

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Hiperglikemia merupakan pengertian dari suatu kondisi ketika kadar glukosa darah meningkat melebihi batas normalnya. Hiperglikemia menjadi salah satu gejala awal seseorang mengalami gangguan metabolik yaitu diabetes mellitus (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Data Riset Kesehatan Dasar 2013 menunjukkan bahwa jumlah penderita diabetes dengan ciri khusus yaitu kondisi hiperglikemia di Indonesia semakin meningkat sejak tahun 2007 yaitu sebesar 5,7% menjadi 6,8% di tahun 2013. Hiperglikemia dapat disebabkan oleh ketidakmampuan pankreas dalam menghasilkan insulin maupun ketidakmampuan tubuh dalam menggunakan insulin yang dihasilkan dengan baik (Kementerian Kesehatan RI, 2014).

Insulin merupakan hormon berbasis protein yang berfungsi untuk mengatur kadar glukosa darah dalam tubuh. Peran insulin sangat penting terutama saat terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang berlebih (hiperglikemia) dalam tubuh (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Berbagai penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan produksi insulin dalam tubuh sebagai upaya untuk menstabilkan atau menurunkan kadar glukosa darah yang berlebih (hiperglikemia). Penelitian oleh Floyd *et.,al* (1966) menunjukkan bahwa konsumsi makanan tinggi protein khususnya asam amino l-leusin terbukti dapat meningkatkan secara signifikan kadar plasma insulin dalam tubuh. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat konsumsi asam amino tertentu dari bahan pangan dapat mempengaruhi sekresi insulin dalam tubuh. Penelitian ini didukung oleh penelitian lanjutan yang dilakukan oleh Floyd *et.,al* (1966) bahwa pemberian campuran asam amino selain asam amino l-leusin secara intravena pada subjek sehat dapat memacu pengeluaran insulin dalam tubuh. Hal ini semakin membuktikan bahwa secara tidak langsung protein berperan penting dalam memicu pembentukan insulin dalam tubuh.

Salah satu bahan pangan yang dapat menurunkan kadar glukosa darah adalah *Spirulina platensis*. *Spirulina platensis* merupakan alga hijau biru yang memiliki kandungan nutrisi dan protein yang tinggi yaitu berkisar antara 55-72% (Angka &

Suhartono, 2000). Dalam *Spirulina platensis* mengandung 17 jenis asam amino antara lain asam glutamat, asam aspartat, leusin, isoleusin, alanin, arginin, valin, lisin dan lainnya (Gaese, 2012). Penelitian Layam & Reddy (2007) membuktikan bahwa pemberian 15 mg/kg berat badan/hari *Spirulina platensis* pada tikus dengan kadar glukosa darah berlebih/ hiperglikemia dapat menurunkan kadar glukosa darah selama 30 hari. Penelitian ini didukung oleh Anwer *et.,al* (2012) yang menunjukkan bahwa pemberian 50 µg/kg berat badan/hari ekstrak protein dari *Spirulina* dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemia selama 30 hari. Penurunan kadar glukosa darah oleh *Spirulina* dapat terjadi karena beberapa mekanisme dalam tubuh yang memungkinkan seperti peran asam amino tertentu yang dapat memicu pelepasan insulin oleh sel beta pankreas serta peningkatan fungsi sel beta pankreas yang rusak oleh *Spirulina* (Layam & Reddy (2007); Anwer *et.,al* (2012)). Melihat tingginya nutrisi dan manfaat *Spirulina* dalam menurunkan kadar glukosa darah, perlu dikembangkan produk olahan *Spirulina* salah satunya *cookies*.

*Cookies* merupakan jenis biskuit yang dibuat dengan cara pemanggangan adonan dan bertekstur renyah serta mudah dipatahkan (SNI 01-2973-1992). Kandungan protein tepung *mocaf* (*modified cassava flour*) yang lebih rendah dibandingkan tepung terigu membuat *mocaf* cocok digunakan baik sebagai bahan substitusi maupun pengganti tepung terigu pada proses pembuatan *cookies* (Salim, 2011). Tepung *mocaf* juga sering digunakan dalam pembuatan produk pangan bagi penderita hiperglikemia baik sebagai bahan utama maupun bahan substitusi. Dalam pembuatan produk pangan berbahan dasar *mocaf*, telah terbukti bahwa produk berbahan dasar *mocaf* dapat menurunkan kadar glukosa darah penderita hiperglikemia selama 3 minggu perlakuan (Subagio *et.,al*, 2012). Melihat hal tersebut, maka diharapkan kombinasi antara *cookies mocaf* dan *Spirulina platensis* dapat membantu menurunkan kadar glukosa darah. Untuk mengetahui pengaruh konsumsi *cookies* kombinasi berbahan dasar *mocaf* dan *Spirulina platensis* terhadap penurunan kadar glukosa darah, maka perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* dengan menggunakan hewan coba yaitu tikus sebagai pembuktian.

## 1.2. Tinjauan Pustaka

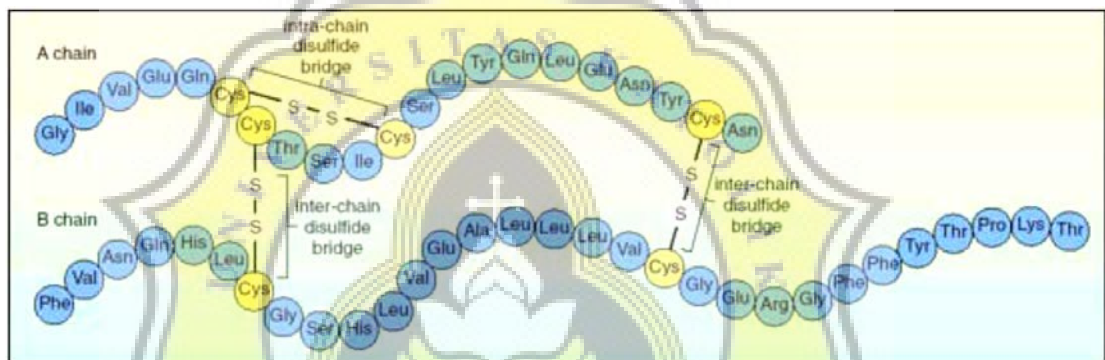
### 1.2.1. Hiperglikemia

Hiperglikemia merupakan kondisi berupa terjadinya peningkatan kadar glukosa darah dalam tubuh melebihi batas normal (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015). Hiperglikemia adalah suatu gejala yang timbul akibat ketidakmampuan pankreas dalam menghasilkan cukup insulin maupun ketidakmampuan tubuh dalam menggunakan insulin yang dihasilkan dengan baik (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Hiperglikemia menjadi salah satu tanda awal seseorang mengalami diabetes mellitus (DM) (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015). Jumlah penderita diabetes yang ditandai dengan hiperglikemia terus meningkat yaitu sebesar 5,7% pada tahun 2007 menjadi 6,8% pada tahun 2013 (Kementerian Kesehatan RI, 2014).

Pemeriksaan kadar glukosa darah penting dilakukan. Kadar glukosa darah puasa pada seseorang yang normal adalah  $\leq 100$  mg/dL dan  $\leq 140$  mg/dL untuk kadar glukosa darah plasma setelah tes toleransi glukosa oral (TTGO). Seseorang akan didiagnosa menderita diabetes apabila kadar glukosa darah sewaktunya  $\geq 200$  mg/dL dan kadar glukosa darah puasanya  $\geq 126$  mg/dL yang disertai dengan 4 gejala positif diabetes. Empat gejala positif diabetes tersebut adalah *polyphagia* (banyak makan), *polyuria* (sering buang air kecil), *polydipsia* (sering haus), dan berat badan menurun (Kementerian Kesehatan RI, 2014). Hasil pemeriksaan kadar glukosa yang tidak memenuhi kriteria normal atau kriteria diabetes digolongkan ke dalam kondisi prediabetes. Prediabetes merupakan keadaan yang mendahului timbulnya diabetes mellitus. Seseorang dikatakan pada kondisi prediabetes apabila memiliki kadar glukosa darah puasa 100-125 mg/dL dan kadar glukosa darah plasma 2 jam setelah tes toleransi glukosa oral (TTGO) sebesar 140-199 mg/dL (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015).

Insulin adalah hormon polipeptida yang dihasilkan oleh sel  $\beta$  pankreas pada pulau Langerhans dan berfungsi untuk mengatur kadar glukosa dalam darah. Struktur insulin terdiri dari rantai A dengan 21 asam amino dan rantai B dengan 30 asam amino. Kedua rantai tersebut dihubungkan oleh dua ikatan disulfida yaitu antara

sistein A7 (CysA7) dan sistein B7 (CysB7) serta sistein A20 (CysA20) dan sistein B19 (CysB19) (Khursheed *et.,al*, 2012). Sekresi insulin dimulai dari proses transkripsi mRNA dari gen insulin dalam inti sel. Hasil transkripsi mRNA kemudian diterjemahkan dalam retikulum endoplasma kasar sehingga dihasilkan polipeptida. Polipeptida ini digunakan sebagai sinyal dimulainya sintesis polipeptida. Polipeptida ini akan keluar menembus membran retikulum endoplasma sehingga dihasilkan preproinsulin. Preproinsulin yang terbentuk kemudian dipecah dengan bantuan peptidase menjadi proinsulin. Proinsulin kemudian akan berpindah ke badan Golgi dan dipecah oleh bantuan peptidase menjadi insulin dan C-peptida yang siap disekresi ketika dibutuhkan (Walsh, 2002).



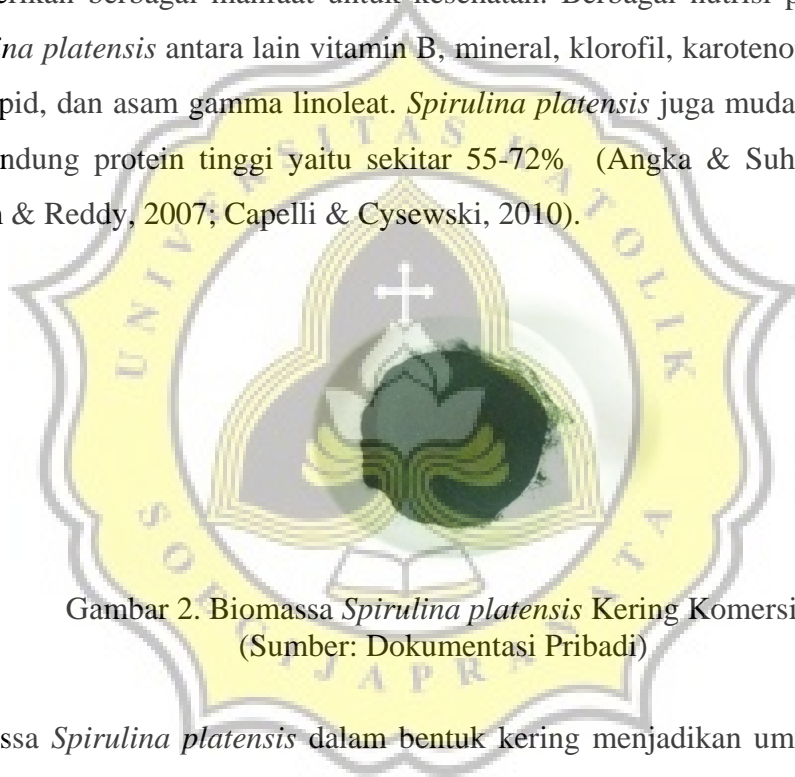
Gambar 1. Struktur Insulin  
(Sumber: Khursheed *et.,al*, 2012)

Sekresi insulin yang terganggu mengakibatkan terjadinya gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Kondisi ini menyebabkan kadar glukosa darah meningkat atau disebut dengan hiperglikemia. Insulin bekerja dengan menghambat produksi glukosa oleh hati serta merangsang pengambilan dan metabolisme glukosa oleh otot dan jaringan adiposa untuk menurunkan kadar glukosa darah. Pankreas yang berfungsi dengan normal akan melepas insulin secara terus-menerus untuk menekan pengeluaran glukosa oleh hati di antara dua waktu yaitu waktu makan dan sepanjang malam (insulin basal), serta memacu penggunaan glukosa setelah makan (insulin bolus). Jika makanan sudah berada pada saluran pencernaan, insulin bolus akan disekresi oleh sel beta pankreas untuk menangani glukosa yang beredar di aliran darah. Jika kadar glukosa darah meningkat tinggi, ginjal tidak mampu menyerap kembali glukosa yang tersaring, sehingga glukosa

akan bercampur dengan urin. Keberadaan glukosa dalam urin dinamakan glukosuria (Arisman, 2011).

### 1.2.2. *Spirulina platensis*

*Spirulina platensis* merupakan mikroalga hijau biru berbentuk filamen spiral yang dapat berfotosintesis. *Spirulina* berstruktur prokariotik dan termasuk dalam kelas *Chyanophyceae* karena memiliki klorofil. *Spirulina platensis* dapat tumbuh di perairan dengan berbagai salinitas dengan pH berkisar antara 8-12 (basa). *Spirulina platensis* banyak dimanfaatkan sebagai produk pangan karena kaya akan nutrisi dan memberikan berbagai manfaat untuk kesehatan. Berbagai nutrisi penting dalam *Spirulina platensis* antara lain vitamin B, mineral, klorofil, karotenoid, fikosianin, glikolipid, dan asam gamma linoleat. *Spirulina platensis* juga mudah dicerna dan mengandung protein tinggi yaitu sekitar 55-72% (Angka & Suhartono, 2000; Layam & Reddy, 2007; Capelli & Cysewski, 2010).



Gambar 2. Biomassa *Spirulina platensis* Kering Komersial  
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Biomassa *Spirulina platensis* dalam bentuk kering menjadikan umur simpannya lebih lama daripada dalam bentuk biomassa basah. Pengeringan yang biasa dilakukan terhadap *Spirulina platensis* adalah secara *freeze drying*. Nutrisi yang terdapat dalam biomassa *Spirulina platensis* kering dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Proksimat pada Biomassa *Spirulina platensis* Kering (% Berat Kering)

Komponen	*Persentase 1 (% b/b)	**Persentase 2 (% b/b)
Protein	59,64	64,00
Lemak Kasar	4,17	8,00
Serat Kasar	9,31	8,00
Karbohidrat	13,33	10,00
Kadar Air	7,05	-
Kadar Abu/ Mineral	13,55	10,00

Keterangan :

\* menurut Asthary *et al*, 2013

\*\*menurut Gaese, 2012

Penelitian oleh Layam & Reddy (2007) membuktikan bahwa *Spirulina platensis* dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus saat dilakukan uji *in vivo*. Penelitian ini dilakukan dengan pemberian *Spirulina paltensis* pada dosis 5 mg/kg berat badan/hari, 10 mg/kg berat badan/hari, dan 15 mg/kg berat badan/hari selama 30 hari pada tikus. Penelitian ini didukung pula oleh penelitian Anwer *et.,al* (2012) yang membuktikan bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah pada tikus yang diberikan *Spirulina* dalam bentuk ekstrak kasar sebanyak 50 mg/kg berat badan/hari, *aqueous extract* sebanyak 50 mg/kg berat badan/hari, ekstrak etanol sebanyak 50 mg/kg berat badan/hari, dan ekstrak *insulin-like-protein* sebanyak 50 µg/kg berat badan.

Dalam penelitian Anwer *et.,al* (2012), meskipun terjadi penurunan kadar glukosa darah pada semua kelompok perlakuan tikus, namun penurunan kadar glukosa darah terbesar terjadi pada tikus yang diberikan *Spirulina* dalam bentuk ekstrak kasar dan ekstrak *insulin-like-protein*. Dalam *Spirulina platensis* mengandung 17 jenis asam amino antara lain asam glutamat, asam aspartat, isoleusin, alanin, leusin, arginin, valin, lisin dan lain-lain (Gaese, 2012). Menurut penelitian Floyd *et.,al* (1966) pemberian campuran asam amino yang terdiri dari arginin, lisin, fenilalanin, leusin, valin, metionin, histidin, treonin, isoleusin, dan triptofan terbukti dapat memacu pengeluaran insulin dalam tubuh.

### 1.2.3. Cookies

Biskuit merupakan produk makanan kering yang dibuat dengan cara memanggang adonan berbahan dasar terigu, lemak, dan bahan pengembang, serta dengan atau



tanpa diberi penambahan bahan makanan dan bahan tambahan makanan lain yang diizinkan. Terdapat 4 jenis biskuit, yaitu biskuit keras, *crackers*, *cookies*, dan wafer. *Cookies* merupakan jenis biskuit yang terbuat dari adonan lunak yang memiliki tekstur renyah, dan bila dipatahkan penampang potongannya memiliki tekstur kurang padat (SNI 01-2973-1992).

Bahan pembuatan *cookies* dibagi menjadi 2 berdasarkan fungsinya, yaitu bahan pembentuk struktur dan bahan pembentuk kerenyahan. Bahan pembentuk struktur terdiri dari tepung, putih telur, dan susu skim, sedangkan bahan pembentuk kerenyahan terdiri dari *shortening*, gula, kuning telur, dan bahan pengembang. Tepung yang digunakan dalam pembuatan *cookies* biasanya adalah tepung dengan kandungan protein rendah. *Cookies* yang menggunakan tepung berprotein rendah menghasilkan produk yang renyah namun tidak keras (Manley, 2001). Tepung *mocaf* memiliki kandungan protein yang rendah, sehingga cocok untuk digunakan dalam pembuatan *cookies*. Pada pembuatan *cookies* bagi penderita hiperglikemia, peran lemak dan gula harus dibatasi seminimal mungkin untuk mencegah meningkatnya kadar glukosa darah. Oleh karena itu penghilangan jumlah lemak dalam *cookies* dan penggantian bahan pemanis dengan pemanis tanpa kalori seperti sukralosa perlu dilakukan.

*Mocaf* (*modified cassava flour*) atau tepung singkong termodifikasi merupakan tepung singkong dengan proses pembuatan menggunakan fermentasi dengan bakteri asam laktat. Karakteristik tepung *mocaf* mirip seperti terigu, yaitu lembut, putih, dan tidak berbau singkong. Tujuan dari fermentasi yang dilakukan adalah untuk meningkatkan kadar protein pada tepung yang dihasilkan dan untuk menurunkan kadar HCN dari singkong (Kurniati, 2012). Kadar protein tepung *mocaf* dipengaruhi oleh lamanya proses fermentasi, di mana semakin lama proses fermentasi akan dihasilkan protein yang semakin tinggi pula. Berdasarkan penelitian, tepung *mocaf* dengan proses fermentasi selama 72 jam dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* memiliki kandungan protein sebesar 3,39% (Tandrianto *et.,al.*, 2014).

Penggunaan tepung terigu pada produk pangan seperti *cookies* dapat diganti dengan sistem substitusi antara 5-75% atau digantikan seluruhnya dengan tepung *mocaf*. Tepung *mocaf* dapat digunakan dalam pembuatan *cookies* karena memiliki protein yang rendah dan sesuai untuk pembuatan *cookies*. Perbandingan komposisi kimiawi antara tepung terigu dan *mocaf* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Komposisi Proksimat Tepung Terigu dan Tepung *Mocaf*

Komponen	<i>Mocaf</i> (%b/b)	Terigu (% b/b)
Kadar air	6,9	12
Kadar protein	1,2	8-13
Kadar abu	0,4	1,3
Kadar pati	87,3	60-68
Kadar serat	3,4	2-2,5
Kadar lemak	0,4	1,5-2

(Salim, 2011).

Sukralosa (*1,6 - dichloro - 1,6 - dideoxy -  $\beta$  - D - fructofuranosyl - 4 - chloro - 4 - deoxy -  $\alpha$  - D - galactopyranoside*) merupakan pemanis sintetis yang mempunyai tingkat kemanisan berkisar antara 285-650 kali lebih manis dibandingkan dengan sukrosa. Sejak tahun 1998 FDA (*Food and Drug Administration*) telah mengizinkan sukralosa untuk digunakan dalam berbagai produk pangan seperti puding, permen karet, *baked goods*, *frozen dairy desserts*, *confectionary*, dan berbagai produk minuman. Sukralosa memiliki ADI (*Acceptable Daily Intake*) 5 mg/kg berat badan per hari (mg/kg/hari) menurut FDA (U.S) dan 15 mg/kg/hari menurut EU (Eropa). Sukralosa aman dikonsumsi untuk wanita hamil, ibu menyusui, bayi, anak-anak, orang tua, dan pasien yang mengkonsumsi obat-obatan. Oleh karena itu, sukralosa sangat bermanfaat sebagai pengganti gula bagi penderita diabetes tipe I maupun II. Sukralosa secara luas digunakan untuk mengurangi kalori dalam makanan dan minuman (SNI 01-6993-2004).

#### 1.2.4. *In Vivo*

Pengujian *in vivo* merupakan pengujian biologis terhadap makhluk hidup untuk melihat pengaruhnya terhadap tubuh manusia yang biasa dianalogikan dengan hewan percobaan seperti tikus. Tikus (*Rattus norvegicus*) putih strain Wistar



merupakan jenis tikus yang sering digunakan sebagai hewan percobaan untuk laboratorium. Ukuran tikus Wistar dapat mencapai panjang 40 cm (terukur dari hidung hingga ujung ekor) dengan berat mencapai 140-500 g. Berat tikus Wistar dewasa dapat mencapai 300-400 g (Jantan) dan 250-300 g (betina) dengan lama hidup 2-3 tahun (dapat mencapai 4 tahun). Tikus Wistar membutuhkan air minum lebih banyak oleh karena itu air minum harus terus tersedia. Tiap tikus dewasa akan membutuhkan 20-45 ml air untuk setiap harinya (Dewi, 2014).

Pengujian *in vivo* terhadap tikus hiperglikemia telah banyak dilakukan salah satunya menggunakan bahan diabetogenik seperti *streptozotocin* (STZ). *Streptozotocin* (STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) merupakan senyawa kimia yang dapat digunakan untuk menginduksi hiperglikemia. Dosis *streptozotocin* tidak sesempit aloksan sehingga banyak digunakan untuk menginduksi hiperglikemia pada hewan coba. Dosis yang sering digunakan pada tikus dewasa untuk menginduksi hiperglikemia secara intravena berkisar antara 40-60 mg/kg berat badan, namun dosis lebih tinggi juga sering digunakan. Pada dosis dibawah 40 mg/kg berat badan tidak efektif apabila diberikan secara intraperitoneal (Szkudelski, 2001).

Peran *streptozotocin* pada sel beta disertai dengan perubahan karakteristik insulin dalam darah dan konsentrasi glukosa. Dua jam setelah injeksi, kondisi hiperglikemia terjadi karena turunnya insulin darah secara langsung. Sekitar 6 jam setelahnya, kondisi hipoglikemia (kekurangan glukosa darah) terjadi dengan meningkatnya jumlah insulin dalam darah. Akhirnya, hiperglikemia muncul dan jumlah insulin darah menurun. Perubahan pada glukosa darah dan jumlah insulin mencerminkan ketidaknormalan pada fungsi sel beta. *Streptozotocin* bekerja dengan menurunkan laju pembentukan serta sekresi insulin. Hal ini dapat diamati bahwa *streptozotocin* menghilangkan respon sel beta terhadap glukosa. Respon sementara kemudian muncul yang diikuti dengan kehilangan secara permanen/tetap dan kerusakan sel beta (Szkudelski, 2001).

### 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *cookies mocaf* yang disubstitusi biomassa *Spirulina platensis* komersial kering terhadap perubahan kadar glukosa darah dan berat badan tikus secara *in vivo* pada tikus.

