



***RESISTANT STARCH* TIPE 3 SINGKONG (*Manihot esculenta*  
Crantz) MENURUNKAN KADAR TRIGLISERIDA TIKUS  
MODEL DIABETES**

**SKRIPSI**

Oleh

**Novia Adhitama  
NIM 1420101016**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



***RESISTANT STARCH* TIPE 3 SINGKONG (*Manihot esculenta*  
Crantz) MENURUNKAN KADAR TRIGLISERIDA TIKUS  
MODEL DIABETES**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Novia Adhitama**  
**NIM 1420101016**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

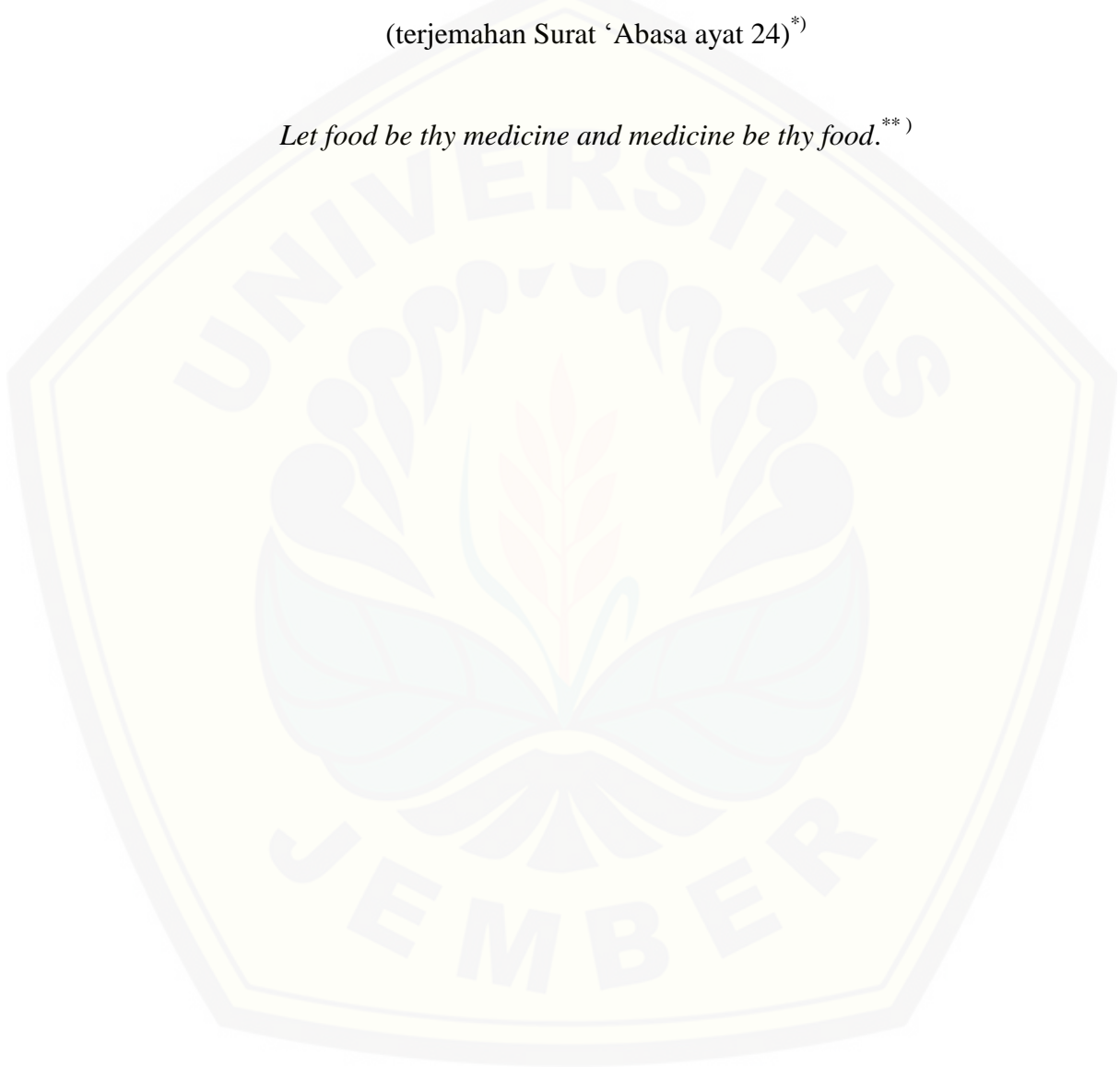
1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya kepada saya serta Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi teladan bagi saya;
2. Orang tua saya tercinta Ibu Imyati dan Ayah Suhadi serta keluarga besar saya yang telah memberikan semangat, motivasi, kasih sayang, dan doa yang tiada henti;
3. Guru-guru saya yang telah mendidik saya dari Taman Kanak-Kanak hingga Perguruan Tinggi dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya sebagai insan yang bertakwa, berilmu, dan bermanfaat bagi sesama;
4. Keluarga besar angkatan 2014 Elixir Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

## MOTO

Hendaknya manusia memperhatikan makanannya.

(terjemahan Surat ‘Abasa ayat 24)<sup>\*)</sup>

*Let food be thy medicine and medicine be thy food.*<sup>\*\*)</sup>



---

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

<sup>\*\*)</sup> Kutipan kalimat motivasi yang disampaikan oleh Hippocrates.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Novia Adhitama

NIM : 142010101016

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “*Resistant Starch* Tipe 3 Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Menurunkan Kadar Trigliserida Tikus Model Diabetes” 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, 9 Januari 2018  
Yang menyatakan,

Novia Adhitama  
NIM 142010101016

**SKRIPSI**

***RESISTANT STARCH* TIPE 3 SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)  
MENURUNKAN KADAR TRIGLISERIDA TIKUS MODEL DIABETES**

Oleh

Novia Adhitama

NIM 142010101016

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si  
Dosen Pembimbing Anggota : dr. Laksmi Indreswari, Sp.B

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “*Resistant Starch Tipe 3 Singkong (Manihot esculenta Crantz)*  
Menurunkan Kadar Trigliserida Tikus Model Diabetes” karya Novia Adhitama  
telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 9 Januari 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I

dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech  
NIP 198408192009122003

dr. Cicih Komariah, Sp.M  
NIP 197409282005012001

Anggota II

Anggota III

dr. Elly Nurus Sakinah, M.Si  
NIP198409162008012003

dr. Laksmi Indreswari, Sp.B  
NIP 198309012008012012

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes  
NIP 197002141999032001

## RINGKASAN

***Resistant Starch Tipe 3 Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Menurunkan Kadar Trigliserida Tikus Model Diabetes;*** Novia Adhitama; 142010101016; 2018; 70 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diabetes Mellitus (DM) merupakan kelainan metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia kronis disertai gangguan karbohidrat, protein, dan lemak. DM dibagi menjadi empat tipe salah satunya yaitu DM tipe 2 yang diakibatkan oleh resistensi insulin dan disfungsi sel  $\beta$  pankreas. Prevalensi DM penduduk Indonesia pada usia produktif di perkotaan yaitu sebesar 4,6%, di mana lebih dari 50% disertai dengan dislipidemia karena jalur metabolisme lipid dipengaruhi oleh insulin. Peningkatan kadar trigliserida lebih dari 150 mg/dL atau yang disebut juga hipertrigliseridemia merupakan karakteristik dislipidemia yang paling dominan pada DM tipe 2. Hipertrigliseridemia ditandai dengan peningkatan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), yang merupakan lipoprotein pengangkut trigliserida. Pada keadaan resistensi insulin, enzim Lipoprotein Lipase (LPL) dihambat sedangkan aktivitas *Hormone Sensitive Lipase* (HSL) di jaringan adiposa meningkat menyebabkan peningkatan *Free Fatty Acid* (FFA), yang merupakan substrat pembentukan trigliserida hepatic VLDL. Resistensi insulin juga menyebabkan lipogenesis terutama di liver dan otot akibat akumulasi FFA yang tidak dapat dioksidasi di mitokondria. Salah satu pilar pengelolaan DM yaitu dengan terapi diet. Beberapa penelitian telah membuktikan efek pemberian *Resistant Starch* (RS) terhadap diabetes dan metabolisme lipid. RS tersusun dari amilosa dan amilopektin, yang merupakan pati tahan cerna oleh enzim amilase di saluran pencernaan atas. Namun, RS dapat difermentasi oleh mikrobiota di kolon menghasilkan *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) yang terdiri atas asetat, butirat, dan propionat. Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan bahan makanan kaya RS dengan kadar amilosa-amilopektin sebesar 9,69% lebih banyak dibandingkan



padi dan jagung. Modifikasi pati menggunakan teknik *autoclaving-cooling* dapat membentuk RS tipe 3 serta meningkatkan kadar amilosa-amilopektin tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek RS tipe 3 singkong dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus model diabetes.

Desain penelitian yang digunakan yaitu *true experimental post-test only control group design*. Jumlah sampel penelitian yaitu 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). Pemeriksaan karakteristik awal tikus dilakukan dengan mengukur berat badan (BB) dan kadar trigliserida. Kelompok K(-), P1, dan P2 diberi pakan *High Fat Diet* (HFD) kuning telur 0,01 mg/kgBB selama 4 minggu dan diikuti induksi Streptozotocin (STZ) dosis rendah 35 mg/kgBB. Pengukuran tes toleransi glukosa oral untuk memastikan telah terbentuk tikus model diabetes dilakukan tujuh hari setelah induksi STZ. Kemudian dilanjutkan dengan pemberian diet selama 4 minggu. KN diberi 30 g diet standar, K(-) 30 g diet standar, P1 20 g RS tipe 3 dan 10 g diet standar, serta P2 20 g pati singkong dan 10 g diet standar. Pengukuran kadar trigliserida dilakukan dengan metode GPO-PAP. Data tes toleransi glukosa oral dianalisis dengan uji *Kruskal-wallis* sedangkan kadar trigliserida sesudah perlakuan diet dianalisis dengan *One Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey*. Hasil penelitian didapatkan perbedaan kadar trigliserida yang signifikan antara kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok diet standar (K-) meskipun tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar trigliserida antar kelompok diet RS tipe 3 (P1) dan diet pati (P2) ( $p > 0,05$ ). Pada penelitian ini RS tipe 3 dapat menurunkan kadar trigliserida tikus model diabetes. Penurunan kadar trigliserida terjadi akibat RS tipe 3 singkong dapat mengaktifkan AMPK di berbagai jaringan melalui *Free Fatty Acid Receptor* (FFAR) 2 dan 3. Di adiposa, AMPK menyebabkan aktivitas LPL meningkat sedangkan HSL menurun. Pada jaringan otot dan liver, AMPK menyebabkan penurunan lipogenesis dan peningkatan oksidasi *Fatty Acids* (FA) serta ambilan glukosa. Berdasarkan hal tersebut, maka RS tipe 3 dapat dijadikan inovasi perencanaan diet bagi pasien DM terutama yang disertai dengan hipertrigliseridemia.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Resistant Starch* Tipe 3 Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Menurunkan Kadar Trigliserida Tikus Model Diabetes”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang telah diberikan dalam menempuh Pendidikan Dokter di Universitas Jember.
2. dr. Hairrudin, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi selama penulis menjadi mahasiswa.
3. dr. Elly Nurus Sakinah M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Laksmi Indreswari, Sp.B selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam proses penyusunan skripsi ini.
4. dr. Ika Rahmawati Sutejo, M.Biotech dan dr. Cicih Komariah, Sp.M selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu dan pikiran untuk menguji serta membimbing skripsi ini.
5. Ibu Imyati dan Ayah Suhadi yang telah mendukung secara moril dan materiil, kasih sayang, dan doa yang tiada henti.
6. Adik saya Maulia Ilma Silsabila yang selalu memberikan semangat dan doa.
7. Rekan skripsi saya Ariani Widiastini dan Maria Ulfa yang terus memberikan dukungan, bantuan, dan canda tawa selama berjuang untuk menyelesaikan penelitian ini.

8. Deva Artian yang telah membantu, memberikan dukungan, motivasi, dan doa selama penelitian berlangsung.
9. Sahabat-sahabatku tercinta Taufanny Putri Pratiwi, Dimas Wahyu Rilo Fambudi, Silfia Dian Safitri, Mochammad Shobirin, Mahliyatn Muzayyana, Ida Nuri, Sri Pujiana Sari, Dewi Rekno, Gabriel Raharjo, Brilliant Givya Ariansari, Ferry Fitriya Ayu, Systriana Esi, Mardhiyyah Nurul Hasanah, Sastika Herdiyanti, Masyhudi, Dian Teguh Prasetyo, Ida Nurtafia, Ferdy Eka Pratama, Saifur Romadhony, Suhariyanti Mahardika, Azza Muslichah, Ilham Erwahyudha, Faisal Ali, dan Danang yang telah memberikan motivasi dan doa dalam menyelesaikan skripsi.
10. Analis dan Teknisi Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan IPA Universitas Jember serta Laboratorium Biosains Politeknik Jember yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.
11. Seluruh Civitas Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang senantiasa membantu dalam pengurusan administrasi skripsi.
12. Seluruh angkatan 2014 (Elixir) yang telah memberikan doa dan semangat selama duduk di bangku perkuliahan.
13. Seluruh anggota Badan Perwakilan Mahasiswa (BPM) periode 2015/2016 dan 2016/2017 yang telah membantu memenuhi tanggung jawab dan memberikan doa selama penelitian ini berlangsung.
14. Teman-teman KKN-40 yang telah memberikan semangat dan doa dalam penyelesaian skripsi ini.
15. Teman-teman Oscar yang selalu memberikan semangat, doa, dan canda tawa
16. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Jember, Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

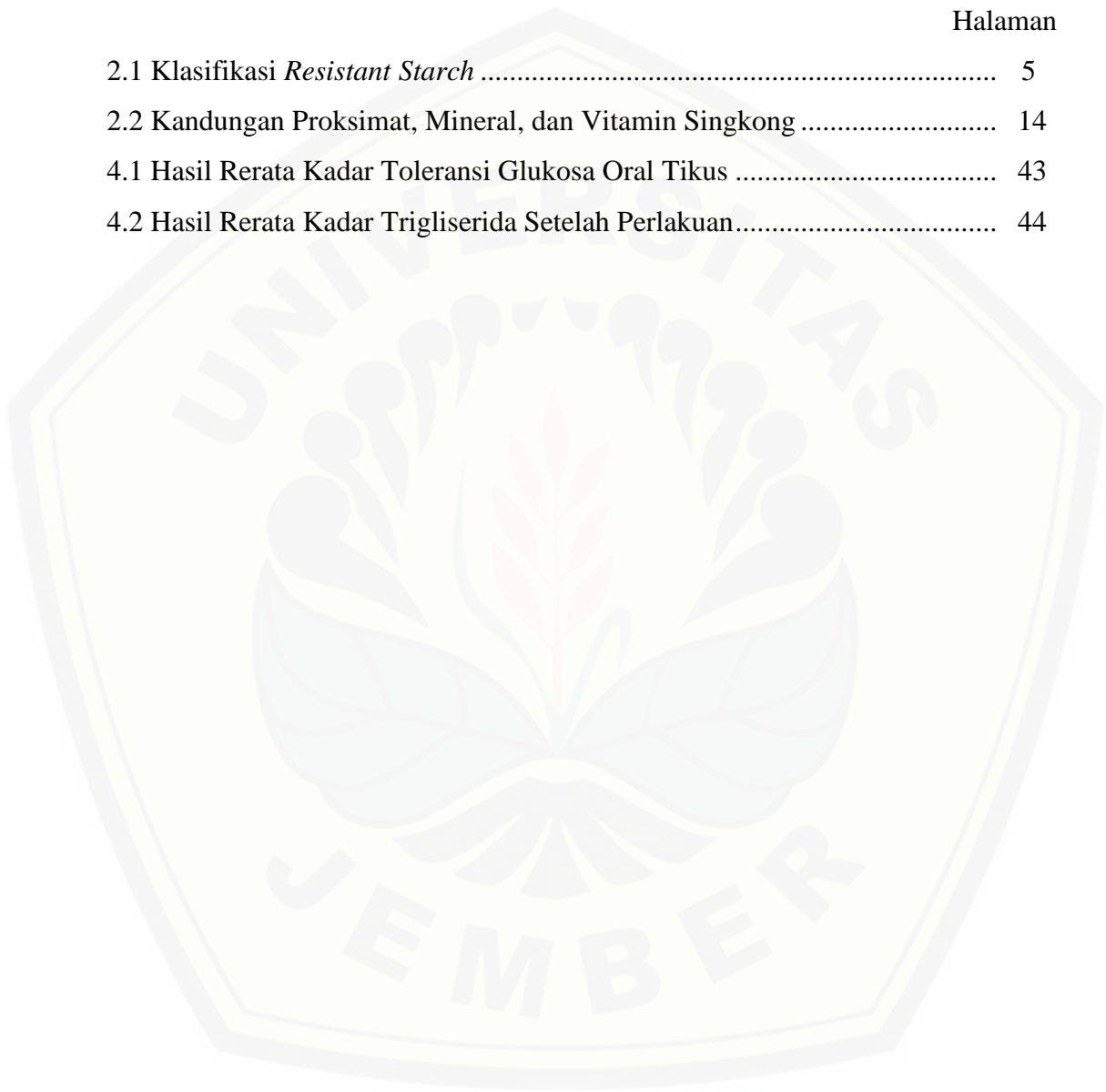
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</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> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 <i>Resistant Starch</i></b> .....	4
2.1.1 <i>Definisi Resistant Starch</i> .....	4
2.1.2 <i>Struktur Resistant Starch</i> .....	4
2.1.3 <i>Klasifikasi Resistant Starch</i> .....	5
2.1.4 <i>Resistant Starch Tipe 3</i> .....	6
2.1.5 <i>Aktivitas Resistant Starch</i> .....	7
2.1.6 <i>Mekanisme Resistant Starch terhadap</i> <i>Diabetes Mellitus Tipe 2</i> .....	8
2.1.7 <i>Mekanisme Resistant Starch pada Metabolisme Lipid</i> .....	9
2.1.8 <i>Analisis Resistant Starch</i> .....	10
<b>2.2 Singkong (<i>Manihot esculenta</i> Crantz)</b> .....	12
2.2.1 <i>Taksonomi dan Morfologi</i> .....	12
2.2.2 <i>Varietas Singkong</i> .....	13
2.2.3 <i>Komposisi Singkong</i> .....	13
2.2.4 <i>Kandungan Resistant Starch pada Singkong</i> .....	14
<b>2.3 Triglicerida</b> .....	14
2.3.1 <i>Fungsi Triglicerida</i> .....	14
2.3.2 <i>Struktur Kimia Triglicerida</i> .....	15
2.3.3 <i>Metabolisme Triglicerida</i> .....	16

<b>2.4 Diabetes Mellitus Tipe 2</b> .....	20
2.4.1 Etiologi .....	20
2.4.2 Patofisiologi.....	20
2.4.3 Hipertrigliseridemia pada Diabetes Mellitus Tipe 2.....	21
2.4.4 Diagnosis .....	23
2.4.5 Tata Laksana.....	23
<b>2.5 Tikus Model Diabetes</b> .....	27
<b>2.6 Kerangka Konseptual</b> .....	29
<b>2.7 Hipotesis Penelitian</b> .....	30
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	31
<b>3.1 Rancangan Penelitian</b> .....	31
<b>3.2 Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	32
3.2.1 Populasi Penelitian .....	32
3.2.2 Sampel Penelitian .....	32
3.2.3 Besar Sampel Penelitian .....	32
<b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	32
<b>3.4 Variabel Penelitian</b> .....	33
<b>3.5 Definisi Operasional</b> .....	33
3.5.1 Diet Pati Singkong.....	33
3.5.2 Diet <i>Resistant Starch</i> Tipe 3 Singkong.....	33
3.5.3 Tikus Model Diabetes.....	33
3.5.4 Kadar Trigliserida.....	33
3.5.5 Usia dan Berat Badan Tikus .....	34
3.5.6 Jenis Kelamin .....	34
3.5.7 Pemeliharaan dan Perlakuan Tikus.....	34
3.5.8 Nafsu Makan Buruk.....	34
3.5.9 Tikus Diare .....	34
<b>3.6 Bahan dan Alat Penelitian</b> .....	35
3.6.1 Bahan Penelitian .....	35
3.6.2 Alat Penelitian .....	35
<b>3.7 Alur dan Prosedur Penelitian</b> .....	35
3.7.1 Randomisasi Sampel.....	35
3.7.2 Prosedur Pembuatan <i>Resistant Starch</i> Tipe 3 Singkong .....	35
3.7.3 Analisis Struktur <i>Resistant Starch</i> dengan <i>Scanning Electron Microscope</i> .....	36
3.7.4 Prosedur Pembuatan Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe 2.....	36
3.7.5 Pemeriksaan Tes Toleransi Glukosa Oral .....	37
3.7.6 Pemeriksaan Kadar Trigliserida .....	37
<b>3.8 Skema Alur Penelitian</b> .....	38
<b>3.9 Skema Prosedur Penelitian</b> .....	39
<b>3.10 Analisis Data</b> .....	40
<b>3.11 Etik Penelitian</b> .....	40
<b>3.12 Data dan Sumber Data</b> .....	40
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	41
<b>4.1 Hasil Penelitian</b> .....	41

4.1.1 Hasil <i>Scanning Electron Microscope</i> Pati dan <i>Resistant Starch</i> Tipe 3 Singkong .....	41
4.1.2 Karakteristik Awal Sampel Penelitian.....	42
4.1.3 Hasil Tes Toleransi Glukosa Oral Tikus .....	42
4.1.4 Hasil Kadar Trigliserida Setelah Pemberian Diet Pati dan <i>Resistant Starch</i> Tipe 3 singkong .....	43
<b>4.2 Analisis Data</b> .....	44
<b>4.3 Pembahasan</b> .....	45
4.3.1 Efek <i>Autoclaving-cooling</i> terhadap Struktur Pati Singkong .....	45
4.3.2 Pembuatan Tikus Model Diabetes.....	46
4.3.3 Efek pemberian Pati dan <i>Resistant Starch</i> Tipe 3 Singkong terhadap Kadar Trigliserida.....	47
4.3.4 Keterbatasan Penelitian .....	49
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	50
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran.....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	51
<b>LAMPIRAN</b> .....	60

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Klasifikasi <i>Resistant Starch</i> .....	5
2.2 Kandungan Proksimat, Mineral, dan Vitamin Singkong .....	14
4.1 Hasil Rerata Kadar Toleransi Glukosa Oral Tikus .....	43
4.2 Hasil Rerata Kadar Triglicerida Setelah Perlakuan.....	44



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Struktur Amilosa dan Amilopektin .....	4
2.2 Struktur Molekul <i>Resistant Starch</i> Tipe 3.....	6
2.3 <i>Short Chain Fatty Acid</i> dan Interaksi antar Organ.....	7
2.4 Struktur Pati dan <i>Resistant Starch</i> Tipe 3 Singkong pada SEM .....	12
2.5 Struktur Triglisierida .....	15
2.6 Pengangkutan <i>Fatty Acid</i> ke dalam Mitokondria.....	18
2.7 Proses Oksidasi $\beta$ <i>Fatty Acid</i> .....	19
2.8 Peran Insulin terhadap Metabolisme Triglisierida .....	22
2.9 Kerangka Konsep Penelitian .....	29
3.1 Rancangan Penelitian .....	31
3.2 Alur Ekstraksi Singkong .....	38
3.3 Alur Pembuatan <i>Resistant Starch</i> Tipe 3 Singkong.....	38
3.4 Prosedur Perlakuan Hewan Coba.....	39
4.1 Hasil Pengamatan Pati Singkong dan RS Tipe 3 Dengan SEM .....	41
4.2 Persebaran Berat Badan Hewan Coba.....	42



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Lembar Determinasi Singkong .....	60
3.2 Lembar Persetujuan Etik .....	61
3.3 Penghitungan Dosis.....	62
4.1 Pengukuran Berat Badan, Toleransi Glukosa Oral, serta Kadar Trigliserida Awal dan Setelah Perlakuan .....	64
4.2 Analisis Data Toleransi Glukosa Oral dan Kadar Trigliserida Setelah Perlakuan .....	65
4.3 Rerata Asupan Diet Tikus .....	68
4.4 Dokumentasi Penelitian .....	68

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan kelainan metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia kronis disertai gangguan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak (Baynest, 2015). DM dibagi menjadi empat tipe yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, diabetes gestasional, dan jenis diabetes spesifik lainnya (Price dan Wilson, 2005). Data dari WHO (2016) menunjukkan terjadi peningkatan prevalensi diabetes di seluruh dunia dari tahun 1980 hingga 2014 sebesar 3,8%. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, prevalensi DM di Indonesia sebesar 6,9 % dari 176 juta jiwa usia di atas 15 tahun di mana DM tipe 2 menyumbang sekitar 90-95% kasus dari semua kasus diabetes (Kemenkes RI, 2014; ADA, 2017). DM tipe 2 disebut juga *non insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM) terjadi akibat adanya resistensi insulin dan disfungsi sel  $\beta$  pankreas. Sekitar 80% pasien DM tipe 2 mengalami obesitas (Price dan Wilson, 2005). Menurut Mihardja *et al.* (2014), prevalensi DM pada usia produktif penduduk Indonesia di perkotaan yaitu sebesar 4,6% dan lebih dari 50% disertai dengan dislipidemia. Dislipidemia banyak terjadi pada keadaan DM karena jalur utama metabolisme lipid dipengaruhi oleh produksi dan aktivitas insulin. Dislipidemia pada pasien diabetik ditandai dengan tingginya kadar trigliserida dan *small dense Low Density Lipoprotein* (sdLDL) serta rendahnya kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) (Taskinen, 2002; Mooradian, 2009).

Peningkatan kadar trigliserida darah sebesar  $>150$  mg/dL atau hipertrigliseridemia dianggap memainkan peran penting dalam menentukan profil lipid pada dislipidemia diabetes. Hipertrigliseridemia ditandai dengan peningkatan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang merupakan lipoprotein pengangkut trigliserida paling dominan. Pada jaringan adiposa, resistensi insulin menurunkan pembersihan VLDL melalui penurunan aktivitas Lipoprotein Lipase (LPL) pada endotel kapiler adiposa dan meningkatkan aktivitas *Hormone Sensitive Lipase*

(HSL) untuk mengaktifkan lipolisis trigliserida menjadi *Free Fatty Acid* (FFA) yang bertindak sebagai substrat pembentukan dan sekresi VLDL (Wu dan Parhofer, 2014). Resistensi insulin juga menyebabkan akumulasi FFA di sitosol karena FFA tidak dapat dioksidasi di mitokondria sehingga akan diubah oleh enzim *Acetyl-CoA Carboxylase* (ACC) untuk lipogenesis (Cahová *et al.*, 2007).

Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (Perkeni) tahun 2015 mengatakan terdapat empat pilar dalam pengelolaan DM agar tidak berlanjut pada dislipidemia yang sering diasosiasikan dengan komplikasi DM salah satunya yaitu dengan terapi nutrisi. Pemilihan terapi nutrisi yaitu dapat dengan mengonsumsi *Resistant Starch* (RS) yang telah terbukti meningkatkan penyerapan nutrisi dan memperbaiki metabolisme insulin (Klop *et al.*, 2013). RS merupakan pati yang tersusun dari fraksi amilosa-amilopektin yang tidak dapat dicerna oleh enzim amilase dalam saluran pencernaan atas, tetapi dapat difermentasi oleh bakteri kolon untuk memproduksi *Short-Chain Fatty Acid* (SCFA) yang terdiri atas asetat, butirat, dan propionat (Sajilata *et al.*, 2006; Wong *et al.*, 2006). Pada penelitian Matsuda *et al.* (2016) menunjukkan pada tikus *Sprague–Dawley* jantan terjadi penurunan kadar kolesterol dan trigliserida posprandial setelah mengonsumsi RS jagung. RS dapat mempengaruhi metabolisme lipid di jaringan sensitif insulin dengan mengaktifkan *Adenosine Monophosphate Activated Protein Kinase* (AMPK) melalui reseptor *Free Fatty Acid Receptor* (FFAR) 2 dan FFAR 3 (Besten *et al.*, 2013; Canfora *et al.*, 2015).

Singkong memiliki kandungan amilosa-amilopektin tahan cerna lebih besar yaitu 9,69% dibandingkan padi dan jagung yang hanya mengandung 2,15% dan 1,16% secara berturut-turut (Moongngarm, 2013). RS memiliki berbagai tipe, salah satunya yaitu tipe 3 yang dihasilkan akibat gelatinisasi dan retrogradasi selama proses *autoclaving-cooling* (Ai, 2013). Penelitian Zahruniya (2014) menunjukkan bahwa singkong yang dimodifikasi fisik dengan metode *autoclaving-cooling* satu siklus dapat meningkatkan kadar amilosa-amilopektin sebesar 12,4% hingga 31,9%. Hal tersebut menandakan singkong berpotensi sebagai sumber RS. Penelitian tentang pemanfaatan RS tipe 3 singkong terhadap kadar trigliserida belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan

penelitian lebih lanjut tentang kemampuan RS tipe 3 singkong dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus model diabetes.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah penelitian ini yaitu apakah RS tipe 3 singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dapat menurunkan kadar trigliserida tikus model diabetes.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui efek pemberian RS tipe 3 singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dalam menurunkan kadar trigliserida tikus model diabetes.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Berdasarkan latar belakang tersebut, manfaat penelitian yang diharapkan yaitu sebagai berikut.

#### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah di bidang kesehatan tentang kemampuan RS tipe 3 singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dalam menurunkan kadar trigliserida pada DM tipe 2.

#### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian uji klinis pada manusia serta pengembangan perencanaan nutrisi menggunakan RS tipe 3 singkong (*Manihot esculenta* Crantz) pada pasien DM tipe 2 yang disertai dislipidemia terutama hipertrigliseridemia.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

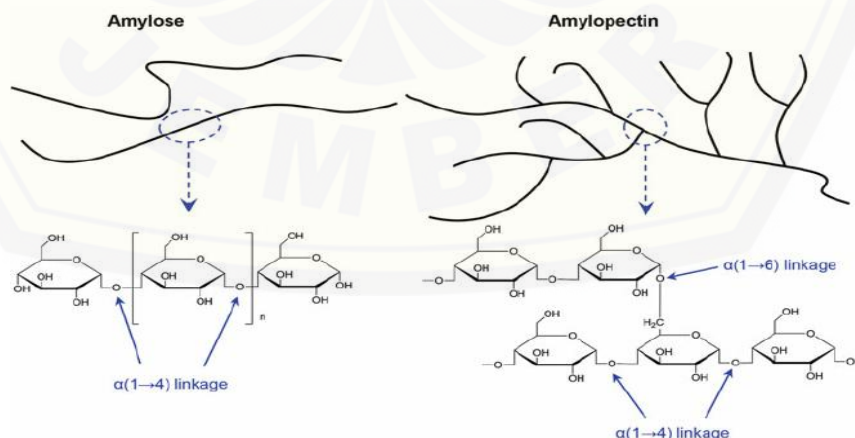
### 2.1 *Resistant Starch*

#### 2.1.1 Definisi *Resistant Starch*

Pati adalah karbohidrat yang terdiri atas fraksi amilosa dan amilopektin. Pati dikelompokkan menjadi *Rapid Digestible Starch* (RDS) dan *Slowly Digestible Starch* (SDS). Contoh RDS yaitu beras dan kentang yang telah dimasak dan contoh SDS yaitu pati sereal, pasta, dan *Resistant Starch* (RS) (Englyst *et al.*, 1992). RS merupakan suatu bentuk pati dan prebiotik yang dapat mengubah komposisi organisme di usus dan tidak dapat dihancurkan oleh enzim amilase di saluran pencernaan atas. Namun, RS dapat difermentasi oleh mikrobiota di kolon dan memproduksi *Short Chain Fatty Acids* (SCFA) (Lei, 2015).

#### 2.1.2 Struktur *Resistant Starch*

RS terdiri atas amilosa dan amilopektin tahan cerna. Amilosa merupakan polimer berbentuk linier dengan ikatan  $\alpha$ -(1→4) glikosidik sedangkan amilopektin berbentuk bercabang dengan ikatan  $\alpha$ -(1→4) glikosidik dan  $\alpha$ -(1→6) glikosidik pada rantai samping (Herawati, 2011). Struktur amilosa dan amilopektin pada pati ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur amilosa dan amilopektin (Sumber: Xie *et al.*, 2014)

Sajilata *et al.* (2006) mengatakan sekitar 70% massa granula pati dianggap amorf dan sekitar 30% sebagai kristal. Bagian amorf mengandung jumlah amilosa utama dan sebagian besar amilopektin sedangkan daerah kristalin terdiri dari amilopektin. Pada pemeriksaan difraksi *x-ray*, terdapat tiga tipe pati yang ditentukan oleh panjang rantai amilopektin, rapatnya granul, dan keberadaan air yaitu sebagai berikut.

- a. Tipe A: Tipe ini memiliki panjang rantai amilopektin 23-39 unit glukosa. Rantai linier dari amilosa membentuk ikatan hidrogen dengan rantai luar linier amilopektin. Pola ini sangat umum di sereal.
- b. Tipe B: Struktur ini terdiri atas amilopektin dengan panjang rantai 30-44 molekul glukosa dan terdapat persebaran air. Pola ini biasa pada pati dalam kentang mentah dan pisang.
- c. Tipe C: Tipe ini terdiri atas kombinasi tipe A dan tipe B.

### 2.1.3 Klasifikasi *Resistant Starch*

RS diklasifikasikan menjadi lima tipe berdasarkan sumber dan prosedur pengolahannya. Klasifikasi tersebut disajikan pada Tabel 2.1.

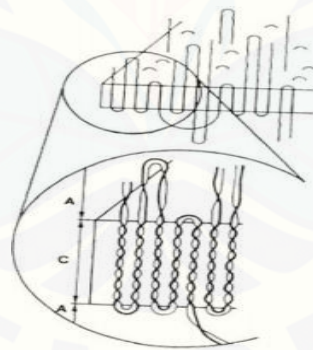
Tabel 2.1 Klasifikasi *resistant starch*

Tipe RS	Deskripsi	Sumber
1	Granula pati dilindungi oleh protein matriks dan material dinding sel	Biji-bijian yang digiling sebagian atau seluruhnya dan kacang polong
2	Pati yang tidak tergelatinisasi	Kentang mentah, pisang hijau, pati ginkgo, dan pati jagung tinggi amilosa ( <i>Hi-Maize</i> )
3	Pati teretrogradasi	Bahan makanan yang dipanaskan (gelatinisasi) dan didinginkan (retrogradasi)
4	Pati yang dimodifikasi secara kimia	Roti dan kue tertentu
5	Pati yang dimodifikasi dengan lipid	Pati jagung yang dicampur dengan <i>Free Fatty Acid</i>

(Sumber: Sajilata *et al.*, 2006; Ai, 2013; Jyothsna dan Hymavathi, 2017)

#### 2.1.4 Resistant Starch Tipe 3

RS tipe 3 merupakan amilosa pati yang teretrogradasi misalnya pati makanan dengan proses pemanasan dan pendinginan (Ai, 2013). RS tipe 3 sangat diminati karena stabilitas termalnya. Hal tersebut memungkinkan RS tipe 3 stabil dalam sebagian besar pemanasan dan penggunaan sebagai bahan berbagai jenis makanan konvensional (Haralampu, 2000). Pembuatan RS tipe 3 terdiri atas dua tahap yaitu gelatinisasi dan retrogradasi. Proses gelatinisasi menggunakan *autoclaving* dengan suhu 121 °C bertujuan agar granula pati bengkak dengan pemanasan sehingga amilosa keluar. Pati yang telah tergelatinisasi kemudian masuk proses *cooling* dengan suhu 4 °C sehingga mengalami retrogradasi (Sugiyono *et al.*, 2009). Retrogradasi pati disebabkan oleh molekul amilosa karena ikatan hidrogen antar molekul amilosa lebih mudah terbentuk (Faridah, 2011). Fraksi amilosa saling berikatan melalui ikatan hidrogen membentuk struktur *double helix* dan akan berikatan dengan *double helix* yang lain membentuk kristal (Sajilata *et al.*, 2006). Struktur RS tipe 3 ditampilkan pada Gambar 2.2.



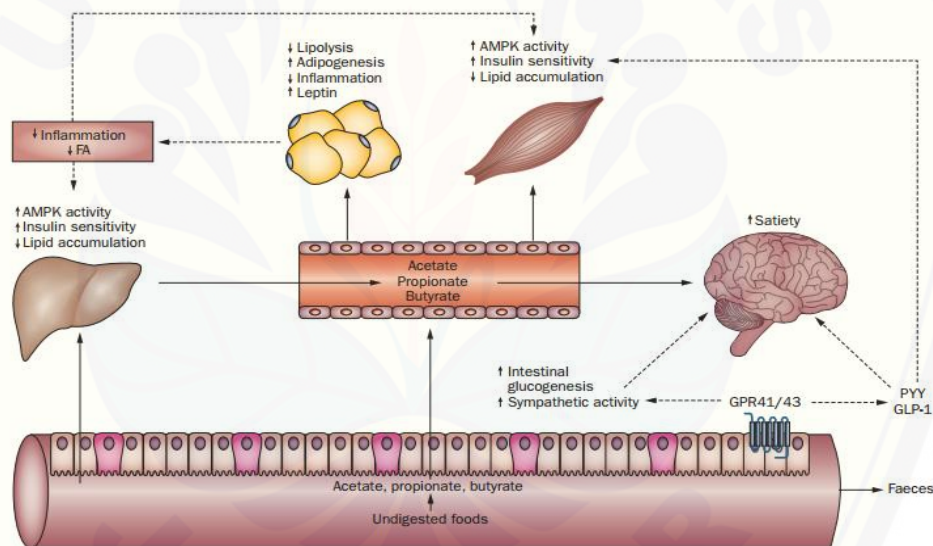
Gambar 2.2 Struktur molekul *resistant starch* tipe 3. *Double helix* terdapat pada struktur kristal (C) diselingi dengan daerah amorf (A). (Sumber: Sajilata *et al.*, 2006)

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi kadar RS yang dihasilkan yaitu rasio amilosa-amilopektin pada pati, suhu pemanasan dan pendinginan, dan banyaknya siklus pada proses modifikasi (Sajilata *et al.*, 2006). Faktor lain yang mempengaruhi proses pembuatan RS tipe 3 yaitu konsentrasi suspensi pati. Pembentukan RS tipe 3 berlangsung paling optimum apabila konsentrasi suspensi

pati dalam air sebesar 20% (w/w) karena jika konsentrasi suspensi pati lebih kecil atau lebih besar dari 20% (w/w) akan menghasilkan kadar RS tipe 3 yang cenderung sedikit. Hal tersebut disebabkan air sangat mempengaruhi ekspansi matriks pati dan gelatinisasi granula (Setiarto *et al.*, 2015).

### 2.1.5 Aktivitas *Resistant Starch*

RS akan difermentasi oleh mikrobiota di kolon menghasilkan SCFA yang terdiri atas asetat, butirat, dan propionat dengan rasio 3:1:1 secara berturut-turut. SCFA memiliki reseptor yaitu *Free Fatty Acid Receptor* (FFAR) 2 dan 3 di berbagai jaringan (Canfora *et al.*, 2015). Interaksi RS dengan berbagai organ ditampilkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 *Short Chain Fatty Acid* dan interaksi antar organ (Sumber: Canfora *et al.*, 2015)

Kecepatan dan jumlah produksi SCFA bergantung pada spesies dan jumlah mikrobiota yang ada di kolon, sumber substrat, dan waktu transit usus. SCFA berikatan dengan reseptornya di kolon yang menyebabkan peningkatan aktivitas simpatik dan sekresi hormon Peptida YY (PYY) serta *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1) untuk mengatur energi, homeostasis glukosa, dan rasa kenyang. Butirat digunakan sebagai sumber energi utama untuk kolonosit. Butirat



memberi nutrisi pada mukosa kolon dan mencegah terjadinya kanker kolon dengan mempromosikan diferensiasi sel, menghentikan siklus sel, dan apoptosis kolonosit. Butirat juga menghambat enzim deasetilase histon serta menurunkan transformasi asam empedu primer ke sekunder sebagai akibat dari pengasaman kolon. Propionat dan butirat dapat menyebabkan glukoneogenesis usus dan aktivitas simpatik sehingga meningkatkan homeostasis glukosa dan energi. Sejumlah kecil propionat, butirat, dan asetat mencapai sirkulasi yang dapat secara langsung mempengaruhi jaringan adiposa perifer, liver, dan otot melalui pengaktifan *Adenosine Monophosphate Activated Protein Kinase* (AMPK). Asetat juga mungkin diambil oleh otak untuk mengatur rasa kenyang melalui mekanisme homeostatik sentral. (Wong *et al.*, 2006; Canfora *et al.*, 2015).

#### 2.1.6 Mekanisme *Resistant Starch* terhadap Diabetes Mellitus Tipe 2

Disregulasi homeostasis karbohidrat dan hiperglikemi akibat aktivitas insulin merupakan kelainan fisiologis yang penting pada DM tipe 2. Penelitian Robertson *et al.* (2005) menunjukkan konsumsi RS 30 g/hari pada manusia dapat memperbaiki sensitivitas insulin. Sun *et al.* (2017) mengatakan RS juga dapat meningkatkan metabolisme glukosa dan memperbaiki disfungsi pankreas melalui penurunan ekspresi gen *Phosphoenolpyruvate Carboxykinase* (PEPCK) dan *Glucose-6-Phosphatase* (G6Pase) serta meningkatkan ekspresi *Pancreatic Duodenal homoeobox* (PDX-1), *Glucokinase* (GK), *Glucose Transporter 2* (GLUT-2), *Insulin Receptor Substrat* (IRS-1), dan IRS-2 pada tikus yang diberikan *High Fat Diet* (HFD) kemudian diinduksi Streptozotocin (STZ). PEPCK merupakan enzim yang mengatalisis sintesis G6P dari prekursor non-karbohidrat sedangkan G6Pase mengatalisis defosforilasi G6P menjadi glukosa. PEPCK dan G6Pase merupakan indikator sensitif glukoneogenesis terhadap adipogenesis di liver pada keadaan diabetes. Sebaliknya, ekspresi PDX-1 mengatur perkembangan pankreas, diferensiasi sel  $\beta$  pankreas, dan pematangan fungsi sel  $\beta$  serta secara langsung mengatur ekspresi GK dan GLUT-2 yang memfasilitasi masuknya glukosa hepatik sehingga kadar glikogen hati meningkat dan kadar glukosa sirkulasi menurun. Ekspresi gen yang terjadi pada mekanisme

tersebut terjadi akibat pengaktifan AMPK oleh SCFA. SCFA juga mempengaruhi kadar glukosa melalui peningkatan produksi GLP-1 dan PYY. GLP-1 meningkatkan insulin dan menurunkan produksi glukagon di pankreas sedangkan PYY meningkatkan penyerapan glukosa pada jaringan otot dan adiposa (Besten *et al.*, 2013; Hashemi *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2017).

#### 2.1.7 Mekanisme *Resistant Starch* pada Metabolisme Lipid

Penggantian 5,4% diet dengan RS dari total diet karbohidrat dapat meningkatkan oksidasi lipid posprandial sehingga terjadi pengurangan akumulasi lipid (Higgins *et al.*, 2004). Mekanisme RS dalam menurunkan kadar lipid yaitu dengan cara RS mengikat asam empedu sehingga menyebabkan ekskresi asam empedu pada feses meningkat. Liver mensintesis asam empedu baru dari lipid untuk mengimbangi asam empedu yang diekskresikan sehingga menurunkan kadar lipid serum terutama kolesterol (Noomhorm *et al.*, 2014).

SCFA mempengaruhi metabolisme lipid dengan mengaktifkan AMPK melalui rasio AMP/ATP. Aktivasi AMPK memicu ekspresi *peroxisome proliferator-activated reseptor gamma coactivator* (PGC-1 $\alpha$ ) yang diketahui dapat mengendalikan aktivitas transkripsional beberapa faktor transkripsi seperti *Peroxisome Proliferator Activated Receptor* (PPAR)  $\delta$ ,  $\alpha$ , dan  $\gamma$  yang semuanya penting dalam pengaturan metabolisme lipid (Besten *et al.*, 2013).

Pada jaringan adiposa, SCFA akan berikatan dengan FFAR 2 untuk menghambat *adenylate cyclase* (AC) sehingga rasio AMP/ATP semakin meningkat dan menyebabkan protein kinase A (PKA) dihambat yang berdampak pada penurunan HSL. SCFA juga mempengaruhi aktivitas LPL untuk meningkatkan simpanan trigliserida intraseluler dan menghambat respon inflamasi dengan menurunkan aktivitas faktor transkripsi *Nuclear Factor Kappa B* (NF- $\kappa$ B). Hal tersebut menyebabkan peningkatan penyimpanan trigliserida dalam jaringan adiposa dan pelepasan FFA ke sistemik berkurang (Nugent, 2005; Carmen dan Victor, 2006; Canfora *et al.*, 2015).

Pada otot rangka, berkurangnya FFA di sirkulasi menyebabkan penyimpanan lipid ektopik pada otot juga berkurang. Aktivasi AMPK dan PPAR

meningkatkan oksidasi FA serta meningkatkan pengambilan glukosa melalui GLUT-4 dan penyimpanan glikogen (Canfora *et al.*, 2015). Aktivasi AMPK oleh SCFA di organ liver menyebabkan perubahan sintesis FA ke oksidasi FA dengan menghambat enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl-KoA (HMG-KoA) reduktase dan *Acetyl-CoA Carboxylase* (ACC) yang merupakan enzim penting dalam sintesis kolesterol dan FA. Inaktivasi ACC menyebabkan penurunan produk malonil-KoA yang merupakan inhibitor enzim pada proses oksidasi FA (Besten *et al.*, 2015).

#### 2.1.7 Analisis *Resistant Starch*

Beberapa analisis yang dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan modifikasi pati terhadap RS yang dihasilkan yaitu sebagai berikut.

##### a. Analisis Daya Cerna Pati

Daya cerna pati merupakan tingkat kemudahan suatu jenis pati untuk dihidrolisis enzim pencernaan dan biasanya digunakan sebagai parameter awal karena pati yang dimodifikasi dengan daya cerna lebih rendah memiliki kandungan RS yang lebih tinggi (Sugiyono *et al.*, 2009). Beberapa penelitian menganalisis daya cerna pati mengacu pada metode Muchtadi *et al.* (1989) di mana sampel dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi unit-unit kecil seperti maltosa. Selanjutnya, maltosa direaksikan dengan asam dimetilsalisilat diukur menggunakan spektrofotometri yang akan menghasilkan warna jingga yang intensitas warnanya berbanding lurus dengan kadar maltosa. Daya cerna pati dihitung dengan presentase relatif terhadap pati murni di mana pati murni diasumsikan dapat dicerna dengan sempurna oleh enzim pencernaan (Sugiyono *et al.*, 2009).

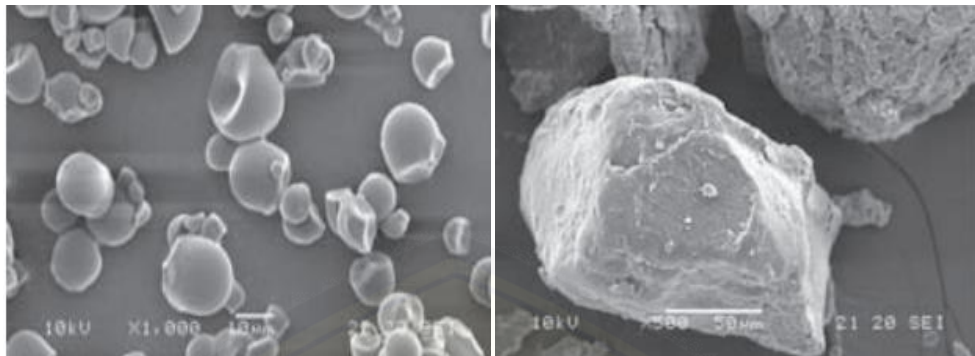
##### b. Analisis Kadar Amilosa

RS ditentukan sifatnya berdasarkan rasio kadar amilosa-amilopektin. Untuk menguji kadar amilosa menggunakan metode iodo kolorimetri. 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, maka kadar

amilosa akan semakin tinggi (Akhyar, 2009). Kadar amilosa dalam bahan pangan pati digolongkan menjadi empat kelompok yaitu kadar amilosa sangat rendah dengan kadar <10%, kadar amilosa rendah 10-20%, kadar amilosa sedang 20-24%, dan kadar amilosa tinggi >25% (Aliawati, 2003). Kadar amilosa pada singkong sekitar 13,26 – 23,8%. Proses *autoclaving-cooling* yang dilakukan pada modifikasi pati akan menghasilkan fraksi amilosa teretrogradasi atau terkristalisasi semakin banyak (Aparicio-Saguilán *et al.*, 2005).

c. Analisis Struktur dengan *Scanning Electron Microscope*

Struktur pati berpengaruh terhadap tingkat resistensi pati terhadap enzim pencernaan. Zat pati terdiri atas butiran kecil yang disebut granula yang berbentuk semi kristalin. Ukuran granula pati juga berpengaruh terhadap tingkat ketahanan pati. Pati dengan ukuran granula kecil akan lebih mudah dihidrolisis oleh enzim dibandingkan pati yang memiliki ukuran granula besar (Jane dan Chen, 1992). Pada penelitian Vatanasuchart *et al.* (2010) struktur pati dan RS tipe 3 singkong pada mikroskop tampak seperti pada Gambar 2.4. Umumnya butiran pati singkong asli saat diperiksa di bawah mikroskop berukuran antara 4 hingga 35  $\mu\text{m}$  dan memiliki bulat atau oval dengan ujung yang terpotong dengan permukaan luar yang halus. Sebaliknya, RS tipe 3 terlihat seperti batu dengan ukuran besar kira-kira antara 100 sampai 200  $\mu\text{m}$  yang disebabkan oleh penggabungan fragmen pati linier setelah retrogradasi dan *freeze-drying*. Penggunaan *Scanning Electron Microscope* (SEM) bertujuan untuk mengetahui perbandingan bentuk dan ukuran pati singkong (*native*) dengan pati singkong yang dimodifikasi fisik (RS tipe 3). SEM memiliki *depth of field* yang besar sehingga dapat memfokuskan sampel yang banyak dalam satu waktu dan menghasilkan bayangan tiga dimensi. SEM juga memiliki resolusi yang tinggi sehingga gambar yang dihasilkan mendekati karakteristik sampel yang diperiksa (Vernon-Parry, 2000).



Gambar 2.4 Struktur pati dan *resistant starch* tipe 3 singkong pada SEM (Sumber: Vatanasuchart *et al.*, 2010)

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

## 2.2 Singkong (*Manihot esculenta* Crantz)

Singkong adalah nama lain dari ubi kayu atau ketela pohon. Pusat asal singkong diduga berasal dari bagian utara Amazon di wilayah Brazil lalu menyebar ke area sekelilingnya (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Indonesia merupakan negara pengekspor singkong terbesar ke-3 di Asia Tenggara setelah Thailand dan Vietnam (FAO, 2013). Kementerian pertanian (2015) mengatakan perkembangan produksi singkong di Indonesia periode 1970-2015 secara umum berfluktuasi tetapi cenderung mengalami peningkatan.

### 2.2.1 Taksonomi dan Morfologi Singkong

Klasifikasi *Manihot esculenta* Crantz menurut Rukmana (1997) yaitu sebagai berikut.

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta

Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Manihot</i>
Spesies	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz

Singkong dapat tumbuh setinggi satu hingga empat meter dan tingkat kepahitan dipengaruhi oleh kandungan glukosida sianogenik. Singkong dengan kadar 50 mg/kg masih aman untuk dikonsumsi manusia (Winarno, 2004). Ukuran tangkai daunnya panjang dengan bentuk daun menjari berjumlah 5, 7, atau 9 helai daun. Warna permukaan batang bervariasi antara lain hijau, kemerahan, keabu-abuan dan kecoklatan. Sistem perakaran serabut dan beberapa akar membentuk umbi melalui proses penebalan sekunder (Onwueme, 1978). Umbi biasanya berbentuk bulat memanjang terdiri atas kulit luar tipis berwarna kecoklatan (kering) sedangkan kulit bagian dalam agak tebal berwarna keputih-putihan (basah). Daging umbi berwarna putih atau kuning yang tergantung varietas singkong (Suprapti, 2005).

### 2.2.2 Varietas Singkong

Tanaman singkong di Indonesia telah dikembangkan terdiri atas beberapa varietas. Berdasarkan warna umbi, varietas Adira 1 dan Malang 2 mempunyai umbi berwarna kuning sedangkan varietas Adira 2, Adira 4, Malang 1, Malang 6, UJ-3, dan UJ-5 memiliki umbi berwarna putih (Suprapti, 2005). Berdasarkan penggunaannya, varietas Adira 1, Malang 1, Malang 2, dan Darul hidayah digunakan dalam pangan karena kandungan sianogenik rendah sedangkan varietas Adira 2, Adira 4, Malang 4, Malang 6, UJ-3, dan UJ-5 digunakan dalam bidang industri karena kandungan sianogenik tinggi (Direktorat Pertanian, 2005).

### 2.2.3 Komposisi Singkong

Montagnac *et al.* (2009) mengatakan komposisi gizi singkong tergantung pada jaringan tertentu (umbi atau daun) dan beberapa faktor lainnya seperti lokasi

geografis, varietas, umur tanaman dan kondisi lingkungan. Nilai gizi umbi sangat penting karena merupakan bagian utama tanaman yang banyak dikonsumsi. *United States Department of Agriculture (USDA)* dalam Montagnac *et al.* (2009) mengatakan komposisi proksimat, mineral, dan vitamin setiap 100 gram singkong ditampilkan dalam Tabel 2.2 berikut.

Tabel 2.2 Kandungan Proksimat, Mineral, dan Vitamin Singkong

Proksimat	Nilai	Mineral	Nilai	Vitamin	Nilai
Air (g)	59,68	Kalsium (mg)	16	Thiamin (mg)	0,087
Energi (Kcal)	160	Fosfor (mg)	27	Riboflavin (mg)	0,048
Protein (g)	1.36	Magnesium (mg)	21	Niasin (mg)	0,854
Total lipid (g)	0,28	Besi (mg)	0,27	Vitamin A (µg)	1
Abu (g)	0,62	Zink (mg)	0,34	Vitamin B6 (mg)	0,088
Gula (g)	1,7	Natrium (mg)	14	Vitamin C (mg)	20,06
Karbohidrat (g)	38,06	Kalium (mg)	271	Vitamin E (mg)	0,19
Serat (g)	1,8	Mangan (mg)	0,384	Vitamin K (µg)	1,9

Sumber: Montagnac *et al.* (2009)

#### 2.2.4 Kandungan *Resistant Starch* pada Singkong

Rasio amilosa dan amilopektin dalam pati berpengaruh terhadap sifat fisik dan kimia pati. Pati dengan kandungan amilosa tinggi memiliki kemampuan menyerap air dan mengembang lebih baik karena amilosa mampu membentuk ikatan hidrogen yang lebih besar dibanding amilopektin (Nugent, 2005). Singkong memiliki kadar RS 9,69% dengan rasio amilosa dan amilopektin yaitu 23:77. Singkong yang dimodifikasi fisik atau *autoclaving-cooling* bertujuan untuk meningkatkan kandungan amilosa-amilopektin karena tidak terdapat gugus ester-fosfat yang mencegah penggabungan rantai molekul. Perlakuan *cooling* juga dapat meningkatkan retrogradasi amilopektin yang proporsinya cukup besar pada singkong (Wulan *et al.*, 2006; Moongngarm, 2013).

## 2.3 Trigliserida

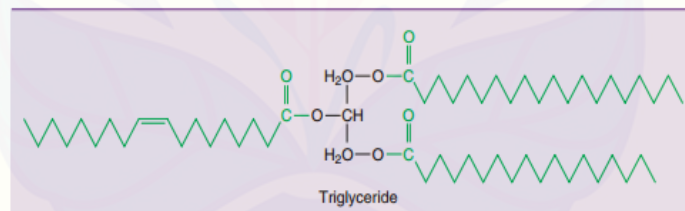
### 2.3.1 Fungsi Trigliserida

Trigliserida atau juga yang disebut triasilgliserol merupakan ester trihidrat alkohol gliserol dan *Fatty Acid* (FA) (Rodwell *et al.*, 2015). Trigliserida

digunakan dalam tubuh terutama untuk menyediakan energi berbagai proses metabolik yaitu suatu fungsi yang hampir sama dengan fungsi karbohidrat (Hall, 2011). Trigliserida merupakan bentuk utama penyimpanan energi pada jaringan adiposa. Oksidasi lengkap dari FA menghasilkan sekitar 9 kkal/g energi lebih tinggi dibandingkan hasil pemecahan karbohidrat dan protein yaitu 4 kkal/gram (Dashty, 2014). Sembilan puluh lima persen energi ini disumbang oleh asam lemak dan sisanya oleh gliserol. Jika tingkat metabolisme basal 1800 kkal/hari, simpanan 10 kg lemak atau 93.000 kkal dalam tubuh dapat membuat manusia hidup selama 52 hari tanpa makanan (Meisenberg dan Simmons, 2017).

### 2.3.2 Struktur Kimia Trigliserida

Trigliserida merupakan tiga FA yang diikat oleh satu molekul gliserol. Tiga FA yang paling sering terdapat di dalam Trigliserida di tubuh manusia yaitu asam stearat, asam oleat dan asam palmitat (Hall, 2011). Struktur trigliserida ditampilkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur trigliserida (Meisenberg dan Simmons, 2017)

Jika kandungan ketiga FA dalam trigliserida yang terbentuk sama ( $R_1=R_2=R_3$ ), maka trigliserida tersebut merupakan trigliserida sederhana namun jika salah satu FA penyusunnya tidak sama, maka trigliserida tersebut merupakan trigliserida campuran (Arita *et al.*, 2008). *Fatty Acid* (FA) yang hanya memiliki ikatan tunggal antar karbon disebut *Saturated Fatty Acids* (SFA) atau asam lemak jenuh sedangkan FA yang memiliki paling sedikit satu ikatan rangkap antar karbon disebut *unsaturated fatty acids* asam lemak tak jenuh (Meisenberg dan Simmons, 2017).



### 2.3.3 Metabolisme Triglicerida

Ada dua jalur metabolisme triglicerida yaitu jalur eksogen dan endogen.

#### a. Jalur Metabolisme Eksogen

Lemak yang berasal dari eksternal tubuh diemulsifikasi di usus oleh asam empedu yang disintesis dari kolesterol di liver. Beberapa hormon juga terlibat dalam pencernaan lemak seperti sekretin dan gastrin yang menstimulasi sekresi elektrolit pankreas, pankreozymine yang menstimulasi sekresi lipase pankreas yang mendegradasi lemak dan triglicerida, serta kolesistokinin yang menyebabkan kontraksi kantong empedu agar asam empedu masuk ke duodenum (Dashty, 2014). Selama pencernaan berlangsung, sebagian besar triglicerida dihidrolisis menjadi monogliserol dan FA oleh lipase pankreas kemudian ketika melalui sel epitel usus, monogliserol dan FA disintesis kembali menjadi triglicerida dan masuk ke dalam limfe dalam bentuk kilomikron (Hall, 2011).

Kilomikron bertanggung jawab mengangkut semua lipid dari makanan ke dalam sirkulasi. Triglicerida dalam kilomikron akan dihidrolisis oleh enzim Lipoprotein Lipase (LPL) yang diaktifkan oleh hormon insulin dan Apoprotein (Apo) C-II yang berasal dari endotel kapiler di jaringan adiposa, jantung, dan otot rangka untuk melepaskan FFA (Jim, 2013). Selanjutnya, FFA akan berdifusi ke dalam sel adiposa dan sel otot. Setelah berada di dalam sel, FA akan disintesis kembali menjadi triglicerida dengan gliserol baru yang disuplai oleh proses metabolisme sel adiposa (Hall, 2011). Insulin menghambat *Hormon Sensitive Lipase* (HSL) agar lipolisis intraselular triglicerida sitosolik tidak terjadi sehingga meningkatkan penyimpanan triglicerida di adiposit (Lewis *et al.*, 2002). Kilomikron yang kehilangan sebagian besar triglicerida disebut kilomikron *remnant* yang akan diabsorpsi oleh liver melalui proses endositosis. FFA hasil lipolisis triglicerida akan dilepaskan dari adiposit untuk dioksidasi oleh hampir semua jaringan tubuh kecuali otak. FA dioksidasi di mitokondria melalui proses oksidasi  $\beta$  (Hall, 2011).

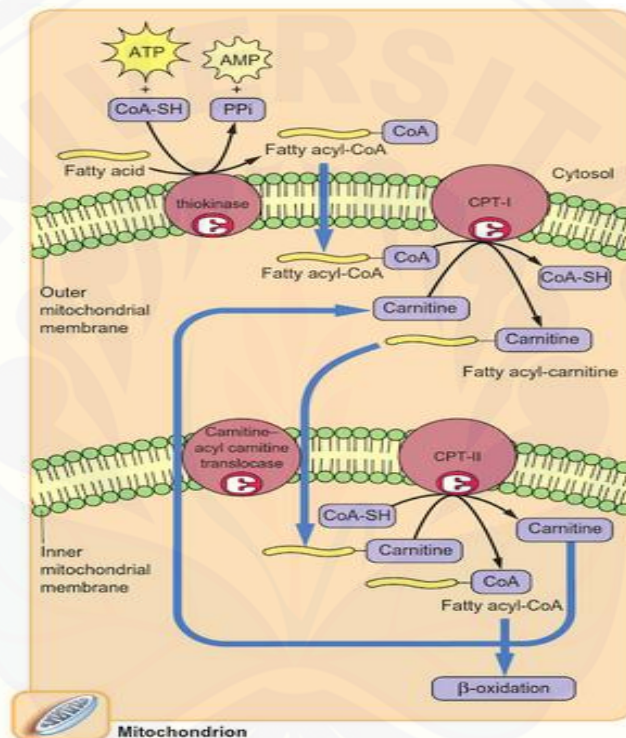
#### b. Jalur Metabolisme Endogen

Setiap hari liver menyintesis 25 hingga 50 gram trigliserida dan sejumlah kecil lipid yang lain. Lipid tersebut diangkut oleh *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) ke sirkulasi menuju jaringan perifer. VLDL disintesis di retikulum endoplasma dan apparatus golgi dengan bantuan *Microsomal Triglyceride Transfer Protein* (MTTP) serta dilepaskan melalui eksositosis (Meisenberg dan Simmons, 2017). Sintesis trigliserida liver merupakan stimulus langsung untuk sintesis dan sekresi VLDL. VLDL mengandung trigliserida, kolesteril ester, apoB-100, apoC-I, apoC-II, apoC-III, dan apoE (Dashty, 2014). Hidrolisis VLDL hampir sama dengan kilomikron yaitu dihidrolisis oleh LPL menjadi VLDL *remnant* atau *Intermediate-Density Lipoprotein* (IDL) yang nanti akan diubah bentuk menjadi *Low Density Lipoprotein* (LDL) sedangkan apoE akan pindah ke HDL. HDL menukar lipid dengan VLDL dan LDL dengan melibatkan *Cholesteryl Ester Transfer Protein* (CETP) yang mana *Cholesteryl Ester* (CE) akan ditransfer dari HDL ke VLDL sedangkan trigliserida ditransfer dari VLDL ke *High Density Lipoprotein* (HDL). Di liver terdapat *Hepatik Lipase* (HL) yang terikat di sinusoid yang berfungsi untuk menghidrolisis trigliserida pada IDL dan HDL serta memfasilitasi ambilan partikel sisa ke hepatosit. HDL juga mengalami hidrolisis melalui *Scavenger Receptor B1* (SR-B1) di liver sedangkan *clearance* LDL lebih dari 90% melalui reseptor LDL di liver, ovarium, kelenjar adrenal, paru-paru dan ginjal (Vergès, 2015; Meisenberg dan Simmons, 2017).

#### c. Oksidasi *Fatty Acid*

Sebelum dioksidasi, FA harus diaktifkan terlebih dahulu dengan bantuan Adenosine Trifosfat (ATP), Koenzim A (KoA), dan enzim asil-KoA sintetase atau thiokinase menjadi asil-KoA rantai panjang disertai pembentukan Adenosine monofosfat (AMP) dan Pirofosfatase (PPi). Asil-KoA rantai panjang tidak dapat menembus membran dalam mitokondria sehingga Asil-KoA harus diubah menjadi asilkarnitin dengan bantuan karnitin palmitoiltransferase I (CPT-I) yang terdapat di membran luar mitokondria.

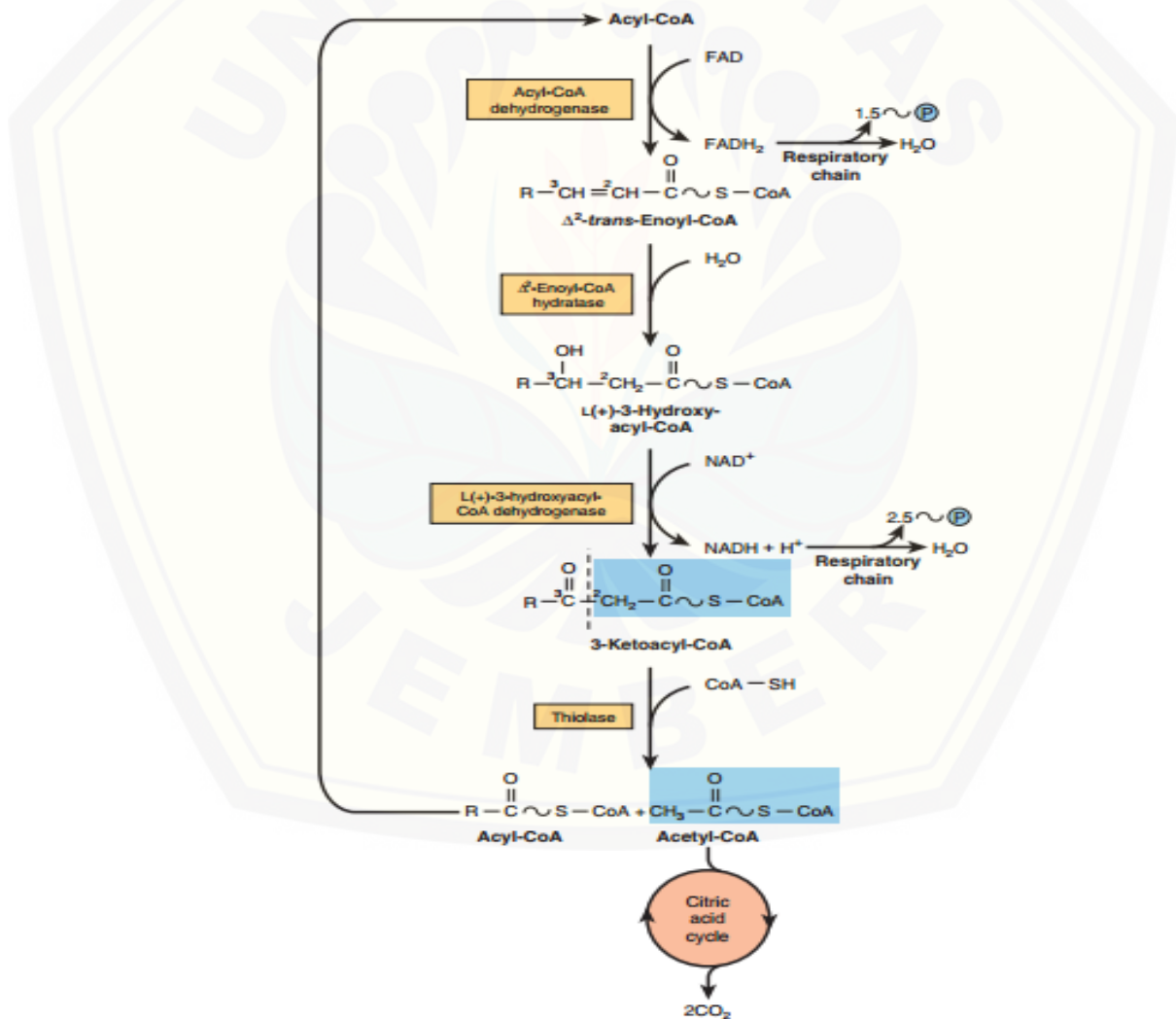
Asilkarnitin diangkut oleh Karnitin-asilkarnitin translokase ke dalam mitokondria disertai pengangkutan keluar satu molekul karnitin kemudian asilkarnitin dihidrolisis oleh karnitin palmitoiltransferase II (CPT-II) menjadi Asil-KoA seperti pada Gambar 2.6. CPT-I dapat dihambat oleh malonil-KoA yang merupakan substrat yang terbentuk dalam tahap biosintesis FA sehingga oksidasi FA akan terhambat apabila sintesis FA aktif. (Rodwell *et al.* 2015; Meisenberg dan Simmons, 2017).



Gambar 2.6 Pengangkutan *fatty acid* ke dalam mitokondria (Sumber: Baynes dan Dominiczak, 2014)

Jalur utama oksidasi asam lemak disebut  $\beta$ -oksidasi karena mengoksidasi  $\beta$ -karbon (karbon 3) FA. Tahap pertama proses oksidasi yaitu terjadinya pengeluaran 2 atom hidrogen dari atom karbon-2( $\alpha$ ) dan -3( $\beta$ ) yang dikatalisis asil-KoA dehidrogenase dan memerlukan FAD menjadi  $\Delta^2$ -trans-Enoyl-KoA dan FADH<sub>2</sub>. Selanjutnya, air ditambahkan untuk menjenuhkan ikatan rangkap yang dihidrolisis  $\Delta^2$ -trans-Enoyl-KoA hidratase untuk membentuk L(+)-3-hidroksiasil-KoA. Turunan 3-hidroksi akan mengalami dehidrogenasi di karbon-3 yang dikatalisis oleh L(+)-3-hidroksiasil-KoA dehidrogenase dan

memerlukan NAD untuk membentuk senyawa 3-ketoasil-KoA dan NADH. Selanjutnya, 3-ketoasil-KoA akan dikatalisis oleh tiolase membentuk asetil-KoA dan asil-KoA baru. Asil-KoA yang terbentuk akan masuk kembali ke jalur oksidatif sedangkan asetil-KoA akan masuk ke siklus asam sitrat atau *tricarboxylic acid* (TCA) untuk dikonversi menjadi CO<sub>2</sub>, adenosin trifosfat (ATP), dan H<sub>2</sub>O seperti pada Gambar 2.7. FA yang mempunyai jumlah atom karbon ganjil akan dioksidasi menghasilkan asetil-KoA hingga tersisa satu residu 3 karbon (propionil-KoA) yang dapat diubah menjadi suksinil-KoA yaitu salah satu senyawa siklus asam sitrat (Rodwell *et al.*, 2015).



Gambar 2.7 Proses oksidasi  $\beta$  fatty acid (Sumber: Rodwell *et al.*, 2015)

## 2.4 Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2 (DM tipe 2) adalah penyakit yang ditandai dengan penurunan toleransi glukosa yang terus-menerus dan progresif. DM tipe 2 disebabkan karena dua hal yaitu penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin (resistensi insulin) dan penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk menyekresi insulin (Prato, 2009).

### 2.4.1 Etiologi

Etiologi dari DM tipe 2 kemungkinan berasal dari kombinasi predisposisi genetik, diet yang tidak sehat, aktifitas fisik yang kurang dan obesitas (Oguntibeju *et al.*, 2012). Pada kondisi obesitas dan DM tipe 2, peningkatan fluks FFA kronis dan permanen diperkirakan dapat menginduksi atau memperparah resistensi insulin. Beberapa penelitian mengatakan pengiriman FFA ke liver berasal dari jaringan adiposa visceral 5-10% pada subjek kurus dan 20-30% pada subjek obesitas (Delarue dan Magnan, 2007).

### 2.4.2 Patofisiologi

Randle *et al.* mengemukakan hipotesis bahwa obesitas dapat menginduksi resisten insulin akibat persaingan antara FFA dengan glukosa untuk metabolisme oksidatif pada sel yang sensitif terhadap insulin. Peningkatan konsentrasi FFA menghasilkan peningkatan rasio asetil KoA/KoA dan NADH/NAD<sup>+</sup> intramitokondrial sehingga terjadi hambatan pada piruvat dehidrogenase yang menyebabkan konsentrasi sitrat meningkat dan menghambat aktivitas fosfofruktokinase. Hal tersebut dapat meningkatkan G6P intraseluler kemudian menghambat aktivitas heksokinase II yang berakibat peningkatan konsentrasi glukosa intraseluler dan penurunan ambilan glukosa ekstraseluler. Peningkatan konsentrasi sitrat intraseluler menjadi sumber pembentukan malonil-KoA oleh ACC. Malonil-KoA menghambat CPT I menyebabkan FFA tidak dapat masuk ke mitokondria untuk oksidasi sehingga terjadi peningkatan metabolit FFA yaitu diasilgliserol, fatty asil-KoA, dan ceramide di sitosol. Metabolit tersebut mengaktifkan tirosin kinase serin/treonin melalui pengaktifan Protein Kinase C (PKC) yang menyebabkan fosforilasi IRS-1 dan IRS-2 dan menghambat

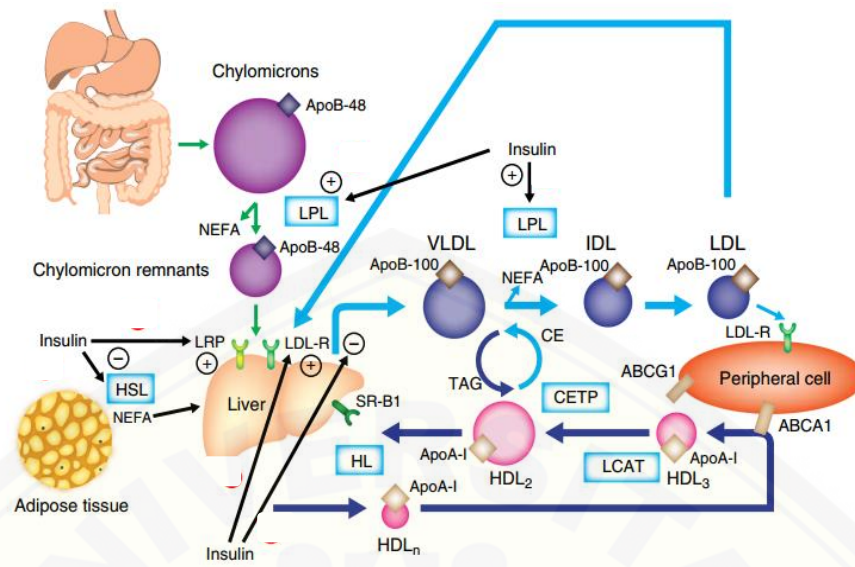
Phosphoinositol 3 Kinase (PI3K) sehingga tidak terjadi translokasi GLUT-4 ke membran sel (Shulman, 2000; Cahová *et al.*, 2007)

Obesitas juga dapat meningkatkan produksi berbagai macam sitokin seperti *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6), resistin, leptin, adiponektin, *Monocyte Chemoattractant Protein 1* (MCP-1), *Plasminogen Activator Inhibitor-1* (PAI-1), dan angiotensinogen melalui pengaktifan jalur Janus Kinase (JNK) dan NF- $\kappa$ B kinase (IKK $\beta$ ) yang selanjutnya akan mengaktifkan faktor transkripsi NF- $\kappa$ B (Hotamisligil, 2000). Resistensi insulin juga dapat diinduksi oleh faktor yang berasal dari dalam sel. Stress intraseluler seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau *Reactive Nitrogen Species* (RNS) yang mengakibatkan disregulasi produksi sitokin proinflamasi dari jaringan adiposa. Peningkatan produksi ROS dapat diaktifkan melalui banyak jalur yang merugikan seperti autooksidasi glukosa, jalur poliol sorbitol (aldose reduktase), PKC  $\beta$ 1/2, dan *advanced glycation end-products* (AGEs) yang akan mengaktifkan jalur NF- $\kappa$ B (Brownlee, 2005). Semua kinase tersebut dapat mengganggu sinyal insulin dengan meningkatkan penghambatan fosforilasi serin pada IRS dan tidak teraktivasinya jalur PI3K yang menyebabkan glukosa tetap berada di ekstrasel (Qatanani dan Lazar, 2008).

Sebagai kompensasi, sel  $\beta$  pankreas akan merespon dengan mensekresi insulin lebih banyak sehingga yang mengakibatkan reseptor insulin melakukan adaptasi dengan menurunkan jumlah reseptor sehingga berdampak terjadi penurunan respon reseptornya dan mengakibatkan terjadinya resistensi insulin (Nugroho, 2006). Apabila tidak ditangani dengan baik, akan terjadi kerusakan sel-sel  $\beta$  pankreas secara progresif dan seringkali akan menyebabkan defisiensi insulin (Fatimah, 2015).

#### 2.4.3 Hipertrigliseridemia pada DM Tipe 2

Defek pada aksi insulin dan hiperglikemia dapat menyebabkan perubahan lipid seperti hipertrigliseridemia dan penurunan kolesterol HDL pada pasien dengan diabetes (Goldberg, 2001). Insulin merupakan hormon kunci dalam regulasi metabolisme lipid seperti pada Gambar 2.8 (Vergès, 2015).



Gambar 2.8 Peran insulin terhadap metabolisme trigliserida (Sumber: Vergès, 2015)

Hipertrigliseridemia merangsang aktivitas enzim CETP yang memfasilitasi transfer trigliserida dari VLDL ke LDL dan HDL. Partikel HDL kaya trigliserida akan segera hidrolisis oleh HL sehingga waktu paruh HDL sangat pendek di sirkulasi sedangkan partikel LDL kaya trigliserida mengalami hidrolisis oleh LPL atau HL menyebabkan berkurangnya ukuran partikel LDL yang sangat bersifat aterogenik (Wu dan Parhofer, 2014). LDL tidak selalu meningkat pada diabetes karena pengurangan produksi LDL akibat disfungsi LPL diimbangi dengan penurunan reseptor LDL dan afinitasnya. Resistensi insulin juga dihubungkan dengan peningkatan ApoC-III yang merupakan inhibitor LPL dan peningkatan aktifitas enzim HSL di adiposa yang melepaskan FFA ke sirkulasi untuk menjadi substrat energi utama di berbagai jaringan (Hall, 2011; Vergès, 2015). Apabila ketersediaan FFA di liver meningkat maka akan menurunkan degradasi Apo-B dan menyebabkan sekresi VLDL meningkat (Arca *et al.*, 2012). Insulin juga berperan menginduksi translokasi *LDL Receptor-Related Protein* (LRP-1) ke membran plasma untuk meningkatkan ambilan dan pembersihan sisa-sisa kilomikron dan LDL sehingga pada pasien diabetes yang tidak terkontrol reseptor tersebut dapat mengalami penurunan (Goldberg, 2001; Laatsch *et al.*, 2009).

#### 2.4.4 Diagnosis

Diagnosis klinis DM ditegakkan jika terdapat gejala khas DM yaitu poliuria, polifagia, polidipsi dan penurunan berat badan (BB). Gejala DM tipe 2 biasanya asimtomatik sehingga sering terdiagnosis setelah terjadi komplikasi sehingga diagnosis DM tipe 2 dibuat berdasarkan pemeriksaan darah di laboratorium dan tes toleransi glukosa (Price dan Wilson, 2005; Ndraha, 2014). Ada beberapa teknik standar untuk mengetahui adanya resistensi insulin antara lain *hyperinsulinemic-euglycemic clamp* dan *minimal model frequently sampled intravenous glucose tolerance test* (FSIVGTT) tetapi kedua teknik tersebut mahal dan invasif sehingga dikembangkan dengan teknik lain salah satunya tes toleransi glukosa oral (Sulistyoningrum, 2010). ADA (2017) mengatakan terdapat beberapa kriteria untuk mendiagnosis pasien diabetes dan prediabetes yang asimtomatik antara lain obesitas yang diikuti oleh salah satu faktor berikut yaitu semua usia di atas 45 tahun, aktivitas yang kurang, kadar HDL <35 mg/dL (0,90 mmol/L), dan atau kadar trigliserida >250 mg/dL (2,82 mmol/L).

#### 2.4.5 Tatalaksana

Perkeni (2015) mengatakan bahwa tujuan penatalaksanaan DM secara umum yaitu meningkatkan kualitas hidup penyandang DM dan untuk mencapai tujuan tersebut diperlukan pengendalian glukosa darah, tekanan darah, BB, dan profil lipid secara komprehensif. Penatalaksanaan pasien DM dikenal empat pilar penting dalam mengontrol perjalanan penyakit dan komplikasi. Empat pilar tersebut yaitu edukasi, terapi nutrisi, aktifitas fisik, dan farmakologi (Putra dan Berawi, 2015).

##### a. Edukasi

Perkeni (2015) mengatakan edukasi yang diberikan pada pasien yaitu berupa perjalanan dan pengendalian penyakit, komplikasi dan risiko yang ditimbulkan, pentingnya intervensi non-farmakologis dan farmakologis, cara pemantauan glukosa dan perawatan kaki serta cara menggunakan fasilitas kesehatan. Berdasarkan pada hasil penelitian Putri dan Isfandiari (2013) didapatkan sebagian besar penderita DM berpengetahuan baik memiliki rerata



kadar gula darah normal. Hal tersebut menandakan pengetahuan yang baik dapat mengubah perilaku pasien untuk lebih memperhatikan penyakitnya.

#### b. Terapi Nutrisi

Intervensi gizi juga sangat diperlukan untuk mengendalikan BB terutama bagi pasien DM dengan obesitas. Pasien harus membatasi diri dalam konsumsi makanan terutama makanan yang mengandung tinggi lemak yang menyebabkan resistensi insulin (Putra dan Berawi, 2015). Perkeni (2015) mengatakan prinsip pengaturan makan pada penyandang DM hampir sama dengan anjuran makan untuk masyarakat umum namun lebih ditekankan mengenai pentingnya keteraturan jadwal makan, jenis dan jumlah kandungan kalori terutama pada pasien yang menggunakan obat yang meningkatkan sekresi insulin atau terapi insulin itu sendiri. Komposisi makanan yang dianjurkan yaitu karbohidrat 45-65% dari total asupan energi, lemak 20-25%, protein 10-20%, natrium <2300 mg/hari, serat 20-35 g/hari serta pemanis alternatif selama tidak melebihi batas aman. Jumlah kalori disesuaikan dengan pertumbuhan, status gizi, umur, stress akut dan aktifitas fisik untuk mencapai dan mempertahankan BB ideal. Jumlah kalori yang diperlukan dihitung dari BB dikali kebutuhan kalori basal sebesar 30 kkal/kgBB untuk laki-laki dan 25 kkal/kgBB untuk wanita kemudian ditambah dengan kebutuhan kalori untuk aktivitas sebesar 10-30% bagi atlet dan pekerja berat (Putra dan Berawi, 2015). Potensi dari karbohidrat dengan indeks glikemik rendah seperti RS berguna untuk mengurangi komplikasi DM dan mempertahankan status gizi yang memadai (Birt *et al.*, 2013).

#### c. Aktifitas Fisik

Aktivitas fisik pada pengendalian DM merujuk pada latihan jasmani atau olahraga. Olahraga dapat mengurangi resistensi insulin sehingga kerja insulin lebih baik dan mempercepat pengangkutan glukosa masuk ke dalam sel untuk kebutuhan energi. Olahraga secara teratur 3 hingga 4 kali seminggu dengan durasi kurang lebih 30 menit dapat menjaga kebugaran dan menurunkan BB (Putri dan Isfandiari, 2013). Olahraga yang dianjurkan berupa latihan jasmani

yang bersifat aerobik dengan intensitas sedang seperti jalan cepat, bersepeda santai, *jogging*, dan berenang (Perkeni, 2015).

#### d. Farmakologi

Perkeni (2015) mengatakan terapi farmakologi pada DM tipe 2 berupa Obat Hipoglikemik Oral (OHO) dan injeksi. Macam-macam OHO antara lain sulfonilurea, glinid, biguanide, thiazolidinedione, inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, *sodium glucose cotransporter 2*, dan *dipeptidyl Peptidase-IV* sedangkan obat injeksi terdiri atas insulin dan agonis Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1).

Pengobatan dislipidemia pada DM tipe 2 sebagian besar penelitian klinis menggunakan kolesterol LDL sebagai target terapi. Intervensi dengan obat penurun lipid terhadap target sekunder (kolesterol non-HDL) hanya dilakukan pada pasien dengan tingkat risiko tinggi dan yang target kolesterol LDL-nya telah tercapai sementara konsentrasi trigliserida masih di atas 200 mg/dL. Pasien DM dengan dislipidemia dapat diberikan obat-obatan sebagai berikut.

##### 1) HMG-KoA reduktase (Statin)

Statin merupakan terapi awal farmakologi untuk menurunkan kadar LDL pada pasien DM tipe 2. Target terapi kolesterol LDL bagi pasien dengan risiko kardiovaskular sangat tinggi yaitu  $<70$  mg/dL (Perkeni, 2015). Statin harus digunakan berapapun kadar lipid pada pasien diabetes dengan gangguan kardiovaskular atau berusia di atas 40 tahun dan memiliki satu atau lebih faktor risiko kardiovaskular termasuk riwayat keluarga, hipertensi, merokok, dislipidemia, atau albuminuria (Wu dan Parhofer, 2014). Obat kelas ini secara kompetitif menghambat HMG-KoA reduktase, enzim yang mengkatalisis konversi HMG-KoA menjadi mevalonate agar biosintesis kolesterol menurun (Moon dan Kashyap, 2004). Statin potensi tinggi seperti atorvastatin dan rosuvastatin dengan dosis tinggi terbukti mampu menurunkan konsentrasi trigliserida (Perkeni, 2015).

##### 2) *Bile Acid Sequestrants* (BAS)

BAS akan mengikat asam empedu di usus untuk membentuk kompleks yang tidak larut agar tidak di reabsorpsi kemudian akan dieksresikan bersama feses. Hilangnya asam empedu akan digantikan oleh oksidasi kolesterol

menjadi asam empedu sehingga mengurangi kadar kolesterol intrahepatik. Salah satu kelemahan dari kelas obat ini yaitu dapat meningkatkan kadar trigliserida. Oleh karena itu, penggunaan monoterapi harus dihindari (Moon dan Kashyap, 2004).

### 3) Inhibitor absorpsi kolesterol

Ezetimibe merupakan anggota pertama dari golongan obat yang menghambat penyerapan fitosterol dan kolesterol oleh usus. Efek klinis utamanya yaitu penurunan kadar LDL (Katzung *et al.*, 2012).

### 4) Fibrat

Fibrat menyerupai SCFA dan meningkatkan oksidasi FA baik di hati maupun otot. Peningkatan oksidasi FA di hati dikaitkan dengan penurunan sekresi lipoprotein kaya trigliserida. Fibrat juga meningkatkan aktivitas LPL untuk pemecahan trigliserida dalam VLDL (Moon dan Kashyap, 2004). Pankreatitis dapat terjadi pada konsentrasi trigliserida  $\geq 400$  mg/dL maka pasien tersebut harus segera diterapi tanpa memandang tingkat risiko kardiovaskular dan konsentrasi kolesterol LDL (Perkeni, 2015). Kombinasi dengan statin harus dipertimbangkan. Kombinasi statin-fibrat harus diterapkan dengan hati-hati karena peningkatan risiko miopati dan rhabdomyolisis terutama kombinasi statin dengan gemfibrozil. Kombinasi statin-fenofibrat lebih banyak dipakai karena efek yang minimal (Wu dan Parhofer, 2014).

### 5) Niasin

Niasin menghambat sekresi VLDL yang pada akhirnya akan mengurangi produksi LDL. Klirens VLDL melalui jalur LPL ikut berperan menurunkan trigliserida. Niasin juga menghambat lipase intrasel jaringan adiposa untuk memproduksi VLDL dengan menurunkan fluks FFA ke hati (Katzung *et al.*, 2012).

### 6) Asam Lemak Omega-3

Asam lemak omega-3 menurunkan trigliserida tetapi hanya memiliki efek yang kecil pada LDL dan HDL. Asam lemak omega-3 mengurangi jumlah FFA yang tersedia untuk sintesis trigliserida sehingga menurunkan sintesis VLDL dan meningkatkan aktivitas LPL (Wu dan Parhofer, 2014).

#### 7) Agen Penurun Glukosa

Agen penurun glukosa seperti pioglitazone dan metformin dapat memperbaiki sensitivitas insulin yang berefek pada profil lipid terutama kadar trigliserida (Vijayaraghavan, 2010). Metformin dianjurkan sebagai terapi lini pertama untuk DM tipe 2 karena tidak meningkatkan BB atau memicu hipoglikemia serta dapat menurunkan risiko penyakit makrovaskular dan mikrovaskular. Pioglitazon termasuk golongan tiazolidinedion yang memiliki aktivitas pada reseptor PPAR $\gamma$  dan PPAR $\alpha$  yang banyak ditemukan di otot, lemak dan liver. Reseptor tersebut memodulasi ekspresi gen yang berperan dalam metabolisme lemak dan glukosa, transduksi sinyal insulin, serta diferensiasi adiposit dan jaringan lainnya (Katzung *et al.*, 2012).

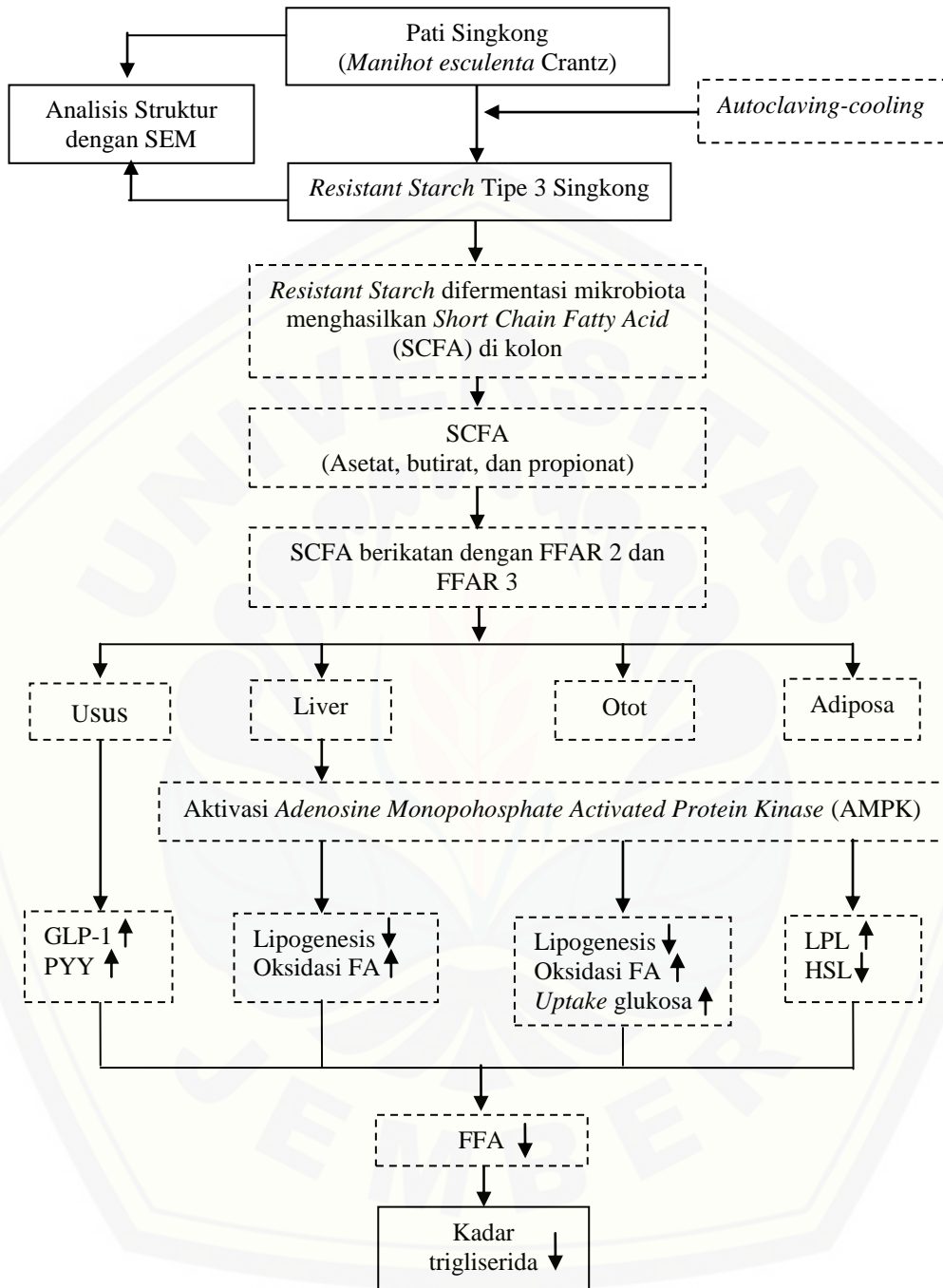
#### 2.5 Tikus Model Diabetes

Hewan dikatakan DM apabila mengalami hiperglikemia dengan kadar gula darah puasa >126 mg/dL sedangkan nilai tes toleransi glukosa oral tikus yaitu >200 mg/dL (Zhang, 2011). Hewan model DM tipe 2 dapat dibuat dengan beberapa cara seperti pemberian nutrisi, pankreatektomi parsial, pemberian senyawa diabetogenik, dan genetik. Perlakuan tersebut mengakibatkan terjadinya penurunan respon jaringan perifer terhadap aksi insulin atau malfungsi dari reseptor insulin dan penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas dalam menyekresi insulin (Nugroho, 2006). Seiring dengan berkembangnya zaman, pembuatan hewan uji DM tipe 2 dibuat dengan menggabungkan pemberian nutrisi tinggi lemak (HFD) yang dikombinasikan dengan streptozotocin (STZ). Tikus HFD-STZ sering dilaporkan mengalami dislipidemia yang mirip dengan profil metabolik diabetes tipe 2 pada manusia (Skovsø, 2014). Pada penelitian Srinivasan *et al.* (2005) menunjukkan tikus *Sprague-Dawley* jantan yang diberi kombinasi HFD (58% kalori lemak) dan induksi STZ intraperitoneal dosis 30-35 mg/kgBB terjadi perkembangan penyakit alami dan karakteristik metabolik yang khas pada individu dengan risiko diabetes tipe 2 karena resistensi insulin dan obesitas.

Streptozotocin (STZ) atau Zanosar adalah agen antineoplastik. STZ memasuki sel  $\beta$  pankreas melalui transporter glukosa GLUT-2 dan menyebabkan alkilasi DNA. Kerusakan DNA menginduksi aktivasi poliribosilasi ADP yaitu suatu proses yang penting untuk diabetogenisitas STZ. Poliribosilasi ADP menyebabkan deplesi sel  $\text{NAD}^+$  dan ATP pada sel. Peningkatan Disfosforilasi ATP setelah induksi STZ menghasilkan substrat xantin oksidase yang membentuk radikal superoksida yang berakibat juga dihasilkannya hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. Selanjutnya, STZ membebaskan sejumlah Nitrit Oksida (NO) yang menghambat aktivitas aconitase pada siklus asam sitrat dan berpartisipasi dalam kerusakan DNA  $\beta$  pankreas akibatnya terjadi nekrosis (Nugroho, 2006). Lenzen (2008) mengatakan terdapat tiga tahap pembentukan diabetes pada hewan coba yang diberikan STZ yaitu sebagai berikut.

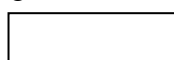
- a. Fase hiperglikemi : Fase ini terjadi satu jam setelah induksi STZ dan bertahan dua hingga 4 jam akibat dari hambatan sekresi insulin (hipoinsulinemia). Sel  $\beta$  pankreas menunjukkan kelainan morfologi.
- b. Fase hipoglikemi : Fase yang terjadi empat hingga delapan jam setelah induksi dan bertahan hingga beberapa jam. Fase ini dapat menyebabkan konvulsi dan kematian sehingga harus diberikan administrasi glukosa. Hipoglikemia yang parah diakibatkan sekresi insulin pada granula sekretorik dan rupturnya membran sel akibat induksi toksin.
- c. Fase hiperglikemi diabetik : Secara morfologis, sel  $\beta$  pankreas mengalami degranulasi lengkap dan hilangnya integritas dalam 12-48 jam setelah induksi. Sisa sel yang berasal dari sel beta yang nekrosis dihilangkan oleh makrofag.

2.6 Kerangka Konseptual

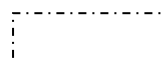


Gambar 2.9 Kerangka konsep penelitian

Keterangan:



: Diteliti



: Tidak Diteliti

Proses *autoclaving-cooling* dapat membentuk pati singkong menjadi *Resistant Starch* (RS) tipe 3 sekaligus meningkatkan kadar RS tersebut. Untuk membuktikan apakah telah terjadi perubahan dari pati singkong ke RS tipe 3 maka dilakukan analisis struktur menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM). RS tipe 3 yang terbentuk tidak dapat dicerna enzim amilase di saluran pencernaan atas tetapi dapat difermentasi oleh mikrobiota menghasilkan *Short Chain Fatty Acids* (SCFA) yang terdiri atas asetat, butirat, dan propionat. SCFA akan berikatan dengan reseptornya *Free Fatty Acid Receptor* (FFAR) 2 dan FFAR 3. Di usus, SCFA menyebabkan produksi GLP-1 dan PYY yang merupakan hormon pengendali nafsu makan dan homeostasis glukosa. SCFA akan mengaktifkan *Adenosine Monophosphate Activated Protein Kinase* (AMPK) melalui rasio AMP/ATP di berbagai jaringan seperti liver, otot, dan adiposa. Pada liver, SCFA akan meningkatkan oksidasi *Fatty Acid* (FA) dan menghambat enzim sintesis FA yaitu *Acetyl-CoA Carboxylase* (ACC) sehingga lipogenesis dari trigliserida hepatic menurun. Pada jaringan otot, SCFA dapat meningkatkan ambilan glukosa melalui GLUT-4, menurunkan simpanan lemak ektopik, dan meningkatkan oksidasi FA. Pada jaringan adiposa, SCFA akan meningkatkan enzim Lipoprotein Lipase (LPL) dan menurunkan aktifitas dari Hormon Sensitif Lipase (HSL) sehingga simpanan trigliserida meningkat. Mekanisme SCFA di berbagai jaringan tersebut menurunkan kadar *Free Fatty Acid* (FFA) di sirkulasi sehingga dapat memperbaiki kadar trigliserida pada pasien DM tipe 2.

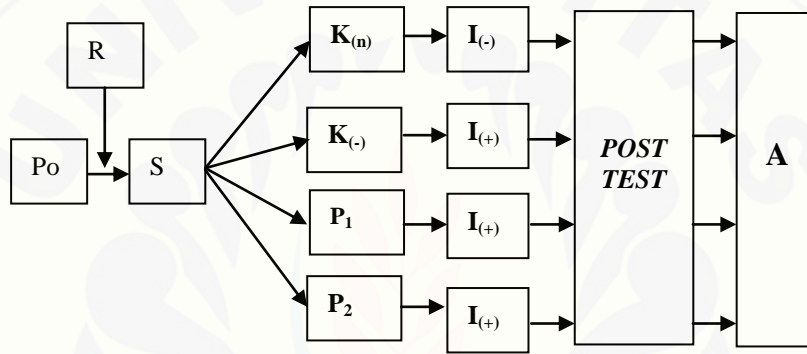
## 2.7 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu pemberian *resistant starch* tipe 3 singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dapat menurunkan kadar trigliserida tikus model diabetes.

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan *true experimental post test only control group design*. Desain penelitian ini dilakukan untuk membandingkan kadar trigliserida antar kelompok setelah perlakuan. Rancangan penelitian ditampilkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan:

- Po : Populasi tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain Wistar*)
- R : Randomisasi
- S : Sampel Penelitian
- K<sub>(n)</sub> : Kelompok kontrol normal (tikus sehat dengan diet standar)
- K<sub>(-)</sub> : Kelompok kontrol negatif (tikus diabetes dengan diet standar)
- P<sub>1</sub> : Kelompok Perlakuan 1 (tikus diabetes dengan diet RS tipe 3 singkong)
- P<sub>2</sub> : Kelompok Perlakuan 2 (tikus diabetes dengan diet pati singkong)
- I<sub>(-)</sub> : Perlakuan kelompok kontrol normal
- I<sub>(+)</sub> : Perlakuan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan
- A : Analisis data.



## 3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* strain Wistar) yang didapat dari sentra pembiakan tikus milik bapak Purnomo di desa Sumbersekar, kecamatan Dau, Kabupaten Malang.

### 3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian merupakan bagian dari populasi yang dipilih dan dianggap mewakili populasinya. Sampel dalam penelitian ini yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar) jantan yang memenuhi kriteria inklusi antara lain tikus putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan BB 150-200 g, sehat, dan bergerak aktif sedangkan kriteria eksklusi sampel penelitian yaitu meliputi nafsu makan tikus buruk, diare, dan mati selama penelitian berlangsung.

### 3.2.3 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer yaitu:

$$\begin{aligned}(k-1)(r-1) &\geq 15 \\ (4-1)(r-1) &\geq 15 \\ r-1 &\geq 15/3 \\ r &\geq 5 + 1 \\ r &\geq 6\end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan dengan rumus tersebut, maka besar sampel yang dibutuhkan minimal sebanyak 6 ekor untuk masing-masing kelompok sehingga total sampel yang dibutuhkan yaitu 24 ekor tikus. Pada penelitian ini jumlah tikus yang bertahan hidup hingga akhir penelitian sebanyak 16 ekor tikus.

## 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembuatan RS, penghitungan kadar toleransi glukosa oral, dan trigliserida hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Pemeriksaan struktur pati dan RS dilaksanakan di Laboratorium Biosains Politeknik Negeri Jember. Penelitian ini berlangsung pada bulan Desember 2016 hingga Maret 2017.

### 3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut.

- a. Variabel bebas : Diet RS tipe 3 singkong dan diet pati singkong.
- b. Variabel tergantung : Kadar trigliserida darah tikus putih jantan.
- c. Variabel terkontrol : Usia, BB, jenis kelamin, pemeliharaan, dan lama perlakuan tikus.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

#### 3.5.1 Diet Pati Singkong

Diet pati singkong pada penelitian ini yaitu pemberian makanan dari ekstraksi singkong. Diet diberikan sebanyak 20 g dikombinasikan dengan diet standar 10 g. Skala pengukuran diet berupa rasio.

#### 3.5.2 Diet *Resistant Starch* Tipe 3 Singkong

Diet RS tipe 3 singkong yaitu pemberian makanan dari pati singkong yang diolah menggunakan teknik *autoclaving-cooling*. Diet diberikan sebanyak 20 g dikombinasikan dengan diet standar 10 g. Skala pengukuran diet berupa rasio.

#### 3.5.3 Tikus Model Diabetes

Tikus model diabetes yaitu tikus yang diinduksi dengan HFD telur bebek 0,01 mL/kgBB/hari melalui sonde lambung dilanjutkan dengan pemberian STZ merk *Bioworld* dengan nomor seri 18883-66-4 dosis 35 mg/kgBB secara intraperitoneal. Skala pengukuran berupa rasio.

#### 3.5.4 Kadar Trigliserida

Jumlah trigliserida dalam serum hewan coba yang diukur dengan metode *glycerol-3-phosphate oxidase phenol aminophenazone* (GPO-PAP) menggunakan

spektrofotometer dengan gelombang 546 nm. Kadar trigliserida dinyatakan dengan satuan mg/dL. Skala pengukuran berupa data rasio.

#### 3.5.5 Usia dan Berat Badan Tikus

Penelitian ini menggunakan tikus usia 2-3 bulan dengan BB 150-200 g karena organ tikus sudah *mature* secara anatomis dan fisiologis.

#### 3.5.6 Jenis Kelamin

Penelitian ini menggunakan tikus jantan untuk menghindari pengaruh hormonal.

#### 3.5.7 Pemeliharaan dan Perlakuan Tikus

Pemeliharaan dan perlakuan tikus pada penelitian ini yaitu tikus diletakkan di kandang berukuran 30 x 15 x 10 cm dengan alas berupa sekam. Setiap kandang berisi satu tikus dengan diet standar, pati singkong, dan RS tipe 3 singkong serta satu botol minuman.

#### 3.5.8 Nafsu Makan Buruk

Pada penelitian ini nafsu makan tikus buruk jika tikus mengonsumsi diet kurang dari 2 g/hari.

#### 3.5.9 Tikus Diare

Tikus mengalami diare jika konsistensi dari feses tikus berbentuk cair selama tiga hari berturut-turut. Diare dapat mengganggu hasil penelitian karena hasil fermentasi RS di kolon yaitu SCFA tidak dapat diabsorpsi sempurna akibat motilitas usus yang meningkat.

### 3.6 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.6.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pelet Turbo 521 sebagai diet standar, singkong, HFD, air, reagen Diasys trigliserida satu kit, STZ, dekstrosa, dan sodium buffer sitrat 0,1 M PH 4,5.

#### 3.6.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: kandang hewan, tempat pakan dan minum hewan, timbangan, neraca OHAUS, blender, sonde lambung, *disposable* spuit, *handschoon*, saringan 60 dan 100 mesh, mesin parut, cawan, tabung reaksi, pipet, larutan eter, vortex, tabung antikoagulan atau *vacuum venoject*, tabung eppendorf, tip, sentrifuge, *freezedryer*, autoklaf, kuvet, lemari pendingin, spektrofotometer, glukostrip, glukometer, dan *Scanning Electron Microscope*.

### 3.7 Alur dan Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Randomisasi Sampel

Hewan coba tikus putih jantan yang memenuhi kriteria inklusi ditimbang dan dikelompokkan berdasarkan BB tikus kemudian dipilih secara acak dari masing-masing kelompok dan dibagi ke dalam empat kandang yang berbeda. Kandang hewan coba diletakkan di ruangan dengan ventilasi cukup dan dibersihkan setiap dua hari sekali untuk mencegah timbulnya penyakit. Setelah randomisasi, dilakukan pemeriksaan karakteristik awal penelitian yaitu BB dan kadar trigliserida. Pengambilan spesimen darah dilakukan melalui vena *Saphena*  $\pm 1-2$  mm dari ujung ekor.

#### 3.7.2 Alur Pembuatan *Resistant Starch* Tipe 3 Singkong

Alur pembuatan *Resistant Starch* tipe 3 singkong dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut.

#### a. Ekstraksi Pati

Pembuatan pati singkong dikembangkan dari metode yang dilakukan oleh Sugiyono *et al.* (2009). Pati singkong dibuat dengan berbagai tahapan. Singkong dikupas dan dicuci secara manual kemudian direndam selama satu jam. Pamarutan menggunakan mesin parut dan ditambahkan sedikit air agar pati mudah keluar dari jaringannya. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan saringan 60 mesh untuk memisahkan pati dari ampas. Ekstraksi pati singkong dilakukan dengan menambahkan air dengan perbandingan singkong dan air yaitu 1:4. Suspensi pati diendapkan selama 24 jam. Setelah endapan pati terbentuk, air yang berada di atas pati dibuang kemudian endapan pati dikeringkan. Pati yang telah terbentuk disaring menggunakan saringan 100 mesh.

#### b. Pembuatan RS dengan *Autoclaving-Cooling*

Pembuatan pati menjadi RS tipe 3 dikembangkan dari metode Lehmann *et al.* (2002) yaitu dengan cara pati disuspensikan terlebih dahulu dalam air (20% w/w) kemudian diautoklaf pada suhu 121 °C selama 30 menit. Setelah diautoklaf, pati singkong dibekukan pada suhu -20 °C selama 24 jam dan dikeringkan dengan *freeze-dryer* selama 48-72 jam. Proses *autoclaving-cooling* dilakukan sebanyak satu siklus.

#### 3.7.3 Analisis Struktur *Resistant Starch* dengan *Scanning Electron Microscope*

Analisis struktur dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) merk TM3030Plus Hitachi dilakukan sebelum dan sesudah pembuatan RS tipe 3 singkong. Serbuk pati dan RS tipe 3 singkong diletakkan di atas tempat sampel dengan menggunakan isolasi *double-side*. Sampel kemudian dilapisi dengan emas dan dimasukkan ke dalam instrumen SEM. Struktur pati diamati di layar monitor dengan menggunakan skala pembesaran 50 kali dan 1000 kali.

#### 3.7.4 Prosedur Pembuatan Tikus Model Diabetes

Hewan coba diadaptasikan dengan kondisi tempat penelitian, pakan, dan minum selama 7 hari. Pemberian HFD merujuk pada penelitian Ariantari *et al.*

(2010) berupa kuning telur bebek yang diberikan selama 28 hari sebanyak 0,01 mL/kgBB. Selanjutnya, tikus diinduksi STZ yang dilarutkan dengan sodium buffer sitrat 0,1 M pH 4,5 dengan dosis rendah yaitu 35 mg/kgBB secara intraperitoneal (Srinivasan *et al.*, 2005). Penghitungan dosis diet dan STZ ditampilkan pada Lampiran 3.3.

### 3.7.5 Pemeriksaan Tes Toleransi Glukosa Oral

Satu minggu setelah induksi STZ, tikus dipuasakan selama 12 jam dilanjutkan dengan pembebanan dekstrosa sebanyak 2 g/kgBB peroral. Sampel darah diambil melalui insisi vena saphena ±1-2 mm dari ujung ekor tikus pada menit ke 0, 15, 30, 60, dan 120. Kadar glukosa diukur menggunakan glukometer mengonfirmasi adanya keadaan diabetes.

### 3.7.6 Pemeriksaan Kadar Trigliserida

Pada minggu ke-10 dilakukan *post test* dengan mengambil sebanyak 5 mL darah secara *intracardiac* dan dilakukan puasa selama 12 jam serta *euthanasia* terlebih dulu dengan meletakkan hewan coba di dalam wadah tertutup berisi kapas dan larutan eter. Darah yang telah diambil segera dimasukkan ke dalam tabung antikoagulan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum yang telah terbentuk diambil menggunakan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf.

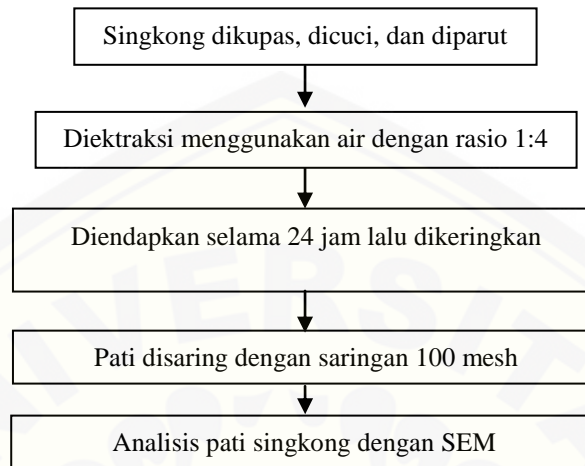
Pemeriksaan kadar trigliserida menggunakan metode *glycerol-3-phosphate oxidase-phenol aminophenazone* (GPO-PAP) dengan prinsip oksidasi dan hidrolisis enzimatis. Sebanyak 10 µL serum direaksikan dengan reagen trigliserida 1000 µL di tabung reaksi kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah homogen, diinkubasi pada suhu ruangan selama 20 menit. Selanjutnya serum diletakkan di dalam kuvet dan diukur menggunakan spektrofotometer dengan gelombang 546 nm. Kadar trigliserida diukur menggunakan formula dari Adeyemi *et al.* (2015) yaitu:

$$\text{Kadar Trigliserida} = \frac{\Delta(\text{absorbansi sampel})}{\Delta(\text{absorbansi standar})} \times \text{Nilai Standar (mg/dL)}$$

### 3.8 Skema Alur Penelitian

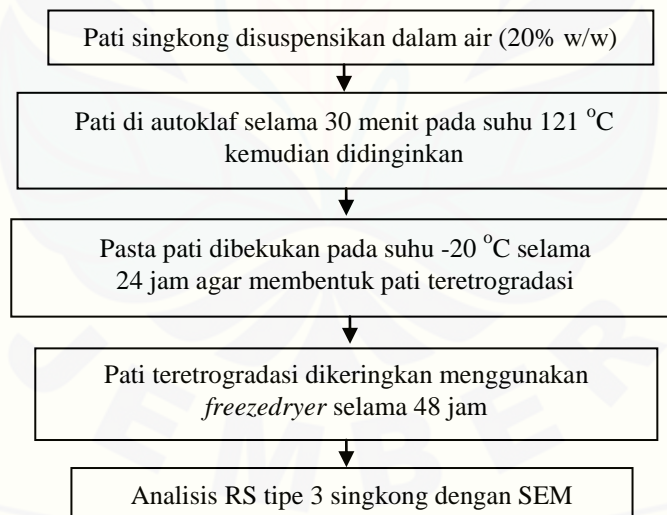
Tahap pada penelitian ini yaitu sebagai berikut.

#### a. Skema Proses Ekstraksi Singkong



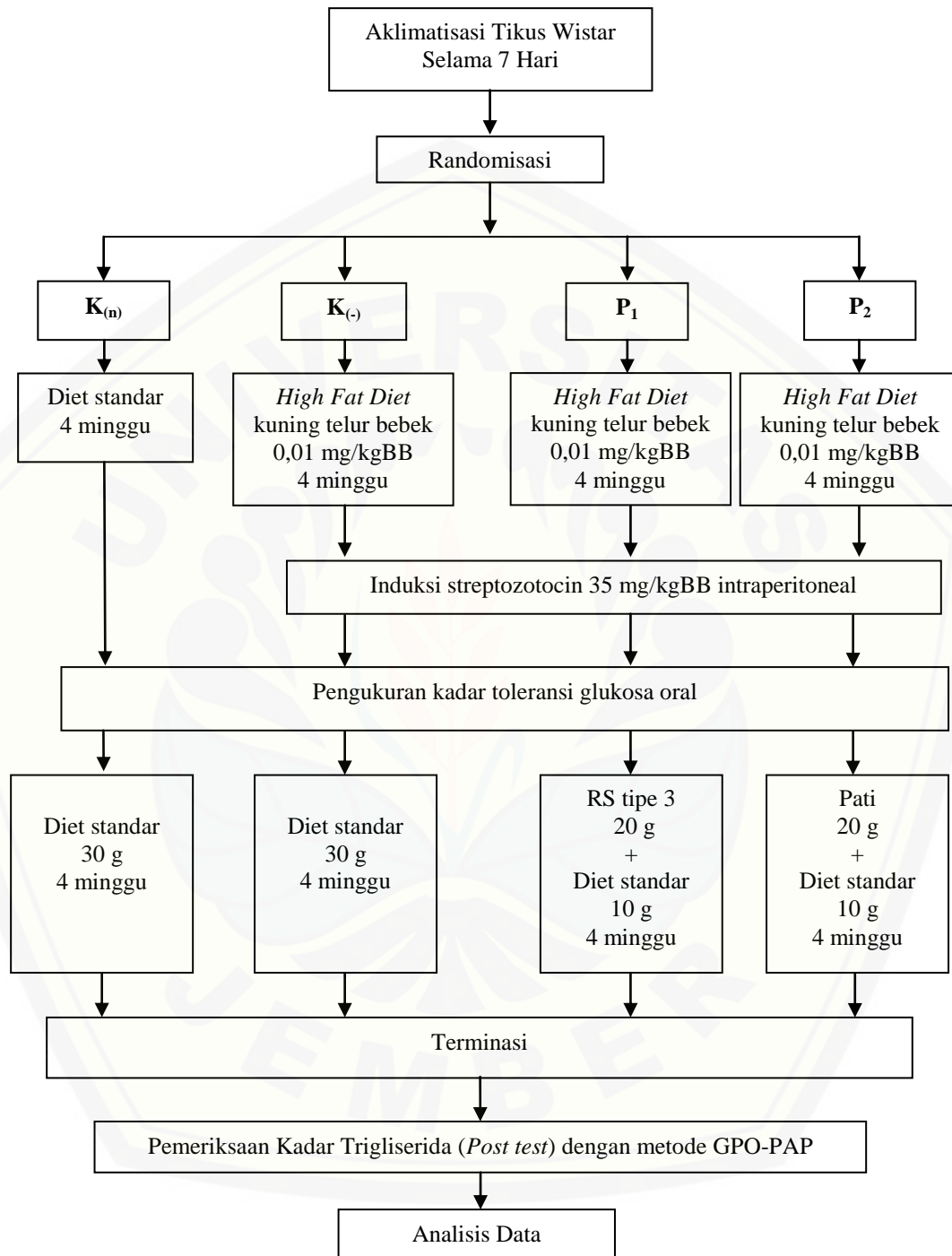
Gambar 3.2 Alur ekstraksi singkong

#### b. Skema Proses Pembuatan RS Tipe 3 Singkong



Gambar 3.3 Alur pembuatan RS tipe 3 singkong

### 3.9 Skema Prosedur Penelitian



Gambar 3.4 Prosedur perlakuan hewan coba



### 3.10 Analisis Data

Data yang telah diperoleh diolah menggunakan *software* pengolah data statistik yaitu IBM SPSS versi 23 untuk mengetahui perbandingan antar variabel. Data yang diambil berupa data numerik dari hasil pengukuran kadar trigliserida tikus. Analisis yang dilakukan untuk data numerik yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Data normal dan homogen ( $p > 0,05$ ) diuji menggunakan uji *One-Way Anova* dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey*. Data yang baik tidak normal maupun homogen diuji menggunakan *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

### 3.11 Etik Penelitian

Perizinan penelitian *true experimental* menggunakan hewan coba diajukan kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Lembar persetujuan etik ditampilkan pada Lampiran 3.2.

### 3.12 Data dan Sumber Data

Sumber data dalam penelitian ini merupakan data primer karena diperoleh langsung dari objek penelitian. Data berasal dari hasil analisis kadar trigliserida serum tikus putih jantan sesudah perlakuan.

- Baynest, H. 2015. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Metab.* 6(5):1-9.
- Besten, G., Bleeker, A., Gerding, A., van Eunen, K., Havinga, R., van Dijk, T. H., Oosterveer, M. H., Jonker, J. W., Groen, A. K., Reijngoud, D. J., dan Bakker, B. M. 2015. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a ppar $\gamma$ -dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. *Diabetes.* 64 (7): 2398-2408.
- Besten, G., van Eunen, K., Groen, A. K., Koen Venema, K., Reijngoud, D. J., dan Bakker, B. M. 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research.* 54(1): 2325-2340.
- Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J., Hollis, J., Li, L., McClelland, J., Moore, S., Phillips, G. J., Rowling, M., Schalinske, K., Scott, M. P. dan Whitley, E. M. 2013. Resistant starch: promise for improving human health. *Advances in Nutrition.* 4(6): 587–601.
- Brownlee, M. 2005. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes.* 54(6):1615-1625.
- Cahová, M., Vavřínková, H., dan Kazdová, L. 2007. Glucose-fatty acid interaction in skeletal muscle and adipose tissue in insulin resistance. *Physiol Res.* 56(1): 1-15
- Canfora, E. E., Jocken, J. W., dan Blaak, E. E. 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol.* 11(10): 577-591.
- Carmen, G. Y. dan Víctor, S. M. 2006. Signalling mechanisms regulating lipolysis. *Cell Signal.* 18(4):401-408.
- Coelho, D. F., Pereira-Lancha, L. O., Chaves, D. S., Diwan, D., Ferraz, R., Campos-Ferraz, P. L., Poortmans, J. R., dan Lancha Junior, A. H. 2011. Effect of high-fat diets on body composition, lipid metabolism and insulin sensitivity, and the role of exercise on these parameters. *Braz J Med Biol Res.* 44(10): 966-972.
- Dashty, M. 2014. A quick look at biochemistry: lipid metabolism. *J Diabetes Metab.* 5(1): 1-19.
- Delarue, J. dan Magnan, C. 2007. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 10(2):142-8.

- Direktorat Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2005. *Pengembangan Usaha Pengolahan Tepung Tapioka*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., dan Cummings, J. H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr.* 46(2): 33–50.
- Faisal Baraas. 2003. *Mencegah Serangan Penyakit Jantung dengan Menekan Kolesterol*. Jakarta: Kardia Iqratama.
- Faridah, D. N. 2011. Perubahan Karakteristik Kristalin Pati Garut (*Maranta arundinaceae L.*) dalam Pengembangan Pati Resisten Tipe III. *Disertasi*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes melitus tipe 2. *J Majority.* 4(5): 93-101.
- Food and Agriculture Organization. 2008. Food Consumption Nutrient Sheets. [http://www.fao.org/fileadmin/templates/ess/documents/food\\_security\\_statistics/FoodConsumptionNutrients\\_en.xls](http://www.fao.org/fileadmin/templates/ess/documents/food_security_statistics/FoodConsumptionNutrients_en.xls). [Diakses pada 5 Januari 2018].
- Food and Agriculture Organization. 2013. Save and Grow: Cassava A Guide to Sustainable Production Intensification. <http://www.fao.org/3/a-i3278e.pdf> [Diakses pada 11 September 2017].
- Goldberg, I. J. 2001. Diabetic dyslipidemia: causes and consequences. *J Clin Endocrin and Metab.* 86(3): 965-971.
- Hall, E. 2011. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 12<sup>th</sup> Ed. Singapore: Elsevier Inc.
- Haralampu, S. G. 2000. Resistant starch: a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers.* 41(3): 285-292.
- Hashemi, Z., Yang, K., Yang, H., Jin, A., Ozga, J., dan Chan, C.B. 2015. Cooking enhances beneficial effects of pea seed coat consumption on glucose tolerance, incretin, and pancreatic hormones in high-fat-diet-fed rats. *Appl Physiol Nutr Metab.* 40(4):323-333.
- Herawati, H. 2011. Potensi Pengembangan Produk Pati Tahan Cerna Sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Litbang Pertanian.* 30(1): 31-39.
- Higgins, J. A., Higbee, D. R., Donahoo, W. T., Brown, I. L., Bell, M. L., Bessesen, D. H. 2004. Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. *Nutrition and Metabolism.* 1(8): 1-11.

- Hotamisligil, G. S. 2002. Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 24(4): 23-27.
- Hu, G. X., Chen, G. R., Xu, H., Ge, R. S., dan Lin, J. 2010. Activation of the amp activated protein kinase by short-chain fatty acids is the main mechanism underlying the beneficial effect of a high fiber diet on the metabolic syndrome. *Medical Hypotheses.* 74 (1): 123–126.
- Jane, J. L. dan Chen, J. F. 1992. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. *J. Cereal Chem.* 69(1): 60-65.
- Jim, E. L. 2013. Metabolisme lipoprotein. *Jurnal Biomedik.* 5 (3): 149-156.
- Johnston, K. L., Thomas, E. L., Bell, J. D., Frost, G. S., dan Robesrtson, M. D. 2010. Resistant starch improves insulin sensitivity in metabolic syndrome. *Diabet med.* 27(4): 391-397.
- Jyothsna, E., dan Hymavathi, T. V. 2017. Resistant starch: importance, categories, food sources and physiological effects. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 6(2): 67-69.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., dan Trevor, A. J. 2012. *Basic and Clinical Pharmacology.* 12<sup>th</sup> Ed. Singapore: The McGraw-Hill Companies Inc.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). 2014. *Infodatin: Situasi dan Analisis Diabetes.* Jakarta Selatan: Pusat Data dan Informasi Kemenkes.
- Kementerian Pertanian Indonesia. 2015. *Outlook Komoditas Pertanian Tanaman Pangan: Ubi Kayu.* Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian.
- Klop, B., Elte, J. W. F., dan Cabezas, M. C. 2013. Dyslipidemia in obesity: mechanism and potential targets. *Nutrients.* 5(4): 1218-1240.
- Kusnandar, F. 2010. *Kimia Pangan: Komponen Makro.* Jakarta: Dian Rakyat.
- Laatsch, A., Merkel, M., Talmud, P. J., Grewal, T., Beisiegel, U., dan Heeren, J. 2009. Insulin stimulates hepatic low density lipoprotein receptor related protein 1 (lrp1) to increase postprandial lipoprotein clearance. *atherosclerosis.* 204(1): 105–111.
- Lei, Z., Ting, L. H., Li, S., Chen, F. Q., Ling, Q. L., dan Ping, J. W. 2015. Effect of dietary resistant starch on prevention and treatment of obesity-related diseases and its possible mechanisms. *Biomed Environ Sci.* 28(4): 291-297.

- Lehmann, U., Jacobasch, G., dan Schmiedl, D. 2002. Characterization of resistant starch type III from banana (*musa acuminata*). *J Agric Food Chem.* 50(18): 5236–5240.
- Lenzen, S. 2008. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia.* 51(2): 216-226.
- Lewis, G. F., Carpentier, A., Adeli, K., dan Giacca, A. 2002. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 23(2):201-229.
- Matsuda, H., Kumazaki, K., Otokozawa, R., Tanaka, M., Udagawa, E., dan Shirai, T. 2016. Resistant starch supresses postprandial hypertriglyceridemia in rats. *Food Research Int.* 89(1):838-842.
- Meisenberg, G. dan Simmons, W. H. *Principles Of Medical Biochemistry.* 4<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Elsevier.
- Mihardja, L., Soetrisno, U., dan Soegondo, S. 2014. Prevalence and clinical profile of diabetes mellitus in productive aged urban indonesians. *J Diabetes Invest.* 5(5): 507–512.
- Montagnac, J. A., Davis, C. R. dan Tanumihardjo, S. A. 2009. Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. *comprehensive reviews in food science and food safety.* 8(3): 181–194.
- Moon, Y. S. K. dan Kashyap, M. L. 2004. Pharmacologic treatment of type 2 diabetic dyslipidemia. *pharmacotherapy.* 24(12): 1693-1713.
- Moongnarm, A. 2013. Chemical compositions and resistant starch content in starchy foods. *Am J Agric Biol Sci.* 8(2): 107–113.
- Mooradian, A. D. 2009. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 5(3): 150-159.
- Muchtadi, D. 1989. Pengetahuan Bahan Pangan. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Muljana, H., Sugih, A. K., dan Kusuma, P. B. 2013. *Pembuatan Pati Resisten Jenis 3 (RS3) Dari Pati Tapioka.* Universitas Katholik Bandung. [http://repository.unpar.ac.id/bitstream/handle/123456789/4139/6208110sc\\_Jurnal-p.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.unpar.ac.id/bitstream/handle/123456789/4139/6208110sc_Jurnal-p.pdf?sequence=1&isAllowed=y) [Diakses pada 15 Desember 2017].

- Mustagfiroh, I. T. dan Probosari, E. 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 melitus tipe 2 dan tatalaksana terkini. *Medicinus*. 27(2): 9-16.
- Noomhorm, A., Ahmad, I., dan Anal, A. K. 2014. *Functional Foods and Dietary Supplements: Processing Effects and Health Benefit*. West Sussex: John Wiley and Sons, Ltd.
- Nugent, A. P. 2005. Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*. 30(1): 27-54.
- Nugroho, A. E. 2006. Hewan percobaan diabetes mellitus: patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas*. 7(4): 378-382.
- Oguntibeju, O. O., Odunaiya, N., Oladipo, B., dan Truter, E. J. 2012. Health behaviour and quality of life of patients with type 2 diabetes attending selected hospitals in south western Nigeria. *West Indian Med J*. 61(6):619-26.
- Onwueme, I.C. 1978. The tropical tuber crops-yams, cassava, sweet potato and cocoyams. Chichester: John Wiley and Sons, Inc.
- Oyabambi, A. O., Ibitoye, C. M., Biliaminu, S. A., Okesina, K. B., dan Nyamnggee, A. 2014. Processing method influences the effect of cassava (*manihot esculenta*) consumption on blood lipid profile in rats. *Biokemistri*. 26 (1): 9-12.
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (Perkeni). 2015. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2015. <http://pbperkeni.or.id/doc/konsensus.pdf> [Diakses pada 9 September 2017].
- Polat, E.S., O.B. Cital, dan M. Garip. 2013. Fatty acid composition of yolk of nine poultry species kept in their natural environment. *Animal Science Papers and Reports*. 31(4): 363-368.
- Prato, S.D. 2009. Role of glucotoxicity and lipotoxicity in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus and emerging treatment strategies. *Diabetic Medicine*. 26: 1185-1192.
- Price, S. A. dan Wilson, L. M. 2002. *Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes*. 6<sup>th</sup> ed. USA: Mosby. Terjemahan oleh Pendit B. U.,

- Hartanto, H., Wulansari, P., dan Mahanani, D. A. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6. Jilid 2. Jakarta: EGC.
- Putra, I. W. A. dan Berawi, K. N. 2015. Empat pilar penatalaksanaan pasien diabetes mellitus tipe 2. *J Majority*. 4(9): 8-12.
- Putri, N. H. K. dan Isfandiari, M. A. 2013. Hubungan empat pilar pengendalian dm tipe 2 dengan rerata kadar gula darah. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 1(2): 234–243.
- Qatanani, M. dan Lazar, M. A. 2007. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes and Dev* 21: 1443-1455.
- Rahmawati, Y. 2008. Pengaruh Pemberian Tepung Bekicot (*Achantina fulica*) terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin Tikus Strain Wistar yang diberi Diet Non Protein. *Skripsi*. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Respati, S. M. B. 2008. Macam-macam mikroskop dan cara penggunaan. *Momentum*. 4(2): 42-44.
- Roberts, C. K., Barnard, R. J., Liang, K. H., dan Vaziri, N. D. 2002. Effect of diet on adipose tissue and skeletal muscle vldl receptor and lpl: implications for obesity and hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. 161(1): 133–141.
- Robertson, M. D., Bickerton, A. S., Dennis, A. L., Vidal, H., dan Frayn, K. N. 2005. Insulin sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. *Am J Clin Nutr*. 82(3): 559-567.
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K.M., Kennelly, P. J., dan Weil, P.A. 2015. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 30<sup>th</sup> ed. Chicago: The McGraw-Hill Education.
- Rubatzky dan Yamaguchi. 1998. *Sayuran Dunia 1 Prinsip, Produksi, dan Gizi*. Bandung: ITB Bandung.
- Rukmana, R. 1997. *Ubi Jalar, Budidaya, dan Pasca Panen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S. dan Kulkarni, P. R. 2006. Resistant Starch A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5(1): 1–17.

- Setiarto, R. H. B., Jenie, B. S. L., Faridah, D. N., Saskiawan, I. 2015. Kajian peningkatan pati resisten yang terkandung dalam bahan pangan sebagai sumber prebiotik. *JUPI*. 20 (3): 191-200.
- Shulman, G. I. 2000. Cellular mechanism of insulin resistance. *J Clin Invest*. 106(2): 171-176.
- Skosvø, S. 2014. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *Journal of Diabetes Investigation*. 5(1): 349-358.
- Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C.L., dan Ramarao, P. 2005. Combination of high fat diet-fed and low-dose streptozotocin treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*. 52(4):313-320.
- Sugiyono., Pratiwi, R., dan Faridah, D. N. 2009. Modifikasi pati garut (*Marantha arundinacea*) dengan perlakuan siklus pemanasan suhu tinggi-pendinginan (*autoclaving-cooling cycling*) untuk manghasilkan pati resisten tipe III. *J Teknol Dan Industri Pangan*. 20(1): 17-24.
- Sulityoningrum, E. 2010. Tinjauan molekular dan aspek klinis resistensi insulin. *Mandala of Health*. 4(2): 131-138.
- Sun, H., Ma, X., Zhang, S., Zhao, D., dan Liu, X. 2017. Resistant starch produces antidiabetic effects by enhancing glucose metabolism and ameliorating pancreatic dysfunction in type 2 diabetic rats. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017331203>. [Diakses pada 10 Januari 2018].
- Suprapti, L. 2005. *Teknologi Pengolahan Pangan Tepung Tapioka dan Pemanfaatannya*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in b cells of the rat pancreas. *Physiological Research*. 50(6): 537-546.
- Taskinen, M. R. 2002. Diabetic dyslipidemia. *Atherosclerosis Supplements*. 3(1): 47-51.
- Vatanasuchart, N., Tungtrakul, P., Wongkrajang, K., dan Naivikul, O. 2010. Properties of pullulanase debranched cassava starch and type-iii resistant starch. *Kasetsart J*. 44 (1):131-141.
- Vergès, B. 2015. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: Where Are We?. *Diabetologia*. 58(5): 886-899.



- Vernon-Parry, K.D. 2000. Scanning electron microscopy: an introduction. *III-Vs Review*. 13(4): 40-44.
- Vijayaraghavan, K. 2010. Treatment of dyslipidemia in patients with type 2 diabetes. *Lipids in Health and Disease*. 9(144): 1-12.
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wong, J. M., de Souza, R., Kendall, C.W., Emam, A., dan Jenkins D.J. 2006. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol*. 40(3): 235-243.
- World Health Organization (WHO). 2016. *Global Report on Diabetes*. France: WHO Press.
- Wu, L. dan Parhofer, K.G. 2014. Diabetic Dyslipidemia. *J Metabolism Clinical and Experimental*. 63(12): 1469-1479.
- Wulan, S. N., Saprianti, E., Widjarnako, S. B., dan Kurnaeni, N. 2006. Modifikasi pati sederhana dengan metode fisik, kimia, dan kombinasi untuk menghasilkan tepung pra-masak tinggi pati resisten yang dibuat dari jagung, kentang, dan singkong. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 7(1): 1-9.
- Xie, F., Pollet, E., Halley, P. J., dan Avérous, L. 2013. Starch-based nanobiocomposites. *Progress in Polymer Science*. 38(10): 1590-1628.
- Zahruniya, Z. 2014. Optimasi Pembuatan Pati Resisten Tipe III Dari Pati Singkong (*Manihot esculenta Crantz*). Skripsi. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Zhang, P. 2011. Glucose Tolerance Test in Mice. *Bio-protocol*. 1(19): e159.
- Zhou, J., Martin, R. J., Tulley, R. T., Raggio, A. M., McCutcheon, K. L., Shen, L., Danna, S. C., Tripathy, S., Hegsted, M., dan Keenan, M. J. 2008. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 295(1): E1160 –E1166.

## LAMPIRAN

### 3.1 Lembar Determinasi Singkong



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. 14 /2017

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

Nama : Novia Adhitama  
NIP/NIM/NIK : 142010101016  
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
I.	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

### 3.2 Lembar 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 : 1.202 /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 TRIGLISERIDA TIKUS MODEL DIABETES**

Nama Peneliti Utama : Novia Adhitama.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 142010101016

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

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

**Tanggapan Anggota Komisi Etik**

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

*Review Proposal* :

- Permohonan persetujuan etik seharusnya dilakukan sebelum penelitian dilaksanakan :
  - Pada proposal, pelaksanaan penelitian tertulis Desember 2016 s/d Februari 2017
  - Permohonan persetujuan etik dilakukan tanggal 30 Oktober 2017
- 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.
- Mohon diperhatikan kalibrasi alat dan kontrol kualitas terhadap semua instrument dan reagen yang digunakan.
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah medis dan limbah B3 agar tidak mencemari lingkungan



Jember, 06 November 2017

Reviewer

dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

**3.3 Penghitungan dosis****3.3.1 Dosis Induksi Streptozotocin**

Induksi STZ dosis rendah adalah 35mg/kgBB

Rata-rata berat badan tikus post HFD adalah 175g

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 dan *Resistant Starch* Tipe 3 Singkong

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

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

#### 4.1 Data Pengukuran Berat Badan, Toleransi Glukosa Oral, serta Kadar Trigliserida Awal dan Setelah Perlakuan

No	Sampel Penelitian	BB (g)	TTGO (mg/dL)	Kadar Trigliserida Awal (mg/dL)	Kadar Trigliserida Setelah Perlakuan (mg/dL)
1	KN1	179	100	88.82682	135.7326
2	KN2	185	90	87.15084	124.5233
3	KN3	150	85	105.5866	106.3999
4	KN4	170	114	124.581	132.6478
5	KN5	151	108	85.47486	MATI
6	KN6	162	MATI	112.2905	MATI
7	K(-)1	187	177	131.2849	189.7172
8	K(-)2	152	424	100	179.9486
9	K(-)3	149	212	108.3799	172.2365
10	K(-)4	152	108	175.9777	176.8638
11	K(-)5	155	485	107.2626	MATI
12	K(-)6	166	MATI	111.7318	MATI
13	P1.1	158	169	113.9665	112.5964
14	P1.2	148	212	130.7263	116.7095
15	P1.3	153	363	156.9832	123.4693
16	P1.4	148	326	97.76536	109.9514
17	P1.5	156	MATI	122.905	MATI
18	P1.6	161	MATI	110.0559	MATI
19	P2.1	174	105	111.1732	113.0591
20	P2.2	172	139	122.3464	109.5116
21	P2.3	149	451	125.1397	MATI
22	P2.4	153	200	118.4358	102.3136
23	P2.5	155	500	114.5251	105.3985
24	P2.6	150	105	130.1676	MATI

## 4.2 Analisis Data Toleransi Glukosa Oral dan Kadar Trigliserida Setelah Perlakuan

### 4.2.1 Analisis Data Toleransi Glukosa Oral

#### a. Uji Normalitas dan Homogenitas

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TTGO KN	.182	5	.200*	.957	5	.784
K(-)	.263	5	.200*	.894	5	.380
P1	.238	4	.	.916	4	.514
P2	.267	5	.200*	.848	5	.189

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

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

TTGO

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
13.778	3	15	.000

#### b. Uji *Kruskal-Wallis*

### **Kruskal-Wallis Test**

**Ranks**

Kelompok	N	Mean Rank
TTGO KN	5	3.70
K(-)	5	12.40
P1	4	12.63
P2	5	11.80
Total	19	

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

	TTGO
Chi-Square	8.573
df	3
Asymp. Sig.	.036

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
Kelompok

c. Uji Post Hoc Mann Whitney

- 1) KN dan kelompok diet standar (K-) 2) KN dan kelompok diet RS tipe 3 (P1)

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	TTGO
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	16.500
Z	-2.305
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
 b. Not corrected for ties.

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	TTGO
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.449
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
 b. Not corrected for ties.

- 3) KN dan kelompok diet pati (P2)

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	TTGO
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.193
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok  
 b. Not corrected for ties.

4.2.2 Analisis Data Kadar Trigliserida Setelah Perlakuan

a. Uji Normalitas dan Homogenitas

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Posttrigliserida						
Kelompok Normal	.241	4	.	.890	4	.384
Kontrol Negatif	.236	4	.	.956	4	.754
Diet RS 3	.200	4	.	.956	4	.754
Diet Pati	.178	4	.	.983	4	.919

- a. Lilliefors Significance Correction



**Test of Homogeneity of Variances**

Posttrigliserida

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.169	3	12	.362

b. Uji *One Way Anova*

**ANOVA**

Posttrigliserida

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12756.056	3	4252.019	59.733	.000
Within Groups	854.207	12	71.184		
Total	13610.264	15			

c. Uji *Post Hoc Tukey*

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Posttrigliserida

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-54.86558*	5.96590	.000	-72.5778	-37.1534
	Diet RS tipe 3	9.14428	5.96590	.450	-8.5679	26.8564
	Diet Pati	17.25524	5.96590	.057	-.4569	34.9674
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	54.86558*	5.96590	.000	37.1534	72.5778
	Diet RS tipe 3	64.00986*	5.96590	.000	46.2977	81.7220
	Diet Pati	72.12082*	5.96590	.000	54.4087	89.8330
Diet RS tipe 3	Kontrol Normal	-9.14428	5.96590	.450	-26.8564	8.5679
	Kontrol Negatif	-64.00986*	5.96590	.000	-81.7220	-46.2977
	Diet Pati	8.11096	5.96590	.546	-9.6012	25.8231
Diet Pati	Kontrol Normal	-17.25524	5.96590	.057	-34.9674	.4569
	Kontrol Negatif	-72.12082*	5.96590	.000	-89.8330	-54.4087
	Diet RS tipe 3	-8.11096	5.96590	.546	-25.8231	9.6012

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

### 4.3 Rerata Asupan Diet Tikus

Minggu	Asupan Makanan (g)			
	KN	K(-)	P1	P2
1	18,44±2,25	24,81±2,90	21,56±3,72	19,5±6,63
2	18±2,38	21,5±1,90	17,83±1,18	11,67±1,02
3	17,18±1,56	19,86±0,38	14,32±1,96	13,75±1,42
4	17,31±1,97	19,43±0,72	12,81±2,76	17,81±2,23

### 4.4 Dokumentasi Penelitian



Pembuatan *Resistant Starch* Tipe 3 Singkong



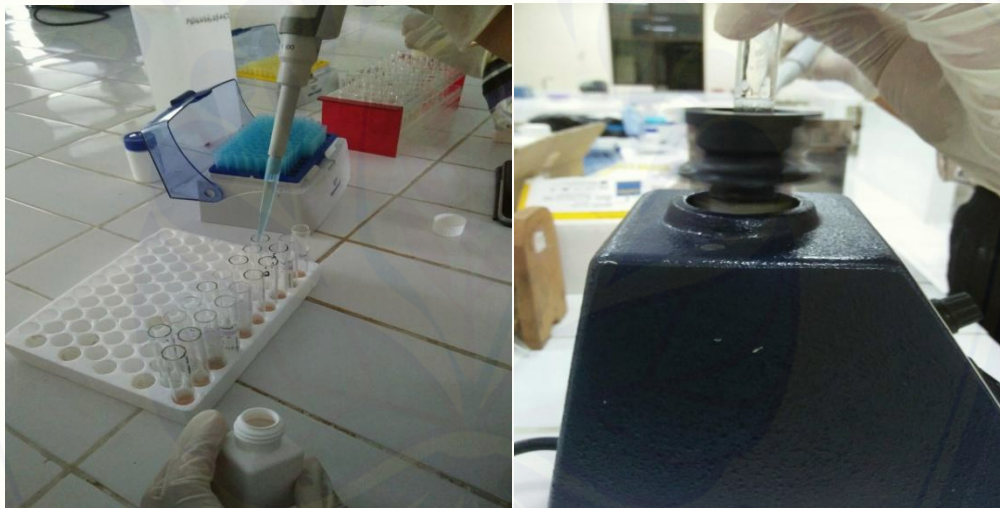
Analisis Struktur Pati Singkong dan RS tipe 3 Singkong



Aklimatisasi Tikus



Terminasi Tikus dan Pengambilan Darah Intrakardiak



Pengukuran Kadar Trigliserida