

4. PEMBAHASAN

4.1. Hasil Formulasi *Cookies*

Spirulina platensis merupakan jenis mikroalga berbentuk spiral dan mengandung fikosianin tinggi sehingga berwarna hijau biru (Christwardana *et.al*, 2013). *Spirulina platensis* mengandung protein yang tinggi berkisar antara 64% berat kering menurut Gaese (2012) atau sekitar 72% menurut Angka & Suhartono (2000). Kadar protein yang tinggi dalam bahan pangan diduga dapat merangsang sekeresi insulin (Floyd *et.al*, 1966 ; Abdullah Bin Arif *et.al*, 2013). Peran *Spirulina platensis* dalam menurunkan kadar glukosa darah telah dibuktikan dalam penelitian Layam & Reddy (2007). Penelitian tersebut membuktikan bahwa dengan memberikan variasi dosis *Spirulina platensis* sebesar 5 mg/kg berat badan hingga 15 mg/kg berat badan efektif menurunkan kadar glukosa darah pada tikus Wistar hiperglikemia selama 30 hari. Penelitian ini didukung oleh Anwer *et.al* (2012) yang membuktikan bahwa 50 mg/kg berat badan berbagai hasil ekstrak *Spirulina platensis* serta 50 µg protein *Spirulina platensis* dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus Wistar hiperglikemia selama 30 hari perlakuan. Melihat pentingnya peran *Spirulina platensis* bagi penderita hiperglikemia maka perlu dikembangkan produk olahan salah satunya *cookies*.

Cookies merupakan produk *bakery* kering yang terbuat dari adonan lunak, renyah dan bila dipatahkan penampangnya tampak bertekstur kurang padat. *Cookies* dibuat dengan cara memanggang adonan yang terbuat dari tepung terigu dengan atau tanpa substitusinya, minyak/lemak, serta dengan atau tanpa bahan tambahan pangan yang diizinkan (SNI 2973:2011). Pada penelitian ini dilakukan pembuatan *cookies* dengan bahan dasar tepung *mocaf* yang disubstitusi sebagian oleh biomassa *Spirulina platensis* kering. Pembuatan *cookies* dilakukan dengan 3 formulasi substitusi yang berbeda, yaitu *cookies mocaf* tanpa substitusi biomassa *Spirulina platensis* kering (M), *cookies mocaf* yang disubstitusi biomassa *Spirulina platensis* kering sebanyak 20% (MS20), dan *cookies mocaf* yang disubstitusi biomassa *Spirulina platensis* kering sebanyak 40% (MS40).

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *cookies* ini selain dari biomassa kering *Spirulina platensis* juga terdiri dari tepung *mocaf*, susu skim cair, dan sukralosa. Tepung *mocaf* merupakan tepung yang diperoleh dari hasil fermentasi ubi kayu (*Manihot utilissima*) oleh bakteri asam laktat (SNI 7622:2011, 2011). Dalam penelitian ini, tepung *mocaf* dipilih sebagai pengganti tepung terigu dalam pembuatan *cookies* karena tepung *mocaf* memiliki kadar lemak yang lebih rendah daripada tepung terigu dan kadar serat yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan tepung terigu. Kadar lemak pada tepung *mocaf* sebesar 0,4% dengan kadar serat 3,4% (Salim, 2011). Konsumsi pangan rendah lemak dapat meminimalkan kenaikan kadar glukosa darah pada penderita hiperglikemia (Diehl, 1996). Kandungan serat pangan yang tinggi juga berkontribusi pada nilai indeks glikemik (IG) yang rendah pada bahan pangan (Abdullah bin Arif *et.al*, 2013). Penggunaan tepung *mocaf* sebagai bahan baku dalam pengembangan produk pangan untuk menurunkan kadar glukosa darah juga menyebabkan tepung *mocaf* cocok dikonsumsi bagi penderita hiperglikemia (Subagio *et.al*, 2012). Dalam penelitian ini, tepung *mocaf* juga 100% dapat menggantikan tepung terigu dalam proses pembuatan *cookies* (Salim, 2011).

Bahan yang juga digunakan dalam pembuatan *cookies* pada penelitian ini adalah susu skim cair. Susu skim merupakan susu yang krimnya diambil sebagian atau seluruhnya sehingga kandungan lemak pada susunya hanya berkisar antara 1% (FAO, 2013). Dalam penelitian ini, susu skim digunakan sebagai pengganti bahan baku cair dalam proses pembuatan *cookies*. Penggunaan susu skim ini juga dikarenakan susu skim mengandung total lemak yang rendah yaitu 0,08 gram dan karbohidrat yang rendah yaitu 4,96 dari total 100 gram bahan (FAO, 2013). Seperti yang telah diketahui bahwa bahan pangan yang mengandung lemak dan karbohidrat yang tinggi tidak baik bagi penderita hiperglikemia (Diehl, 1996). Oleh karena itu susu skim aman dikonsumsi oleh penderita diabetes. Merk susu skim yang kami gunakan dalam penelitian ini juga tidak mengandung lemak (0%) apabila dilihat dari informasi nilai gizi pada kemasannya.

Bahan lain yang penting dalam pembuatan *cookies* adalah gula atau bahan pemanis. Bahan pemanis atau gula mempunyai peranan penting dalam menghasilkan aroma, penampakan, warna, rasa, dan dimensi suatu produk. Gula biasanya ditambahkan dalam berbagai produk pangan seperti *cookies* (Aggarwal *et.al*, 2016). Pada penelitian ini gula yang digunakan adalah sukralosa. Sukralosa merupakan jenis triklorodisakarida dengan rumus kimia $C_{12}H_{19}Cl_3O_8$. Sukralosa berbentuk kristal berwarna putih, tidak berbau, dan mudah larut dalam air (SNI 01-6993-2004, 2004). Berdasarkan ciri-ciri tersebut, kami menggunakan sukralosa karena jika diaplikasikan dalam produk bakery tidak akan menyebabkan timbulnya aroma lain. Kemudahannya untuk larut dalam air juga membuat sukralosa mudah diaplikasikan dalam adonan *cookies* sehingga mudah tercampur rata saat diaduk. Sukralosa juga memiliki tingkat kemanisan hingga 600 kali lebih manis dari sukrosa tanpa menambah nilai kalori. Sukralosa juga tidak menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah apabila dikonsumsi karena sukralosa tidak dapat terurai; sehingga tidak digunakan sebagai sumber energi (glukosa) dalam tubuh. Dalam SNI 01-6993-2004, (2004) dikatakan pula bahwa sukralosa sangat sesuai sebagai pengganti gula bagi penderita diabetes baik tipe I maupun II.

Pada proses pembuatan *cookies* dalam penelitian ini, penggunaan bahan-bahan tersebut bertujuan untuk memperoleh *cookies* dengan kandungan lemak dan gula yang rendah untuk meminimalkan peningkatan kadar glukosa darah yang berlebih. Pada penderita hiperglikemia, glukosa dalam darah tidak dapat masuk ke dalam sel untuk diubah menjadi energi. Hal ini dapat terjadi baik karena kurangnya insulin yang dihasilkan oleh sel β pankreas maupun karena penurunan jumlah reseptor insulin yang dapat disebabkan oleh konsumsi lemak berlebih (obesitas). Ketika glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel, sel-sel akan mencari sumber makanan lain yaitu lemak yang dapat masuk tanpa pertolongan insulin. Sel-sel akan menguraikan lemak menjadi asam lemak dan menggunakannya untuk menghasilkan tenaga sementara glukosa tertimbun dalam darah dan dapat meluap ke air seni (Diehl, 1996). Penggunaan lemak berlebih yang tidak diimbangi dengan penggunaan glukosa oleh sel menyebabkan glukosa hanya tertimbun dalam darah dan dapat meluap dalam air seni. Semakin banyak konsumsi makanan tinggi gula, maka

semakin banyak glukosa yang dihasilkan dan tertimbun dalam darah karena tidak digunakan untuk menghasilkan energi.

4.2. Hasil Proksimat *Cookies*

Air merupakan komponen yang penting dalam semua bahan pangan. Jumlah air dalam suatu produk pangan (yang diketahui sebagai kadar air dalam persen) dapat mempengaruhi penampilan, tekstur, dan rasa makanan (Makawy & El-sayd, 2010). Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa kadar air *cookies mocaf* yang dihasilkan hanya sebesar $3,237 \pm 0,115\%$. Hal ini dapat disebabkan karena tepung *mocaf* juga hanya memiliki kadar air yang rendah yaitu 6,9% (Salim, 2011). Kadar air *cookies mocaf* yang lebih rendah jika dibandingkan dengan tepung *mocaf* sendiri juga dapat terjadi karena pada proses pembuatan *cookies*, ditambahkan bahan lain seperti susu skim dan sukralosa yang mungkin dapat menyebabkan kehilangan air lebih besar saat proses pemanggangan.

Pada tabel 5 dapat dilihat bahwa semakin banyak tingkat substitusi *Spirulina platensis* yang ditambahkan akan semakin meningkatkan kadar air *cookies*. Hal ini dapat terlihat dari *cookies mocaf* substitusi 20% *Spirulina platensis* yang hanya mempunyai kadar air sebesar $3,235 \pm 0,344\%$, dimana nilai kadar air ini lebih rendah jika dibandingkan dengan *cookies mocaf* substitusi 40% *Spirulina platensis* yang memiliki kadar air sebesar $3,996 \pm 0,321\%$. Hal ini dapat disebabkan karena *Spirulina platensis* merupakan jenis sianobakteria yang mempunyai dinding sel yang kurang rapat. Kurang rapatnya dinding sel akan menyebabkan tingginya penyerapan air oleh komponen dalam selnya, terutama karena struktur proteinnya. Faktanya sifat dari molekul protein *Spirulina platensis* yang hidrofilik tersebut menyebabkan pengikatan air yang lebih banyak jika protein berinteraksi dengan molekul pati (Shahbazizadeh *et.al*, 2015). Kadar air baik pada *cookies mocaf* maupun *cookies mocaf* yang disubstitusi *Spirulina platensis* masih memenuhi syarat mutu seperti yang dijelaskan pada SNI 01-2973-1992 yaitu kadar air maksimal yang diperbolehkan pada *cookies* adalah 5%.

Kadar abu dalam bahan makanan merupakan sisa pembakaran bahan organik yang disebut juga dengan mineral (James, 1995). Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa *cookies mocaf* memiliki kadar abu sebesar $1,575 \pm 0,063\%$ sedangkan kadar abu pada tepung *mocaf* hanya sebesar 0,4% (Salim, 2011). Peningkatan kadar abu pada *cookies mocaf* dapat disebabkan karena penambahan bahan lain seperti susu skim dan sukralosa. Menurut FAO (2013) susu skim memiliki sejumlah mineral seperti kalsium, besi, magnesium, fosfor, kalium, natrium, seng, dan tembaga. Keberadaan mineral yang tidak hilang selama proses pengabuan tersebut memungkinkan terjadinya peningkatan kadar abu pada *cookies mocaf*.

Pada Tabel 5 juga dapat dilihat bahwa semakin banyak tingkat substitusi *Spirulina platensis* yang ditambahkan maka semakin tinggi kadar abu yang dihasilkan. Hal ini dapat terlihat dari *cookies mocaf* substitusi 20% *Spirulina platensis* yang hanya mempunyai kadar abu sebesar $3,257 \pm 0,156\%$, dimana nilai tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan *cookies mocaf* substitusi 40% *Spirulina platensis* yang memiliki kadar air sebesar $4,771 \pm 0,122\%$. Hal ini dapat disebabkan karena *Spirulina platensis* mempunyai banyak kandungan mineral seperti mangan, kalsium, magnesium, besi, dan tembaga yang mungkin tidak dapat hilang selama proses pengabuan. Kandungan mineral dalam *Spirulina platensis* kering tidak dapat dipastikan jenisnya karena tergantung pada kandungan media pengkulturannya (Gaese, 2012). Selain itu penambahan susu skim dan sukralosa kemungkinan juga dapat menyebabkan tingginya kandungan mineral dalam *cookies*. Oleh karena itu, kadar abu baik pada *cookies mocaf* maupun *cookies mocaf* yang disubstitusi *Spirulina platensis* tidak dapat memenuhi syarat mutu seperti yang dijelaskan pada SNI 01-2973-1992 yaitu kadar abu maksimal yang diperbolehkan pada *cookies* adalah 2%.

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa *cookies mocaf* memiliki kadar lemak sebesar $0,267 \pm 0,058\%$. Hal ini dapat disebabkan karena tepung *mocaf* juga hanya memiliki kandungan lemak sebesar 0,4% (Salim, 2011). Penurunan kadar lemak ini dapat terjadi karena kemungkinan persentase bahan lain seperti protein dan karbohidratnya lebih besar sehingga kadar lemak yang dihasilkan pada *cookies*

mocaf lebih sedikit jika dibandingkan dengan tepung *mocaf*. Pada Tabel 5 juga dapat dilihat bahwa semakin banyak tingkat substitusi *Spirulina platensis* yang ditambahkan akan semakin meningkatkan kadar lemaknya. Hal ini dapat terlihat dari *cookies mocaf* substitusi 20% *Spirulina platensis* yang hanya mempunyai kadar lemak sebesar $0,933 \pm 0,153\%$, dimana nilai tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan *cookies mocaf* substitusi 40% *Spirulina platensis* yang memiliki kadar lemak sebesar $1,433 \pm 0,153\%$. Hal ini dapat disebabkan karena *Spirulina platensis* mempunyai kadar lemak sekitar 5-7% (Henrikson, 2010). Kadar lemak baik pada *cookies mocaf* maupun *cookies mocaf* yang disubstitusi *Spirulina platensis* tidak dapat memenuhi syarat mutu seperti yang dijelaskan pada SNI 01-2973-1992 yaitu kadar lemak minimal yang diperbolehkan pada *cookies* adalah 9,5%.

Dalam SNI, kadar lemak minimal 9,5% dimaksudkan agar *cookies* yang dihasilkan memiliki struktur yang empuk. Pada proses pembuatan *cookies*, lemak berperan sebagai bahan *shortening*. Komponen lemak dan produk turunannya dalam produk *bakery* berfungsi untuk memodifikasi sifat fisik dan kimiawi dari adonan sehingga mudah diproses. Lemak juga berfungsi melumasi struktur internal adonan sehingga saat pemangangan adonan akan lebih mengembang. Selain itu lemak juga berfungsi untuk meningkatkan keempukan dan membantu penyebaran tingkat kematangan adonan. Pada saat dipanggang, lemak akan meleleh dan menyebar keseluruhan struktur sel adonan sehingga adonan akan matang dengan rata (Matz, 1992). Oleh karena itu, pada *cookies* dalam penelitian ini dihasilkan *cookies* yang sedikit keras karena kadar lemak yang rendah.

Pada Tabel 5 diketahui bahwa kadar protein pada *cookies mocaf* yang dihasilkan adalah sebesar $3,619 \pm 0,267\%$. Kadar protein pada *cookies mocaf* ini diketahui lebih tinggi daripada kadar protein pada tepung *mocaf* yaitu hanya sebesar 1,2% (Salim, 2011). Peningkatan kadar protein pada *cookies mocaf* ini dapat terjadi karena bahan lain yang ditambahkan seperti susu skim memiliki protein yang cukup tinggi yaitu sebesar 3,37 gram/100 gram bahan (FAO, 2013). Pada Tabel 5 juga dapat diketahui bahwa semakin tinggi tingkat substitusi *Spirulina platensis* yang

ditambahkan maka semakin tinggi pula kadar protein yang dihasilkan. Hal ini terlihat dari *cookies mocaf* substitusi 20% *Spirulina platensis* yang hanya mempunyai kadar protein sebesar $12,607 \pm 1,390\%$, dimana nilai tersebut lebih rendah jika dibandingkan dengan kadar protein *cookies mocaf* substitusi 40% *Spirulina platensis* yaitu sebesar $19,962 \pm 1,973\%$. Tingginya kadar protein dapat disebabkan karena *Spirulina platensis* mempunyai kadar protein tinggi yaitu sekitar 55-70% (Asthary *et al*, 2013). Kadar protein yang baik pada *cookies mocaf* maupun *cookies mocaf* yang disubstitusi *Spirulina platensis* sudah memenuhi syarat mutu seperti yang dijelaskan pada SNI 01-2973-1992 yaitu kadar protein minimal yang diperbolehkan pada *cookies* adalah 6%.

Gula pereduksi merupakan gula yang memiliki kemampuan untuk mereduksi karena memiliki gugus aldehid dan keton bebas. Contoh gula pereduksi adalah glukosa (Tranggono *et.al*, 1989). Pengukuran gula pereduksi dilakukan untuk mengetahui kandungan glukosa dalam suatu bahan pangan. Seperti yang telah diketahui bahwa glukosa merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan kenaikan kadar glukosa darah. Asupan kadar glukosa yang berlebih akan menyebabkan penumpukan kadar glukosa darah yang berlebih dalam darah (Diehl, 1996). Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa kadar gula pereduksi pada *cookies mocaf* tidak berbeda signifikan dengan *cookies mocaf* substitusi 20% *Spirulina platensis* dan *cookies mocaf* substitusi 40% *Spirulina platensis*. Kadar gula pereduksi pada *cookies mocaf*, MS20, dan MS40 secara berturut-turut adalah sebesar $0,095 \pm 0,005\%$, $0,107 \pm 0,003\%$, dan $0,099 \pm 0,009\%$. Kadar gula pereduksi yang rendah dalam *cookies* semua perlakuan dimungkinkan karena bahan pemanis yang digunakan adalah sukralosa yang tidak mengandung nilai kalori (SNI 01-6993-2004).

4.3. Hasil Pengujian *In Vivo* pada Tikus

Pengujian *in vivo* merupakan pengujian biologis terhadap makhluk hidup untuk melihat pengaruhnya terhadap tubuh manusia yang biasa dianalogikan dengan hewan percobaan salah satunya tikus. Pada penelitian ini tikus yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan berusia 7-8 minggu

dengan berat 150-200 gram. Pemilihan tikus jantan dibandingkan dengan betina dikarenakan tikus jantan lebih sensitif terhadap STZ (Deeds *et.al*, 2011). Pengujian *in vivo* dilakukan dengan mengkondisikan hewan coba menderita hiperglikemia. Pembuatan hewan percobaan menjadi hiperglikemia dapat dilakukan dengan cara menginduksi tikus dengan senyawa diabetogenik (senyawa kimia penyebab diabetes/ hiperglikemia). Senyawa yang biasa digunakan untuk menginduksi hewan coba adalah *streptozotocin* (STZ) dan aloksan (Nugroho, 2006).

Penelitian ini menggunakan *streptozotocin* (STZ) untuk menginduksi hewan coba menjadi hiperglikemia. Pemilihan *streptozotocin* dibandingkan dengan aloksan didasarkan pada kisaran dosisnya. *Streptozotocin* memiliki kisaran dosis yang lebih luas dengan penggunaan dosis yang lebih rendah jika dibandingkan dengan aloksan. Untuk menginduksi hiperglikemia secara intraperitoneal dibutuhkan dosis lebih dari 150 mg/kg berat badan pada aloksan (Szkudelski, 2001). Dosis ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan STZ yang dapat menginduksi hiperglikemia pada kisaran dosis 45-65 mg/kg berat badan (Goud *et.al.*, 2015). Dosis aloksan yang lebih tinggi menyebabkan banyak kematian pada hewan coba (Szkudelski, 2001). Keunggulan lainnya adalah prinsip kerja STZ yang secara spesifik langsung merusak sel β pankreas memberikan komplikasi kronis yang serupa seperti manusia yang menderita hiperglikemia (Nugroho, 2006).

Pada penelitian ini tikus dikondisikan menderita diabetes dengan induksi *streptozotocin* dosis tunggal sebesar 45 mg/kg berat badan (BB) secara intraperitoneal (i.p). Penggunaan dosis tersebut didasarkan pada penelitian Anwer *et.,al* (2012), yang menyebutkan bahwa dosis tunggal 45 mg/kg BB secara intraperitoneal dapat menyebabkan tikus Wistar mengalami diabetes dengan kadar glukosa darah lebih dari 250 mg/dL setelah 3 hari injeksi. Penelitian Layam & Reddy (2007) juga mengatakan bahwa induksi dosis tunggal 45 mg/kg BB secara intraperitoneal menyebabkan tikus Wistar jantan mengalami diabetes dengan kadar glukosa darah 200-300 mg/dL. Dalam tubuh tikus, *streptozotocin* akan terserap oleh sel β pankreas melalui glukosa *transporter*-GLUT2. Selama metabolismenya dalam tubuh, *streptozotocin* akan menghasilkan nitrogen monoksida (NO) yang diketahui

dapat menyebabkan kerusakan DNA pada sel β pankreas karena proses alkilasi DNA (Szkudelski, 2001).

Penggunaan dosis 45 mg/kg BB ini terlebih dahulu diinduksikan pada 5 ekor tikus sebagai percobaan pendahuluan terhadap dosis yang akan digunakan. Berdasarkan hasil percobaan pendahuluan, penggunaan dosis tersebut menyebabkan kematian pada beberapa ekor tikus dalam kurun waktu 6 hari setelah injeksi *streptozotocin*. Penggunaan dosis 45 mg/kg BB tersebut juga menghasilkan kadar glukosa darah terlalu tinggi (600 mg/dL < hingga tidak terukur) pada hari ke-9 setelah injeksi. Pada dosis ini, baik tikus yang bertahan hidup maupun yang telah mati mengalami diabetes yang disertai dengan gejala penurunan berat badan secara drastis, *polyuria* (pengeluaran urin yang berlebih), *polydipsia* (banyak minum), dan *polyphagia* (banyak makan). Kematian beberapa tikus diperkirakan terjadi karena tikus tidak dapat mentolerir dosis yang diberikan serta dampak yang diberikan *streptozotocin* terhadap tikus terlalu besar sehingga tikus tidak mengkonsumsi makanannya. Pada diabetes kronis, pemberian *streptozotocin* akan menyebabkan gangguan pencernaan pada tikus (Gajdosík *et., al.*, 1999) yang menyebabkan beberapa tikus tidak mengkonsumsi pakan standarnya dan menyebabkan kematian.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan dosis, maka diputuskan untuk menurunkan dosis *streptozotocin* menjadi 40 mg/kg BB pada penelitian utama. Penurunan dosis ini didasarkan pada dosis terendah *streptozotocin* yang masih dapat berpengaruh yaitu sebesar 40 mg/kg BB (Nugroho, 2006). Tikus kemudian diamati dan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah selama kurun waktu 14 hari. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-3 kemudian dilanjutkan pada hari ke-7, 10, dan 14. Hal ini dilakukan karena hingga pada hari ke-3 kadar glukosa darah tikus tidak mencapai 250 mg/dL dan tikus tidak menunjukkan adanya gejala diabetes meliputi penurunan berat badan, *polyuria*, *polydipsia*, dan *polyphagia*.

Menurut Aybar *et.al* (2001) destruksi sel β pankreas dapat terjadi secara tidak menyeluruh pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* dosis rendah (40 mg/kg BB). Ketidakstabilan *streptozotocin* pada dosis yang rendah (<50 mg/kg BB) juga dapat

terjadi (Eleazu *et.al.*, 2013) dan hal inilah yang mungkin terjadi pada hewan coba yang kami gunakan sehingga kondisi hiperglikemia (200 mg/kg BB <) tidak tercapai. Dosis STZ yang diberikan dipengaruhi oleh jenis tikus, metabolisme tubuh, berat badan, rute pemberian, dosis, dan jenis kelamin (Goud *et.al.*, 2015). Berdasarkan uraian tersebut maka dapat dikatakan bahwa meskipun dosis yang digunakan sama, namun respon tubuh dari setiap tikus yang berbeda-beda dapat menyebabkan tikus menjadi hiperglikemia (diabetes). Penelitian oleh Gajdosík *et.al* (1999) bahwa pada dosis 30-40 mg/kg BB tikus dapat mengalami penyembuhan secara spontan.

Penelitian tetap dilanjutkan untuk mengetahui efek *cookies* perlakuan terhadap penurunan kadar glukosa darah pada hewan coba yang hiperglikemia. Data kadar glukosa darah diambil pada hari ke-0,5,10,15,20,25, dan 30 dari dimulainya *treatment* pemberian *cookies*. *Cookies* diberikan dengan mensubstitusi pakan standar sebanyak 50% dari total pakan standar yang diberikan. Pakan standar yang diberikan setiap hari adalah 20 gram sehingga jumlah *cookies* perlakuan yang diberikan pada satu ekor tikus setiap harinya adalah 10 gram.

Kadar glukosa darah tikus pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah sewaktu. Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 6, dapat dilihat bahwa kadar glukosa darah tikus kelompok normal dengan konsumsi pakan standar (PS (-)) dan tikus injeksi *streptozotocin* dengan konsumsi pakan standar (PS (+)) mengalami hasil yang fluktuatif. Dapat dilihat pula bahwa kadar glukosa darah tikus kelompok PS (-), PS (+), dan kelompok MS20 menunjukkan kadar glukosa darah normal, yaitu kurang dari 140 mg/dl. Hasil yang berbeda ditunjukkan pada kelompok perlakuan *cookies mocaf* (M) dan *cokies mocaf* yang disubstitusi *Spirulina platensis* 40% (MS40) yang menunjukkan kadar glukosa darah hiperglikemia pada hari ke-0, yaitu sebesar 147,33 mg/dl untuk tikus M dan 147,00 mg/dl untuk tikus MS40 (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015). Setelah pemberian *cookies* selama 30 hari, pada ketiga jenis *cookies* tersebut secara keseluruhan menunjukkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah mulai dari hari ke-0 hingga 30. Perubahan kadar glukosa darah yang berbeda-beda dapat terjadi karena kondisi hiperglikemia yang disebabkan

pada tikus tidak stabil sehingga dimungkinkan masih ada sel beta pankreas penghasil insulin yang tidak rusak (Eleazu *et.al.*, 2013). Sehingga dapat dikatakan bahwa kemampuan tikus dalam menurunkan kadar glukosa darah tergantung dari seberapa banyak sel beta penghasil insulin yang masih tersisa. Untuk melihat *trend* perubahan kadar glukosa darah pada tikus, dapat dilihat pada Gambar 7.

Perlakuan pemberian ketiga jenis *cookies* menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah. Pada persentase penurunan kadar glukosa darah yang dapat dilihat pada Tabel 7, dapat diketahui bahwa persentase penurunan kadar glukosa darah tertinggi dihasilkan oleh kelompok tikus perlakuan *cookies mocaf* yang disubstitusi 40% *Spirulina platensis* (MS40). Hal ini kemungkinan dapat disebabkan karena *cookies* MS40 mengandung jumlah protein yang paling tinggi berdasarkan uji proksimat yang telah dilakukan. Seperti yang telah diketahui bahwa *Spirulina platensis* merupakan mikroalga hijau biru yang memiliki protein tinggi yaitu berkisar antara 55-72% (Angka & Suhartono, 2000). Selain itu, 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 Utari *et.al* (2011), pemberian asam amino arginin memberikan pengaruh besar terhadap penurunan kadar glukosa darah. Hal ini didukung pula oleh Floyd *et.al* (1966) yang membuktikan bahwa 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. Berdasarkan kedua penelitian diatas maka dapat diketahui bahwa asupan protein dalam bahan pangan berperan penting dalam penurunan kadar glukosa darah. Pembuktian bahwa protein dalam *Spirulina* dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinjeksi *streptozotocin/ STZ* juga telah dibuktikan oleh Anwer *et.al* (2012). Pada penelitiannya menggunakan berbagai ekstrak bahan dari *Spirulina* (termasuk protein) membuktikan bahwa pemberian protein *Spirulina* sebanyak 50 µg/ kg berat badan tikus injeksi *streptozotocin/STZ* selama 30 hari, dapat menurunkan kadar glukosa darah lebih besar dibandingkan dengan tikus yang diberikan ekstrak etanol dan *aqueous extract* saja.

Pemicuan pengeluaran protein dapat terjadi karena masih terdapat sel beta pankreas. Seperti yang telah diketahui bahwa *streptozotocin* bekerja secara spesifik merusak sel beta pankreas. *Streptozotocin* dapat masuk dalam sel beta melalui transporter glukosa GLUT 2. Dalam tubuh *streptozotocin* akan menghasilkan nitrat oksida (NO) dan membangkitkan oksigen reaktif (ROS) yang dapat berfungsi sebagai radikal bebas dan merusak sel beta pankreas (Nugroho, 2006). Selain protein dalam *Spirulina platensis* juga terdapat senyawa yang bersifat sebagai antioksidan seperti fikosianin, senyawa fenolik, dan beta karoten sebagai prekursor vitamin A. Keberadaan senyawa-senyawa ini diketahui dapat menghambat aktivitas perusakan sel beta oleh kelompok oksigen reaktif (ROS) dan membantu melindungi dan meregenerasi sel-sel yang telah rusak sebagian karena *streptozotocin* (Anwer *et.al*, 2012 ; Gaese, 2012). Masih terdapatnya sel beta pankreas juga dapat disebabkan karena menurut Aybar *et.al* (2001) destruksi sel β pankreas dapat terjadi secara tidak menyeluruh pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* dosis rendah (40 mg/kg BB).

Pada Tabel 7 dapat dilihat bahwa persentase penurunan kadar glukosa darah tikus perlakuan M (*cookies mocaf*) lebih besar jika dibandingkan dengan tikus perlakuan MS20. Hal ini dapat terjadi karena berdasarkan hasil pengujian proksimat, *cookies mocaf* (M) memiliki kadar lemak dan gula pereduksi yang paling sedikit. Menurut Azrimaidaliza (2011), konsumsi asupan makanan yang rendah lemak dan gula dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah yang signifikan. Penurunan yang lebih besar juga dapat terjadi karena kemungkinan kerusakan sel beta pada pankreas tikus kelompok MS20 lebih besar dari pada kerusakan sel pada tikus perlakuan M. Hal tersebut menyebabkan protein hanya bisa memicu sedikit pengeluaran insulin dalam tubuh tikus. Hal ini dipengaruhi oleh metabolisme setiap tikus yang berbeda-beda (Eleazu *et.al.*, 2013).

Penimbangan berat badan tikus juga dilakukan setiap kali kadar glukosa darah tikus diambil yaitu pada hari ke-0,5,10,15,20,25, dan 30 dari dimulainya *treatment* pemberian *cookies*. Berdasarkan Tabel 8 dapat dilihat pada keseluruhan tikus pada

semua kelompok perlakuan bahwa berat badan tikus semakin meningkat mulai dari hari ke-0 hingga hari ke-30. Peningkatan berat badan ini dapat terlihat lebih jelas pada Gambar 8. Peningkatan ini dapat terjadi karena saat makanan masuk ke dalam tubuh, tubuh akan memberikan sinyal secara otomatis untuk segera mengeluarkan insulin. Insulin yang dikeluarkan oleh tubuh akan membantu glukosa dalam darah untuk masuk ke dalam sel yang kemudian akan digunakan sebagai energi. Sisa glukosa akan diubah menjadi glikogen dan akan disimpan di hati, otot dan jaringan lainnya (Diehl, 1996).

Pada Tabel 9 dapat dilihat bahwa persentase peningkatan berat badan tertinggi diperoleh pada tikus kelompok perlakuan yang diberikan *cookies mocaf*. Persentase kenaikan berat badan ini bergantung pada metabolisme tubuh masing-masing tikus, tingkat asupan makanan, dan seberapa banyak sel beta yang rusak dalam tubuh tikus. Pada metabolisme tubuh yang cepat makanan akan dengan cepat diproses menjadi glukosa darah dan dapat digunakan sebagai energi maupun disimpan menjadi cadangan energi dalam jaringan adiposa. Semakin banyak sel beta yang tidak rusak maka akan semakin banyak pula insulin yang dapat disekresi. Insulin yang dikeluarkan oleh tubuh akan membantu glukosa dalam darah untuk masuk ke dalam sel yang kemudian akan digunakan sebagai energi. Sisa glukosa akan diubah menjadi glikogen dan akan disimpan di hati, otot dan jaringan lainnya (Diehl, 1996). Semakin banyak tikus mengkonsumsi makanan dan semakin baik kerja insulin yang dihasilkan karena kerusakan yang sedikit pada sel beta pankreas, maka berat badan tikus akan semakin meningkat. Peningkatan berat badan perlu diketahui karena biasanya terjadi penurunan berat badan pada penderita hiperglikemia

4.4. Hasil Korelasi antara Kadar Glukosa Darah dengan Berat Badan Tikus

Hubungan antara kadar glukosa darah dengan berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 10. Berdasarkan data pada Tabel 10, dapat diketahui bahwa hubungan antara kadar glukosa darah dan berat badan pada tikus PS (-) menunjukkan hubungan yang lemah karena dapat diketahui bahwa nilai korelasi yang dihasilkan sangat rendah yaitu 0,211. Hal ini mungkin dapat terjadi karena kadar glukosa tikus PS (-) berfluktuatif mulai dari hari pertama pengukuran KGD hingga hari terakhir yaitu

hari ke-30. . Hal yang sama juga dialami oleh tikus kelompok PS (+), dimana hubungan antara kadar glukosa darah dan berat badan tikus kelompok ini lemah. Selain itu hubungan yang terjadi antara KGD dan berat badan tikus berbanding lurus yang artinya kadar glukosa darah tikus akan menurun diikuti dengan penurunan berat badan tikus. Pada tikus kelompok ini, dapat diperkirakan bahwa tikus sedikit mengalami hipoglikemia karena terjadi penurunan berat badan saat kadar glukosa darah menurun. Hipoglikemia dapat dipicu oleh stress pada tikus sehingga tikus tidak mau/sedikit mengkonsumsi pakan standar dan menyebabkan hipoglikemia karena tidak adanya asupan makanan yang masuk dan dapat berujung pada kematian tikus (Krinke, 2000).

Pada tikus yang diberikan *cookies mocaf*, *cookies mocaf* dengan 20% substitusi *Spirulina platensis*, dan *cookies mocaf* dengan substitusi 40% *Spirulina platensis* ketiganya menunjukkan hubungan yang berbanding terbalik antara kadar glukosa darah dan berat badan tikus. Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan penurunan kadar glukosa darah pada tikus maka berat badan tikus juga meningkat. Selain itu, hubungan antara kadar glukosa darah dan berat badan tikus menunjukkan hubungan yang kuat karena memiliki koefisien korelasi yang hampir mendekati 1. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan Anwer *et.,al* (2011) bahwa pada tikus yang diberi perlakuan pemberian ekstrak kasar *Spirulina platensis* akan menyebabkan kadar glukosa darah tikus menurun dan berat badan tikus meningkat.