

**EFEKTIVITAS KOMBUCHA TEH, KOMBUCHA SALAK SUWARU DAN
METFORMIN SEBAGAI AGEN TERAPI DIABETES MELITUS
PADA TIKUS WISTAR DENGAN INDUKSI STREPTOZOTOCIN**

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Magister

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN



CHAIRUL ANAM AFGANI

166100100111016

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

TESIS

**Efektivitas Kombucha Teh, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin
Sebagai Agen Terapi Diabetes Melitus Pada Tikus Wistar Jantan
Dengan Induksi *Streptozotocin***

Oleh :

Chairul Anam Afgani

Dipertahankan di depan penguji
Pada Tanggal **28 Mei 2018**
Dan dinyatakan memenuhi syarat

Komisi Pembimbing,

Dr.Ir. Elok Zubaidah, MP

Ketua

Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes

Anggota

Anggota

Malang,

Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Brawijaya

Dekan,



Dr.Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc

NIP. 19631216 198803 1 002

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia TESIS ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70)

Malang,

Mahasiswa



Nama : CHAIRUL ANAM AFGANI
 NIM : 156100100111016
 PS : TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
 PPSFTPUB



IDENTITAS TIM PENGUJI

JUDUL TESIS : Eektivitas Kombucha Teh, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin Sebagai Agen Terapi Diabetes Melitus pada Tikus Wistar dengan Induksi STZ (*Streptozotocin*)

Nama : Chairul Anam Afgani
NIM : 166100100111016
Program Studi : Magister Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian
Universitas : Brawijaya

TIM DOSEN PEMBIMBING

1. Pembimbing I : Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP.
2. Pembimbing II : Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes.

TIM DOSEN PENGUJI

1. Penguji I : Prof. Dr. Ir. Yunianta, DEA.
2. Penguji I : Dr. Widya Dwi Rukmi. P., STP, MP

Tanggal Ujian Tesis : Senin, 28 Mei 2018

Chairul Anam Afgani. 166100100111016. Efektivitas Kombucha Teh, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin Sebagai Agen Terapi Diabetes Melitus Pada Tikus Wistar Dengan Induksi *Streptozotocin*. Tesis. Pembimbing I: Dr. Ir. Elok Zubaidah, M.P. Pembimbing II: Dr. dr. Umi Kalsum M.Kes

RINGKASAN

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit kelainan metabolik ditandai dengan hiperglikemia dan intoleransi glukosa karena kelenjar pankreas tidak dapat memproduksi insulin secara maksimal. DM dicirikan dengan hiperglikemia akibat kegagalan sel beta pankreas mensekresikan insulin baik secara mutlak (DM Tipe 1) maupun relatif (DM Tipe 2). Hiperglikemia terjadi dengan menurunnya penyerapan glukosa oleh sel-sel disertai dengan meningkatnya pengeluaran glukosa oleh hati. Penyakit DM apa bila tidak ditangani dengan baik maka akan berujung pada semakin parahnya komplikasi dan beresiko menyebabkan kematian. Salah satu agen terapi DM adalah kombucha. Kombucha merupakan minuman tradisioanal yang diolah secara fermentasi menggunakan asosiasi simbiotik dari bakteri dan ragi. Kombucha memiliki beberapa efek kesehatan antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikroflora usus, dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan menurunkan tekanan darah. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombucha teh, kombucha salak suwaru dan obat metformin sebagai agen terapi DM pada tikus wistar jantan yang diinduksi STZ.

Penelitian ini dilakukan dengan 2 tahap yakni tahap 1: analisis karakteristik kombucha teh dan kombucha salak suwaru yang meliputi pengukuran pH, total asam, total padatan terlarut, total fenol, total tannin, dan aktivitas antioksidan serta senyawa bioaktif. Tahap 2: pengujian efektivitas kombucha teh, kombucha salak suwaru dan metformin sebagai agen terapi diabetes melitus secara *in-vivo*. Penelitian menggunakan rancangan percobaan *True Experimental Design : Post Test with Control Group Design* menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar selama 28 hari. Dalam penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok negatif (P0), kelompok positif (P1), kelompok diabetes + kombucha teh (P2), kelompok diabetes + kombucha salak suwaru (P3), dan kelompok diabetes + obat metformin (P4). Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan apabila menunjukkan perbedaan maka diuji lanjut dengan menggunakan uji BNT dengan selang kepercayaan $\alpha=5\%$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombucha salak suwaru memiliki karakteristik yang lebih tinggi daripada kombucha teh hitam. Pemberian kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru dan obat metformin memiliki efektivitas sebagai agen terapi dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa secara berturut-turut yaitu 67,49%, 75,66%, dan 75,07%, mampu meningkatkan kadar superoksida dismutase dan penurunan kadar malanaldehid serta dapat memperbaiki profil lipid (high density lipoprotein, low density lipoprotein, total kolesterol, trigliselida) pada tikus wistar jantan diabetes melitus yang diinduksi STZ. Sedangkan hasil pengamatan pada hispatologi, untuk perlakuan dengan pemberian kombucha teh, kombucha salak suwaru dan pemberian metformin menunjukkan adanya perubahan yang lebih baik pada pulau langerhans dibandingkan kelompok diabetes dengan jumlah sel beta pankreas secara berturut-turut yaitu 59,6; 72,2; dan 77,3. Maka dari itu didapatkan kesimpulan bahwa pemberian kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru dan metformin memiliki kelebihan aktivitas yang berbeda-beda sebagai agen terapi diabetes melitus pada tikus wistar dengan induksi *streptozotocin*.

Kata kunci: Diabetes Mellitus, Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru, Metformin, Glukosa Darah, Hispatologi Pankreas, Superoksida Dismutase, Malanaldehid, Profil Lipid.

Chairul Anam Afgani. 166100100111016. The Effectiveness of Tea Kombucha, Snake Fruit Kombucha and Metformin as Therapeutic Agent for Management of Diabetic Mellitus on The Wistar Rats with Streptozotocin Induction. Thesis. Supervisor I : Dr. Ir. Elok Zubaidah, M.P. Supervisor II : Dr. dr. Umi Kalsum M.Kes

SUMMARY

Diabetes Mellitus is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia and glucose intolerance because the pancreas gland can not produce insulin to its full potential. DM is characterized by hyperglycemia due to the failure of pancreatic beta cells to secrete insulin both absolutely (DM Type 1) and relative (Type 2 DM). Hyperglycemia occurs with decreased absorption of glucose by cells accompanied by increased glucose expenditure by the liver. What DM disease if not treated properly will lead to the increasingly severe complications and risk of causing death. One of the DM therapeutic agents is kombucha. Kombucha is a traditional beverage that is processed by fermentation using symbiotic associations of bacteria and yeast. Kombucha has several health effects such as antioxidant, antibacterial, improves intestinal microflora, can increase body resistance and lower blood pressure. The aim of this research is to know the effectiveness of kombucha tea, kombucha salak suwaru and metformin drugs as DM therapy agent in male-induced STS-induced wistar rat.

This research was conducted with 2 stages, namely stage 1: analysis of tea kombucha and suwaru snake fruit kombucha characteristics including pH measurement, total acid, total soluble solids, total phenol, total tannin, antioxidant activity and bioactive compounds. Stage 2: testing the effectiveness of tea kombucha, suwaru snake fruit kombucha and metformin as an in-vivo diabetes mellitus therapy agent. The study used experimental design experimental design: Post Test with Control Group Design using 25 rats (*Rattus norvegicus*) male wistar strain for 28 days. In this study using Completely Randomized Design with 5 groups of treatment ie negative group (P0), positive group (P1), group of diabetes + tea kombucha (P2), diabetes group + suwaru snake fruit kombucha (P3), and diabetes + metformin drugs (P4). The data of the research were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and if showed difference then tested continued by using BNT test with $\alpha = 5\%$ confidence interval.

The results showed that suwaru snake fruit kombucha had higher characteristics than black tea kombucha. Giving black tea kombucha, suwaru snake fruit kombucha and medication metformin have effectiveness as therapeutic agent in lowering fasting blood glucose level respectively that is 67,49%, 75,66%, and 75,07%, able to increase superoksida dismutase and decrease malanaldehid levels and can improve lipid profiles (high density lipoprotein, low density lipoprotein, total cholesterol, triglycerides) in STZ-induced STI-induced diabetic wistar rats. While the results of observations on hispatology, for treatment with the provision of black tea kombucha, suwaru snake fruit kombucha and metformin provision showed a better change in the island langerhans than the diabetes group with the number of pancreatic beta cells respectively that is 59.6; 72.2; and 77.3. Hence, it was found that black tea kombucha, suwaru snake fruit kombucha and metformin had different activity advantages as diabetes mellitus therapy agent in wistar rat with induction of streptozotocin.

Keyword: Diabetes Mellitus, Black Tea Kombucha, Suwaru Snake Fruit Kombucha Metformin, Blood Glucose, Hispatology Pancreas, Superoxide Dismutase, Malanaldehid, Lipid Profile.

KATA PENGANTAR



Segala Puji bagi Allah pencipta kesempurnaan, sehingga dengan kesempurnaan-Nya telah menuntun penulis dalam sebuah upaya penuntasan studi di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Shalawat dan Salam kepada Rasulullah, Muhammad SAW, *Role Model*, terbaik bagi seluruh umat manusia.

Penulis juga menyadari bahwasanya penyusunan Tesis ini tidak akan berjalan dengan baik tanpa bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda dan Ibunda (A. Rahman dan Hadiyatullah) tercinta yang telah membesarkan, mendidik dan memberikan dukungan baik secara moril maupun materil secara tulus ikhlas menyertai perjuanganku dengan iringan doa yang tiada hentinya kepada Allah SWT sehingga penulis bisa menyelesaikan Tesis ini. Semoga ALLAH SWT membalasnya dengan balasan yang indah.
2. Ibu Dr. Ir. Elok Zubaidah, MP. selaku dosen pembimbing akademik sekaligus sebagai pembimbing tesis yang telah banyak membimbing penulis dari awal hingga akhir. Selalu membantu jika penulis menemui kesulitan dalam memahami mata kuliah yang ada. Semoga ALLAH SWT membalas semua kebaikan Ibu dengan balasan yang indah dan harapan Ibu ke depan dikabulkan oleh ALLAH SWT.
3. Ibu Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes selaku dosen pembimbing pendamping tesis; Prof. Dr. Ir. Yunianta, DEA. dan Dr. Widya Dwi R.P., STP, MP. selaku penguji tesis, Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc selaku dekan, seluruh dosen dan seluruh tenaga pendidikan di fakultas Teknologi Pertanian dan fakultas kedokteran Universitas Brawijaya yang telah banyak memberikan arahan, petunjuk, motivasi dan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.
4. Kakak-kakak dan Adikku tercinta (Miftah Wahida Nursunnah, Husein Effendi, dan Hasbi Muhammad) terimakasih atas doanya dan bantuannya selama ini



sehingga saya bisa menyelesaikan tesis ini. Teruslah berjuang dengan tekun dan lakukan yang terbaik untuk keluarga kita. Nenek dan kakek tersayang (Hj. Masrawang dan H. Burhan), Enyaq Siti Nur, kakak Helmi dan semua keluargaku terima kasih atas doa, nasehat dan kasih sayangnya.

5. Ibu Baiq Rien Handayani SP., M.Si., Ph.D selaku dosen penasehat, dan penyemangat yang selalu membantu jika penulis menemui kesulitan selama masa pendidikan. Semoga ALLAH SWT membalas semua kebaikan.
6. Sahabat-sahabatku, terutama kepada Mba Raida Amelia Ifadah yang selalu sabar dan pemberi semangat kepada penulis selama riset, menuntut ilmu, dan kepada semua teman-teman magister THP angkatan 2016 atas bantuannya dan kebersamaan selama kuliah serta telah membuatku belajar memahami arti persaudaraan.
7. Teman-temanku di Malang, Kos, Grup preman sumpersari, ITP 2011 UNRAM atas doa, pengalaman selama ini. Khususnya Putri Ayu Lismirawan, Maman rahman dan Zepri sahabat terbaikku yang telah banyak memotivasi dan memberikan penulis banyak pengalaman yang berharga.
8. Semua pihak yang penulis tidak bisa sebutkan namanya satu persatu yang telah memberi masukan-masukan dan bantuan guna penyelesaian tesis ini. Penulis menyadari bahwa kesempurnaan adalah sebuah cita-cita, namun kekurangannya adalah sisa kerja manusia, karenanya saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan guna penyempurnaan tesis ini.

Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS	iii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
RINGKASAN	v
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Diabetes Melitus.....	5
2.2 Metabolisme Glukosa.....	7
2.3 Pankreas.....	9
2.4 Insulin.....	11
2.5 Imunohistokimia Jaringan Pankreas.....	12
2.6 Kadar Glukosa Darah.....	13
2.7 Dislipedemia.....	14
2.8 Profil Lipid.....	16
2.9 Superoksida Dismutase (SOD).....	18
2.10 Malonaldehid (MDA).....	20
2.11 <i>Streptozotocin</i> (STZ).....	21
2.12 Metformin.....	22
2.13 Kombucha.....	24

2.14	Antioksidant.....	29
2.15	Buah Salak (<i>Salacca zalacca</i>).....	30
2.16	Hewan Percobaan Tikus Putih.....	31
BAB III. KERANGKA PENELITIAN		34
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	34
3.2	Hipotesis Penelitian	35
BAB IV. METODE PENELITIAN		37
4.1	Tempat dan Waktu Penelitian	37
4.2	Bahan dan Alat Penelitian	37
4.3	Penelitian Tahap I : Karakteristik Kombucha Teh dan Kombucha Salak Suwaru	38
4.4	Penelitian Tahap II : Pengujian Efektivitas Kombucha Sebagai Agen Terapi Diabetes Melitus Secara <i>In Vivo</i>	40
4.5	Analisa Data.....	41
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		45
5.1	Karakteristik Kombucha Teh dan Kombucha Salak Suwaru.....	45
5.1.1	Perubahan Komponen Kimia Kombucha Teh Hitam dan Kombucha Salak Suwaru Selama Fermentasi	45
5.1.2	Profil Komponen Bioaktif	50
5.2	Pengujian Efektivitas Kombucha Sebagai Agen Terapi Diabetes Melitus Secara <i>In Vivo</i>	54
5.2.1	Pembuatan Model Hewan Diabetes Melitus	54
5.2.2	Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Percobaan	56
5.2.3	Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Berat Badan Tikus Percobaan	61
5.2.4	Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar <i>Superoksida</i>	

Dismutase Tikus Percobaan Penelitian	63
5.2.5 Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Malanoldehid Tikus Percobaan	66
5.2.6 Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Hispatologi Pankreas Tikus Percobaan	69
5.2.7 Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Total Kolesterol Tikus Percobaan	73
5.2.8 Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Trigliserida Tikus Percobaan	76
5.2.9 Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar <i>High Density</i> <i>Lipoprotein</i> Tikus Percobaan	78
5.2.10 Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar <i>Low Density</i> <i>Lipoprotein</i> Tikus Percobaan	81
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	85
6.1 Kesimpulan	85
6.2 Hipotesis Penelitian	85
DAFTAR PUSTAKA	86
DAFTAR LAMPIRAN	103

DAFTAR TABEL

Nomor.	Halaman
1. Penyebab Umum Dislipidemia Sekunder	15
2. Kandungan Nutrisi per 100 ml Suspensi Teh Kombucha	25
3. Komponen yang Terkandung dalam Kombucha Teh	26
4. Data Biologis Tikus Wistar	32
5. Perubahan Komponen Kimia Kombucha Teh Hitam dan Kombucha Salak Suwaru Selama Fermentasi.....	45
6. Senyawa Terduga Hasil GC-MS Kombucha Teh Hitam Selama Fermentasi Hari Ke-14	51
7. Dugaan Beberapa Potensi Fungsi GC-MS Kombucha Teh Hitam Selama Fermentasi Hari Ke-14	52
8. Senyawa Terduga Hasil GC-MS Kombucha Salak Suwaru Selama Fermentasi Hari Ke-14	52
9. Dugaan Beberapa Potensi Fungsi GC-MS Kombucha Salak Suwaru Selama Fermentasi Hari Ke-14	53
10. Perubahan Kadar Glukosa Darah Puasa Akibat Pengaruh Induksi STZ pada Tikus Percobaan.....	55
11. Data Perubahan Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Percobaan	57
12. Data Perubahan Berat Badan Tikus Percobaan.....	57
13. Kadar Aktivitas <i>Superoxid Dismutase</i> Tikus Percobaan.....	64
14. Kadar <i>Malonaldehid</i> Tikus Percobaan	67
15. Kadar Total Kolesterol Tikus Percobaan.....	73
16. Kadar Trigliserida Tikus Percobaan	76
17. Kadar <i>High Density Lipoprotein</i> Tikus Percobaan.....	79
18. Kadar <i>Low Density Lipoprotein</i> Tikus Percobaan.....	82

DAFTAR GAMBAR

Nomor.	Halaman
1. Proses Metabolisme Karbohidrat	9
2. Pulau Langerhans.....	11
3. Pewarnaan Imunohistokimia Pulau Langerhans dan Sel Beta Pankreas Tikus Diabetes Melitus.....	13
4. Kelarutan Reaksi SOD terhadap Ion Superoksida	19
5. Struktur Kimia <i>Streptozotocin</i>	21
6. Kombucha Teh	25
7. Tikus Galur Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>).....	32
8. Kerangka Konsep Penelitian.....	36
9. Diagram Alir Penelitian	42
10. Prosedur Pembuatan Kombucha Teh.....	43
11. Prosedur Pembuatan Kombucha Salak	44
12. Grafik Perubahan Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Selama Perlakuan	58
13. Grafik Perubahan Berat Badan Tikus Selama Perlakuan.....	62
14. Grafik Perbandingan Kadar <i>Superoksida Dismutase</i> Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan.....	65
15. Grafik Perbandingan Kadar Malonaldehid Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan	67
16. Tampilan Imunohistokimia Pankreas Tikus Percobaan pada Perbesaran Mikroskop 400 Kali	70
17. Grafik Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas Tikus Percobaan	71
18. Grafik Perbandingan Kadar Total Kolesterol Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan	74
19. Grafik Perbandingan Kadar Trigliserida Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan	77
20. Grafik Perbandingan Kadar <i>High Density Lipoprotein</i> Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan	79
21. Grafik Perbandingan Kadar <i>Low Density Lipoprotein</i> Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan	82

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor.	Halaman
1. Metode Analisa Kombucha	103
2. Prosedur Pengukuran Kadar Glukosa Darah, SOD, MDA dan Profil Lipid Tikus Percobaan	107
3. Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia Jaringan Pankreas	110
4. Surat Keterangan Laik Etik	112
5. Data Hasil Analisa Karakteristik Kimia pada Kombucha	113
6. Hasil Analisis Komponen Bioaktif Senyawa Terduga Menggunakan GC-MS	119
7. Tabel Konversi Dosis Terhadap Massa Tubuh Manusia dan Hewan	123
8. Data Hasil Analisa Kadar Darah, Berat Badan, SOD, MDA, dan Profil Lipid Serta Total Sel Beta Pankreas Tikus Percobaan	124



BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tingkat prevalensi global penderita diabetes mellitus (DM) pada tahun 2014 sebesar 8,3% dari keseluruhan penduduk di dunia (IDF, 2015). Indonesia merupakan negara menempati urutan ke 7 dengan penderita DM sejumlah 8,5 juta penderita setelah Cina, India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia dan Mexico. Diabetes melitus terjadi peningkatan dari 1,1% tahun 2007 meningkat menjadi 2,1% tahun 2013 dari keseluruhan penduduk sebanyak 250 juta jiwa (RISKESDAS, 2013).

Diabetes melitus adalah penyakit kelainan metabolik ditandai dengan hiperglikemia dan intoleransi glukosa karena kelenjar pankreas tidak dapat memproduksi insulin secara maksimal (Yarnita dan Kurniawati, 2013). Menurut Semple (2016), DM dicirikan dengan hiperglikemia akibat kegagalan sel beta pankreas mensekresikan insulin baik secara mutlak (DM Tipe 1) maupun relatif (DM Tipe 2). Hiperglikemia adalah keadaan peningkatan glukosa darah daripada rentang kadar puasa normal 80-90 mg/dl darah dan rentang kadar non puasa sekitar 140-160 mg/100 ml darah (Van Dijk, 2011). DM dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan rangkaian gangguan metabolik yang menyebabkan kelainan patologis makrovaskular (pembuluh darah besar) dan mikrovaskular (pembuluh darah kecil) (Snehalatha *et al.*, 2009). Penyakit DM apa bila tidak ditangani dengan baik maka akan berujung pada semakin parahnya komplikasi dan beresiko menyebabkan kematian (Goodarzi, 2014).

Pengobatan DM menggunakan obat kimia dan obat alami merupakan metode yang paling banyak diterapkan. Arisman (2014), menyatakan bahwa obat oral anti diabetes (OAD) yang umum digunakan oleh penderita diabetes melitus adalah golongan sulfonilurea, penghambat α -glukosidase dan obat metformin. Untuk pengobatan alami yang dapat digunakan sebagai antidiabetik yaitu beberapa jenis tanaman diantaranya aloe vera, delima, amla, jambu, anggur, pegagan, pepaya, tapak dara dan meniran (Kusyanti *et al.*, 2016) sedangkan hasil pengolahan yang dapat digunakan salah satunya yaitu minuman fermentasi kombucha (Frank, 2008; Nazir *et al.*, 2012)

Kombucha merupakan minuman tradisional yang diolah secara fermentasi menggunakan asosiasi simbiotik dari bakteri dan ragi

(Goh *et al.*, 2012). Kombucha memiliki beberapa manfaat antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikroflora usus, dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan menurunkan tekanan darah (Wistiani *et al.*, 2015). Kombucha secara umum terbuat dari teh hitam yang memiliki kandungan senyawa antioksidan yang terdiri dari senyawa fenol dan flavonoid (Bhattacharya *et al.*, 2013). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa minuman kombucha teh dapat memberikan efek positif untuk terapi penyakit-penyakit degeneratif, seperti penyakit diabetes mellitus (Dufresne dan Farnworth, 2000). Lee *et al.*, (2014), menyatakan bahwa kombucha dari teh Rooibos (*Aspalathus linearis*) yang difermentasi selama 7 hari mampu meningkatkan senyawa antioksidan karena adanya mikroba yang mampu menghasilkan enzim *vinyl phenol reductase* dan *ferulic acid*. Kombucha juga memiliki kemampuan dalam penurunan serapan glukosa dari sistem pencernaan (hiperglikemia). Menurut Aloulou *et al.*, (2012), pengujian *in vivo* pada tikus DM yang diberikan perlakuan dengan kombucha mampu memberikan efek inhibitor terhadap aktivitas plasma dan pankreatik alfa amilase serta mampu menekan peningkatan level glukosa darah. Selain itu, kombucha memiliki kandungan asam organik yang diduga berkontribusi terhadap efek anti hiperglikemia (Srihari *et al.*, 2013). Asam-asam organik yang cukup banyak di hasilkan diantaranya glukonat, glukoronat, malat, asetat, tanat, fenolat, folat, dan vanilat serta asam laktat dilaporkan mampu menurunkan indeks glikemik bahan pangan sehingga menghambat peningkatan level glukosa darah (Ostman *et al.*, 2005).

Salak suwaru merupakan salah satu jenis salak yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan tinggi, namun memiliki rasa sepat yang disebabkan oleh kandungan senyawa tanin yang cukup tinggi (Zubaidah dan Rosdiana, 2016). Penelitian tentang pembuatan kombucha salak telah dilakukan (Zubaidah dan Novitasari, 2016). Zubaidah dan Apriyanto (2017), menunjukkan bahwa kombucha salak mampu memberikan efek positif terhadap tikus DM diinduksi STZ. Namun penelitian tentang efektivitas kombucha salak suwaru, kombucha teh, dan metformin terhadap anti hiperglikemia pada tikus diabetes melitus dengan induksi *streptozotocin* (STZ) belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakteristik yang dihasilkan dari kombucha teh dan kombucha salak suwaru selama proses fermentasi hari ke-0 dan hari ke-14 ?
2. Bagaimana efektivitas antara kombucha teh, kombucha salak suwaru dan obat metformin sebagai agen terapi dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa pada tikus wistar jantan yang diinduksi STZ ?
3. Bagaimana efek pemberian kombucha teh, kombucha salak suwaru, dan obat metformin terhadap SOD, MDA, dan profil lipid (HDL, LDL, total kolesterol, trigliselida) pada darah tikus wistar jantan diabetes melitus ?
4. Bagaimana hispatologi pankreas tikus wistar jantan diabetes yang diinduksi STZ pasca pemberian kombucha teh, kombucha salak suwaru, dan obat metformin ?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui karakteristik yang dihasilkan dari kombucha teh dan kombucha salak suwaru selama proses fermentasi hari ke-0 dan hari ke-14.
2. Mengetahui efektivitas kombucha teh, kombucha salak suwaru dan obat menformin sebagai agen terapi dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa pada tikus wistar jantan yang diinduksi STZ.
3. Mengetahui efek dari pemberian kombucha teh, kombucha salak suwaru, dan obat metformin terhadap SOD, MDA, dan profil lipid (HDL, LDL, total kolesterol, trigliselida) pada darah tikus wistar jantan diabetes melitus.
4. Mengetahui histopatologi pankreas tikus wistar jantan diabetes melitus yang diinduksi STZ pasca pemberian kombucha teh, kombucha salak suwaru, dan obat metformin.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Menambah pengetahuan dan wawasan tentang potensi kombucha salak suwaru dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kemampuannya dalam memperbaiki kerusakan sel beta pankreas, SOD, MDA dan profil lipid tikus wistar jantan diabetes meitus yang diinduksi STZ.
2. Masyarakat dapat mengimplementasikan dalam industri pangan, terutama terhadap industri fermentasi buah yang pada umumnya berbahan dasar salak dan dapat meningkatkan nilai ekonomi buah salak.

3. Menambah pengetahuan dan wawasan tentang potensi kombucha salak sebagai agen terapi penyakit diabetes mellitus di Indonesia yang setiap tahunnya semakin meningkat.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus merupakan gangguan metabolik yang dikarakteristikan dengan hiperglikemi bersama dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh defek sekresi insulin dan aksi insulin (Alberti, 2010). Berdasarkan Guyton and Hall (2011), diabetes mellitus merupakan sindrom kegagalan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh kekurangan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin. diabetes mellitus ditandai dengan tingginya konsentrasi glukosa darah, namun abnormalitas ini hanya salah satu dari banyaknya gangguan biokimia dan fisiologi yang terjadi pada penyakit ini. Diabetes mellitus tidak hanya satu gangguan, akan tetapi merupakan kumpulan dari berbagai macam gangguan yang diakibatkan efek regulasi dari sintesis, sekresi, dan aksi dari insulin (Boron dan Boulpaep, 2009).

Penyakit diabetes ini dikenal juga dengan sebutan “lifelong disease” dikarenakan penyakit tersebut tidak dapat disembuhkan selama rentang hidup penderitanya, dengan demikian, risiko terjadinya komplikasi yang dapat meningkatkan risiko kematian (Sutandi, 2012). Kadar gula yang tinggi (hiperglikemi) merupakan penyebab berbagai komplikasi yang muncul pada penderita diabetes. Tiga macam penyakit komplikasi yang khas yang terjadi pada diabetes mellitus yaitu retinopati, neuropati, dan nepropati. Retinopati terjadi akibat kelebihan glukosa yang menyerang lensa atau kerusakan pembuluh darah pada retina. Nepropati disebabkan karena kerusakan pembuluh darah pada ginjal akibat akumulasi glukosa yang berlebih. Selain itu diabetes mellitus juga dapat menyebabkan aterosklerosis dan gangguan kardiovaskular seperti insufisiensi cerebrovaskular, iskemik, penyakit pembuluh darah, dan gangren (Tortota dan Derickson, 2006; Dalimunthe, Nasution dan Harahap, 2016).

American Diabetes Association (ADA, 2011) mengklasifikasikan DM dalam 4 kelompok, yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, DM tipe lain, dan DM tipe gestasional (Gustaviani, 2006; Harahap, 2014). DM tipe 1 ditandai dengan defisiensi insulin absolut yang disebabkan oleh serangan autoimun pada sel β pankreas. Selama jangka beberapa tahun, serangan autoimun ini menyebabkan pengurangan populasi sel β secara bertahap. Namun, gejalanya muncul secara

mendadak bila 80 hingga 90% sel β telah mengalami kerusakan. Pada tahap ini, sel β pankreas gagal berespon secara adekuat terhadap asupan glukosa. Kerusakan ini memerlukan baik rangsangan dari lingkungan (seperti infeksi virus) dan faktor penentu genetik yang memungkinkan sel β untuk dikenali sebagai “bukan sel sendiri” (Champe *et al.*, 2010).

Diabetes melitus tipe 2 awalnya disebabkan oleh resistensi insulin di jaringan perifer sehingga mengakibatkan hiperinsulinemia sebagai kompensasi dari sel β untuk menjaga kadar gula darah. Namun, lama-kelamaan sel beta dapat mengalami kerusakan sehingga terjadi gangguan sekresi insulin absolut (Gustaviani, 2006; Harahap, 2014). DM tipe lain merupakan DM yang disebabkan oleh efek genetik fungsi sel beta atau efek genetik kerja insulin. Selain itu, DM tipe lain ini juga disebabkan oleh penyakit pankreas eksokrin, endokrinopati, efek samping obat atau zat kimia, infeksi, imunologi, dan sindroma genetik lainnya (Janet, 2010). Diabetes gestasional adalah diabetes yang terjadi pada wanita hamil yang sebelumnya tidak mengidap diabetes. Diabetes ini dianggap berkaitan dengan peningkatan kebutuhan energi dan kadar estrogen serta hormon pertumbuhan yang terus-menerus tinggi selama kehamilan. Meskipun diabetes tipe ini sering membaik setelah persalinan, sekitar 50% wanita pengidap kelainan ini tidak akan kembali ke status *non*-diabetes setelah kehamilan berakhir (Corwin, 2009).

Berbagai faktor risiko yang berperan dalam terjadinya DM diantaranya: Genetik, kerentanan genetik penting untuk diabetes tipe 1 dan 2 (Kumar dan Tim Holt, 2010). Bila orang tuanya pengidap DM, maka anak-anaknya memiliki resiko sebesar 5% untuk mengidap DM dikemudian hari. Tetapi faktor genetik saja tidak cukup, perlu faktor resiko lain yang memodifikasi faktor predisposisi tersebut untuk menimbulkan DM (Soewondo, 2006). Berbeda dengan tipe 1, pada DM tipe 2 tidak ada bukti yang menunjukkan dasar autoimun (Mitchell *et al.*, 2008). Pada DM tipe 1, individu yang peka secara genetik tampaknya memberikan respon terhadap kejadian-kejadian pemicu yang diduga berupa infeksi virus, dengan memproduksi autoantibody terhadap sel-sel β , yang mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin yang dirangsang oleh glukosa (Scheingart, 2006).

Faktor kedua yaitu obesitas. Obesitas merupakan pemicu terpenting penyebab DM tipe 2. Menurut defenisi, obesitas berarti berat badan berlebih sebanyak 20% dari berat badan idaman atau indeks massa tubuh lebih dari 25 kg/m² (Soewondo, 2006). Bila terjadi obesitas sentral, yaitu timbunan lemak

terbanyak pada daerah atas pinggul (perut), resiko menjadi DM lebih besar (Kumar dan Tim Holt, 2010). Melalui suatu mekanisme tertentu, lemak berlebihan akan menyebabkan resistensi terhadap insulin (Arisman, 2014).

Usia, insidens DM tipe 2 bertambah sejalan dengan pertambahan usia.

Seiring pertambahan usia jumlah sel β yang produktif menjadi berkurang (Syahbudin, 2009; Arisman, 2014). Usia di atas 45 tahun memiliki resiko untuk terjadinya DM (Waspadji, 2006). Selain itu faktor penyebab terjadinya DM yaitu hipertensi ($\geq 140/90$ mmHg), kolesterol HDL ≤ 35 mg/dl dan atau trigliserida ≥ 250 mg/dl, sindrom ovarium polisistik dan senyawa toksin serta diabetogenik, seperti streptozotosin dan aloksan (Nugroho, 2006; Arisman, 2014).

2.2. Metabolisme Glukosa

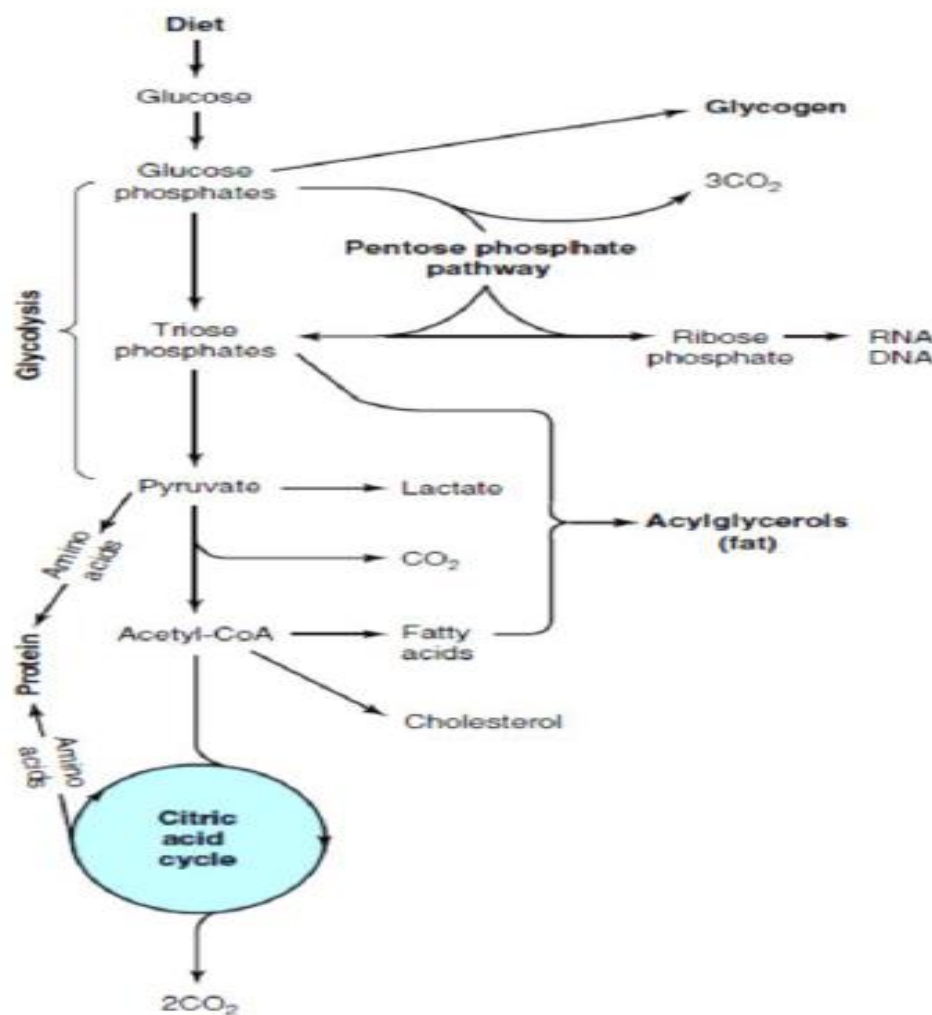
Glukosa adalah karbohidrat terpenting; kebanyakan karbohidrat terdapat dalam makanan diserap ke dalam aliran darah sebagai glukosa, dan gula lain diubah menjadi glukosa di hati. Glukosa adalah prekursor untuk sintesis semua karbohidrat lain di tubuh, termasuk glikogen untuk penyimpanan; ribosa dan deoksiribosa dalam asam nukleat; galaktosa dalam laktosa susu, dalam glikolipid, dan sebagai kombinasi dengan protein dalam glikoprotein dan proteoglikan (Murray *et al.*, 2006). Glukosa adalah satu-satunya nutrisi yang dalam keadaan normal dapat digunakan oleh otak, retina, dan epitel germinal dari gonad. Kadar glukosa darah harus dijaga dalam konsentrasi yang cukup untuk menyediakan nutrisi bagi organ-organ tubuh. Namun sebaliknya, konsentrasi glukosa darah yang terlalu tinggi juga dapat memberikan dampak negatif seperti diuresis osmotik dan dehidrasi pada sel. Oleh karena itu, glukosa darah perlu dijaga dalam konsentrasi yang konstan (Guyton dan Hall, 2006).

Glukosa darah merupakan gula sederhana dalam makanan biasanya dalam bentuk disakarida, atau terikat molekul lain. Konsentrasi glukosa dalam vena orang yang tidak menderita diabetes umumnya antara 75-115 ml/dl (Kosasih, 2008). Kadar glukosa darah adalah istilah yang mengacu kepada tingkat glukosa di dalam darah. Konsentrasi gula darah, atau tingkat glukosa serum, diatur dengan ketat di dalam tubuh. Umumnya tingkat gula darah bertahan pada batas 70-150 mg/dl sepanjang hari. Tingkatan ini akan naik setelah makan dan biasanya berada pada level terendah pada pagi hari, sebelum orang makan (Henrikson *et al.*, 2009). Kadar glukosa darah

dipengaruhi oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen disebut juga *humoral factor* di antaranya hormon insulin, glukagon, kortisol, sistem reseptor pada otot dan sel hati. Faktor eksogen antara lain jenis dan jumlah makanan yang dikonsumsi serta aktivitas fisik yang dilakukan (Subari, 2008).

Metabolisme glukosa sebagian besar menghasilkan energi bagi tubuh. Glukosa yang berupa disakarida, dalam proses pencernaan di mukosa usus halus akan diuraikan menjadi monosakarida oleh enzim disakaridase, enzim–enzim maltase, sukrose, laktase yang bersifat spesifik untuk satu jenis disakarida. Dalam bentuk monosakarida, gula akan diserap oleh usus halus (Sacher, 2004). Glukosa dimetabolisme menjadi piruvat melalui jalur glikolisis, yang dapat terjadi secara anaerob, dengan produk akhir yaitu laktat. Jaringan aerobic metabolisme piruvat menjadi asetil-KoA, yang dapat memasuki siklus asam sitrat untuk oksidasi sempurna menjadi CO₂ dan H₂O, berhubungan dengan pembentukan ATP dalam proses fosforilasi oksidatif (Murray *et al.*, 2006).

Glukosa dimetabolisme menjadi piruvat melalui jalur glikolisis, yang dapat terjadi secara anaerob, dengan produk akhir yaitu laktat. Jaringan aerobik metabolisme piruvat menjadi asetil-KoA, yang dapat memasuki siklus asam sitrat untuk dioksidasi dengan sempurna menjadi CO₂ dan H₂O, berhubungan dengan pembentukan ATP dalam proses fosforilasi oksidatif (Murray *et al.*, 2006). Glukosa dan metabolitnya juga berperan dalam beberapa proses lain, seperti konversi menjadi polimer glikogen dalam otot rangka dan hepar, jalur pentosa fosfat yang merupakan jalur alternatif dalam glikolisis untuk biosintesis molekul pereduksi (NADPH) dan sumber ribosa bagi sintesis asam nukleat, triosa fosfat membentuk gugus gliserol dari triasilgliserol, serta piruvat dan zat-zat antara dalam siklus asam sitrat yang menyediakan kerangka karbon untuk sintesis asam amino dan asetil-KoA sebagai prekursor asam lemak dan kolesterol (Murray *et al.*, 2006).



Gambar 1. Proses metabolisme karbohidrat (Murray et al., 2006)

2.3. Pankreas

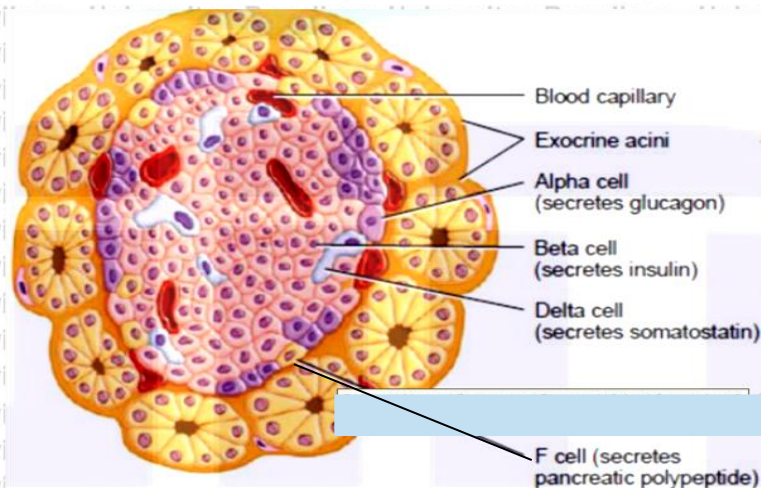
Pankreas adalah organ majemuk, campuran kelenjar endokrin dan eksokrin (Junqueira, 1995; Hasanah, 2016) strukturnya mirip dengan kelenjar parotis. Namun berbeda dengan kelenjar parotis yang saluran keluaranya menempel pada tepi asinus, pankreas merupakan asinus serous murni dengan sel-sel sentro acinus pada tengah asinus, karena duktus intralobularis mulainya di tengah-tengah asinus. Dalam keadaan segar berwarna merah pucat atau putih dengan simpai yang tidak jelas. Diliputi oleh jaringan ikat yang jarang dan tipis dan membentuk septa ke dalam sehingga membagi kelenjar dalam lobulus yang nyata. Jaringan pankreas terdiri dari lobula sel sekretori yang tersusun mengitari saluran halus (Pearce, 2000; Hasanah, 2016).

Pankreas merupakan campuran kelenjar eksokrin berupa asinus serous dan endokrin berupa pulau langerhans. Eksokrin pankreas (1) yaitu mensekresi enzim dan proenzim sebagai berikut: tripsinogen, kemotripsinogen yang memecah protein, lipase yang menghidrolisis lemak netral menjadi gliserol dan asam lemak, amilase yang menghidrolisis tepung dan karbohidrat lainnya ribonuklease, dan deoksiribonuklease. Pengaturan enzim pankreas diatur oleh hormon sekretin dan kolesitokinin, yang dihasilkan oleh mukosa duodenum; serta nervus vagus. Sekretin menimbulkan sekresi cairan dalam jumlah besar, sedikit protein, non enzimatik, dan kaya akan bikarbonat (Tambayong, 2001).

Endokrin pankreas atau pulau langerhans (2) yaitu mikroorgan endokrin multihormon dari pankreas, menempati 20% volume pankreas. membentuk 1-2% berat pankreas. Pulau langerhans tampak sebagai kelompok sel berbentuk bulat, pucat, dikelilingi simpai halus, tidak memiliki saluran, dengan banyak pembuluh darah untuk penyaluran hormon kelenjar pankreas. Pulau-pulau kecil sel endokrin ditemukan berselang-seling diantara sel eksokrin pankreas. Simpai serat-serat retikulin halus mengelilingi setiap pulau langerhans dan memisahkannya dari eksokrin pankreas yang berdekatan. Semua sel dalam pulau berbentuk poligonal tak teratur, dengan inti bundar di tengah, mitokondria kecil berbentuk batang dan aparat golgi kecil (Lenzen, 2008).

Fungsi endokrin pankreas terdapat pada sekelompok sel yang ditemukan oleh Langerhans ditahun 1869, sehingga sekelompok sel tersebut dinamakan sebagai pulau Langerhans. (Boorman dan Beth, 1999). Ada lima tipe sel yang ditemukan dipulau Langerhans, masing-masing memiliki kemampuan sekresi hormone yang berbeda-beda, yaitu:

1. Sel alpha, yaitu sel yang menghasilkan hormone glukagon. Sel ini merupakan sel terbanyak kedua yang ditemukan dipulau Langerhans setelah sel beta dengan total jumlah sekitar 20-40%.
2. Sel beta yaitu sel yang menghasilkan hormone insulin. Sel β terletak di dalam pulau Langerhans dan memenuhi sekitar 80% dari volume pulau Langerhans.
3. Sel delta, sel ini menghasilkan somatostatin yang menghambat pelepasan insulin dengan total jumlah sekitar 5-15%.
4. Sel F, sel ini menghasilkan *pancreatic polypeptide* yang belum diketahui jelas fungsinya
5. Sel gamma (Sandberg dan Philip, 2008).



Gambar 2. Pulau Langerhans (Tortora, 2009)

Pada penderita diabetes mellitus tipe I ditemukan perubahan-perubahan pada pankreas berupa pengecilan ukuran dari pankreas, atropif ada bagian eksokrin pankreas, dan atrofi sel-sel asinar disekitar pulau Langerhans yang mengalami degenerasi (Sandberg dan Philip, 2008). Sedangkan kondisi morfologi pulau Langerhans pada diabetes tipe 2 secara detail diteliti oleh Deng *et al.* (2004). Hasilnya dilaporkan bahwa pada keadaan normal, jumlah sel beta diperkirakan 65% dan sel alpha 35%. Pada tikus diabetes derajat sedang, ditemukan hampir 67% pulau Langerhans berdiameter kurang dari 150 μm , sedangkan pada tikus normal jumlah pulau Langerhans yang berdiameter lebih dari 150 μm sekitar 50%. Selain terjadi perubahan pada ukuran, dan bentuk juga terjadi fragmentasi pulau Langerhans. Pada kondisi diabetes derajat sedang, jumlah sel beta secara nyata berkurang bahkan pada diabetes parah sel beta tidak ditemukan namun sel alpha masih ditemukan di bagian perifer pulau Langerhans.

2.4. Insulin

Insulin merupakan hormon anabolik yang menjaga agar tidak terjadi hiperglikemia sewaktu terjadi proses pemasukan glukosa atau pada saat terlalu banyak makan karena jumlah glukosa dalam darah merangsang sekresi insulin oleh sel β pada pulau Langerhans pankreas. Pembentukan awal insulin terjadi akibat rangsangan glukosa pada ribosom retikulum endoplasmik kemudian menyebabkan translasi dan transkripsi mRNA menjadi proinsulin. Proinsulin bergerak menuju apparatus golgi kemudian diubah menjadi insulin dan C-peptide

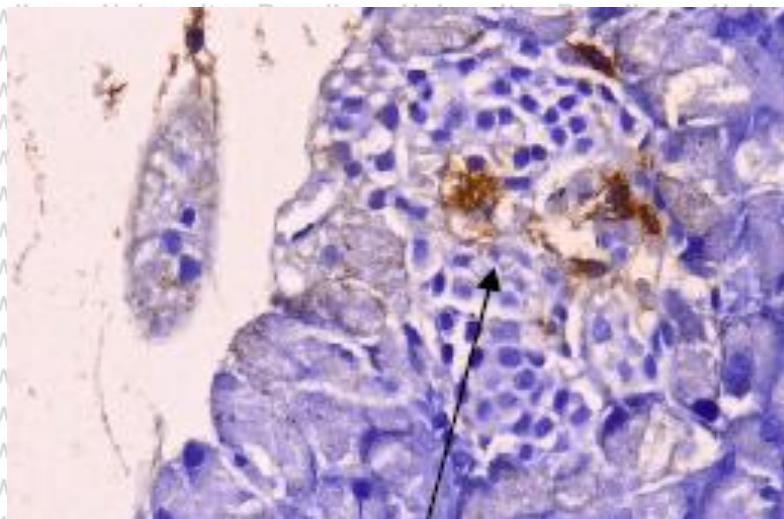
yang dibungkus dalam granula sitoplasma. Granula-granula insulin tersebut tetap disimpan pada sel beta sampai waktunya dibutuhkan. Keberadaan asam lemak dapat mempengaruhi insulin. Asam lemak memiliki efek menghambat atau merangsang sekresi insulin. Hal tersebut menegaskan bahwa asam lemak memiliki peran penting terhadap homeostasis glukosa dalam mekanisme pelepasan insulin (Gravena, *et al.*, 2002; Uray, 2009).

Insulin merupakan hormone yang berperan penting dalam mekanisme penyakit diabetes mellitus dan memiliki peran secara langsung maupun tidak langsung dalam proses biokimia di dalam tubuh. Insulin adalah hormone yang dihasilkan oleh sel β pada pulau Langerhans di pankreas. Kerja utama dari hormone ini adalah meningkatkan pengambilan glukosa darah ke dalam jaringan dan disimpan sebagai glikogen atau lipid (Squires, 2003; Uray, 2009).

Reece (2005) menyatakan bahwa prinsip kerja utama dari insulin pada metabolisme karbohidrat di jaringan yang sensitive terhadap insulin adalah menyelenggarakan proses transportasi glukosa ke dalam membrane sel. Pada hati, insulin meningkatkan pengambilan glukosa dengan merangsang enzim-enzim di sel hati yang membantu produksi glikogen dan lipogenesis serta menghambat enzim-enzim yang mempercepat terjadinya glikogenolisis.

2.5. Imonohostokimia Jaringan Pankreas

Kerusakan yang terjadi pada sel beta pankreas dapat dibuktikan melalui pemeriksaan histopatologi. Pada penderita diabetes perubahan pada sel beta pankreas dapat terjadi secara kuantitatif (pengurangan jumlah atau ukuran sel) dan kualitatif (nekrosis, degenerasi, dan amyloidosis) (Suarsana *et al.*, 2010). Menurut Diani *et al.* (2004) kerusakan sel beta pankreas ditandai dengan perubahan progresif pankreas langerhans, termasuk perubahan deplesi atau berkurangnya sekretori granula insulin pada sel beta pankreas, lepasnya pertautan sel pulau langerhans, dan pergantian sel-sel eksokrin oleh jaringan ikat (fibrosis). Pengamatan dengan pewarnaan HE dilakukan terhadap struktur umum jaringan normal maupun yang telah mengalami perubahan, melihat jumlah dan besar pulau langerhans, perubahan struktur dan terjadinya degenerasi dan nekrosis. Penurunan sel beta terjadi hingga 90% dari keadaan normal pada DM tipe 1 dan sebanyak 50-60% dari keadaan normal pada DM tipe 2.



Gambar 3. Pewarnaan Imunohistokimia Pulau Langerhans dan Sel Beta (→) Pankreas Tikus Diabetes Melitus (Dewi *et al.*, 2011)

Bentuk pengamatan histologi lainnya adalah dengan pewarnaan imunohistokimia (Gambar 3). Adanya pewarnaan imunohistokimia, tidak hanya struktur dan jumlah sel yang dapat diamati, namun juga dapat diamati aktivitas endokrin dari sel-sel pada pulau langerhans tersebut. Reaksi spesifik antara antibodi terhadap hormon tertentu pada sel-sel pulau langerhans dapat diamati dengan prinsip perubahan warna. Misalnya pewarnaan imunohistokimia dengan melibatkan anticinsulin akan menunjukkan warna coklat pada sel beta pankreas yang memproduksi insulin sehingga dapat dibedakan dari sel beta yang tidak menghasilkan insulin (Suarsana *et al.*, 2010; Erwin *et al.*, 2013). Rasio sel beta yang menghasilkan insulin terhadap jumlah keseluruhan sel beta dalam suatu pulau langerhans seringkali dijadikan ukuran kondisi patologis penderita DM baik pada tingkat *in vivo* maupun pada tingkat uji klinis (Fujisawa *et al.*, 2012; Hafizur *et al.*, 2015).

2.6. Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah merupakan faktor yang sangat penting untuk kelancaran kerja tubuh. Karena pengaruh berbagai faktor dan hormon insulin yang dihasilkan kelenjar pankreas, sehingga hati dapat mengatur kadar glukosa dalam darah. Bila kadar glukosa dalam darah meningkat sebagai akibat naiknya proses pencernaan dan penyerapan karbohidrat, maka oleh enzim-enzim tertentu glukosa dirubah menjadi glikogen. Proses ini hanya terjadi di dalam hati dan dikenal sebagai glikogenesis. Sebaliknya, bila kadar glukosa menurun,

glikogen diuraikan menjadi glukosa. Proses ini dikenal sebagai glikogenolisis, yang selanjutnya mengalami proses katabolisme menghasilkan energy (dalam bentuk energi kimia, ATP). Kadar normal glukosa puasa dalam darah adalah 70-110 mg/dl (Ekawati, 2012).

Kadar glukosa yang tinggi merangsang pembentukan glikogen dari glukosa, sintesis asam lemak dan kolesterol dari glukosa. Kadar glukosa darah yang tinggi dapat mempercepat pembentukan trigliserida dalam hati. Trigliserida merupakan salah satu bagian komposisi lemak yang ada dalam tubuh. Dimana jika kadar trigliserida dalam batas normal mempunyai fungsi yang normal dalam tubuh, semisal sebagai sumber energi. Kadar trigliserida dalam darah orang yang normal, tidak melebihi kadar 200 mg/dl. Pada keadaan tertentu, seperti *Diabetes Mellitus* dan obesitas, kadar trigliserida dapat meningkat melebihi 200 mg/dl, yang sering disebut *Hypertriglyceridemia* (Koestadi, 1989; Ekawati, 2012).

Penderita *hypertriglyceridemia* sering merasa ngilu pada leher belakang, kepala sering terasa pusing, dan ngilu dipunggung belakang, tapi ada juga beberapa penderita yang tidak menunjukkan gejala klinis. *Hypertriglyceridemia* dapat bersifat primer maupun sekunder dari suatu keadaan yang mendasari seperti peningkatan kadar glukosa darah kronik pada penderita diabetes mellitus yang tidak terkontrol dengan baik (Price dan Wilson, 1995; Sargowo, 2002).

2.7. Dislipidemia

Dislipidemia yaitu kelainan metabolisme lipid dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma darah. Kelainan fraksi lipid yang utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, *low density lipoprotein* (LDL), kenaikan kadar trigliserida dan penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL) (Waspadji *et al.*, 2010). Dislipidemia bila terdapat kadar total kolesterol ≥ 240 mg/dl, kadar LDL ≥ 160 mg/dl, trigeliserida ≥ 200 mg/dl, atau HDL < 40 mg/dl.

Angka patokan profil lipid tersebut sebagai pedoman klinis yang penting dikaitkan dengan risiko terjadinya penyakit kardiovaskular (Bahri, 2004).

Penyebab dislipidemia dibagi 2 berdasarkan *American Association of Clinical Endocrinology* (AAACE, 2012), yaitu: (1) Dislipidemia Primer. Dislipidemia primer berkaitan dengan gen yang mengatur enzim dan apoprotein yang terlibat dalam metabolisme lipoprotein maupun reseptornya. Kelainan ini biasanya disebabkan oleh mutasi genetik. Etiologi dislipidemia primer meliputi: Hiperkolesterolemia poligenik, hiperkolesterolemia turunan, dislipidemia remnant,

hiperlipidemia kombinasi turunan, sindroma kilomikron, hipertrigliseridemia turunan, peningkatan kolesterol HDL dan peningkatan apolipoprotein B. (2)

Dislipidemia Sekunder. Dislipidemia sekunder disebabkan oleh penyakit atau keadaan yang mendasari. Hal ini dapat bersifat spesifik untuk setiap bentuk dislipidemia (Tabel 1).

Dislipidemia dapat menyebabkan berbagai macam komplikasi. Komplikasi dislipidemia menurut *American Association of Clinical Endocrinology* (AAACE, 2012), antara lain: Aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK), penyakit serebrovaskular seperti stroke, kelainan pembuluh darah tubuh lainnya pankreatitis akut (bila kadar trigliserida > 1000 mg/dl) dan diabetes Mellitus tipe 2.

Tabel 1. Penyebab Umum Dislipidemia Sekunder Menurut American Association of Clinical Endocrinologist (AAACE, 2012)

Lipid	Penyebab
Peningkatan Kolesterol Total dan LDL	Hipotiroid Sindrom nefrotik SLE Multiple myeloma Progesterin Pengobatan anabolik steroid Penyakit hepar obstruksi Sirosis Protease inhibitor pengobatan infeksi HIV
Peningkatan Trigliserida dan VLDL	Gagal ginjal kronik Diabetes Melitus type 2 Obesitas Alkohol Hipotiroid Obat antihipertensi Tiazid, Beta Bloker) Terapi kortikosteroid (steroid endogen meningkat akibat stres berat Estrogen oral, kontrasepsi oral, kehamilan Very low fat diet

Adanya faktor risiko terhadap penyakit diabetes melitus yang terjadi akibat komplikasi dislipidemia (Assar *et al.*, 2012). Mekanisme terjadinya disfungsi endotel antara lain (1) menurunnya sintesis *Nitric Oxide* (NO) karena stres oksidatif yang menyebabkan pembentukan *peroxynitrite* (ONOO⁻); (2) sumber-sumber yang mungkin terlibat dalam peningkatan stres oksidatif seperti

Reactive Oxygen Species (ROS); (3) peningkatan aktivitas faktor vasokonstriktor seperti *cyclooxygenase* (COX); dan (4) terbentuknya mediator pro-inflamasi (Assar *et al.*, 2012).

2.8. Profil Lipid

Lipid adalah suatu zat yang kaya akan energi, berfungsi sebagai sumber energi yang utama untuk proses metabolisme tubuh. Lemak yang beredar di dalam tubuh diperoleh dari dua sumber yaitu dari makanan dan hasil produksi organ hati, yang bisa disimpan di dalam sel-sel lemak (adiposit) sebagai cadangan energi. Lemak ditemukan pada banyak sel dalam bentuk butir-butir lemak kecil. Fungsi lemak adalah (Lichtenstein dan Jones, 2001; Budisatria, 2011): 1. Sebagai penyusun struktur membran sel. Dalam hal ini lipid berperan sebagai barrier untuk sel dan mengatur aliran material-material. 2. Sebagai bantalan lemak. Lipid disimpan sebagai jaringan adiposa. 3. Sebagai kelenjar endokrin. Hormon mengatur komunikasi antar sel, sedangkan vitamin membantu regulasi proses-proses biologis. Secara umum fungsi lemak adalah sebagai sumber energi, pelindung organ tubuh, pembentukan sel, sumber asam lemak esensial, alat angkut vitamin larut lemak, menghemat protein, memberi rasa kenyang dan kelezatan, sebagai pelumas, dan memelihara suhu tubuh (Heymsfield, 2001).

Profil lipid adalah pemeriksaan klinik yang diperoleh melalui apusan darah. Pemeriksaan ini mengukur kolesterol dan lemak yang mempunyai peranan yang penting dalam metabolisme. Profil lipid terdiri dari kolesterol total, *low-density* lipoprotein kolesterol (LDL atau kolesterol jahat), *high-density* lipoprotein kolesterol (HDL atau kolesterol baik) dan trigliserida (Morrow, *et al.*, 2007).

A. Kolesterol Total

Kolesterol total merupakan jumlah total kandungan kolesterol darah. Kolesterol diproduksi oleh tubuh sendiri dan juga datang dari asupan makanan yang kita konsumsi yaitu produk hewani. Kolesterol dibutuhkan tubuh untuk mempertahankan kesehatan sel-sel, tetapi level yang terlalu tinggi akan meningkatkan risiko penyakit jantung. Idealnya total kolesterol harus <200 mg/dL atau <5,2 mmol/L. Kedua ukuran tersebut setara, hanya dinyatakan dalam satuan yang berbeda. Di Indonesia umumnya menggunakan satuan mg/dL.

Faktor genetic juga berperan sebagai penentu kadar kolesterol, selain dari makanan yang dikonsumsi (Morrow, *et al.*, 2007).

B. Low-density lipoprotein (LDL)

LDL kolesterol disebut juga dengan kolesterol jahat karena peningkatan kadar LDL kolesterol berhubungan dengan peningkatan resiko penyakit (Lee dan Kulick, 2005). LDL merupakan sumber utama kolesterol yang terikat dengan Apo-B. Fungsi utamanya adalah meneruskan kolesterol ke jaringan ekstra hepatic yang mempunyai afinitas spesifik yang tinggi, yang disebut reseptor LDL. Melalui reseptor inilah kebutuhan kolesterol tubuh akan terpenuhi dan merupakan faktor penghambat sintesis kolesterol di dalam sel-sel tersebut. Kolesterol yang di dalam ini disebut kolesterol beta. Lipid ini dapat membatasi dan menutup pembuluh darah. Penutupan pembuluh darah dapat menyebabkan serangan jantung atau stroke (ADA, 2004). LDL menyimpan kolesterol pada dinding arteri dan dapat menyebabkan strukturnya menjadi keras dan tebal yang disebut *plaque* kolesterol (Lee dan Kulick, 2005). Secara umum LDL ini berfungsi untuk menyimpan kolesterol dalam jaringan termasuk arteri. Kadar LDL kolesterol normal adalah kurang dari 100mg/dl (Schafer dan Nelson, 2001). Pada pasien diabetes dan obesitas biasanya terjadi peningkatan kadar LDL (Adams, 2005). Kadar LDL kolesterol normal adalah kurang dari 130 mg/dl (Kreisberg dan Reusch, 2005; Wijaya, 2010).

C. High-density lipoprotein (HDL)

HDL kolesterol disebut dengan kolesterol baik karena partikel penyusunnya mencegah atherosklerosis melalui pengeluaran kolesterol dari dinding arteri dan menyimpannya ke dalam hati (Lee dan Kulick, 2005). HDL kolesterol merupakan kolesterol yang terikat di dalamnya disebut kolesterol alfa. Dimana mempunyai fungsi merupakan sumber apoprotein untuk metabolisme VLDL remnant dan kilomikron remnant, sebagai sumber bahan untuk pembentukan prostasiklin (anti-trombus), dapat meningkatkan sintesa reseptor LDL, mengangkut kelebihan kolesterol dari jaringan ekstra hepatic dan scavenger sel, dan sesudah interaksi dengan LCAT akan melepaskan kolesterol ke VLDL remnant dan hepar yang kemudian diekskresikan ke usus lewat empedu (Askandar, 1989; Wijaya, 2010). Juga lipid ini membantu memindahkan simpanan kolesterol dari dalam pembuluh darah dan menjaganya dari penutupan pembuluh darah. Kadar HDL kolesterol yang normal adalah lebih dari 40mg/dl

untuk laki-laki dan lebih dari 50mg/dl untuk wanita (ADA, 2004). Pada pasien diabetes dan obesitas biasanya terjadi penurunan kadar HDL (Adams, 2005).

D. Trigliserida (TG)

Trigliserida adalah tipe lemak lain dalam darah atau lemak yang paling banyak ditemukan di dalam tubuh dan juga merupakan sumber energi terbesar. Berasal dari makanan dan juga disintesis dalam tubuh. Pada orang tua, kelebihan berat badan atau keduanya kadar trigliserida cenderung meningkat (AHA, 2004). Pada pasien diabetes dan obesitas biasanya terjadi peningkatan kadar trigliserida (Adams, 2005). Level TG yang tinggi umumnya menunjukkan bahwa seseorang makan lebih banyak kalori daripada kalori yang dibakar untuk aktivitas, karena itu level TG biasanya tinggi pada pasien yang gemuk atau pasien diabetes. Makanan tinggi karbohidrat atau alkohol dapat menaikkan TG secara bermakna. Idealnya level trigliserida haruslah <150 mg/dL atau 1,7 mmol/L. *American Heart Association* (AHA) merekomendasikan bahwa level TG untuk kesehatan jantung "optimal" adalah 100 mg/dL atau 1,1 mmol/L (Morrow, *et al.*, 2007).

2.9. Superoksida Dismutase (SOD)

Untuk menanggulangi radikal bebas, tubuh mempunyai senyawa khusus yang disebut antioksidan endogen. Salah satu antioksidan endogen utama yang menangkal serangan radikal bebas dalam tubuh adalah enzim superoksida dismutase (SOD) (Nida, 2010; Zainuri dan Wanandi, 2012). Superoksida Dismutase (SOD) merupakan antioksidan primer yang bertugas meredam radikal superoksida dan mengkonversinya menjadi hidrogen peroksida.

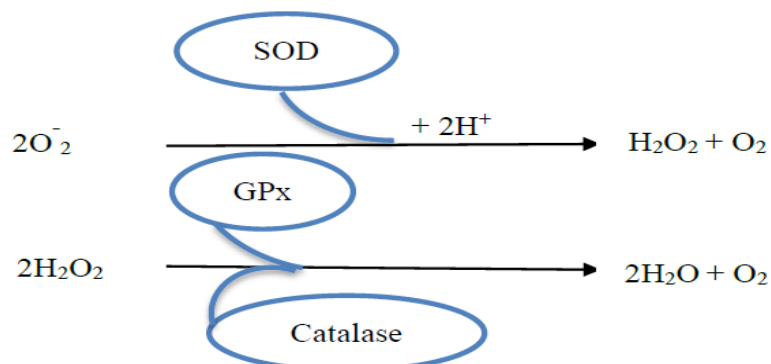
SOD dalam tubuh terdiri dari dua jenis yaitu MnSOD di mitokondria dan dapat keluar ke ruang ekstraseluler, serta Cu-ZnSOD di sitoplasma dan nukleus (Knight, 2000; Maritim *et al.*, 2003). Sumber lain menyebutkan adanya 3 jenis SOD, yaitu SOD1, SOD2, dan SOD3. SOD1 memerlukan cofaktor berupa Cu-Zn dan berlokasi di sitosol dan *mitokondrial intermembrane space*. SOD2 memerlukan Mn sebagai cofaktor dan berlokasi di matrik mitokondria. Sedangkan SOD3 memerlukan cofaktor berupa Cu-Zn namun berlokasi di *ekstraceluller space* (Powers dan Jackson, 2008).

Pembentukan radikal bebas diawali dengan aktivasi NADPH oksidase yang membentuk radikal superoksida ($O_2^{\cdot-}$) yang segera dikonversi oleh SOD menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida kemudian dinaktivasi

menjadi air dan oksigen oleh katalase. Glutation peroksidase (GPx) juga mengubah hidrogen peroksida menjadi air bersama dengan perubahan glutathion (GSH) menjadi glutathion teroksidasi (GSSG). GSSG kemudian diregenerasi menjadi GSH oleh glutathion reduktase. Proses deaktivasi radikal-radikal superoksida dan hidrogen peroksida tersebut perlu dilakukan agar tidak terjadi pembentukan radikal yang lebih berbahaya yaitu radikal hidroksil (Knight, 2000).

Dalam melawan radikal bebas, kerja enzim SOD dibantu oleh dua enzim lain, yaitu katalase dan glutathion (GSH) peroksidase. Enzim SOD secara spontan merubah radikal O_2^- menjadi H_2O_2 dan oksigen dengan kecepatan reaksi sekitar $10^5 M^{-1} s^{-1}$ pada pH 7, reaksinya sebagai berikut: $O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$.

Reaksi tersebut berlangsung sangat cepat dan hanya dibatasi oleh frekuensi tumbukan SOD dengan superoksida. Hidrogen peroksida yang dihasilkan masih cukup berbahaya sehingga perlu pengubahan lebih lanjut oleh katalase menjadi air dan oksigen. Secara sederhana reaksi tersebut dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 4. Kelerutan Reaksi SOD terhadap Ion Superoksida (Menvielle, 2005)

Glutation peroksidase merupakan golongan enzim antioksidan yang mengandung selenium yang penting dalam memerangi hidroperoksida dan senyawa xenobiotic menjadi air dan alkohol. Dengan cara tersebut kerusakan molekul-molekul penyusun sel akibat serangan radikal bebas dapat dihindari.

Enzim SOD memegang peranan penting sebagai antioksidan endogen. Berdasarkan mekanismenya, enzim ini digolongkan sebagai antioksidan primer yang berperan mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil (Menvielle-Bourg, 2005)

2.10. Malonaldehid (MDA)

Reaksi oksidasi sering menyebabkan kerusakan oksidatif dan selanjutnya menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Hal ini terjadi karena senyawa radikal bebas mengoksidasi dan menyerang komponen lipid membran sel. Senyawa radikal bebas juga menyerang komponen penyusun sel lainnya seperti protein, lipoprotein dan DNA (Borchman dan Yappert, 2011). Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi bila senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa asam lemak tak jenuh ganda. Jadi target utama dari senyawa oksigen reaktif adalah asam lemak tak jenuh ganda. Asam lemak tak jenuh ganda yang mengandung dua atau lebih ikatan rangkap sangat rentan terhadap oksidasi oleh radikal bebas atau molekul-molekul reaktif lainnya. Molekul reaktif seperti radikal hidroksil menarik atom hidrogen dari ikatan rangkap asam lemak tak jenuh dan membentuk radikal peroksil lipid. Radikal ini kemudian bereaksi dengan asam lemak tak jenuh lainnya membentuk hidroperoksida lipid dan radikal peroksil lipid yang baru, yang kemudian meneruskan reaksi oksidasi terhadap lipid lainnya sehingga terjadi suatu reaksi berantai, yang dikenal dengan peroksidasi lipid (Winarsi, 2007; Borchman dan Yappert, 2011).

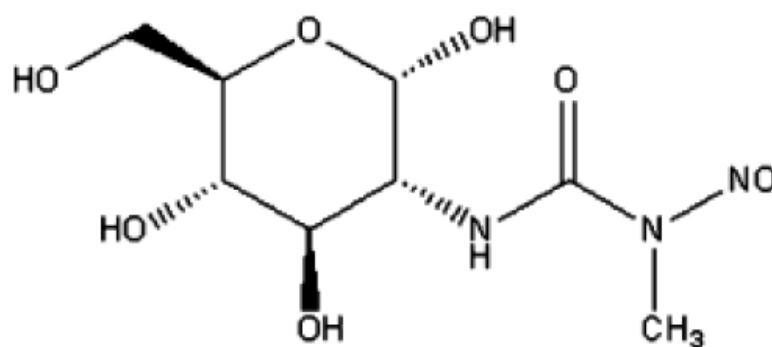
Terdapatnya logam transisi seperti Fe akan memulai pembentukan radikal lebih lanjut. Salah satu akibat penting peroksidasi lipid adalah pembentukan senyawa-senyawa aldehida, termasuk senyawa karbonil reaktif terutama MDA. Oksidasi lipid merupakan hasil kerja radikal bebas yang diketahui paling awal dan paling mudah pengukurannya. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil, sehingga sangat sulit mengukurnya secara langsung. Tetapi terbentuknya peroksida lipid dapat digunakan mendeterminasi secara tidak langsung adanya radikal bebas tersebut. Marker atau produk peroksida lipid seperti *Malondialdehyde* (MDA) dapat diukur untuk menentukan adanya radikal bebas (William, 2006; Winarsi, 2007).

MDA adalah produk dekomposisi dari *PUFA* peroksidasi atau produk akhir dari peroksidasi lipid, dan biasanya digunakan sebagai *biomarker* biologis untuk menilai stres oksidatif. Pada proses peroksidasi lipid, selain MDA terbentuk juga radikal bebas yang lain, tetapi radikal bebas tersebut mempunyai waktu paruh yang pendek sehingga sulit diperiksa dalam laboratorium (Cherubini *et al.*, 2005; Suwandi, 2012). Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan merupakan analisis yang cukup mudah untuk menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk (Winarsi, 2007).

Malondialdehyde sangat cocok sebagai biomarker stres oksidatif karena beberapa alasan yaitu: pembentukan MDA meningkat sesuai dengan stress oksidatif, kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode yang telah tersedia, bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, pengukurannya tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan *Malondialdehyde* ditemukan hampir di seluruh cairan biologis termasuk di serum, urin, cairan sendi, cairan empedu, cairan getah bening, cairan amnion, humor akuos, cairan perikardial, dan cairan seminal. Namun serum dan urin merupakan sampel yang paling mudah didapat dan paling tidak invasif (Janero, 2001). lemak dalam diet, merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak (Dalle- Donne dkk., 2006).

2.11. *Streptozotocin* (STZ)

Beberapa metode penelitian dengan menggunakan hewan coba telah dikembangkan untuk mempelajari diabetes melitus atau menguji agen anti-diabetes. Metode ini meliputi kimia, bedah (pankreatektomi) dan manipulasi genetik pada beberapa spesies hewan. Obat-obatan diabetogenik (penginduksi diabetes) yang digunakan meliputi monohidrat aloxan, *streptozotocin* dengan atau tanpa nicotinamide, nitrolotriasetat besi, ditizona dan serum anti insulin (Etuk, 2010). Induksi *streptozotocin-nicotinamide* dilakukan secara intraperitoneal.



Gambar 5. Struktur kimia *streptozotocin* ($C_8H_{15}N_3O_7$) (Lenzen, 2008).

Streptozotocin adalah suatu analog nitrosourea yang sering digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan. Induksi percobaan diabetes menggunakan streptozotocin sangat mudah untuk dilakukan. Penyuntikan

streptozotocin menyebabkan degradasi dari pulau Langerhans sel beta pankreas. Transportasi streptozotocin ke dalam sel beta pankreas melalui glucose transporter GLUT 2, dimana sebagian nitrosamide dari streptozotocin (methylnitrosourea) berperan toksik. Paparan streptozotocin pada sel beta pankreas menyebabkan kerusakan DNA (Szkudelski, 2012).

Banyak penelitian *in vitro* membuktikan bahwa *streptozotocin* menyebabkan alkilasi DNA, sehingga terjadi fragmentasi DNA. Dampak dari kerusakan DNA, diaktifkannya suatu mekanisme intrasel yang bertujuan untuk memperbaiki DNA, yaitu oleh enzim *poly (ADP-ribose) polymerase-1* (PARP-1). Enzim ini mengkatalisis sintesa *poly (ADP-ribose)* dari NAD⁺. Kerusakan DNA karena *streptozotocin* menginduksi overstimulasi PARP1 pada sel beta pankreas. Pada kondisi kerusakan DNA yang ringan, aktivasi PARP-1 menguntungkan.

Tetapi, kerusakan intensif DNA yang diinduksi streptozotocin menyebabkan hiperaktivitas PARP-1 dan kerugian pada sel, karena terjadi penurunan NAD⁺. NAD⁺ adalah molekul penting yang terkait dalam metabolisme energi pada tingkat sel. Penurunan NAD⁺ yang berat menyebabkan penurunan ATP, karena biosintesa NAD⁺ tergantung ATP. Tetapi penurunan ATP ini tidak hanya ditimbulkan karena menurunnya NAD⁺, melainkan karena adanya disfungsi mitokondria. Telah diteliti bahwa paparan *streptozotocin* dalam jangka pendek mengurangi aktivitas mitokondria sel islet, menurunkan konsumsi oksigen mitokondria, dan menurunkan potensial membran mitokondria. Secara klinis, gejala dari diabetes pada tikus akan terlihat jelas dalam 2 sampai 4 hari setelah penyuntikan intraperitoneal dengan dosis tunggal *streptozotocin* (Szkudelski, 2012).

2.12. Metformin

Metformin merupakan salah satu jenis obat anti hiperglikemik oral (OHO) golongan biguanid. Saat ini golongan biguanid yang banyak dipakai adalah metformin. Metformin menurunkan produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot dan adiposa terhadap insulin. Efek ini terjadi karena adanya aktivasi kinase di sel (*AMP-activated kinase*) (Suharti dan Suherman, 2007). Disamping itu, metformin meningkatkan pemakaian glukosa oleh sel usus sehingga menurunkan glukosa darah dan juga diduga menghambat absorpsi glukosa di usus sesudah asupan makan (Soegondo, 2006; Satriany, 2010).

Metformin dapat menurunkan glukosa darah tetapi tidak akan menyebabkan hipoglikemik sehingga tidak dianggap sebagai obat hipoglikemik.

Pada pemakaian tunggal metformin dapat menurunkan glukosa darah sampai 20% (Satriany, 2010). Pada pasien diabetes yang gemuk, metformin dapat menurunkan berat badan dengan mekanisme yang belum dapat dijelaskan, sedangkan pada orang non-diabetik yang gemuk tidak timbul penurunan berat badan dan kadar glukosa darah. Metformin oral akan mengalami absorpsi di usus, dalam darah tidak terikat protein plasma, eksresinya melalui urin dalam keadaan utuh. Masa paruhnya sekitar 2 jam (Suharti dan Suherman, 2007).

Berbagai laporan penelitian yang telah dipublikasikan memperlihatkan besarnya manfaat pemberian metformin dalam mengontrol diabetes (Ong, et al., 2006; Belcher et al., 2005; IDF, 2007). Penelitian oleh Belcher tentang penggunaan metformin sebagai obat tunggal maupun kombinasi menunjukkan hasil yang cukup memadai dalam pengendalian gula darah pada 3.713 pasien diabetes selama 52 minggu. Tidak terdapat perbedaan bermakna pada ketiga jenis antidiabetik oral yang digunakan dalam menurunkan kadar A1c dan komplikasi kronis mikrovaskular dan makrovaskular. Penelitian penggunaan metformin jangka panjang oleh UKPDS, yang dilakukan di Inggris menunjukkan penurunan kadar A1c yang cukup bermakna, setara dengan antidiabetik oral golongan lain. Efek samping seperti mual, kembung dan diare menjadi salah satu kendala yang sering dijumpai pada penggunaan metformin (UKPDS, 1996; Kleppser dan Kelly, 1997; Blecher et al., 2005).

Metformin umumnya digunakan untuk pasien diabetes yang mempunyai berat badan lebih atau obesitas. Keunggulan penggunaan metformin untuk pasien dengan berat badan normal telah dilaporkan oleh Ong, et al., (2006) dari Sydney Australia. Penelitian observasional-retrospektif pada 1.072 pasien diabetes yang mendapat terapi tunggal metformin menunjukkan bahwa penggunaan metformin untuk pasien diabetes dengan berat badan normal atau berat badan lebih, memberikan hasil yang sama baiknya dibandingkan dengan pasien obesitas. Penggunaan metformin sebagai terapi tunggal pada pasien nonobesitas ini ternyata dapat mengendalikan diabetes lebih lama tanpa terjadi penurunan berat badan yang bermakna.

Pada jaringan otot metformin akan menyebabkan translokasi *glucose transporter-1* (GLUT 1) dari dalam sel ke membran plasma, sehingga dapat meningkatkan ambilan glukosa masuk ke dalam sel otot (Hundel et al., 1992;

DEXA, 2008). Beberapa mekanisme lain dari metformin dalam menurunkan glukosa darah antara lain meningkatkan translokasi dan aksi dari *glucose transporter* (GLUT) dan aktivasi AMP *activated protein-kinase*. Menurunkan ekspresi mRNA pada gen yang terlibat pada oksidasi asam lemak gen *gluconeogenesis*. Menghambat aktivitas rantai pernapasan di mitokondria. Menurunkan resistensi insulin dengan cara menurunkan respon resistensi insulin. Meningkatkan fisiologi membran sel dan menurunkan *free fatty acid flux* (Kleppser dan Kelly, 1997; Gunton et al., 2003).

Metformin memiliki kemampuan dapat menurunkan konsentrasi A1c sebesar 1%-1,5%, setara dengan antidiabetik oral golongan sulfonilurea. Selain dapat menurunkan glukosa darah, terdapat beberapa efek lain seperti penurunan berat badan, perbaikan kadar kolesterol, perbaikan kelainan hemostasis dalam darah, dan *C-reactive protein*, suatu pertanda adanya inflamasi (Cheng dan Fantus, 2005). Metformin dapat menurunkan risiko kematian sampai 36%, dan menurunkan risiko kejadian infark miokardia sebesar 39% dibandingkan dengan terapi konvensional. Hanya golongan metformin, antidiabetik oral satu-satunya yang mempunyai efek protektif langsung pada jantung (UKPDS, 1996; Eurlach et al., 2005).

2.13. Kombucha

Kombucha merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menggunakan starter mikroba kombucha (simbiosis bakteri dengan kamir) dan difermentasi selama 8-12 hari. Jenis mikroba utama yang berperan adalah *Acetobacter xylinum* dan kamir yaitu *Zygosaccharomyces* dan *Candida sp.* (Blanc, 2000). Minuman teh yang telah difermentasi akan berubah menjadi sedikit asam dengan rasa yang menyegarkan. Fermentasi ini menghasilkan banyak asam organik seperti asam asetat, asam laktat, asam glukuronat, asam folat, vitamin C, yang sangat bermanfaat bagi kesehatan. Asam-asam organik tersebut sangat bermanfaat bagi metabolisme tubuh sehingga dapat meningkatkan kesehatan. Disamping itu kombucha mempunyai potensi untuk digunakan sebagai antibiotik alami (Rofiq, 2002; Sutarmi 2005).

Produk fermentasi kombucha dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kombucha Teh (Anugrah, 2005)

kombucha mengandung beberapa senyawa antara lain gula, polifenol seperti katekin, asam-asam organik, lisin, serat, etanol, asam-asam amino, elemen esensial seperti Na, K, Ca, Cu, Fe, Mn, Ni, dan Zn, vitamin larut air seperti vitamin C, vitamin B, vitamin B2, katalase, karbon dioksida, zat-zat yang berperan seperti zat antibiotik, dan beberapa enzim hidrolitik (Malbasa *et al.*, 2011). Menurut Novar (1996), kandungan nutrisi pada kombucha dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Nutrisi per 100 ml Suspensi Teh Kombucha

Kandungan Nutrisi	Komposisi
Gula	6,667 g
Vitamin C	0,096 mg
Niasin	0,535 mg
Asam folat	0,233 mg
Riboflavin	0,966 mg

Sumber: Novar (1996)

Kombucha juga mengandung berbagai jenis asam organik. Menurut Watawana *et al.* (2015), kombucha mengandung asam glukuronat, asam glukonat, asam malat, asam oksalat, asam laktat, dan asam sitrat. Asam glukuronat dalam tubuh dapat diubah menjadi glukosamin dan kondroitin-sulfat yang dapat berasosiasi dengan kolagen sebagai pelumas pada persendian. Asam glukuronat juga dapat bekerja bersamaan dengan asam butirat yang juga dihasilkan selama fermentasi kombucha, keduanya membentuk kompleks yang berfungsi memperkuat dinding usus dan memberi perlindungan terhadap parasit. Menurut Chakravorty *et al.* (2016), kombucha memiliki manfaat sebagai antimikroba, antioksidan, anti-karsinogenik, membantu menyembuhkan tukak lambung dan kolesterol tinggi. Kombucha juga berpengaruh terhadap respon

imun dan detoksifikasi liver. Komponen yang terkandung dalam kombucha dan manfaatnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komponen yang Terkandung dalam Kombucha Teh

Komponen	Manfaat bagi kesehatan
Asam laktat	Penting bagi pencernaan manusia
Asam asetat	Menghambat bakteri berbahaya
Asam malat	Untuk detoksifikasi tubuh
Asam oksalat	Sebagai pengawet alami
Asam glukonat	Penginfeksi <i>yeast</i> seperti <i>Candida</i>
Asam butirat	Melawan infeksi khamir
Asam nukleat	Untuk regenerasi sel
Asam amino	Pembentukan protein
Beberapa enzim	Glukokinase, sukrase
Vitamin B1	Untuk metabolisme
Vitamin B2	Memproses asam amino, lemak dan karbohidrat
Vitamin B3	Menurunkan kadar kolesterol
Vitamin B6	Memperbaiki sistem pencernaan
Vitamin B12	Metabolisme antar sel pada tubuh
Vitamin B15	Sebagai oksigenator dalam darah
Vitamin C	Meningkatkan daya tahan tubuh
Asam folat	Untuk memproduksi sel-sel darah
Asam glukuronat	Untuk mengkonjugasi toksin dan racun
Asam <i>hyaluronic</i>	Untuk mengikat toksin dan membentuk ester
Asetaminophen	Untuk menghilangkan rasa nyeri dalam tubuh (analgetik)
Antibiotik	Untuk mengatasi pertumbuhan mikroba

Sumber: Naland (2004)

Kombucha juga memiliki aktivitas antibakteri. Menurut Dufresne dan Farnworth (2000), kombucha memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri patogen, baik bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Kombucha dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen seperti *Escherichia coli* (penyebab diare), *Helicobacter pylori* (penyebab tukak perut), *Entamoeba cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Leuconostoc monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, dan *Candida albicans*. Menurut Jayabalan *et al.* (2014), aktivitas antibakteri kombucha didukung oleh pH yang rendah, dikarenakan kombucha mengandung asam asetat dan beberapa jenis asam organik serta katekin yang mendukung sifat penghambatan bakteri. Asam asetat dan katekin berperan penting dalam menghambat mikroorganisme Gram positif dan Gram negatif. Selain itu, kombucha juga mengandung senyawa antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen.

Minuman fermentasi kombucha mengandung komponen, vitamin, mineral, dan sedikit berkarbonasi (Jay *et al.*, 2005). Komponen teh terutama berupa senyawa fenol akan memberikan aktivitas antioksidan pada produk kombucha (Jayabalan *et al.*, 2008). Isomer epikatekin, theaflavin, dan thearubigins merupakan komponen senyawa fenol yang terkandung dalam teh yang tetap ada setelah teh mengalami fermentasi menjadi kombucha (Jayabalan *et al.*, 2007). Selain komponen teh, produksi vitamin seperti vitamin C dan B2 selama proses fermentasi juga memperkuat aktivitas antioksidan pada kombucha (Malbaša *et al.*, 2011). Bhattacharya *et al.* (2013) menunjukkan adanya produksi senyawa *D-saccharic acid-1,4-lactone* (DSL) pada kombucha teh. Pengujian menggunakan hewan model DM berupa tikus terinduksi aloksan membuktikan DSL berperan sebagai antioksidan yang mampu menekan stres oksidatif pada pankreas (Bhattacharya *et al.*, 2011a).

Kombinasi kandungan asam organik dan aktivitas antioksidan menjadikan kombucha sebagai bahan pangan yang bermanfaat bagi kesehatan, salah satunya untuk terapi penyakit DM. Berbagai pengujian secara *in vivo* telah membuktikan efek positif dari kombucha teh terhadap penyakit-penyakit degeneratif secara umum, dan dapat menyembuhkan penyakit DM. Secara khusus, pengujian *in vivo* pada tikus wistar yang diinduksi aloksan menunjukkan efek positif kombucha untuk terapi diabetes, terutama dalam memperbaiki fungsi hati dan pankreas. Kombucha mampu memberikan efek inhibitor terhadap aktivitas plasma dan pankreatik alfa amilase sehingga mampu menekan peningkatan level glukosa darah tikus DM (Aloulou *et al.*, 2012).

Pengujian secara biokimia juga membuktikan kombucha mampu memberikan efek inhibitor terhadap aktivitas pankreatik alfa amilase (Kallel *et al.*, 2012). Demikian juga dengan pengujian *in vivo* pada tikus yang diinduksi streptozotocin, kombucha teh menunjukkan kemampuan menekan level glukosa darah lebih baik dari pada teh hitam (Dashti dan Morshedi, 2000). Bhattacharya *et al.* (2013) menjelaskan lebih rinci mekanisme kombucha dalam terapi diabetes pada tikus yang diinduksi aloksan. Penelitian tersebut membuktikan bahwa teh kombucha menunjukkan potensi sebagai antidiabetes yang lebih baik daripada teh hitam biasa dalam hal kandungan senyawa fenol dan flavonoid; aktivitas *free radical scavenging*; menormalkan berat badan; penurunan total kolesterol dan total trigliserida; histopatologi pankreas, hati, dan jantung; penghambatan pembentukan ROS, peroksidasi lipid, dan karbonilasi protein; normalisasi enzim-

enzim terkait aktivitas antioksidan; meningkatkan glutathion tereduksi; serta penghambatan fragmentasi DNA pada sel beta pankreas.

Pengujian lainnya juga menunjukkan kemampuan kombucha sebagai pangan fungsional dengan efek anti hiperglikemik, seperti mampu menormalkan berat badan, menurunkan kadar glukosa darah, menaikkan kadar insulin, meningkatkan hemoglobin dan glikogen jaringan, serta menormalkan aktivitas enzim-enzim gluconeogenik seperti glucose-6-phosphatase dan fructose-1,6-bisphosphatase, serta enzim glikolitik seperti hexokinase. Aktivitas enzim glukoneogenik meningkat pada DM, sedangkan aktivitas enzim glikolitik menurun, akibatnya terjadi peningkatan kadar glukosa darah. Kadar insulin yang meningkat pada terapi kombucha meningkatkan peran enzim glikolitik dan menekan aktivitas enzim glukoneogenik sehingga berefek pada penormalan kadar gula darah (Srihari *et al.*, 2013).

Pengujian secara biokimia juga membuktikan kombucha mampu memberikan efek inhibitor terhadap aktivitas pankreatik alfa amilase (Kallel *et al.*, 2012). Bahkan kombucha teh menunjukkan kemampuan menekan level glukosa darah lebih baik dari pada teh hitam (Dashti dan Morshedi, 2000). Komponen yang diduga menekan aktivitas alfa amilase tersebut adalah kelompok senyawa fenol (Aloulou *et al.*, 2012; Kallel *et al.*, 2012). Selain itu, kandungan asam organik pada kombucha juga diduga berkontribusi terhadap efek anti hiperglikemia (Srihari *et al.*, 2013). Asam-asam organik seperti asam laktat (Liljeberg *et al.*, 1995) dan asam asetat (Ostman *et al.*, 2005) dilaporkan mampu menurunkan indeks glikemik sehingga menghambat peningkatan level glukosa darah.

Pengujian secara *in vitro* juga membuktikan manfaat teh kombucha. Kombucha menunjukkan aktivitas antiradikal baik terhadap radikal DPPH, hidroksil, maupun superoksida; pencegahan penurunan viabilitas sel terinduksi toksin; menghambat kerusakan membran sel karena paparan stres oksidatif; mampu merestorasi status antioksidan pada sel yang mengalami stres oksidatif karena induksi *tertiary butyl hydroperoxide* (TBHP) dengan mekanisme penangkapan ROS, menekan produksi MDA, dan meningkatkan aktivitas SOD dan GSH; serta menghambat kerusakan membran mitokondria (Bhattacharya *et al.*, 2011). Stres oksidatif adalah keadaan ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas dalam tubuh serta pertahanan antioksidan yang

menyertainya, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan menyebabkan penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus (Betteridge, 2000).

2.14. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang ditambahkan ke dalam lemak atau makanan berlemak untuk mencegah oksidasi, sehingga dapat memperpanjang kesegaran dan palabilitas. Secara ideal, antioksidan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu : (1) tidak mempunyai efek fisiologis yang berbahaya; (2) tidak menyebabkan terbentuknya flavor, odor atau warna yang tidak disukai pada lemak atau makanan; (3) efektif pada konsentrasi rendah; (4) larut dalam lemak; (5) tahan terhadap proses pengolahan; (6) mudah diperoleh; dan (7) ekonomis (Muchtadi, Palupi dan Astawan, 1993; Susanti, 2016).

Antioksidan juga merupakan senyawa yang terdapat secara alami dalam hampir semua bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan karena terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang menjadikan bahan pangan berasa dan beraroma tengik (Andarwulan, 1995; Susanti, 2016). Menurut Wildman (2001) antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Efek yang diberikan oleh antioksidan terhadap tubuh dapat secara langsung, yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh dan secara tidak langsung, yaitu dengan mencegah terjadinya pembentukan efek radikal.

Antioksidan berfungsi sebagai molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel. Antioksidan dapat menghambat atau menunda oksidasi sebuah substrat. Sumber terbanyak antioksidan berasal dari nutrisi terutama golongan fenol (Schottker *et.al.*, 2015). Beberapa mekanisme kerja antioksidan nutrisi antara lain: menetralkan radikal bebas, mengurangi konsentrasi peroksida dan memperbaiki oksidasi membrane, mendorong besi untuk menurunkan produksi ROS, Menetralkan ROS melalui metabolisme lipid, asam lemak bebas rantai pendek, dan kolesterol ester. Manusia memiliki sistem antioksidan kompleks baik enzimatik maupun non-enzimatik yang bekerja sinergis untuk melindungi sel dan sistem organ dari kerusakan akibat radikal bebas (Bartosz IS dan Bartosz G, 2014).

Berdasarkan fungsinya bagi tubuh, antioksidan dibagi menjadi tiga, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas

yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx) dan protein pengikat logam. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, β -karoten. Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase (Putra, 2008; Susati, 2016). Salah satu produk pangan yang banyak mengandung antioksidan yaitu minuman fermentasi kombucha.

2.15. Buah Salak (*Salacca zalacca*)

Buah salak (*Salacca zalacca*) adalah buah tropis asli Indonesia yang tersebar di seluruh Kepulauan Indonesia. Tanaman salak berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Tanaman buah salak tumbuh baik pada ketinggian 0-700 m di atas permukaan laut. Keunggulan buah salak yakni memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi (Zubaidah dan Tantrayana, 2015). Salak memiliki kandungan karbohidrat, vitamin C, kalsium, fosfor, zat besi dan antioksidan. Buah salak memiliki kadar komponen bioaktif (vitamin C dan senyawa fenolik). Selain itu, buah salak mengandung senyawa flavonoid dan tannin serta sedikit alkaloid. Kandungan flavonoid di dalam ekstrak buah salak mampu menurunkan kadar glukosa dalam darah (Saputra, 2008; Dhyana Putri *et al.*, 2016).

Salak mengandung polifenol total sebesar 217 mg CE/100 g, aktivitas antioksidan sebesar 110 μ M TE/100 g dengan metode DPPH dan 79 μ M TE/100 g dengan metode ABTS (Haruenkit *et al.*, 2007). Leontowicz *et al.*, (2007) menyimpulkan bahwa salak mempunyai total fenol 14,9 mg GAE/g dan kapasitas antioksidan 72,9 μ M TE/g dengan metode TEAC. Gorinsten, dkk (2009) meneliti bahwa salak mempunyai komponen gizi dasar (serat, protein, lemak, karbohidrat), aktivitas antioksidan, dan aktivitas proliferasi yang tinggi. Salak adalah salah satu buah yang disarankan untuk dikonsumsi karena bisa mencegah penyakit.

Buah salak banyak terdapat di berbagai provinsi di Indonesia dan umumnya mempunyai nama sesuai dengan daerah penghasilnya. Beberapa cultivar salak cukup dikenal dan disukai, antara lain salak Bali, Pondoh, Madura,

Banjarnegara, Tasikmalaya, Condet, Padangsidempuan, Enrekang dan Suwaru (Trisnawati, 2001; Suartha, 2009). Salak Suwaru merupakan salah satu buah salak khas dari Desa Suwaru, Kecamatan Pagelaran, Malang, Jawa Timur, yang memiliki warna daging kuning kecokelatan, berbentuk lonjong dengan rasa sepat yang lebih dominan, sehingga masyarakat cenderung kurang disukai untuk dikonsumsi. Rasa sepat pada salak suwaru tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa tanin yang tinggi (Zubaidah dan Rosdiana, 2016).

Tingginya produksi salak suwaru dengan harga yang relatif murah karena rasa yang sangat sepat perlu dilakukan pengolahan lebih lanjut. Salah satu pengolahan yang berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku salak suwaru yaitu pembuatan produk minuman kombucha. Penelitian tentang pembuatan minuman kombucha salak telah mulai dilakukan (Zubaidah dan Novitasari, 2016; Zubaidah dan Dewantari, 2016), dan pengujian efektivitas anti hiperglikemia kombucha salak suwaru tersebut secara *in vivo* pernah dilakukan. Zubaidah, Kalsium dan Apriyanto (2017), membuktikan bahwa kombucha salak suwaru dengan konsentrasi 5 ml, 10 ml, dan 15 ml/kg berat badan mampu memberikan efek anti hiperglikemia pada tikus DM terinduksi STZ. Kombinasi asam organik dan senyawa fenol dalam kombucha salak suwaru juga mampu menurunkan indeks glikemik, serta aktivitas antioksidan dalam melindungi dan meregenerasi sel-sel beta pankreas pada tikus DM.

2.16. Hewan Percobaan Tikus Putih (Hewan Laboratorium)

Hewan model (hewan coba) sangat diperlukan dalam penelitian *in vivo* di bidang biomedik (Iheidioha *et al.*, 2012), terutama untuk kajian imunologi, onkologi, fisiologi, patologi, toksikologi, farmakologi, dan neurosains (Johnson, 2012; Iheidioha *et al.*, 2012). Sebelum diaplikasikan kepada manusia atau primata lainnya, serangkaian percobaan menggunakan hewan model harus dilakukan terlebih dahulu (disebut penelitian praklinik). Anggota Rodentia seperti tikus (*Rattus norvegicus*) sering dijadikan hewan model karena memiliki sistem faal yang mirip dengan manusia (Smith and Mangkoewidjojo, 1988; Johnson, 2012).

Tikus Wistar adalah salah satu hewan coba yang paling banyak digunakan sebagai model dalam penelitian biomedik (Johnson, 2012). Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan sebagai hewan percobaan karena tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak

dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus putih betina. Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibanding tikus betina. Tikus putih sebagai hewan percobaan relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas (Ngatidjan, 2006; Setyawati, 2016).



Gambar 7. Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) (Setyawati, 2016)

Terdapat beberapa galur tikus yang memiliki kekhususan tertentu antara lain galur Wistar Albino dengan kepala besar, telinga panjang dan ekor pendek, galur *Sprague Dawley* yang albino putih berkepala kecil dan ekor panjang, dan galur *Long Evans* yang memiliki badan berwarna putih, sedangkan kepala dan ekstremitas berwarna hitam. Galur *Sprague Dawley* dan *Long Evans* berasal dari pengembangan galur Wistar (Hubrecht dan Kirkwood, 2010). Panjang badan tikus diukur dari ujung hidung sampai pertengahan anus, sedangkan panjang ekor diukur dari pertengahan anus sampai ujung ekor. Tikus Wistar memiliki panjang ekor yang selalu lebih pendek daripada panjang badan, sedangkan tikus *Sprague Dawley* memiliki panjang ekor yang sama atau lebih dari panjang badan (Krinke, 2000).

Tabel 4. Data Biologis Tikus Wistar (Hubrecht dan Kirkwood, 2010)

Berat badan jantan dewasa	200 – 280 gram
Berat badan betina dewasa	150 – 220 gram
Lama hidup	2,5 – 3 tahun
Usia pubertas	3 – 5 minggu
Konsumsi makanan	15 – 30 g/hari
Konsumsi air minum	20 – 45 g/hari
Defekasi	9 – 13 g/hari
Produksi urin	10 – 15 mL/hari

Pengujian DM, tikus pada kelompok diabetes terlebih dahulu dibuat mengalami DM. Salah satu cara adalah dengan menginjeksikan senyawa kimia yang dapat merusak pankreas hingga menimbulkan gangguan produksi insulin.

Streptozotocin adalah jenis induktor yang umum digunakan dalam hal ini.

Mekanisme dalam merusak sel beta pankreas adalah melalui pembentukan ROS. *Streptozotocin* masuk ke dalam sel beta pankreas melalui *glucose transporter* (GLUT2) dan menyebabkan alkilasi DNA. Kerusakan DNA menginduksi aktivasi *poly ADP-ribosylation*, proses yang lebih penting bagi efek diabetogenesis dari *streptozotocin* daripada kerusakan DNA itu sendiri. Proses selanjutnya berujung pada pembentukan radikal hidroksil. Lebih jauh, *streptozotocin* melepaskan senyawa beracun nitrit oksida yang berpartisipasi dalam kerusakan DNA. Hasilnya, sel beta mengalami kerusakan karena proses nekrosis (Szkudelski, 2012).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB III KERANGKA PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep Penelitian

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit kelainan metabolik ditandai dengan hiperglikemia dan intoleransi glukosa karena kelenjar pankreas tidak dapat memproduksi insulin secara maksimal. Salah satu faktor penyebab DM adalah kerusakan sel beta pankreas dalam menghasilkan insulin karena paparan radikal bebas (WHO, 1994; Yanita dan Kurniawati, 2016).

Meningkatnya produksi radikal bebas dengan mekanisme autooksidasi glukosa dan glikasi protein disebabkan karena hiperglikemia, yang berujung pada semakin parahnya komplikasi yang dapat dialami penderita DM (Sayyid dan Fleshner, 2016) bila tidak ditangani dengan tepat. Oleh karena itu, salah satu mekanisme terapi DM adalah dengan memberikan asupan antioksidan untuk menekan efek buruk hiperglikemia. Pemberian antioksidan diharapkan mampu memberikan efek perlindungan dan perbaikan (regenerasi) pada sel-sel beta pankreas sehingga dapat memperbaiki sekresi insulin yang kemudian mampu menormalkan kadar glukosa darah (Babu *et al.*, 2013). Menurut Ostman *et al.*, 2005 dan Srihari *et al.*, 2013, menyatakan bahwa selain pemberian antioksidan, hiperglikemia pada penderita DM juga dapat diterapi dengan mengonsumsi bahan pangan yang banyak mengandung senyawa fenol (Kallel *et al.*, 2012) dan asam-asam organik sehingga mampu menurunkan penyerapan glukosa dari sistem pencernaan yang dapat menyebabkan hiperglikemia.

Kombucha teh adalah minuman hasil fermentasi teh dengan menggunakan campuran kultur bakteri dan khamir, sehingga diperoleh citarasa asam dan terbentuk lapisan nata. Kombucha teh merupakan salah satu produk fermentasi yang banyak mengandung senyawa antioksidan (Bhattacharya *et al.*, 2011) dan asam-asam organik (Nguyen *et al.*, 2015). Kombinasi kedua bioaktif tersebut terbukti mampu memberikan efek positif kombucha teh pada model hewan coba DM (Aloulou *et al.*, 2012; Kallel *et al.*, 2012; Bhattacharya *et al.*, 2013).

Pada dasarnya bahan lain yang dapat digunakan untuk menggantikan teh dalam pembuatan kombucha (Jayabalan *et al.* 2014), salah satunya yaitu salak (Zubaidah dan Novitasari, 2016; Zubaidah dan Dewantari, 2016). Jenis buah salak yang memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi yaitu salak suwaru

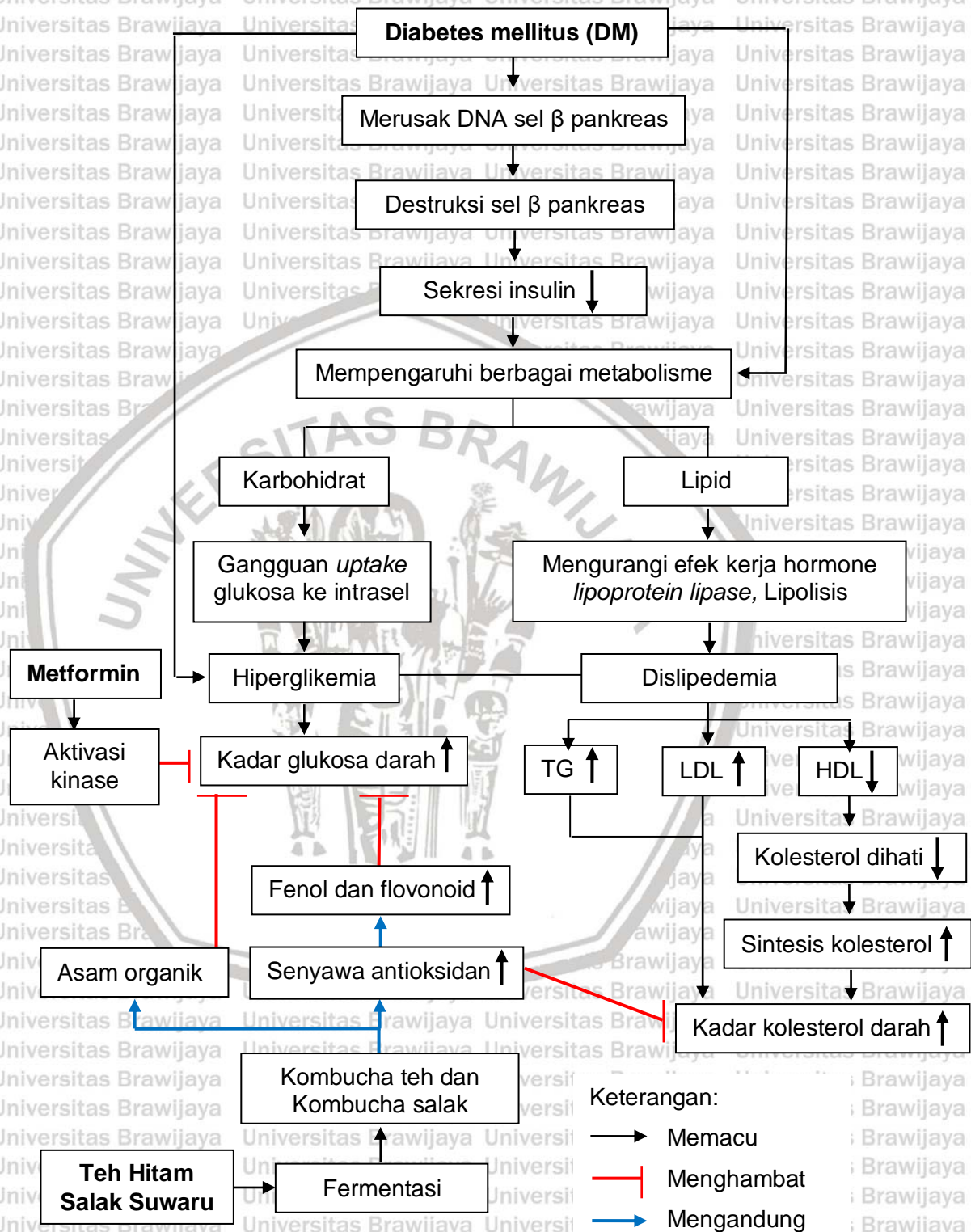
(Zubaidah dan Japlin, 2015). Dengan demikian, salak suwaru dapat digunakan sebagai bahan pembuatan kombucha karena memiliki aktivitas antioksidan yang berpotensi untuk menekan hiperglikemia pada penderita DM.

Berdasarkan uraian tersebut, maka kerangka konsep penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 8.

3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini diduga bahwa terdapat perbedaan kemampuan efektivitas antara kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru, dan obat metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah, menurunkan MDA, meningkatkan SOD dan mampu memperbaiki kerusakan sel beta pankreas, serta memperbaiki profil lipid pada tikus wistar jantan diabetes melitus yang diinduksi STZ.





Gambar 8. Kerangka Konsep Penelitian

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tahap satu berupa pembuatan dan analisis kombucha salak dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian, dan Laboratorium Bioteknologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian tahap dua (*in vivo*) dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Patologi Klinik dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian dilakukan pada Bulan Juli 2017 sampai bulan Januari 2018.

4.2. Bahan dan Alat

4.2.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada tahap satu meliputi salak suwaru (Desa Suwaru, Kecamatan Pagelaran, Malang), teh hitam, gula pasir (Gulaku), starter kombucha (Indokumbucha), sarung tangan plastik, aquades, aqua demin, DPPH, etanol 96% (Smartlab), Folin Ciocalteau (Merck), spiritus, H₂SO₄ pekat (Mallincrodt), indikator phenoftalein, asam oksalat dihidrat, asam galat, asam tanat (Sigma), NaOH, Na₂CO₃, NaNO₂ (Merck), AlCl₃ (LIPI), quercetin (Sigma), CaCO₃, anthrone, dan glukosa anhidrat. Seluruh bahan kimia berstatus pro analisis.

Bahan yang digunakan pada tahap dua meliputi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar berumur 2,5-3 bulan dengan berat badan 150-300 g, obat metformin, eter, *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%, HCL 1 N, TCA, Natrium thiobarbiturat, BPS, Xantine, Xantine Oksidase, dan *p-Nitro Blue Tetrazolium Chloride* (NBT) (Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya); diet normal berupa pakan comfeed PAR-S (PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk.); terigu; sekam; air minum tikus; *Streptozotocin* (STZ) merk Nacalai Tesque (Kyoto, Jepang); bahan persiapan preparat dan kit untuk pewarnaan imunohistokimia (Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya); serta anti insulin (ScyTek Laboratories, Inc.).

4.2.2. Alat

Alat yang digunakan pada tahap satu meliputi blender (Philips), timbangan digital (Mettler Toledo dan Scout Ohaus), vortex (LW Scientific), mikropipet (Gilson), oven listrik (Binder), kain saring, spatula, kompor listrik (Maspion), kompor gas, termometer, botol semprot, mortar, corong, pipet tetes, bulb, spektrofotometer (Labomed) dan kuvet, GC-MS (PT. Gelora Djaja Surabaya), bunsen, laminar air flow, autoklaf, freezer (GEA), refrigerator (Sharp), toples fermentasi dan kain penutup, pH meter (Trans Instruments), refraktometer (Atago), buret (Duran), rak tabung reaksi, serta alat-alat kaca seperti tabung reaksi, bekkor glass, erlenmeyer, labu ukur, pipet volumetrik, gelar arloji, dan gelas ukur (Pyrex, Duran, Herma).

Alat yang digunakan pada tahap dua meliputi kandang dan perlengkapan makan tikus, timbangan digital, *heater*, jarum sonde, jarum suntik, *blood glucose test meter* model AGM-2100 dengan *strip glukotest* GlucoDr™ No. 8 (Allmedicus, Korea), sarung tangan, alat bedah, evendoff, *micropipet*, tip, kuvet, spektrofotometer, sentrifuse, mikrotom, dan mikroskop.

4.3. Penelitian Tahap I : Karakterisasi Kombucha Teh dan Kombucha Salak Suwaru

4.3.1. Pelaksanaan Penelitian

a. Pembuatan Kombucha Teh

Pembuatan kombucha teh dilakukan dengan menggunakan metode hasil penelitian (Ardheniati, 2008), dengan tahapan sebagai berikut.

1. Teh hitam sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam 500 ml air mendidih dan didiam selama 10 menit.
2. Air seduhan teh hitam kemudian disaring dan ditambahkan sukrosa 10% (b/v) lalu dimasukan kedalam toples kaca kemudian didinginkan pada suhu 25-27°C.
3. Setelah dingin, ditambahkan 10% kultur cair kombucha (v/v) secara aseptis, lalu ditutup dengan kain steril.
4. Difermentasi pada suhu ruang selama 14 hari. Bagan alir produksi kombucha teh dapat dilihat pada Gambar 10.

b. Pembuatan Kombucha Salak Suwaru

Kombucha salak suwaru dibuat dengan mengacu pada metode hasil penelitian sebelumnya (Zubaidah dan Novitasari, 2016; Zubaidah dan Dewantari, 2016), dengan tahapan sebagai berikut:

1. Salak suwaru yang diperoleh dari petani dikupas kulitnya, lalu dibungkus aluminium foil dan plastik, selanjutnya disimpan pada freezer suhu -15°C sampai waktu produksi kombucha salak.
 2. Buah salak dipisahkan dari bijinya, dipotong kecil-kecil, dan dicuci dengan aquades.
 3. Buah salak diblender selama 25 detik bersama aquades dengan perbandingan 1:1 (berat : volume).
 4. Pure salak disaring untuk mendapatkan sari salak, buang ampas yang diperoleh.
 5. Penambahan sukrosa 10% (b/v), lalu dimasukkan ke wadah tertutup untuk pasteurisasi pada suhu 60°C selama 30 menit. Dinginkan sampai suhu ruang.
 6. Setelah dingin, ditambahkan 10% kultur cair kombucha (v/v) dan 3% fase nata (b/v) secara aseptis, aduk merata, lalu ditutup dengan kain steril.
 7. Kemudian dilakukan proses fermentasi pada suhu ruang selama 14 hari.
- Bagan alir produksi kombucha salak suwaru dapat dilihat pada Gambar 11.

c. Analisis Kimia

Kombucha teh dan salak suwaru dianalisis sifat fisiokomia dan aktivitas bioaktifnya meliputi pH (AOAC, 1990), total asam (AOAC, 1995), total gula (AOAC, 1984), TPT (AOAC, 1995), total fenol (Modifikasi Yang *et al.*, 2007), flavonoid (Modifikasi Atanassova *et al.*, 2011), tanin (Modifikasi AOAC, 1995), dan aktivitas antioksidan metode DPPH (Modifikasi Pinsiridom *et al.*, 2010). Seluruh analisis dilakukan pada sampel hari ke-0 dan ke-14 dengan 3 ulangan. Metode analisis dapat dilihat pada Lampiran 1.

Komponen senyawa bioaktif dianalisis dengan metode GC-MS. Sampel dilarutkan dengan metanol dan diinjeksikan ke GCMS sebanyak $1\ \mu\text{L}$. GCMS menggunakan kolom kapiler (*phenyl methyl siloxane*) dengan panjang 30 m, diameter $250\ \mu\text{m}$, dan ketebalan film $0,25\ \mu\text{m}$. Gas pembawa berupa helium dengan kecepatan alir $54,2\ \text{ml/menit}$. Suhu awal 300°C dan tekanan $10,50\ \text{psi}$.

Outlet bertekanan vakum dengan detektor menggunakan MSD. *Running time* selama 16 menit, sedangkan deteksi senyawa menggunakan *library* Wiley 275.

4.4. Penelitian Tahap II : Pengujian Efektivitas Kombucha Sebagai Agen

Terapi Diabetes Melitus Secara *In Vivo*

4.4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian dirancang dengan menggunakan desain *True Experimental Design: Post Test Only Control Group Design*. Pemilihan objek penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dua puluh lima ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan sebagai berikut:

Kontrol Negatif (P0) : Tikus normal

Kontrol Positif (P1) : Tikus diabetes melitus (DM)

Perlakuan 1 (P2) : Tikus DM + kombucha teh dosis 5 ml/kg berat badan per hari diberikan selama 28 hari

Perlakuan 2 (P3) : Tikus DM + kombucha salak suwaru dosis 5 ml/kg berat badan per hari diberikan selama 28 hari

Perlakuan 3 (P4) : Tikus DM + obat metformin dosis 45 mg/kg berat badan per hari diberikan selama 28 hari

Penelitian ini menggunakan variabel bebas yang terdiri dari kombucha teh, dan kombucha salak suwar dengan dosis masing-masing 5 ml/kg BB tikus/hari, serta obat metformin dengan dosis masing-masing 45 gr/kg BB tikus/hari. Sedangkan variabel terikat meliputi kadar glukosa darah puasa, berat badan tikus, aktivitas SOD, kadar MDA, dan pewarnaan imonohistokimia jaringan pankreas.

4.4.2. Pelaksanaan Penelitian

a. Masa Adaptasi

Dua puluh lima ekor tikus wistar jantan berumur 2.5-3 bulan dengan berat sekitar 145-300 gram diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari sebelum masa perlakuan. Tikus diberi pakan standar (87% *comfeed* PAR-S, 33% terigu, air) dan air minum *ad libitum*. Pada akhir masa adaptasi seluruh tikus ditimbang dan dipastikan dalam keadaan sehat dan baik.

b. Pembuatan Model Hewan Coba Diabetes Melitus

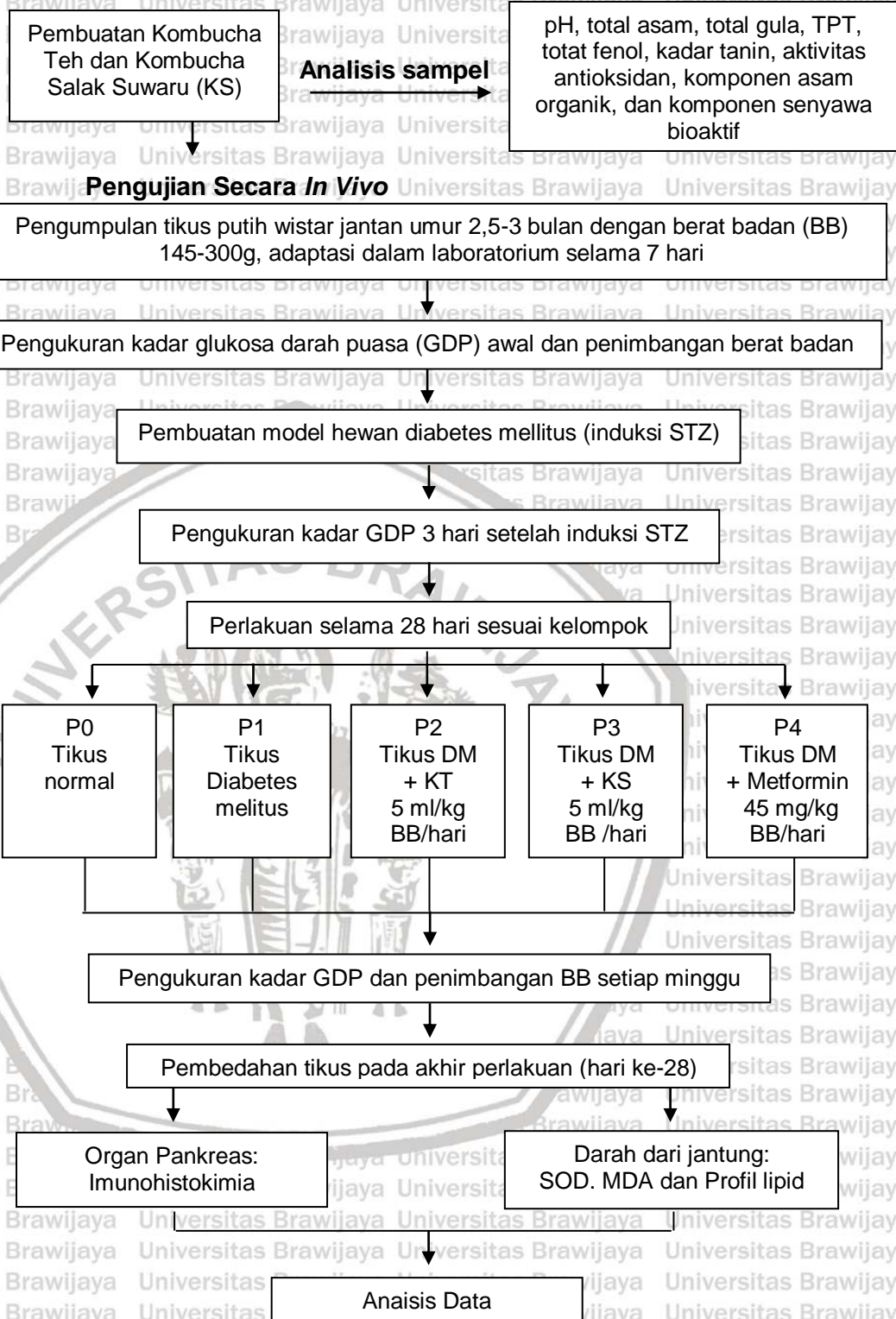
Model tikus DM yang digunakan pada penelitian ini diperoleh melalui proses induksi dengan *streptozotocin* (STZ). Seluruh tikus dipuasakan selama semalam (8-10 jam), lalu diukur kadar darah awal untuk memastikan kondisi tikus dalam keadaan sehat dan tidak mengalami diabetes. Pengukuran kadar glukosa darah puasa dilakukan dengan metode biosensor *glukose oxidase* (Suarsana *et al.*, 2010) menggunakan *blood glucose test* meter model AGM-2100 dengan *strip glukotest* GlucoDR™ NO. 8 (Allmedicus Korea) Metode pengukuran kadar glukosa darah dapat dilihat pada Lampiran 2. Selanjutnya sebanyak 20 ekor tikus diinduksi dengan STZ secara intraperitoneal dosis 45 mg/kg berat badan (Szkudelski, 2012). STZ dilarutkan dalam asam sitrat pH 4,5. Tikus kemudian dipelihara secara normal selama 3 hari. Pada hari ketiga setelah induksi, kadar GDP diatas 200 mg/dL (ADA, 2015) dapat dinyatakan sebagai tikus DM yang siap digunakan sebagai model hewan DM untuk penelitian ini.

c. Pengujian *In Vivo*

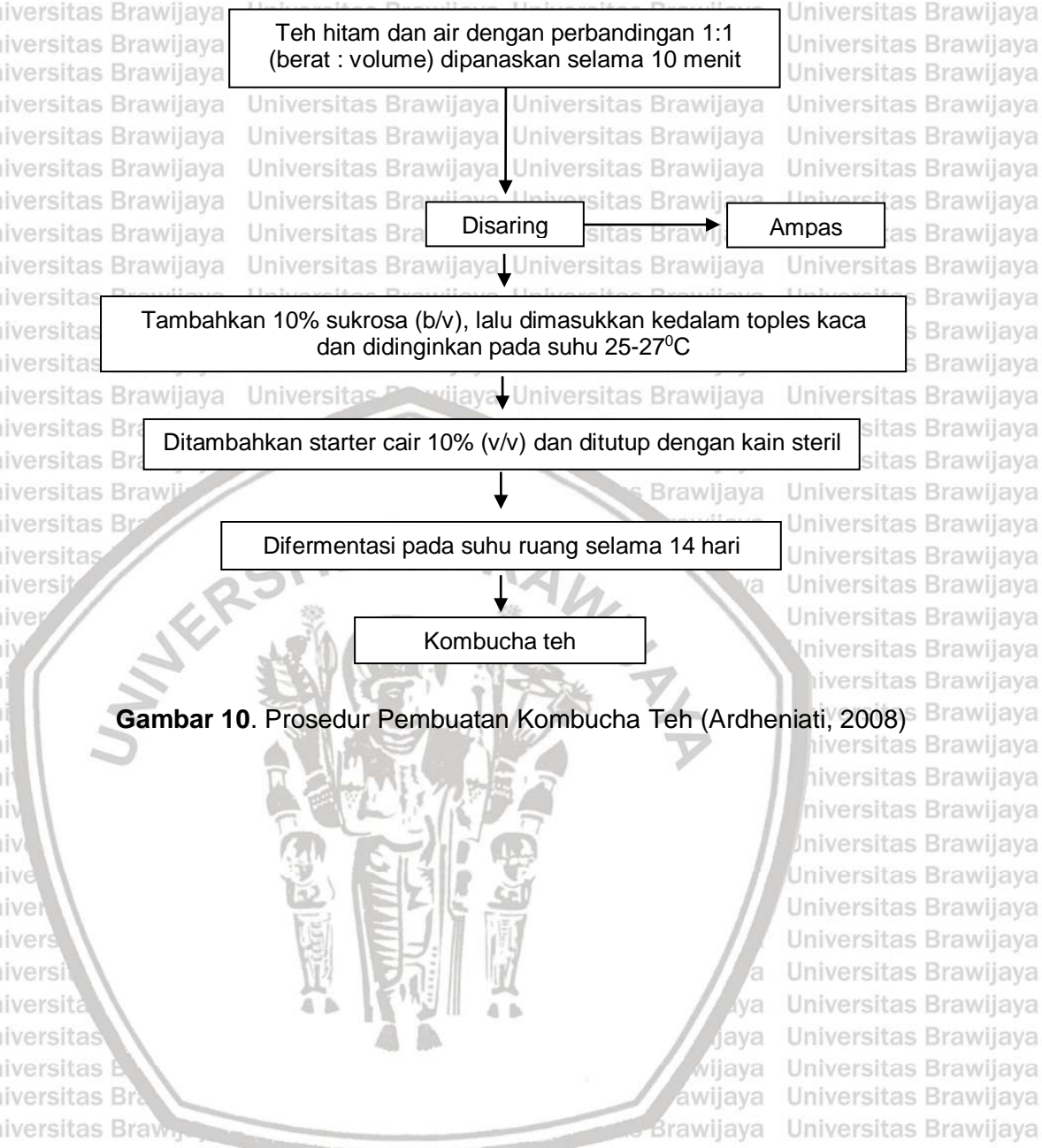
Tikus dibagi menjadi 5 kelompok sesuai rancangan penelitian kemudian dilakukan pemeliharaan dengan perlakuan masing-masing kelompok selama 28 hari. Kombucha teh dan kombucha salak serta obat metformin diberikan setiap hari per oral sebelum pemberian pakan standar. Penimbangan berat badan dan pengukuran GDP seluruh tikus dilakukan setiap minggu. Pada akhir penelitian (hari ke-28) semua tikus diterminasi dengan cara dislokasi servikal. Tikus kemudian dibedah dengan membuka rongga perut, lalu dilakukan pengambilan darah dari jantung untuk analisis aktivitas SOD, kadar MDA, dan profil lipid, serta pengambilan pankreas untuk analisis pewarnaan imonohistokimia. Metode analisis aktivitas SOD, kadar MDA dan profil lipid dapat dilihat pada Lampiran 2, sedangkan metode pewarnaan imonohistokimia dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.5. Analisa Data

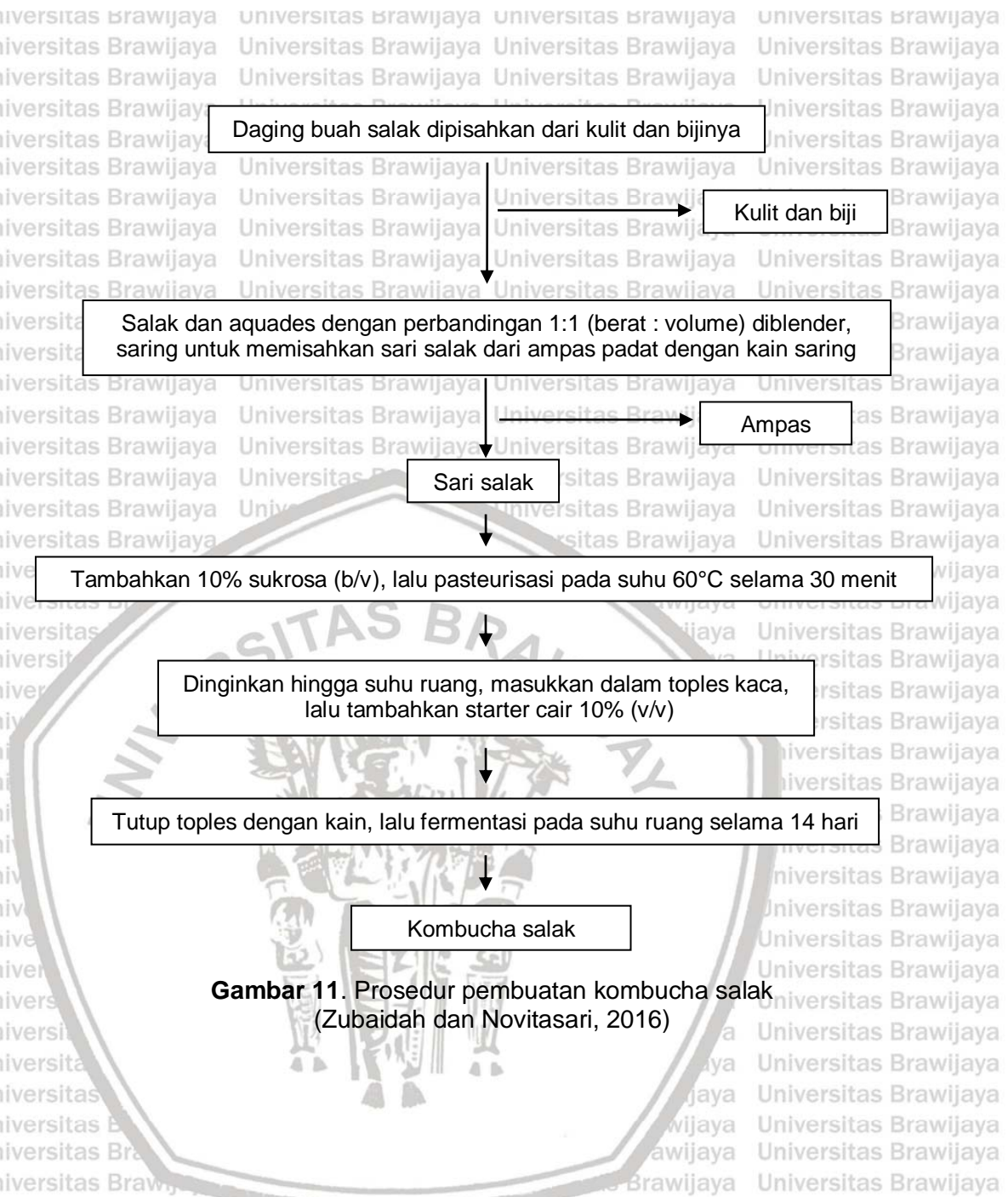
Data hasil penelitian diolah dan dianalisa dengan analisa ragam (ANOVA) dan apabila menunjukkan perbedaan maka diuji lanjut dengan uji BNT pada $p < 0,05$.



Gambar 9. Diagram alir penelitian



Gambar 10. Prosedur Pembuatan Kombucha Teh (Ardheniati, 2008)



Gambar 11. Prosedur pembuatan kombucha salak
(Zubaidah dan Novitasari, 2016)

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu tahap pertama, pembuatan dan analisis kombucha, sedangkan tahap kedua adalah pengujian efektivitas kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru dan metformin sebagai agen terapi diabetes melitus secara *in vivo*. Setelah pelaksanaan penelitian dengan tujuan untuk menguji potensi tersebut, maka didapatkan hasil sebagai berikut.

5.1. Karakteristik Kombucha Teh dan Kombucha Salak Suwaru

5.1.1. Perubahan Komponen Kimia Kombucha Teh Hitam dan Kombucha Salak Suwaru Selama Fermentasi

Proses fermentasi teh hitam dan sari buah salak suwaru oleh SCOBY (*symbiotic culture of bacteria and yeast*) ditandai dengan peningkatan produk fermentasi seperti asam dan eksopolisakarida (fase nata), menurunnya pH dan substrat berupa sukrosa, serta mampu mengubah komponen bioaktif. Data hasil pengujian perubahan komposisi kimia kombucha teh hitam dan kombucha salak suwaru dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Perubahan Komponen Kimia pada Kombucha Selama Fermentasi

Parameter (Satuan)	Jenis Kombucha					
	Kombucha Teh Hitam		Perubahan	Kombucha Salak Suwaru		Perubahan
	Hari ke-0	Hari ke-14		Hari ke-0	Hari ke-14	
Total Asam (%)	0,09 ± 0,04	0,42 ± 0,07	0,33	0,57 ± 0,14	1,56 ± 0,17	0,99
pH	4,77 ± 0,26	3,08 ± 0,10	-1,70	3,91 ± 0,19	3,22 ± 0,09	-0,69
Total Gula (%)	9,06 ± 1,01	6,78 ± 0,06	-2,29	10,50 ± 0,44	7,76 ± 0,03	-2,31
TPT (°Brix)	9,90 ± 0,10	8,13 ± 0,06	-1,77	13,93 ± 0,06	12,88 ± 0,08	-1,05
Fenol (mg/L GAE)	228,15 ± 24,16	400,06 ± 47,99	171,91	281,01 ± 11,28	535,59 ± 1,96	254,56
Tanin (mg/L TAE)	530,89 ± 82,51	704,81 ± 32,25	173,98	496,67 ± 7,64	619,00 ± 39,15	122,33
AO DPPH (%)	79,82 ± 4,94	89,33 ± 1,25	9,51	86,38 ± 1,18	91,73 ± 3,64	5,35

Berdasarkan Tabel 5, terlihat perubahan pada seluruh parameter pengamatan komponen kimia baik pada kombucha teh hitam maupun kombucha salak suwaru. Proses fermentasi pada kombucha teh dan kombucha salak suwaru menyebabkan terjadinya peningkatan terhadap total asam, fenol dan antioksidan serta terjadinya penurunan terhadap nilai pH, total gula, total padatan terlarut (TPT) dan tanin pada hari ke-14.

Pada kombucha teh rerata total asam yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 0,09% dan hari ke-14 sebesar 0,42%, terjadi peningkatan sebesar 0,33%. Sedangkan pada kombucha salak suwaru rerata total asam yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 0,57% dan hari ke-14 sebesar 1,56%, terjadi peningkatan sebesar 0,99%. Terjadinya peningkatan total asam pada kombucha teh dan kombucha salak suwaru dalam penelitian ini diduga karena adanya akumulasi asam-asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi produk, maka asam-asam yang dihasilkan seperti asam asetat, asam glukonat, asam laktat dan asam organik lainnya akan semakin meningkat. Nainggolan (2009) dan Jasman (2012) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, kombucha akan menghasilkan asam-asam organik yang tinggi akibat adanya aktivitas mikroba. Pada kombucha, mikroba seperti khamir akan memecahkan gula (sukrosa) menjadi glukosa, kemudian glukosa dirubah menjadi etanol dan karbondioksida. Etanol selanjutnya akan dioksidasi oleh bakteri asam laktat menjadi asam-asam organik.

Dilihat dari Tabel 5, pada kombucha teh rerata nilai pH yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 4,77, dan hari ke-14 sebesar 3,08, terjadi penurunan sebesar 1,70. Sedangkan pada kombucha salak suwaru rerata nilai pH yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 3,91, dan hari ke-14 sebesar 3,22, terjadi penurunan sebesar 0,69. Adanya penurunan nilai pH terhadap kombucha teh dan kombucha salak suwaru pada penelitian ini diduga karena adanya peningkatan total asam yang terbentuk selama fermentasi yang semakin lama. Semakin lama waktu fermentasi asam organik yang terbentuk akan semakin banyak, sehingga memungkinkan tingginya ion H^+ yang menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH. Menurut Goh *et al.*, (2012) penurunan nilai pH dikarenakan adanya konversi glukosa menjadi asam glukonat dan asam-asam organik lainnya oleh bakteri *acetobacter* dalam kombucha, asam-asam organik akan melepaskan ion-ion H^+ sehingga nilai pH menjadi menurun. Kallel *et al.*, (2012) yang menyatakan bahwa proses fermentasi kombucha akan menghasilkan beberapa metabolit utama diantaranya asam asetat, asam glukonat, asam glukoronat dan asam laktat. Semakin banyaknya asam-asam organik yang terbentuk, maka semakin tingginya ion H^+ yang dihasilkan sehingga nilai pH akan semakin menurun.

Berdasarkan Tabel 5, pada kombucha teh rerata nilai total gula yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 9,06%, dan hari ke-14 sebesar 6,78%, terjadi

penurunan sebesar 2,29%. Sedangkan pada kombucha salak suwaru rerata nilai total gula yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 10,50%, dan hari ke-14 sebesar 7,76%, terjadi penurunan sebesar 2,31%. Terjadinya penurunan total gula selama proses fermentasi diduga karena adanya aktivitas mikroba, dimana gula dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi oleh khamir dan bakteri. Simbiosis khamir dan bakteri memecah gula (sukrosa) menjadi berbagai senyawa asam organik. Sukrosa dihidrolisis oleh invertase yang dihasilkan khamir menjadi glukosa dan fruktosa. Fruktosa oleh khamir difermentasi menjadi alkohol, sedangkan bakteri asam asetat mengubah alkohol menjadi asam asetat dan mengubah glukosa menjadi asam glukuronat. Menurut Frank (1996); Srihari *et al.*, (2013) gula digunakan sebagai sumber nutrisi oleh tarter kombucha sehingga pada akhir fermentasi dihasilkan alkohol, senyawa fenol, asam-asam organik, dan zat-zat lainnya.

Penurunan total gula selama proses fermentasi bukan hanya disebabkan oleh aktivitas mikroba dalam memetabolisme gula menjadi alkohol, namun juga adanya aktivitas *Acetobacter* yang memetabolisme glukosa menjadi asam glukonat, dan mensintesis pembentukan selulosa (Jayabalen *et al.*, 2014). Selain itu, bakteri *Acetobacter* mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam organik pada waktu yang bersamaan. Proses fermentasi melalui jalur glikolisis akan memecah glukosa untuk menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat mengalami penguraian oleh piruvat dekarboksilase dirombak menjadi aseteldehid, kemudian aseteldehid dirubah oleh alkohol dehidrogenase menjadi etanol dan karbondioksida. Sehingga selama proses fermentasi maka akan terjadi penurunan total gula (Madigan *et al.*, 2002).

Dilihat dari Tabel 5, pada kombucha teh rerata nilai TPT yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 9,90°Brix, dan hari ke-14 sebesar 8,13°Brix, terjadi penurunan sebesar 1,77°Brix. Sedangkan pada kombucha salak suwaru rerata nilai TPT yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 13,93°Brix, dan hari ke-14 sebesar 12,88°Brix, terjadi penurunan sebesar 1,05°Brix. Penurunan total padatan terlarut selama fermentasi diduga karena padatan terlarut yang terdapat dalam kombucha dimanfaatkan oleh mikroba sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya sehingga semakin lama fermentasi nilai total padatan terlarut semakin menurun. Sarfat *et al.*, (2013) menyatakan bahwa penurunan total padatan terlarut menunjukkan bahwa selama fermentasi berlangsung sel bakteri memanfaatkan substrat untuk tumbuh dan memperbanyak sel. Bakteri

Saccromyces cerevisiae memiliki enzim *invertase* yang mampu memecahkan sukrosa menjadi molekul monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa, kemudian enzim *zymase* akan mengubah monosakarida tersebut menjadi etanol dan CO₂ (Azizah *et al.*, 2012). Selain itu, rendahnya total padatan terlarut diduga karena mengendapnya komponen-komponen seperti gula, protein, pektin, pigmen dan mineral akibat dari proses fermentasi. Gula (sukrosa) yang merupakan komponen padatan yang dominan dalam medium akan dimetabolisme oleh mikroba menjadi sumber karbon yang kemudian akan mengalami perubahan menjadi asam-asam organik, semakin banyak jumlah sel mikroba yang memetabolisme sumber karbon maka akan semakin rendah nilai total padatan terlarut yang dihasilkan (Garner *et al.*, 2006).

Berdasarkan Tabel 5, pada kombucha teh rerata total fenol yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 228,15 mg/L GAE, dan hari ke-14 sebesar 400,06 mg/L GAE, terjadi peningkatan sebesar 171,91 mg/L GAE. Sedangkan pada kombucha salak suwaru rerata nilai total fenol yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 281,01 mg/L GAE, dan hari ke-14 sebesar 535,59 mg/L GAE, terjadi peningkatan sebesar 254,56 mg/L GAE. Selain peningkatan terhadap total fenol, peningkatan juga terjadi terhadap total tanin, baik pada kombucha teh maupun kombucha salak suwaru. Pada kombucha teh rerata total tanin yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 530,89 mg/LTAE, dan hari ke-14 sebesar 704,81 mg/LTAE, terjadi peningkatan sebesar 173,98 mg/LTAE. Sedangkan pada kombucha salak suwaru rerata total tanin yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 496,67 mg/LTAE, dan hari ke-14 sebesar 619,00 mg/LTAE, terjadi peningkatan sebesar 122,33 mg/LTAE.

Peningkatan total fenol dan tanin selama fermentasi diduga karena adanya kerja enzim yang dihasilkan oleh mikroba yang memicu degradasi senyawa polifenol kompleks menjadi molekul-molekul kecil yang mampu meningkatkan jumlah total fenol dan tanin. Bhattacharya *et al.* (2013) dan Jayabalan *et al.* (2014) terjadinya peningkatan senyawa antioksidan seperti total fenol dan tanin pada kombucha disebabkan karena adanya pemecahan isomer epicatein selama fermentasi dan kemungkinan adanya pelepasan katekin dari sel mikroba yang sensitif terhadap asam. Selain itu, pengaruh pH terhadap kestabilan senyawa fenol dan peran dari khamir sebagai pemecah polifenol turut mempengaruhi perubahan konsentrasi senyawa fenol selama fermentasi kombucha.

Mekanisme lain dari peningkatan senyawa total fenol selama proses fermentasi kombucha diduga karena adanya biotransformasi oleh mikroba.

Proses biotransformasi oleh mikroba selama fermentasi kombucha diduga mampu menghasilkan berbagai jenis enzim seperti *selulase*, *hemiselulase*, α -*amylase*, *laccase*, β -*glucosidase*, dan *tannin acyl hydrolase*. Enzim-enzim yang dihasilkan tersebut dapat memutuskan berbagai ikatan kompleks antara senyawa fenol dengan struktur jaringan bahan nabati. Pemutusan ikatan kompleks tersebut akhirnya dapat meningkatkan jumlah senyawa fenol, flavonoid dan tanin yang dilepaskan pada proses fermentasi (Martins *et al.*, 2011).

Peningkatan kadar tanin diduga karena terjadinya proses pemecahan terhadap tanin menjadi senyawa *theaflavin*, *thearubigin* dan *thentaquinon* akibat dari proses fermentasi dan adanya peningkatan total asam. Semakin lama fermentasi dilakukan maka kadar tanin pada kombucha semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fulder (2004); Tanjung *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa akibat dari fermentasi, banyak zat-zat yang berguna seperti katekin, vitamin berubah atau meningkat pada saat proses fermentasi kombucha teh hitam.

Dilihat dari Tabel 5, pada kombucha teh rerata total antioksidan yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 79,82, dan hari ke-14 sebesar 89,33, terjadi peningkatan sebesar 9,51%. Sedangkan pada kombucha salak suwaru rerata total antioksidan yang didapatkan yaitu hari ke-0 sebesar 86,38, dan hari ke-14 sebesar 91,73, terjadi peningkatan sebesar 5,35%. Peningkatan aktivitas antioksidan diduga karena adanya senyawa fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi, sehingga semakin tinggi total fenolik yang dihasilkan maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Peningkatan aktivitas antioksidan juga diduga karena selama proses fermentasi berlangsung mikroba kultur seperti bakteri asam asetat dan khamir melakukan proses metabolisme dan mampu menghasilkan enzim *vinyl phenol reductase*. Menurut Kunaipah (2008) enzim *vinyl phenol reductase* dengan enzim *ferulic acid*. Asam sinamat merupakan senyawa fenol yang berperan sebagai antioksidan alami tumbuhan dan asam ferulat adalah turunan dari golongan asam hidroksi sinamat yang memiliki kelimpahan dalam dinding sel tanaman yang berfungsi sebagai senyawa aktif (bersifat antioksidan). Goh *et al.*, (2012) proses metabolisme mikroba mampu meningkatkan senyawa antioksidan karena adanya proses biotransformasi dengan memanfaatkan enzim suatu sel tanaman

untuk meningkatkan aktivitas biologis tertentu. Hal ini sesuai dengan pernyataan Jayabalan *et al.*, (2014), kenaikan senyawa polifenol sebagai antioksidan ini disebabkan oleh proses biotransformasi yaitu proses yang menggunakan enzim pada suatu sel tanaman untuk mengubah kelompok fungsional suatu senyawa kimia yang terdapat didalamnya.

Secara keseluruhan, komposisi kimia yang lebih tinggi terdapat pada kombucha salak suwaru. Hal ini terjadi diduga karena bahan baku yang digunakan yaitu pada buah salak suwaru sendiri telah terdapat beberapa komponen yang lebih tinggi. Adapun total kandungan komponen kimia pada buah salak suwaru diantaranya total tanin 0,27-0,45%, total asam 0,47-0,66%, dan kandungan gula sebesar 31,14-38,10% (Sulusi *et al.*, 1996; Putra, 2011). Sedangkan komponen kimia pada daun teh segar terdiri atas protein 17%, pigmen 1,5%, tanin 25%, kafein 4%, total asam 0,5-2%, kandungan polifenol 1,04-3,03%, dan total gula sebesar 3% (Harler, 1964; Pitojo, 2009). Adanya perbedaan nilai komponen kimia pada kombucha dapat terjadi karena disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya komponen dan jenis bahan baku yang digunakan, suhu dan lama waktu dalam proses fermentasi, jumlah dan jenis mikrobia starter, sumber starter, karbon dan total gula (Chakkravorty *et al.*, 2016).

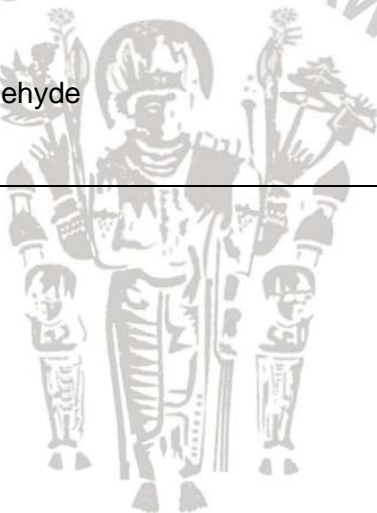
5.1.2. Profil Komponen Bioaktif

Kombucha teh hitam memiliki kandungan senyawa-senyawa bioaktif yang cukup banyak diantaranya polifenol, tanin, flavonoid, catekin, dan kafein (Agustine, 2013). Sedangkan kombucha salak suwaru memiliki kandungan senyawa-senyawa bioaktif baik dari kelompok fenol, tanin, maupun flavonoid (Zubaidah *et al.*, 2017). Analisis lanjutan menggunakan *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GCMS) dilakukan untuk menduga senyawa-senyawa spesifik yang terkandung dalam kombucha. Analisis dengan GC akan memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam kombucha teh hitam dan kombucha salak suwaru berdasarkan perbedaan titik didih. Selanjutnya fraksi-fraksi senyawa tersebut akan dipecah oleh tembakan elektron pada MS untuk mengubah masing-masing senyawa menjadi ion-ion spesifiknya. Spektrum dari ion-ion spesifik suatu senyawa akan membentuk pola khusus yang akan disamakan dengan pola-pola yang terdapat dalam *library MS*.

Pada penelitian ini, kromatogram hasil analisis GCMS untuk kombucha teh hitam menghasilkan 28 puncak senyawa dan kombucha salak suwaru menghasilkan 29 puncak senyawa yang terdeteksi dengan pola-pola spektrum MS (Lampiran 6). Kromatogram GC tersebut menggambarkan banyaknya jenis senyawa yang terdeteksi dalam kombucha. Komposisi senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat dalam kombucha teh hitam dan kombucha salak suwaru diduga karena proses pengolahan dengan fermentasi yang melibatkan banyaknya jenis mikroba yang mampu memecahkan senyawa-senyawa kompleks. Senyawa diduga hasil GCMS pada kombucha teh hitam dapat dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7, sedangkan hasil GCMS kombucha salak suwaru terdapat pada Tabel 8 dan Tabel 9.

Tabel 6. Senyawa Terduga Hasil GC-MS Kombucha Teh Hitam Selama Hari Ke-14

Nama Senyawa	SI
Hexane	86
1-Methyl-2	64
2-Furancarboxaldehyde	93
Glucopyranose	72
Caffeine	90



Tabel 7. Dugaan Beberapa Potensi Fungsi Senyawa Hasil GC-MS Kombucha Teh Selama Fermentasi Hari Ke-14

Peak #	Waktu Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	BM (g/mol)	Luas Area (%)	Potensi Fungsi
6	4,459	Hexane	C ₆ H ₁₄	86,18	3,60	Oxygen scavenger (0,789) Insulin promoter (0,622) Insulysin inhibitor (0,597) Alpha-amylase inhibitor (0,512) Beta-amylase inhibitor (0,465) Nitric oxide scavenger (0,328) Insulin sensitizer (0,149)
10	5,134	Uracil	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	112,09	1,01	Oxygen scavenger (0,706) Insulin promoter (0,547) Insulysin inhibitor (0,314) Alpha-amylase inhibitor (0,228)
14	6,780	2-Furancarboxaldehyde	C ₄ H ₃ OCHO	96,085	0,89	Insulysin inhibitor (0,681) Oxygen scavenger (0,460) Insulin promoter (0,270) Alpha-amylase inhibitor (0,270) Nitric oxide scavenger (0,219) Free radical scavenger (0,187) Beta-amylase inhibitor (0,152) Antioxidan (0,143) Insulin sensitizer (0,117)
24	10,683	Glucopyranose	C ₆ H ₁₂ O ₆	180,156	27,59	Beta-amylase inhibitor (0,946) Alpha-amylase inhibitor (0,861) Antioxidan (0,777) Nitric oxide scavenger (0,266) Oxygen scavenger (0,360)
28	12,798	Caffeine	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,194	0,81	Oxygen scavenger (0,468) Insulysin inhibitor (0,243) Insulin promoter (0,254) Alpha-amylase inhibitor (0,137)

Tabel 8. Senyawa Terduga Hasil GC-MS Kombucha Salak Suwaru Selama Fermentasi Hari Ke-14

Nama Senyawa	SI
Cyclotrisiloxane hexamethyl	74
Benzene, 1,4-Bis Trimethylsilyl	64
4-Methyl-2 Phenylindole	59
1,3-Cyclopentanedione	72
2-Hydroxycyclopent-2-en-1-one	64
N-ethyl-1,3-dithioisindoline	78
2-Furancarboxaldehyde, 5-hydroxymethyl	95

Tabel 9. Dugaan Beberapa Potensi Fungsi Senyawa Hasil GC-MS Kombucha Salak Suwaru Selama Fermentasi Hari Ke-14

# Peak	Waktu Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekol	BM (g/mol)	Luas Area (%)	Potensi Fungsi
1	2,241	Cyclotrisiloxane hexamethyl	$C_6H_{18}O_3Si_3$	222,462	1,62	Oxygen scavenger (0,576) Alpha - amylase inhibitor (0,333) Beta-amylase inhibitor (0,284) Insulin promoter (0,307) Insulysin inhibitor (0,292) Free radical scavenger (0,183)
1	2,241	Benzene, 1,4-BisTrimethylsilyl	$C_{12}H_{22}Si_2$	222,478	1,62	Antioxidan (0,733) Oxygen scavenger (0,530) Insulysin inhibitor (0,259) Alpha - amylase inhibitor (0,283) Beta-amylase inhibitor (0,247) Nitric oxide scavenger (0,246) Insulin promoter (0,274) Insulin sensitizer (0,499)
1	2,241	4-Methyl-2-Phenylindole	$C_{15}H_{13}N$	207,276	1,62	Oxygen scavenger (0,617) Nitric oxide scavenger (0,309) Free radical scavenger (0,290) Antioxidan (0,195) Insulin sensitizer (0,102)
6	3,367	1,3 -Cyclopenta Nedione	$C_5H_6O_2$	98,101	1,68	Oxygen scavenger (0,669) Alpha - amylase inhibitor (0,555) Beta-amylase inhibitor (0,442) Insulin promoter (0,452)
6	3,367	2-Hydroxycyclopent-2-en-1-one	$C_5H_6O_2$	98,101	1,68	Oxygen scavenger (0,669) Insulysin inhibitor (0,557) Beta-amylase inhibitor (0,348) Alpha-amylase inhibitor (0,347) Insulin promoter (0,326)
7	3,968	N-ethyl-1,3-dithioisindoline	$C_{10}H_{13}NS_2$	211,341	1,44	Nitric oxide scavenger (0,306) Antioxidan (0,295) Free radical scavenger (0,278) Insulysin inhibitor (0,679) Oxygen scavenger (0,579) Alpha - amylase inhibitor (0,436) Beta-amylase inhibitor (0,376) Insulin promoter (0,391)
17	6,762	2-Furan-carboxaldehyde, 5-hydroxymethyl	$C_{12}H_{10}N_4O_6$	306,234	12,25	Alpha - amylase inhibitor (0,263) Free radical scavenger (0,290) Antioxidan (0,133) Oxygen scavenger (0,579) Nitric oxide scavenger (0,309) Antioxidan (0,228)

Hasil analisis GCMS, pada kombucha teh hitam dan kombucha salak suwaru terdapat 28 dan 29 puncak senyawa yang berhasil diidentifikasi, namun identifikasi lanjutan menghasilkan data yang kurang memuaskan. Kebanyakan puncak tersebut memiliki *index similarity* (SI) yang rendah ketika dicocokkan dengan *library* yang ada pada peralatan yang digunakan. Hanya terdapat 6 senyawa untuk kombucha teh hitam dan 7 senyawa untuk kombucha salak suwaru yang memiliki SI lebih dari 60%. Kajian lebih lanjut diperlukan untuk meningkatkan akurasi analisis produk.

Berdasarkan Tabel 7 dan Tabel 9 memperlihatkan korelasi antara peningkatan aktivitas antioksidan pada kombucha teh hitam dan kombucha salak suwaru dengan sifat-sifat fungsional yang berpotensi terdapat pada senyawa-senyawa hasil analisa GCMS. Beberapa mekanisme kerja senyawa-senyawa hasil GCMS yang berfungsi sebagai antioksidan diantaranya *nitric oxide scavenger*, *oxigen scavenger* dan *free radical scavenger*. Sifat-sifat dari senyawa hasil GCMS dapat diduga dengan bantuan *database online Pass Online* (program Pharmaexpert dan program Pubchem).

5.2. Pengujian Efektivitas Kombucha Sebagai Agen Terapi Diabetes Melitus Secara *In Vivo*

5.2.1. Pembuatan Model Hewan Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi ketika pankreas tidak menghasilkan insulin yang cukup, atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan. DM yang tidak terkontrol dari waktu ke waktu menyebabkan kerusakan serius pada banyak sistem tubuh, salah satunya ditandai dengan terjadinya hiperglikemia, atau gula darah yang meningkat (Suiraoaka, 2012). Pada penelitian ini, dilakukan pembuatan model hewan DM dengan menginduksikan Streptozotokin. Perubahan kadar GDP sebelum dan setelah tiga hari induksi STZ dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Perubahan Kadar Glukosa Darah Puasa Akibat Pengaruh Induksi STZ pada Tikus Percobaan

Perlakuan	Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dL)			
	Sebelum Induksi STZ		3 Hari setelah Induksi STZ	
Perlakuan 0	107,25	± 13,07	a	119,50 ± 8,96 a
Perlakuan 1	109,75	± 7,80	a	463,75 ± 36,61 b
Perlakuan 2	104,50	± 16,34	a	473,75 ± 58,74 b
Perlakuan 3	104,50	± 10,72	a	453,00 ± 12,99 b
Perlakuan 4	101,75	± 9,50	a	417,25 ± 59,32 b
BNT 5%	17,88			62,35

Keterangan: Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara data dalam kolom yang sama pada $p < 0,05$. Perlakuan 0 = Normal, Perlakuan 1 = DM, Perlakuan 2 = DM + Kombucha Teh Hitam 5 ml/kg BB, Perlakuan 3 = DM + Kombucha Salak Suwaru 5 ml/kg BB, dan Perlakuan 4 = DM + Metformin 45 mg/kg BB

Berdasarkan Tabel 10 terlihat bahwa pada saat sebelum induksi STZ, kadar GDP pada kelompok P1-P4 tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan kelompok P0. Setelah tiga hari diinduksi STZ pada kelompok P1-P4, terjadi kenaikan kadar GDP dan tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan. Namun kenaikan kadar GDP tersebut memberikan perbedaan yang nyata pada kelompok P1-P4 dengan kelompok P0 (normal). Nilai rata-rata kadar GDP pada kelompok P1-P4 yaitu 451.93 mg/dl, dengan rerata nilai tersebut dapat dinyatakan sebagai kondisi diabetes melitus karena diketahui bahwa kriteria kondisi diabetes mellitus adalah apabila kadar GDP ≥ 200 mg/dl (ADA, 2015). Dengan demikian, tikus pada kelompok P1-P4 dapat digunakan untuk penelitian sebagai hewan diabetes melitus dan hari ke-3 setelah induksi STZ dinyatakan sebagai perlakuan hari ke-0.

Mekanisme STZ dapat menyebabkan kadar glukosa darah puasa meningkat yaitu akibat terjadinya degradasi dari pulau langerhans sel beta pankreas. Zat streptozotocin masuk ke dalam sel beta pankreas melalui glucose transporter GLUT 2, kemudian senyawa nitrosamide dari streptozotocin (methylnitrosourea) yang berperan sebagai toksik menyebabkan alkilasi DNA, kemudian DNA mengalami fragmentasi yang mengakibatkan terjadinya kerusakan DNA. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian terjadi penekanan NAD⁺ seluler, selanjutnya terjadi penurunan jumlah ATP, dan akhirnya proses sekresi dan sintesis insulin menjadi terhambat (Szkudelski, 2012).

5.2.2. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Percobaan

Berdasarkan Tabel 11, kadar GDP dengan kelompok tikus P1, P2, P3, dan P4, pada hari ke-0 secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa kadar GDP awal seluruh kelompok model tikus DM telah seragam. Namun pada kelompok tikus normal (P0) kadar GDP menunjukkan perbedaan yang nyata dari keempat kelompok tikus P1, P2, P3, dan P4.

Pada masa akhir perlakuan yaitu hari ke-28, kadar GDP pada kelompok P2-P4 memberikan perbedaan nyata terhadap kelompok DM (P1). Kadar GDP akhir pada kelompok pemberian kombucha salak suwaru (P3) dan kelompok pemberian metformin (P4) tidak berbeda nyata dengan kadar GDP kelompok normal (P0). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok pemberian kombucha salak suwaru (P3) dan kelompok pemberian metformin (P4) memiliki kadar GDP sama dengan normal. Grafik perubahan kadar GDP pada kelima kelompok perlakuan P0-P4 tersebut dapat dilihat pada Gambar 12.

Tabel 11. Data Perubahan Kadar GDP Tikus Percobaan

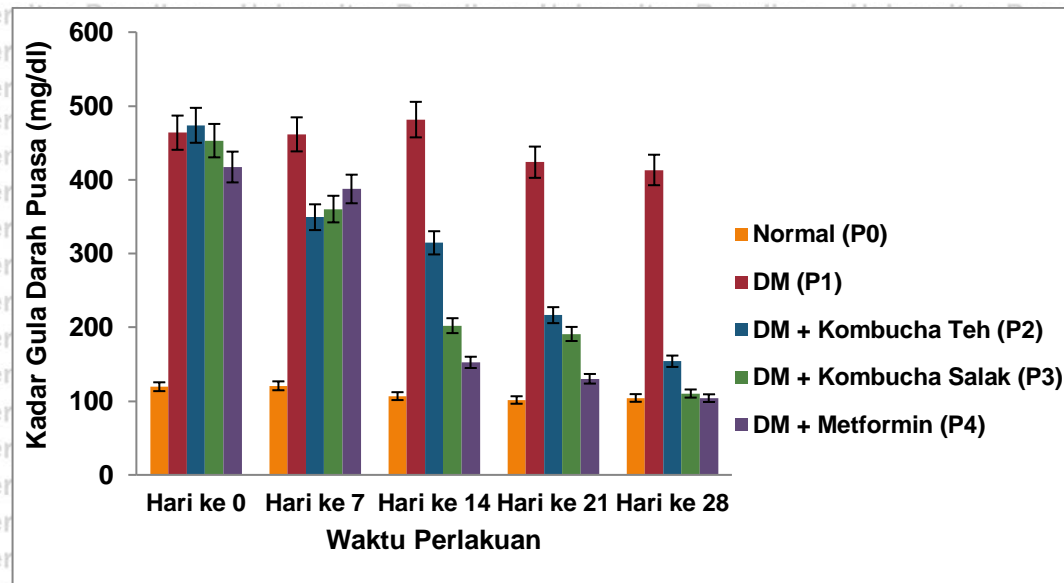
Perlakuan	Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dL) Hari ke-					Perubahan (%)
	0	7	14	21	28	
Normal (P0)	119,50 ± 8,96 a	120,75 ± 29,16 a	106,75 ± 11,18 a	101,50 ± 8,06 a	104,25 ± 3,40 a	12,76
DM (P1)	463,75 ± 36,61 b	461,5 ± 35,75 b	481,5 ± 24,80 c	423,75 ± 35,37 c	413,25 ± 8,30 c	10,88
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	473,75 ± 58,74 b	349,25 ± 57,05 c	314,5 ± 26,89 bc	216,50 ± 81,81 bc	154,00 ± 54,42 b	67,49
DM + Kombucha Salak Suwaru (P3)	453,00 ± 12,99 b	360,25 ± 38,37 c	202,25 ± 31,64 b	191,00 ± 36,03 ab	110,25 ± 2,87 a	75,66
DM + Metformin (P4)	417,25 ± 59,32 b	387,5 ± 69,91 c	152,5 ± 40,81 b	130,25 ± 41,00 ab	104,00 ± 3,56 a	75,07
BNT 5%	62,35	73,03	43,31	70,65	37,30	

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara data dalam kolom yang sama pada $p < 0,05$.

Tabel 12. Data Perubahan Berat Badan Tikus Percobaan

Perlakuan	Berat Badan (g) Hari ke-					Perubahan (%)
	0	7	14	21	28	
Normal (P0)	212,50 ± 31,16 a	222,00 ± 27,84 a	239,25 ± 30,64 a	251,75 ± 36,17 a	257,75 ± 38,9 a	-21,29
DM (P1)	205,25 ± 15,52 a	193,50 ± 14,20 ab	187,25 ± 13,50 b	174,50 ± 19,47 c	167,25 ± 12,31 c	18,51
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	193,00 ± 15,03 a	199,00 ± 8,16 ab	191,50 ± 8,96 b	188,25 ± 7,23 bc	178,75 ± 12,28 bc	7,38
DM + Kombucha Salak Suwaru (P3)	208,25 ± 13,72 a	203,00 ± 14,09 ab	208,50 ± 31,89 ab	219,75 ± 38,08 ab	225,00 ± 42,56 ab	-8,04
DM + Metformin (P4)	208,25 ± 11,65 a	181,25 ± 28,28 b	176,25 ± 24,45 b	179,50 ± 33,43 bc	190,25 ± 41,35 bc	8,64
BNT 5%	27,36	30,45	35,76	44,23	49,23	

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antara data dalam kolom yang samapada $p < 0,05$.



Gambar 12 . Grafik Perubahan kadar GDP Tikus Selama Perlakuan

Berdasarkan Gambar 12, menunjukkan bahwa kadar glukosa darah puasa (GDP) pada kelompok perlakuan dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3) dan metformin (P4) mengalami penurunan selama 28 hari percobaan, sedangkan pada kelompok DM (P1) tidak mengalami penurunan. Tingginya kadar glukosa darah pada kelompok DM (P1) disebabkan karena adanya efek dari induksi streptozotocin yang diberikan. Mekanisme intraseluler dari streptozotocin (STZ) yaitu dapat menyebabkan degradasi dari pulau langerhans sel beta pankreas. Zat streptozotocin masuk ke dalam sel beta pankreas melalui *glucose transporter* GLUT 2, kemudian senyawa *nitrosamide* dari streptozotocin (*methylnitrosourea*) yang berperan sebagai toksik menyebabkan alkilasi DNA, kemudian DNA mengalami fragmentasi yang mengakibatkan terjadinya kerusakan DNA. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian terjadi penekanan NAD⁺ seluler, selanjutnya terjadi penurunan jumlah ATP, dan akhirnya proses sekresi dan sintesis insulin menjadi terhambat (Szkudelski, 2012).

Pada kelompok DM dengan pemberian metformin (P4) memiliki kadar GDP yang tidak berbeda nyata dengan kelompok normal (P0). Metformin merupakan obat yang dapat mengontrol kadar gula darah (antidiabetes). Metformin menurunkan kadar gula darah dengan cara memperbaiki sensitivitas hepar dan jaringan perifer terhadap insulin tanpa mempengaruhi sekresi insulin serta meningkatkan pemakaian glukosa di jaringan perifer sehingga dapat menurunkan resistensi insulin (Karam, 1998; Iida *et al.*, 2003).

Mekanisme metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah juga dilakukan dengan cara mengurangi produksi glukosa dihati dan meningkatkan kerja insulin di otot serta lemak. Metformin dapat menurunkan kadar glukosa darah karena adanya enzim *adenosin-monophosphateactivated- protein kinase* (AMPK) yang dapat memperbaiki metabolisme glukosa dan lemak di dalam sel hati. Enzim AMPK akan diaktifkan oleh adenosin monofosfat (AMP) yang terbentuk dari proses pemecahan adenosin trifosfat (ATP) menjadi adenosin monofosfat (AMP) pada siklus pembentukan energi di dalam mitokondria, kemudian enzim AMPK akan menghambat enzim *asetil-koenzime A carboxylase*, yang akan menyebabkan peningkatan oksidasi asam lemak dan menekan ekspresi enzim-enzim yang berperan pada lipogenesis (Zhou *et al.*, (2001); DEXA, (2008). Selain itu, enzim AMPK akan menurunkan *expresi sterol regulatory element-binding protein-1*(SREBP-1) dan *transcription factor* yang berperan terhadap patogenesis resistensi insulin, dislipidemia, dan steatosis hati (perlemakan). Beberapa mekanisme lain dari metformin dalam menurunkan glukosa darah antara lain meningkatkan *glucose transporter (GLUT)* dalam sel dan aktivasi AMP (*activated protein-kinase*). Menurunkan resistensi respon insulin dan meningkatkan fisiologi membran sel (Glunton *et al.*, 2003).

Secara umum kombucha teh dapat digunakan sebagai agen terapi diabetes melitus. Berbagai pengujian secara *in vivo* telah membuktikan efek positif dari kombucha teh terhadap menyembuhkan penyakit DM. Aloulou *et al.*, (2012) pengujian *in vivo* pada tikus wistar yang diinduksi aloksan menunjukkan bahwa kombucha teh mampu memberikan efek inhibitor terhadap aktivitas plasma dan pankreatik alfa amilase sehingga mampu memperbaiki fungsi hati dan pankreas serta menekan peningkatan level glukosa darah tikus DM. Sedangkan menurut Srihari *et al.*, (2013) pemberian kombucha teh pada tikus DM terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah dan mampu memproduksi insulin. Fungsi insulin terhadap DM adalah menurunkan kadar glukosa darah ke kondisi normal. Mekanisme penurunan tersebut antara lain adalah dengan mengubah glukosa ke bentuk glikogen untuk disimpan dalam hati dan otot, mengubah glukosa menjadi lemak untuk disimpan dalam jaringan adiposa, dan meningkatkan penyerapan glukosa oleh sel-sel tubuh.

Pada penelitian ini, pemberian kombucha teh hitam dan kombucha salak suwaru selama 28 hari mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa (GDP) terhadap tikus percobaan. Namun kelompok DM dengan pemberian kombucha

teah hitam (P2) memiliki kadar GDP yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3). Pada kelompok DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar glukosa darah sama dengan normal. Hal ini terjadi diduga karena kombucha salak suwaru memiliki aktivitas antioksidan, total fenol dan tanin yang lebih tinggi serta komponen bioaktif (Tabel 9). Aktivitas antioksidan, total fenol dan tanin yang didapatkan pada kombucha salak suwaru yaitu 91,73%, 535.59 mg/L GAE, dan 619,00 mg/L TAE (Tabel 5). Penelitian mengenai efek terapi DM dengan kombucha salak secara *in vivo* telah dilaksanakan (Zubaidah *et al.*, 2017) dan menyatakan bahwa terapi kombucha salak suwaru mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa (GDP) pada tikus DM yang disebabkan karena adanya kombinasi antara senyawa komponen bioaktif seperti antioksidan, fenol, tanin dan flavonoid dengan beberapa asam organik lainnya (asam sitrat, asam laktat, asam asetat dan asam butirat).

Antioksidan yang terkandung pada kombucha salak suwaru dapat menghambat terjadinya stress oksidatif pada penderita DM dengan cara mendonorkan elektronnya pada radikal bebas. Pemberian antioksidan mampu meningkatkan massa sel beta pankreas dan menjaga kandungan insulin didalamnya. Senyawa antioksidan mampu memberikan efek perlindungan dan perbaikan pada sel-sel beta pankreas yang rusak akibat induksi STZ. Perbaikan kondisi sel beta pankreas mampu meningkatkan sekresi insulin dan pada akhirnya dengan perbaikan sekresi insulin akan mampu menormalkan kadar glukosa darah (Kaneto *et al.* 1999; Srihari *et al.*, 2013).

Mekanisme senyawa fenol dalam menurunkan kadar glukosa yaitu dengan cara mencegah terjadinya reaksi berantai perubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan mendonorkan atom hidrogen dari kelompok aromatik hidroksil (-OH) fenol untuk mengikat radikal bebas. Selain senyawa fenol, senyawa flavonoid juga dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menghambat penyerapan glukosa di usus halus kemudian menurunkan aktivitas penghantar glukosa, seperti *sodium-glucose transport protein 1* (GLUT1), *glucose transporter 5* (GLUT 5) maupun *glucose transporter 2* (GLUT 2). Kondisi ini dapat membuat glukosa yang masuk ke dalam aliran darah lebih sedikit. SGLT 1, GLUT 5 dan GLUT 2 berperan sebagai transpor aktif yang memfasilitasi penyerapan glukosa di usus halus (Kwon *et al.*, 2007).

Mekanisme tanin dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan menginduksi fosforilasi reseptor insulin sehingga menstimulus aktivitas transporter glukosa yaitu *glukose transporter 4* (GGLUT 4) yang terdapat pada membran sel. GLUT-4 merupakan transpor aktif yang bekerja memasukkan glukosa dari ekstra ke intrasel terutama pada sel otot dan hati. GLUT-4 dapat mempercepat transpor glukosa masuk ke dalam sel sehingga menurunkan kadar glukosa dalam darah. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai *astringent* atau yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan yang kemudian menyebabkan terjadinya penghambatan asupan glukosa dan laju peningkatan glukosa darah menjadi berkurang (Liu *et al.*, 2005)

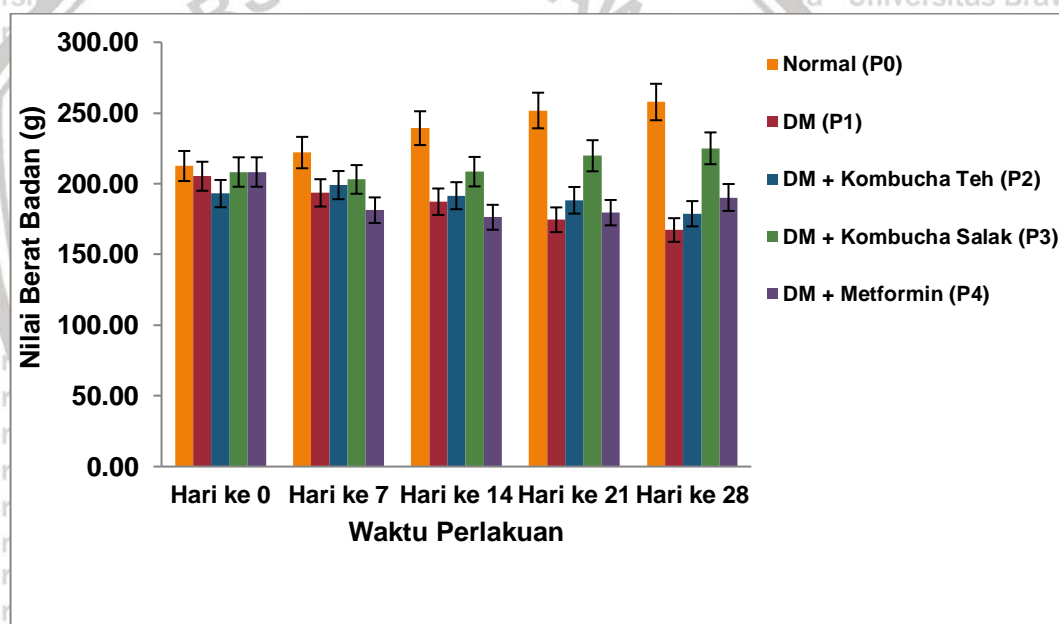
Pendugaan potensi fungsi senyawa-senyawa hasil pendugaan GCMS menunjukkan beberapa fungsi terkait regulasi kadar glukosa darah. Adapun senyawa-senyawa hasil pendugaan GCMS yang berfungsi mampu meningkatkan sekresi insulin, diantaranya *insulin promoter* dan *insulin secretagogues* (Tabel 9). *Insulin promoter* merupakan bagian yang terlibat dalam perkembangan pankreas, salah satunya dalam proses pematangan sel beta (Jonsson *et al.*, 1994). Peran ini di duga akan bersinergi dengan peran antioksidan dalam meregenerasi kerusakan sel beta pankreas akibat induksi STZ. Proses regenerasi sel selanjutnya akan berdampak pada perbaikan sekresi insulin dan terjadi peningkatan ketersediaan insulin yang mampu menekan kadar glukosa darah yang terlalu tinggi. Terlebih, senyawa-senyawa dalam kombucha salak suwaru juga berpotensi sebagai *insulin secretagogues*, yaitu kemampuan untuk merangsang sekresi insulin dari sel beta pankreas (Jahnson dan de Meija, 2016).

5.2.3. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Berat Badan Tikus Percobaan

Penimbangan berat badan pada kelima kelompok P0-P4 dilakukan pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28. Berdasarkan pada Tabel 12, terlihat adanya variasi berat badan antar kelompok perlakuan pada hari ke-0, namun secara statistik tidak ada perbedaan yang nyata. Hal ini menunjukkan bahwa berat badan tikus percobaan seluruh kelompok telah seragam pada hari ke-0. Penurunan berat badan merupakan salah satu ciri dari diabetes melitus, dimana tubuh cenderung memperoleh energi dari proses pemecahan lemak (Morshedi, *et al.*, 2010). Hal ini dapat terlihat pada kelompok DM (P1) yang mengalami penurunan berat

badan sebesar 38,00% selama 28 hari perlakuan. Namun sebaliknya, pada kelompok normal (P0) menunjukkan peningkatan berat badan yaitu sebesar 45,25%.

Pada kelompok DM dengan pemberian kombucha teh (P2) dan pemberian metformin (P4) selama 28 hari tidak memberikan pengaruh positif dalam menaikkan berat badan tikus percobaan. Penurunan berat badan yang dialami pada kelompok P2 dan P4, yaitu berturut-turut sebesar 14,25% dan 18,00%. Sedangkan pada kelompok DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3), mampu memberikan pengaruh peningkatan berat badan yaitu sebesar 16,75%. Selain itu pada kelompok P3 yang secara statistik menunjukkan perbedaan berat badan secara nyata terhadap kelompok DM (P1) pada hari ke-28 (Tabel 12). Grafik perubahan berat badan dari kelima kelompok tikus percobaan dapat pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik Perubahan Berat Badan Tikus Selama Perlakuan

Hiperglikemia dapat ditandai dengan defisiensi insulin yang dapat disebabkan oleh proses autoimun, kerja pankreas yang berlebih, dan hereditas. Kekurangan atau ketidakhadiran insulin menyebabkan GLUT-4 tidak aktif mengakibatkan glukosa sedikit yang masuk ke dalam sel. Hal itu bisa menyebabkan lemas dengan kadar glukosa dalam darah meningkat. Kompensasi tubuh dengan meningkatkan glucagon sehingga terjadi proses glukoneogenesis. Selain itu tubuh akan menurunkan penggunaan glukosa oleh

otot, lemak dan hati serta peningkatan produksi glukosa oleh hati dengan pemecahan lemak. Hiperglikemia dapat meningkatkan jumlah urin yang mengakibatkan dehidrasi sehingga tubuh akan meningkatkan rasa haus (polydipsi). Penggunaan lemak untuk menghasilkan glukosa memproduksi badan keton yang dapat mengakibatkan anorexia (tidak nafsu makan), Diabetes ditandai dengan ketidakmampuan tubuh menggunakan gula darah sebagai sumber energi sehingga energi diperoleh dari jalur lain berupa pemecahan lemak. Akibatnya, penderita DM cenderung mengalami penurunan berat badan. Penurunan berat badan pada penderita DM juga dapat disebabkan karena pemecahan protein (Corwin, 2000; Srihari *et al.*, 2013).

Penurunan berat badan pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2) dan pemberian metformin (P4) diduga karena adanya efek yang tidak seragam pada parameter berat badan awal pada kelompok-kelompok tikus perlakuan. Perbedaan kondisi fisiologi seperti nafsu makan dan aktivitas tikus percobaan yang berada diluar kontrol diduga menyebabkan variasi hasil dari berat badan. Namun peningkatan berat badan teramati pada kelompok tikus dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3). Hal ini diduga terjadi karena aktivitas antioksidan yang mampu meningkatkan produksi insulin. Peningkatan sensitivitas insulin menyebabkan GLUT-4 mampu taraktivasi sehingga glukosa darah dapat diserap oleh sel-sel jaringan perifer dan selanjutnya sel akan menggunakan glukosa sebagai sumber energi serta dapat mengubah kelebihan glukosa menjadi glikogen. Selain adanya aktivitas antioksidan peningkatan berat badan juga dapat dipengaruhi karena adanya senyawa flavonoid yang berperan dalam merangsang lipogenesis dan pengangkutan glukosa pada adiposit tikus. Senyawa flavonoid memiliki potensi terapeutik dalam pengelolaan DM dengan merangsang serapan glukosa, tanpa adanya reseptor insulin berfungsi penuhnya (Morshedi *et al.*, 2010).

5.2.4. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar *Superoksida Dismutase* (SOD) Tikus Percobaan.

Superoksida Dismutase (SOD) merupakan antioksidan enzimatik yang berperan pada proses degradasi radikal bebas jenis superoksida. SOD mengkatalis reaksi reduksi anion superoksida dan mengkonversinya menjadi oksigen serta hidrogen peroksida (Halliwell, 1999). Kadar SOD serum darah

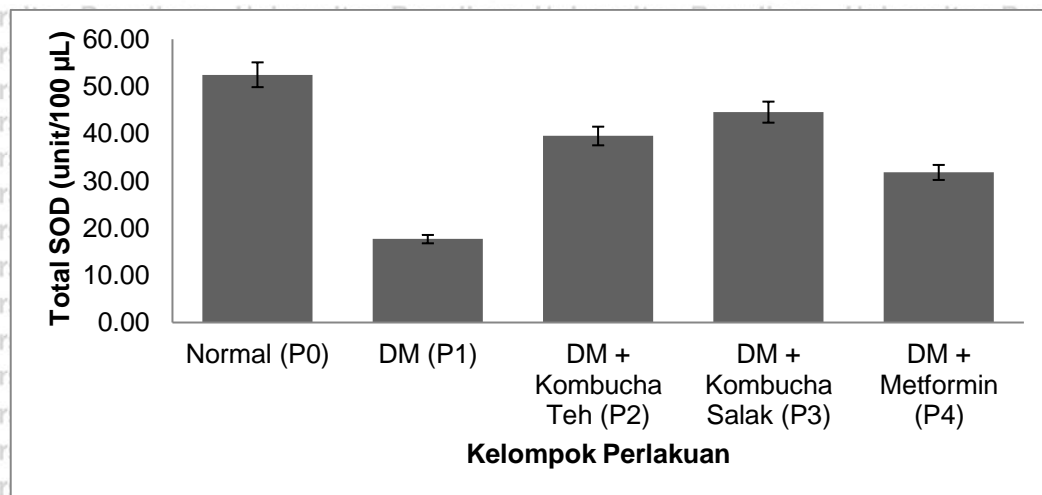
tikus seluruh kelompok dianalisa pada akhir perlakuan yakni hari ke-28. Data hasil analisis kadar SOD dari kelima kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Kadar Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) Tikus Percobaan

Perlakuan	SOD (unit/100 μ L)	BNT 5%
Normal (P1)	52,47 \pm 2,23	a
DM (P1)	17,66 \pm 4,79	d
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	39,50 \pm 11,71	b
DM + K ombucha Salak Suwaru (P3)	44,55 \pm 5,98	b
DM + Metformin (P4)	31,78 \pm 3,79	c

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar data pada $p < 0,05$.

Berdasarkan Tabel 13, terdapat perbedaan kadar SOD dari masing-masing kelompok perlakuan. Kadar SOD tertinggi ditunjukkan pada kelompok normal (P0) yaitu 52,57 unit/100 μ L, berbeda nyata dengan kadar SOD terendah yang terlihat pada kelompok DM (P1) yaitu sebesar 17,66 unit/100 μ L. Terlihat bahwa pada seluruh kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) memiliki kadar SOD berbeda nyata terhadap kelompok tikus DM (P1). Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2) dan kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar SOD yang nilainya tidak berbeda nyata. Apabila nilai tersebut dibandingkan dengan kelompok tikus normal terlihat bahwa kadar SOD keduanya (P2 dan P3) memiliki nilai yang mendekati kelompok tikus normal (P0). Berikut Grafik perbandingan kadar SOD seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Grafik Perbandingan Kadar SOD Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan Gambar 14, dapat terlihat bahwa pada kelompok tikus DM memiliki nilai kadar SOD yang paling rendah. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa radikal bebas akibat induksi STZ yang diberikan. Rendahnya kadar SOD disebabkan oleh tingginya peroksidasi lipid yang secara tidak langsung menunjukkan tingginya paparan radikan bebas terhadap kelompok tikus DM sehingga menyebabkan beban yang berat bagi kerja SOD.

Kondisi DM mengakibatkan terjadinya peningkatan senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS), sehingga Superoksida Dismutase (SOD) sebagai salah satu antioksidan endogen tubuh diperlukan untuk menetralkan radikal bebas tersebut. Akibat jumlah ROS yang berlebihan, maka SOD tidak mampu menetralsir ROS yang terbentuk sehingga jumlah semakin meningkat didalam sel (Kurniawan, 2010). Selain itu, DM juga dapat menyebabkan terjadinya autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat terbentuknya senyawa oksigen reaktif. Oksigen reaktif menyebabkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada bagian jaringan. Modifikasi molekuler pada bagian jaringan tersebut menyebabkan ketidak seimbangan antara antioksidan protektif dengan produksi radikal bebas yang meningkat. Hal inilah yang merupakan penyebab terjadinya kerusakan oksidatif (stress oksidatif) dan penurunan kadar SOD (Murray *et al.*, 2006).

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru, dan metformin (P2, P3 dan P4) memiliki kadar SOD yang lebih tinggi dibandingkan dengan tikus kelompok DM (P1). Terlihat pada ketiga perlakuan tersebut, kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh

hitam (P2) dan kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar SOD yang tidak berbeda nyata dan terjadi peningkatan dengan total nilai rerata secara berturut-turut adalah 39,50 dan 44,55 unit/100 μ L.

Peningkatan kadar SOD yang terjadi pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2) dan kombucha salak suwaru (P3), diduga karena adanya aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan dapat membantu menetralkan senyawa radikal bebas dan mencegah adanya kerusakan seluler, sehingga peroksidasi lipid dapat dihindarkan. Keberadaan antioksidan dalam kombucha tersebut akan berkontribusi terhadap kesetimbangan oksidatif dalam tubuh. Menurut Jayabalan *et al.*, (2014), bahwa fermentasi pada kombucha teh mampu meningkatkan kemampuan menangkal radikal bebas superoksida yang diduga karena peran SCOBY dalam memodifikasi komponen antioksidan selama proses fermentasi.

Selain itu, adanya senyawa fenol yang terdapat dalam kombucha teh hitam dan kombucha salak merupakan senyawa yang memiliki kapasitas sebagai antioksidan. Mekanisme antioksidan senyawa fenol telah terbukti berkorelasi kuat dalam melawan berbagai penyakit degeneratif. Kemampuan senyawa fenol sebagai antioksidan didukung oleh kemampuan menyumbang elektron atau atom hidrogen dari gugus $-OH$. Setelah menyumbangkan elektronnya, senyawa fenol sendiri akan mengalami ketidakstabilan, namun mampu dinetralkan melalui resonansi elektron oleh cincin benzena. Mekanisme pendonoran elektron tersebut adalah mekanisme antioksidan primer yang serupa dengan kerja enzim SOD yang juga bertindak sebagai antioksidan primer endogenous (Zhang dan Tsao, 2016).

5.2.5. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Malonaldehid (MDA) Tikus Percobaan.

Malonaldehid (MDA) adalah produk akhir dari oksidasi lipid yang bersifat toksik terhadap sel dan merupakan senyawa dialdehid yang memiliki tiga rantai karbon serta memiliki berat molekul (BM) rendah. MDA merupakan senyawa berbentuk kristal putih yang higroskopis diperoleh dari hidrolisis asam 1,1,3,3 *tetraethoxypropane*. Kadar MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator stres oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus sebagai indikator keberadaan radikal bebas (Denise *et al.*, 2009). Kadar MDA serum darah tikus seluruh

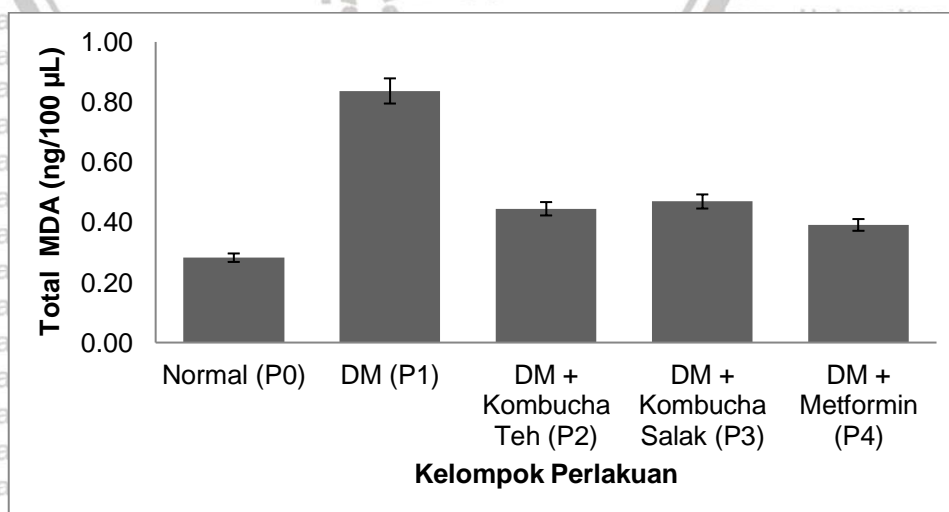
kelompok dianalisa pada akhir perlakuan yakni hari ke-28. Data hasil analisis kadar MDA dari kelima kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Kadar Malanaldehid (MDA) Tikus Percobaan

Perlakuan	MDA (ng/100 μ L)	BNT 5%
Normal (P1)	0,28 \pm 0,03 d	
DM (P1)	0,83 \pm 0,02 a	
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	0,44 \pm 0,02 bc	0,03
DM + K ombucha Salak Suwaru (P3)	0,46 \pm 0,02 bc	
DM + Metformin (P4)	0,39 \pm 0,02 c	

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar data pada $p < 0,05$.

Berdasarkan Tabel 14, terlihat bahwa perbedaan antar kelompok perlakuan. Kadar MDA terendah ditunjukkan pada kelompok perlakuan normal (P0) yaitu sebesar 0,28 ng/100 μ L, berbeda nyata dengan kadar SOD tertinggi yang terlihat pada kelompok tikus DM (P1) yaitu sebesar 0,83 ng/100 μ L. Terlihat bahwa pada seluruh kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) memiliki kadar MDA berbeda nyata terhadap kelompok tikus DM (P1). Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3) dan metformin (P4) memiliki kadar MDA yang nilainya tidak berbeda nyata. Namun apabila nilai dibandingkan dengan kelompok tikus normal, terlihat bahwa kadar MDA pada ketiga kelompok tikus tersebut memiliki nilai yang mendekati kelompok tikus normal (P0). Berikut Grafik perbandingan kadar MDA seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik Perbandingan Kadar MDA Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan Gambar 15, dapat terlihat bahwa pada kelompok tikus DM (P1) menunjukkan nilai kadar MDA tertinggi yang mengindikasikan terjadinya stres oksidatif akibat tingginya paparan radikal bebas yang dikarenakan akibat induksi STZ pada awal perlakuan ataupun karena efek lanjut dari hiperglikemia yang berupa autooksidasi glukosa. Stres oksidatif yang terjadi pada kelompok tikus DM (P1) dapat terjadi melalui pengaktifan beberapa jalur, diantaranya pembentukan *advanced glycation end-products* (AGEs), dan PKC β 1/2. Kondisi hiperglikemia dapat menginduksi stres oksidatif dengan beberapa mekanisme seperti autooksidasi glukosa, jalur poliol, pembentukan AGE dan PKC β 1/2 kinase (Tangvarasittichal, 2015). Tahap pembentukan MDA selanjutnya setelah terjadinya stress oksidatif yaitu dengan melalui proses non-enzimatik dengan *bicyclic endoperoxidase* yang diproduksi melalui peroksidasi lipid (Ayala, 2014).

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian metformin (P4) memiliki kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus DM (P1). Penurunan kadar MDA terjadi karena metformin dapat menaikkan aktivasi jalur *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK), yaitu suatu enzim pada otot dan hati. Mekanisme aktivasi jalur *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) juga merupakan mekanisme perbaikan kondisi stres oksidatif. Aktivasi jalur AMPK dapat menghambat jalur glukoneogenesis di hati, sehingga menaikkan sintesis Glut 4. Glut 4 merupakan protein yang berperan sebagai transporter di otot, yang memainkan peran penting dalam mengontrol hiperglikemia. Perbaikan kondisi hiperglikemia selanjutnya akan memperbaiki kondisi stres oksidatif yang menyebabkan penurunan kadar MDA dan dapat meningkatkan proliferasi pada kultur sel β pankreas (Andaloussi *et al.* (2011).

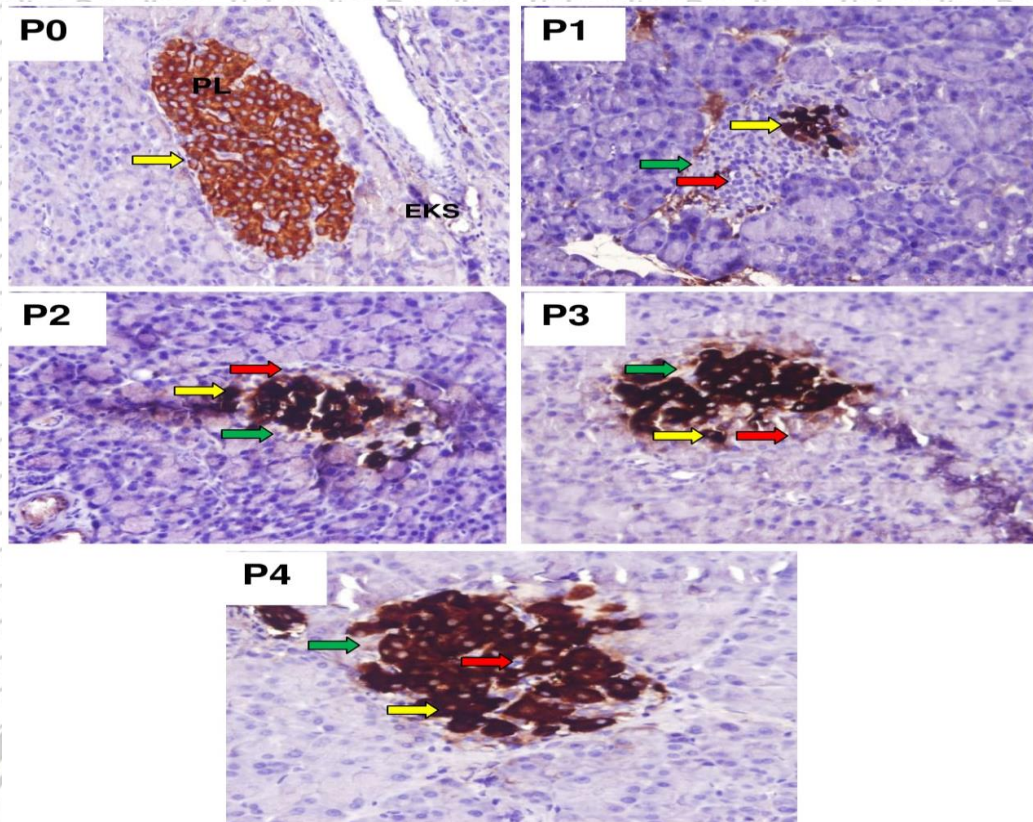
Penurunan kada MDA juga dapat terjadi pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2) dan kombucha salak suwaru (P3) selama 28 hari. Hal ini diduga karena adanya senyawa yang berperan dalam menghambat reaksi oksidasi seperti senyawa antioksidan, flavonoid dan polifenol. Antioksidan dapat membantu menetralkan senyawa radikal bebas dan mencegah adanya kerusakan seluler, sehingga peroksidasi lipid dapat dihindarkan dan dapat juga dalam mencegah kenaikan kadar MDA di dalam tubuh. Penurunan kadar MDA juga terjadi saat senyawa-senyawa antioksidan terutama dari golongan terpen menghambat aktivitas dari *Tumor Necrosis Factor*




alpha (TNF- α). TNF- α merupakan sitokin proinflamatori yang berperan penting dalam inisiasi kerusakan hati. Peningkatan TNF- α menstimulasi reseptor TNF- α di permukaan membran sel, yang mengaktifasi stres dan mengurangi sensitivitas insulin yang kemudian menaikkan MDA (Li, *et al.*, 2015). Sedangkan flavonoid berperan sebagai penampung radikal hidroksil dan superoksida sehingga asam lemak tak jenuh terlindungi melalui mekanisme scavenger radikal-oksigen (Budak, 2014). Selain itu, senyawa fenol juga dapat menghambat proses inisiasi, dan propagasi pada proses oksidasi pembentukan radikal bebas. Senyawa fenol mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (*radical scavenging*) dengan cara memberikan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan (Bhatti *et al.*, 2013).

5.2.6. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Hispatologi Pankreas Tikus Percobaan.

Pewarnaan imunohistokimia (IHK) merupakan proses visualisasi terhadap suatu target tertentu, yang dalam hal ini yaitu insulin. Insulin sebagai antigen akan diikat dengan anti insulin yang diinkubasi dalam jaringan pankreas. Anti insulin kemudian diikat dengan antibodi sekunder yang akan diikat kembali dengan *trekavidin-hrp label* untuk meningkatkan sensitifitas analisis. Kemudian kromagen *diamino benzidine* (DAB) digunakan untuk memvisualisasi keberadaan insulin. Posisi insulin dalam sel yaitu granula di sitoplasma sehingga sel yang mengandung insulin akan memberikan warna sitoplasma yang coklat. Untuk *counterstain*, inti sel diwarnai dengan *mayers haematoxililn* yang memberikan warna ungu kebiruan. Dengan proses pewarnaan, intensitas warna akan teramati secara langsung menggambarkan produktivitas insulin dari suatu pulau langerhans pada pankreas.

Pada penelitian ini, seluruh tikus pada hari ke-28 dianestesi dengan eter lalu dibedah untuk diambil organ pankreasnya. Selanjutnya pankreas difiksasi dalam larutan formalin 10% untuk proses pembuatan sediaan dan pewarnaan dengan metode seperti pada Lampiran 3. Tampilan hasil pewarnaan imunohistokimia dapat dilihat pada Gambar 16.

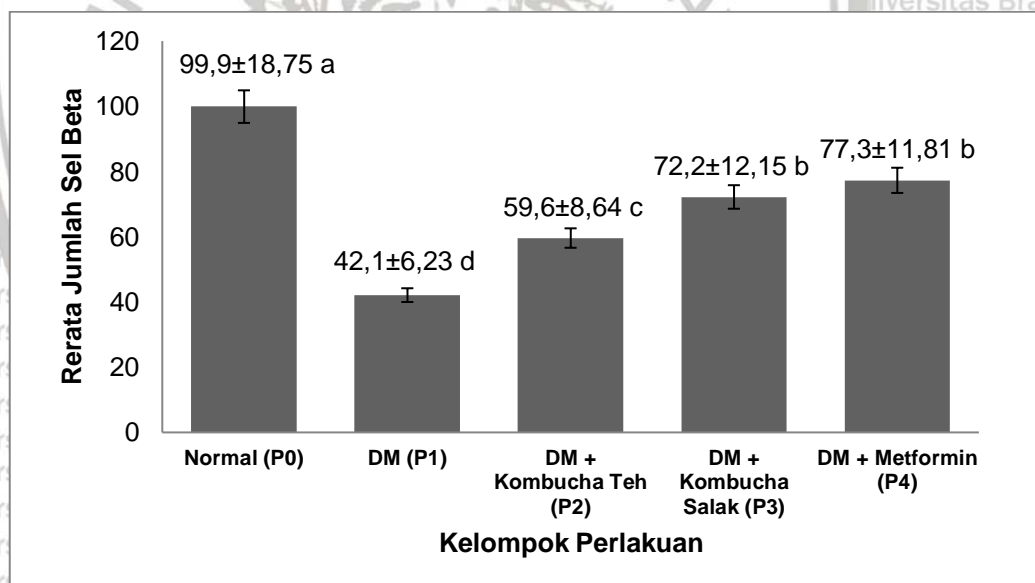


Gambar 16. Tampilan imunohistokimia pankreas tikus percobaan pada perbesaran mikroskop 400 kali. P0 = Normal, P1 = DM, P2 = DM + KT 5 ml/kg BB, P3 = DM + KS 5 ml/kg BB, P4 = DM + Metformin 45 mg/kg BB, PL = Pulau Langerhans, EKS = Kelenjar eksokrin (asinus),  = Sel beta pankreas yang imunoreaktif terhadap anti insulin,  = Sel endokrin yang tidak menunjukkan imunoreaktif terhadap anti insulin,  = ruang kosong akibat nekrosis.

Berdasarkan Gambar 16, hasil analisis pewarnaan IHK terlihat perbedaan intensitas warna cokelat yang menandakan keberadaan insulin antara semua kelompok tikus percobaan. Tikus DM (P1) menunjukkan intensitas warna cokelat yang rendah, ukuran dan bentuk pulau langerhans lebih kecil serta tidak teratur. Sebaran sel endokrin dalam pulau langerhans tikus DM terlihat tidak merata serta terdapat ruang-ruang kosong akibat nekrosis sel. Sebaliknya, tikus normal (P0) menunjukkan imunoreaktif yang tinggi sehingga pulau langerhans menunjukkan intensitas warna cokelat yang tinggi. Sedangkan pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) terlihat perbaikan bentuk dan ukuran pulau langerhans, jumlah dan susunan sel endoktrin juga lebih homogen, intensitas warna cokelat mengalami peningkatan serta terjadi pengurangan ruang-ruang kosong akibat nekrosis. Hal ini menandakan terjadinya proses regenerasi pada ketiga kelompok

perlakuan tersebut. Namun, perbaikan tersebut tidak menunjukkan hingga sama dengan kondisi pada kelompok normal (P0)

Pada penderita diabetes perubahan pada sel beta pankreas dapat terjadi pengurangan jumlah atau ukuran sel dan nekrosis, degenerasi, serta amyloidosis (Suarsana *et al.*, 2010). Menurut Erwin *et al.*, (2013) kerusakan sel beta pankreas ditandai dengan perubahan progresif pankreas langerhans, termasuk perubahan berkurangnya sekretori granula insulin pada sel beta pankreas, lepasnya pertautan sel pulau langerhans, dan pergantian sel-sel eksokrin oleh jaringan ikat (fibrosis). Sedangkan menurut Hafizur *et al.*, (2015), kerusakan sel beta pankreas juga dapat diamati dengan pewarnaan imunohistokimia dan menghitung jumlah sel beta pankreas. Kerusakan struktur pulau langerhans yang diamati dengan pewarnaan imunohistokimia dilaporkan terjadi pada tikus yang diinduksi dengan agen diabetogenesis seperti STZ dan aloksan. Total perhitungan jumlah sel beta yang imunoreaktif terhadap insulin dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Grafik Rerata Jumlah Sel Beta Pankreas Tikus Percobaan. Huruf yang Sama Menunjukkan Tidak Ada Perbedaan Nyata Antar Data Pada $P < 0,05$.

Berdasarkan Gambar 17, perhitungan jumlah sel beta pankreas yang imunoreaktif terhadap anti insulin pada kelompok DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) menunjukkan jumlah yang lebih tinggi daripada kelompok DM (P1). Kelompok normal (P0) memiliki jumlah sel beta tertinggi yaitu 99,9 dan terendah terdapat

pada kelompok DM (P1). Sedangkan pada kelompok DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2) berbeda nyata dengan kelompok DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) dan metformin (P4), namun pada kedua kelompok tersebut (P3 dan P4) tidak berbeda nyata dan memiliki rerata jumlah sel beta pankreas yang menunjukkan imunoreaktif terhadap anti insulin sebesar 72,2 dan 77,3.

Pada kelompok DM dengan pemberian metformin (P4) memiliki jumlah sel beta pankreas yang cukup tinggi. Hal ini dikarenakan metformin merupakan salah satu obat yang digunakan untuk penderita DM. Metformin memiliki enzim *adenosine monophosphateactivated protein kinase* (AMPK) yang dapat berperan memperbaiki HbA1c yang merupakan parameter utama glukosa darah. Selain itu, dapat menurunkan produksi glukosa hepatik, menurunkan kadar LDL dan trigliserida, meningkatkan kadar HDL, menurunkan agregasi platelet, meningkatkan aktivitas fibrinolitik dan dapat memperbaiki berat badan, tidak memiliki risiko hipoglikemia serta meningkatkan sensitivitas terhadap insulin yang dapat memperbaiki pankreas (DEXA, 2008).

Jumlah sel beta pankreas yang cukup tinggi juga dimiliki oleh kelompok DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3). Hal ini diduga karena kombucha salak suwaru yang digunakan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Antioksidan mampu memberikan efek perlindungan dan regenerasi pada sel-sel beta pankreas sehingga mampu memperbaiki sekresi insulin. Pada akhirnya, perbaikan sekresi insulin akan mampu menormalkan kadar glukosa darah (Babu *et al.*, 2013). Selain kontribusi dari aktivitas antioksidan, mekanisme regenerasi sel beta pankreas akibat terapi kombucha salak dapat dikaitkan dengan potensi asam-asam organik dan senyawa terduga hasil GCMS (Tabel 9).

Salah satu potensi fungsi senyawa tersebut adalah sebagai *insulin promoter*, yaitu suatu peran yang terlibat dalam perkembangan pankreas (Jonsson *et al.*, 1994; Zubaidah *et al.*, 2017), salah satunya dalam proses pematangan sel beta.

Kandungan fenol dan flavonoid juga dapat memberikan efek baik pada diabetes melalui mekanisme peningkatan sekresi insulin, mereduksi apoptosis dan mendukung proliferasi sel beta pankreas; memperbaiki hiperglikemia melalui regulasi metabolisme glukosa; meredam resistensi insulin, inflamasi, dan stres oksidatif pada otot dan lemak; dan meningkatkan uptake glukosa pada otot dan jaringan adiposa (Babu *et al.*, 2013). Kombucha salak yang digunakan untuk terapi hiperglikemia pada penelitian ini mengandung fenol yang diduga

berkontribusi pada proses regenerasi sel yang teramati melalui pewarnaan imunohistokimia. Analisis pewarnaan IHK memiliki hasil yang sejalan dengan pengamatan kadar GDP (Tabel 11). Hal ini semakin memperkuat dugaan bahwa salah satu mekanisme penurunan kadar GDP akibat pemberian kombucha salak suwaru adalah dengan peningkatan sekresi insulin.

5.2.7. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Total Kolesterol Tikus Percobaan.

Total kolesterol merupakan kadar keseluruhan kolesterol yang beredar dalam tubuh manusia. kolesterol adalah lipid amfipatik dan merupakan komponen struktural esensial pada membran plasma. Kadar total kolesterol dalam darah yang normal adalah kurang dari 200 mg/dl (Arief *et al.*, 2001). Kadar total kolesterol serum darah tikus seluruh kelompok dianalisa pada akhir perlakuan yakni hari ke-28. Data hasil analisis kadar total koleterol dari kelima kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel 15.

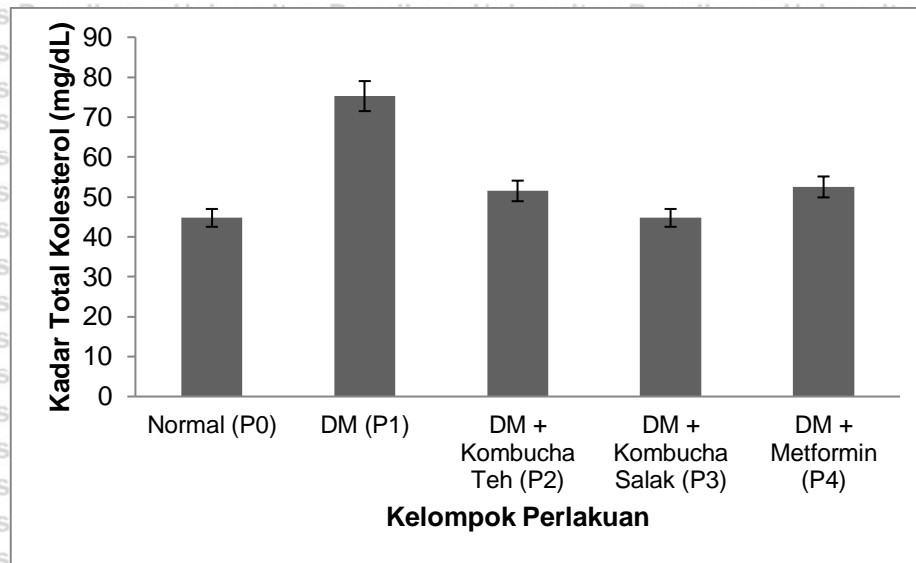
Tabel 15. Kadar Total Kolesterol Tikus Percobaan

Perlakuan	Kolesterol (mg/dL)	BNT 5%
Normal (P1)	44,75 ± 2,63	b
DM (P1)	75,25 ± 5,74	a
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	51,50 ± 5,20	b
DM + K ombucha Salak Suwaru (P3)	44,75 ± 6,18	b
DM + Metformin (P4)	52,50 ± 9,00	b

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar data pada $p < 0,05$.

Berdasarkan Tabel 15, kadar total kolesterol tertinggi ditunjukkan pada kelompok perlakuan DM (P1) yaitu 75.25 mg/dl, sedangkan kadar total kolesterol terendah ditunjukkan pada kelompok normal (P0) dan kelompok DM dengan pemberian kombucha salak suwaru dengan nilai yang sama yaitu sebesar 44.75 mg/dl. Terlihat bahwa pada seluruh kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) memiliki kadar total kolesterol berbeda nyata terhadap kelompok tikus DM (P1).

Berikut Grafik perbandingan kadar total kolesterol seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Grafik Perbandingan Kadar Total Kolesterol Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan Gambar 18, dapat terlihat bahwa pada kelompok tikus DM (P1) menunjukkan nilai kadar total kolesterol tertinggi. Hal ini dikarenakan pada kondisi DM, aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) dan enzim *7 α -hidroklase* mengalami penurunan. Menurunnya kedua enzim tersebut menyebabkan aktivitas lipolisis tidak terkendali sehingga kadar asam lemak bebas, trigliserida (hipertrigliseridaemia) dan total kolesterol (hiperkolesterolemia) menjadi meningkat yang memicu resiko komplikasi kardiovaskuler. Enzim LPL merupakan enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis lipid menjadi asam lemak dan gliserol yang akan ditransfer ke dalam sel adiposa, di dalam adipose terdapat enzim-enzim yang akan merubah hasil hidrolisis kembali menjadi trigliserida dan disimpan sebagai cadangan energi. Sedangkan enzim *7 α -hidroklase* merupakan enzim penentu laju utama dalam biosintesa asam empedu (Hardley, 2000; Hernawan *et al.*, 2004). Peningkatan kadar kolesterol total juga sering diikuti dengan peningkatan kadar trigliserida dan LDL serta penurunan HDL (Kanon, 2012).

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) terlihat mampu menurunkan kadar total kolesterol dan memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus kelompok DM (P1). Terlihat pada ketiga perlakuan tersebut, tikus kelompok DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar total kolesterol yang paling rendah yakni 44,75 mg/dl,

Terlihat bahwa penurunan kadar total kolesterol paling baik ditemukan pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3). Hal ini diduga karena adanya kombinasi antara kandungan senyawa fenolik dan tannin yang berfungsi sebagai antioksidan, serta asam-asam organik lainnya seperti asam asetat dan asam propionate yang lebih tinggi. Mekanisme kerja antioksidan senyawa fenolik dalam menurunkan kolesterol total darah yaitu sebagai pemberi atom hydrogen secara cepat ke radikal lipid (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil dan memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil. Penambahan antioksidan primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak (Gordon, 1990).

Tanin sebagai antioksidan yang terkandung dalam kombucha teh hitam dan kombucha salak suwaru diduga dapat berperan dalam menurunkan kadar total kolesterol. Mekanisme tanin dalam menurunkan kadar koleterol yaitu dengan menghambat HMG-CoA reduktase. Tanin di dalam tubuh akan berikatan dengan protein mukosa dan akan melapisi dinding usus, sehingga penyerapan lemak terhambat. Hal ini menyebabkan pembentukan kolesterol di dalam hati dan penyerapan kolesterol di usus menjadi terhambat, sehingga kadar kolesterol total menurun. Tanin juga mampu mencegah peningkatan kadar kolesterol total melalui mekanisme antioksidan yaitu mencegah terjadinya stress oksidatif dengan menghambat oksidasi LDL (Arief *et al.*, 2012). Selain itu adanya kandungan asam asetat, asam laktat, asam sitrat dan asam propionat hasil dari fermentasi yang berfungsi untuk menghambat sintesis dan absorpsi kolesterol di usus sehingga berpotensi menurunkan kadar kolesterol. Asupan asam organik tersebut dapat menurunkan kadar kolesterol dengan cara meningkatkan pengeluaran cairan empedu lalu diekskresikan bersama feses (Amarudin *et al.*, 2012; Zubaidah *et al.*, 2018). Selain itu, asam propionat dapat menghambat inkorporasi asetat menuju triasilgliserol plasma dan juga cenderung menghambat inkorporasi asetat menuju plasma kolesterol. Hal ini akan berakibat pada menurunnya sintesis kolesterol karena asetat merupakan prekursor dalam pembentukan kolesterol (Taku *et al.*, 2007).

5.2.8. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar Trigliserida (TG) Tikus Percobaan.

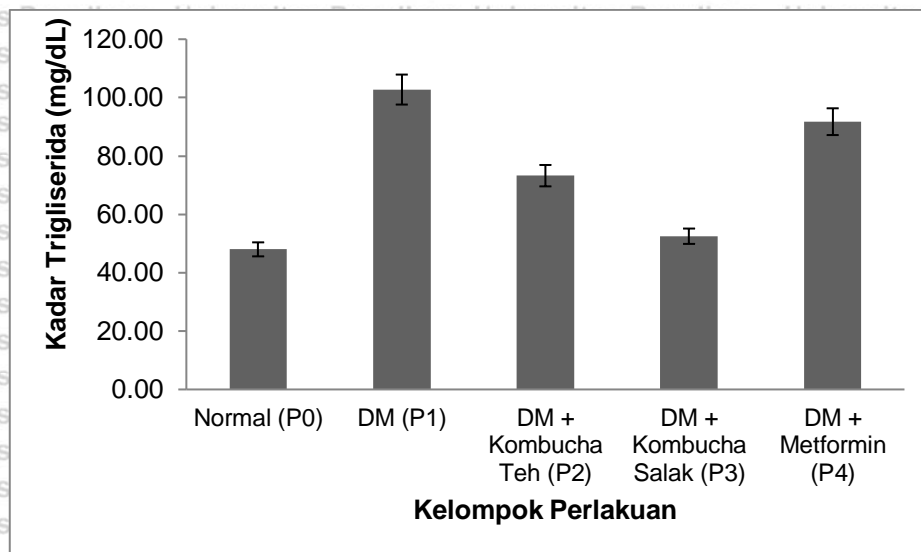
Trigliserida merupakan jenis lemak yang dapat ditemukan dalam darah dan merupakan hasil uraian tubuh terhadap makanan yang mengandung lemak dan kolesterol yang telah dikonsumsi dan masuk ke tubuh serta juga dibentuk di hati. Kadar trigliserida dalam darah yang normal adalah kurang 150 mg/dl (Almatsier, 2001). Kadar trigliserida serum darah tikus seluruh kelompok dianalisa pada akhir perlakuan yakni hari ke-28. Data hasil analisis kadar TG dari kelima kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Kadar Trigliserida Tikus Percobaan

Perlakuan	Trigliserida (mg/dL)	BNT 5%
Normal (P0)	48,00 ± 2,58 c	
DM (P1)	102,75 ± 6,85 a	
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	73,25 ± 4,53 b	25,35
DM + Kombucha Salak Suwaru (P3)	52,50 ± 6,81 c	
DM + Metformin (P4)	91,75 ± 6,71 b	

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar data pada $p < 0,05$.

Berdasarkan Tabel 16, terdapat perbedaan kadar trigliserida dari masing-masing kelompok perlakuan. Kadar trigliserida tertinggi ditunjukkan pada kelompok perlakuan DM (P1) yaitu 102,75 mg/dl, sedangkan kadar trigliserida terendah ditunjukkan pada kelompok perlakuan normal (P0) yaitu sebesar 48,00 mg/dl. Terlihat bahwa pada seluruh kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) memiliki kadar trigliserida berbeda nyata terhadap kelompok tikus DM (P1). Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar trigliserida tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus normal (P0). Berikut Grafik perbandingan kadar trigliserida seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Grafik Perbandingan Kadar Trigliserida Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan Gambar 19, dapat terlihat bahwa kadar trigliserida (TG) pada kelompok tikus DM (P1) memiliki nilai yang paling tinggi. Hal ini terjadi akibat aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) pada kondisi DM menurun sehingga kadar total trigliserida menjadi meningkat. Enzim lipoprotein lipase merupakan enzim yang berperan untuk menghidrolisis total trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Aktivitas enzim LPL menjadi menurun disebabkan oleh terganggunya Apo C2 akibat adanya stres oksidatif. Apo C2 merupakan kofaktor untuk enzim LPL. Jika terganggunya Apo C2 maka fungsi enzim LPL juga ikut terganggu maka kilomikron dari total trigliserida akan terakumulasi di dalam serum darah (Halliwell dan Gutteridge, 1999; Arief *et al.*, 2012).

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) terlihat mampu menurunkan kadar TG dan memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus kelompok DM (P1). Terlihat pada ketiga perlakuan tersebut, tikus kelompok DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar-TG yang paling rendah yakni 52,50 mg/dl, nilai tersebut tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus normal (P0).

Terlihat bahwa penurunan kadar trigliserida paling baik ditemukan pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3). Hal ini kemungkinan dikarenakan adanya senyawa bioaktif yang terkandung lebih banyak di dalam kombucha salak suwaru seperti aktivitas antioksidan, total fenol dan tanin serta asam-asam organik seperti asam laktat dan asam propionat.

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya proses oksidasi lemak. Apabila terjadi oksidasi lemak, maka kolesterol menjadi mudah untuk melewati dinding arteri dan menyumbatnya sehingga total trigliserida menjadi meningkat. Antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Riansari, 2008). Selain antioksidan, senyawa fenol juga dapat menurunkan kadar trigliserida dengan cara membantu metabolisme dalam menghasilkan energi tubuh dan berperan dalam metabolisme lemak serta meningkatkan ekskresi asam empedu (Rahayu, 2005; Carvajall-Zarrabal *et al.*, 2005). Sedangkan menurut Zern dan Fernandes (2005), senyawa fenol menurunkan absorpsi kolesterol total dan trigliserida dengan cara berikatan pada *cholesterol carriers* saat melewati membran *brush border* dan dengan penurunan sekresi apoB yang menyebabkan penurunan produksi lipoprotein.

Senyawa tanin yang terdapat di dalam kombucha salak suwaru dan kombucha teh hitam dapat menurunkan kadar trigliserida dalam darah dengan cara meningkatkan hidrolisis trigliserida dalam tubuh menjadi asam lemak yang berfungsi untuk proses oksidasi. Selain itu, senyawa tanin mampu menurunkan kadar trigliserida dengan cara menghambat absorpsi trigliserida di dalam usus sehingga kadar trigliserida yang masuk ke dalam darah jumlahnya berkurang dan trigliserida yang tidak diabsorpsi dikeluarkan melalui feses sehingga kadar trigliserida di dalam darah akan mengalami penurunan (Widyaningsih dan Adrianty, 2014). Penurunan kadar trigliserida pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) juga diduga karena pada kombucha tersebut terdapat bakteri asam laktat yang menghasilkan senyawa asam-asam lemak rantai pendek seperti asam laktat dan asam propionat dari proses fermentasi oleh bakteri asam laktat berkompetisi dengan HMG CoA untuk berikatan dengan enzim HMG CoA *reduktase*, sehingga sintesis trigliserida akan terhambat (Tan *et al.*, 2007; Taku *et al.*, 2007)

5.2.9. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) Tikus Percobaan.

High density lipoprotein (HDL) merupakan protein dalam plasma darah yang memperbaiki kerusakan dan mengurangi kolesterol dari dalam tubuh. HDL

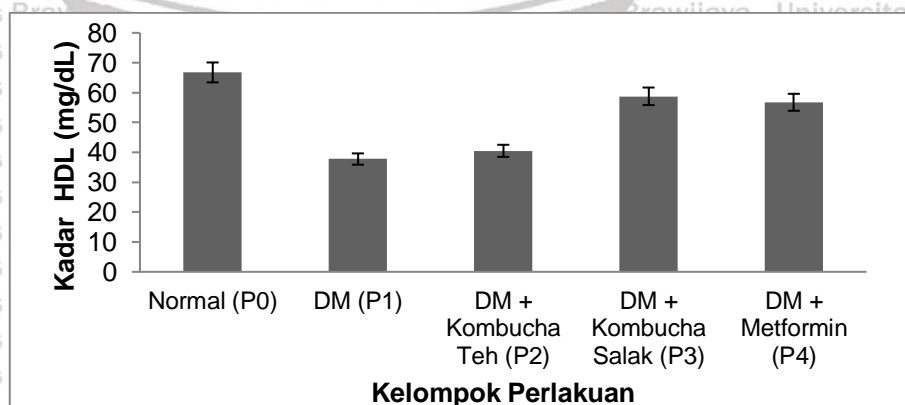
mengangkut kelebihan kolesterol untuk dibawa kembali ke hati yang selanjutnya akan diuraikan dan dibuang ke dalam kandung empedu sebagai asam (cairan) empedu. Kadar HDL dalam darah yang normal adalah lebih dari sama dengan 60 mg/dl (Freeman *et al.*, 2008). Kadar HDL serum darah tikus seluruh kelompok dianalisa pada akhir perlakuan yakni hari ke-28. Data hasil penelitian analisis kadar HDL dari kelima kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) Tikus Percobaan

Perlakuan	HDL (mg/dL)	BNT 5%
Normal (P1)	66,75 ± 1,71	a
DM (P1)	37,75 ± 5,70	c
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	40,50 ± 9,95	bc
DM + Kombucha Salak Suwaru (P3)	58,75 ± 2,87	a
DM + Metformin (P4)	56,75 ± 2,50	a

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar data pada $p < 0,05$.

Berdasarkan Tabel 17, terdapat perbedaan kadar HDL dari masing-masing kelompok perlakuan. Kadar HDL tertinggi ditunjukkan pada kelompok perlakuan normal (P0) yaitu 66.75 mg/dl, sedangkan kadar HDL terendah ditunjukkan pada kelompok perlakuan DM (P1) yaitu sebesar 37.75 mg/dl. Terlihat bahwa pada kelompok tikus DM (P1) memiliki kadar HDL berbeda nyata dengan kelompok pemberian kombucha salak suwaru (P3) dan pemberian metformin (P4), namun tidak berbeda nyata terhadap kelompok pemberian kombucha teh hitam (P2). Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) dan pemberian metformin (P4) memiliki kadar HDL tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus normal (P0). Berikut Grafik perbandingan kadar HDL seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Grafik Perbandingan Kadar HDL Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan Gambar 20, dapat terlihat bahwa kadar HDL pada kelompok tikus DM (P1) memiliki nilai yang paling rendah. Hal ini dikarenakan pada kondisi DM menyebabkan terjadinya peningkatan lipolisis karena ketiadaan insulin, sehingga mobilisasi asam lemak dari jaringan adipose menuju hati menjadi berlebihan yang diakibatkan peningkatan hormon *sensitive lipase* (HSL). HSL merupakan hormone yang bertindak sebagai pemecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak yang ada pada hati mengakibatkan peningkatan esterifikasi dari asam lemak menjadi trigliserida. Sebagai hasilnya, terjadi penumpukan trigliserida yang mengakibatkan terbentuknya HDL (Goldstein dan Dirk, 2008).

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) terlihat mampu meningkatkan kadar HDL dan memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkn dengan kelompok tikus DM (P1). Terlihat pada ketiga perlakuan tersebut, kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) dan pemberian metformin (P4) memiliki kadar HDL yang paling tinggi yaitu 58,75 mg/dl dan 56,75 mg/dl, nilai tersebut tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus normal (P0).

Terlihat bahwa pada kelompok tikus DM yang diberikan metformin (P4), mengalami kenaikan kadar HDL. Hal ini diduga karena metformin dapat memperbaiki resistensi insulin dan meningkatkan jumlah reseptor insulin serta dapat menurunkan kelebihan produksi dan akumulasi trigliserida di liver (Tjokropawiro, 2001; Ran *et al.*, 2004). Selain itu metformin dapat memperbaiki profil lipid selain efek penurun glukosa dengan menurunkan sintesis kolesterol dan trigliserida serta meningkatkan HD melalui penurunan aktivitas dan ekspresi dari beberapa produk yang terlibat dalam sintesis lipid, seperti *acetyl CoA carboxylase*, *SREBP-1*, *fatty acid synthetase*, dan *HMG CoA reductase*. Metformin dapat mengaktivasi *upstream primary kinase* (LKB1). LKB1 kemudian fosforilasi dan aktivasi *AMP-activated protein kinase* (AMPK) yang dapat mempengaruhi transkripsi (produksi) dari beberapa kunci yang mengatur produksi lipid di liver (lipogenesis) dan glukoneogenesis hepar (DeFronzo *et al.*, 1995).

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) terlihat mampu meningkatkan kadar HDL lebih tinggi bila dibandingkan dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3). Hal ini terjadi diduga karena

kombucha salak suwaru memiliki aktivitas antioksidan, total fenol dan tanin yang lebih tinggi serta komponen bioaktif (Tabel 6). Antioksidan berfungsi mempromosikan efluks kolesterol yang dimediasi HDL. Kapasitas efluks kolesterol meningkat dengan adanya HDL yang mengalir, dimana hal ini tergantung pada panjang dan kejenuhan asam lemak dalam komposisi HDL (Arora *et al.*, 2000). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ketika HDL dioksidasi, HDL akan kehilangan asam-asam lemak tak jenuh sehingga kapasitas untuk menghilangkan kolesterol bebas dari sel menurun. Hal ini berhubungan dengan penurunan laju aliran HDL (Sola *et al.*, 1993).

Kenaikan kadar HDL pada kelompok yang diberi kombucha salak suwaru (P3) juga diduga karena adanya senyawa fenolik. Menurut Quiles *et al.* (2006), senyawa fenolik menentukan efektivitas peningkatan kadar kolesterol HDL.

Senyawa fenolik ini diduga dapat masuk ke dalam partikel lipoprotein sehingga dapat berkontribusi sebagai antioksidan alami dalam lipoprotein. Selain itu, fenolik mampu meningkatkan aktivitas *lechin cholesterol acyl trasnfrase* (LCAT). LCAT merupakan enzim yang mengubah kolesterol bebas menjadi ester kolesterol dan sangat penting untuk pematangan metabolisme HDL, akibatnya mampu meningkatkan kadar HDL (Wurdianing, 2014).

5.2.10. Pengaruh Pemberian Kombucha Teh Hitam, Kombucha Salak Suwaru dan Metformin terhadap Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) Tikus Percobaan.

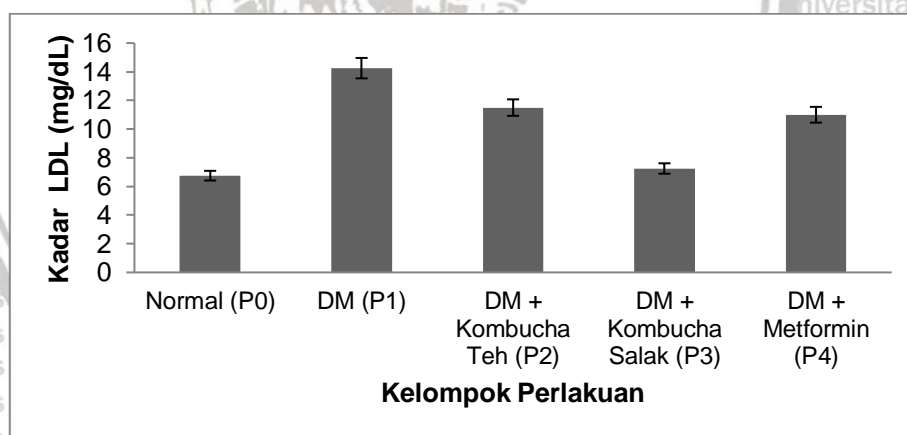
Low density lipoprotein (LDL) merupakan jenis lipoprotein yang terlibat dalam pengangkutan kolesterol dari hati ke seluruh tubuh. LDL termasuk kolesterol jahat karena memiliki sifat aterogenik (mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan mengurangi pembentukan reseptor LDL). Kadar LDL dalam darah yang normal adalah kurang dari 100 mg/dl (Murray *et.*, *al* 2009). Kadar LDL serum darah tikus seluruh kelompok dianalisa pada akhir perlakuan yakni hari ke-28. Data hasil analisis kadar LDL dari kelima kelompok tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) Tikus Percobaan

Perlakuan	LDL (mg/dL)	BNT 5%
Normal (P1)	6,75 ± 0,96	c
DM (P1)	14,25 ± 2,63	a
DM + Kombucha Teh Hitam (P2)	11,50 ± 1,91	b
DM + K ombucha Salak Suwaru (P3)	7,25 ± 1,26	c
DM + Metformin (P4)	11,00 ± 0,82	b

Huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar data pada $p < 0,05$.

Berdasarkan Tabel 18, terdapat perbedaan kadar LDL dari masing-masing kelompok perlakuan. Kadar LDL tertinggi ditunjukkan pada kelompok DM (P1) yaitu 14,25 mg/dl, sedangkan kadar LDL terendah ditunjukkan pada kelompok normal (P0) yaitu sebesar 6,75 mg/dl. Terlihat bahwa pada seluruh kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) memiliki kadar LDL berbeda nyata terhadap kelompok tikus DM (P1). Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar LDL tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus normal (P0). Berikut Grafik perbandingan kadar LDL seluruh kelompok dapat dilihat pada Gambar 21.

**Gambar 21.** Grafik Perbandingan Kadar LDL Tikus Percobaan Antar Kelompok Perlakuan

Berdasarkan Gambar 21, dapat terlihat bahwa kadar LDL pada kelompok tikus DM (P1) memiliki nilai yang paling tinggi. Hal ini dikarenakan pada kondisi DM aktivitas enzim lipoprotein (LPL) menurun sehingga kadar lipoprotein seperti VLDL dalam darah meningkat karena sedikit yang dapat terhidrolisis. Selain itu, jumlah LDL yang meningkat dapat memperbesar kemungkinan terjadinya

oksidasi LDL. Efek dari terbentuknya oksidasi LDL dapat memicu menurunnya aktivitas reseptor LDL (Rippe, 1999; Hadley, 2000).

Pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha teh hitam (P2), kombucha salak suwaru (P3), dan metformin (P4) terlihat mampu menurunkan kadar LDL dan memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok DM (P1). Terlihat pada ketiga perlakuan tersebut, kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3) memiliki kadar HDL yang paling rendah yaitu 7,25 mg/dl, nilai tersebut tidak berbeda nyata dengan kelompok tikus normal (P0).

Terlihat bahwa penurunan kadar LDL paling baik ditemukan pada kelompok tikus DM dengan pemberian kombucha salak suwaru (P3). Hal ini kemungkinan dikarenakan adanya senyawa bioaktif yang terkandung lebih tinggi di dalam kombucha salak suwaru seperti aktivitas antioksidan, total fenol dan asam-asam organik. Menurut Murray *et al.*, (2003) Senyawa antioksidan dapat menangkap radikal bebas. Antioksidan menghentikan tahap awal reaksi dengan membebaskan 1 atom hidrogen dari gugus hidroksilnya yang kemudian berikatan dengan 1 radikal bebas. Dengan ikatan ini maka akan menstabilkan radikal peroksi yang membuat energi aktivasi berkurang, dan selanjutnya akan menghambat atau menghalangi reaksi oksidasi dari kolesterol. Melalui penghambatan reaksi oksidasi kolesterol ini maka total kadar trigliserida dan LDL menjadi menurun dan sebaliknya total kadar HDL meningkat. Antioksidan juga dapat mencegah pengendapan lemak pada dinding pembuluh darah dan dapat meningkatkan jumlah reseptor LDL sehingga katabolisme kolesterol yang terjadi semakin banyak. Dengan demikian kadar kolesterol total dan LDL kolesterol akan mengalami penurunan (Mason dan Junge, 2008). Mekanisme lain dari senyawa antioksidan yaitu dengan menekan pembentukan spesies oksigen reaktif melalui penghambatan aktivitas enzim yang terlibat dalam produksi radikal bebas, *scavenging* spesies oksigen reaktif, dan melindungi pertahanan antioksidan dalam tubuh (Pietta, 2000).

Penurunan kadar LDL juga diduga karena adanya senyawa fenol. Mekanisme fenol dalam menurunkan LDL kolesterol adalah dengan penurunan apoB yang menyebabkan penurunan produksi lipoprotein (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Senyawa fenol yang terkandung dalam kombucha berfungsi sebagai antioksidan dan dapat menghambat sekresi dari apo-B100 ke intestinum, sehingga jumlah apoB akan mengalami penurunan (John, 2002).

ApoB merupakan pembentuk VLDL dan LDL (Mayes, 2003). Kandungan fenol dapat menginduksi penurunan aktivitas HMG-KoA reduktase dan aktivitas ACAT (*acyl CoA: cholesterol acyl transferase*) hepar sehingga menurunkan lipogenesis oleh hepar dan meningkatkan ekskresi fecal sterol sehingga terjadi penurunan absorbs lemak dengan begitu maka kadar trigliserida dan LDL dalam plasma darah dapat menurun (Odbayar *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2002). Selain itu, fenol juga dapat menurunkan kadar trigliserida dan LDL serum darah dengan mengurangi sekresi trigliserida dan kolesterol dari sel hepar dan menghambat sintesis trigliserida dengan menghambat enzim adipogenik pada sel preadiposit (Hata *et al.*, 2008; Itoh *et al.*, 2009; Reddy *et al.*, 2009).



BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Kombucha salak suwaru memiliki karakteristik komponen kimia yaitu total asam 1,56%, pH 3,22, total gula 7,76%, total padatan terlarut 12,88 °Brix, total fenol 535,59 mg/L GAE, dan antioksidan 91,73% serta nilai komponen bioaktif yang lebih tinggi dari pada kombucha teh hitam.
2. Pemberian kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru dan obat metformin memiliki efektivitas sebagai agen terapi dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa pada tikus wistar jantan yang diinduksi STZ.
3. Pemberian kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru, dan obat metformin memiliki efektivitas terhadap peningkatan kadar SOD dan penurunan kadar MDA serta mampu memperbaiki profil lipid (HDL, LDL, total kolesterol, trigliserida) pada darah tikus wistar jantan diabetes melitus.
4. Pemberian kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru dan obat metformin mampu meningkatkan jumlah sel beta dan memperbaiki histopatologi pankreas tikus wistar jantan diabetes melitus.

6.2. Saran

1. Perlu dilakukan analisis komponen senyawa kimia lain pada kombucha salak suwaru yang dapat berperan sebagai agen terapi diabetes melitus.
2. Perlu dilakukan perbandingan konsentrasi kombucha yang lebih lengkap sebagai mekanisme dalam penurunan kadar gula darah dan profil lipid agar dapat diketahui dengan lebih baik.
3. Perlu dilakukan perbandingan antara kombucha salak suwaru dengan berbagai jenis kombucha lainnya sebagai agen terapi diabetes melitus.
4. Perlu dilakukan perbandingan antara kombucha teh hitam, kombucha salak suwaru, dan obat metformin terhadap sistem ekskresi dan sistem pencernaan pada tikus wistar diabetes melitus.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams. L. B. 2005. Hyperlipidemia. http://www.umn.edu/let/pubs/adol_book.shtml. (01 Agustus 2017).
- Afifah N. 2010. Analisis Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Pathogen (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Universitas Islam Negeri, Malang.
- Agustin, S. 2013. Perbedaan Waktu Fermentasi dalam Pembuatan Teh Kombucha dari Ekstrak Teh Hijau Lokal *Arraca Kiara*, *Arraca Yabukita*, *Pekoe* dan *Dewata* sebagai Minuman Fungsional Untuk Antioksidan. Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang
- Almatsier, S. 2001. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. PT. Gramedia Pustaka Utama Jakarta.
- American Heart Association, 2004. What Do My Cholesterol Levels Mean?. <http://www.americanheart.org/n3330/pdf>. (25 Juli 2017).
- Alberti, K.G.M.M. 2010. The Classification and Diagnosis Of Diabetes Mellitus In Textbook of Diabetes Fourth Edition. Ed: Richard, I.G.H., Clive, S.C., Allan, F., dan Barry, J.G. London: Willey-Blackwell.
- Aloulou, A., Hamden, K., Elloumi, D., Ali, M.B., Hargafi, K., Jaouadi, B., Ayadi, F., Elfeki, A., dan Ammar, E. 2012. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. BMC Complementary and Alternative Medicine.
- American Diabetes Association. 2011. Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2011;34:s 62-9.
- American Diabetes Association (ADA). 2016. Diagnosing Diabetes and Learning About Prediabetes. <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diagnosis/> [22 Mei 2017]
- Andaloussi, Benhaddou, A., Martineau, L., Vuong, T., Meddah, B., Padma madiraju, Settaf, A., and Pierre S. Haddad. 2011. The In Vivo Antidiabetic Activity of *Nigella sativa* is Mediated through Activation of The AMPK Pathway and Increased Muscle Glut4 Content. *Hindawi Journal*.
- Anonim. 2017. Pancreas. <https://en.wikipedia.org/wiki/Pancreas> [29 Mei 2017]
- Anugrah, S.T. 2005. Penegmbangan Produk Kombucha Probiotik Berbahan Baku Teh Hitam (*Camellia sinensis*). IPB. Bogor
- Ardheniati, M. 2008. Kinetika Fermentasi Pada Teh Kombucha Dengan Variasi Jenis Teh Berdasarkan Pengolahannya. Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Surakarta. [Tesis].

Arief, Iqbal, Riky Novriansyah, Indra Tjeng Budianto, dan Muhammad Bimo Harmaji. 2012. Potensi Bunga Karamunting (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida pada Tikus Putih Jantan yang diinduksi Propiltiourasil. *Prestasi*;1(2).

Arief M., Kuspuji T., Rakmi S., Wahtu I.W., WiwiekS., Anantha D.T. 2001. Kapita Selekta Kedokteran. Edisi Ke-3. Media Aesculapius. Jakarta. Hal: 581

Arisman. 2014. *Obesitas, Diabetes Mellitus, & Dislipidemia: Konsep, Teori, dan Penanganan Aplikatif*. Seri Buku Ajar Ilmu Gizi. Jakarta: EGC.

Atanassova, M., Georgieva, S., dan Ivancheva, K. 2011. Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 46 (1), 81-88.

Ayala Antonio, Mario F.Munoz, and Sandro Arguelles. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Hindawi Journal*.

Azizah, N., Al Bahri, N., Mulyani S. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1(2):72-77.

Babu, P.V.A., Liu, D., dan Gilbertc, E.R. 2013. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (11), 1777–1789.

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Laporan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013*.

Badan Statistik Produksi Hartikultura Tahun 2014. Kementrian Pertanian Indonesia Direktorat Jendral Hortikultura 2015.

Bahri, T. 2004. *Dislipidemia Sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung*. Fakultas Kedokteran. Universitas Udayana. Denpasar

Bartosz IS, Bartosz G. 2014. Effect of antioxidants supplementation on aging and longevity. *Biomed Research International*: 1-17.

Baynes, J.W. 1991. Perspectives in Diabetes: Role of oxidative stress in development of complication of diabetes. *Diabetes* 40, 405–412.

Belcher G, Lambert C, Edward G et al. 2005. Safety and tolerability of pioglitazone, metformin, and gliclazide in treatment of type 2 diabetes. *Diabetes and Clinical Research and Clinical Practice*; 70:53-62

Bhatti R, Sharma S, Singh J, Singh A, Ishar S. Effect of Aegle marmelos (L.) Correa on Alloxan induced early Stage Diabetic Nephropathy In rats. *Indian J. Exp. Bio*. 2013; 51:464-469.

Bhavsar, A.R. 2015. Retinopathy, Diabetic, Background. <http://emedicine.medscape.com/article/1225122-overview> [23 Mei 2017]

Blanc, P.J. (2000). Characterization Of The Tea Fungus Metabolites. www.kombucha-research.com. [25 Mei 2017].

Betteridge, D.J. 2000. What Is Oxidative Stress? *Metabolism* 49 (2, Suppl 1), 3-8.

Bhattacharya, S., Gachhui, R., dan Sil, P.C. 2011. Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology* 18, 221–234.

Bhattacharya, S., Gachhui, R., dan Sil, P.C. 2013. Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 60, 328-340.

Blonde L, Dailey GE, Jabbour SA, et al. Gastrointestinal tolerability of extended-release metformin tablets compared to immediate release metformin tablets: results of retrospective cohort study. *Current Medical Research and Opinions* 2004; 20(4):565-72

Boorman G.A, dan Beth W.G. 1999. *Pathology of the Mouse*. USA: Cache River Press. Pp 191-193.

Borchman, D. dan Yappert, M.C. 2011. Lipid and the Ocular Lens. *Journal of Lipid Research*, 20: 1-55.

Boron, W.F. dan Boulpaep, E.L. 2009. *Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach*. 2nd edition. Philadelphia: Saunders Elsevier.

Brange, J. dan Langkjær, L. 1993. *Insulin Structure and Stability*. Di dalam: *Stability and Characterization of Protein and Peptide Drugs*. Wang, Y.J dan Pearlman, R. (Ed). New York: Springer US.

Broun, R.M., Wilson, J.H.M., and Richardson. 1976. Cellulose Biosynthesis in *Aceobacter xylinum*. *Proc. Nat Acad. Sei, USA*.

Budisatria, R. 2011. Pemberian Phentermine Oral Dapat Memperbaiki Profil Lipid Darah Pada Tikus Jantan (Albino Rat) Yang Dislipidemia. Universitas Udayana Denpasar. [Tesis]

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., dan Gachhui, R. 2016. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* 220, 63–72.

Champe, P.C., Richard, A.H., Denise, R.F., 2010. *Biokimia*. Edisi 3. Jakarta: penerbit Buku Kedokteran EGC, halaman 410.

Cheng AYY dan Fantus IG. 2005. Oral antihyperglycemia for type 2 diabetes. *Canadian Medical Association*; 172 (2): 213-25

Carjavall-zarrabal, O., Waliszewski, S.M., Barradas-dermitz, D.M., Orta-flores, Z., Hayward-jones, P.M., Nolasco-hipolito, C., Angulo-guerrero, O., Sa'nchez-rican, R., Infaso, R.M., Trujillo, P.R.L. 2005. The consumption of hibiscus sabdariffa dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. *Plant Foods for Human Nutrition*. 60: 153-159

Corwin, E.J., 2009. Buku Patofisiologi. Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, Halaman 629.

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D. dan Milzani, A. 2006. Biomarker of Oxidative Damage in Human Disease. *Clinical Chemistry*, 52(4): 601-23

Dalimunthe, D.Y., Nasution, J.D., dan Harahap, S. 2016. Pengaruh Diabetes Self Management Education (DSME) sebagai Model Keperawatan Berbasis Keluarga Terhadap Pengendalian Glukosa Pada Penderita Diabetes Melitus. *Keperawatan Poltekkes Medan*. 1 (1), 53-61.

Denise, Grotto; Lucas Santa Maria; Juliana Valentini; Clóvis Paniz; Gabriela Schmitt; Solange Cristina Garcia; Valdeci Juarez Pomblum; João Batista T. Rocha; Marcelo Farina. 2009. Importance of The Lipid Peroxidation Biomarkers and Methodological Aspects for Malondialdehyde Qualification. *Quimnova*. 169-174.

Dashti, M.H. dan Morshedi, A. 2000. A comparison between the effect of black tea and kombucha tea on blood glucose level in diabetic rat. *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences* 13 (2), 83-87.

DEXA MEDIA. 2008. Type II Diabetes. *Journal of Medicine and Pharmacy*. Jakarta. 21 (1).

Diani, A.R., Sawada G., Wyse B., Murray F.T, dan Khan M. 2004. Pioglitazone preserves pancreatic islet structure and insulin secretory function in three murine models of type 2 diabetes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 286, E116-E122.

Dufresne, C. dan Farnworth, E. 2000. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International* 33, 409-421.

Ekawati, E.R. 2012. Hubungan Kadar Glukosa darah Terhadap Hypertriglyceridemia Pada Penderita Diabetes Mellitus. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Surabaya.

Erwin, Etriwati, Muttaqien, Pangestiniingsih, T.W., dan Widyarini, S. 2013. Ekspresi Insulin Pada Pankreas Mencit (Mus musculus) yang Diinduksi dengan Streptozotocin Berulang. *Jurnal Kedokteran Hewan* 7 (2), 97-100.

Etuk, E.U. (2010). Animal Models for Studying Diabetes Mellitus. *Agricultur and Biology Journal of North America*. 1 (2): 130-134.

Eurich DT, Majumdar SR, McAlister FA, et al. 2005. Improve clinical outcomes associated with metformin in patients with diabetes and heart failure. *Diabetes Care*; 28(10):2345-51

Frank, G.W. 1996. *Kombucha Healthy Beverage and Natural Remedy from The Far East*. Publishing House Ennsthaler. Australia.

Freeman, J., Darwiche G, Bjorgell O, and Olof L. 2008. Effect of Apple Cider Vinegar On Delayed Gastric Emptying In Patients With Type I DM: A Pilot Study. *BMC Gastroenterology* 7-4.

Fujisawa, H., Zhang, Z., Sun, W., Huang, M., Kobayashi, J., Yasuda, H., Kinoshita, Y., Ando, R., dan Tamura, K. 2012. Histopathological Changes in the Pancreas from a Spontaneous Hyperglycemic Cynomolgus Monkey. *J Toxicol Pathol* 25, 215–219.

Fulder, S. 2004. *Khasiat teh hijau*. Terjemahan T. R. Wilujeng. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta.

Garner, D., Crisosto, C.H., Whey, P., and Crisosto, G.M. 2006. *Measurement of Soluble Solid Content*. Ennsthaler Gesellschaft GmbH and Co KG. German.

Gunton JE, Delhanty PCD, Takahashi SI, et al. 2003. Metformin rapidly increases insulin receptor activation in human liver and signals preferentially through insulin-receptor substrat-2. *J Clin Endocrinol Metab*; 88:1323-32

Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A., Bhat, R. 2012. Fermentation of Black Tea Broth (Kombucha): I. Effects of Sucrose Concentration and Fermentation Time on the Yield of Microbial Cellulose. *International Food Research Journal* 19(1), 109-117.

Goldberg, G. 2003. *Plants: Diet and Health*. Iowa: Blackwell Science.

Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro*. Di dalam: Hudson, B.J.F (ed). *Food Antioksidants*. London-New York: Elsevier Applied Science.

Gorinstein, S., Poovarodom, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Vearasilp, S., Haruenkit, R., Ruamsuke, P., Katrich, E., dan Tashma, Z. 2011. Antioxidant properties and bioactive constituents of some rare exotic Thai fruits and comparison with conventional fruits, In vitro and in vivo studies. *Food Research International* 44, 2222–2232.

Gorinstein, S., Haruenkit, R., dan Poovarodom, S. 2009. The Comparative Characteristics of Snake and Kiwi Fruit. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 1884-1891

Gunton JE, Delhanty PCD, Takahashi SI, et al. 2003. Metformin rapidly increases insulin receptor activation in human liver and signals preferentially through insulin-receptor substrat-2. *J Clin Endocrinol Metab*; 88:1323-32

Gustaviani, R. 2006. Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus. Dalam: Setiyohadi B., Alwi I., Simadibrata M., dan Setiadi S., 2006. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, halaman 1879 – 1881.

Gravena, C., Mathias, P.C., dan Ashcroft S.J. 2002. Acute effects of fatty acids on insulin secretion from rat and human islets of Langerhans. *Journal of Endocrinology*. 173(1):73-80.

Guyton and Hall. 2011. *Textbook of Medical Physiology* twelfth edition. Philadelphia: Saunders Elsevier.

Guyton A.C., Hall J.E. 2006. Insulin, glucagon, and diabetes mellitus. In : *Textbook of medical physiology*. 11th ed. Philadelphia : Elsevier Saunders. p. 962, 968-9.

Hafizur, R.M., Fatima, N., dan Shaukat, S. 2015. Immunohistochemical Evidence of Pancreatic β -cell Regeneration in streptozotocin-induced type 2 Diabetic Rats treated with *Gymnema sylvestre* Extract. *J Cytol Histol* 6 (4), 1-4.

Haliwell, B., and Gutteridge JMC. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine* 3rd Edition. Oxford University Press. Oxford.

Halperin, I.J., Mukerji, G. Maione, M. and Segal, P. 2017. Patient Perspectives on Diabetes Care Across the Institute of Medicine's Six Domains of Quality. *Canadian Diabetes Association*, 1-8.

Harahap, A.S. 2014. Gambaran Glukosa Darah Setelah Latihan Fisik Pada Tikus Wistar Diabetes Melitus Yang Diinduksi Aloksan. Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. [Skripsi].

Hasanah, U. 2016. Profil Sel Beta Pankreas Pada Tikus Diabetes yang Diberi Umbi Kimpul (*Xanthosoma sagittifolia* (L.) Schott.). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. [Skripsi]

Hata K, Kazuyuki H, Mizuho I, Nao S, Takayuki W, Junichiro T, *et al.* 2008. Inhibitory effects of lupeol on 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *J Phytol* 1: 191-4.

Herawati, W., Chasanah, T., dan Kamsinah. 2012. Karakteristik Salak Lokal Banyumas (*Salacca zalacca* (Gaert) Voss) sebagai Upaya Pelestarian Spesies Indigenous. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Sumber Daya Pedesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan II. Purwokerto, 27-28.

Henrikson J. E., & Bech-Nielsen H., 2009. Blood Glucose Levels. <http://www.netdoctor.co.uk/healthadvice/facts/diabetesbloodsugar.htm>. (Diakses 27 Juli 2017)

Hubrecht, R and Kirkwood, J. (2010). The UFAW Handbook of The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. Edisi ke-8. Universities Federation for Animal Welfare. p. 311-324.

Hundal HS, Ramlal T, Reyes R, et al. 1992. Cellular mechanism of metformin action involve glucose transporter translocation from intracellular pool to plasma membrane in L6 muscle cell. *Endocrinology*; 131:1165-75

Ihedioha JI, Ugwuja JI, Noel-Uneke OA, Udeani IJ, Daniel-Igwe G. 2012. Reference Values for the Haematology Profile of Conventional Grade Outbred Albino Mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *ARI*. vol 9(2):1601-1612.

Iida KT, Kawakami Y, Suzuki M, Shimani H, Toyoshima H, Sone H. 2003. Effect of Thiazolidinediones and Metformin on LDL Oxidation and Aortic Endothelium Relaxation in Diabetic GK Rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284: E1125 -130.

International Diabetes Federation (IDF) 2007. Diabetes Atlas. IDF Communications

International Diabetes Federation (IDF). 2006. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Brussels: IDF Communications.

International Diabetes Federation (IDF). 2015. IDF Annual Report 2015. Brussels: IDF Communications.

Itoh M, Kazuyuki H, Yukie A, Fumiko K, Gen T, Junichiro T, *et al.* 2009. Lupeol reduces triglyceride and cholesterol synthesis in human hepatoma cells. *J Phytol* 2: 176-8.

Janero, D.R. 2001. Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid Activity as Diagnosis Indices of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissue Injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 9: 515-40.

Janet,L.F., 2010. Penyakit Pankreas Endokrin. Dalam: Stephen McPhee dan Ganong William, 2010. Patofisiologi Penyakit. Edisi 5. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, halaman 557-589.

Jasman ,I.D and Widiyanto, D. 2012. Selection of Yeast Strains for Ethanol Fermentation of Glucose-Fructose-Sucrose Mixture. *Journal of Biotechnology* Vol 17, No 2, pp, 114-120.

Jay, J.M., Loessner, M.J., dan Golden, D.A. 2005. Modern Food Microbiology 7th Edition. New York: Springer.

Jayabalan, R., Marimuthu, S., dan Swaminathan, K. 2007. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry* 102, 392–398.

Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., dan Swaminathan, K. 2008. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry* 109, 227–234.

Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., dan Sathishkumar, M. 2014. Review on Kombucha Tea Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13, 538-550.

Jayabalan, R., Malbaša, R.V., dan Sathishkumar, M. 2015. Kombucha. Di dalam *Reference Module in Food Science*. Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.03032-8.

Jensen M, Joseph J, Ronnebaum S, Burgess S, Sherry A, Newgard C. Metabolic cycling in control of glucose-stimulated insulin secretion [homepage on the Internet]. 2008 [updated 2008 Aug 19; cited 2011 April]. Available from: <http://ajpendo.physiology.org/content/295/6/E1287.full>.

Jonsson, J., Carlsson, L., Edlund, T., dan Edlund, H. 1994. Insulin-promoter-factor 1 is required for pancreas development in mice. *Nature* 13 (371), 606-9.

Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., dan Ajandouz, E.H. 2012. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International* 49, 226–232.

Kanon. 2012. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Salak (*Sallaca zallaca* (Gaertn.) Voss) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus* L) Yang Diinduksi Sukrosa. pp 52-58

Karam JH. 1998. Hormon Pankreas dan Obat-Obat antidiabetes. Dalam Katzung, B.G. (eds) *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 4. Jakarta: EGC, Hal:674-5.

Karim A.K., Eprilurahman, R., Fitria, L. dan Kawatu, P.J. 2013. Senyawa Bioaktif Herpetofauna pada Penderita Diabetes Mellitus dan Hipertensi: Tinjauan Secara Patofisiologi. *Jurnal Biologi Papua* 5 (1), 35–43.

Klein, R. 1995. Hyperglycemia and Microvascular and Macrovascular Disease in Diabetes. *Diabetes Care* 18 (2), 258-268.

Kleppser WB, Kelly MW, 1997. Metformin hydrochloride: an antihyperglycemic agent. *American J Health Syst Pharm*; 54:893-903

Knight, J.A. 2000. Review: Free Radicals, Antioxidants, and the Immune System. *Annals of Clinical & Laboratory Science* 30 (2), 145-158.

Koestadi, 1989. *Kimia Klinik Teori dan Praktek Darah*. AAK Bhakti Wiyata. Kediri.

Krinke, G. J. (2000). *The Laboratory Rat. The Handbook of Experimental Animals*. Academic Press. p. 3-56.

Kumar, S. dan Tim Holt, 2010. Diagnosing Diabetes. Dalam: Sudhesh Kumar dan Tim Holt, 2010. *Edisi 6. ABC Of Diabetes*. India: Tim Holt and Sudhesh Kumar, halaman 1-4.

Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu kacang Merah. *Tesis Magister Gizi Masyarakat*. UNDIP. Semarang.

Kusyanti, Hasanuddin dan Djufri. 2016. Utilization of Medicinal Plants Hypertension and Diabetes mellitus In Rundeng Society Subulussalam. FKIP Universitas Syiah Kuala 1 (1), 85-94

Kwon, O., Eck, P., Chen S., Corpe, C.P., Lee, J., Kruhlak, M., and Levine, M. 2007. Inhibition of The Intestinal Glukose Transforte GLUT2 by Flavonoids. *The FASEB journal* Vol 21 : 366-377.

Lee, J., N. Koo, dan D.B. Min. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compre Rev. in Food Sci. and Food Safety*. 3: 21-33.

Lee. D, Kulick. D, 2005. Improving Your Cholesterol Profile In-Depth. http://www.medicinet.com/your_cholesterol_profile-in_depth/article.htm (25 Juli 2017).

Lee, Y. H., Choo, C., Watawana, M. I., Jayawardena, N., & Waisundara, V. Y. (in press). 2014. Kombucha 'tea fungus' enhances the tea polyphenol contents, antioxidant activity and a-amylase inhibitory activity of five commonly consumed teas. *Journal of Functional Foods*, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.010>.

Lenzen S. 2008. Review: The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced Diabetes. *Diabetologia* 51: 216–226.

Leontowicz, M., Leontowicz, H., Drzewiecki, J., Jastrzebski, Z., Haruenkit, R., Poovarodom, S., Park, Y.S., Jung, S.T., Kang, S.G., Trakhtenberg, S., dan Gorinstein, S. 2007. Two exotic fruits positively affect rat's plasma composition. *Food Chemistry* 102, 192–200.

Li, Sha, Hor-Yue Tan, Ning Wang, Zhang-Jin Zhang, Lixing Lao, Chi-Woon Wong dan Yibin Feng. 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol 16. Livingstone.

Liu, X., Kim, J., Li, Y., Li, J., Liu, F., and Chen X. 2005. Tannic Acid Stimulates Glukose Transport and Inhibits Adipocyte Differentiation in 3T3 L1 Cells. *The Journal of Nutrition*. 135 : 165-171.

Machlin, L.J. dan Bendich, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal* 1 (6), 441-445.

Madigan, M.T., Martinko, P and Parker, J. 2002. *Brock Biology og Microorganisms*. Prentice Hall International Inc. Englewood Cliff. New York.

- Malbasa, R.V., Loncar, E.S., Vitas, J.S., dan C anadanovic -Brunet, J.M. 2011. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry* 127, 1727–1731.
- Maritim, A.C., Sanders, R.A., dan Watkins III, J.B. 2003. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review. *J Biochem Molecular Toxicology* 17 (1), 24-38.
- Mavrikakis, E. 2016. Macular Edema in Diabetes. <http://emedicine.medscape.com/article/1224138-overview> [23 Mei 2017]
- Mc Kee, T., Mc Kee, J.R. 2003. Aerobic metabolism II: electron transport and oxidative phosphorylation In: *Biochemistry the molecular basis of life*. 3rd ed. McGraw-Hill, NY 10020. 319-326.
- Menvielle, B.F.J. 2005. Superoxide Dismutase (SOD), A Powerful Antioxidant, Is Now Available Orally. *Phytothérapie*. 3: 1-4.doi:10.1007/s10298-005.
- Mitchell, R. et al, 2008. *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit*. Edisi 7. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, halaman 673.
- Morrow DA, dkk. . 2007. Chronic coronary artery disease. dalam Libby P, dkk., eds. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, edisi ke-8. Philadelphia: Saunders Elsevier
- Morshedi, A. Dashati M.H. dan Rahmatabadi. 2010. Chronic Consumption of Kombucha and Black Tea Prevents Weight Loss in Diabetic Rats. Department of Physiology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. Yazd. Iran
- Murray, R. K., Granner, D. K., Rodwell, V. W. 2009. *Glukoneogenesis Dan Kontrol Gula Darah dalam Biokimia Harper*. Jakarta: EGC
- Murray, R.K., Daryl K.G., Peter A.M., Victor W.R. 2003. *Biokimia Harper*: EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Nainggolan, J. 2009. Kajian pertumbuhan bakteri *Acetobacter* sp. dalam kombucha rosela merah (*Hibiscus Sabdariffa*) pada kadar gula dan lama fermentasi yang berbeda. USU.
- Naland, H. 2008. *Kombucha Teh Dengan Seribu Khasiat*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Nambam, B., Winter, W., dan Schatz, D. 2014. Type 1 Diabetes. Di dalam *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.03820-4.
- Nazir, N., Ismed dan Permata, D.A., 2012. Food and Renewable Energi for Bitter Life. Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia Cabang Sumatra Barat. 2012.

Nguyen, N.K., Nguyen, P.B., Nguyen, H.T., dan Le, P.H. 2015. Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. *Food Science and Technology* 64, 1149-1155.

Nida, K. 2010. Aktivitas Spesifik Enzim Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD) dan Hubungannya dengan Stres Oksidatif pada Karsinogenesis Payudara Tikus yang Diinduksi dengan DMBA (7,12- dimethylbenz (a) anthracene. Universitas Indonesia. Jakarta. [Tesis].

Odbayar TO, Demberel B, Toshinori K, Yoko T, Tojiro T, Takashi I. 2006. Comparative studies of some phenolic compounds (quercetin, rutin, and ferulic acid) affecting hepatic fatty acid synthesis in mice. *J Agric Food Chem* 54 (21): 8261-65.

Ong CR, Molyneaux LM, Constantino MI et al. 2006. Long-term efficacy of metformin therapy in non-obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetes care*; 29(11): 2361-2364.

Ostman, E., Granfeldt, Y., Persson, L., dan Bjorck, I. 2005. Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition* 59, 983–988.

Park SY, Song HB, Seon MJ, Yong BP, Soon JL, Tae SJ, et al. 2002. Effect of rutin and tannic acid supplements on cholesterol metabolism in rats. *Nut Res* 22: 283-95.

Patrick, L. 2006. The role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Altern Med Rev* 11(2): 114-127

Pinsirodom, P., Rungcharoen, J., dan Liumminful, A. 2010. Quality of commercial wine vinegars evaluated on the basis of total polyphenol content and antioxidant properties. *As. J. Food Ag-Ind.* 3 (04), 389-397.

Powers, S.K. dan Jackson, M.J. 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev* 88, 1243–1276.

Pratiwi, A., Elfita dan Aryawati, R. 2012. Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Sifat Fisik dan Kimia pada Pembuatan Minuman Kombucha dari Rumput Laut *Sargassum* sp. *Maspari Jurnal* Vol.4, No.1, 131-136.

Price, S.A. Willson, L.M.C., 1995. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi IV. Jakarta.

Purnamasari, D. 2009. Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus. Editor: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi Idrus, Simadibrata M, Setiati S. Dalam: Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid III. Edisi V. Jakarta: Interna Publishing. p. 1880.

- Putra, B.S. 2011. Kajian Pelapisan dan Suhu Penyimpanan Untuk Mencegah Busuk Buah Pada Salak Pondoh (*Salacca edulis* reinw.). Ipb. Bogor. [Tesis].
- Rahayu, T. 2005. Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) setelah Pemberian Cairan *Kombucha* Per-Oral. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi FKIP UMS* 6 (2): 85 – 100. Reece, W.O. 2005. *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals. USA: Lippincott Williams dan Wilkins.* pp470.
- Reddy KP, Singh AB, Puri A, Srivastava AK, Narender T. 2009. Synthesis of novel triterpenoid (lupeol) derivatives and their in vivo antihyperglycemic and antidyslipidemic activity. *J BMCL* 19: 4463-66.
- Riansari, 2008. (2008). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia.
- Rofiq, M. N. 2002. Pengaruh Inhibisi Teh Fermentasi *Kombucha* terhadap Bakteri *Salmonella pullorum* secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* Vol.4, No.5, (Agustus 2002), 186-189.
- Sacher RA, Mc Pherson RA. 2004. Tinjauan klinis hasil pemeriksaan laboratorium. Edisi II. Penerjemah: Brahm Pendit, Dewi Wulandari. Jakarta: EGC
- Sandberg, A.A. dan Hardt, P.D. 2008. Second Giessen International Workshop on Interactions of Exocrine and Endocrine Pancreatic Diseases. *Journal of Pancreas* 9 (4), 541-575.
- Sanger, F., Thompson, E.O.P., dan Kitai, R. 1955. The Amide Groups of Insulin. *Biochemical Journal* 59, 509-518.
- Sanmugapriya, E. and S. Venkataraman. 2006. Studies on hepatoprotective and antioxidant actions of *Strychnos potatorium* Linn. seeds on CCl₄ induced acute hepatic injury in experimental rats. *J. Ethnopharmacol.* 105(1-2): 154-160.
- Sargowo, D., 2002. Peranan Kadar Trigliserida dan Lipoprotein Sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner. Fakultas Kedokteran UNBRAU. Malang.
- Sarfat, M.S., Rahayuningsih, A., Suryani, D. Setyaningsih, 2013. Modifikasi Fermentasi Hidrolisat Asam *Eucheuma cottonii* Menjadi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Pachysolen tannophilus*. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 23 (3):199-209.
- Satriany, P. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Herba Daun Sendok (*Plantago Major* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Balb/C Induksi Streptozotocin. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. [Skripsi].

Sayyid, R.K. dan Fleshner, N.E. 2016. Diabetes Mellitus Type 2: A Driving Force for Urological Complications. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 27 (5), 249-261.

Scalbert, A., Johnson, I.T., dan Saltmarsh, M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 81(suppl), 215S–217S.

Schafer. E., Nelson. D., 2001. Using Cholesterol Test Results. <http://www.isu.org/17-treatingcholesterol/pdf>. (01 Agustus 2017).

Schottker B, Brenner H, Jansen E, Gardiner J, Peasey A, Kubinova R, et al. 2015. Evidence for the free radical/oxidative stress theory of ageing from the CHANCES consortium: A meta-analysis of individual participant data. *BMC Medicine*. 13:300

Schteingart, D.E., 2006. Pankreas: Metabolisme Glukosa dan Diabetes Melitus. Dalam: Sylvia A. P. dan Lorraine McCarty W, 2006. *Patofisiologi*. Edisi 6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1259-1274.

Semple, R.K. 2016. Carbohydrate Metabolism: Diabetes Mellitus, Genomic Aberrations. Di dalam *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.99433-9.

Setyawati, A. 2016. Pengaruh Pemberian Senyawa CrCl₃·6H₂O Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Dengan Streptozotocin Nicotinamide. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta. [Skripsi]

Simanjuntak, R., dan Siahaan N. 2011. Pengaruh Konsentrasi Gula dan Lama Fermentasi terhadap Mutu The Kombucha. Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen. Medan. 1 (2).

Snehalatha, Chamukuttan dan Ramachandran, Ambady. 2009. *Diabetes Melitus dalam Gizi Kesehatan Masyarakat*. Editor: Michael J Gibney, et al. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Soewondo, 2006. *Hidup Sehat dengan Diabetes*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 7-9.

Squires, J.E. 2003. *Applied Animal Endocrinology*. UK: CABI Publishing. pp 109.

Sreeramulu G, Zhu Y, Knol W (2000) Kombucha fermentation and its antimicrobial Activity. *J Agriculture Food Chemistry* 886: 65–73.

Srihari, T., Karthikesan, K., Ashokkumar, N., dan Satyanarayana, U. 2013. Antihyperglycaemic efficacy of kombucha in streptozotocin-induced rats. *Journal of Functional Foods* 5, 1794-1802.

Suarsana, I.N., Priosoeryanto, B.P., Bintang, M., dan Wresdiyati, T. 2010. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan. *JITV* 15 (2), 118-123.

Suartha, I.D.G. 2009. Implementasi Rencana Pemasaran Buah Salak dan Produk Olahannya. Fakultas Pertanian Universitas. Mahasaraswati Mataram. Vol 3 (9).

Subari, N.D. 2008. Hubungan Antara Dukungan Keluarga Dengan Keaktifan Penderita Diabetes Mellitus Dalam Mengikuti Senam di Klub Senam Diabetes Mellitus RS dr. Oen Solo Baru. Skripsi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta

Suci, M.J., Amir, Wungouw, H., dan Pangemanan, D. 2015. Kadar Glukosa Darah Sewaktu Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 di Puskesmas Bahu Kota Manado. Jurnal e-Biomedik (eBm), Vol 3 (1).

Suharti dan Suherman. 2007. Insulin dan Antidiabetik Oral dalam Farmakologi dan Terapi edisi ke-5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, pp:490-495.

Suiraka, IP. 2012. Penyakit Degeneratif, Nuha Medika. Yogyakarta.

Sulusi, Prabawati, Suyanti, Sjaifullah. 1996. Penentuan Ketuaan Panen untuk Mendapatkan Buah Salak Suwaru Bermutu Baik. J. Hort. G(3): 309-317.

Susanti, R.M. 2016. Analisis Aktivitas Antioksidan Teh Hitam Celup Menggunakan Metode Superoksida Dismutase (SOD). Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung. [Skripsi].

Sutandi, A. 2012. Self Management Education (DMSE) sebagai Metode Alternatif dalam Perawatan Mandiri Pasien Diabetes Melitus di dalam Keluarga. Widya: 29(323), 54-59.

Sutarni, M. 2002. Pengembangan Produk Kombucha Probiotik Berbahan Baku Teh Hijau Dan Teh Oolong. Departemen Ilmu Dan Teknologi Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor

Suwandi, T. 2012. Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosela Menurunkan Malondialdehid Pada Tikus Yang Diberi Minyak Jelantah. Universitas Udayana. Denpasar. [Tesis].

Syahbudin,S., 2009. Diabetes Melitus dan Pengelolaanya. Edisi 2. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2-8.

Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin-Nicotinamide Induced Diabetes in the Rat. Characteristics of the Experimental Model. Experimental Biology and Medicine. 237 (5): 481.

Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action of b-cells of the rat pancreas. Physiological Research 50, 537-546.

Taher, A. 2003. Peran fitoestrogen kedelai sebagai antioksidan dalam penanggulangan aterosklerosis. Institut Pertanian Bogor, Bogor. [Tesis]

Taku K, Umegaki K, Sato Y, Taki Y, Endoh K, Watanabe S. 2007. Soy isoflavones lower serum total and LDL cholesterol in humans: a metaanalysis of 11 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*; 85: 1148–56.

Tambayong, J. 2001. Anatomi dan Fisiologi Untuk Keperawatan. Cetakan I. Jakarta: EGC.

Tan HT, Rahardja K. 2007. Obat-obat penting 6th ed. Gramedia; Jakarta.

Tangvarasittichal, Surapon. 2015. Oxidative Stress, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Type 2 Diabetes Mellitus. *World Journal of Diabetes*. 6(3): 456-480.

Tanjung, R. Hamzah, F. dan Efendi R. 2016. Fermentation Time On The Quality Of The Tea Leaves Of The Soursop (*Annona muricata* L.). *JOM Faperta UR* .3 (2).

Tortora, J.G. 2009. Principles of Anatomy and Physiology. Edision 12. USA: JohnWiley and Sons. Inc.

Tortora, J.G. dan Derickson. 2006. Principles Of Anatomy and Physiology 11th Ed. Hoboken: John Wiley and Sons Inc.

Trisnawati Wayan, Mery Alam Tina Siaga, Nyoman Ngurah Arya, 2001. Penanganan Pasca Panen dan Pengolahan Buah Salak Bali. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Bali, Balitbang Pertanian, Departemen Pertanian

UK Prospective Diabetes Study Group, 1998. Effect of intensive blood glucose control with metformin on complication in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet*; 352:854-865.

Umarudin, R. Susanti, dan Ari Yuniastuti. 2012. Efektivitas Ekstrak Tanin Seledri Terhadap Profil Hiperkol esterolemi Lipid Tikus Putih. *Journal of Life Science*;1(2).

Uray, A.D. 2009. Profil Sel β Pulau Langerhans Jaringan Pankreas Tikus Diabetes Mellitus yang diberi Virgin Coconut Oil (VCO). Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. [Skripsi].

Vinson, J. A. dan Hontz, B. A. 1995. Phenol Antioxidant Index: Comparative Antioxidant Effectiveness of Red and white Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43 (2), 401-403.

Wapadji, S. 2005. Pertanyaan Pasien dan Jawabannya Tentang Diabetes. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Widyaningsih, T.D. dan Adrianty, S. 2014. Pengaruh Teh Herbal Berbasis Kulit Salak (*Sallaca Edulis*) terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Profil Lipid Tikus Wistar Jantan Diabetes Melitus Yang Diinduksi Aloksan. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang

- Wijaya, A.A. 2010. Perbedaan Profil Lipid Antara Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 dengan Hipertensi dan tanpa Hipertensi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. [Skripsi].
- Wilcox, G. 2005. Insulin and Insulin Resistance. *Clin Biochem Rev* 26, 9-39.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., dan King, H. 2004. Global prevalence of diabetes, Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27 (5), 1047-1053.
- Wildman, REC (eds). 2001. *Handbook of Nutraceuticals and Functional Food*. Boca Raton : CRC Press.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Cetakan ke 2 , Kanisnus Yogyakarta. p. 50-5.
- Wistiani, D., dan Zubaidah, E. 2015. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(4), 1446-1457.
- Yanita, B., dan Kurniawati, E. 2016. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diabetes Melitus Tipe II. *Jurnal Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*. 5 (1), 27.
- Yang, J., Paulino, R., Janke-Stedronsky, S., dan Abawi F. 2007. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia L.*) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry* 102, 302–308.
- Zainuri M, Wanandi SI 2012. Aktivitas Spesifik Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD) dan Katalase pada Hati Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya dengan Kerusakan Oksidatif. *Media Litbang Kesehatan*. 22 (2): 87-92.
- Zern, T. L., and Fernandez, M. L. 2005. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J. Nutr.* 135: 2291-2294
- Zhang, H. dan Tsao, R. 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science* 8, 33–42.
- Zimmet, P.Z. dan Alberti, G. 2005. The Metabolic Syndrome: Perhaps an Etiologic Mystery but Far From a Myth -- Where Does the International Diabetes Federation Stand? *Medscape Diabetes & Endocrinology* 7 (2)
- Zubaidah, E. dan Dewantari, F.J. 2016. Karakteristik Fisikokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dengan Berbagai Varietas Buah Salak (*Salacca zalacca*). Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. [Skripsi]
- Zubaidah, E. dan Novitasari, F.R. 2016. Karakteristik Fisikokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Kombucha dari Berbagai Varietas Buah Salak (*Salacca zalacca*). Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. [Skripsi]

Zubaidah, E. dan Apriyanto, T.I. (2017). Potensi Kombucha Salak Suwaru sebagai Agen Terapi Hiperglikemia pada Model Tikus Diabetes Mellitus. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. [Tesis]

Zubaidah, E. dan Tantrayana, P.B. 2015. Karakteristik Fisik- Kimia Dari Ekstrak Salak Gula Pasis Dengan Metode Maserasi. J. Pangan dan Agroindustri. 3 (4), 1608-1619.

Zubaidah, E. dan Japlin, A. 2015. Studi Aktivitas Antioksidan Cuka Salak dari Berbagai Varietas Buah Salak (*Salacca zalacca*). Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. [Skripsi]

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LAMPIRAN

Lampiran 1. Metode Analisis Kombucha

Analisa pH (AOAC, 1995)

Analisa pH dilakukan dengan menggunakan pH meter

- Sebanyak 30 ml sampel diambil dan ditempatkan dalam beker glass ukuran 50 ml
- Sebelum digunakan, alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan buffer pH 7 dan 4 lalu dibersihkan dengan aquades, selanjutnya dilakukan pengukuran pH sampel
- Setiap kali akan mengukur pH sampel lain, sebelumnya pH meter dibersihkan dengan aquades

Analisa Total Asam (AOAC, 1995)

Standarisasi larutan NaOH 0,1 N (BM: 40):

- Ditimbang 0,1 g asam oksalat ($C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$)
- Dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 25 ml aquades, dilarutkan
- Ditambahkan indikator phenoftalen 1% sebanyak 2-3 tetes
- Dititrasi dengan larutan NaOH sampai terbentuk warna pink

Perhitungan:

$$N \text{ NaOH} = \frac{\text{massa asam oksalat (gram)} \times 2}{0,126 \times \text{volume NaOH (ml)}}$$

Penentuan total asam:

- 10 g sampel diambil dan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml
- Ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan dan disaring dengan kertas saring
- Filtrat diambil sebanyak 20 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- Ditambahkan indikator phenoftalen 1% sebanyak 2-3 tetes
- Dititrasi dengan menggunakan NaOH 0,1N sampai terbentuk warna pink

Perhitungan:

$$\% \text{ total asam} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{BE asam asetat} \times \text{faktor pengenceran} \times 100\%}{\text{ml sampel} \times 1000}$$

Ket: BE Asam Asetat adalah 60

Analisa Total Gula (AOAC, 1995)

Pereaksi:

- *Anthrone* 0,1% dalam H₂SO₄ pekat [dibuat pada hari akan digunakan]
- Larutan glukosa standar 0,1 mg/ml (larutkan 10 mg glukosa anhidrat dalam 100 ml aquades).

Penentuan kurva standar:

1. Pipet ke dalam tabung reaksi bertutup larutan glukosa standar sebanyak 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 ml. Tambahkan aquades sampai total volume masing-masing tabung reaksi 1 ml
2. Tambahkan dengan cepat 5 ml pereaksi *anthrone* ke dalam masing-masing tabung reaksi
3. Tutup tabung reaksi dan divortex
4. Panaskan dengan air mendidih selama 12 menit
5. Dinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir
6. Pindahkan ke dalam kuvet dan baca absorbansinya dengan panjang gelombang 630 nm
7. Buat kurva hubungan antara absorbansi (sumbu y) dengan konsentrasi glukosa (sumbu x)

Persiapan sampel:

1. 5 ml sampel dimasukkan dalam labu ukur 100 ml
2. Ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan
3. Dituang ke dalam erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan 1 g CaCO₃, diaduk dan ditutup alufo
4. Dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit dan didinginkan
5. Disaring dengan kertas saring
6. Jika masih ada endapan, maka sampel perlu disaring kembali dengan menambahkan Pb-asetat sebanyak 2 ml kemudian ditambahkan 1 g Na-oksalat untuk mengendapkan Pb

Penentuan total gula:

1. Ambil setiap 1 ml larutan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan dengan cepat pereaksi *anthrone* 0,1% dalam H₂SO₄ pekat. Untuk sampel yang terlalu pekat harus diencerkan dulu
2. Tutup tabung, vortex, dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 12 menit
3. Dinginkan dengan cepat dengan air mengalir
4. Baca pada panjang gelombang 630 nm dan catat hasil pembacaan

Analisa Total Padatan Terlarut (AOAC, 1995)

1. Sampel diambil dengan menggunakan pipet tetes
2. Diletakkan pada prisma refraktometer
3. Nilai hasil pengukuran ditentukan dengan melihat skala yang tertera pada refraktometer

Analisa Total Fenol (Modifikasi Yang *et al.*, 2007)

Penentuan kurva standar:

1. Larutkan 10 mg asam galat dalam 100 ml aquades (larutan A, 100 mg/l)
2. Pembuatan larutan standar dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/l dengan cara mengencerkan larutan A sebanyak 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 ml dengan aquades hingga volume 1 ml
3. Diambil 1 ml filtrat, dimasukkan dalam tabung reaksi
4. Ditambahkan 1,5 ml reagen Folin Ciocalteau 10% dan 1,5 ml Na_2CO_3 6%, vortex, dan diinkubasi pada suhu ruang selama 90 menit
5. Diukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 750 nm
6. Hasil absorbansi di plot sebagai kurva standar

Penentuan total fenol sampel:

1. Sampel diencerkan sesuai kebutuhan
2. Diambil 1 ml filtrat, dimasukkan dalam tabung reaksi
3. Ditambahkan 1,5 ml reagen Folin Ciocalteau 10% dan 1,5 ml Na_2CO_3 6%, vortex, dan diinkubasi pada suhu ruang selama 90 menit
4. Diukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 750 nm
5. Tentukan total fenol berdasarkan kurva standar asam galat, nyatakan sebagai GAE

Analisa Kadar Tanin (Modifikasi AOAC, 1995)

Pembuatan kurva standar:

1. Larutan standar asam tanat dibuat dengan konsentrasi 100 mg/L, lalu dibuat seri pengenceran 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L
2. Masukkan 1 ml setiap pengenceran ke tabung reaksi yang telah berisi 7,5 ml aquades
3. Tambahkan 0,5 ml pereaksi Folin Ciocalteau 10% dan 1 ml Na_2CO_3 6%
4. Vortex, lalu diamkan 30 menit
5. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm

Analisis sampel:

1. Filtrat jernih sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 7,5 ml aquades
2. Tambahkan 0,5 ml pereaksi Folin Ciocalteau 10% dan 1 ml Na_2CO_3 6%
3. Vortex, lalu diamkan 30 menit
4. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm
5. Hitung kadar tanin berdasarkan kurva standar, nyatakan sebagai TAE

Analisa Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Modifikasi Pinsirodom *et al.*, 2010)

1. Encerkan sampel sesuai kebutuhan, saring dengan kertas saring
2. Sampel dipipet menggunakan mikro pipet sebanyak 100 μl dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 3 ml etanol 96%
3. Ditambahkan 1 ml DPPH 0,2 mM dalam etanol, ditutup, lalu divortex
4. Dibiarkan selama 30 menit dalam ruang gelap suhu ruang
5. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm terhadap blanko etanol 96%
6. Kontrol dibuat berdasarkan prosedur di atas, sampel diganti dengan aqua demin
7. Aktivitas penghambatan dihitung menurut persamaan:

$$\text{Aktivitas Penghambatan (\%)} = [1 - (\text{Abs Sampel}/\text{Abs Kontrol})] \times 100\%$$

Lampiran 2. Prosedur Pengukuran Kadar Glukosa Darah, SOD, MDA dan Profil Lipid Tikus Percobaan

Pengukuran Glukosa Metode Biosensor Glucose Oxidase (Suarsana *et al.*, 2010)

1. Darah diambil dari ujung ekor tikus yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%.
2. Diurut berlahan-lahan selanjutnya ujung ekor ditusuk dengan jarum kecil (*syringe* 1 cc).
3. Darah yang keluar kemudian disentuhkan pada strip glukometer.
4. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar *Blood Glucose Test Meter* setelah 11 detik dan dinyatakan dalam mg/dL.

Pengukuran SOD (Modifikasi Bannister dan Calabrese, 1987)

SOD dapat membentuk senyawa berwarna ungu yang dapat diukur intensitas warnanya dengan menggunakan spektrofotometer.

1. Serum diperoleh dengan mensentrifuse darah tikus dengan kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit..
2. Serum 200 μ l dimasukkan dalam tabung reaksi.
3. Ditambah dengan EDTA 100 mM 200 μ l, NBT 100 μ l, Xantine 100 μ l, Xantine Oxidase 100 μ l, lalu di vortex.
4. Sentrifuse dengan kecepatan 3.000 rpm selama 5 menit, disaring bila terdapat koloid.
5. Ambil supernatan dan tepatkan dengan aquades hingga volume 3 ml, lalu dibaca absorbansinya melalui spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm.

Pengukuran MDA metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) (Modifikasi Rael *et al.*, 2004)

MDA dapat membentuk senyawa MDA-TBA berwarna merah jambu yang dapat diukur intensitas warnanya dengan menggunakan spektrofotometer.

1. Serum diperoleh dengan mensentrifuse darah tikus dengan kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit.
2. Serum 200 μ l dimasukkan dalam tabung reaksi.

3. Ditambah dengan TCA 40% sebanyak 2,5 kali volume (500 µl) lalu divortex. TCA digunakan untuk denaturasi protein.
4. Ditambah HCl 1 N 200 µl untuk menstabilkan pH.
5. Ditambah aquades 500 µl agar ketika dipanaskan tidak terlalu kering.
6. Ditambah TBA 1% sebanyak 100 µl sebagai katalisator dan penunjuk warna merah muda.
7. Dimasukkan ke dalam heater 100°C dalam kondisi air sudah mendidih selama 25 menit, lalu didinginkan 15 menit.
8. Sentrifuse 10 menit 3000 rpm.
9. Pelet dibuang sedangkan supernatan diambil untuk dipindahkan ke dalam tabung lain.
10. Ditambah aquades sampai 3 ml lalu dibaca absorbansinya melalui spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm.

Pengukuran Profi Lipid

1. Analisa Total Kolesterol (Metode Enzymatic Colorimetric Test)

Pengukuran total kolesterol menggunakan CHOD-PAP yang direkomendasikan oleh *European Society*. Prosedur analisisnya adalah :

- 0,01 ml serum + 1 ml reagen
- Dicampur (divortex)
- Diinkubasi pada suhu 37°C, 10 menit
- Dibaca absorbansi pada λ 500 nm

2. Analisa Trigliserida (Metode Enzymatic Colorimetric Test)

Pengukuran trigliserida menggunakan GDO-PAP. Prosedur analisisnya adalah sebagai berikut :

- 0,01 ml serum + 1 ml reagen
- Dicampur (divortex)
- Diinkubasi pada suhu 37°C, 10 menit
- Dibaca absorbansi pada λ 500 nm
- Kadar trigliserida (mg/dl) = (absorbansi sampel/absorbansi standar)x200

3. Analisa High Density Lipoprotein (Metode Enzymatic Colorimetric Test)

Pengukuran HDL kolestrol menggunakan CHOD-P. Pemberian asam fosfotungstat dan magnesium klorida ke dalam sampel maka kilomikron, VLDL

dan LDL akan mengendap. Setelah disentrifugasi, di dalam cairan supernatant mengandung fraksi HDL yang kadarnya dapat ditentukan dengan metode enzimatik. Prosedur analisisnya adalah sebagai berikut :

- 200 c serum + 500 µl reagen presipitasi
- Dicampur (divortex)
- Diinkubasi suhu kamar selama 15 menit
- Disentrifugasi 2500 rpm selama 20 menit
- 100 µl supernatant + 1 ml reagen
- Diinkubasi pada suhu 37°C, 10 menit
- Dibaca absorbansi pada λ 500 nm

4. Analisa LDL

Kadar LDL dihitung secara langsung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar LDL} = \text{Total Kolesterol} - (\text{HDL} + \text{TG}/5)$$

Dengan asumsi TG/5 merupakan VLDL



Lampiran 3. Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia Jaringan Pankreas

1. Fiksasi

Sediaan organ pankreas direndam dalam larutan *buffer neutral formalin* (BNF) 10%. Kemudian dilakukan pemotongan (*trimming*) dengan ketebalan ± 3 mm dan dimasukkan ke dalam kaset.

2. Dehidrasi

Jaringan yang berada di dalam kaset dimasukkan ke dalam *tissue processor* untuk dilakukan dehidrasi. Proses dehidrasi dilakukan menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat yang terdiri dari alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, alkohol absolut I, alkohol absolut II, dan alkohol absolut III. Selanjutnya dijernihkan (*clearing*) dengan memasukkan sediaan ke dalam xylol I, xylol II, dan xylol III.

3. Perendaman (*Embedding*) dan Pencetakan (*Blocking*)

Sediaan yang telah didehidrasi ditanam dalam cetakan yang telah diisi parafin cair setengah dari volumenya dan sebelum membeku ditambahkan lagi dengan parafin cair sampai penuh lalu didinginkan pada *cold plate*. Hasil cetakan yang sudah mengeras dikeluarkan dari cetakan dan blok yang diperoleh dapat disimpan dalam refrigerator sampai siap untuk dipotong dengan mikrotom.

4. Pemotongan

Sediaan dalam blok parafin dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-5 μ m hingga berbentuk seperti pita dan diletakkan di atas permukaan air hangat untuk mencegah terjadinya lipatan pada pita. Sediaan selanjutnya diletakkan di atas gelas objek dan dikeringkan pada suhu ruang.

5. Pewarnaan Imunohistokimia

a. Tahapan yang dilakukan dalam pewarnaan imunohistokimia dimulai dengan proses deparafinisasi, yaitu penghilangan parafin dengan memasukkan preparat ke dalam seri larutan xylol III, xylol II, dan xylol I masing-masing 3 menit.

b. Tahapan selanjutnya adalah proses rehidrasi, yaitu dengan memasukkan preparat ke dalam seri larutan alkohol 90%, 80%, sampai alkohol 70% secara berurutan masing-masing 3 menit, lalu cuci dengan air mengalir selama 3 menit.

- c. Masukkan dalam H₂O₂ dalam metanol 0,5% selama 20 menit untuk menghilangkan peroksidase endogen, lalu cuci dengan air mengalir selama 3 menit.
- d. Antigen retrieval, rendam dalam arutan DIVA, panaskan dalam *decloaking chamber*, lalu dinginkan pada suhu ruang selama 20-30 menit.
- e. Rendam dalam BPS 2-5 menit.
- f. Letakkan slide dalam *moisture chamber* dan beri pembatas sekeliling sediaan dengan PAP pen, teteskan *background sniper* 10-15 menit.
- g. Teteskan antibodi primer, inkubasi suhu ruang selama 60 menit, lalu cuci dengan BPS 3-5 menit.
- h. Teteskan antibodi sekunder, inkubasi 10 menit, lalu cuci dengan BPS 3-5 menit.
- i. Teteskan trekavidin-hrp label, inkubasi 10 menit, lalu cuci dengan BPS 3-5 menit.
- j. Teteskan *diamino benzidine* (DAB), inkubasi 3 menit, lalu cuci dengan air mengalir selama 5-7 menit.
- k. *Counterstain* dengan mayers haematoxilin 2-3 menit, kemudian rendam dalam lithium karbonat jenuh 2-3 menit, lalu cuci dengan air mengalir selama 5-7 menit
- l. Dehidrasi dengan alkohol 80%, 90%, dan absolut lalu dilanjutkan dengan xylol I, xylol II, dan xylol III masing-masing selama 3 menit.
- m. *Mounting*.

6. Pengamatan

Slide imunohistokimia diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran objektif 40x. Kuantifikasi dilakukan dengan menghitung jumlah sel beta yang mengekspresikan insulin dari 5 buah pulau langerhans dari tiap sampel (Modifikasi Suarsana *et al.*, 2010).

Lampiran 4. Surat Keterangan Laik Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK "ETHICAL CLEARENCE"

No: 749-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH DIET DENGAN MINUMAN KOMBUCHA
SALAK TERHADAP PENURUNAN GLUKOSA DARAH,
HISTOPATOLOGI PANKREAS DAN PROFIL LIPID TIKUS
WISTAR DIABETUS MELITUS

PENELITI : CHAIRUL ANAM AFYANI
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 31 Mei 2017

Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 5. Data Hasil Analisa Karakteristik Kimia pada Kombucha

1. Data Pengukuran pH

Jenis Kombucha	Hari ke-	Ulangan	Nilai pH			Selisih
			Hasil	Rerata	Sd	
Teh Hitam	0	1	5.02	4.77	0.261024	-1.70
		2	4.80			
		3	4.50			
	14	1	3.20	3.08	0.107858	
		2	3.03			
		3	3.00			
Salak Suwaru	0	1	3.73	3.91	0.190788	-0.69
		2	4.11			
		3	3.89			
	14	1	3.26	3.22	0.092916	
		2	3.28			
		3	3.11			

2. Data Pengukuran TPT

Jenis Kombucha	Hari ke-	Ulangan	TPT (° Brix)			Selisih
			Hasil	Rerata	Sd	
Teh Hitam	0	1	10.00	9.90	0.10	-1.77
		2	9.80			
		3	9.90			
	14	1	8.20	8.13	0.06	
		2	8.10			
		3	8.10			
Salak Suwaru	0	1	14.00	13.93	0.06	-1.05
		2	13.90			
		3	13.90			
	14	1	12.95	12.88	0.08	
		2	12.80			
		3	12.90			

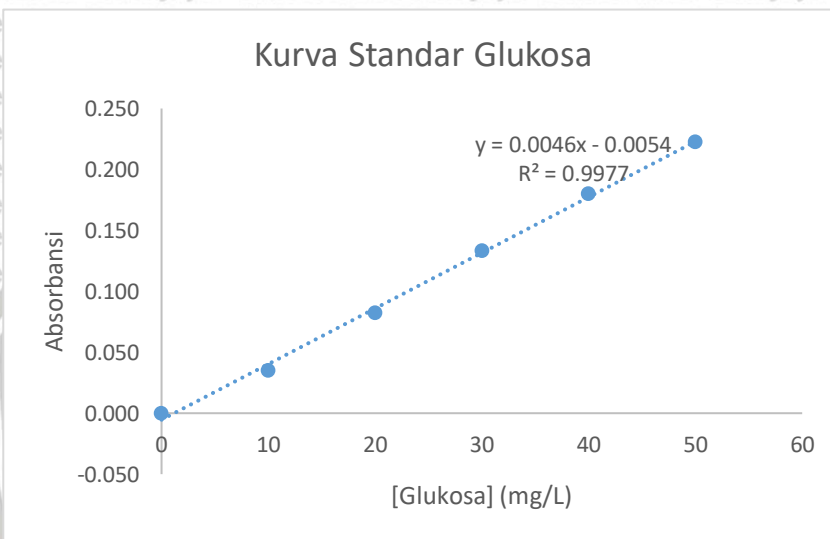
3. Data Pengukuran Total Asam

Jenis Kombucha	Hari ke-	Ulangan	P	Total Asam (% m/v)			Selisih
				Hasil	Rerata	sd	
Teh Hitam	0	1	1	0.06	0.05	0.09	0.04
			2	0.03			
			3	0.05			
		2	1	0.09	0.09		
			2	0.15			
			3	0.15			
	14	3	1	0.09	0.09	0.33	
			2	0.09			
			3	0.09			
		1	1	0.36	0.35		
			2	0.36			
			3	0.33			
Salak Suwaru	0	2	1	0.51	0.49	0.42	0.07
			2	0.48			
			3	0.48			
		3	1	0.41	0.41		
			2	0.39			
			3	0.42			
	14	1	1	1.08	0.73	0.57	0.14
			2	0.57			
			3	0.54			
14	2	1	0.42	0.47			
		2	0.50				
		3	0.48				
	3	1	0.48	0.51			
		2	0.54				
		3	0.51				
Salak Suwaru	1	1	1.62	1.74	1.56	0.17	
		2	1.80				
		3	1.80				
	3	1	1.41	1.54			
		2	1.41				
		3	1.38				
	14	1	1	1.54			1.54
			2	1.48			
			3	1.60			

4. Data Pengukuran Total Gula

Kurva Standar

[Glukosa] (mg/L)	Absorbansi			
	U1	U2	U3	Rata-rata
0	0,000	0,000	0,000	0,000
10	0,036	0,039	0,030	0,035
20	0,074	0,084	0,088	0,082
30	0,144	0,127	0,129	0,133
40	0,189	0,176	0,175	0,180
50	0,232	0,217	0,218	0,222



Total Gula Kombucha

Jenis Kombucha	Hari ke-	Ulangan	Total Gula (%)			Selisih
			Hasil	Rerata	sd	
Teh Hitam	0	1	10.03	9.06	1.013	-2.29
		2	9.15			
		3	8.01			
	14	1	6.50	6.78	0.062	
		2	7.38			
		3	6.45			
Salak Suwaru	0	1	10.50	10.07	0.441	-2.31
		2	9.62			
		3	10.10			
	14	1	7.73	7.76	0.029	
		2	7.78			
		3	7.78			

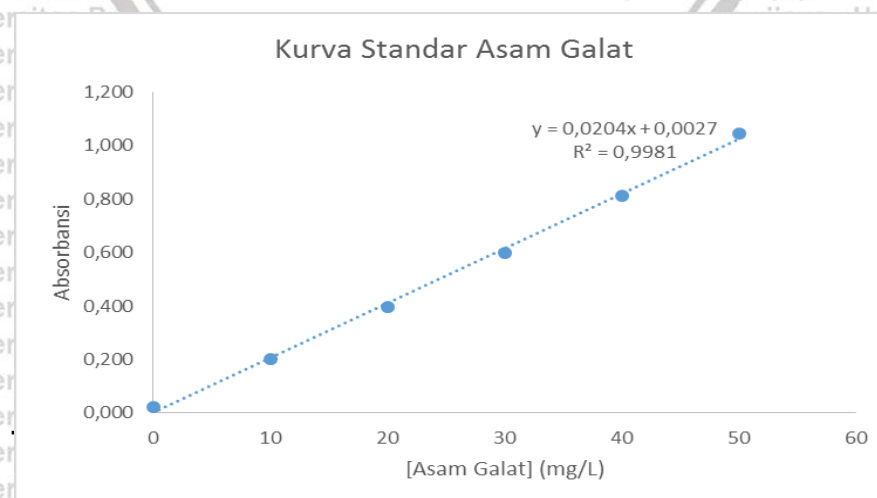
5. Data Pengukuran Aktivitas Antioksidan DPPH

Jenis Kombucha	Hari ke-	Ulangan	Aktivitas Antioksidan DPPH (%)			Selisih
			Hasil	Rerata	sd	
Teh Hitam	0	1	74.89	79.82	4.94	9.51
		2	84.76			
		3	79.81			
	14	1	90.46	89.33	1.25	
		2	87.99			
		3	89.53			
Salak Suwaru	0	1	85.17	86.38	1.18	5.35
		2	87.53			
		3	86.44			
	14	1	88.84	91.73	3.64	
		2	90.53			
		3	95.81			

6. Data Pengukuran Total Fenol

Kurva Standar

[Asam Galat] (mg/L)	Absorbansi			
	U1	U2	U3	Rata-rata
0	0,033	0,014	0,021	0,023
10	0,208	0,210	0,207	0,184
20	0,411	0,409	0,422	0,344
30	0,631	0,640	0,633	0,496
40	0,851	0,849	0,856	0,693
50	1,084	1,118	1,115	0,864

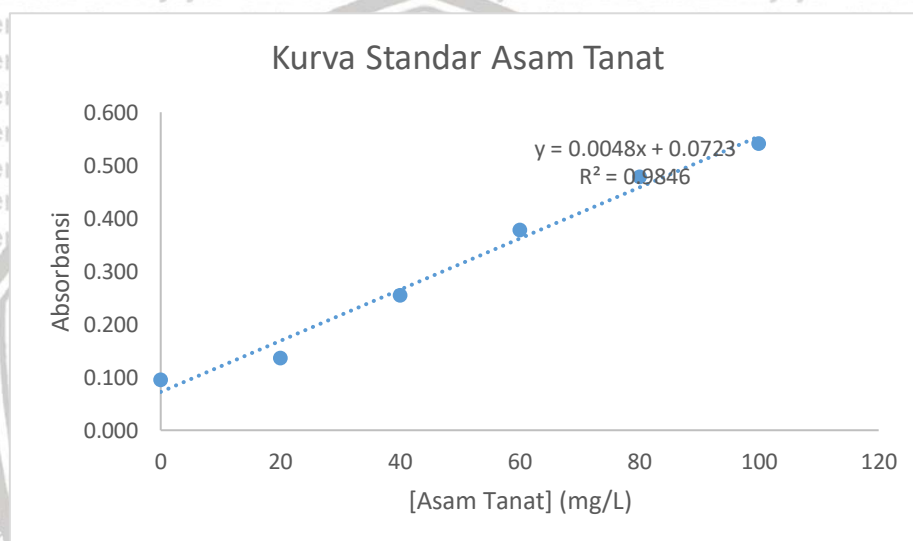


Jenis Kombucha	Hari ke-	Ulangan	P	Total Fenol (mg/L GAE)			Selisih
				Hasil	Rerata	sd	
Teh Hitam	0	1	1	723.82	733.30	661.51	232.17
			2	751.27			
			3	724.80			
		2	1	857.16	849.31		
			2	840.49			
			3	850.29			
	14	3	1	404.22	401.93	967.79	290.67
			2	383.63			
			3	417.94			
		1	1	589.51	632.65		
			2	648.33			
			3	660.10			
Salak Suwaru	0	2	1	1100.29	1119.58	857.59	80.05
			2	1134.61			
			3	1123.82			
		3	1	1201.17	1151.15		
			2	1131.60			
			3	1120.69			
	14	1	1	969.90	922.84	964.37	58.33
			2	935.59			
			3	863.04			
		2	1	871.86	881.67		
			2	892.45			
			3	880.69			
3	3	1	755.20	768.27	997.43		
		2	765.98				
		3	783.63				
	1	1	889.51	897.03			
		2	911.08				
		3	890.49				
2	1	1024.80	998.66				
	2	995.39					
	3	975.78					
3	1	997.45	997.43				
	2	1004.97					
	3	989.86					

7. Data Pengukuran Total Tannin

Kurva Standar

[Asam Tanat] (mg/L)	Absorbansi			
	U1	U2	U3	Rata-rata
0	0,090	0,080	0,120	0,090
20	0,140	0,136	0,141	0,127
40	0,254	0,265	0,262	0,234
60	0,392	0,387	0,401	0,331
80	0,491	0,491	0,489	0,438
100	0,538	0,537	0,553	0,534

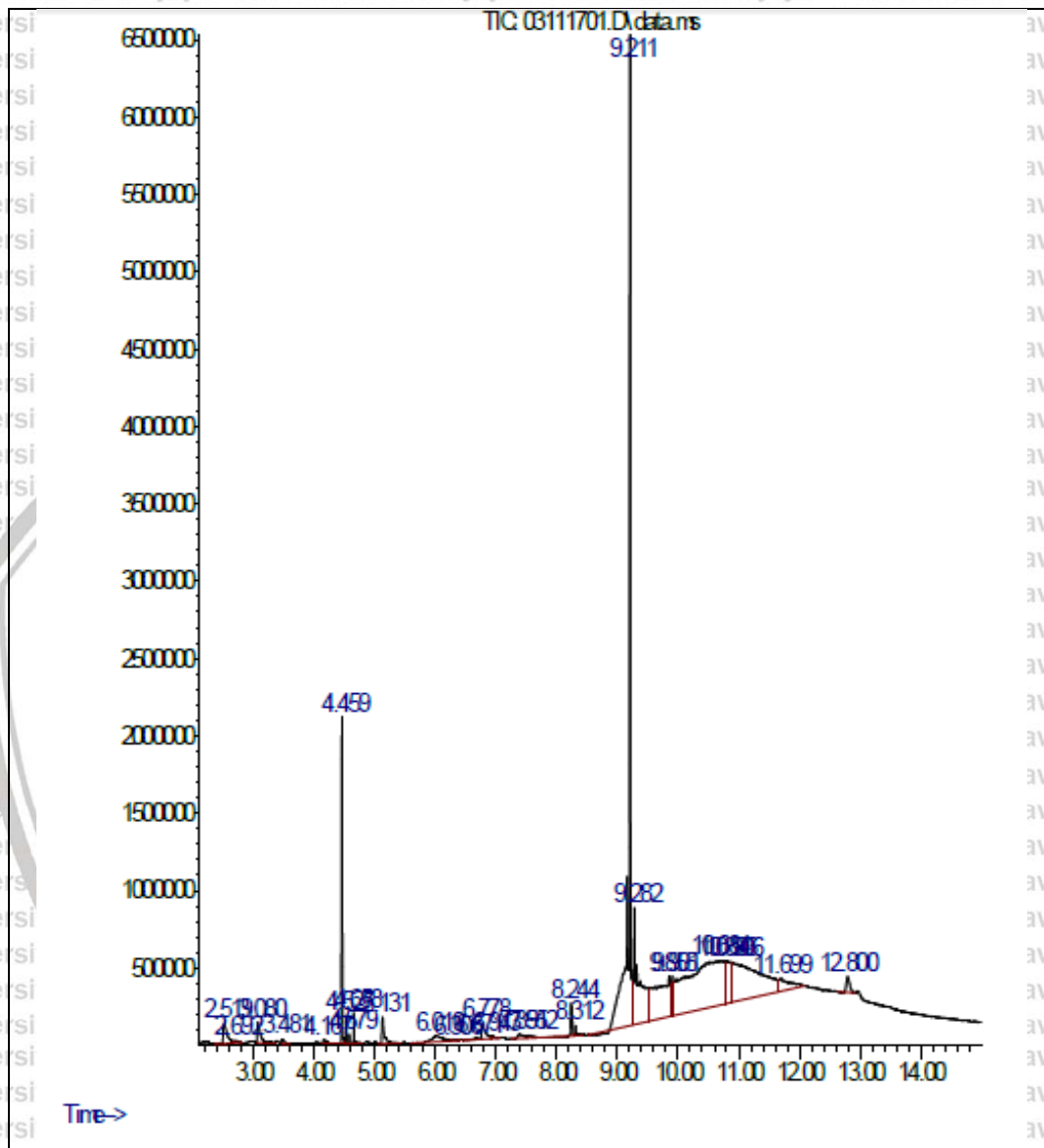


Total Tannin Kombucha

Jenis Kombucha	Hari ke-	Ulangan	Total Tanin			Selisih
			Hasil	Rerata	sd	
Teh Hitam	0	1	466.24	530.89	82.51	173.98
		2	623.82			
		3	502.60			
	14	1	736.92	704.87	32.25	
		2	705.26			
		3	672.42			
Salak Suwaru	0	1	505.00	496.67	7.64	31.51
		2	495.00			
		3	490.00			
	14	1	632.00	619.00	39.15	
		2	650.00			
		3	575.00			

Lampiran 6. Hasil Analisis Komponen Bioaktif Senyawa Terduga Menggunakan GC-MS.

1. Kromatogram GC-MS Senyawa Bioaktif pada Kombucha Teh



Pk# RT Area% Library/ID Ref# CAS# Qual

6	4.459	3.60	C:\Database\NIST02.L			
			Hexane	1796	000110-54-3	86
			Hexane	1795	000110-54-3	78
			Pentane, 3-methyl-	1799	000096-14-0	45

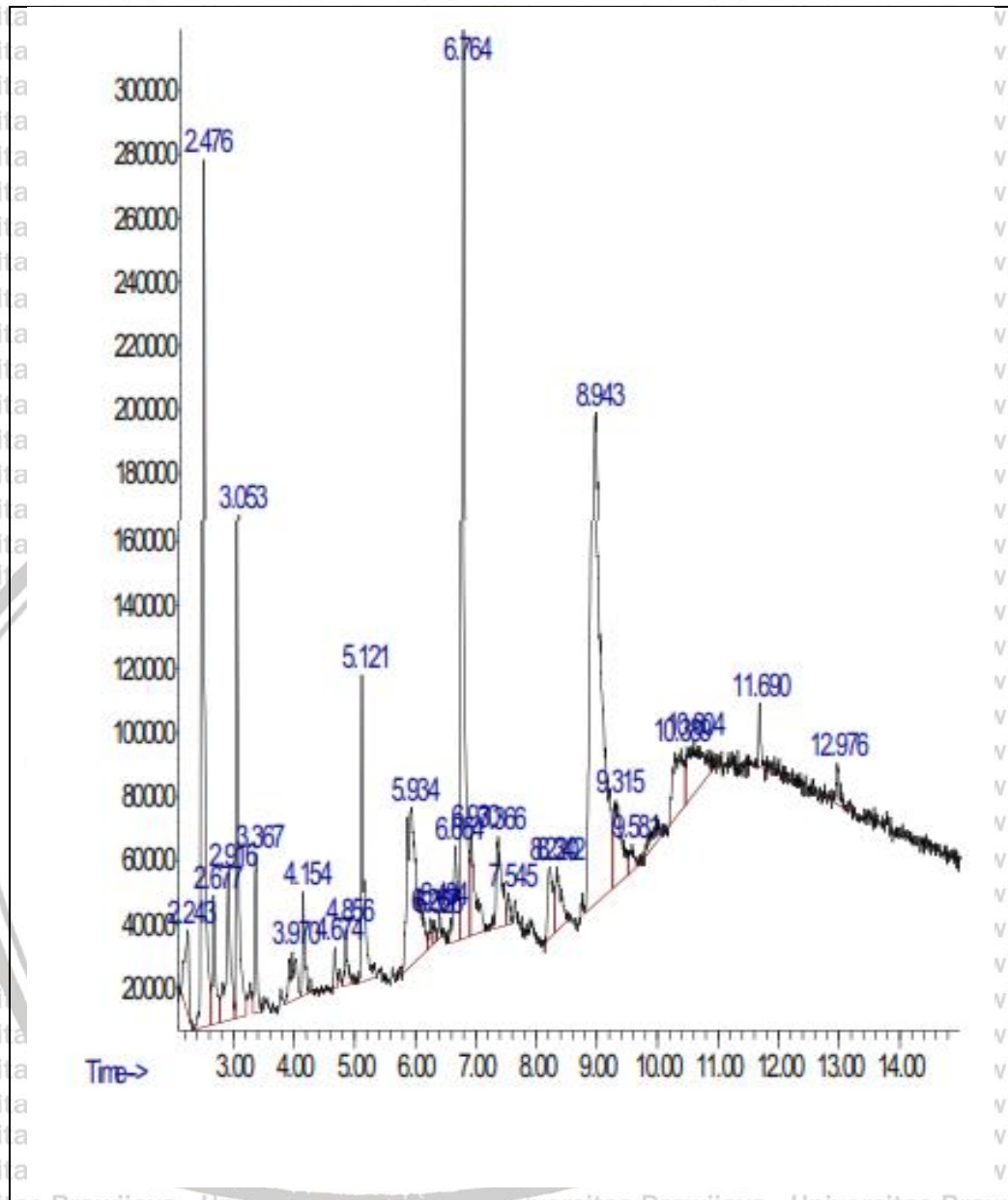
10 5.134 1.01 C:\Database\Wiley275.L
 URACIL, 1-N-METHYL- \$\$ 1-METHYL-2, 17418 000000-00-0 64
 4-(1H,3H)PYRIMIDINDIONE
 Phloroglucinol \$\$ 1,3,5-Benzenetri 17522 000108-73-6 50
 ol (CAS) \$\$ BENZENE, 1,3,5-TRIHYDR
 OXY \$\$ Benzene-s-triol \$\$ Phlorogl
 ucin \$\$ sym-Trihydroxybenzene \$\$ 1
 ,3,5-Trihydroxybenzene \$\$ Phlorogl
 ucine \$\$ s-Trihydroxybenzene \$\$ Be
 nzene, trihydroxy \$\$ Benzene, 1,3,
 5-trihydroxy- \$\$
 2,4(1H,3H)-Pyrimidinedione, 5-meth 17425 000065-71-4 39
 yl- (CAS) \$\$ Thymin \$\$ 5-Methylura
 cil \$\$ Thymine \$\$ Thymine anhydrat
 e \$\$ 2,4-Dihydroxy-5-methylpyrimid
 ine \$\$ 4-hydroxy-5-methoxypyrimidi
 ne \$\$ Thymin (purine base) \$\$ 5-Me
 thyl-2,4-dihydroxypyrimidine \$\$ 5-
 Methyl-2,4(1H,3H)

14 6.780 0.89 C:\Database\NIST02.L
 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxym 10771 000067-47-0 93
 ethyl)-
 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxym 10770 000067-47-0 87
 ethyl)-
 Benzenemethanol, 3-fluoro- 10935 000456-47-3 59

24 10.683 27.59 C:\Database\Wiley275.L
 .beta.-D-Glucopyranose, 4-O-.beta. 206575 005965-66-2 72
 -D-galactopyranosyl- \$\$ Lactose, .
 beta.- \$\$.beta.-Lactose
 .alpha.-D-Glucopyranoside, .beta.- 206571 000057-50-1 50
 D-fructofuranosyl (CAS) \$\$ Sucrose
 \$\$ Sugar \$\$ Microse \$\$ Amerfond \$
 \$ D-Sucrose \$\$ Saccharum \$\$ Beet s
 ugar \$\$ Rock candy \$\$ Saccharose \$
 \$ Cane sugar \$\$ Granulated sugar \$
 \$ White sugar Enovit M \$\$ Confecti
 oner's sugar \$\$.
 D-Glucose (CAS) \$\$ Glucose \$\$ Cart 63822 000050-99-7 47
 ose \$\$ Cerelose \$\$ Glucolin \$\$ Dex
 trose \$\$ Dextropur \$\$ D Glucose \$\$
 Dextrosol \$\$ Corn sugar \$\$ Grape
 sugar \$\$ Sugar, grape \$\$ D(+)-Gluc
 ose \$\$ D-(+)-Glucose \$\$ Anhydrous
 dextrose \$\$.alpha.-d-glucose \$\$ c
 omponent of Kadal

28 12.798 0.81 C:\Database\NIST02.L
 Caffeine 52317 000058-08-2 90
 Caffeine 52320 000058-08-2 78
 Caffeine 52318 000058-08-2 78

2. Kromatogram GC-MS Senyawa Bioaktif pada Kombucha Salak Suwaru



Pk# RT Area% Library/ID Ref# CAS# Qual

Pk#	RT	Area%	Library/ID Ref#	CAS#	Qual
1	2.241	1.62	C:\Database\Wiley275.L		
			Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	(CAS 106845 000541-05-9 74	
) \$\$ 1,1,3,3,5,5-HEXAMETHYL-CYCLOH		
			EXASILOXANE \$\$ Hexamethylcyclotris		
			iloxane \$\$ HEXAMETHYL-CYCLOTRISILO		
			XANE \$\$ Dimethylsiloxane cyclic tr		
			imer		
			BENZENE, 1,4-BIS(TRIMETHYLSILYL)-	107558 000000-00-0 64	
			4' METHYL-2 PHENYLINDOLE	92601 000000-00-0 59	

6 3.367 1.68 C:\Database\Wiley275.L

1,3-Cyclopentanedione (CAS) \$\$ 1,3 5552 003859-41-4 72

-Cyclopentadione \$\$ CYCLOPENTAN-1,
3-DIONE

1,3-Cyclopentanedione (CAS) \$\$ 1,3 5551 003859-41-4 72

-Cyclopentadione \$\$ CYCLOPENTAN-1,
3-DIONE

2-Hydroxycyclopent-2-en-1-one 5583 000000-00-0 64

7 3.968 1.44 C:\Database\Wiley275.L

N-ethyl-1,3-dithioisindoline \$\$ 1 92199 035373-06-9 78

H-Isindole-1,3(2H)-dithione, 2-et

hyl-

3,4,4-D3-TRANS-3,5-DIHYDROXY-CYCLO 6557 040524-93-4 35

PENTENE

Cyclotrisiloxane, hexamethyl- (CAS 106848 000541-05-9 22

) \$\$ 1,1,3,3,5,5-HEXAMETHYL-CYCLOH

EXASILOXANE \$\$ Hexamethylcyclotris

iloxane \$\$ HEXAMETHYL-CYCLOTRISILO

XANE \$\$ Dimethylsiloxane cyclic tr

lmer

17 6.762 12.25 C:\Database\NIST02.L

2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)- 10771 000067-47-0 95

2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)- 10770 000067-47-0 91

Benzenemethanol, 3-fluoro- 10935 000456-47-3 45



Lampiran 7. Tabel Konversi Dosis Terhadap Massa Tubuh Manusia dan Hewan (Laurence dan Bacharach, 1964)

Diketahui Dicari	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	1,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0



Lampiran 8. Data Hasil Analisa Kadar Glukosa Darah, Berat Badan, SOD, MDA, dan Profil Lipid serta Total Sel Beta Pankreas Tikus Percobaan

1. Data Pengukuran Kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) Tikus Percobaan

Kelompok	Tikus	Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dL) Hari ke-				
		Hari ke 0	Hari ke 7	Hari ke 14	Hari ke 21	Hari ke 28
P0 (Normal)	1	120	112	112	110	109
	2	128	96	118	98	103
	3	123	112	92	92	101
	4	107	163	105	106	104
	rerata	119.5	120.75	106.75	101.5	104.25
	SD	8.96	29.16	11.18	8.06	3.40
P1 (DM)	1	484	473	483	402	412
	2	436	431	446	392	420
	3	505	507	500	471	419
	4	430	435	497	430	402
	rerata	463.75	461.5	481.5	423.75	413.25
	SD	36.61	35.75	24.80	35.37	8.30
P2 (DM + KT 5 ml/kg BB)	1	530	420	347	295	183
	2	433	305	304	180	114
	3	414	301	284	119	103
	4	518	371	323	272	216
	rerata	473.75	349.25	314.5	216.5	154
	SD	58.74	57.05	26.89	81.81	54.42
P3 (DM + KS 5 ml/kg BB)	1	440	354	207	208	108
	2	450	309	157	137	111
	3	451	382	230	208	108
	4	471	396	215	211	114
	rerata	453	360.25	202.25	191	110.25
	SD	12.99	38.37	31.64	36.03	2.87
P4 (DM + Metformin 45 ml/kg BB)	1	501	304	117	106	101
	2	364	475	211	191	109
	3	391	382	146	105	104
	4	413	389	136	119	102
	rerata	417.25	387.5	152.5	130.25	104
	SD	59.32	69.91	40.81	41.00	3.56

2. Data Pengukuran Berat Badan Tikus Percobaan

Kelompok	Tikus	Perubahan Berat Badan (g) Hari ke-					Perubahan
		Hari ke 0	Hari ke 7	Hari ke 14	Hari ke 21	Hari ke 28	
P0 (Normal)	1	195	208	221	234	257	45.25
	2	190	202	228	233	230	
	3	207	215	223	234	231	
	4	258	263	285	306	313	
	rerata	212.5	222	239.25	251.75	257.75	
	SD	31.16	27.84	30.64	36.17	38.90	
P1 (DM)	1	194	185	176	166	160	-38
	2	216	204	194	157	158	
	3	221	207	203	202	185	
	4	190	178	176	173	166	
	rerata	205.25	193.5	187.25	174.5	167.25	
	SD	15.52	14.20	13.50	19.47	12.31	
P2 (DM + KT 5 ml/kg BB)	1	173	193	197	194	181	-14.25
	2	206	207	189	182	172	
	3	203	205	200	195	195	
	4	190	191	180	182	167	
	rerata	193	199	191.5	188.25	178.75	
	SD	15.03	8.16	8.96	7.23	12.28	
P3 (DM + KS 5 ml/kg BB)	1	208	202	216	226	250	16.75
	2	212	200	190	187	173	
	3	190	188	178	195	209	
	4	223	222	250	271	268	
	rerata	208.25	203	208.5	219.75	225	
	SD	13.72	14.09	31.89	38.08	42.56	
P4 (DM + Metformin 45 ml/kg BB)	1	210	192	178	155	147	-18
	2	208	148	149	160	190	
	3	202	171	170	175	178	
	4	213	214	208	228	246	
	rerata	208.25	181.25	176.25	179.5	190.25	
	SD	4.65	28.28	24.45	33.43	41.35	

3. Data Pengukuran SOD dan MDA Tikus Percobaan

Perlakuan	Tikus	SOD (unit/100 μ l)	MDA (ng/100 μ l)
P0 (Normal)	1	0.2911	53.8035
	2	0.2300	49.3839
	3	0.3000	52.3304
	4	0.3082	54.3839
	rerata	0.2823	52.4754
	sd	0.0356	2.2349
P1 (DM)	1	0.8110	20.4554
	2	0.8575	19.3125
	3	0.8474	20.3570
	4	0.8320	10.5170
	rerata	0.8370	17.6605
	sd	0.0202	4.7903
P2 (DM + KT 5 ml/kg BB)	1	0.4085	43.6785
	2	0.4513	43.0357
	3	0.4789	48.9196
	4	0.4416	22.3839
	rerata	0.4451	39.5044
	sd	0.0291	11.7140
P3 (DM + KS 5 ml/kg BB)	1	0.4478	46.0804
	2	0.4824	45.5258
	3	0.4777	42.0625
	4	0.5010	33.1339
	rerata	0.4693	44.5562
	sd	0.0220	5.9815
P4 (DM + Metformin 45ml/kg BB)	1	0.3599	35.9178
	2	0.3953	32.6517
	3	0.4019	26.7410
	4	0.4081	31.8245
	rerata	0.3913	31.7838
	sd	0.0216	3.7980

4. Data Pengukuran Profil Lipid Tikus Percobaan

Perlakuan	Ulangan	Profil Lipid (mg/dL)			
		CH	TG	HDL	LDL
P0 (Normal)	1	47	45	69	8
	2	47	49	65	7
	3	42	47	67	6
	4	43	51	66	6
	rerata	44.75	48	66.75	6.75
	sd	2.63	2.58	1.71	0.96
P1 (DM)	1	76	108	41	14
	2	70	107	37	13
	3	83	103	30	18
	4	72	93	43	12
	rerata	75.25	102.75	37.75	14.25
	sd	5.74	6.85	5.74	2.63
P2 (DM + KT 5 ml/kg BB)	1	47	39	30	14
	2	56	91	49	10
	3	47	72	34	12
	4	56	91	49	10
	rerata	51.5	73.25	40.5	11.5
	sd	5.20	4.53	9.95	1.91
P3 (DM + KS 5 ml/kg BB)	1	36	55	55	9
	2	48	61	58	6
	3	50	47	61	7
	4	45	47	61	7
	rerata	44.75	52.5	58.75	7.25
	sd	6.18	6.81	2.87	1.26
P4 (DM + Metformin 45 ml/kg BB)	1	41	54	31	12
	2	53	98	56	11
	3	63	117	84	10
	4	53	98	56	11
	rerata	52.5	91.75	56.75	11
	sd	9.00	6.71	2.50	0.82

5. Data Perhitungan Total Sel Beta Pankreas Tikus Percobaan

Perlakuan	Tikus	Jumlah Sel Beta per Pulau Langerhans					Total	Rerata	Sd
		1	2	3	4	5			
P0 (Normal)	Tikus 1	106	62	98	96	157	499.5	99.9	18.75
	Tikus 2	87	104	76	109	104			
P1 (DM)	Tikus 1	43	36	33	27	35	210.5	42.1	6.23
	Tikus 2	55	40	64	52	36			
P2 (DM + KT 5 ml/kg BB)	Tikus 1	79	69	50	48	60	298	59.6	8.64
	Tikus 2	53	71	46	68	52			
P3 (DM + KS 5 ml/kg BB)	Tikus 1	93	98	78	61	86	361	72.2	12.15
	Tikus 2	77	70	64	55	40			
P4 (DM + Metformin 45 ml/kg BB)	Tikus 1	70	83	75	56	90	386.5	77.3	11.81
	Tikus 2	108	77	59	70	85			

