

AB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Diabetes Mellitus

a. Definisi

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme pada pankreas yang ditandai dengan peningkatan gula darah atau sering disebut dengan kondisi hiperglikemia yang disebabkan karena menurunnya jumlah insulin (hormon yang mengatur gula darah atau glukosa) dari pankreas (ADA, 2012). Hiperglikemia kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau kegagalan beberapa organ tubuh terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah (ADA, 2016).

b. Klasifikasi

International Diabetes Federation (IDF) mengatakan Diabetes Mellitus diklasifikasikan menjadi DM tipe I, DM tipe II, dan DM tipe Gestasional.

- 1) DM tipe I adalah penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan sedikitnya atau tidak ada sama sekali produksi insulin sehingga penderita sangat memerlukan tambahan insulin dari luar untuk mengontrol kadar gula darah.

- 2) DM tipe II adalah penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan kadar gula darah akibat penurunan sekresi insulin oleh sel beta pankreas dan atau fungsi insulin (resisten insulin).
- 3) DM tipe Gestasional adalah penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan kadar gula darah yang terjadi pada wanita hamil, biasanya terjadi pada usia 24 minggu masa kehamilan dan setelah melahirkan gula darah kembali normal.

c. Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe II

Resistensi insulin pada otot dan liver serta kegagalan sel beta pankreas telah dikenal sebagai patofisiologis kerusakan sentral dari DM tipe II. Selain itu, organ lain seperti: jaringan lemak, gastrointestinal, sel alfa pankreas, ginjal dan otak ikut berperan dalam menimbulkan terjadinya DM tipe II. Ralph A. DeFronzo pada tahun 2009 menyampaikan bahwa patogenesis DM tipe II disebabkan oleh delapan hal atau yang disebut dengan *The ominous octet*:

1) Kegagalan sel beta pankreas

Fungsi sel beta pankreas terus menurun seiring dengan meningkatnya keparahan Diabetes Mellitus

2) Liver

Terjadi resistensi insulin yang berat pada penderita DM tipe II dan memicu glukoneogenesis sehingga produksi glukosa dalam keadaan basal oleh liver (*hepatic glucose production/HGP*) meningkat.

3) Otot

Terjadi gangguan insulin yang multiple di intramioseluler akibat gangguan fosforilasi tirosin sehingga menimbulkan gangguan transport glukosa dalam sel otot, penurunan sintesis glikogen dan penurunan oksidasi glukosa.

4) Sel lemak

Sel lemak yang resisten terhadap efek antilipolisis dari insulin menyebabkan peningkatan proses lipolisis dan kadar asam lemak bebas (*Free Fatty Acid/FFA*) dalam plasma. Peningkatan FFA akan merangsang proses glukoneogenesis dan mencetuskan resistensi insulin di liver dan otot, juga akan mengganggu sekresi insulin.

5) Usus

Saluran pencernaan berperan dalam penyerapan karbohidrat melalui kinerja enzim alfa-glukosidase yang memecah polisakarida menjadi monosakarida yang kemudian diserap oleh usus dan berakibat meningkatkan glukosa darah setelah makan.

6) Sel alfa pankreas

Sel alfa pankreas berfungsi dalam sintesis glukagon yang dalam keadaan puasa kadarnya di dalam plasma akan meningkat. Peningkatan ini menyebabkan HGP (*hepatic*

glucose production) dalam keadaan basal meningkat secara signifikan dibanding individu normal.

d. Tanda dan Gejala

Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penyandang diabetes mellitus. Menurut *Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus* (ECD/CDM) tahun 2003, ada tiga kriteria yang digunakan untuk mendiagnosis DM, yaitu:

- 1) Keluhan klasik yang meliputi: poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya, ditambah kadar glukosa darah sewaktu >200 mg/dL (11,1 mmol/L).
- 2) Kadar glukosa puasa >126 mg/dL (7,0 mmol/L). Glukosa Darah Puasa (GDP) artinya kadar glukosa diukur setelah melakukan puasa (tidak makan minimal 8 jam, tetapi boleh minum air putih).
- 3) Kadar glukosa darah setelah pembebanan glukosa 75 g >200 mg/dL (11,1 mmol/L). *Impaired Glucose Tolerance* (IGT) dan *Impaired Fasting Glucose* (IFG) merupakan tahapan antara kondisi homeostasis glukosa normal dan DM atau disebut prediabetes. *Impaired Fasting Glucose* (IFG) terjadi jika kadar glukosa puasa antara 110-125 mg/dL, sedangkan IGT terjadi bila kadar glukosa darah sesudah pembebanan glukosa 75 g antara 140-199 mg/dL.

Selain dari yang disebutkan di atas, terdapat keluhan lain yang perlu dicurigai sebagai tanda dari terjadinya DM, yaitu lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur dan disfungsi ereksi pada pria, serta pruritus vulva pada wanita (PERKENI, 2015).

e. Faktor Risiko

Diabetes Mellitus dapat disebabkan oleh faktor genetik, faktor lingkungan, atau interaksi antara kedua faktor tersebut (Patel *et al.*, 2012). Menurut Sidartawan (2008) faktor risiko DM digolongkan menjadi tiga, yaitu:

1) Faktor risiko yang tidak dapat diubah

Faktor risiko ini meliputi faktor ras, etnik, riwayat keluarga dengan DM, usia lebih dari 45 tahun, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lahir lebih dari 4 kg, memiliki riwayat pernah menderita DM gestasional dan riwayat Bayi Berat Lahir Rendah (BBLR).

2) Faktor risiko yang dapat diubah

Faktor risiko ini antara lain kelebihan berat badan, aktivitas fisik rendah, hipertensi, dislipidemia, diet tinggi gula dan rendah serat.

3) Faktor risiko lain terkait DM

Faktor risiko DM lainnya termasuk sindrom ovarium polikistik, resisten insulin, sindrom metabolik, riwayat IGT dan riwayat penyakit kardiovaskular.

f. Penatalaksanaan Diabetes Mellitus

Dalam upaya pengendalian primer, pilihan akan jenis bahan makanan dengan kandungan zat gizi tertentu merupakan upaya pengendalian yang diberikan secara seimbang sehingga tidak menimbulkan puncak (*peak*) glukosa darah yang tinggi setelah makan. Oleh karena itu, terapi gizi merupakan komponen utama penatalaksanaan diabetes mellitus.

Diet penyakit diabetes mellitus bertujuan untuk membantu pasien memperbaiki kebiasaan makan dan olahraga untuk mendapatkan kontrol metabolik yang lebih baik. Untuk mencapai tujuan diet tersebut, maka perlu adanya syarat-syarat yang harus dilaksanakan. Berikut adalah syarat-syarat diet penyakit diabetes mellitus:

- 1) Kalori cukup untuk mencapai dan mempertahankan berat badan normal yang disesuaikan dengan kebutuhan. Kebutuhan kalori ditentukan dengan memperhitungkan kebutuhan metabolisme basal sebesar 25-30 kkal/kg berat badan normal. Jumlah tersebut bergantung pada beberapa faktor yaitu: jenis kelamin, umur, aktivitas, berat badan, dan lain-lain
- 2) Kebutuhan protein normal yaitu 10-15% dari kebutuhan energi (Almatsier, 2010)
- 3) Kebutuhan lemak sedang yaitu 20-25% dari kebutuhan energi total (Almatsier, 2010)

- 4) Kebutuhan karbohidrat 60-70% sisa dari kebutuhan energi total (Almatsier, 2010)
- 5) Natrium < 2.300 mg perhari. Hal ini berkaitan dengan keadaan penyakit diabetes melitus juga menderita hipertensi, oleh karena itu perlu dilakukan pengurangan natrium secara individual. (PERKENI, 2015)
- 6) Pemanis alternatif aman digunakan sepanjang tidak melebihi batas aman. Fruktosa tidak dianjurkan bagi penyandang diabetes melitus karena dapat meningkatkan kadar LDL, namun tidak ada alasan menghindari buah dan sayuran yang mengandung fruktosa alami
- 7) Serat yang dianjurkan adalah yang berasal dari kacang-kacangan, buah dan sayuran serta sumber karbohidrat yang tinggi serat. Anjuran konsumsi serat adalah 20-35 gram/hari yang berasal dari berbagai sumber bahan makanan (PERKENI, 2015).

Banyak penelitian tentang manfaat serat pangan terhadap tubuh, salah satunya dilakukan oleh Danis Burkitt. Dalam penelitiannya, Burkitt membuktikan bahwa serat pangan dapat melindungi tubuh dari penyakit akibat pola makan yang kurang baik, diantaranya adalah diabetes mellitus, penyakit jantung, kanker usus, dan obesitas.

Prinsip pengaturan makan pada penyandang diabetes melitus hampir sama dengan anjuran makan untuk masyarakat pada

umumnya, yaitu makan yang seimbang dan sesuai dengan kebutuhan kalori dan zat gizi masing-masing individu. Penyandang diabetes melitus perlu diberikan penekanan mengenai pentingnya keteraturan jadwal makan, jenis dan jumlah kandungan kalori dan zat gizi, terutama pada mereka yang menggunakan obat yang meningkatkan sekresi insulin atau terapi insulin itu sendiri (PERKENI, 2015).

2. Dislipidemia

a. Definisi

Dislipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan kadar fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang utama adalah kenaikan kadar kolesterol total (K-total) kolesterol *Low Density Lipoprotein* (K-LDL), dan atau trigliserida (TG), serta penurunan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (K-HDL).

Dari total serum kolesterol, kolesterol LDL berkontribusi sekitar 60-70% dan mempunyai apolipoprotein yang dinamakan apo B-100 (apo B). Kolesterol LDL merupakan lipoprotein aterogenik utama dan menjadi target utama untuk penatalaksanaan dislipidemia. Kolesterol HDL berkontribusi sebesar 20-30% dari total kolesterol serum, apolipoprotein utamanya adalah apo A-I dan apo A-II. Bukti-bukti menyebutkan bahwa K-HDL menghambat proses arterosklerosis.

b. Klasifikasi Profil Lipid

Berikut adalah klasifikasi kadar lipid plasma:

Tabel 1. Klasifikasi Kadar Lipid Plasma

Kolesterol Total (mg/dL)	
• Normal	<200
• Sedang (<i>borderline</i>)	200-239
• Tinggi	≥240
Kolesterol LDL (mg/dL)	
• Optimal	<100
• Mendekati optimal	100-129
• Sedang (<i>borderline</i>)	130-159
• Tinggi	160-189
• Sangat tinggi	≥190
Kolesterol HDL (mg/dL)	
• Rendah	<40
• Tinggi	≥60
Trigliserida (mg/dL)	
• Normal	<150
• Sedang (<i>borderline</i>)	150-199
• Tinggi	200-499
• Sangat tinggi	≥500

Kolesterol serum, lipoprotein dan apolipoprotein semuanya berkaitan dengan risiko Penyakit Kardio Vaskular (PKV). Dalam proses terjadinya arterosklerosis semua fraksi mempunyai peran yang penting dan berkaitan satu sama lain. Berbagai penelitian menyatakan bahwa K-LDL berperan secara kausal terhadap terjadinya penyakit kardiovaskular aterosklerotik.

c. Klasifikasi Dislipidemia

Dislipidemia dibagi menjadi dua klasifikasi, yaitu dislipidemia primer dan sekunder. Pengklasifikasian ini berguna dalam penentuan pola pengobatan yang akan diterapkan. Dislipidemia primer adalah

dislipidemia yang diakibatkan oleh kelainan genetik. Adapun dislipidemia sekunder diartikan sebagai akibat dari suatu penyakit lain, misalnya hipotiroidisme, sindrom nefrotik, sindrom metabolik, dan diabetes melitus. Pasien diabetes mellitus dianggap mempunyai risiko yang sama dengan pasien penyakit jantung koroner terhadap meningkatnya risiko penyakit koroner pada pasien. Adapun keadaan pankreas akut merupakan manifestasi umum hipertrigliseridemia yang berat.

d. Dislipidemia pada Diabetes Mellitus

Penyebab kematian utama pada pasien diabetes adalah penyakit kardiovaskular, diketahui sekitar 68% akan meninggal karena PJK dan 16% karena strok (Chauddury & Agrawal). Bila dibandingkan dengan pasien non-diabetes, maka risiko kardiovaskular akan meningkat 2-4 kali lebih tinggi pada pasien diabetes.

Terjadinya resistensi insulin maupun adanya defisiensi insulin pada pasien DM tipe 2 akan menyebabkan terjadinya peningkatan faktor risiko lain, seperti gangguan metabolisme lipid, hipertensi, inflamasi, stres oksidatif dan gangguan koagulasi. Oleh karena itu, pasien diabetes digolongkan sebagai penyakit yang disamakan (*equivalent*) dengan pasien PKV dan termasuk dalam kelompok risiko tinggi (*high*), sangat tinggi (*very high*) (ESC 2016, ADA 2018) dan bahkan risiko ekstrim (AACE 2017).

Resistensi insulin yang terjadi pada penderita DM akan mempengaruhi sel-sel lemak, menyebabkan enzim tertentu memecah lemak, membebaskan asam lemak yang selanjutnya berpindah ke hati (Jellinger & Caballero, 2006). Di dalam hati, asam lemak akan meningkatkan produksi trigliserida yang dilepas pada sirkulasi dan merangsang produksi protein pembawa VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*).

Insulin dapat mempengaruhi fungsi lipoprotein lipase (LPL). Saat terjadi defisiensi insulin maka akan menyebabkan defisiensi aktivitas LPL, karena enzim ini diinduksi oleh insulin (Grenspan & Baxter, 1993). LPL yang berpasangan dengan insulin dapat memecah trigliserida dalam darah untuk masuk ke dalam sel adiposa. Dalam jaringan lemak dan hati insulin merangsang pengambilan asam lemak bebas yang selanjutnya disimpan dalam bentuk trigliserida (lemak cadangan) (Mutschler, 1991). Penurunan aktivitas LPL menyebabkan meningkatnya trigliserida VLDL, karena LPL bekerja dalam menghidrolisis trigliserida VLDL. Kejadian tersebut berpotensi tinggi untuk terjadinya aterogenik (Mutschler, 1991) yang menyebabkan kenaikan kadar kolesterol LDL (Heslet, 1997).

3. Indeks Aterogenik

Indeks Aterogenik adalah nilai yang mengindikasikan seberapa besar potensi terjadinya aterosklerosis (Prangdimurti *et al.*, 2007). Nilai indeks aterogenik dipengaruhi oleh kadar HDL kolesterol. Jika kadar

HDL kolesterol dalam darah tinggi, maka potensi terjadinya aterosklerosis akan rendah (Herpandi *et al.*, 2006). Sebaliknya, jika kadar HDL kolesterol dalam darah rendah, maka potensi terjadinya aterosklerosis akan tinggi. Tingginya nilai indeks aterogenik akan bermanifestasi menjadi penyakit jantung koroner dan penyakit degeneratif lainnya. Indeks risiko koroner adalah nilai yang mengindikasikan seberapa besar risiko terjadinya penyakit jantung koroner. Pada tikus, nilai normal IA berkisar antara 0,34-0,35 (Ariza, 2015). Indeks aterogenik dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Indeks Aterogenik (IA)} = \frac{(\text{Kolesterol Total} - \text{HDL})}{\text{HDL}}$$

Indeks aterogenik (IA) juga digunakan sebagai indikator tinggi rendahnya risiko suatu bahan pangan terhadap kemungkinan terbentuknya plak arterosklerosis. Sebagai hasil, maka jika nilai indeks aterogenik rendah menunjukkan bahwa terjadinya pembentukan plak arterosklerosis pun rendah. Penelitian Noor & Rarastoeti (2016) tentang diet nasi hitam menunjukkan kemampuannya dalam menurunkan indeks aterogenik secara signifikan dari 9,06 menjadi 1,37. Hal tersebut dikarenakan kandungan serat yang tinggi pada beras hitam, sehingga dapat dikaitkan dengan penurunan penyakit koroner.

4. Sukun (*Artocarpus communis*)

a. Tanaman Sukun

Tanaman sukun memiliki nama ilmiah *Artocarpus communis* termasuk keluarga *Moraceae* dan kelas *Dicotyledonae* (Heyne, 1987;

Ragone, 1997; Zerega et al, 2005). Sukun merupakan tanaman tropik sejati yang tumbuh paling baik di daerah dataran rendah yang beriklim panas, namun juga dapat tumbuh di dataran sedang hingga dataran tinggi. Menurut Sturrock (1940) tanaman sukun mudah dikembangkan karena teknik budidaya sukun relatif mudah, dan tahan terhadap kemarau panjang asalkan ada air tanah dan aerasi tanah yang cukup.

Buah sukun berbentuk bulat agak lonjong seperti buah melon. Buah yang masih muda memiliki permukaan kulit yang kasar dengan ketebalan kulit berkisar 1-2 mm dan nampak dipenuhi duri agak tajam, lalu menjadi halus setelah buah tua. Tekstur buah saat mentah keras, dan menjadi lunak setelah buah tua. Daging buah sukun memiliki beberapa warna tergantung dari jenis sukun, diantaranya ada yang berwarna putih, putih kekuningang, dan kuning. Buah sukun mentah memiliki rasa yang pahit, namun ada pula yang agak manis, dan menjadi manis setelah matang. Sukun memiliki aroma yang spesifik. Ukuran buah sukun dapat mencapai 4 kg (Suyanti et al., 2003). Musim panen sukun biasanya dua kali setahun, yaitu pada bulan Januari – Februari dan Juli – September (Widowati, 2009).

b. Kandungan Zat Gizi

Berikut adalah kandungan zat gizi per 100 gram buah sukun:

Tabel 2. Kandungan Zat Gizi Sukun Per 100 gram

Zat Gizi	Buah Sukun Muda	Buah Sukun Tua
Air (g)	69,4	67,8
Energi (kkal)	119	126
Protein (g)	1,4	1,6
Lemak (g)	0,2	0,2
Karbohidrat (g)	28,1	24,5
Serat (g)	1,4	1,5
Kalsium (mg)	24	37
Fosfor (mg)	44	47
Besi (mg)	1,4	1,6
Natrium (mg)	24	25
Kalium (mg)	414,4	436,0
Beta-karoten (mcg)	28	30
Vitamin B1 (mg)	0,17	0,18
Vitamin B2 (mg)	0,17	0,17
Niasin (mg)	3,7	3,9
Vitamin C (mg)	52	58

Sumber: Data komposisi Pangan Indonesia (Kemenkes, 2018)

Buah sukun termasuk dalam golongan buah yang berpotensi sebagai sumber karbohidrat yang tinggi. Selain karbohidrat, buah sukun juga kaya akan kandungan protein, lemak, abu dan serat, serta vitamin dan mineral yang lebih lengkap dibandingkan beras (Tindal 1965; Dignan 2004; Koswara 2006). Dari tabel 3 tersebut terlihat bahwa sukun muda mengandung karbohidrat 28,1 gram lebih tinggi dari sukun tua yang memiliki kandungan karbohidrat sebanyak 24,5 gram. Bahan pangan tinggi karbohidrat adalah bahan pangan dengan presentase karbohidrat yang tinggi. Di sisi lain, bahan pangan tinggi karbohidrat didefinisikan sebagai pangan sumber karbohidrat yang mencakup gula dan pati (Afandi, dkk., 2019).

Terdapat dua jenis karbohidrat, yaitu *available* karbohidrat dan *non-available* karbohidrat. *Available* karbohidrat adalah karbohidrat yang dapat dicerna oleh enzim pencernaan, diserap dalam bentuk glukosa oleh usus halus dan dimetabolisme oleh sel-sel dalam tubuh. Di antara yang termasuk dalam *available* karbohidrat adalah glukosa, disakarida dan oligosakarida. Diketahui bahwa semakin tinggi pangan dengan kandungan *available* karbohidrat, maka indeks glikemiknya pun semakin tinggi. *Non-available* karbohidrat adalah karbohidrat yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan, tidak juga diserap dalam bentuk glukosa oleh usus halus, dan tidak dimetabolisme oleh sel-sel dalam tubuh (Afandi, dkk., 2019). Oleh karena sifatnya tersebut, menjadikan *non-available* karbohidrat memiliki indeks glikemik yang rendah. Salah satu bentuk *non-available* karbohidrat adalah pati resisten. Pati resisten (RS) merupakan fraksi pati tidak tercerna yang memiliki fungsi fisiologis yang sama dengan serat pangan.

Kadar pati dan amilosa sukun tergolong tinggi, yaitu 32,87% dan 16,04% (Rosida & Ratna, 2013). Menurut Asp dan Bjorck (1992) semakin tinggi kadar amilosa pati pada suatu bahan pangan, semakin tinggi pula kadar pati resistennya. Menurut penelitian Jeevetha, dkk. (2014) terhadap subjek hiperinsulin menyatakan bahwa, pangan dengan kadar amilosa yang tinggi berpengaruh signifikan terhadap penurunan respon glukosa dan insulin.

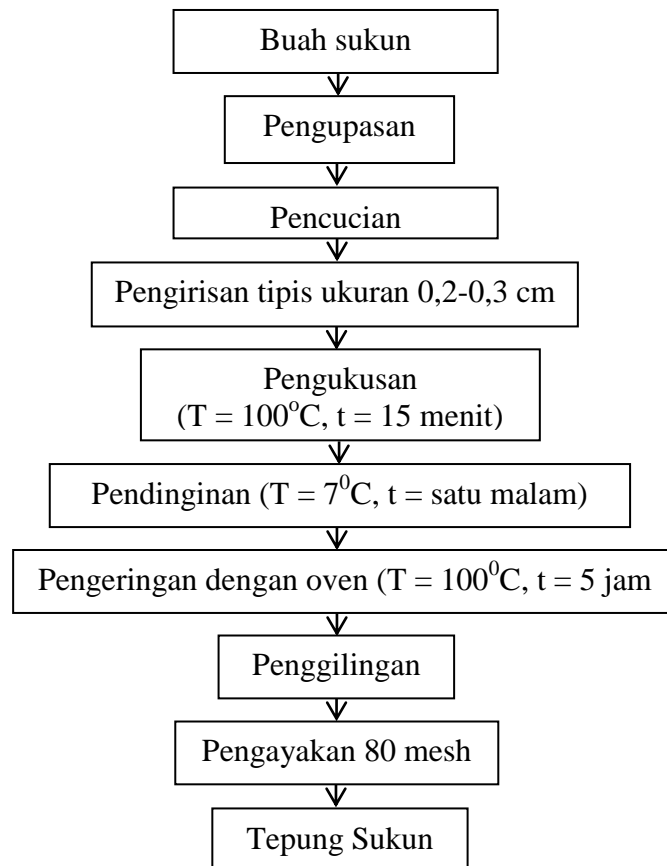
5. Tepung Sukun

Program penganeekaragaman pangan dari buah sukun dilakukan sebagai salah satu cara untuk memanfaatkan buah sukun yang berlimpah pada musim panen dan mengembangkan produk pangan. Salah satu upaya penganeekaragaman sukun, yaitu pembuatan tepung sukun. Tepung merupakan salah satu bentuk alternatif produk setengah jadi yang dianjurkan, karena lebih tahan disimpan, mudah dicampur (dibuat komposit), diperkaya zat gizi (difortifikasi), di bentuk, dan lebih cepat di masak sesuai tuntutan kehidupan modern yang serba praktis (Winarno, 2000).

Tepung sukun diperoleh dari buah sukun dengan karakteristik tertentu yang diolah melalui proses penepungan. Tepung sukun dapat digunakan sebagai perantara pemenuhan kebutuhan gizi karena mempunyai kandungan gizi yang tinggi sehingga dapat menunjang gizi masyarakat. Pada proses pembuatan tepung, kemungkinan yang sering terjadi adalah pencoklatan pada produk tepung dihasilkan. Hal ini dikarenakan sukun mengandung enzim polifenol yang jika kontak dengan udara, maka akan terjadi reaksi browning pada tepung. Oleh karena itu, dalam proses membuat tepung diusahakan sesedikit mungkin terkena kontak dengan udara. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan merendam buah yang telah dikupas dalam air bersih.

6. Proses Penepungan Buah Sukun

Tahapan pembuatan tepung sukun dapat dilihat pada diagram alir berikut:



Gambar 1. Diagram Alir Pembuatan Tepung Sukun
(Melati, 2017)

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan zat gizi pada tepung sukun. Berikut adalah kandungan zat gizi tepung sukun:

Tabel 3. Kandungan Zat Gizi Tepung Sukun

Jenis Zat Gizi	Kadar Zat Gizi
Air (g)	70,65
Energi (kkal)	108
Lemak (g)	0,3
Protein (g)	1,3
Karbohidrat (g)	28,2
Kalsium (mg)	21
Phospor (mg)	59
Fe (mg)	0,4
Vit. A (mg)	0,12
Vit. B1 (mg)	0,06
Vit. C (mg)	17

Sumber: Hamdan, 2012

Buah sukun yang baik untuk diolah adalah buah mengkal yang dengan usia paenn 10 hari sebelum tingkat kematangan optimum (Widowati, 2003) atau 80-85 hari setelah berbunga. Buah sukun yang muda menghasilkan tepung sukun berwarna putih.

7. Kacang Merah

a. Kacang Merah

Kacang merah merupakan jenis sayuran polong semusim yang tumbuh tegak (tidak merambat) dan umumnya di panen polong tua sehingga disebut juga *Bush bean*. Biji kacang merah berbentuk bulat agak panjang, berwarna merah atau merah berbintik-bintik putih (Rukmana, 2009) dan memiliki aroma polong yang agak langu.

Klasifikasi kacang merah adalah sebagai berikut (Rukmana, 2009):

Kongdom : *Plant*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Sub divisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledonae*
 Sub kelas : *Calyciflorae*
 Ordo : *Rosales (Leguminales)*
 Famili : *Leguminosae (Papilionaceae)*
 Subu famili : *Papilionoideae*
 Genus : *Phaseolus*
 Spesies : *Phaseolus vulgaris L.*

b. Kandungan Zat Gizi

Berikut adalah kandungan gizi per 100 gram kacang merah kering:

Tabel 4. Kandungan Zat Gizi Per 100 Gram Kacang Merah Kering

Zat Gizi	Nilai per 100g
Energi (kkal)	314
Protein (g)	22,1
Lemak (g)	1,1
Karbohidrat (g)	56,2
Serat (g)	4,0

Sumber : Data Komposisi Pangan Indonesia (Kemenkes, 2018)

Kandungan karbohidrat (56,2 g) dan serat (4,0 g) dalam kacang merah cukup tinggi. Marsono (2000) menyatakan bahwa kacang merah berpotensi dalam menurunkan kadar gula darah. Kandungan lemak pada kacang merah pun sangat rendah, bahkan

nyaris bebas lemak jenuh, serta bebas kolesterol, sehingga aman untuk dikonsumsi masyarakat dari berbagai kelompok umur. Astawan (2009) menyebutkan bahwa kacang merah mampu menurunkan kadar kolesterol LDL serta meningkatkan kadar kolesterol HDL dalam darah.

8. Tepung Kacang Merah

Tepung kacang merah adalah tepung atau partikel padat yang berukuran kecil yang dihasilkan dari proses penggilingan. Tujuan pembuatan tepung kacang merah adalah untuk meningkatkan kualitas gizi dan nilai gizi (Mayasari, 2015). Berikut adalah kandungan gizi tepung kacang merah:

Tabel 5. Kandungan Zat Gizi Tepung Kacang Merah

Parameter	Kadar Zat Gizi
Protein (g)	4,57
Karbohidrat (g)	12,83
Lemak (g)	0,48
Abu (g)	3,91
Air (g)	7,00

Sumber : Institut Pertanian Bogor dalam Nurkistin (2019)

Kandungan zat gizi pada tepung kacang merah meliputi protein 4,57 g, karbohidrat 12,83 g, dan lemak 0,48 g. Dalam penelitian Indri, dkk., 2006 menyatakan kandungan gizi serat pangan dalam tepung kacang merah mampu menurunkan kadar gula darah. Serat pangan dalam tepung kacang merah yang dapat memberikan fungsi tersebut adalah serat larut. Mekanisme serat dalam menurunkan kadar gula darah adalah dengan

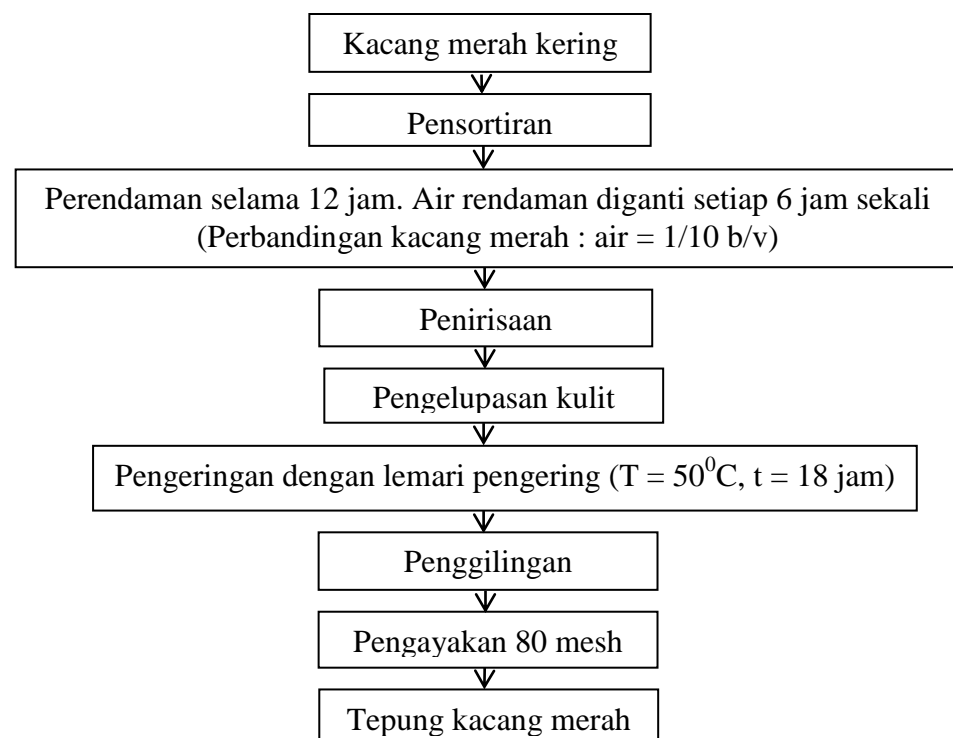
memperlambat penyerapan glukosa, meningkatkan kekentalan isi usus yang secara tidak langsung serta menurunkan kecepatan difusi permukosa usus halus yang kemudian menurunkan kadar glukosa secara perlahan, sehingga kebutuhan insulin juga berkurang (Sulistijani, 2001).

Dalam pembuatan tepung kacang merah, suhu dan lama pengeringan harus diperhatikan karena akan mempengaruhi kandungan gizi dan karakteristik tepung kacang merah (Hanastiti, 2013). Kacang merah juga mengandung zat-zat antigizi seperti asam fitat, tanin, hemoglutinin, tripsin inhibitor (*antytripsin*), dan goitrogen. Maka dari itu, diperlukan perlakuan yang benar agar zat tersebut dapat berkurang. Perlakuan yang dapat digunakan antara lain, pengupasan, perendaman, dan perebusan, atau kombinasi dari ketiga perlakuan tersebut. Perlakuan selanjutnya adalah pengeringan bahan, penggilingan dan pengayakan bahan hingga mendapatkan produk tepung yang baik.

Pemanasan dapat menonaktifkan enzim-enzim oksidatif, seperti peroksidase, katalase, polifenol, lipogase, oksidase, dll, karena enzim-enzim ini dapat menyebabkan perubahan kualitas warna, bau, cita rasa, dan tekstur bahan. Namun, jika suhu lingkungan mencapai 40⁰C atau lebih, enzim akan mengalami denaturasi (rusak). Proses perendaman dan perebusan juga mampu meurunkan lemak yang tinggi pada tepung kacang merah secara signifikan, sehingga dapat mencegah ketengikan pada tepung saat penyimpanan (Pengastuti, Affandi & Ishartani, 2013).

Berdasarkan penelitian Pangestu, Affandi dan Ishartani (2013) diketahui bahwa kombinasi perlakuan pendahuluan berupa perendaman selama 24 jam dan perebusan 90 menit baik dengan kulit maupun tanpa kulit, jika dibandingkan dengan tepung tanpa perlakuan pendahuluan, maka dapat meningkatkan kadar air, namun menurunkan kadar abu, kadar protein, kadar lemak, dan kadar asam fitat dalam kacang merah.

Berdasarkan sifat fungsional, kombinasi perlakuan pendahuluan perendaman 24 jam dan perebusan 90 menit baik dengan kulit maupun tanpa kulit dapat menurunkan kadar serat pangan, namun pengupasan dapat meningkatkan kadar serat pangan. Berikut adalah prosedur pembuatan tepung kacang merah.



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan Tepung Kacang Merah
(Anandito, 2016)

9. Serat Pangan

Pada tahun 2008, *Codex Commission on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses* (CCNFSDU) mendefinisikan serat pangan sebagai polimer karbohidrat dengan sepuluh atau lebih unit monomer, yang tidak terhidrolisis oleh enzim endogen dalam usus halus manusia (Kendall *et al.*, 2010). The Institute of Medicine (IOM) pada tahun 2001 mengembangkan definisi serat sebagai serat pangan (*dietary fiber*) dan serat fungsional (*functional fiber*). Serat pangan meliputi karbohidrat yang tidak dapat dicerna dan lignin yang terdapat pada tumbuhan. Sedangkan serat fungsional didefinisikan sebagai karbohidrat yang diisolasi dan tidak dapat dicerna serta memiliki manfaat secara fisiologis bagi tubuh manusia.

a. Klasifikasi Serat Pangan

Secara umum, serat pangan digolongkan berdasarkan sifat kelarutannya menjadi serat larut (*soluble fiber*) dan serat tidak larut (*insoluble fiber*). Namun para ilmuwan menemukan bahwa serat pangan memiliki sifat yang lebih kompleks. Beberapa jenis serat memiliki sifat membentuk gel. Sifat tersebut diyakini dapat menimbulkan *bulky*, rasa kenyang yang memicu penurunan asupan makan dan penyerapan nutrisi termasuk karbohidrat. Hal ini menyebabkan kadar glukosa darah tidak meningkat secara drastis setelah makan (Karhuenn *et al.*, 2010).

1) Serat larut (*Soluble fiber*)

Penelitian Tensiska (2008) menyatakan bahwa serat pangan larut hampir semua dapat difermentasi secara cepat oleh mikroba. Serat larut memiliki beberapa peran dalam tubuh, diantaranya mampu membentuk larutan yang jental (viskus) sehingga cenderung memperlambat pengosongan lambung dan penyerapan nutrisi termasuk glukosa, sehingga dapat mengurangi laju kenaikan glukosa plasma setelah makan. Oleh karena itu, konsumsi serat larut sangat bermanfaat dalam upaya mengontrol kadar glukosa darah terutama pada penderita DM. Serat larut yang relatif tinggi dapat dijumpai pada buah-buahan, gandum dan kacang-kacangan.

2) Serat tidak larut (*Insoluble fiber*)

Berbeda dengan serat larut, serat tidak larut tahan terhadap degradasi oleh mikroba sehingga hanya sebagian kecil yang terfermentasi (Tensiska, 2008). Serat tidak larut memperbanyak volume feses dan memperpendek waktu transit feses di usus besar. Oleh karena itu, serat dalam makanan, terutama serat tidak larut air biasanya digunakan untuk mengatasi gangguan saluran pencernaan, seperti sembelit dan sindrom iritasi usus (Brody, 1999). Kandungan serat pangan tidak larut air dalam bentuk selulosa, hemiselulosa, dan lignin relatif lebih tinggi

pada sayuran, gandum, sereal, dan kacang-kacangan (Brownlee, 2009).

Serat pangan merupakan salah satu komponen makanan yang banyak diteliti terkait manfaatnya dalam penanganan penyakit degeneratif dan sindrom metabolik. Saat ini produk pangan fungsional dengan kandungan serat yang tinggi banyak dikembangkan untuk terapi penyakit degeneratif dan sindrom metabolik. Produk makanan dikatakan sebagai sumber serat yang baik jika mengandung 2,5 g serat per porsi, dan dikatakan sangat baik jika mengandung 5 g serat per porsi (Slivan, 2013).

b. Fungsi Fisiologis Serat Pangan

Penelitian kohort prospektif secara jelas menunjukkan bahwa asupan serat yang tinggi berkaitan dengan penurunan risiko penyakit kardiovaskular, kejadian obesitas, diabetes melitus, dan kanker (Savin, 2013). Variasi komposisi kimia serat pangan tergantung dari komposisi dinding sel tanaman asalnya. Pada dasarnya komponen dinding sel tanaman terdiri dari selulosa, hemiselulosa, pektin, lignin, *mucilages* yang kesemuanya termasuk dalam serat pangan (Santoso, 2011). Akan tetapi, tidak semua sumber serat pangan menghasilkan efek fisiologis yang sama. Hal ini karena makanan yang kaya serat juga mengandung sejumlah fitokimia bioaktif yang memberikan manfaat tambahan (Lairon, 2007).

Fungsi fisiologis serat pangan juga diketahui mampu memberikan efek protektif pada kejadian beberapa penyakit. Fuentes-Zaragoza *et al.* (2010) merangkum beberapa efek protektif serat pangan seperti pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Efek Protektif Serat Pangan

Fungsi Fisiologis	Protektif pada penyakit
• Kontrol glikemik dan respon insulin	• Diabetes melitus
• Meningkatkan kesehatan usus melalui prebiotik dan kultur protagonist	• Kanker usus besar, <i>ulcerative colitis</i> , <i>inflammatory bowel disease</i> (IBD), divertikulitis, konstipasi
• Memperbaiki profil lipid darah	• Penyakit kardiovaskular dan dislipidemia
• Meningkatkan rasa kenyang dan menurunkan asupan energi	• Obesitas
• Meningkatkan penyerapan mikronutrien	• Osteoporosis

10. Pati Resisten (*Resistant Starch*)

Pati adalah karbohidrat yang tersusun atas amilosa dan amilopektin. Pati dapat mengalami gelatinisasi ketika di masak dengan air dan dapat dihidrolisis oleh enzim amilase. Oleh sebab itu, pati dapat dicerna sempurna dalam sistem pencernaan manusia. Pati kasar dari beberapa tumbuhan, seperti sereal juga dapat dicerna meskipun

membutuhkan waktu yang lebih lama. Akan tetapi, ada pati yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan manusia, sehingga disebut dengan pati resisten. Pati resisten merupakan pati atau produk degradasi dari pati yang tidak tercerna di usus halus manusia (Leszczynski, 2004).

a. Klasifikasi pati resisten

Pati resisten (Resistant starch/RS) diklasifikasikan menjadi empat tipe yang disebut RS₁, RS₂, RS₃, RS₄ (Englyst *et al.*, 1992; Brown *et al.*, 1995; dalam Nugent, 2005). Deskripsi dari masing-masing tipe pati resisten disajikan pada Tabel 8 berikut.

Tabel 7. Deskripsi Tipe Pati Resisten

Tipe RS	Diskripsi	Sumber
RS ₁	Terproteksi secara fisik	Biji-bijian ocah atau utuh dan legum
RS ₂	Resisten terhadap gelatinisasi dan akan terhidrolisis secara lambat oleh alfa amilase	Kentang mentah, pisang yang masih hijau, legum dan pati kaya amilosa
RS ₃	Pati teretrogradasi	Potato yang sudah di masak dan didinginkan, dan produk-produk pangan yang di simpan dalam waktu yang cukup lama dan atau yang dipanaskan secara berulang
RS ₄	Modifikasi pati secara kimia dengan menggunakan reagen kimia	Produk-produk pangan yang menggunakan pati termodifikasi, seperti roti dan kue

b. Kecernaan Pati Resisten

Pati resisten adalah pati atau derivat pati yang tidak tercerna dalam usus halus individu yang sehat dan kemudian masuk ke dalam

kolom untuk digunakan sebagai substrat bagi pertumbuhan mikroflora kolon.

Mengonsumsi makanan yang banyak mengandung pati resisten (RS) dapat meningkatkan asam lemak rantai pendek (*short chain fatty acid*, SCFA) yang dapat memberikan keuntungan pada masyarakat, yaitu mempertahankan fungsi fisiologis kolon. Hal ini disebabkan karena jika RS difermentasi akan menghasilkan butirir. Makanan yang mengandung RS banyak mengandung pati dengan kandungan amilosa tinggi yang akan menghasilkan feses dengan kandungan butirir yang tinggi.

c. Efek Fisiologis Pati Resisten

Pati resisten (RS) diketahui memiliki efek fisiologis yang menguntungkan bagi kesehatan (Nugent, 2005).

a. Pengaruh Glisemik

Makanan yang mengandung pati resisten memperlambat laju pencernaan. Perlambatan pencernaan pati resisten membantu dalam mengontrol aplikasi pelepasan glukosa. Sejumlah penelitian pada kesehatan manusia menyatakan bahwa pati resisten memiliki dampak positif pada tingkat postprandial glukosa dan respon insulin.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa minuman yang ditambah pati resisten berbasis jagung mengurangi respon glikemik relatif tanpa perubahan pada palatibilitas.

Mekanismenya mungkin bahwa pati resisten mengurangi fraksi karbohidrat tercerna, meningkatkan sensitivitas insulin, dan menurunkan respon glikemik.

b. Menurunkan cadangan kolesterol

Mekanisme penurunan cadangan kolesterol adalah pati resisten membantu dalam mengikat asam empedu yang menyebabkan peningkatan ekskresi asam empedu pada feses, akibatnya terjadi penurunan daur ulang asam empedu. Untuk mengimbangi kehilangan asam empedu yang diekskresikan melalui feses, hati mensintesis asam empedu baru dari kolesterol cadangan, sehingga mengurangi tingkat kolesterol serum.

Beberapa penelitian membuktikan pengaruh hipokolesterolemia pati resisten, salah satunya penelitian pada tikus yang diberikan diet pati resisten (25% kentang mentah) secara nyata meningkatkan ukuran dan konsentrasi SCFA pada sekum, sehingga meningkatkan penyerapan SCFA, dan menurunkan kolesterol serta trigliserida pada plasma. Selain itu, semua fraksi lipoprotein mengalami penurunan terutama pada *high density lipoprotein* (HDL1) dan penurunan konsentrasi trigliserida dalam fraksi trigliserida kaya lipoprotein.

Menurut Bird *et al.* (2006) menyatakan bahwa konsumsi pati resisten dapat meningkatkan indeks relatif kesehatan usus besar yang meliputi peningkatan ruahan (*bulk*) digesti dan rasio

molar SCFA serta penurunan pH digesta. Digesta yang lebih ruah (*bulk*) menunjukkan bahwa pati resisten memiliki pencernaan yang rendah (Morita *et al.*, 2005).

c. Menurunkan akumulasi lemak

Pati resisten dapat meningkatkan pembakaran lemak dan dengan demikian membantu dalam mengurangi akumulasi lemak. Pengujian yang dilakukan di Amerika Serikat menunjukkan bahwa konsumsi makanan yang mengandung 5% pati resisten membantu untuk meningkatkan oksidasi lemak sebesar 23%, dan kenaikan ini terjadi terus-menerus sepanjang hari, bahkan ketika hanya satu kali mengonsumsi makanan yang mengandung pati resisten.

d. Peningkatan penyerapan mineral

Pati resisten memiliki konsekuensi positif pada penyerapan kalsium dan zat besi dalam usus. Beberapa penelitian dilakukan untuk menjelaskan penyerapan kalsium, fosfor, zat besi, dan seng pada usus baik pati resisten maupun pati tercerna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa makanan yang mengandung pati resisten 16,4% memiliki penyerapan kalsium dan zat besi lebih besar dibandingkan dengan makanan yang mengandung pati tercerna.

11. Streptozotosin

Streptozotocin atau 2-deoksi-2-(3-metil-nitrosaura)-1-D-glukopiranososa (STZ) adalah senyawa yang alami terdapat pada bakteri *Streptomyces achromogenes* dan memiliki efek antibakteri spektrum luas. Berat molekul STZ adalah 265 g/mol dan strukturnya terdiri atas gugus nitrosaura dengan gugus metil terikat pada ujung yang satu dan molekul glukosa terikat pada ujung lainnya (Elauzu *et al.*, 2013). Pada tahun 1963, Rakietyen dan temannya melaporkan bahwa STZ bersifat diabetagenik. Sejak saat itu, STZ digunakan sebagai salah satu obat untuk menginduksi DM pada hewan coba (Rakietyen *et al.*, 1963).

STZ dapat menginduksi DM pada tikus, mencit, monyet, hamster, kelinci, dan *guinea pig*. STZ bersifat sitotoksik (menyebabkan kematian sel) terhadap sel β pankreas dan efeknya dapat terlihat dalam 72 jam setelah induksi STZ, namun juga tergantung pada dosis pemberian. Efek toksik STZ diawali dengan ambilan STZ ke dalam sel melalui transporter glukosa-2 (GLUT2) afinitas rendah yang terdapat di membran plasma sel β , sel hepatosit dan sel tubulus ginjal.

STZ bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein dan *deoxyribonucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel β langerhans pankreas (Wilson, 1988). Efek toksiknya bersifat lebih selektif terhadap sel β pankreas karena berdasarkan struktur kimia STZ yang memiliki gugus glukosa sehingga

mempermudah masuknya STZ ke sel β , hal tersebut dikarenakan sel β pankreas lebih aktif mengambil glukosa dibanding sel lainnya. Selain itu, STZ juga menyebabkan kerusakan jantung dan jaringan lemak serta meningkatkan stres oksidatif, inflamasi dan disfungsi endotel (Valentovic et al., 2006).

Kematian sel yang disebabkan oleh pemberian STZ adalah karena gugus metilnitrosourea STZ menyebabkan metilasi DNA. Hal ini mencetuskan kerusakan DNA yang pada akhirnya menyebabkan nekrosis sel β pankreas melalui deplesi simpanan energi seluler. Selain itu, adanya usaha untuk memperbaiki DNA yang rusak melalui aktivasi poli ADP ribosa polimerase (PARP) akan semakin mengurangi NAD^+ selular (Eleazu et al., 2013).

Pemberian STZ menyebabkan peningkatan melondialdehid secara signifikan menurunkan aktivitas enzim antioksidan seperti katalase, glutathione, peroksidase, dan superoksida dismutase. Selain itu, sel β pankreas tidak memiliki katalase, glutathione dan peroksidase, sehingga semakin rentan terhadap radikal bebas (Vergani et al., 2004).

Streptozotocin diyakini lebih baik sebagai agen diabetogenik karena lebih efektif dan lebih *reproducible*. STZ juga stabil dalam larutan sebelum dan sesudah peenyuntikan pada hewan coba. Selain itu, model hewan coba yang diinduksi STZ lebih mirip dengan beberapa komplikasi akut dan kronis yang sering dijumpai pada penyandang DM, dengan menunjukkan kesamaan pada beberapa abnormalitas struktural,

fungsional dan biokimia penyakit DM sehingga lebih cocok sebagai model untuk memeriksa mekanisme DM (Eleazu *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2010).

Islam dan Loots (2009) menyatakan bahwa Streptozotosin diinjeksi intraperitoneal dengan dosis 35-65 mg/kg berat badan pada tikus dan 100-200 mg/kg berat badan pada mencit. Namun pada penelitian lain, terdapat beberapa tingkatan dosis penggunaan streptozotosin seperti injeksi tunggal STZ dosis tinggi (>65 mg/kg BB), injeksi berulang dosis rendah (<35 mg/kg BB), atau kombinasi STZ dengan diet tinggi lemak. Injeksi STZ dengan dosis tinggi (>60 mg/kg BB) menyebabkan kerusakan sel pankreas secara masif sehingga lebih mengarah kepada model hewan DM tipe 1. Injeksi STZ dosis menengah (40-55 mg/kg BB) menyebabkan gangguan sekresi insulin parsial seperti DM tipe 2, dan injeksi STZ dosis tunggal (<35 mg/kg BB) pada tikus diet normal tidak menunjukkan gambaran hiperglikemia (Srinivasan *et al.*, 2005).

Berbeda dengan streptozotosin, model nikotinamid-streptozotosin (STZ-NA) memiliki efek toksik yang tidak lebih selektif dari STZ. Pemberian nikotinamid (NA) sebelum induksi dengan STZ dapat melindungi sel pankreas dari efek toksik STZ sehingga dapat mencegah perkembangan keadaan diabetes (Stauffer *et al.*, 1970). Nikotinamid (NA) adalah inhibitor poli ADP ribosa polimerase (PARP) sehingga dapat menghambat metilasi DNA.

Nakamura dkk. Telah mengembangkan model ini menjadi model DM tipe 2 non obesitas dan non genetik. Dasar pengembangan model ini adalah teori bahwa STZ menyebabkan kerusakan DNA yang dapat memicu mekanisme perbaikan DNA. Mekanisme perbaikan DNA ini membutuhkan nikotinamid adenin dinukleotida (NAD) dalam jumlah besar. Pemberian nikotinamid akan memproteksi sel pankreas sehingga tidak terjadi kerusakan masif. Hal tersebut berdasarkan kegunaan NA yang membuat kerusakan sel β hanya sebagian, sedangkan pada model hewan yang diinduksi dengan streptozotisin saja menunjukkan nekrosis pada sel β (Szkudelsi, 2012). Berdasarkan uraian di atas, maka dalam penelitian ini menggunakan streptozotisin nikotinamid (STZ-NA) sebagai bahan injeksi untuk menciptakan keadaan diabetes pada hewan coba.

12. Tikus Hewan Coba

a. Hewan Coba

Hewan laboratorium atau hewan coba adalah hewan yang dipelihara dan diternakan dengan sengaja untuk digunakan sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik.

Secara umum, model hewan coba diklasifikasikan menjadi dua, yaitu model hewan dengan induksi spontan atau genetik dan model hewan yang diinduksi secara eksperimental atau non genetik. Model hewan spontan atau genetik adalah hewan normal yang

memiliki persamaan fenotip dengan manusia atau spesies hewan yang abnormal disebabkan oleh mutasi spontan. Adapun model hewan induksi atau non genetik adalah hewan yang diubah status fisiologis normalnya melalui pembedahan, modifikasi genetik dan pemberian zat kimia (Dorothy, 2012).

Model hewan non genetik lebih sering digunakan dalam penelitian dibandingkan model hewan genetik. Beberapa alasan diantaranya karena biaya yang lebih murah, ketersediaannya lebih banyak, metode induksi dan pemeliharaan lebih mudah. Sedangkan pada hewan coba genetik atau spontan memiliki kelemahan, yaitu perkembangan yang sering tidak dapat diprediksi (Maurer dan Quimby, 2015).

b. Tikus Sebagai Hewan Coba

Tikus merupakan hewan yang sering digunakan sebagai model hewan coba dalam penelitian biomedik dan tingkah laku. Alasan penggunaan tikus diantaranya karena tikus memiliki sifat seperti masa gestasi singkat, masa hidup relatif singkat, jinak, dan memiliki latar belakang kesehatan dan genetik yang sudah diketahui. Selain itu, tikus juga memiliki ukuran yang cukup besar sehingga mudah dilakukan pembedahan atau tranpalasi organ. Alasan lainnya adalah, karena genom tikus memiliki kedekatan homologi dengan genom manusia sehingga manipulasi pada genom tikus dapat menghasilkan model hewan yang fenotipnya mirip dengan penyakit

pada manusia. Tikus telah digunakan sebagai hewan standar pada uji toksikologi, teratologi dan karsinogenesis bahkan saat ini tikus juga digunakan untuk penelitian tingkah laku, neurologi, nutrisi, genetik, imunologi, penyakit infeksi, dan metabolik (Suckow *et al.*, 2017).

National Research Council (2011) mengeluarkan standar penggunaan tikus sebagai hewan coba yang mana standar ini perlu diperhatikan sebelum melakukan penelitian menggunakan hewan coba. Standar tersebut adalah *Guide for the Care and Use of Laboratory Animal* yang meliputi manajemen rumah pemeliharaan tikus, yaitu lingkungan makro seperti dinding, atap, dan lantai pada rumah pemeliharaan tikus, suhu ruangan, penerangan dan kandang tikus. Kandang yang digunakan untuk pemeliharaan tikus biasanya berbentuk kotak terbuat dari metal atau plastik. Tutup kandang berupa kawat dengan ukuran lubang 1,6 cm². Alas kandang dapat terbuat dari guntingan kertas, serutan kayu, serbuk gergaji atau tongkol jagung yang bersih, tidak beracun, tidak menyebabkan alergi dan kering. Temperatur ideal kandang yaitu 18-27°C atau rata-rata 22°C dan kelembaban relatif 40-70% (Malole dan Pramono, 1989). Standar lain yang perlu diperhatikan adalah sifat biologi tikus yang meliputi gambaran umum, organ sensorik, nilai parameter fisiologis normal, nutrisi dan tingkah laku tikus (Otto *et al.*, 2015).

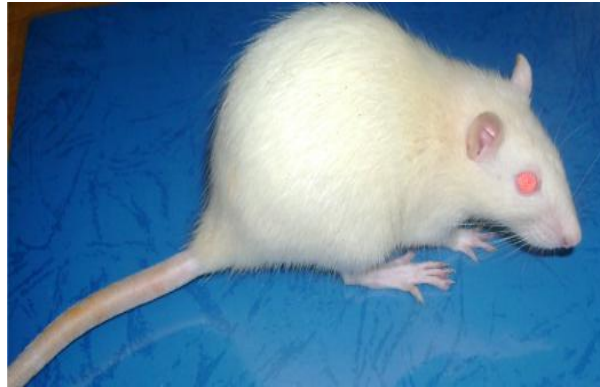
Tikus laboratorium yang lazim digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Tikus ini (*Rattus norvegicus*) berasal dari Asia

Tenggara dan penggunaannya menyebar luas di seluruh dunia (Malole dan Pamono, 1989). Keunggulan tikus putih dibandingkan dengan tikus lainnya antara lain cepat dewasa, tidak menunjukkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Selain itu, tikus putih mudah ditangani, dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Klasifikasi tikus putih adalah sebagai berikut:

Kongdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mammalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Sub ordo	: <i>Odontoceti</i>
Familia	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian antara lain adalah: *Wistar*, *Sprague-Dawley*, *Long Evans*, dan *Holdzman* (Kohn dan Bartold, 1984), dan dalam penelitian ini digunakan galur *Sprague-Dawley* dengan ciri-ciri berwarna putih, berkepala kecil, dan memiliki ekor yang lebih panjang dari panjang badannya (Malole dan Pramono, 1989).



Gambar 3. Tikus putih galur *Sprague Dawley*

Siklus hidup tikus putih (*Rattus norvegicus*) tidak lebih dari tiga tahun atau jarang terjadi, berat badan umur empat minggu mencapai 35-40 g dan setelah dewasa rata-rata berat badan 200-250 g, namun tergantung pada galur sehingga akan bervariasi. Berat badan tikus jantan tua dapat mencapai 500 g, sedangkan tikus betina hanya sekitar 350 g (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

c. Pakan Tikus

Kebutuhan pakan untuk seekor tikus setiap harinya disesuaikan dengan jenis pakannya. Apabila pakan kering, maka diberikan sebanyak 10% dari berat badan tikus, namun jika pakan basah maka ditingkatkan menjadi 15% dari berat badan tikus. Kebutuhan minum diberikan berkisar antara 15-30 ml air setiap harinya. Namun jumlah ini dapat berkurang jika pakan yang dikonsumsi sudah mengandung banyak air (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Rata-rata pemberian pakan harian untuk tikus *Sprague Dawley* selama periode pertumbuhan dan reproduksi

mendekati 15-20 g untuk jantan dan 10-15 g untuk betina (*National Research Council, 1978*).

Pakan yang diberikan kepada tikus umumnya tersusun dari komposisi alami dan mudah diperoleh, serta mengandung komposisi nutrisi yang tepat. Pakan ideal tikus yang sedang tumbuh harus memenuhi kebutuhan zat makanan antara lain protein 12%, lemak 5%, dan serat kasar sekitar 5%. Selain itu juga harus cukup mengandung vitamin A, vitamin D, asam linoleat, tiamin, riboflavin, pantotenat, vitamin B12, biotin, piridoksin dan kolin serta mineral-mineral tertentu (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Adapun menurut McDonald (1980), protein pakan yang diberikan pada tikus harus mengandung asam amino esensial, diantaranya adalah arginin, histidin, isoleusin, leusin, methionin, fenilalanin, treonin, tryptofan, dan valine. Berikut adalah tahapan pembuatan palet tikus (Heri, dkk., 2020):

- 1) Buah sukun dan kacang merah digiling dan diayak menggunakan saringan ukuran 3 mm
- 2) Campurkan tepung dengan pakan standar AIN-93M (*American Institute of Nutrition*)
- 3) Tambahkan air hingga mencapai kadar 16%
- 4) Bentuk menjadi pelet dengan kuruan *die* 16 mm
- 5) Setelah dingin (dalam suhu ruang), kemudia palet di kemas/pack

Pakan yang diberikan harus memperhatikan nilai nutrisi karena akan berpengaruh pada produktivitas dan performa tikus putih. Penelitian Smith dan Mangkoewidjojo (1988) menyatakan bahwa pada kondisi di mana tikus diberikan pakan dalam jumlah terbatas dapat mengurangi konsumsi energinya, tetapi jika nafsu makan tikus tinggi atau berlebih, dapat meningkatkan penggantian energi. Adapun kriteria yang umum digunakan dalam memperkirakan kecukupan nutrisi pakan tikus antara lain pertumbuhan, reproduksi, pola tingkah laku, kesediaan nutrisi, aktivitas enzim, histologi jaringan dan kandungan asam amino serta protein dalam jaringan (*National Research Council*, 1978).

Dalam penelitian menggunakan hewan coba, yang termasuk dalam rangkaian prosedur penelitian adalah proses adaptasi terhadap hewan coba. Hal ini dilakukan untuk mengkondisikan hewan coba dalam kondisi yang baik dalam waktu yang sudah ditentukan sebelum diberikan perlakuan. Hewan coba diadaptasikan di *animal house* pada hari pertama sampai hari kedua puluh satu. Sampel diadaptasikan terhadap tempat tinggal barunya, dan pemberian makanan maupun minuman. Perlakuan disamakan pada semua tikus. Adaptasi ini bertujuan agar semua objek penelitian tidak dalam kondisi stres dan dalam kondisi yang sama saat penelitian dimulai.

d. Pengambilan Darah Pada Tikus

Cara pengambilan darah pada tikus hampir sama dengan mencit, yaitu melalui *plexus retroorbitalis* pada mata, vena ekor (*V. Lateralis* ekor) pada vena *saphena* yang terdapat pada bagian kaki dan pengambilan langsung dari jantung. Pada umumnya pengambilan darah hanya sekitar 10% dari total volume darah dalam tubuh tikus dengan selang waktu 2-4 minggu atau sekitar 1% dari berat tubuh dengan interval 24 jam. Dan total darah yang hanya boleh diambil sekitar 7,5% dari bobot badan. Hal ini dikarenakan, pengambilan terlalu banyak pada hewan kecil akan menyebabkan syok hipovolemik, stres, dan bahkan dapat menyebabkan kematian. Berikut adalah cara pengambilan sampel darah pada tikus:

1) *Plexus Retroorbitalis* pada mata

Tikus dipegang dan dijepit dibagian tengkuk dengan jari tangan. Kemudian tikus dikondisikan senyaman mungkin, lalu Mikrohematikrit digoreskan pada medial canthus mata di bawah bola mata ke arah foramen opticus. Mikrohematikrit diputar sampai melukai plexus, jika diputar 5 kali maka harus dikembalikan 5 kali. Darah ditampung pada *Eppendorf* yang telah diberi EDTA untuk tujuan pengambilan plasma sarah dan tanpa EDTA untuk tujuan pengambilan serum, namun juga bisa menggunakan penambahan heparin sebagai antikoagulan.

2) Pengambilan darah pada Vena Ekor (*V. Lateralis* ekor)

Tikus dimasukan dalam selongsong yang sesuai ukuran tubuh tikus. Bagian ekor tikus dijulurkan keluar, lalu vena lateralis pada ekor di potong 0,2-2 cm dari pangkal ekor menggunakan silet atau gunting yang steril.

3) Pengambilan darah melalui vena sapena pada kaki

Tikus dipegang pada posisi setengah tegak, lalu jarum diinjeksi pada bagian paha belakang sebelah dalam agar posisi jarum tidak berubah, lalu tampung darah pada *Eppendorf*. Pada proses ini perlu bantuan untuk memegang kaki hewan coba

4) Pengambilan darah langsung ke dalam jantung

Teknik ini dilakukan jika darah yang dibutuhkan banyak dan tikus sampel akan dilakukan pembedahan untuk diambil organ tubuhnya. Cara pengambilannya adalah dengan menusukkan *syringe* langsung ke dalam jantung dan sedot perlahan (Yokozawa *et al.*, 2002).

e. Pemeliharaan Hewan Coba

Penelitian ilmiah yang baik di mana digunakan hewan sebagai objek ataupun model kajian, maka dalam penggunaannya perlu memperhatikan hak-hak hewan coba yang dikenal sebagai *Animal Welfare* yang terdiri dari 5 kebebasan (*Five of Freedom*), yaitu:

1) *Freedom from hunger and thirst.*

Bebas dari rasa lapar dan haus, maksudnya adalah hewan harus diberikan pangan yang sesuai dengan jenis hewan dalam jumlah yang proporsional, higienis dan disertai dengan kandungan gizi yang cukup

2) *Freedom from thermal and physical discomfort.*

Hewan bebas dari kepanasan dan ketidak nyamanan fisik dengan menyediakan tempat tinggal yang sesuai dengan perilaku hewan tersebut

3) *Freedom from injury, disease and pain.*

Hewan harus bebas dari luka, penyakit dan rasa sakit dengan melakukan perawatan, tindakan untuk pencegahan penyakit, diagnosa penyakit serta pengobatan yang tepat terhadap binatang peliharaan

4) *Freedom to express most normal pattern of behavior.*

Hewan harus bebas mengekspresikan perilaku normal dan alami dengan menyediakan kandang yang sesuai baik ukuran maupun bentuk, termasuk penyediaan teman (binatang sejenis) atau bahkan pasangan untuk berinteraksi sosial maupun melakukan perkawinan.

5) *Freedom from fear and distress.*

Hewan bebas dari rasa takut dan penderitaan dilakukan dengan memastikan bahwa kondisi dan perlakuan yang diterima hewan

peliharaan bebas dari segala hal yang menyebabkan rasa takut dan stress seperti konflik dengan spesies lain dan gangguan dari predator.

B. Landasan Teori

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme pada pankreas yang ditandai dengan peningkatan gula darah atau sering disebut dengan kondisi hiperglikemia yang disebabkan karena menurunnya jumlah insulin (hormon yang mengatur gula darah atau glukosa) dari pankreas (ADA, 2012). Resistensi insulin yang terjadi pada penderita DM akan mempengaruhi sel-sel lemak, menyebabkan enzim tertentu memecah lemak, membebaskan asam lemak yang selanjutnya berpindah ke hati (Jellinger & Caballero, 2006). Di dalam hati, asam lemak akan meningkatkan produksi trigliserida yang dilepas pada sirkulasi dan merangsang produksi protein pembawa VLDL. Defisiensi insulin menurunkan aktivitas lipoprotein lipase (LPL) yang kemudian meningkatkan trigliserida VLDL. Kejadian tersebut berpotensi tinggi untuk terjadinya aterogenik (Mutschler, 1991) yang menyebabkan kenaikan kadar kolesterol LDL (Heslet, 1997). Berbagai penelitian menyatakan bahwa K-LDL berperan secara kausal terhadap terjadinya penyakit kardiovaskular aterosklerotik.

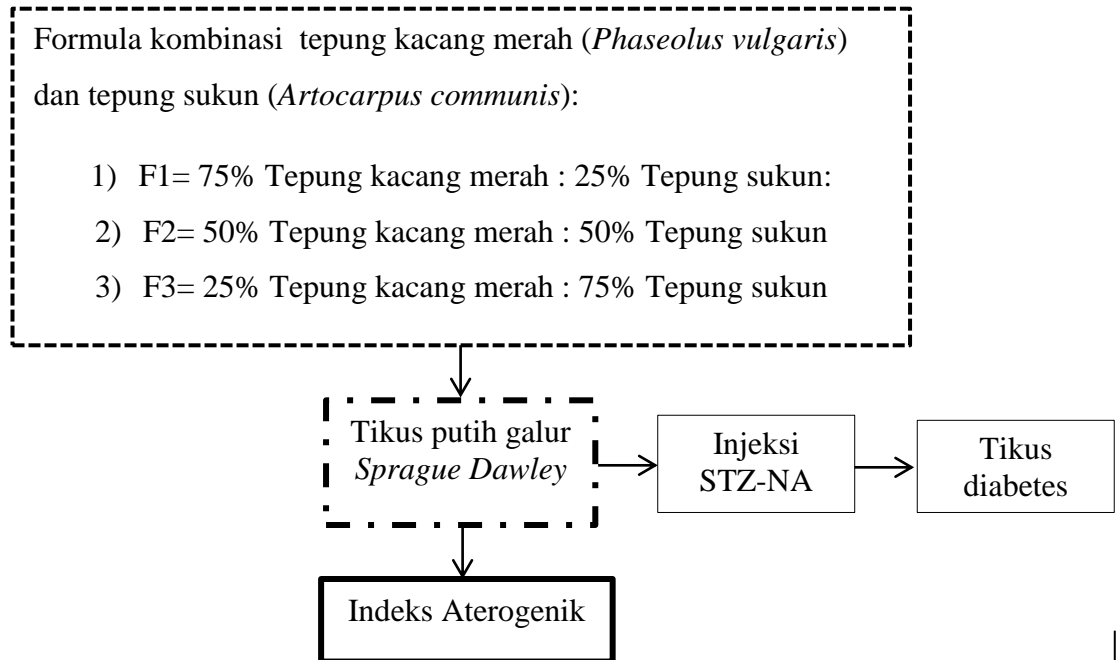
Indeks Aterogenik (IA) menjadi faktor prediktor penyakit kardiovaskular yang baik. Penelitian Nirounmand tahun 2015 menyatakan bahwa indeks aterogenik merupakan penanda yang baik untuk memprediksi

aterosklerosis dan penyakit jantung koroner. Indeks Aterogenik adalah rasio yang dihitung dari perbandingan antara kolesterol total dengan kolesterol HDL (Yokozawa et al., 2006).

Kandungan karbohidrat (56,2 g) dan serat (4,0 g) dalam kacang merah cukup tinggi. Marsono (2000) menyatakan bahwa kacang merah berpotensi dalam menurunkan kadar gula darah. Kandungan lemak pada kacang merah pun sangat rendah, bahkan nyaris bebas lemak jenuh, serta bebas kolestero. . Astawan (2009) menyebutkan bahwa kacang merah mampu menurunkan kadar kolesterol LDL serta meningkatkan kadar kolesterol HDL dalam darah.

Buah sukun termasuk dalam golongan buah yang berpotensi sebagai sumber karbohidrat yang tinggi. Kadar pati dan amilosa sukun tergolong tinggi, yaitu 32,87% dan 16,04% (Rosida & Ratna, 2013). Menurut Asp dan Bjorck (1992) semakin tinggi kadar amilosa pati pada suatu bahan pangan, semakin tinggi pula kadar pati resistennya. Menurut penelitian Jeevetha, dkk. (2014) terhadap subjek hiperinsulin menyatakan bahwa, pangan dengan kadar amilosa yang tinggi berpengaruh signifikan terhadap penurunan respon glukosa dan insulin..

C. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

Keterangan:

- Variabel Bebas : Formula kombinasi tepung kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) dan tepung sukun (*Artocarpus communis*)
- Variabel kontrol : Tikus putih galur *Sprague Dawley*
- Variabel Terikat : Indeks Aterogenik

D. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian formula kombinasi tepung kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) dan tepung sukun (*Artocarpus communis*) terhadap indeks aterogenik tikus diabetes.