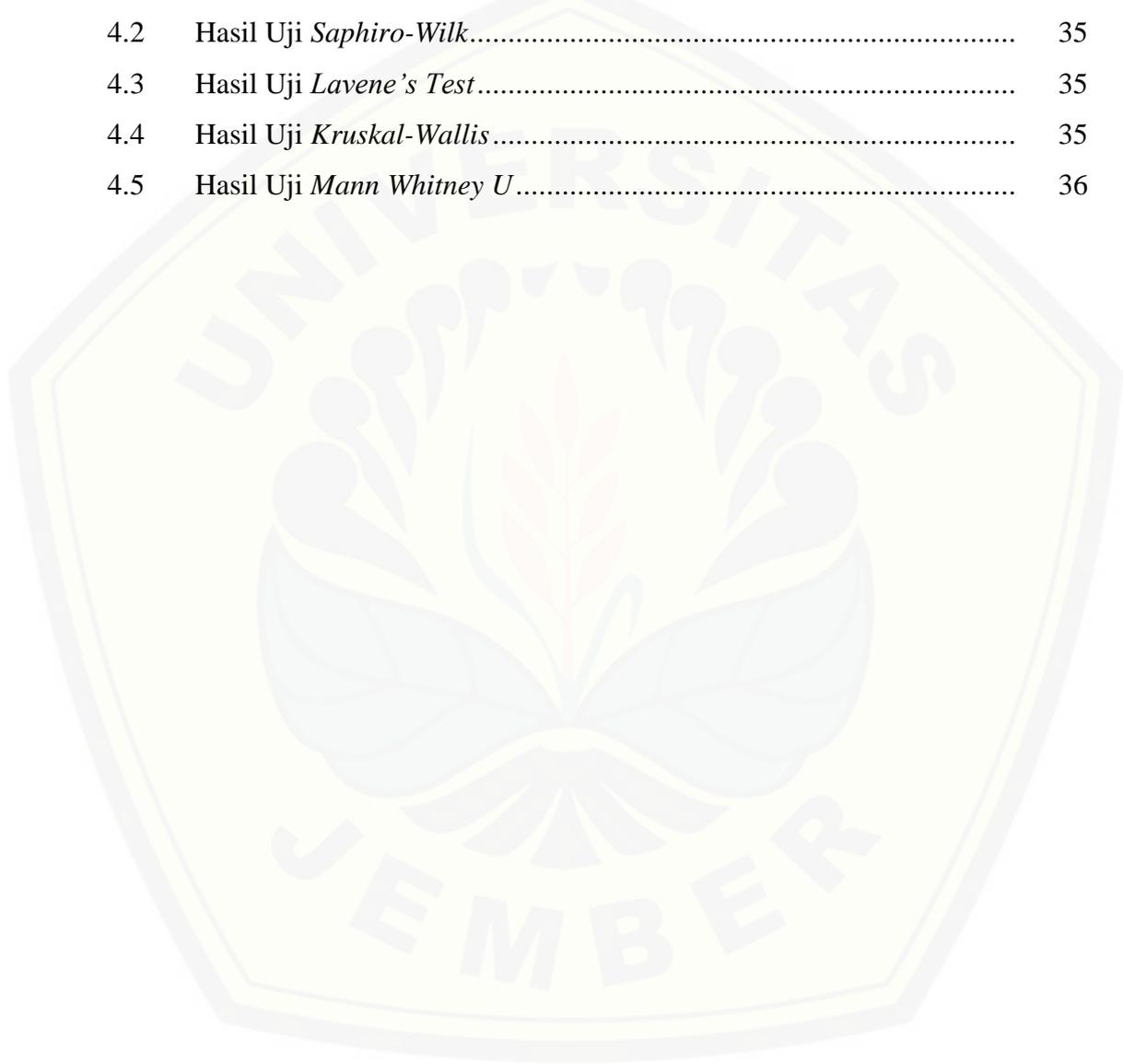
<b>2.3</b>	<b>Serat Pangan dan GLP-1.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4</b>	<b>Beras Analog.....</b>	<b>14</b>
<b>2.5</b>	<b>Arteri.....</b>	<b>16</b>
	2.5.1 Definisi dan Histologi Arteri .....	16
	2.5.2 Arteri Koroner.....	18
<b>2.6</b>	<b>Kerangka Konsep .....</b>	<b>19</b>
<b>2.7</b>	<b>Hipotesis.....</b>	<b>20</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>21</b>
<b>3.2</b>	<b>Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik</b>	
	<b>Pengambilan Sampel .....</b>	<b>22</b>
	3.2.1 Populasi .....	22
	3.2.2 Sampel .....	22
	3.2.3 Teknik Pengambilan Sampel .....	23
<b>3.3</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>24</b>
	3.3.1 Klasifikasi Variabel.....	24
	3.3.2 Definisi Operasional.....	24
<b>3.4</b>	<b>Bahan Penelitian.....</b>	<b>25</b>
<b>3.5</b>	<b>Instrumen Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.6</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.7</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>26</b>
	3.7.1 Pemilihan Hewan Coba .....	26
	3.7.2 Adaptasi dan Perawatan Hewan Coba .....	27
	3.7.3 Induksi Tikus DM dan Diet Tinggi Lemak .....	27
	3.7.4 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	27
	3.7.5 Pengukuran Gula Darah Puasa .....	28
	3.7.6 Terminasi dan Penyimpanan Organ .....	28
	3.7.7 Pembuatan Preparat Histopatologi.....	29
	3.7.8 Penghitungan Sel Busa.....	31
<b>3.8</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>31</b>
<b>3.9</b>	<b>Alur Penelitian.....</b>	<b>32</b>

<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 Hasil.....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>36</b>
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>41</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>41</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>41</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>47</b>



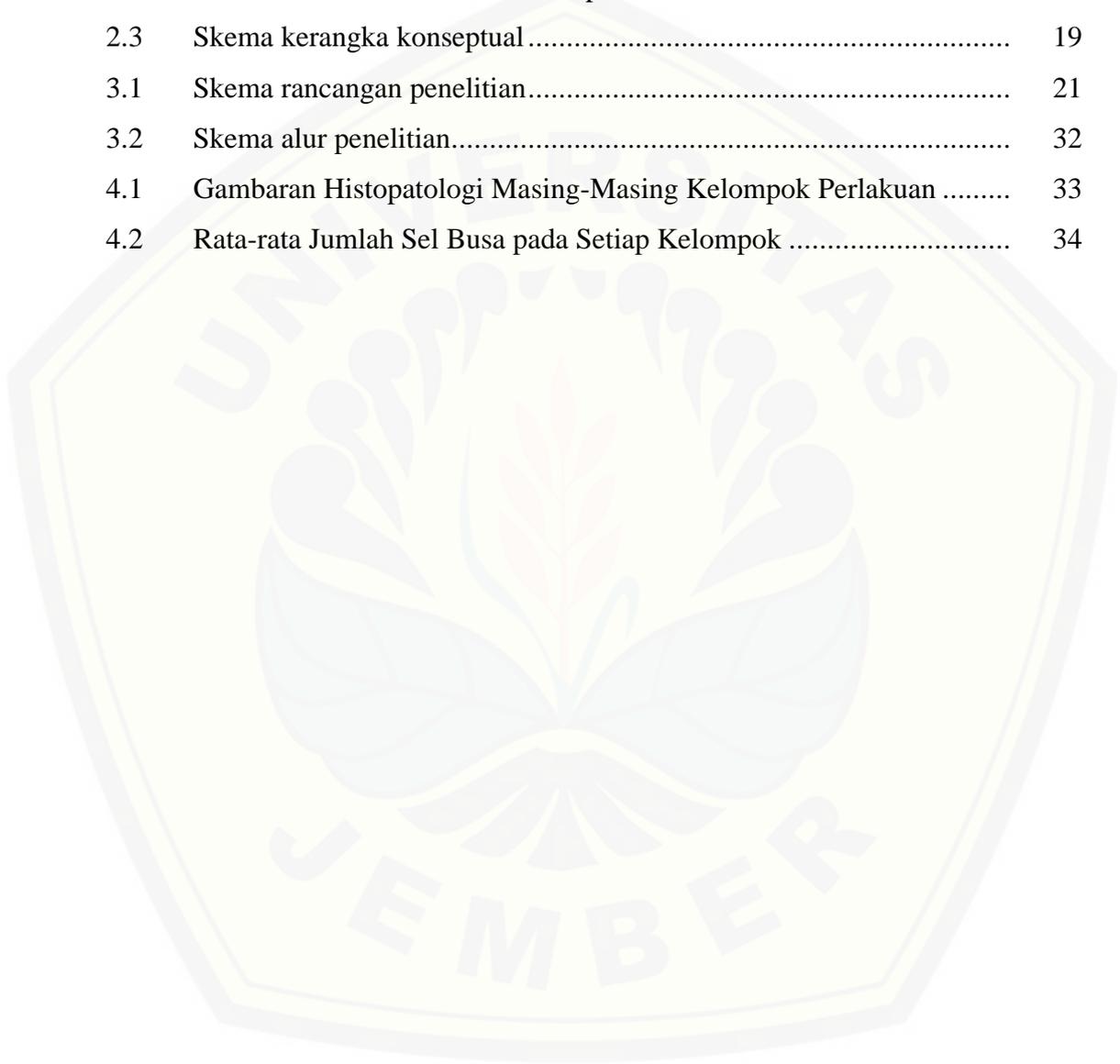
**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kriteria Diagnosis DM.....	8
4.1 Rata-rata dan Standar Error Jumlah Sel Busa pada Setiap Kelompok .	34
4.2 Hasil Uji <i>Saphiro-Wilk</i> .....	35
4.3 Hasil Uji <i>Lavene's Test</i> .....	35
4.4 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> .....	35
4.5 Hasil Uji <i>Mann Whitney U</i> .....	36



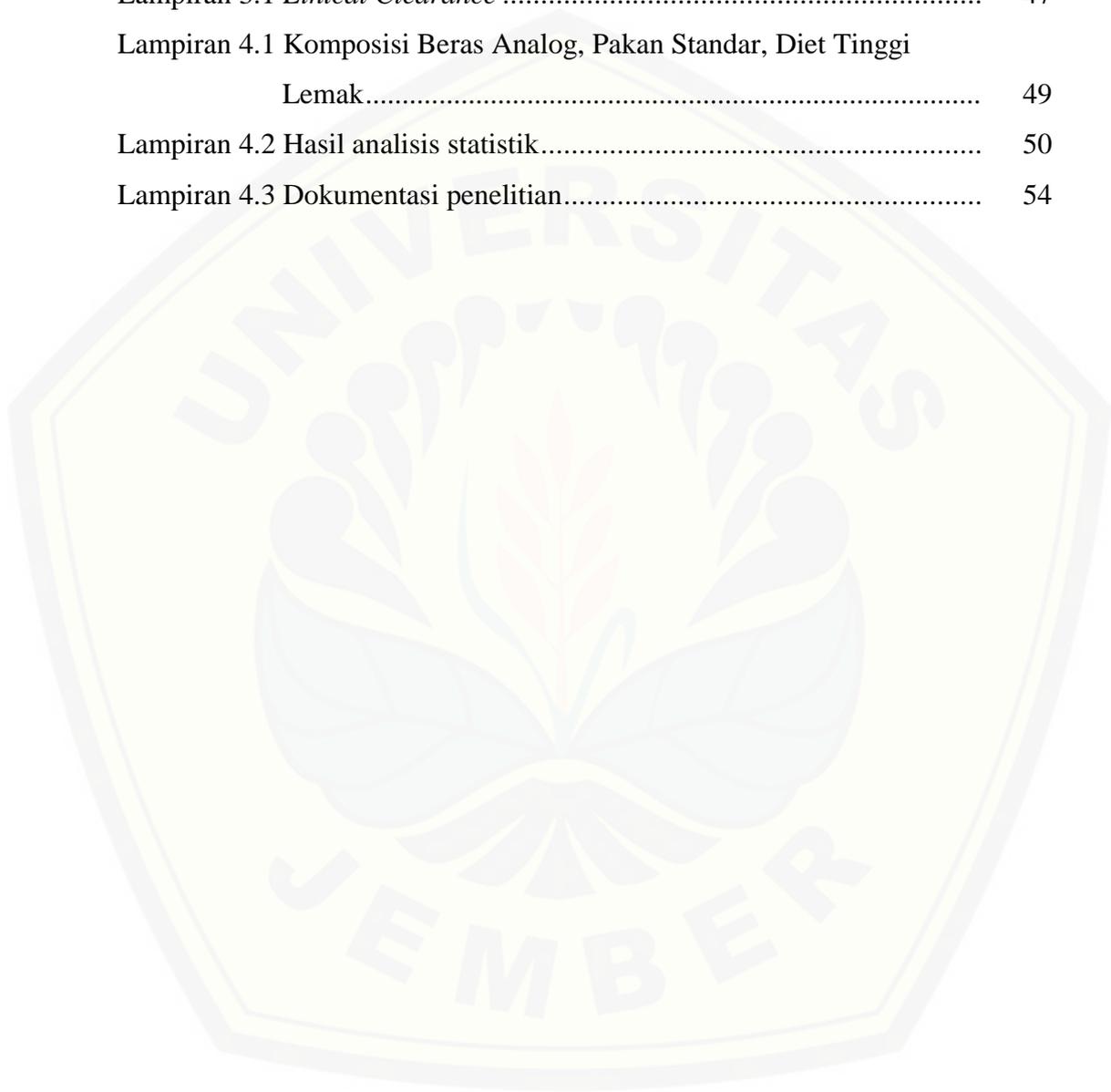
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1	Gambaran histologi arteri..... 17
2.2	Letak arteri koroner anterior dan posterior ..... 18
2.3	Skema kerangka konseptual..... 19
3.1	Skema rancangan penelitian..... 21
3.2	Skema alur penelitian..... 32
4.1	Gambaran Histopatologi Masing-Masing Kelompok Perlakuan ..... 33
4.2	Rata-rata Jumlah Sel Busa pada Setiap Kelompok ..... 34



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 3.1 <i>Ethical Clearance</i> .....	47
Lampiran 4.1 Komposisi Beras Analog, Pakan Standar, Diet Tinggi Lemak.....	49
Lampiran 4.2 Hasil analisis statistik.....	50
Lampiran 4.3 Dokumentasi penelitian.....	54



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Diabetes Mellitus* (DM) merupakan salah satu kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia karena gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Keadaan hiperglikemia yang berlangsung kronis dari diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, gangguan fungsi dan kegagalan berbagai organ, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (ADA, 2012). Penyakit ini sudah dikategorikan sebagai penyakit global oleh *World Health Organization* (WHO) disebabkan oleh penderita DM yang meningkat setiap tahunnya di setiap negara.

Berdasarkan data dari WHO (2006), diperkirakan terdapat 171 juta orang di dunia menderita diabetes pada tahun 2000 dan diprediksi akan meningkat menjadi 366 juta penderita pada tahun 2030. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) pada tahun 2007 menunjukkan bahwa secara nasional prevalensi DM berdasarkan diagnosis oleh tenaga kesehatan dan adanya gejala adalah sebesar 1,1%. Sedangkan prevalensi berdasarkan hasil pengukuran kadar gula darah pada penduduk umur lebih dari lima belas tahun di daerah perkotaan adalah sebesar 5,7% (Depkes, 2008).

*World Health Organization* (WHO) menyatakan terdapat tiga jenis penyakit DM yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, dan diabetes gestasional. DM tipe 1 adalah hasil dari interaksi genetik, lingkungan, dan faktor imunologi yang pada akhirnya mengarah pada kerusakan sel  $\beta$  pankreas dan defisiensi insulin. DM tipe 2 ditandai dengan gangguan sekresi insulin, resistensi insulin, produksi glukosa hepatic yang berlebihan, dan metabolisme lemak yang abnormal (Powers, 2010). Sedangkan diabetes gestasional adalah kehamilan normal yang disertai dengan peningkatan resistensi insulin. Kasus terbanyak dari populasi DM di Indonesia adalah DM tipe 2 yang mencapai 90% (Kemenkes RI, 2013). Tingginya jumlah penderita DM tipe 2 disebabkan oleh faktor risiko yang dapat dan tidak dapat diubah. Faktor risiko yang dapat diubah antara lain indeks massa tubuh, konsumsi alkohol, aktivitas fisik, kebiasaan merokok, pendidikan, pekerjaan, dan lingk

pinggang. Sedangkan yang tidak dapat diubah antara lain, jenis kelamin, usia, dan faktor genetik. Berdasarkan studi epidemiologi terbaru, Indonesia telah memasuki epidemi DM tipe 2. Perubahan gaya hidup dan urbanisasi nampaknya merupakan penyebab penting masalah ini, dan terus menerus meningkat pada milenium baru ini (Perkeni, 2011).

Kadar glukosa yang tinggi dan tidak terkontrol pada penderita DM menyebabkan beberapa komplikasi kesehatan. Komplikasi yang ditimbulkan oleh penyakit DM antara lain hipoglikemia, hiperglikemia, komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular. Komplikasi makrovaskular sering terjadi pada penderita DM tipe 2. Tiga jenis komplikasi makrovaskular yang sering terjadi pada penderita diabetes adalah penyakit jantung koroner, penyakit pembuluh darah otak, dan penyakit pembuluh darah perifer. Penyakit jantung koroner merupakan komplikasi makrovaskular DM yang sering terjadi. Penyakit jantung koroner adalah penyakit jantung yang disebabkan karena penyempitan arteri koroner akibat proses aterosklerosis atau spasme atau keduanya. Hiperglikemia pada penderita DM mencetuskan pembentukan lesi aterosklerosis. Proses aterosklerosis pada arteri koroner bisa diamati melalui gambaran histopatologi arteri koroner jantung hewan coba. Pada gambaran histopatologi arteri koroner yang mengalami aterosklerosis dapat ditemukan disfungsi endotel, proliferasi sel otot polos, infiltrasi sel busa (*foam cell*), aktivasi platelet dan peningkatan sel inflamasi (Siracuse dan Chaikof, 2012).

Penyakit DM bisa dikendalikan agar tidak menyebabkan komplikasi bagi penderitanya. Terdapat 4 pilar pedoman pengendalian DM, yang terdiri dari edukasi, pengaturan makan, olahraga, dan kepatuhan pengobatan (Perkeni, 2011). Pengaturan diet merupakan salah satu cara untuk mencegah timbulnya komplikasi pada penderita DM. Diet yang digunakan sebagai bagian dari penatalaksanaan DM dikontrol berdasarkan kandungan energi, protein, lemak, karbohidrat dan serat (Karyadi, 2002).

Beras analog dapat digunakan sebagai terobosan baru terapi diet penderita DM. Beras analog merupakan beras tiruan yang komposisinya dapat diatur sesuai dengan kebutuhan. Umumnya, beras analog memiliki kandungan serat yang lebih

tinggi dari beras biasa. Makanan yang kaya serat terbukti dapat memperbaiki pengendalian kadar glukosa darah dan menurunkan hiperinsulinemia pada penderita DM tipe 2 (Chandalia dkk., 2000; Subagio dkk., 2012). Fakta menunjukkan bahwa beras analog dapat digunakan sebagai salah satu alternatif makanan pengganti bagi penderita DM. Pemilihan beras analog sebagai alternatif makanan pengganti penderita DM disebabkan karena sebagian besar penduduk Indonesia mengkonsumsi beras sebagai makanan pokok sehari-hari. Data statistik menunjukkan bahwa tingkat konsumsi penduduk Indonesia terhadap beras sangat tinggi, yaitu sekitar 54 juta ton per tahun. Konsumsi beras sebagai bahan pangan di Indonesia masih di atas 50% dari total asupan konsumsi (Taringan, 2003; Widodo, 2011).

Penggunaan beras analog bagi penderita DM perlu dipertimbangkan sebagai alternatif untuk mengontrol kadar glukosa darah agar tidak menimbulkan komplikasi. Komplikasi yang harus diwaspadai adalah penyakit jantung koroner. Hal tersebut memerlukan pembuktian secara ilmiah mengenai pengaruh pemberian diet beras analog tinggi serat terhadap gambaran histopatologi arteri koroner jantung. Penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan tersebut dengan menggunakan tikus putih (*Rattus novergicus* strain *wistar*) sebagai hewan coba. Hewan coba dibuat menderita DM tipe 2 dengan cara induksi streptozotosin intraperitoneal serta diberi pakan tinggi lemak.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah penelitian ini adalah apakah ada pengaruh pemberian diet beras analog terhadap gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian diet beras analog terhadap gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

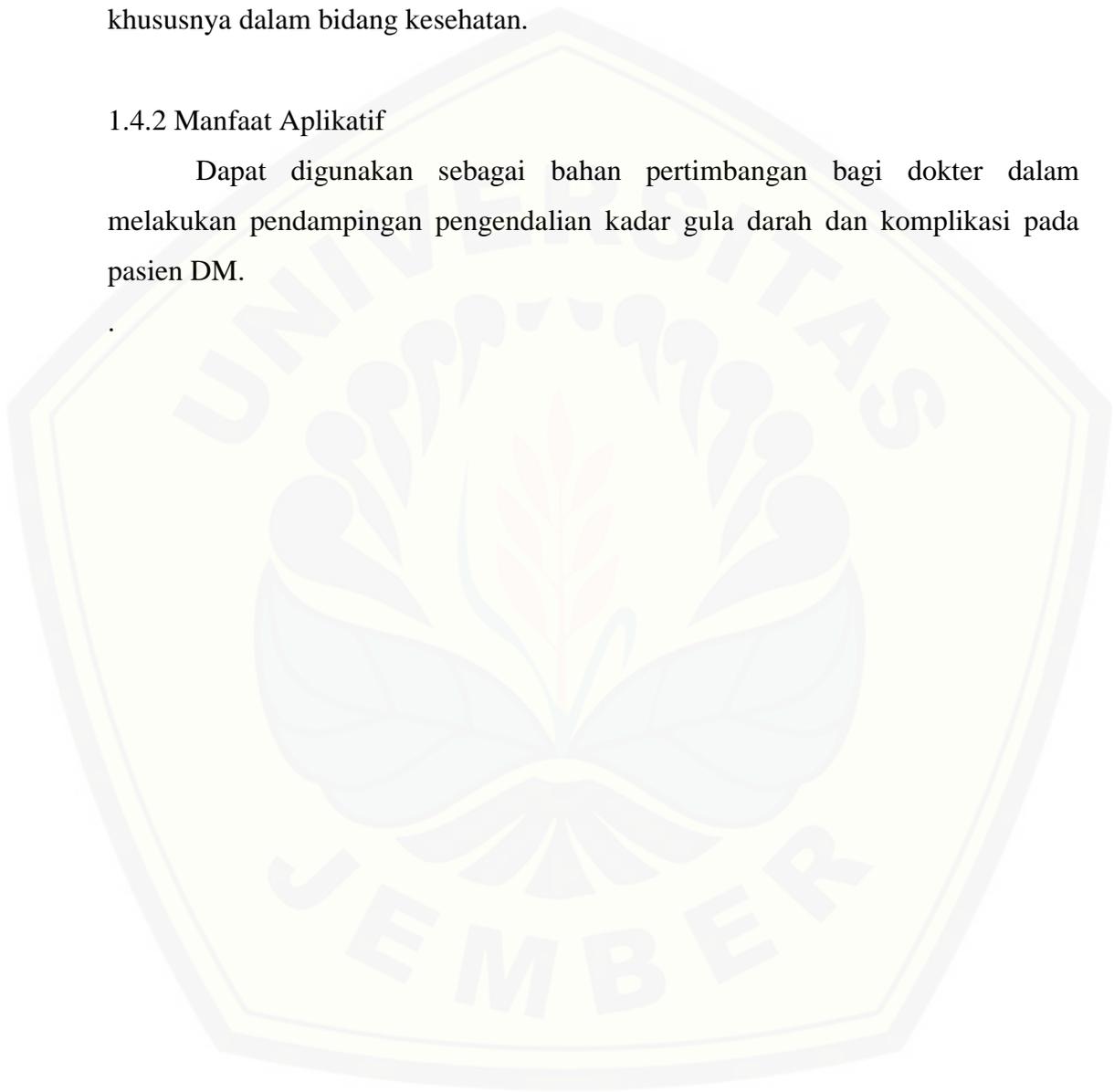
Manfaat dari penyusunan penelitian ini adalah sebagai berikut.

##### **1.4.1 Manfaat Keilmuan**

Dapat digunakan sebagai dasar pengembangan penelitian selanjutnya, khususnya dalam bidang kesehatan.

##### **1.4.2 Manfaat Aplikatif**

Dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan bagi dokter dalam melakukan pendampingan pengendalian kadar gula darah dan komplikasi pada pasien DM.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Diabetes Mellitus (DM)

#### 2.1.1 Definisi dan Klasifikasi DM

*Diabetes Mellitus* (DM) merupakan salah satu kelompok penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia karena gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Keadaan hiperglikemia kronis dari diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, gangguan fungsi dan kegagalan berbagai organ, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (ADA, 2012). Sekitar 8 juta penduduk Indonesia pada tahun 2009 mengidap DM yang nantinya akan meningkat menjadi lebih dari 21 juta jiwa pada tahun 2025 (Russel, 2011). *World Health Organization* (WHO) menyatakan terdapat tiga jenis penyakit DM yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, dan diabetes gestasional yang memiliki tanda, gejala, dan akibat yang sama namun berbeda penyebab dan distribusi populasinya.

DM tipe 1 merupakan jenis diabetes hasil dari kehancuran sel  $\beta$  pankreas yang biasanya menyebabkan defisiensi insulin absolut. Sedangkan DM tipe 2 merupakan hasil dari gangguan sekresi insulin yang progresif yang menjadi latar belakang terjadinya resistensi insulin (ADA, 2013). DM dengan kehamilan (*Diabetes Mellitus Gestational-DMG*) adalah kehamilan normal yang disertai dengan peningkatan *insulin resistance* (ibu hamil gagal mempertahankan euglikemia). Pada golongan diabetes gestasional, kondisi diabetes dialami sementara selama masa kehamilan. Hal tersebut menunjukkan bahwa diabetes atau intoleransi glukosa pertama kali didapatkan selama masa kehamilan, biasanya pada trimester kedua atau ketiga (OPHD, 2009).

#### 2.1.2 Faktor Risiko *Diabetes Mellitus* (DM)

DM dapat terjadi akibat kurangnya produksi dan ketersediaan insulin di dalam tubuh atau karena gangguan fungsi insulin di dalam tubuh yang pada dasarnya memiliki jumlah yang cukup. Berikut ini beberapa faktor risiko DM yang dapat dan tidak dapat diubah.

a. Genetik

Pada kelompok IDDM memiliki keterkaitan dengan gen HLA pada kromosom 6 dan beberapa autoimunitas *serologic* dan *cell-mediated*. Sedangkan pada NIDDM tidak memiliki hubungan dengan gen HLA, virus ataupun autoimunitas (Sudoyo dkk., 2014).

b. Usia

Salah satu penyakit yang risikonya akan meningkat seiring pertambahan usia adalah DM tipe 2. Gula darah puasa diketahui akan meningkat 1-2 mg/dl pada setiap dekade dan gula darah *post prandial* akan meningkat 8-20 mg/dl setiap dekade setelah usia 30-40 tahun. Proses penuaan identik sekali dengan sarkopenia yaitu suatu penurunan massa otot skeletal yang hasilnya adalah terjadi kelemahan otot dan ketidakmampuan individu usia lanjut untuk melakukan aktivitas. Insulin merupakan hormon yang berkontribusi untuk memfasilitasi *uptake* glukosa oleh otot. Berkurangnya massa otot berarti mempengaruhi *uptake* glukosa. Sehingga hal tersebut akan mengganggu metabolisme aktif massa otot dan mengurangi tingkat aktivitas individu usia lanjut yang akhirnya mengakibatkan obesitas. Pertambahan berat badan umumnya terjadi pada dekade keempat dan ketujuh yang dapat berkontribusi terhadap resistensi insulin, terutama akibat penumpukan lemak abdominal. (Kesavadev dkk., 2003)

c. Obesitas dan Nutrisi

Pengaruh obesitas terhadap risiko terjadinya DM tipe 2 tidak hanya ditentukan oleh derajat obesitas namun juga tempat akumulasi lemak pada tubuh. Peningkatan lingkaran perut atau lingkaran pinggang berhubungan dengan sindrom metabolik, DM tipe 2 dan penyakit kardiovaskular. Setidaknya ada 3 mekanisme berbeda yang menunjukkan adanya hubungan antara obesitas dan resistensi insulin dan menyebabkan DM tipe 2: 1) Peningkatan produksi adipokin/sitokin meliputi TNF- $\alpha$ , resistin, retinol binding protein 4 yang menyebabkan resistensi insulin dan juga mengurangi adiponektin; 2) Deposisi lemak ektopik terutama di liver dan mungkin juga pada otot skeletal; 3) Disfungsi mitokondria, yaitu ditandai dengan penurunan massa dan atau fungsi mitokondria sehingga akhirnya

menyebabkan penurunan fungsi sel  $\beta$  dan akhirnya menyebabkan resistensi insulin (Robert dkk., 2011).

Komposisi karbohidrat dan lemak dalam makanan mempengaruhi terjadinya DM. Semakin tinggi asupan karbohidrat dan lemak, makin mudah menimbulkan obesitas dan DM tipe 2. Serat pada makanan juga berhubungan dengan DM tipe 2. Konsumsi makanan kaya serat dan karbohidrat kompleks bermanfaat bagi penderita DM tipe 1 dan 2. Serat terlarut seperti pektin, gum, hemiselulosa meningkatkan waktu transit makanan pada usus, menunda pengosongan lambung, menurunkan absorpsi glukosa dan menurunkan kolesterol serum (Shrilaxmi, 2006). Pasien yang mengkonsumsi serat pangan total selama 3 minggu diketahui bisa menurunkan 11,3% kolesterol totalnya (Biesenbach dkk., 1993).

#### d. Aktivitas Fisik

Beberapa penelitian telah menyatakan pentingnya aktivitas fisik pada penderita DM tipe 2. Aktivitas fisik sangat direkomendasikan untuk mencegah berkembangnya penyakit DM tipe 2 menjadi lebih buruk. *Guideline* menyatakan bahwa seseorang harus berolahraga sedikitnya 5 hari dalam satu minggu disertai dengan olahraga yang energik untuk meningkatkan sensitivitas insulin (NP dkk., 2004). Sehingga kurangnya aktivitas fisik akan mempengaruhi tingkat resistensi insulin pada tubuh manusia.

#### 2.1.3 Patofisiologi *Diabetes Mellitus* Tipe 2 (DM Tipe 2)

Terdapat beberapa keadaan yang berperan dalam patofisiologi DM tipe 2 yaitu resistensi insulin dan disfungsi sel  $\beta$  pankreas. DM tipe 2 lebih disebabkan karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tidak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut sebagai “resistensi insulin”. Resistensi insulin banyak terjadi akibat dari obesitas dan kurangnya aktivitas fisik serta penuaan. Pada penderita DM tipe 2 dapat juga terjadi produksi glukosa hepatic yang berlebihan namun tidak terjadi perusakan sel  $\beta$  langerhans secara autoimun seperti DM tipe 1. Defisiensi fungsi insulin pada penderita DM tipe 2 hanya bersifat relatif dan tidak absolut (Fatimah, 2015).

Pada awal perkembangan DM tipe 2, sel  $\beta$  menunjukkan gangguan pada sekresi insulin fase pertama, artinya sekresi insulin gagal mengkompensasi resistensi insulin. Apabila tidak ditangani dengan baik, pada perkembangan selanjutnya akan terjadi kerusakan sel pankreas. Kerusakan sel  $\beta$  pankreas akan terjadi secara progresif yang seringkali akan menyebabkan defisiensi insulin, sehingga pada akhirnya penderita memerlukan insulin eksogen. Pada penderita DM tipe 2 memang umumnya ditemukan kedua faktor tersebut, yaitu resistensi insulin dan defisiensi insulin (Fatimah, 2015).

#### 2.1.4 Diagnosis *Diabetes Mellitus* (DM)

Diagnosis DM ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar glukosa darah. Diagnosis tidak dapat ditegakkan atas dasar adanya glukosuria. Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penyandang DM. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan seperti:

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

Tabel 2.1 Kriteria diagnosis DM

Pemeriksaan glukosa plasma puasa $\geq 126$ mg/dl. Puasa adalah kondisi tidak ada asupan kalori minimal 8 jam. Atau
Pemeriksaan glukosa plasma $\geq 200$ mg/dl 2 jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 75 gram. Atau
Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu $\geq 200$ mg/dl dengan keluhan klasik. Atau
Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh <i>National Glycohaemoglobin Standardization Program</i> (NGSP).

(Sumber : Perkeni, 2015)

Hasil pemeriksaan yang tidak memenuhi kriteria normal atau kriteria DM digolongkan ke dalam kelompok prediabetes yang meliputi: toleransi glukosa terganggu (TGT) dan glukosa darah puasa terganggu (GDPT).

- 1) Glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT): Hasil pemeriksaan glukosa plasma puasa antara 100-125 mg/dl dan pemeriksaan TTGO glukosa plasma 2-jam <140 mg/dl;
- 2) Toleransi Glukosa Terganggu (TGT): Hasil pemeriksaan glukosa plasma 2 - jam setelah TTGO antara 140-199 mg/dl dan glukosa plasma puasa <100 mg/dl
- 3) Bersama-sama didapatkan GDPT dan TGT
- 4) Diagnosis prediabetes dapat juga ditegakkan berdasarkan hasil HbA1c yang menunjukkan angka 5,7-6,4%. (Perkeni, 2015).

#### 2.1.5 Komplikasi *Diabetes Mellitus* (DM)

Menurut Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan RI (2005) bahwa DM yang tidak terkontrol dengan baik dapat menimbulkan beberapa komplikasi antara lain hipoglikemia, hiperglikemia, komplikasi mikrovaskular dan komplikasi makrovaskular.

Sindrom hipoglikemia ditandai dengan gejala klinis penderita merasa pusing, lemas, gemetar, pandangan berkunang-kunang, pitam (pandangan menjadi gelap), keringat dingin, detak jantung meningkat, sampai hilang kesadaran. Pada hipoglikemia, kadar glukosa plasma penderita kurang dari 50 mg/dl. Hipoglikemia lebih sering terjadi pada penderita DM tipe 1. Sedangkan komplikasi hiperglikemia adalah kondisi seseorang yang memiliki kadar gula darah melonjak secara tiba-tiba. Keadaan ini dapat disebabkan antara lain oleh stress, infeksi, dan konsumsi obat-obatan tertentu.

Komplikasi mikrovaskular terutama terjadi pada penderita DM tipe 1. Hiperglikemia yang persisten dan pembentukan protein yang terglifikasi menyebabkan dinding pembuluh darah menjadi makin lemah dan rapuh dan terjadi penyumbatan pada pembuluh-pembuluh darah kecil. Hal inilah yang

mendorong timbulnya komplikasi mikrovaskuler, antara lain retinopati, nefropati, dan neuropati.

Tiga jenis komplikasi makrovaskular yang umum berkembang pada penderita diabetes adalah penyakit jantung koroner (*coronary heart disease* = CAD), penyakit pembuluh darah otak, dan penyakit pembuluh darah perifer (*peripheral vascular disease* = PVD). Walaupun komplikasi makrovaskular dapat juga terjadi pada DM tipe 1, namun yang lebih sering merasakan komplikasi makrovaskular ini adalah penderita DM tipe 2 yang umumnya menderita hipertensi, dislipidemia dan atau kegemukan.

#### 2.1.6 Komplikasi DM: Penyakit Jantung Koroner

Pada penelitian ini peneliti akan lebih membahas kepada mekanisme komplikasi DM menjadi penyakit jantung koroner. Penyebab kematian dan kesakitan utama pada pasien DM adalah penyakit jantung koroner, yang merupakan salah satu penyulit makrovaskular DM. Penyulit makrovaskular bermanifestasi sebagai aterosklerosis dini yang mengenai organ vital seperti jantung dan otak (Sudoyo, 2014). Aterosklerosis merupakan kondisi sistemik berupa penebalan dinding dan penyempitan lumen arteri yang terutama terjadi pada arteri elastika, arteri muskularis besar maupun sedang (Muis dan Murtala, 2011).

Aterosklerosis biasanya terjadi pada beberapa arteri seperti arteri koronaria, karotis, basilar, dan femoralis. Sedangkan arteri yang sering terkena aterosklerosis adalah arteri koronaria. Aterosklerosis dimulai dengan rusaknya endotel pembuluh darah sehingga meningkatkan ekspresi molekul adhesi dan penurunan NO. Selanjutnya monosit dan lipid yang beredar menumpuk di lokasi cedera. Monosit akan menyebrangi endothelium lalu memasuki tunika intima dan akhirnya berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag menelan dan mengoksidasi lipoprotein sehingga memberikan penampilan makrofag seperti busa sehingga disebut sebagai *foam cell* atau sel busa. Sel busa selanjutnya beragregasi ke pembuluh darah dan membentuk garis lemak (*fatty streak*) diikuti dengan migrasi

dan proliferasi otot polos yang akhirnya membentuk plak yang lebih besar (Hall, 2011).

Hasil penelitian menyebutkan bahwa : 1) Angka kejadian aterosklerosis lebih tinggi pada pasien DM daripada non DM; 2) Pasien DM memiliki risiko tinggi untuk mengalami trombosis, penurunan fibrinolisis dan peningkatan respon inflamasi; 3) Pada pasien DM terjadi proses glikosilasi protein yang mempengaruhi integritas dinding pembuluh darah (Sudoyo, 2014)..

a. Hiperglikemia

Hiperglikemia kronik dapat menyebabkan disfungsi endotel melalui berbagai mekanisme antara lain :

- 1) Hiperglikemia kronik menyebabkan glikosilasi non enzimatis dari protein dan makromolekul seperti DNA yang akan mengakibatkan perubahan sifat antigenik dari protein dan DNA. Hal tersebut akan mengakibatkan perubahan tekanan intravaskular akibat gangguan keseimbangan Nitrogen monoksida (NO) dan prostaglandin.
- 2) Hiperglikemia meningkatkan aktivasi Protein Kinase C (PKC) intraseluler sehingga menyebabkan gangguan NADPH *pool* yang akan menghambat produksi NO.
- 3) Sel endotel sangat peka terhadap stress oksidatif. Keadaan hiperglikemia meningkatkan tendensi untuk terjadinya stress oksidatif dan *oxidized lipoprotein*, terutama *small dense LDL-cholesterol (oxidized LDL)* yang bersifat aterogenik.

b. Inflamasi

Inflamasi tidak hanya menimbulkan komplikasi sindrom koroner akut , tetapi juga merupakan penyebab utama dalam proses terjadinya dan progresivitas aterosklerosis. Berbagai penanda inflamasi telah banyak ditemukan di dalam lesi aterosklerosis, antara lain sitokin dan *growth factors* yang dilepaskan oleh makrofag dan sel T. Pelepasan sitokin terjadi lebih banyak pada pasien DM, karena peningkatan dari berbagai proses yang mengaktivasi makrofag, antara lain oksidasi dan glikosidasi protein dan lipid. Sampai saat ini masih terdapat kontroversi tentang mengapa pada pemeriksaan patologi anatomi,

plak pada DM tipe 1 bersifat lebih *fibrous* dan *calcified*, sedangkan pada DM tipe 2 lebih seluler dan lebih banyak mengandung lipid. Pada suatu seri pemeriksaan arteri koroner pasien DM tipe 2 setelah *sudden death*, didapatkan area nekrosis, kalsifikasi dan ruptur plak yang luas. Sedangkan pada pasien DM tipe 1 ditemukan peningkatan kandungan jaringan ikat dengan sedikit *foam cells* didalam plak yang memungkinkan lesi aterosklerosisnya relatif lebih stabil. (Sudoyo, 2014).

## 2.2 Streptozotocin

Streptozotocin (STZ) atau 2-deoksi-2-[3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranos] diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* yang dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji. Dosis yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 untuk intravena adalah 40-60 mg/kg, sedangkan dosis intraperitoneal adalah lebih dari 40 mg/kg BB. Sedangkan untuk membuat hewan coba DM tipe 2, STZ dapat diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 35mg/kg dan dikombinasikan dengan diet tinggi lemak. (Nugroho, 2006; Srinivasan dkk., 2005).

STZ menembus sel  $\beta$  Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasikan perubahan DNA sel  $\beta$  pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. STZ merupakan donor NO yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel tersebut melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP. NO dihasilkan sewaktu STZ mengalami metabolisme dalam sel. Selain itu, STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif yang mempunyai peran tinggi dalam kerusakan sel  $\beta$  pankreas. (Akpan dkk., 1987; Szkudelski, 2001).

NO dan oksigen reaktif tersebut adalah penyebab utama kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian mengakibatkan penekanan  $\text{NAD}^+$  seluler, selanjutnya mengakibatkan penurunan jumlah ATP, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin. (Akpan dkk., 1987; Szkudelski, 2001)

### 2.3 Serat Pangan dan GLP-1

Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) tahun 2002 mendefinisikan serat pangan (*dietary fiber*) sebagai fraksi dari bagian tumbuhan yang dapat dimakan namun resisten terhadap digesti dan absorpsi di usus halus manusia, biasanya harus melalui proses fermentasi komplit atau sebagian di usus besar manusia. USDA (2015) menganjurkan untuk mengkonsumsi makanan yang mengandung serat dan pati dalam jumlah yang tepat yaitu 20-35 g/hari. Sensus nasional pengelolaan diabetes di Indonesia menyarankan konsumsi serat sebanyak 25 g/hari (Lestiany & Aisyah, 2011). Serat pangan tersebut meliputi pati, polisakarida, oligosakarida, lignin, dan bagian tanaman lainnya.

Konsumsi makanan yang banyak mengandung serat diketahui dapat meningkatkan konsentrasi insulin plasma dan menurunkan tingkat hiperglikemia pada *Oral Glucose Tolerance Test* (OGTT) (Lovejoy dan DiGirolama 1992). Serat dapat memperlambat penyerapan glukosa dan meningkatkan kekentalan isi usus halus yang secara tidak langsung dapat menurunkan kecepatan difusi permukosa usus halus. Akibat kondisi tersebut, kadar glukosa di dalam darah mengalami penurunan secara perlahan, sehingga kebutuhan insulin juga berkurang. Penurunan jumlah insulin pada tubuh penderita DM dapat mencapai 12.5% per hari (Sulistijani, 2001).

Selain itu, ekspresi gen proglukagon pada ileum tikus akan meningkat seiring meningkatnya serat yang dikonsumsi. Konsumsi diet tinggi serat akan mempercepat ekspresi gen proglukagon dan konsentrasi GLP-1 dalam 30 menit pasca OGTT pada tikus (Reimer dan McBurney, 1996). *Glucagon like peptide 1* (GLP-1) adalah hormon yang dihasilkan oleh sel L pada saluran pencernaan yang merupakan produk transkripsi gen proglukagon, dan digolongkan sebagai inkretin.

GLP-1 dikode oleh gen preproglukagon, yang terdiri dari 30 asam amino dan arginin sebagai asam amino terminal. Sebanyak 14 asam amino yang terkandung di dalam GLP-1 memiliki kemiripan dengan glukagon. Namun, GLP-1 dan glukagon memiliki efek fisiologi yang berbeda. Glukagon berfungsi mempertahankan kadar glukosa darah dalam keadaan puasa, sedangkan GLP-1 untuk menurunkan kadar glukosa darah. Lebih lanjut, fungsi biologis dari GLP-1

adalah meliputi stimulasi sekresi insulin, menekan sekresi glukagon, dan menimbulkan rasa kenyang, sehingga inkretin memiliki manfaat terapeutik bagi pasien DM tipe 2 (Baggio and Drucker, 2007; Brubaker, 2010; Donnelly, 2012).

Terdapat dua bentuk GLP-1 yaitu GLP-1 (7-36) yang disebut sebagai bentuk aktif dan juga GLP-1 (9-36) yang disebut sebagai bentuk inaktif. Pada penelitian sebelumnya, kedua bentuk GLP-1 ini diketahui sama-sama memiliki manfaat terhadap sistem kardiovaskular meskipun dengan mekanisme yang tidak serupa. Menurut Picatoste (2013) bahwa GLP-1 (7-36) dan (9-36) dapat berperan sebagai anti-apoptosis/ nekrosis, anti hipertrofi, anti fibrosis pada sel jantung yang di stimulasi diet tinggi lemak atau tinggi glukosa secara *in vitro*. GLP-1 (9-36) juga diketahui dapat meningkatkan efek antioksidan pada sel kardiovaskular. Pada sebuah penelitian mengatakan bahwa GLP-1 baik yang GLP-1 (7-36) dan (9-36) mampu mereduksi pembentukan plak akibat infiltrasi makrofag dan juga ekspresi plak *metalloproteinase-9* dan menstabilkan plak dengan cara meningkatkan kandungan kolagen di dalam plak dan kapsul fibrous pada dinding pembuluh darah aorta. Sehingga GLP-1 dan produk metabolitnya memiliki efek anti aterosklerosis. Selain itu GLP-1 (9-36) diketahui juga memiliki efek untuk menurunkan produksi gula hepatic pada pasien yang mengalami resistensi insulin. GLP-1 (9-36) mampu menurunkan tingkat resistensi insulin pada tikus obesitas yang diberi makan tinggi lemak (Tomas dkk, 2011).

#### **2.4 Beras Analog**

Beras analog merupakan bentuk penganeekaragaman pangan yang didasarkan pada karbohidrat dengan beberapa tambahan bahan lainnya untuk meningkatkan kualitas pangan (Mulyadi dkk, 2015). Beras analog merupakan beras tiruan yang terbuat dari tepung lokal non-beras. Disebut sebagai beras analog karena bentuknya yang oval menyerupai beras namun tidak terproses secara alami dan warnanya sedikit berbeda daripada beras biasa. Beras analog merupakan salah satu bentuk solusi dalam mengatasi ketersediaan pangan (Santoso dkk, 2013).

Metode pembuatan beras analog terdiri atas dua cara yaitu metode granulasi dan ekstrusi. Metode granulasi diawali dengan pencampuran tepung, air, dan hidrokoloid sebagai bahan pengikat. Proses pencampuran dilakukan pada suhu 30<sup>0</sup>-80<sup>0</sup>C sehingga sebagian adonan telah mengalami gelatinisasi (semigelatinisasi). Adonan kemudian dicetak menggunakan granulator, dikukus (gelatinisasi) dan dikeringkan. Sedangkan metode ekstrusi terdiri dari tahap pencampuran, penyangraian (gelatinisasi), pencetakan melalui *die* dan pengeringan ekstrudat menggunakan *oven dryer* suhu 60<sup>0</sup>C selama 4 jam (Subagio, 2011). Pembuatan beras analog metode ekstrusi lebih unggul karena bentuk produknya lebih mirip beras asli.

Salah satu beras analog yang dibuat dengan metode ekstrusi adalah beras cerdas yang dibuat dengan mencampurkan MOCAF dengan isolat protein dan bahan tambahan lainnya untuk meningkatkan kandungan protein dan sifat fungsionalnya (Subagio, 2011). Beras cerdas merupakan beras analog yang berbahan baku MOCAF. MOCAF merupakan produk tepung dari ubi kayu yang diproses menggunakan prinsip memodifikasi sel ubi kayu secara fermentasi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL). Penggunaan MOCAF dalam beras analog didasarkan pada ketersediaan ubi kayu yang melimpah dengan harga yang cukup murah, namun selama ini pemanfaatannya belum optimal hanya terbatas pada pembuatan kue atau makanan ringan, sedangkan pada kenyataannya MOCAF memiliki kandungan karbohidrat 80.05% yang setara dengan beras 78.9% (Subagio, 2006).

Beras cerdas dibuat dengan cara mencampurkan MOCAF dan tepung beras selanjutnya ditambahkan air 30% dari berat total (59,555 ml) sehingga mempermudah proses pra gelatinisasi. Setelah itu ditambahkan air panas agar terjadi gelatinisasi, serta ditambahkan bahan lain sesuai kebutuhan. Selanjutnya adonan dicetak dan dipotong membentuk butiran beras menggunakan mesin *hot ekstruder* dengan *twin screw*. Setelah itu butiran beras di kukus selama 5 menit agar terjadi gelatinisasi optimal, kemudian dilakukan *tempering* selama 1 menit agar menjadi retrogradasi sehingga mempermudah tahap pengeringan, dan dikeringkan pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 24 jam (Subagio dan Windrati, 2012).

Ada beberapa jenis beras cerdas yaitu beras cerdas reguler, fortifikasi dan fungsional. Beras cerdas fungsional telah dikembangkan dengan memberikan berbagai bahan tambahan yaitu tepung jagung, tepung ubi ungu, dan ekstrak wortel. Penggunaan beras cerdas fungsional sebagai bahan pengganti beras pada penderita DM terbukti memiliki peran menurunkan kadar glukosa darah. Dari ketiga varian beras cerdas fungsional, beras cerdas jagung (BC-jagung) paling kuat menurunkan kadar glukosa darah selama 3 minggu sebesar 24 mg/dl (Subagio dkk., 2012).

Beras cerdas jagung memiliki kandungan nilai gizi lebih tinggi dibandingkan dengan beras biasa. Kandungan karbohidrat dalam 100 g BC-jagung sebesar 69,6 g sedangkan beras biasa 87, 69 g. Kandungan protein dalam 100 g BC-jagung sebesar 14,2 g sedangkan beras biasa 10,8 g. Lipid pada BC-jagung sebesar 9,4 g sedangkan beras biasa 0,58 g. Kandungan protein dan lipid yang tinggi dapat memperlambat pengosongan lambung dan penyerapan usus halus sehingga menurunkan nilai indeks glikemik (Subagio dkk., 2012).

Selain itu tepung jagung yang merupakan campuran pada BC- jagung merupakan salah satu sumber serat pangan. Menurut Kamal (1998) bahwa tepung jagung mengandung serat kasar sebesar 7,3 g dalam 100 g sampel yang dianalisa. Sedangkan MOCAF juga merupakan salah satu sumber serat karena mengandung serat sebesar 3,4% (Sunarsi, 2011). Campuran lain BC-jagung adalah *sodium alginate* yang merupakan serat terlarut yang pekat. Mengonsumsi makanan yang mengandung serat dapat memberikan manfaat bagi kesehatan antara lain kesehatan jantung, mengontrol gula darah dan menurunkan LDL (Brownlee dkk., 2005). Sehingga beras cerdas mengandung nilai gizi yang lebih baik yang nantinya dapat bermanfaat bagi kesehatan antara lain dapat mengontrol gula darah, menjaga kesehatan jantung dan menurunkan kadar LDL.

## 2.5 Arteri

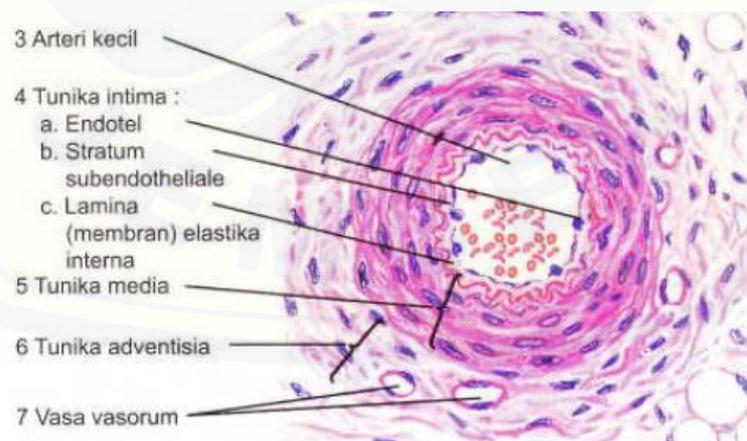
### 2.5.1 Definisi dan Histologi Arteri

Arteri merupakan pembuluh darah yang berperan sebagai distributor, yaitu membawa darah menuju ke arteriol. Dinding pembuluh darah besar arteri dan

vena memiliki tiga lapisan. Lapisan paling luar dinamakan tunika adventitia. Tunika adventitia terbuat dari jaringan ikat yang kuat, dan fleksibel. Lapisan ini membantu agar pembuluh darah tetap terbuka dan mencegah robeknya dinding pembuluh darah selama pergerakan tubuh. Pada arteri, tunika adventitia lebih tipis daripada lapisan tengah dinding arteri (Patton, 2015).

Lapisan tengah atau tunika media (*middle coat*) adalah lapisan yang terbuat dari jaringan otot polos yang melekat bersama lapisan jaringan elastis. Otot polos yang melingkari tunika media dapat menyebabkan perubahan diameter pembuluh darah. Jaringan otot polos tunika media diinervasi oleh saraf otonom dan disuplai oleh darah dari vasa vasorum. Arteri memiliki lapisan otot polos yang lebih tebal daripada vena (Patton, 2015).

Lapisan terdalam dari pembuluh darah adalah tunika intima. Tunika intima terbuat dari endotelium. Pada arteri, endotelium merupakan lapisan yang halus. Ketika pembuluh darah berkurang diameternya, ketebalan relatif pada dindingnya juga berkurang. Pembuluh terkecil yaitu kapiler, memiliki hanya satu lapisan tipis endotelium. Struktur yang tipis tersebut berperan agar pertukaran zat antara plasma darah dan cairan interstitial di sekeliling jaringan berjalan efisien (Patton, 2015). Gambaran histopatologi arteri dapat dilihat pada Gambar 2.1.

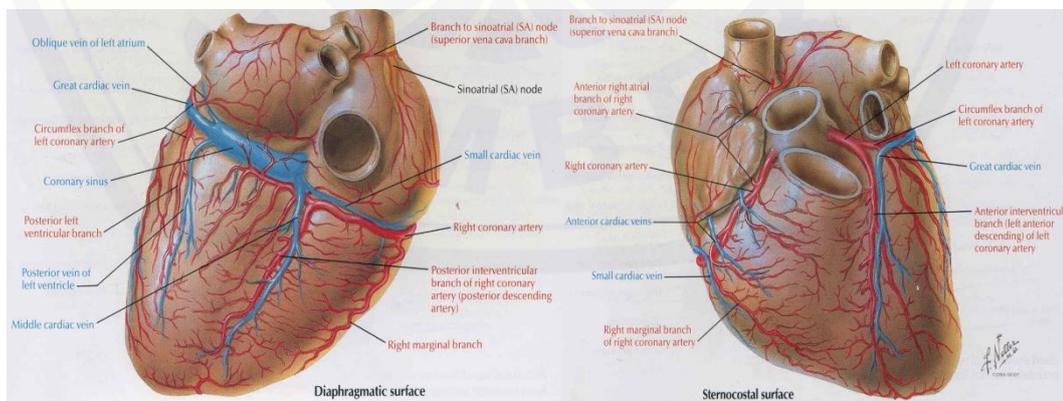


Gambar 2.1 Gambaran histologi arteri dengan pewarnaan HE (Eroschenko,2010)

### 2.5.2 Arteri Koroner

Pembuluh darah jantung terdiri dari arteri koroner dan vena kardial, yang menyuplai sebagian besar darah ke dan dari miokardium. Pembuluh darah jantung normalnya tertanam dalam jaringan lemak dan melalui permukaan jantung di dalam epikardium. Arteri koroner terdiri dari arteri koroner kiri utama, arteri desenden anterior kiri, arteri sirkumfleksa kiri, dan arteri koroner kanan (Kaligis, 2012).

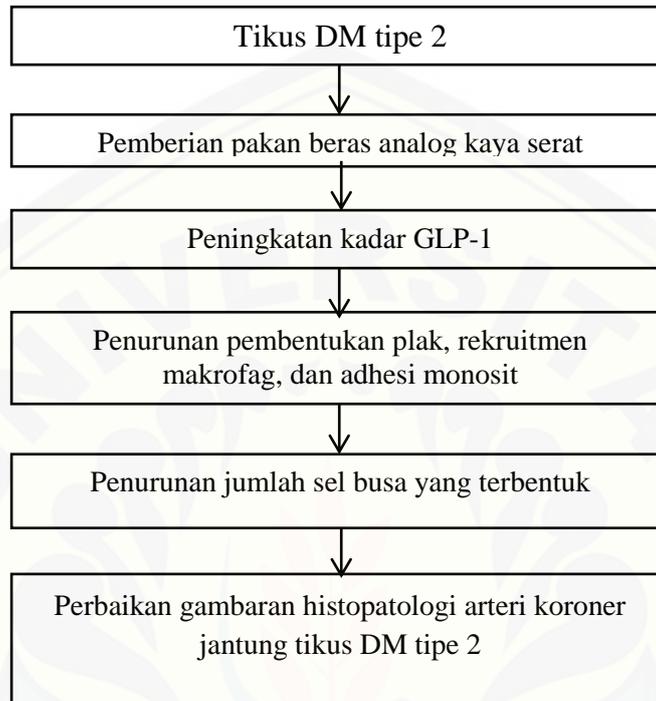
Arteri koroner kiri utama sering disebut dengan *Left Main (LM)*, keluar dari sinus aorta kiri; kemudian segera bercabang dua menjadi arteri *Left Anterior Descending (LAD)* dan *Left Circumflex (LCX)*. Arteri LM berjalan diantara alur keluar ventrikel kanan yang terletak didepannya, dan atrium kiri dibelakangnya; baru kemudian bercabang menjadi arteri LAD dan arteri LCX. Arteri LAD berjalan di sulcus interventrikularis depan sampai ke apeks jantung, Arteri LCX berjalan di dalam sulcus atrioventrikularis kiri diantara atrium kiri dan ventrikel kiri dan memperdarahi dinding samping ventrikel kiri (Kaligis, 2012). Arteri koroner kanan keluar dari sinus aorta kanan dan berjalan di dalam sulcus atrioventrikularis kanan diantara atrium kanan dan ventrikel kanan menuju ke bagian bawah dari septum. Pada sebagian besar kasus arteri koroner kanan memberikan percabangan ke *Posterior Descending Artery (PDA)* sebagai cabang terminal (Paulsen dkk., 2010).



Gambar 2.2 Letak arteri koroner anterior dan posterior (Netter, 2014)

## 2.6 Kerangka Konsep

Kerangka konseptual pada penelitian ini dapat dilihat pada bagan berikut ini :



Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual.

Beras analog yang digunakan di dalam penelitian ini diketahui memiliki kadar serat yang lebih tinggi dibandingkan beras biasa. Konsumsi diet tinggi serat akan mempercepat ekspresi gen proglukagon dan konsentrasi GLP-1 dalam 30 menit pasca OGTT pada tikus (Reimer dan McBurney, 1996). GLP-1 dapat mengurangi lesi aterosklerosis dengan cara menurunkan inflamasi, adhesi monosit ke endotel pembuluh darah, dan menurunkan jumlah rekrutmen sel makrofag (Tate dkk, 2015). Sehingga berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diharapkan terdapat perbaikan gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2 yang didasarkan pada penurunan jumlah sel busa. Sel busa merupakan lesi awal terjadinya proses aterosklerosis.

## 2.7 Hipotesis

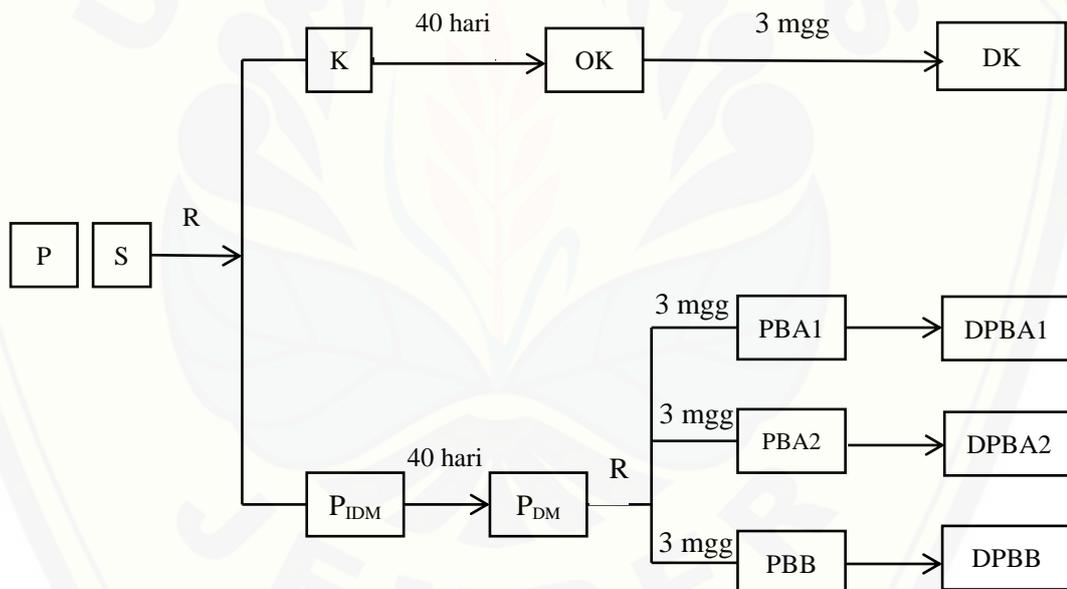
Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat perbedaan pemberian beras analog tinggi serat terhadap gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2.



### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) secara *in vivo* dengan rancangan *post test only control group design*. Pengukuran atau pengamatan dilakukan setelah dilakukan intervensi pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, dan Laboratorium Patologi Anatomi RSD dr. Soebandi. Rancangan penelitian dapat dilihat pada skema berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- P : Populasi
- S : Sampel
- R : Randomisasi
- K : Kelompok kontrol normal yang tidak diinduksi DM

$P_{IDM}$	: Kelompok yang diinduksi DM menggunakan STZ dosis rendah dan diet tinggi lemak
OK	: Pemeriksaan GDP kelompok kontrol normal setelah pemberian pakan standar selama 40 hari
$P_{DM}$	: Kelompok tikus DM, yaitu kelompok $P_{IDM}$ yang memiliki $GDP > 126$ mg/dl, GDP diukur 1 minggu setelah diinduksi STZ dan diet tinggi lemak
K	: Kelompok kontrol normal yang diberi pakan standar selama 3 minggu
PBA1	: Kelompok tikus DM yang diberi beras analog 1 selama 3 minggu
PBA2	: Kelompok tikus DM yang diberi beras analog 2 selama 3 minggu
PBB	: Kelompok tikus DM yang diberi beras biasa selama 3 minggu
DK	: Data kelompok kontrol
DPBA1	: Data kelompok perlakuan PBA1
DPBA2	: Data kelompok perlakuan PBA2
DPBB	: Data kelompok perlakuan PBB

### 3.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

#### 3.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh tikus putih (*Rattus norvegicus* strain *wistar*) jenis kelamin jantan, usia dewasa yaitu sekitar 3 bulan, berat badan 120-180g yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia FK Universitas Airlangga.

#### 3.2.2 Sampel

Sampel penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* strain *wistar*) jantan untuk menghindari efek hormonal yang dapat mempengaruhi hasil penelitian. Kriteria inklusi meliputi tikus putih (*Rattus norvegicus* strain *wistar*) yang berumur 3 bulan dengan berat 120-180g, sehat, bergerak aktif, bulu

mengkilat, mata jernih, feses baik, dan memiliki kadar glukosa darah puasa yang normal. Kriteria eksklusi ialah tikus (*Rattus novergicus* strain *wistar*) yang tidak mau makan, mati saat penelitian dan memiliki kadar glukosa darah puasa tidak normal.

Jumlah perlakuan pada penelitian ini ialah sebanyak satu kelompok kontrol normal dan tiga kelompok perlakuan. Pengulangan dilakukan pada tiap kelompok untuk mencegah adanya bias. Penghitungan besarnya pengulangan menggunakan rumus *Federer* sebagai berikut.

$(n-1)(p-1) \geq 15$  ( $p$  = jumlah perlakuan,  $n$ = jumlah ulangan,  $p=4$ ) , sehingga

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

jumlah pengulangan adalah 6. Besar sampel merupakan hasil perkalian  $n$  dengan  $p$ . Berdasarkan hal tersebut, tikus putih (*Rattus novergicus* strain *wistar*) yang digunakan sebanyak 24 ekor.

### 3.2.3 Teknik Pengambilan Sampel

Dari 24 ekor tikus diambil 6 ekor secara *simple random sampling* untuk dijadikan kelompok kontrol normal (K). Kelompok kontrol normal diberikan pakan standar selama perlakuan. Semua tikus pada kelompok sisanya diberikan pakan diet tinggi lemak selama 40 hari agar tikus menjadi obesitas. Setelah itu tikus diinduksi *streptozotosin* (STZ) dosis 35 mg/kgBB pada hari ke 33, kemudian pada hari ke-40 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa. Tikus dikatakan menderita DM jika memiliki kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dl (Jung dkk., 2011). Tikus yang sudah DM dibagi dalam 3 kelompok secara *simple random sampling*, yaitu :

- a. PBA1 : kelompok tikus DM yang diberi beras analog 1
- b. PBA2 : Kelompok tikus DM yang diberi beras analog 2
- c. PBB : Kelompok tikus DM yang diberi beras biasa

Masing-masing tikus diberikan pakan sesuai kelompoknya selama tiga minggu.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Klasifikasi Variabel

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah beras analog berdasarkan komposisi Hairrudin, dkk yang dapat dilihat pada Lampiran 3.1 dan beras biasa

b. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus.

c. Variabel terkontrol

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

#### 3.3.2 Definisi Operasional

a. Beras Analog

Beras analog pada penelitian ini adalah beras buatan dengan bahan baku utama tepung beras, MOCAF, tepung jagung dan penambahan sodium alginate dengan dua jenis perbandingan yang berbeda. Beras analog tersebut dibuat menggunakan teknik Subagio tahun 2012 dengan mengubah komponen lemak sampai kandungan kalornya sama dengan beras biasa. Selanjutnya beras analog dimasak dan dikeringkan dengan *oven dryer* 60<sup>0</sup>C sampai kering. Beras analog yang telah kering diproses menjadi pelet. Pelet yang dihasilkan diberikan pada tikus kelompok PBA1 dan PBA2 secara *ad libitum* . Pakan diganti setiap pagi.

b. Beras Biasa

Beras biasa pada penelitian ini adalah beras IR64 yang diperoleh dari pasar Tanjung Jember. Beras tersebut diproses dengan dimasak terlebih dahulu di *rice cooker* lalu dikeringkan di *oven dryer* 60<sup>0</sup>C. Nasi yang telah kering diproses menjadi pelet. Pelet diberikan kepada tikus kelompok perlakuan beras biasa *ad libitum*. Pakan diganti setiap pagi.

c. Histopatologi Arteri Koroner Jantung

Gambaran histopatologi arteri koroner jantung merupakan gambaran mikroskopis arteri koroner jantung tikus putih jantan (*Rattus novergicus strain wistar*) meliputi jumlah sel busa pada tunika intima dan tunika media.

d. Diet Tinggi Lemak

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

e. Sel Busa atau *Foam Cell*

Sel busa atau *foam cell* adalah sel yang mengandung makrofag bermuatan lipid dan sel otot polos yang sitoplasmanya membesar oleh lipid. Jumlah sel busa dihitung mulai dari tunika intima hingga tunika media arteri koroner jantung tikus DM tipe 2 yang dipulas dengan pewarnaan HE dan diamati dengan mikroskop perbesaran 400 kali.

f. Pakan Standar

Pakan standar dalam penelitian ini adalah pakan yang dibuat sesuai dengan komposisi FKH Universitas Airlangga.

### 3.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Bahan untuk pembuatan tikus DM meliputi *streptozotocin* (STZ) dan diet tinggi lemak (lemak 22,8%).
- b. Bahan untuk pakan meliputi beras IR64, MOCAF, jagung, pakan ternak dan *aquadest* untuk minum diberikan secara *ad libitum*.
- c. Bahan untuk mengorbankan tikus meliputi eter, kapas, dan dapar sitrat.
- d. Bahan untuk menyimpan jantung tikus sementara meliputi pot organ, *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, NaCl 0,9%.
- e. Bahan untuk pengecatan preparat histopatologi arteri koroner jantung menggunakan pengecatan HE yaitu alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 95%, alkohol absolut, xylol, canada balsam, eosin, lithium karbonat 0,5%, HCl 0,6%, hematoxilin, paraffin cair.

### 3.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini antara lain :

- a. Instrumen untuk pemeliharaan tikus meliputi kandang tikus dengan penutup dari anyaman kawat, tempat makanan, botol minuman, spidol penanda.
- b. Instrumen untuk pembuatan tikus DM timbangan (Camry), spuit 1 ml.
- c. Instrumen untuk pengukuran kadar gula darah puasa adalah *blood glucose test*.
- d. Instrumen pembuatan preparat histopatologi adalah mikrotom, *waterbath*, alat bedah, meja fiksasi.
- e. Instrumen pengamatan gambaran histopatologi arteri koroner jantung meliputi *object glass*, *cover slip* dan mikroskop.

### 3.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pemeliharaan tikus, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pengamatan gambaran histopatologi dan Laboratorium Patologi Anatomi RSD dr. Soebandi untuk pembuatan preparat histologi arteri koroner jantung. Waktu pelaksanaan adalah bulan Februari 2017.

### 3.7 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan perizinan *ethical clearance* terhadap prosedur penelitian ke komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Lembar *ethical clearance* dapat dilihat pada Lampiran 3.1. Langkah-langkah pengujian dalam penelitian adalah sebagai berikut

#### 3.7.1 Pemilihan Hewan Coba

Jumlah hewan coba adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* strain *wistar*) dibagi menjadi 4 kelompok secara randomisasi dengan kriteria tikus putih (*Rattus norvegicus* strain *wistar*) jantan, sehat (bergerak aktif) dan usia dewasa.

Tikus sehat ditandai dengan mata jernih, bulu mengkilat, gerakan aktif dan kadar glukosa darah normal.

### 3.7.2 Adaptasi dan Perawatan Hewan Coba

Seluruh hewan coba diadaptasi dengan lingkungan serta diberi pakan ternak selama 7 hari di Laboratorium Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Alas kandang, tempat pakan dan minum, sisa pakan dan kotoran tikus setiap hari dibersihkan untuk menghindari timbulnya penyakit dan stress pada hewan coba. Makanan bentuk pelet dan minuman diberikan secara *ad libitum* pada semua kandang.

### 3.7.3 Induksi Tikus DM dan Diet Tinggi Lemak

Tikus DM didapatkan dengan cara diinduksi dengan streptozotosin (STZ) secara intraperitoneal dan dikombinasikan dengan diet tinggi lemak. Induksi STZ dan diet tinggi lemak tersebut dapat menghasilkan model tikus DM tipe 2. Dosis streptozotosin (STZ) yang digunakan adalah dosis rendah, yaitu 35 mg/kgBB yang dilarutkan di dalam dapar sitrat dengan konsentrasi 0,05 M. pH 4,3-4,5. Diet tinggi lemak menggunakan pelet tinggi lemak (lemak 22,8%). Tikus diberikan diet tinggi lemak selama 40 hari pasca adaptasi. Pada hari ke-33 diinjeksi streptozotocin (STZ) intraperitoneal. Satu minggu pasca induksi dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa. Tikus yang memiliki kadar glukosa darah puasa >126 mg/dl dijadikan model tikus DM (Srinivasan dkk., 2005; Jung dkk., 2011)

### 3.7.4 Pembagian Kelompok Perlakuan

Kelompok hewan coba dibagi menjadi:

- a. K : kelompok kontrol normal yang diberi pakan standar
- b. P<sub>IDM</sub> :Kelompok perlakuan yang diberikan kombinasi diet tinggi lemak selama 40 hari lalu diinjeksi STZ pada hari ke-33. Satu minggu setelahnya diukur kadar glukosa darah puasa. Tikus yang memiliki

kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dl dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu:

- 1) PBA1 : Tikus DM yang diberikan pakan beras biasa formula 1 selama 3 minggu *ad libitum*
- 2) PBA2 : Tikus DM yang diberikan pakan beras analog formula 2 selama 3 minggu *ad libitum*
- 3) PBB : Tikus DM yang diberikan pakan beras biasa selama 3 minggu *ad libitum*

Masing-masing tikus diberikan diet sesuai dengan kelompoknya. Pakan diganti setiap pagi, diberikan selama tiga minggu *ad libitum*. Setelah tiga minggu, tikus dikorbankan. Sebelum dikorbankan dilakukan anestesi menggunakan eter, kemudian tikus dibedah dan diambil organ jantungnya.

#### 3.7.5 Pengukuran Gula Darah Puasa

Pengambilan darah dari ekor tikus dilakukan dengan cara menggantung ujung ekor tikus kurang lebih 0,5 cm. Darah yang menetes pada ujung yang telah digantung selanjutnya dimasukkan ke dalam *glucose strip* untuk dibaca pada *blood glucose test*. Setelah perlakuan tersebut, ujung ekor yang terluka diberi larutan antiseptik untuk mencegah terjadinya infeksi. Tikus yang memiliki kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dl dijadikan model tikus DM (Jung dkk., 2011)

#### 3.7.6 Terminasi dan Penyimpanan Organ

Tikus diterminasi pada akhir minggu ketiga pasca diberikan perlakuan. Sebelum diterminasi tikus diambil darahnya untuk menghitung kadar gula darah puasa setelah dilakukan perlakuan. Tikus yang akan dikorbankan dianestesi menggunakan anestesi inhalasi eter lalu dibedah menggunakan scalpel, gunting bedah dan pinset di papan bedah. Setelah itu diambil jantungnya lalu organ dicuci berulang-ulang dengan NaCl 0,9% dan disimpan dalam larutan fiksasi BNF 10 % pada pot organ.

### 3.7.7 Pembuatan Preparat Histopatologi

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

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

Blok parafin yang mengandung jaringan kemudian dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-4  $\mu$ m. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air di dalam *waterbath* bersuhu 46<sup>0</sup>C. Setelah itu bentuk irisan dirapikan dan diletakkan di atas *object glass* yang telah diolesi ewith sebagai perekat dengan hati-hati. *Object glass* dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60<sup>0</sup>C sampai preparat siap untuk diwarnai.

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

a. Deparafinisasi

Tujuan deparafinisasi untuk menghilangkan/ melarutkan parafin yang terdapat pada jaringan. Zat yang digunakan adalah xylol.

b. Rehidrasi

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

c. Pewarnaan I

Tujuan pewarnaan I untuk memberi warna pada inti dan sitoplasma pada jaringan. Zat yang digunakan adalah hematoxylin.

d. Differensiasi

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

e. *Blueing*

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

f. Pewarnaan II

Tujuan pewarnaan II untuk memberi warna merah pada sitoplasma sel. Zat yang digunakan adalah eosin.

g. Dehidrasi

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

h. *Mounting*

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

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

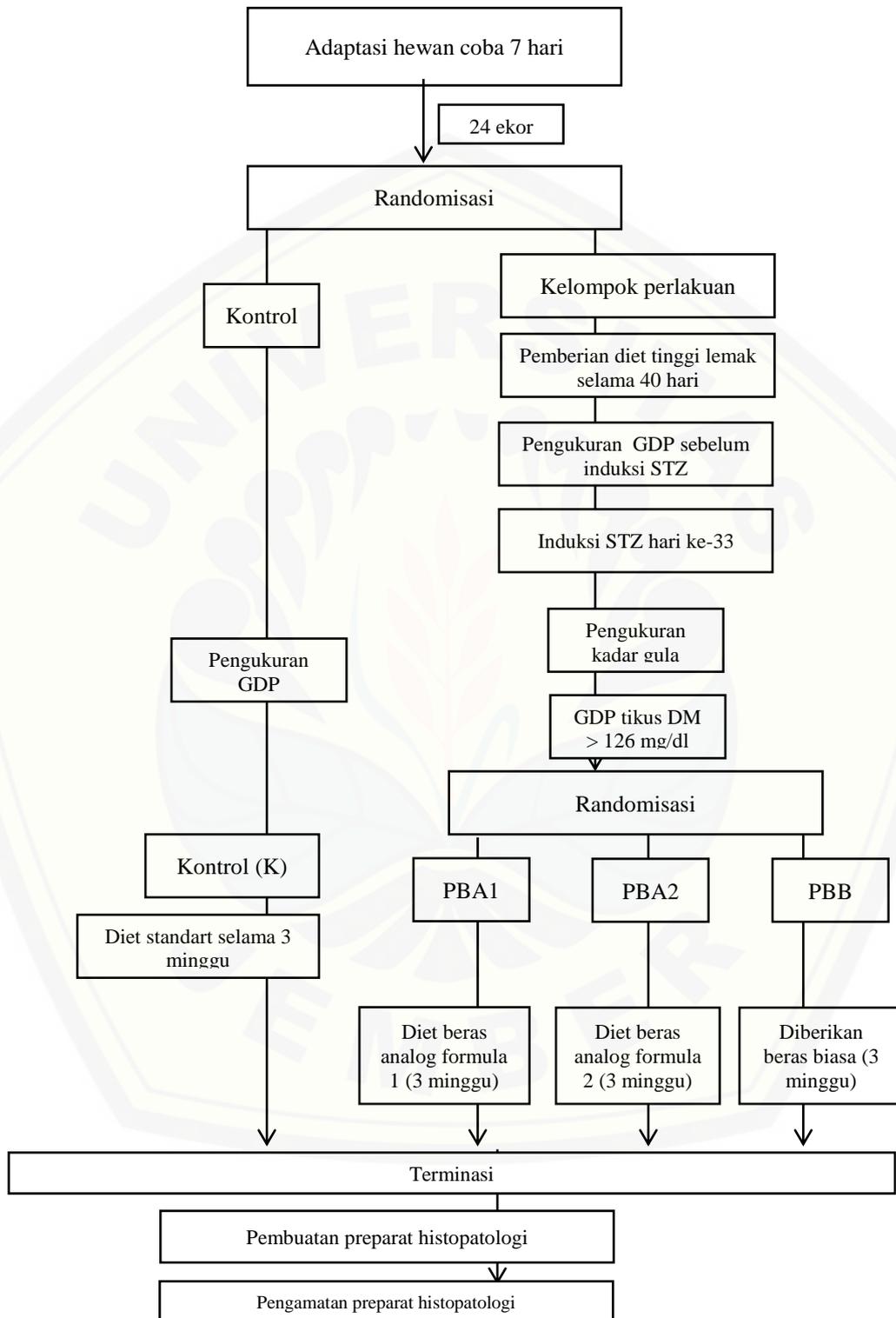
#### 3.7.8 Penghitungan Sel Busa

Pemeriksaan dan penghitungan jumlah sel busa adalah dengan melakukan pemeriksaan mikroskop perbesaran 400X (okuler 10X, obyektif 40X) pada arteri koroner. Sel busa dengan pewarnaan HE akan tampak sebagai sel yang besar dengan inti berwarna biru dan tepi yang kosong karena lemak akan luntur dengan pewarnaan HE sehingga tampak sebagai ruangan kosong diantara inti dan membran sel (Triliana, 2005). Selanjutnya menghitung semua sel busa di tunika intima dan tunika media arteri koroner jantung secara membuta (*blinded*).

### 3.8 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian menggunakan analisis deskriptif dan inferensial dengan program *SPSS*. Analisis deskriptif dilakukan dengan cara gambaran histopatologi masing-masing kelompok dideskripsikan dalam bentuk tabel. Sedangkan jumlah sel busa yang telah didapatkan diuji dengan metode statistik inferensial. Normalitas diuji dengan menggunakan metode *Saphiro-wilk* dan homogenitas dengan *Lavene's test*. Jika distribusi data normal dan homogen maka dilakukan uji *One Way Anova* kemudian uji *LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Jika distribusi data tidak normal maka dilakukan uji nonparametrik yaitu uji *Kurskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U*.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Skema alur penelitian

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Pemberian diet beras analog dengan formula yang berbeda terbukti mampu memberikan pengaruh perbaikan gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2 berdasarkan jumlah sel busa yang terbentuk.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh diet beras analog terhadap gambaran histopatologi arteri koroner jantung tikus DM tipe 2 dengan waktu pemberian beras analog lebih dari 3 minggu. Selain itu juga diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh diet beras analog terhadap kadar marker aterosklerosis seperti ICAM-1, VCAM-1, TNF- $\alpha$ , IL-6.

## DAFTAR PUSTAKA

- ADA. 2012. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Journals* Vol 35 (1) : 67
- Akpan, J.O., P. H. Wright, dan W. E. Dulin. 1987. A Comparison of the Effects of Streptozotocin, N-methylnitrosourea and Alloxan on Isolated Islets of Langerhans. *Diabetes & Metabolism*. 13(2):122-128.
- Baggio, L. L., dan D. J. Drucker. 2007. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 132(6):2131-57.
- Biesenbach, G., P. Grafinger, P. Janko, W. Kaiser, U. Stuby, dan E. Moser. 1993. The lipid lowering effect of a new guar-pectin fiber mixture in type II diabetic patients with hypercholesterolemia. *Leber Magen Dam* 23(5): 204-207.
- Brown, J. E. 2005. *Nutrition through the life cycle*. Edisi Kedua. USA: Thomson-Wadsworth.
- Brownlee, I. A., A. Allen, J. P. Pearson, P.W. Dettmar, M. E. Havler, M. R. Atherton, dan E. Onsoyen. 2005. Alginate as a source of dietary fiber. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition* 45: 497-510.
- Brubaker, P. L. 2010. Mini Review: Update on Incretin Biology: Focus on Glucagon- like peptide-1. *Endocrinology* 151(5):1984-9.
- Chandalia, M., A. Grag, D. Luthjohann, K.V. Bregman, S.M. Grundy, L. Brinkley. 2000. Beneficial Effect of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. <http://www.nejm.org>, [Diakses 29 September 2017].
- Depkes RI. 2008. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Depkes RI.
- Donnelly, D. 2012. The Structure and Function of the Glucagon-like peptide-1 Receptor and it's Ligands. *Br.J.Pharmacol* 166(1):27-41.
- Eroschenko, V. P. 2010. *Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional*. Edisi Kesebelas. Jakarta: EGC.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes Mellitus Tipe 2. 4(5): 93-101.
- FSANZ. 2002. Food Standarts Australia New Zealand. <http://www.foodstandards.gov.au/Pages/default.aspx> [Diakses pada 29 September 2017].

- Guyton. 2000. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Edisi Ketiga. Jakarta: EGC.
- Hall, J. E. 2011. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi Kesebelas. Jakarta: EGC.
- Jung, J. Y., Y. Lim, M. S. Moon, J. Y. Kim, dan O. Kwon. 2011. Onion peel extracts ameliorate hyperglycemia and insulin resistance in high fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition & Metabolism* 8(18): 1-8.
- Kaligis, R. W. M. 2012. Anatomi dan perdarahan arteri koroner dan angina pectoris stabil. Dalam: (Lily I Rilantono) *Penyakit Kardiovaskular (PKV) 5 Rahasia*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, pp 123- 126; 132-137.
- Kamal, M. 1998. *Bahan Pakan dan Ransum Ternak*. Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Karyadi. 2002. *Serat Makanan, Benteng terhadap Berbagai Penyakit*. Majalah intisari Juli 2002.
- Kemenkes RI. 2013. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Indonesia*. Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI 2013.
- Kesavadev, J. D, K. R. Short, dan K. S. Nair. 2003. Diabetes in Old Age : An Emerging Epidemic. *JAPI* 51: 1083-1094.
- Lee, Y.S., dan H. S. Jun. 2014. Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells. *Metabolism Clinical and Experimental* 63: 9-19.
- Lestiany, L., dan Aisyah. 2011. *Peran serat dan penatalaksanaan kasus masalah berat badan. Bagian Ilmu Gizi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Lintong, P. M. 2009. Perkembangan Konsep Patogenesis Aterosklerosis. *Jurnal Biomedik*. 1(1): 12-22.
- Lovejoy, J., M. DiGirolamo. 1992. Habitual dietary intake and insulin sensitivity in lean and obese adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 55(6): 1174-9.
- Mulyadi, A. F., S. Kumalaningsih, dan S. K. Indriati. 2015. Production of high amylopectin artificial rice based on cassava flour, glutinous rice flour and addition of cowpea flour. *International Journal of Applied Engineering Research*. 10(19): 1-6.

- Netter, F. H. 2014. *Atlas of Human Anatomy*. Edisi Kedua Puluh Lima. Jakarta: EGC.
- NP, Steyn, J. Man, P. H. Bennet, N. Temple, P. Zimmet, J. Tuomilehto, J. Lindstorm, dan A. Louheranta. 2004. Diet, nutrition and the prevention of type 2 diabetes. *Public Health Nutrition* 7(1A): 147-65.
- Nugroho, A. E., 2006. Hewan percobaan Diabetes Mellitus : patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas*. 7(4): 378-382.
- Patton, K. T. 2015. *Anatomy and Physiology*. Missouri: Elsevier
- Paulsen, F., dan J. Waschke. 2010. *Sobotta Atlas Anatomi Manusia*. Jakarta: EGC.
- PERKENI. 2011. Konsensus pencegahan dan pengendalian diabetes melitus tipe 2 di Indonesia. [www.academia.edu/4053787/ Revisi final KONSENSUS DM Tipe 2 Indonesia 2011](http://www.academia.edu/4053787/Revisi_final_KONSENSUS_DM_Tipe_2_Indonesia_2011). [Diakses pada 20 Agustus 2017]
- PERKENI. 2015. *Konsensus pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: PB PERKENI.
- Padayatty, S. J., A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, JH. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, SK. Dutta, dan M. Levine. 2003. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr*. 22(1):18-35.
- Picatoste, B., E. Ramírez, A. Caro-Vadillo, C. Iborra, S. Ares-Carrasco, dan J. Egidio. 2013. Sitagliptin reduces cardiac apoptosis, hypertrophy and fibrosis primarily by insulin-dependent mechanisms in experimental type-II diabetes. Potential roles of GLP-1 isoforms. *PLoS ONE* 8(10): e78330.
- Reimer, R. A., dan I. M. McBurney. 1996. Dietary Fiber Modulates Intestinal Proglucagon Messenger Ribonucleic Acid and Postprandial Secretion of Glucagon-Like Peptide-1 and Insulin in Rats. *Endocrinology* 137(9). 1-9.
- Riset Kesehatan Dasar. 2007. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia.
- Russel, D. M. 2011. *Bebas Dari 6 Penyakit Paling Mematikan*. Yogyakarta: Media Pressindo (Anggota IKAPI).
- Shrilaxmi, B. 2006. *Food Science Third Edition New Age International (P) Limited*. New Delhi: Publishers.
- Siracuse, J. J., dan E. L. Chaikof. 2012. The Pathogenesis of Diabetic Atherosclerosis. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-62703-158-5\\_2](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-62703-158-5_2). [Diakses pada 10 Agustus 2017].

- Srinivasan, K., B. Viswanad, L. Asrat, C.L. Kaul, dan P. Ramarao. 2005. Combination of High Fat Diet and Low Dose Streptozotocin Treated Red: A Model for Type 2 Diabetes and Pharmacological Screening. *Pharmacological research* 52: 313-320.
- Subagio, A. 2006. Ubi Kayu Substitusi Berbagai Tepung-tepungan. *Majalah Food Review Indonesia* 1(3) 18-21.
- Subagio A, 2011. Beras cerdas: alternative makanan pokok non beras. Laporan Program Intensif Riset Terapan
- Subagio A, Y. Witono, D. Hermanuadi, A. Nafi, W. S. Windrati. 2012. Pengembangan “beras cerdas” sebagai pangan pokok alternatif berbahan baku mocaf. *Prosiding InSINas* :PG-157-PG-160.
- Subagio, A., dan W.S. Windrati. 2012. Pengaruh komposisi MOCAF (modified cassava flour) dan tepung beras pada karakteristik beras cerdas. *Pangan* 21(1): 29-38.
- Subagio, A., A. Nafi', A. Prasetyo, dan W.S. Windrati. 2012. Kajian sifat nutrisi dan fungsional ‘beras cerdas’ sebagai alternatif pangan lokal bergizi tinggi. Laporan penelitian Badan Ketahanan Pangan Provinsi Jawa Timur.
- Sulistijani, D. A dan H. Firdaus. 2001. Sehat dengan Menu Berserat. Trubus Agriwidya. Jakarta.
- Sunarsi, S., M. Sugeng, S. Wahyuni, dan W. Ratnaningsih. 2011. *Memfaatkan Singkong menjadi Tepung Mocaf untuk Pemberdayaan Masyarakat Sumberejo*. Univet Bantara: Sukoharjo.
- Susmiati, T., Sulistiyani, D. Sajuthi dan L.K. Darusman. 2009. Inhibisi kurkuminoid temumangga terhadap ekspresi molekul adhesi Icam-1 yang diinduksi dengan LDL M acaca fascicularis pada kultul sel endotel. *Jurnal Primatologi Indonesia* 6(2): p40-47.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In  $\beta$  Cells Of The Rat Pancreas. *Physiology Research* 50: 536-54.
- Taringan, H., 2003. Dilema pangan beras Indonesia. *Tabloid Sinar Tani*: 23 April 2003.
- Tate, M., A. Chong, E. Robinson, B. D. Green, dan D. J. Grieve. 2015. Selective targeting of glucagon-like peptide-1 signalling as a novel therapeutic

approach for cardiovascular disease in diabetes. *British Journal of Pharmacology* 172: 721-736.

Tomas, E., J. A. Wood, V. Stanojevic, dan J. F. Habener. 2011. Glucagon-Like Peptide-1(9-36) Amide Metabolite Inhibits Weight Gain and Attenuates Diabetes and Hepatic Steatosis in Diet-Induced Obese Mice. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 13(1): 1-31.

Triliana, R., D. W. Soeatmadji, dan H. Kalim. 2005. Pengaruh Terapi Supplementasi Fitosterol pada Profil Lemak Plasma, Kadar Apolipoprotein (Apo) B-48, dan Penghitungan Sel Busa Aorta Tikus Pascadiet Atherogenik. *Tesis*. Malang: Program Pasca sarjana Universitas Brawijaya.

USDA. 2015. Dietary Guidelines for Americans. [https://health.gov/dietaryguidelines/2015/resources/2015\\_2020\\_Dietary\\_Guidelines.pdf](https://health.gov/dietaryguidelines/2015/resources/2015_2020_Dietary_Guidelines.pdf) [Diakses pada 29 September 2017].

Widodo, Y. 2001. Strategi sinergistik peningkatan produksi pangan dalam hutan lestari melalui wana tani. *Majalah Pangan* 20(3): 251-270.

WHO, 2006. *Priority diseases and reasons for inclusion*. World Health Organization.

**Lampiran 3.1 Ethical Clearance**

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 : 1.166 /H25.1.11/KE/2017

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

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

**PENGARUH PEMBERIAN DIET BERAS ANALOG TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI KORONER JANTUNG TIKUS DM TIPE 2**

Nama Peneliti Utama : Monika Roosyidah  
*Name of the principal investigator*

NIM : 142010101106

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

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

Jember, 20 Oktober 2017  
Ketua Komisi Etik Penelitian



Femi Riyanti, Sp.PK

**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

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

*Review Proposal* :

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

Mengetahui  
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 10 Oktober 2017  
Reviewer



dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

**Lampiran 4.1 Komposisi Beras Analog, Pakan Standar, Diet Tinggi Lemak****Komposisi Beras Analog dan Beras Biasa**

Bahan	Kebutuhan Bahan 10kg/klp	
	PBA1	PBA2
MOCAF (g)	2700	4050
Tepung beras (g)	3600	2250
Tepung Jagung (g)	2700	2700
Minyak sawit (g)	340	420
Sod alginat (g)	350	400
Soy protein (g)	310	180

(Sumber : Hairrudin, 2017)

**Kadar Serat Beras Analog dan Beras Biasa**

Kode		Berat Sampel Basah (g)	Berat Serat (g)	Kadar Serat (%)	Rata-rata Kadar (%)
PBA1	simplo	2,0108	0,0352	1,7505	1,7749
	duplo	2,0174	0,0363	1,7993	
PBA2	simplo	2,0997	0,0222	1,0573	1,0642
	duplo	2,0073	0,0215	1,0711	
PBB	simplo	2,0258	0,0082	0,4048	0,4053
	duplo	2,1187	0,0086	0,4059	

(Sumber : Hairrudin, 2017)

**Komposisi Diet Standar Per 100 Gram (Normal)**

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

(Sumber : Hairrudin, 2017)

## Lampiran 4.2 Hasil Analisis Statistik

### Uji Normalitas

#### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai						
Kelompok K	.299	6	.100	.851	6	.161
Kelompok PBA1	.302	6	.094	.775	6	.035
Kelompok PBA2	.307	6	.081	.788	6	.045
Kelompok PBB	.173	6	.200 <sup>*</sup>	.910	6	.438

a. Lilliefors Significance Correction

\*. This is a lower bound of the true significance.

### Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

Nilai			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.352	3	20	.003

### Uji Kruskal-Wallis

#### Ranks

Kelompok	N	Mean Rank
Nilai		
Kelompok K	6	8.33
Kelompok PBA1	6	10.33
Kelompok PBA2	6	12.33
Kelompok PBB	6	19.00
Total	24	

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

Nilai	
Chi-Square	8.016
df	3
Asymp. Sig.	.046

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

**Uji Mann-Whitney U****Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilai	Kelompok K	6	5.83	35.00
	Kelompok PBA1	6	7.17	43.00
	Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Nilai
Mann-Whitney U	14.000
Wilcoxon W	35.000
Z	-.670
Asymp. Sig. (2-tailed)	.503
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.589 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilai	Kelompok K	6	5.33	32.00
	Kelompok PBA2	6	7.67	46.00
	Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Nilai
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	32.000
Z	-1.154
Asymp. Sig. (2-tailed)	.249
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilai	Kelompok K	6	4.17	25.00
	Kelompok PBB	6	8.83	53.00
	Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Nilai
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-2.254
Asymp. Sig. (2-tailed)	.024
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.026 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilai	Kelompok PBA1	6	5.83	35.00
	Kelompok PBA2	6	7.17	43.00
	Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Nilai
Mann-Whitney U	14.000
Wilcoxon W	35.000
Z	-.672
Asymp. Sig. (2-tailed)	.502
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.589 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilai	Kelompok PBA1	6	4.33	26.00
	Kelompok PBB	6	8.67	52.00
	Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Nilai
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-2.115
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.041 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilai	Kelompok PBA2	6	4.50	27.00
	Kelompok PBB	6	8.50	51.00
	Total	12		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Nilai
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-1.963
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 4.3 Dokumentasi Penelitian



Beras analog sebelum diproses menjadi Pelet



Pelet beras analog pakan hewan coba



Adaptasi hewan coba



Proses penimbangan hewan coba



Persiapan terminasi hewan coba



Proses terminasi hewan coba



Penyimpanan organ ke dalam pot organ