

Research Article

Resistant Starch Tipe 3 Modified Cassava Flour (MOCAF) Sebagai Prebiotik Pada Tikus Model Diabetes Mellitus

Jauhar Firdaus ¹, Elly Nurus Sakinah ²

1) Departemen of Physiology, Faculty of Medicine, University of Jember

2) Departement of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Jember

ABSTRAK

Prebiotik telah dikenal luas memiliki manfaat dalam kesehatan manusia. Sebagai prebiotik alternatif, *resistant starch* tipe 3 (RS3) memiliki beberapa kelebihan yakni tidak menyebabkan konstipasi maupun diare, RS3 juga menurunkan glukosa darah dan meningkatkan kadar Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) yang memiliki peran utama dalam mekanisme kontrol glukosa darah pada pasien dengan diabetes mellitus (DM). Salah satu bahan yang bisa digunakan sebagai sumber RS3 adalah *Modified Cassava Flour* (MOCAF). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis peran RS3 MOCAF sebagai prebiotik alternatif pada tikus diabetes mellitus. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) model diabetes dengan memberi injeksi streptozotocin (stz) sebanyak 35mg/KgBB secara intraperitoneal. Dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah pada awal penelitian dan setelah induksi stz untuk menentukan kondisi diabetes, dikatakan diabetes jika kadar glukosa darah lebih dari 200mg/dL. Diet RS3 diberikan sebanyak 20 gram/hari selama 4 minggu. Pemberian diet RS3 MOCAF mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa dari 494 mg/dL menjadi 107 mg/dL dan glukosa darah *post prandial* dari 526 mg/dL menjadi 96 mg/dL. Analisis mikrobiologi menunjukkan bahwa bakteri yang paling banyak tumbuh pada pemberian diet RS3 MOCAF adalah *Lactobacillus* Sp. RS3 MOCAF memiliki peran sebagai prebiotik dan mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus model diabetes mellitus.

Kata Kunci : Prebiotik, *Resistant Starch* tipe 3, MOCAF, Kadar Glukosa Darah, Diabetes mellitus

Korespondensi : jauhar_firdaus.fk@unej.ac.id

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) saat ini merupakan salah satu penyebab kematian premature di dunia. Penyakit ini juga menjadi penyebab kebutaan, gagal ginjal dan penyakit jantung. Prevalensi DM di dunia saat ini masih sangat tinggi, yakni sekitar 9,3% dari total

penduduk di dunia dengan usia 20-79 tahun. Indonesia menempati urutan ke 7 dari 10 negara dengan penderita DM terbanyak yakni sebanyak 10,7 juta orang dan menjadi satu-satunya negara di Asia Tenggara yang masuk dalam daftar tersebut (Kementerian Kesehatan RI., 2020). Pengobatan DM saat ini tidak hanya dilakukan dengan obat oral antidiabetic, pengaturan pola makan dan pola hidup, juga dengan pemberian probiotik dan prebiotik dalam menu makanan sehari-hari. Saat ini permintaan konsumen terhadap bahan makanan yang mengandung prebiotik sangat tinggi. Prebiotik yang sering digunakan terutama dalam produk susu terutama jenis FOS, GOS, rafinosa dan inulin (Haryo et al., 2015; Jainata et al., 2022).

Pati resisten (*resistant starch/RS*) merupakan salah satu bahan prebiotik yang sangat potensial untuk dikembangkan. RS tidak dicerna oleh enzim pencernaan serta tahan terhadap asam lambung. Setelah dikonsumsi granula-granula pati RS melekat pada permukaan usus dan menjadi media pertumbuhan bakteri probiotik. RS kemudian difermentasi oleh bakteri probiotik di dalam usus besar menjadi asam lemak rantai pendek (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Sajilata et al., 2006). Kelebihan RS sebagai prebiotik dibandingkan dengan FOS dan inulin adalah bahwa RS dapat mengikat dan mempertahankan kadar air dalam feses. Akibatnya konsumsi RS meskipun dalam jumlah besar tidak menyebabkan sembelit dan flatulensi. RS terbukti memiliki kemampuan menurunkan kolesterol dan glukosa darah. Penambahan RS dalam makanan dapat mencegah insiden kanker kolon, batu empedu serta membantu penyerapan mineral (Haryo et al., 2015).

Mekanisme pasti bagaimana RS dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki kondisi resistensi insulin masih belum jelas. Beberapa penelitian menghubungkan mekanisme kerja RS dengan sifatnya sebagai prebiotik. Granul-granul RS akan membentuk ikatan khusus pada dinding usus halus sehingga RS dapat menjadi tempat perlekatan bakteri probiotik. Hasil fermentasi RS oleh bakteri probiotik akan menghasilkan beberapa senyawa asam lemak rantai pendek (*Short Chain Fatty Acid /SCFA*) seperti asetat, propionat, butirat dan valerat. Beberapa penelitian menunjukkan peranan penting SCFA tersebut dalam tatalaksana terhadap pasien diabetes mellitus. RS terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa maupun post prandial. SCFA berperan dalam peningkatan ekspresi gen prekursor GLP-1 sehingga kadar GLP-1 di vena porta meningkat dan selanjutnya meningkatkan proliferasi sel Beta pankreas, menginduksi sekresi insulin serta meningkatkan asupan glukosa di jaringan perifer seperti otot dan lemak (Brighenti et al., 2006; Fuentes-Zaragoza et al., 2011).

Tepung MOCAF merupakan salah satu produk yang banyak dikembangkan saat ini. Tepung MOCAF dibuat dengan bahan baku umbi singkong yang dimodifikasi dengan fermentasi yang melibatkan mikroba atau enzim tertentu sehingga terjadi perubahan fisik, kimiawi dan mikrobiologi. Karakteristik tepung MOCAF mirip seperti terigu, yaitu berwarna putih dan memiliki tekstur yang lembut. Perbedaan antara MOCAF dan terigu adalah tidak adanya kandungan gluten pada MOCAF. Kandungan protein pada tepung MOCAF berkisar 1,2% dan kandungan protein pada tepung terigu berkisar 8-

13% (Yuli Ratnasari, 2014). Saat ini belum diketahui jenis flora normal apa yang banyak tumbuh di dalam saluran cerna tikus model diabetes pada pemberian diet RS3 MOCAF.

METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Juni - Juli tahun 2017 di beberapa laboratorium di Fakultas Kedokteran Universitas Jember diantaranya laboratorium Fisiologi, Biokimia dan laboratorium Mikrobiologi. Penelitian berlangsung selama 8 minggu.

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) Sebanyak 24 ekor tikus dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok yaitu normal, MOCAF, RS3 MOCAF dan kontrol negatif. Penggunaan tikus sebagai hewan coba pada penelitian ini telah memperoleh persetujuan kelayakan etik dari tim komisi etik fakultas kedokteran Universitas Jember dan memperoleh sertifikat lolos kaji etik dengan surat No.1.137/H25.1.11/KE/2017. Pembuatan tikus model diabetes dilakukan dengan memberikan injeksi streptozotocin (STZ) dosis 35mg/kgBB secara intraperitoneal (Srinivasan & Ramarao, 2007). Dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah pada awal penelitian dan setelah induksi stz untuk menentukan kondisi diabetes yakni apabila kadar glukosa darah lebih dari 200mg/dL. Pemberian diet dilakukan selama 4 minggu. Pada kelompok normal dan kontrol negatif diberikan pakan standard jenis Turbo T89 yang mengandung (protein 24-26%, lemak 4-6%, serat 5-7%, dan kadar air 11-13%).

Modifikasi pada MOCAF untuk meningkatkan kadar RS3 dilakukan dengan menggunakan metode *autoclaving-cooling* kemudian dikombinasi dengan penambahan enzim pullulanase dengan konsentrasi 1.04 U/g kemudian dilanjutkan dengan siklus *autoclaving-cooling*. Pullulanase secara spesifik bekerja dengan cara memutus ikatan cabang α -1,6 amilopektin (*debranching*) sehingga diharapkan mampu meningkatkan kadar RS3 lebih tinggi daripada kadar RS3 yang dibentuk dengan metode *autoclaving-cooling* menggunakan autoklaf saja (Zahruniya, 2014).

HASIL

Analisis Kadar Gula

Analisis kadar gula darah menunjukkan tikus pada kelompok MOCAF, RS3 MOCAF dan kelompok normal memiliki profil gula darah yang normal. Tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan profil gula darah yang masih tinggi .

Tabel 1 Profil Glukosa Darah Sebelum dan Sesudah Penelitian

Pemeriksaan Glukosa Darah	Waktu Pemeriksaan	Normal	MOCAF	RS3 MOCAF	Kontrol Negatif
---------------------------	-------------------	--------	-------	-----------	-----------------

Puasa	<i>Post STZ</i>	94	446	494	209
	Akhir Penelitian	97	105	107	305
2 Jam Sesudah Makan	<i>Post STZ</i>	110	485	526	311
	Akhir Penelitian	98	136	96	345

Pada Tabel 1 tampak bahwa kadar glukosa darah puasa pada kelompok perlakuan (MOCAF, RS3 MOCAF dan kontrol negatif) setelah pemberian injeksi STZ tampak meningkat melebihi normal secara berturut-turut (446mg/dL, 494mg/dL dan 209mg/dL). Setelah perlakuan selama 4 minggu terjadi penurunan kadar glukosa darah puasa pada kelompok MOCAF dan RS3 MOCAF yakni 105mg/dL pada kelompok MOCAF dan 107mg/dL pada kelompok RS3 MOCAF sedangkan pada kelompok kontrol negatif kadar glukosa darah puasa meningkat yakni sebesar 305 mg/dL.

Kadar glukosa darah *post prandial* pada kelompok perlakuan (MOCAF, RS3 MOCAF dan kontrol negatif) setelah pemberian injeksi STZ tampak meningkat melebihi normal secara berturut-turut (485 mg/dL, 526 mg/dL dan 311 mg/dL). Setelah perlakuan selama 4 minggu terjadi penurunan kadar glukosa darah *post prandial* pada kelompok MOCAF sebesar 136 mg/dL, pada kelompok RS3 MOCAF sebesar 96 mg/dL sedangkan pada kelompok kontrol negatif kadar glukosa darah *post prandial* meningkat yakni sebesar 345 mg/dL.

Analisis Mikrobiologi

Setelah dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar gula darah, feces tikus diambil dan ditampung dalam wadah berisi aquadest steril kemudian masing-masing diambil sampel untuk dibiakkan dan diidentifikasi. Hasil identifikasi menunjukkan terdapat pertumbuhan kuman yang berbeda antara masing-masing kelompok.

Tabel 3.2 Analisis Mikrobiologi

Kode	Interpretasi		Keterangan
	Pengecatan	Uji katalase	
Normal	a. Basil Gram positif	c. Negatif	<i>a. Lactobacillus Sp</i>
	b. Kokus Gram positif	d. negatif	<i>b. Streptococcus thermophilus</i>
MOCAF	Basil Gram positif	Negatif	<i>Lactobacillus Sp</i>
RS3 MOCAF	a. Basil Gram positif	c. Negatif	<i>a. Lactobacillus Sp</i>
	b. Kokus Gram positif	d. Negatif	<i>b. Streptococcus thermophilus</i>
Kontrol negatif	Cocobasil Gram negatif	Positif	<i>E. coli</i>

Pada Tabel .2 tampak bahwa didalam usus besar tikus kelompok MOCAF bakteri yang paling utama tumbuh adalah jenis *Lactobacillus sp*. Sedangkan pada kelompok RS3 MOCAF dan kelompok normal memiliki kesamaan bakteri usus yang tumbuh yakni

Lactobacillus sp. dan *Streptococcus thermophilus*. Analisis mikrobiologi pada tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa flora normal yang paling banyak tumbuh adalah *Escherichia coli*.

PEMBAHASAN

Terdapat lima jenis RS berdasarkan proses pembuatannya, yaitu tipe RS1, RS2, RS3, RS4 dan RS5 (Sajilata et al., 2006). Oleh karena sifatnya yang relatif stabil terhadap proses pemanasan serta mampu mempertahankan karakteristik organoleptik ketika ditambahkan pada makanan RS3 merupakan jenis RS yang paling banyak dipakai (Haryo et al., 2015). Pada penelitian ini RS3 dihasilkan melalui proses pemanasan otoklaf (121⁰C) dilanjutkan dengan pendinginan pada suhu -20⁰C sehingga terjadi penyusunan kembali rantai amilosa (retrogradasi). Penggunaan enzim pullulanase dalam penelitian ini semakin meningkatkan jumlah amilosa sebagai sumber RS sehingga mampu meningkatkan jumlah RS3 dari 9,66% menjadi 60,87% .

MOCAF merupakan bahan yang berpotensi sebagai sumber RS karena mempunyai kandungan amilosa cukup tinggi. Proses *Autoclaving-cooling* meningkatkan jumlah rantai polimer dengan berat molekul rendah serta meningkatkan jumlah molekul amilosa rantai pendek. Pemanasan mengakibatkan granula pati membengkak dan pecah sehingga terjadi perubahan bentuk granula dari bulat menjadi tidak beraturan. Granula pati yang terpecah menyebabkan rantai amilosa keluar dari granula (*leaching*) dan ketika didinginkan terbentuk gel yang menyebabkan terjadinya interaksi antara rantai-rantai amilosa tersebut (retrogradasi) membentuk RS3 yang tahan terhadap proses pencernaan oleh enzim α -amilase.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada pemberian diet RS3 maupun MOCAF keduanya memiliki potensi sebagai prebiotik. Hal ini dibuktikan dengan peningkatan pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam hal ini *Lactobacillus sp.* sebagaimana terlihat pada Tabel 3.1.

RS3 di dalam usus besar difermentasi oleh bakteri *Lactobacillus sp.* menghasilkan senyawa asam lemak rantai pendek atau *Short Chain Fatty Acid* (SCFA). Senyawa SCFA inilah yang berperan dalam tercapainya kadar glukosa darah yang terkontrol baik glukosa darah puasa maupun 2 jam sesudah makan pada tikus diabetes yang diberikan diet MOCAF maupun RS3. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Han *et al.* (2014) bahwa SCFA jenis asam valerat dan propionat memiliki peranan sebagai agonis reseptor GPR41 dan GPR43. Aktivasi reseptor tersebut oleh SCFA akan meningkatkan uptake glukosa pada sel lemak dan otot. SCFA yang dihasilkan juga akan meningkatkan produksi dan sekresi GLP-1 serta Peptide YY (PYY) endogen dalam dinding usus halus. Peningkatan GLP-1 akan menginduksi proliferasi sel β -pankreas, peningkatan sekresi insulin serta mengontrol produksi dan sekresi glukagon. Peningkatan PYY akan menurunkan nafsu makan.

KESIMPULAN

RS3 MOCAF memiliki peran sebagai prebiotik dengan bakteri yang paling banyak tumbuh di dalam usus besar setelah pemberian diet RS3 MOCAF adalah *Lactobacillus* Sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Bindels, L. B., Segura Munoz, R. R., Gomes-Neto, J. C., Mutemberezi, V., Martínez, I., Salazar, N., Cody, E. A., Quintero-Villegas, M. I., Kittana, H., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Schmaltz, R. J., Muccioli, G. G., Walter, J., & Ramer-Tait, A. E. (2017). Resistant starch can improve insulin sensitivity independently of the gut microbiota. *Microbiome*, 5(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0230-5>
- Brighenti, F., Benini, L., Del Rio, D., Casiraghi, C., Pellegrini, N., Scazzina, F., Jenkins, D. J. A., & Vantini, I. (2006). Colonic fermentation of indigestible carbohydrates contributes to the second-meal effect. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83(4), 817–822. <https://doi.org/83/4/817> [pii]
- Canfora, E. E., Jocken, J. W., & Blaak, E. E. (2015). Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology* 2015 11:10, 11(10), nrendo.2015.128. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>
- Fuentes-Zaragoza, E., Sánchez-Zapata, E., Sendra, E., Sayas, E., Navarro, C., Fernández-López, J., & Pérez-Alvarez, J. A. (2011). Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch/Staerke*, 63(7), 406–415. <https://doi.org/10.1002/star.201000099>
- Haryo, R., Setiarto, B., Sri, B., Jenie, L., Faridah, D. N., & Saskiawan, I. (2015). Kajian Peningkatan Pati Resisten yang Terkandung dalam Bahan Pangan Sebagai Sumber Prebiotik (Study of Development Resistant Starch Contained in Food Ingredients as Prebiotic Source). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 20(3), 191–200. <https://doi.org/10.18343/jipi.20.3.191>
- Jainata, D., Utama, B. I., & Desmawati, D. (2022). Pengaruh Probiotik Dalam Menurunkan Kadar Gula Darah Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 2(4), 312–320. <https://doi.org/10.25077/jikesi.v2i4.487>
- Kementerian Kesehatan RI. (2020). Infodatin tetap produktif, cegah, dan atasi Diabetes Melitus 2020. In *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI* (pp. 1–10). <https://pusdatin.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/Infodatin-2020-Diabetes-Melitus.pdf>
- Robertson, M. D., Bickerton, A. S., Dennis, A. L., Vidal, H., & Frayn, K. N. (2005). Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism 1 – 3. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82, 559–567.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch - A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x>

- Srinivasan, K., & Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *The Indian Journal of Medical Research*, 125(3), 451–472.
<https://doi.org/42083>
- Vatanasuchart, N., & Tungtrakul, P. (2010). *Properties of Pullulanase Debranched Cassava Starch and Type-III Resistant Starch*. 141, 131–141.
- Yuli Ratnasari, L. T. P. (2014). Pengaruh Substitusi Mocaf (Modified Cassava Flour) Dan Jumlah Air Terhadap Hasil Jadi Choux Paste. *E-Jurnal Boga*, 03, 141–148.
- Zahruniya, Z. (2014). Optimasi Pembuatan Pati Resisten Tipe III Dari Pati Singkong (Manihot esculenta Crantz). *Repositori Institut Pertanian Bogor*.