

PROFIL ANTIOKSIDAN DARAH TIKUS DIABETES DENGAN ASUPAN BERAS MERAH YANG DIPERKAYA KAPPA-KARAGENAN DAN EKSTRAK ANTOSIANIN

Antioxidant Blood Profile of Diabetes Rats Feed with Red Rice Enriched Kappa-Carrageenan and Anthocyanin Extracts

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh pemberian beras merah yang diperkaya kappa-karagenan dan ekstrak antosianin terhadap profil antioksidan darah pada tikus Diabetes Melitus (DM). Indikator penelitian adalah penurunan glukosa darah dan angka *Malondialdehid* (MDA) serta peningkatan antioksidan plasma dengan metode *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP). Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba tikus Wistar usia 2,5 bulan dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL). Tikus dibagi 6 kelompok pakan, yaitu standar negatif dan positif (kontrol dan DM), beras merah (BM), beras merah ditambah kappa-karagenan (BMK), beras merah ditambah ekstrak antosianin (BMA) dan beras merah ditambah kappa-karagenan dan ekstrak antosianin (BMKA). Percobaan dilakukan selama 6 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok BMKA setelah intervensi terjadi penurunan kadar glukosa darah dari 234,26 menjadi 84,78 mg/dl ($p=0,000$), MDA kelompok DM dibandingkan BMKA masing 2,175 dan 0,530 $\mu\text{mol/L}$ ($p=0,000$) serta FRAP pada kelompok DM dan BMKA masing-masing 69 dan 216 nmol/ml ($P=0,000$). Kesimpulannya adalah beras merah dengan pengkayaan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin mampu menurunkan kadar glukosa darah dan MDA serta meningkatkan angka FRAP tikus diabetes. Hasil penelitian ini dapat diaplikasikan sebagai terapi diet pada penyandang diabetes untuk mempertahankan level glukosa darah mendekati normal.

Kata kunci: beras merah, antosianin, kappa-karagenan, FRAP, MDA

ABSTRACT

This study aims to analyze the effect of red rice enriched-kappa-carrageenan and anthocyanin extracts on antioxidant blood profile in diabetic rats. Variables analyzed in this research are blood glucose, malondialdehyde (MDA) level, and plasma antioxidant by Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) method. This study was conducted *in vivo* on male Wistar rats aged 2.5 months using completely randomized design. Rats divided into 6 groups based on types of feed, standard feed (control and DM), red rice (BM), red rice enriched kappa-carrageenan (BMK), red rice enriched extracts of anthocyanin (BMA) and red rice enriched kappa-carrageenan and extract anthocyanin (BMKA). Experiments were carried out for 6 weeks. Rats feed with red rice showed decreased blood glucose levels of 234.26 to 84.78 mg/dl ($p = 0.000$), MDA diabetic group compared to BMKA 2.175 and 0.530 mol/L ($p = 0.000$) respectively, and the rate of FRAP in DM and BMKA FRAP 69 and 216 nmol / ml ($P = 0.000$) respectively. The conclusion was that red rice enriched kappa-carrageenan and anthocyanin extract is able to lower blood glucose levels, increase MDA and FRAP number of diabetic rats. The results of this study can be applied as a dietary therapy in people with diabetes to keep blood glucose levels close to normal.

Keywords: red rice, anthocyanins, kappa-carrageenan, FRAP, MDA

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit dengan gangguan metabolisme kronis yang ditandai tingginya kadar glukosa darah sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi Insulin disebabkan oleh defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, atau kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO, 1999). Diabetes melitus tipe 2 dengan jumlah penderita 90-95%, disebabkan karena multifaktor. Faktor terbesar karena genetik dan pengaruh lingkungan, di antaranya obesitas, diet tinggi lemak, dan rendah serat, serta kurangnya aktifitas tubuh (Depkes, 2005). Menurut *International Diabetes Federation* (2005), Indonesia diperkirakan mengalami kenaikan prevalensi dari peringkat kelima pada tahun 2003 menjadi peringkat ketiga di dunia pada tahun 2025.

Beberapa upaya yang dapat dilakukan untuk menangani diabetes yaitu pengobatan, peningkatan aktivitas fisik, dan pengelolaan diet (konsumsi makanan). Antioksidan dari bahan makanan juga terbukti dapat memperbaiki glukosa darah tikus diabetes (Jung dkk., 2007; Gandhi. dkk., 2011; Herawati. dkk., 2013; Pramitasari, 2014).

Diet beras merah sebagai makanan pokok pengganti beras putih terbukti mampu memperbaiki kondisi glikemik pada penderita DM. Beberapa hasil penelitian tentang beras merah dan antosianin menunjukkan kemampuannya dalam perbaikan kondisi glikemik. Komponen utama beras merah yaitu oryzanol mampu meningkatkan intoleransi glukosa, mencegah obesitas, dan DM tipe 2. Antosianin pada beras berpigmen menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap aldosa reduktase dan memberi kontribusi yang signifikan dalam memerangi komplikasi diabetes (Yawadio dkk., 2007; Zhang dkk., 2010). Yao dkk. (2010) juga membuktikan ada hubungan antara total fenolik beras berpigmen dengan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang berdampak pada penundaan pencernaan karbohidrat di dalam saluran cerna.

Hasil penelitian Kristanti (2015) menunjukkan beras merah precooked mempunyai kadar serat pangan lebih tinggi dibandingkan beras putih dengan angka masing-masing 7,96 dan 6,83 % db. Santoso (2011) dan Astawan dkk. (2005) menyampaikan beberapa manfaat serat pangan (*dietary fiber*) untuk kesehatan yaitu dapat mengontrol berat badan, mencegah gastrointestinal, kanker kolon, mengurangi kadar kolesterol, dan mengontrol glukosa darah pada penderita penyakit diabetes. Diet cukup serat juga menyebabkan terjadinya kompleks karbohidrat dan serat, sehingga daya cerna karbohidrat berkurang. Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikannya tetap terkontrol. Salah satu sumber serat pangan adalah rumput laut yang mengandung komponen agar, alginat, dan karagenan yang merupakan senyawa hidrokoloid komersial dari rumput laut merah (*Rhophyceae*). Beberapa keuntungan dari asupan serat pangan bagi penderita diabetes meliputi penghambatan laju postprandial glisemia, mengurangi konsentrasi glukosa basal, dan menaikkan sensitivitas pada insulin (Marsono, 2004).

METODE PENELITIAN

Desain, waktu, dan tempat

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba tikus *Wistar* jantan dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL), dari bulan Februari-Desember 2014. Uji *in vivo* menggunakan hewan coba dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Jogjakarta.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beras merah varietas Mandel Handayani dari Gunung Kidul, kappa-karagenan dari Fakultas MIPA UII, antosianin diekstrak dari beras hitam varietas Melik (Bantul Jogjakarta).

Bahan pakan standar AIN 93 *maintenance* meliputi maizena, kasein, sukrosa, minyak kedelai, agar-agar (serat), mineral mix, vitamin mix, L-cystin dan cholin bitartrat, Reagen

GOD-PAP (Glucose Oksidase-Phenol Amino peroksidase), Streptozotocin (STZ) (Nacalai Tesque, USA), Nicotinamide (Na), reagen uji *Malondealdehyde* (MDA) meliputi asam fosfat, TEP standar, TBA dan reagen uji FRAP, larutan standard $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, buffer asetat pH 3,6, TPTZ, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan FeSO_4 .

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang individual, botol air, neraca analitik, mangkok aluminium, dan sarung tangan karet. *Sput disposable*, tabung *eppendorf*, tabung reaksi, *centrifuge*, dan spektrofotometer UV Vis.

Hewan percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus jantan galur wistar usia 2,5 bulan, berat badan antara 175-250g, dilengkapi keterangan kelaikan etik nomor : 182/KEC-LPPT/IX/2014 yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM.

Persiapan hewan coba (induksi STZ-Na)

Tahap persiapan hewan coba meliputi aklimatisasi selama 5 hari kemudian tikus dipuasakan 1 malam kemudian diinjeksi STZ-Na dengan dosis tunggal STZ 65 mg/kg berat badan (dilarutkan dalam 0,1 mol / L bufer sitrat pH 4,5 dan Na 230 mg/kg berat badan secara intraperitoneal (Szkudelski, 2012). Setelah induksi hewan coba diaklimatisasi 5 hari. Tikus dinyatakan diabetes, bila kadar glukosa darah >200 mg/dl (Anwer, 2014).

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 1 minggu sekali selama intervensi. MDA dilakukan pada minggu ke 3 dan ke 6 (akhir penelitian), sedangkan FRAP dilakukan diakhir penelitian (pada minggu ke 6).

Pengelompokan hewan percobaan dan intervensi

Tikus dibagi menjadi 6 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

1. Normal : tikus sehat (tanpa induksi STZ-NA) sebagai kontrol diberi diet pakan standar AIN 93M.

2. DM : tikus diinduksi STZ-NA (DM) diberi pakan standar AIN 93M.
3. BM : tikus DM diberi diet tepung beras merah.
4. BMK : tikus DM diberi diet tepung beras merah+kappa-karagenan.
5. BMA : tikus DM diberi diet tepung beras merah + ekstrak antosianin
6. BMKA : tikus DM diberi diet tepung beras merah + kappa-karagenan + ekstrak antosianin.

Intervensi dilakukan selama 6 minggu.

Komposisi masing-masing kelompok pakan dihitung berdasar iso protein dan kalori dipaparkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi pakan ransum standar (AIN 93M) (Reeves dkk, 1993 modifikasi)

Bahan (g)	Kelompok pakan					
	Normal	DM	BM	BMK	BMA	BMKA
Maizena	62,5	62,5	20	19,2	20	19,2
TBM	0	0	62,7	0	0	0
TBMK	0	0	0	63,9	0	0
TBMA	0	0	0	0	62,7	0
TBMKA	0	0	0	0	0	63,9
Kasein	14	14	7,91	7,79	7,91	7,83
Sukrosa	10	10	15	15	15	15
Minyak kedelai	4	4	2,72	2,70	2,72	2,64
Agar-agar (serat)	5	5	0	0	0	0
Mineral mix	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Vitamin mix	1	1	1	1	1	1
L-Cystin	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Cholin Bitartrat	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Total (g)	100,4	100,4	99,73	100,02	99,73	100,02
Kkal	361,9	361,9	361,4	361,8	361,4	361,8

Keterangan :TBM (tepung beras merah), TBMK (tepung beras merah+kappa-karagenan), TBMA (tepung beras merah + ekstrak antosianin) dan TBMKA (tepung beras merah +kappa-karagenan+ekstrak antosianin)

Penambahan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin (Nurhidajah dkk, 2013)

Penambahan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin berdasarkan nilai tertinggi dari uji sensoris. Kappa-karagenan ditambahkan sebanyak 2% sedangkan ekstrak antosiani 5 ml/100 g beras + kappa-karagenan

Kadar Glukosa Puasa (GOD-PAP)

Kadar glukosa puasa ditentukan dengan metode enzimatik *Glucose Oxidase-Phenol 4-Aminoantipirin*. Penentuan kadar glukosa serum menggunakan kit analisis dari Dia Sys yang terdiri dari larutan standart dan reagen. Sebanyak 10 µL serum ditambah reagen GOD-PAP sebanyak 1000 µL, kemudian divorteks. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit pada suhu 20-25°C, kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm, Kadar glukosa dihitung menggunakan rumus.

$$\text{Glukosa darah (mg/dl)} = \frac{\Delta \text{ sampel}}{\Delta \text{ standar}} \times \text{kadar standar}$$

Kadar Malondialdehid (MDA) plasma (metode thiobarbituric acid).

Darah tikus diambil minggu ke 3 dan 6 (akhir intervensi) sebanyak 0,1 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA. MDA diukur dengan metode TBARS yaitu mengukur konsentrasi *Thioarbituric Acid Reactive Substances*. Sebanyak 750 µL asam fosfat dimasukkan ke dalam tabung *polypropilen* 13 mL. Sebanyak 50 µL sampel plasma/aquades ditambahkan ke dalam tabung.

Campuran dikocok sampai homogen kemudian ditambahkan 250 µL larutan TBA 40 mM. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 450 µL ke dalam tabung dan ditutup rapat. Campuran dididihkan, kemudian didinginkan dalam *ice bath*. Sampel yang sudah dingin diaplikasikan ke dalam *Set Pack C 18-column*. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532nm.

Analisis Antioksidan Plasma dengan Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) (Benzie, 1996)

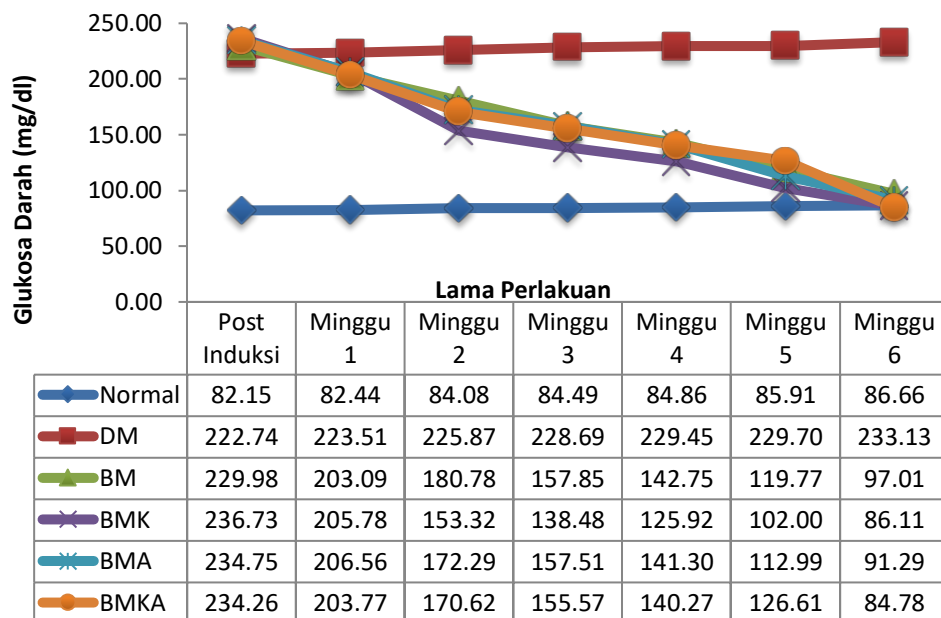
Pengujian kapasitas antioksidan plasma dengan metode FRAP, sebanyak 30 µl reagen FRAP yang telah dihangatkan pada 37° C ditambahkan 10 µl sampel plasma/larutan standard FeSO₄.7H₂O kemudian ditambah 30 µl akuades, dicampur dengan vorteks kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah itu dilakukan peneraan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm.

Reagen FRAP dibuat dengan mencampurkan 25 ml buffer asetat pH 3,6 dengan 2,5 ml larutan TPTZ, dan 2,5 ml larutan FeCl₃.6H₂O. Larutan standar FeSO₄ dibuat dengan rentang kadar 100–1000 µmol/L untuk pembuatan kurva standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Pakan Beras Merah dengan Kappa-karagenan dan Ekstrak Antosianin terhadap Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah hewan coba yang diinduksi STZ mengalami peningkatan diatas 200 mg/dl pada semua kelompok. Keadaan ini tergolong hiperglikemia yang ditandai dengan kadar glukosa darah diatas normal. Menurut Taguchi (1985), tikus putih galur SD jenis kelamin jantan mempunyai kadar glukosa darah normal $105,2 \pm 14,2$ mg/dl. Pada manusia, glukosa darah sewaktu > 200 mg/dl atau glukosa darah puasa > 126 mg/dl dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis Diabetes Melitus (Mansjoer dkk., 2007). Data rata-rata kadar glukosa dipaparkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata kadar glukosa darah selama perlakuan (6 minggu)

Keterangan :

Normal	: tikus sehat dengan pakan standar AIN 93 M
DM	: tikus diabetes dengan pakan standar AIN 93 M
BM	: tikus diabetes dengan pakan beras merah
BMK	: tikus diabetes dengan pakan beras merah + kappa-karagenan
BMA	: tikus diabetes, pakan beras merah + antosianin
BMKA	: tikus diabetes, pakan beras merah + kappa-karagenan + ekstrak antosianin

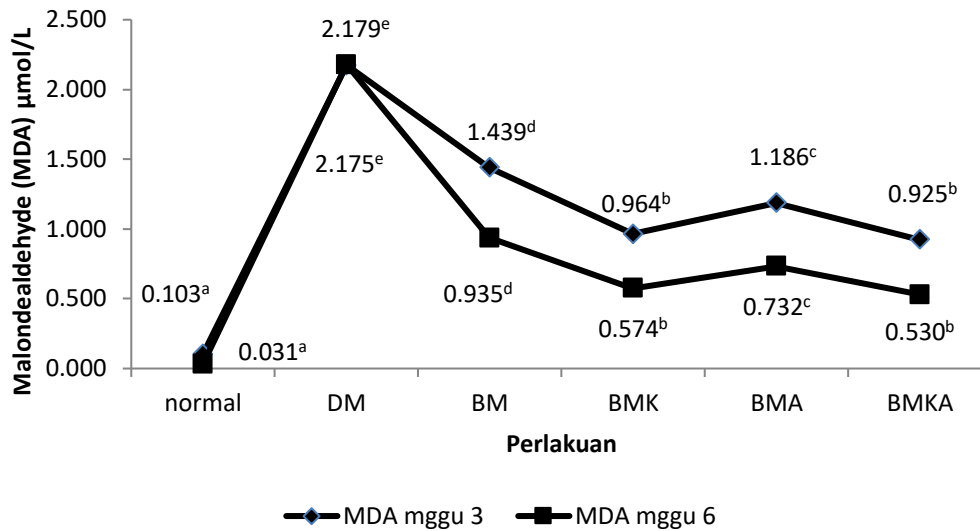
Kadar glukosa darah pada semua kelompok tikus DM yang diberi perlakuan selama 6 minggu mengalami penurunan. Prosentase penurunan kadar glukosa darah tikus DM dengan perlakuan pakan BM, BMK, BMA dan BMKA berturut-turut 57,83%, 63,63%, 61,11% dan 63,81% (dihitung dari kadar glukosa darah setelah induksi). Hal ini disebabkan kandungan serat pangan yang cukup tinggi pada beras merah. Uji anova menunjukkan ada pengaruh yang sangat signifikan antara perlakuan pakan dengan kadar glukosa darah ($p=0,000$). Uji lanjut Duncan menunjukkan ada perbedaan kelompok perlakuan kecuali kelompok normal, BMK dan BMKA. Menurut Santoso (2011), serat pangan mampu menyerap air dan mengikat glukosa, sehingga mengurangi ketersediaan glukosa. Diet cukup serat juga menyebabkan terjadinya kompleks karbohidrat dan serat, sehingga daya cerna karbohidrat berkurang. Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikannya tetap terkontrol.

Selain serat, antosianin pada beras merah mengindikasikan berfungsi antihiperlikemik. Menurut Banerjee Banerjee dan Vats (2014), pada kondisi hiperlikemia biasanya diikuti dengan peningkatan produksi radikal bebas atau kegagalan fungsi pertahanan antioksidan dalam tubuh. Hal ini akan menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Suda dkk. (2003) berpendapat bahwa tikus hiperlikemik yang diberi antosianin dari ubi jalar Ayamurasaki (100 mg/kg) mampu menurunkan kadar glukosa darah 16,5% setelah 30 menit dibanding perlakuan kontrol. Hal ini disebabkan terdapatnya efek antihiperlikemik dari antosianin dengan menghambat aktivitas enzim maltase dalam menghasilkan glukosa. Kandungan polifenol pada beras merah juga dapat mempengaruhi penurunan glukosa darah. Konsumsi fenolik terbukti

mampu meningkatkan penghambatan enzim α -glukosidase yang berperan dalam hidrolisis karbohidrat. Hasil penelitian Yao dkk. (2010) membuktikan bahwa biji-bijian berwarna mengandung antosianin berfungsi sebagai antioksidan. Terdapat korelasi positif yang signifikan dari aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan α -glukosidase dengan total kandungan antosianin. Beras hitam memiliki aktivitas antioksidan dan α -glukosidase inhibitor tertinggi dan ada hubungan antara total fenolik beras dengan aktivitas penghambatan α -glukosidase, yang berdampak pada penundaan pencernaan karbohidrat di dalam saluran pencernaan sehingga dapat digunakan sebagai terapi bagi penderita diabetes (Matsui dkk., 2001; 2002).

Pengaruh Pemberian Pakan Beras Merah dengan Kappa-karagenan dan Ekstrak Antosianin terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma Tikus Diabetes

Malondialdehyde (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas dalam tubuh dalam bentuk bebas atau terikat dengan jaringan di dalam tubuh yang menjadi salah satu indikator untuk menentukan stres oksidatif dalam tubuh dan merupakan biomarker stres oksidatif (Jeyabalan dan Caritis, 2007; Souza dkk., 2005). Peningkatan stres oksidatif berbanding lurus dengan pembentukan MDA. Proses autooksidasi pada hiperglikemi memicu pembentukan radikal bebas khususnya radikal superoksida (O_2^-) dan oksidan hidrogen peroksida (H_2O_2) melalui reaksi *Haber-Weis* dan *Fenton* akan membentuk radikal hidroksil (OH^-). Radikal bebas dapat merusak membran sel menjadi lipid peroksida atau MDA (Baynes, 1991). Rata-rata kadar MDA minggu ke 3 dan 6 dipaparkan seperti Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan kadar MDA minggu ke 3 dan ke 6

Gambar 2 menunjukkan kadar MDA pada minggu ke 6 mengalami penurunan pada semua kelompok tikus normal maupun yang diberi perlakuan pakan. Uji anova menunjukkan ada pengaruh yang sangat signifikan ($p=0.000$) antara perlakuan pakan terhadap kadar MDA pada minggu ke 3 dan ke 6. Uji lanjut Duncan menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan kecuali kelompok BMK dan BMKA. Uji korelasi antara glukosa darah dan MDA dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji korelasi antara kadar glukosa darah dan MDA

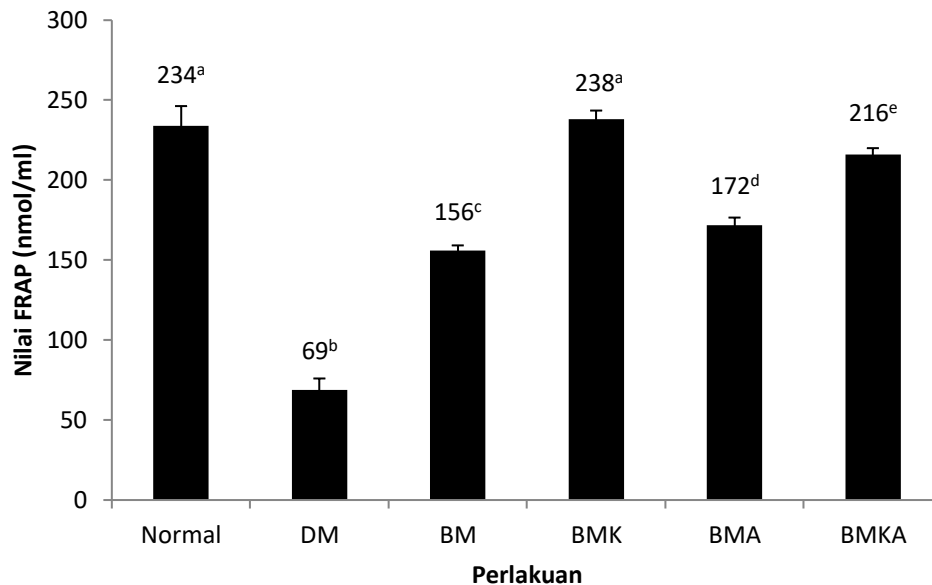
Parameter (Kadar glukosa darah)	MDA minggu ke 3	MDA minggu ke 6
Pearson Correlation Coefficient	.779	.927
Sig(2tailed)	0.000	0.000

Analisis korelasi menunjukkan ada korelasi positif yang sangat bermakna antara kadar glukosa darah dengan MDA baik pada minggu ke 3 maupun akhir intervensi.

Pengaruh Perlakuan Pakan terhadap Kadar Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi senyawa besi (III)-

tripiridil-triazin menjadi besi (II)-tripiridil triazin pada pH 3,6. Hasil penelitian menunjukkan ada peningkatan nilai FRAP yang cukup signifikan pada kelompok perlakuan BM, BMK, BMA dan BMKA berturut-turut 126,10%, 244,93%, 149,28% dan 213,04% bila dibandingkan kelompok DM (Gambar 3).



Gambar 3. Pengaruh pemberian pakan terhadap nilai FRAP.

Uji statistic menunjukkan ada pengaruh antara perlakuan pakan dengan nilai FRAP ($p=0,000$), sedangkan uji lanjut menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan kecuali pada kelompok normal dengan kelompok perlakuan beras merah yang ditambah kappa-karagenan. Uji korelasi antara kadar glukosa darah dan FRAP menunjukkan korelasi negatif antara kadar glukosa darah dengan nilai FRAP. Semakin tinggi kadar glukosa darah semakin rendah nilai FRAP. Yao dkk. (2010) membuktikan bahwa antioksidan beras merah memiliki kemampuan menghambat enzim α -glucosidase (IC_{50}) sebesar $> 1g/mL$.

Mekanisme penurunan kadar glukosa darah puasa tikus kelompok perlakuan juga dapat terjadi melalui perbaikan status antioksidan darah tikus karena adanya kandungan antioksidan yang tinggi pada pakan sehingga kapasitas antioksidan darah (FRAP) juga tinggi pada tikus kelompok perlakuan.

KESIMPULAN

Beras merah dan hasil pengkayaannya mampu menurunkan dan mengontrol kadar glukosa darah tikus DM mendekati kondisi normal pada 6 minggu setelah perlakuan. Kadar MDA pada minggu ke 6 mengalami penurunan pada semua kelompok dengan variasi 34,7% sampai 42,5%. Angka FRAP tikus DM menunjukkan peningkatan yang signifikan antara 126,1% sampai 244,93%. Secara statistik ada pengaruh yang sangat signifikan antara perlakuan pakan dengan kadar glukosa darah, kadar MDA dan FRAP. Kadar glukosa darah dengan MDA dan FRAP menunjukkan korelasi yang signifikan, yaitu korelasi positif untuk MDA dan negatif untuk FRAP. Penelitian ini membuktikan bahwa konsumsi beras merah yang diperkaya kapparakarena dan ekstrak antosianin mampu memperbaiki status antioksidan dan glukosa darah pada tikus diabetes.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah mendanai sebagian penelitian ini melalui hibah penelitian disertasi doktor tahun anggaran 2015-2016, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwer, T. (2014). Melatonin ameliorates hyperinsulinemia, glucose intolerance and insulin resistance in STZ-Nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **6**(2): 133-136.
- Astawan, M., Tuti, W. dan Anas, B.H. (2005). Pemanfaatan rumput laut sebagai sumber serat pangan untuk menurunkan kolesterol darah tikus. *Hayati* **12**(1): 23-27.
- Banerjee, M. dan Vats, P. (2014). Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in Type 2 diabetes mellitus. *Journal Redox Biology* **2**: 170–177.
- Baynes, J.W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* **40**: 405-412.
- Benzie, I. dan Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239**: 70–76.

- Direktorat Bina Farmasi Komunitas Dan Klinik Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian Dan Alat Kesehatan departemen Kesehatan RI. (2005). Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus.
- Gandhi, G.R., Ignacimuthu, S. dan Paulraj, M.G. (2011). Solanum torvum swartzfruit containing phenolic compounds shows antidiabetic and antioxidant effects in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal Food and Chemical Toxicology* **49**: 2725–2733.
- Herawati, E.R.N., Santosa, U., Astuti, M., Suharwaadji. dan Ariani, D. (2013). Pengaruh konsumsi ekstrak antosianin ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*l.) terhadap glukosa darah, dan produk oksidasi lipid (Malonaldehyde) tikus hiperglikemia induksi aloksan. *Prosiding Seminar Nasional Konsumsi Pangan Sehat dengan Gizi Seimbang Menuju Tubuh Sehat Bebas Penyakit*: 191-197. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- International Diabetes Federation. (2005). Guidelines task force global for type 2 diabetes. Brussels.
- Jeyabalan, A. dan Caritis, S.N. (2006). Antioxidant and the prevention of preeclampsia-unresolved issues. *The New England Journal of Medicine* **354**(17): 1841-3.
- Jung, E.H., Kim, S.R., Hwang, I.K. dan Ha, T.Y. (2007). Hypoglycemic Effects of a Phenolic Acid Fraction of Rice Bran and Ferulic Acid in C57BL/KsJdb/db Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 9800–9804.
- Kristanti, D. (2015). Perbandingan efek diet beras merah (mandel handayani) dan Beras putih (ir64) *precooked* pada kadar glukosa darah, Antioksidan darah, profil mikrobiota, dan *short chain Fatty acids* (scfa) digesta tikus wistar hiperglikemia. *Tesis*. Program Studi Pascasarjana Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N. dan Matsumoto, K. (2001). α -glucosidaseinhibitory action of natural acylated anthocyanins. 2. α -glucosidase inhibition by isolated acylated anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**: 1952-1956.
- Matsui, T., Ebuchi, S., Kobayashi, M., Fukui, K., Sugita, K., Terahara, N. dan Matsumoto, K. (2002). Antihyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from ipomoea batatas cultivar ayamurasaki can be achieved through the α -glucosidase inhibitory action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 7244-7248.
- Mansjoer, A., Triyanti, K., Savitri, R., Wardhani, W.I. dan Setiowulan, W. (2007). *Kapita Selekta Kedokteran*. Edisi 3. Jilid 1: 580-588. Jakarta.
- Marsono, Y. (2004). Serat pangan dalam perspektif ilmu gizi. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Nurhidajah., Astuti, M., Sardjono. dan Murdiati, A. (2013). Evaluasi sifat fisik, sensoris dan kimia beras merah yang diperkaya kappa-karagenan dan ekstrak antosianin. *Prosiding*

Seminar Nasional Konsumsi Pangan Sehat dengan Gizi Seimbang Menuju Tubuh Sehat Bebas Penyakit 219-225. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Pramitasari, R. (2014). Potensi antioksidatif minuman fungsional berbasis beras hitam (*Oryza Sativa* L. *Indica*) dan kedelai hitam (*Glycine Max* L. Merr.) untuk lansia penyandang diabetes mellitus tipe 2. *Tesis*. Program Studi Pascasarjana Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Reeves, P.G., F.H. Nielsen. dan Fahey, G.C. Jr. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition and adhoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A diet. *Journal of Nutrition* **123**:1939-1951.
- Santoso A. (2011). Serat pangan (*dietary fiber*) dan manfaatnya bagi kesehatan. *Magistra* No. 75 Th. XXIII ISSN 0215-9511.
- Souza, T.P., de Oliveira, P.R. dan Pereira, B. (2005). Physical exercise and oxidative stress. Effect of intense physical exercise on the urinary chemiluminescence and plasmatic malondialdehyde. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* **11**: 1.
- Suda, I., Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y. dan Furuta, S. (2003). Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. *Japan Agricultural Research Quarterly* **37**(3):167-173.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Journal Experimental Biology and Medicine* **237**: 481-490.
- Taguchi, Y. (1985). *Experimental Animals*. Clea Japan, Inc. Tokyo.
- World Health Organization (WHO). (1999). Definition of metabolic syndrome in definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus. *World Helth Organization Departement of Noncommunicable Disease Suveillance*. Geneva.
- Yao, Y., Sang, W., Zhou, M. dan Ren, G. (2010). Antioxidant and r-glucosidase inhibitory activity of colored grains in china. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 770–774.
- Yawadio, R.S., Tanimori, N. dan Morita. (2007). Identification of phenolic compounds isolated from red rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chemistry* **101**: 1616-1625.
- Zhang, G., Malik, V.S., Pan, A., Kumar, S., Holmes, M.D., Spiegelman, D., Lin, X. dan Hu, F.B. (2010). Substituting red rice for white rice to lower diabetes risk: A focus-group study in chinese adults. *Journal of the American Dietetic Association* **110**:1216-1221.

ACCEPTANCE LETTER



Agritech FTP UGM <agritech@gadjahmada.edu>
to me ▾

Mon, May 2, 2016, 1:44 PM ☆ ↶ ⋮

Indonesian ▾ > English ▾ [Translate message](#)

[Turn off for: Indonesian](#) ×

Yth. Nurhidajah, [S.T.P.](#), M.Si.

Dengan hormat,

Naskah revisi yang Ibu kirimkan sudah kami terima dengan baik. Naskah akan kami plotkan untuk edisi februari 2017 dan surat keterangannya segera kami kirimkan.

Dimohon untuk menyusulkan surat pernyataan mengenai keaslian naskah yang disubmit dan bahwa naskah tidak sedang dalam pertimbangan untuk publikasi di penerbitan lain, serta belum pernah dipublikasikan (contoh terlampir).

Terima kasih atas perhatiannya

One attachment • Scanned by Gmail ⓘ



27 Januari 2016

No : 82/AGT/01/2016
Lamp : hasil *review*
Hal : pengembalian naskah untuk perbaikan

Kepada Yth.
Nurhidajah, S.T.P., M.Si.
Universitas Muhammadiyah Semarang
Jl. Kedung Mundu Raya No. 18
Semarang 50273

Dengan hormat,

Terlampir kami sampaikan hasil penilaian *reviewer* tentang naskah Ibu dengan kode AGT-168-2015 berjudul **“Profil Antioksidan Darah Tikus Diabetes dengan Asupan Beras Merah yang Diperkaya Kappa-Karagenan dan Ekstrak Antosianin”**.

Berdasarkan hasil penilaian oleh tim *reviewer*, maka dengan ini dewan redaksi berpendapat bahwa naskah tersebut dapat dipublikasikan dengan syarat harus diperbaiki sesuai saran dari tim *reviewer*. Mohon dalam perbaikan naskah supaya memperhatikan poin-poin di bawah ini :

- 1) *Reviewer 1* (terlampir lembar penilaian dan naskah hasil *review*)
- 2) *Reviewer 2* (terlampir lembar penilaian dan naskah hasil *review*)

Kami berharap agar *soft file* perbaikan dapat dikirim ke email agritech@gadjahmada.edu sebelum **29 Februari 2016**.

Demikian surat ini kami sampaikan. Kami menunggu perbaikan karya tulis Ibu.
Terima kasih atas perhatiannya.

Redaksi Agritech
Ketua,



Dr. Atris Suyantohadi, S.T.P., M.T.

AGRITECH
JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN
Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta
Telp. 085712601130, Faks. (0274) 589797
E-mail: agritech@gadjahmada.edu

**Judul Naskah: PROFIL ANTIOKSIDAN DARAH TIKUS DIABETES DENGAN
ASUPAN BERAS MERAH YANG DIPERKAYA KAPPA-KARAGENAN
DAN EKSTRAK ANTOSIANIN**

Mohon diberikan pendapat tentang penalaran dan cara mengemukakan pendapat serta hal lain apabila diperlukan:

- Metode supaya didetilkan
- Pembahasan terlalu simple. Kadang berdasar nilai rata2, tapi ada pula signifikansi, mana yg akan dipake? Perlu konsistensi
- Aplikasi perlu ditambahkan.
- Penulisan pustaka harap sesuaikan panduan.

-PROFIL ANTIOKSIDAN DARAH TIKUS DIABETES DENGAN ASUPAN BERAS MERAH YANG DIPERKAYA KAPPA-KARAGENAN DAN EKSTRAK ANTOSIANIN

~~Blood~~-Antioxidant Blood Profile of Diabetes Rats Fed with Pigmented Rice Enriched ~~with~~ Kappa-Carrageenan and Anthocyanin Extracts

ABSTRAK

Beras merah mengandung serat dan antosianin yang berperan memperbaiki kondisi hiperglikemia dan status antioksidan. Tujuan penelitian ini mengkaji pengaruh pemberian beras merah yang diperkaya kappa-karagenan dan ekstrak antosianin terhadap profil antioksidan darah pada tikus Diabetes (DM) dengan indikator penurunan glukosa darah dan kadar ~~Melondialdehyde~~ Malondialdehid (MDA), serta peningkatan nilai antioksidan plasma dengan *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP). Penelitian ini bersifat eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus *Wistar* jantan dengan desain penelitian *randomized post test only control group* menggunakan 6 kelompok tikus *Wistar* ~~jantan~~ usia 2,5 bulan. Hasil penelitian menunjukkan tikus yang diintervensi dengan pakan beras merah dan beras merah dengan penambahan kappa-karagenan serta ekstrak antosianin selama 6 minggu terjadi penurunan kadar glukosa darah (~~dari...menjadi... (P=...)~~), dan ~~kadar~~ MDA (~~dari...menjadi... (p=...)~~), serta peningkatan kadar FRAP ~~dari...menjadi... (P=...)~~. Uji statistik menunjukkan ada pengaruh yang signifikan ($p=0,000$) antara perlakuan pakan terhadap kadar glukosa darah, MDA dan FRAP. ~~Disimpulkan~~ Kesimpulannya ~~pakan~~ beras merah dengan pengkayaan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin mampu menurunkan kadar glukosa darah dan MDA, ~~secara signifikan~~ danserta meningkatkan ~~kadar~~ FRAP tikus diabetes. Aplikasinya???

Kata kunci : antosianin, beras merah, FRAP, kappa-karagenan, ~~Malondialdehyd~~ Malondialdehi (MDA)

ABSTRACT

Pigmented rice contains fiber and anthocyanins which contribute to improve the condition of hyperglycemia and antioxidant status. The purpose of this study examines the effect of pigmented rice enriched kappa-carrageenan and extract anthocyanins towards profile blood antioxidant in rats diabetes (DM) with indicators of a decrease in blood glucose and the levels Melondialdehyde (MDA) and increase in the value of plasma antioxidant with Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP). This research is experimental *in vivo* in male *Wistar* rats randomized study design with post test only control group using 6 groups of male *Wistar* rats

aged 2.5 months. The results showed that mice feed intervened with pigmented rice and pigmented rice with enriched of kappa-carrageenan and anthocyanin extracts for 6 weeks decreased blood glucose, MDA levels and increase FRAP. Statistical analysis showed significant effect ($p = 0.000$) between the treated feed on blood glucose levels, MDA and FRAP. Concluded enrichment feed pigmented rice with kappa-carrageenan and anthocyanin extract is able to lower blood glucose levels and MDA significantly and increase FRAP levels of diabetic rats.

Keywords : anthocyanins, pigmented rice, FRAP, kappa-carrageenan, malondialdehyde (MDA)

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit dengan gangguan metabolisme kronis yang ditandai tingginya kadar glukosa darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin yang disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, atau kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO, 1999). DM tipe 2 dengan jumlah penderita 90-95%, disebabkan karena multifaktor. Faktor terbesar karena genetik dan pengaruh lingkungan, diantaranya obesitas, diet tinggi lemak dan rendah serat, serta kurangnya aktifitas tubuh (Depkes, 2005). Menurut *International Diabetes Federation* (2005), Indonesia diperkirakan akan mengalami kenaikan prevalensi dari peringkat kelima pada tahun 2003 menjadi peringkat ketiga di dunia pada tahun 2025.

Beberapa upaya yang dapat dilakukan untuk menangani diabetes, yaitu adalah pengobatan, peningkatan aktivitas fisik, dan pengelolaan diet (konsumsi makanan). Antioksidan dari bahan makanan juga terbukti dapat memperbaiki kadar glukosa darah pada tikus dengan penderita diabetes (Pramitasari, 2014., Herawati dkk, 2013., Gandhi dkk, 2011., dan Jung dkk, 2007).

Diet beras merah sebagai makanan pokok pengganti beras putih terbukti mampu memperbaiki kondisi glikemik pada penderita DM. Beberapa hasil penelitian tentang beras merah dan antosianin menunjukkan kemampuannya dalam perbaikan kondisi glikemik.

Commented [N1]: Sesuaikan dg abstract yg telah direvisi lebih dahulu

Commented [N2]: Perpendek kalimat biar enak dibaca!

Komponen utama beras merah yaitu oryzanol mampu meningkatkan intoleransi glukosa, mencegah obesitas dan DM tipe 2. Antosianin pada beras berpigmen menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap reduktase aldosa dan memberi kontribusi yang signifikan dalam memerangi komplikasi diabetes (Zhang dkk, 2010., Yawadio dkk, 2007). Yao dkk. (2010) juga membuktikan ada hubungan antara total fenolik beras berpigmen dengan aktivitas penghambatan α -glucosidase yang berdampak pada penundaan pencernaan karbohidrat di dalam saluran cerna.

Beras merah mempunyai kadar serat pangan tinggi (menurut siapa tahun brp?). Santoso (2011) dan Astawan dkk. (2005) menyampaikan beberapa manfaat serat pangan (*dietary fiber*) untuk kesehatan yaitu dapat mengontrol berat badan, mencegah gastrointestinal, kanker kolon, mengurangi kadar kolesterol dan mengontrol glukosa darah pada penderita penyakit diabetes. Diet cukup serat juga menyebabkan terjadinya kompleks karbohidrat dan serat, sehingga daya cerna karbohidrat berkurang. Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikannya tetap terkontrol. Salah satu sumber serat pangan adalah rumput laut yang mengandung komponen agar, alginat, dan karagenan yang merupakan senyawa hidrokoloid komersial dari rumput laut merah (*Rhophyceae*). Mekanisme penurunan glukosa darah oleh serat pangan adalah penundaan penyerapan glukosa darah serta peningkatan sensitivitas reseptor dan sekresi insulin (Dreher, 1987).

Commented [N3]: Update dg ref terkini

METODE PENELITIAN

Desain, waktu dan tempat

Penelitian ini bersifat eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus *Wistar* jantan dengan desain penelitian *randomized posttest only control group*. Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari-Desember 2014. Uji *in vivo* menggunakan hewan coba dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG)-UGM Jogjakarta.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beras merah varietas Mandel Handayani dari Gunung Kidul, kappa-karagenan dari Fakultas MIPA UII, antosianin diekstrak dari beras hitam varietas Melik (dari Bantul Jogjakarta); reagen GOD-PAP (Glucose Oksidase-Phenol Amino peroksidase); pakan standar AIN 93 Maintenance yang meliputi maizena, kasein, sukrosa, minyak kedelai, agar-agar (serat), mineral mix, vitamin mix, L-cystin, cholin bitartrat, Streptozotocin (STZ) (Nacalai Tesque, USA), Nicotinamide (Na), reagen uji ~~Malondialdehyde (MDA)~~ meliputi asam fosfat, TEP standar, TBA dan reagen uji FRAP, larutan standard $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, buffer asetat pH 3,6, TPTZ, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan FeSO_4 .

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang individual, botol air, neraca analitik, mangkok aluminium, dan sarung tangan karet. *Sput disposable*, tabung valcon 15 ml, tabung *ependorf*, tabung reaksi, ~~sentrifugecentrifuge~~, dan spektrofotometer UV Vis.

Hewan percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan jumlahnya ??, usia 2,5 bulan, berat badan antara 175-250 g, dilengkapi keterangan kelaikan etik nomor : 182/KEC-LPPT/IX/2014 yang dikeluarkan oleh Komisi ~~Etik Ethical Clearance~~ Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM.

Persiapan tikus DM?? (induksi STZ??)

Jelaskan detail! Lengkap dosis dan berapa lama? Pengecekan telah DM apa?.....

Pengelompokan hewan percobaan dan intervensi

Tikus dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

1. Tikus sehat (tanpa induksi STZ-NA) sebagai ~~ke~~ontrol diberi diet pakan standar AIN 93M,
2. Tikus diinduksi STZ-NA (DM) diberi pakan standar AIN 93M,
3. Tikus DM diberi diet tepung beras merah,
4. Tikus DM diberi diet tepung beras merah+kappa-karagenan,

Commented [N4]: Dipilah-pilah antara pakan dan reagen, spy jelas.

Commented [N5]: Plain, EDTA or heparin??

5. Tikus DM diberi diet tepung beras merah + ekstrak antosianin

6. Tikus DM diberi diet tepung beras merah + kappa-karagenan + ekstrak antosianin. Intervensi dilakukan selama 6 minggu.

Tahap percobaan meliputi aklimatisasi (sebelum induksi) selama 5 hari kemudian diinjeksi STZ-NA dengan dosis STZ 65 mg/kg dan Na 230 mg/kg BB intraperitoneal dan aklimatisasi 5 hari post induksi. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebelum dan sesudah induksi dan setiap minggu selama intervensi. Uji MDA dilakukan pada minggu ke 3 dan ke 6 (akhir penelitian). Uji FRAP dilakukan diakhir penelitian (pada minggu ke 6).

Komposisi masing-masing kelompok pakan dihitung berdasar iso protein dan kalori dipaparkan pada Tabel 1.

Commented [N6]: Saat diinduksi tikus dipuaskan or tidak? Kalo puasa brp lama?

Tabel 1. Komposisi pakan ransum standar (AIN 93M) ~~modifikasi~~ (Reeves dkk, 1993

modifikasi)

Bahan (g)	Kelompok pakan					
	Normal	DM	BM	BMK	BMA	BMKA
Maizena	62,5	62,5	20	19,2	20	19,2
TBM	0	0	62,7	0	0	0
TBMK	0	0	0	63,9	0	0
TBMA	0	0	0	0	62,7	0
TBMKA	0	0	0	0	0	63,9
Kasein	14	14	7,91	7,79	7,91	7,83
Sukrosa	10	10	15	15	15	15
Minyak kedelai	4	4	2,72	2,70	2,72	2,64
Agar-agar (serat)	5	5	0	0	0	0
Mineral mix	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Vitamin mix	1	1	1	1	1	1
L-Cystin	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Cholin Bitartrat	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Total (g)	100,4	100,4	99,73	100,02	99,73	100,02
Kkal	361,9	361,9	361,4	361,8	361,4	361,8

Keterangan :TBM (tepung beras merah), TBMK (tepung beras merah+kappa-karagenan), TBMA (tepung beras merah + ekstrak antosianin) dan TBMKA (tepung beras merah +kappa-karagenan+ekstrak antosianin)

Penambahan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin (Nurhidajah dkk, 2013)

Penambahan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin berdasarkan nilai tertinggi dari uji sensoris. Kappa-karagenan ditambahkan sebanyak 2%_ sedangkan ekstrak antosianin 5 ml/ 100 g beras + kappa-karagenan_

Kadar Glukosa Puasa (GOD-PAP)

Kadar glukosa puasa ditentukan dengan metode enzimatik *Glucose Oxidase-Phenol 4-Aminoantipirin*. Penentuan kadar glukosa serum menggunakan kit analisis dari Dia Sys yang terdiri dari larutan standart dan reagen. Sebanyak 10 µL serum ditambah reagen GOD-PAP sebanyak 1000 µL, kemudian divorteks. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit pada suhu 20-25°C, kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm_ Kadar glukosa dihitung menggunakan rumus.

$$\text{Glukosadarah} \left(\frac{mg}{dl} \right) = \frac{\Delta \text{ sampel}}{\Delta \text{ standar}} \times \text{kadar standar}$$

Kadar Analisis Antioksidan Plasma dengan Malondialdehyde (MDA) plasma (metode thiobarbituric acid).

Darah tikus diambil minggu ke 3 dan 6 (akhir intervensi) sebanyak 2 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA. MDA diukur dengan metode TBARS yaitu mengukur konsentrasi *Thioarbituric Acid Reactive Substances*. Sebanyak 750 µL asam fosfat dimasukkan ke dalam tabung *polypropilen* 13 mL. Sebanyak 50 µL TEP standar kualitas/sampel plasma/aquades di tambahkan ke dalam tabung.

Campuran dikocok sampai homogen kemudian ditambahkan 250 µL larutan TBA 40 mM. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 450 µL ke dalam tabung dan ditutup rapat. Campuran dipanaskan 1 jam (suhu berapa?), setelah pemanasan tabung ditempatkan dalam *ice bath* (tujuan di ice bath apa??) untuk mendinginkan sampel. Sampel yang sudah dingin diaplikasikan kedalam *Set Pack C 18-column*. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.

Commented [N7]: Tidak boleh ASAL dalam mengambil sampel darah! Kalo yg dipake hanya 50 uL, kenapa mesti diambil 2 ml?? Bisa mati nih tikus!

Analisis Antioksidan Plasma dengan Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) (Benzie, 1996)

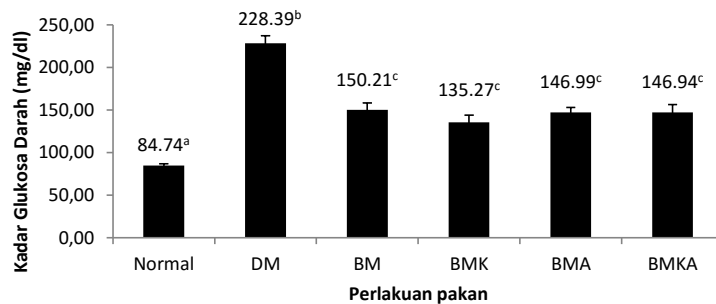
Pengujian kapasitas antioksidan plasma dengan metode FRAP. ~~Sebanyak~~ 30µl reagen FRAP yang telah dihangatkan pada 37° C ~~ditambahkan~~ 10 µl sampel plasma/larutan standard FeSO₄.7H₂O. ~~ditambah~~ ~~+~~30 µl akuades, dicampur dengan vorteks kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. ~~setelah~~ ~~Setelah~~ itu dilakukan peneraan absorbansi pada ~~λ=~~panjang gelombang 593 nm.

Reagen FRAP dibuat dengan mencampurkan 25 ml buffer asetat pH 3,6 dengan 2,5 ml larutan TPTZ, dan 2,5 ml larutan FeCl₃.6H₂O. Larutan standar FeSO₄ dibuat dengan rentang kadar 100 – 1000 µmol/L untuk pembuatan kurva standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Pengaruh....terhadap Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah hewan coba yang diinduksi STZ mengalami peningkatan diatas 200 mg/dl pada semua kelompok. Keadaan ini tergolong hiperglikemia yang ditandai dengan kadar glukosa diatas normal. Menurut Taguchi (1985) tikus putih galur SD jenis kelamin jantan mempunyai kadar glukosa darah normal 105,2 ± 14,2 mg/dl. Pada manusia, glukosa darah sewaktu > 200 mg/dl atau glukosa darah puasa > 126 mg/dl dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis Diabetes Melitus (Mansjoer dkk., 2007). Data rata-rata kadar glukosa dipaparkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata kadar glukosa darah selama perlakuan (6 minggu)

Keterangan :

- Normal : tikus sehat dengan pakan standar AIN 93 M
- DM : tikus diabetes dengan pakan standar AIN 93 M
- BM : tikus diabetes dengan pakan beras merah
- BMK : tikus diabetes dengan pakan beras merah + kappa-karagenan
- BMA : tikus diabetes, pakan beras merah + antosianin
- BMKA : tikus diabetes, pakan beras merah + kappa-karagenan + ekstrak antosianin

Kadar glukosa darah pada semua kelompok tikus DM yang diberi perlakuan selama 6 minggu mengalami penurunan. Prosentase penurunan kadar glukosa darah tikus DM dengan perlakuan pakan BM, BMK, BMA dan BMKA berturut-turut 34,23%, 40,77%, 35,64% dan 35,66% (dibandingkan kelompok DM dengan pakan standar). Hal ini disebabkan kandungan serat pangan yang cukup tinggi pada beras merah. Uji anova menunjukkan ada pengaruh yang sangat signifikan antara perlakuan pakan dengan kadar glukosa darah ($p=0,000$). Uji lanjut Duncan menunjukkan ada perbedaan antara kelompok normal, DM dan kelompok perlakuan. Glukosa darah dari 4 perlakuan pakan beras merah maupun yang ditambahkan kappa-karagenan dan ekstrak antosiani tidak menunjukkan perbedaan, yang berarti penambahan kappa-karagenan maupun ekstrak antosianin mempunyai peran yang sama dalam menurunkan glukosa darah. Menurut Santoso (2011), serat pangan mampu menyerap air dan mengikat glukosa, sehingga mengurangi ketersediaan glukosa. Diet cukup serat juga menyebabkan terjadinya

Commented [N8]: Disini BM, BMK, BMA dan BMKA tidak ada perbedaan
Artinya apa? Penambahan K ataupun A tidak berpengaruh...begitu??

kompleks karbohidrat dan serat, sehingga daya cerna karbohidrat berkurang. Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikannya tetap terkontrol.

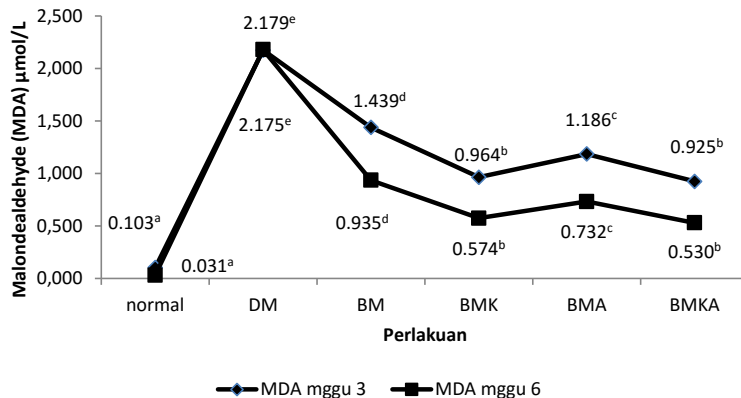
Selain serat, antosianin pada beras merah mengindikasikan berfungsi antihiperlikemik. Suda dkk. (2003) berpendapat bahwa tikus hiperlikemik yang diberi antosianin dari ubi jalar Ayamurasaki (100 mg/kg) mampu menurunkan kadar glukosa darah 16,5% setelah 30 menit dibanding perlakuan kontrol. Hal ini disebabkan terdapatnya efek antihiperlikemik dari antosianin dengan menghambat aktivitas enzim maltase dalam menghasilkan glukosa. Kandungan polifenol pada beras merah juga dapat mempengaruhi penurunan glukosa darah. Konsumsi fenolik terbukti mampu meningkatkan penghambatan enzim α -glukosidase yang berperan dalam hidrolisis karbohidrat. Hasil penelitian Yao dkk. (2010) membuktikan bahwa biji-bijian berwarna mengandung antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan. Terdapat korelasi positif yang signifikan dari aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan α -glukosidase dengan total kandungan antosianin. Beras hitam memiliki aktivitas antioksidan dan α -glukosidase inhibitor tertinggi dan ada hubungan antara total fenolik beras dengan aktivitas penghambatan α -glukosidase, yang berdampak pada penundaan pencernaan karbohidrat di dalam saluran pencernaan, sehingga dapat digunakan sebagai terapi bagi penderita diabetes (Matsui dkk., 2001a; 2001b; Matsui dkk., 2002).

b. Pengaruh ...terhadap kadar Malondialdehyde (MDA)?

Malondialdehyde (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas dalam tubuh dalam bentuk bebas atau terikat dengan jaringan di dalam tubuh yang menjadi salah satu indikator untuk menentukan stres oksidatif dalam tubuh dan merupakan biomarker stres oksidatif (Jeyabalan dan Caritis, 2007; Souza dkk., 2005). Peningkatan stres oksidatif berbanding lurus dengan pembentukan MDA. Proses autooksidasi pada hiperlikemi memicu pembentukan radikal bebas khususnya radikal superoksida (O_2^-) dan oksidan hidrogen peroksida (H_2O_2) melalui reaksi *Haber-Weis* dan *Fenton* akan membentuk radikal hidroksil

(OH⁻). Radikal bebas dapat merusak membran sel menjadi lipid peroksida atau MDA (Baynes, 1991).

Rata-rata kadar MDA minggu ke 3 dan 6 dipaparkan seperti Gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata perubahan kadar malondialdehyde (MDA) minggu ke 3 dan ke 6

Catt: anda mau membahas berdasar analisis statistik or hanya dirata2. Harus konsisten ya. Tidak bisa dicampur aduk.

Gambar 2 menunjukkan kadar MDA pada minggu ke 6 mengalami penurunan pada semua kelompok tikus normal maupun yang diberi perlakuan pakan. Variasi penurunan kelompok perlakuan dari 34.7% sampai 42.5%, sedangkan kelompok tikus DM justru terjadi peningkatan 0.2 %. Uji korelasi antara kadar glukosa darah dan MDA dipaparkan pada Tabel 2.

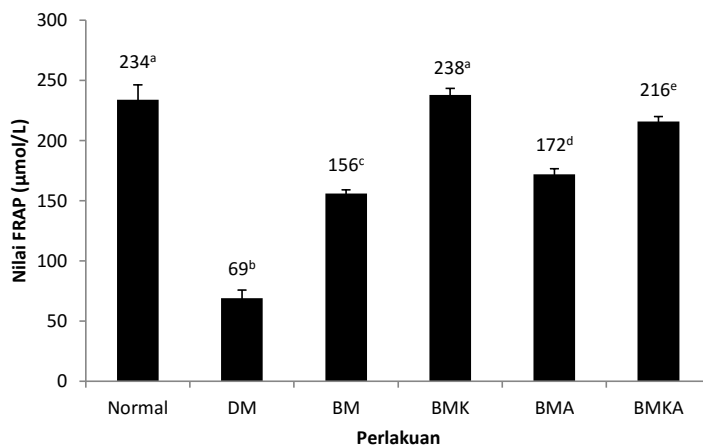
Tabel 2. Uji korelasi antara kadar glukosa darah dan MDA

Parameter (Kadar glukosa darah)	MDA minggu ke 3	MDA minggu ke 6
Pearson Correlation Coefficient	.779	.927
Sig(2tailed)	0.000	0.000

Analisis korelasi pearson menunjukkan adanya korelasi positif yang sangat bermakna antara kadar glukosa darah dengan MDA baik pada minggu ke 3 maupun akhir intervensi. Hasil uji anova ada pengaruh yang sangat signifikan ($p=0.000$) antara perlakuan pakan terhadap kadar MDA pada minggu ke 3 dan ke 6. Uji lanjut Duncan menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan, kecuali kelompok pakan beras merah yang ditambah kappa-karagenan (BMK dan BMKA).

c. Pengaruh... terhadap kadar Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi senyawa besi (III)-tripiridil-triazin menjadi besi (II)-tripiridil triazin pada pH 3,6. Hasil penelitian menunjukkan ada peningkatan nilai FRAP yang cukup signifikan pada kelompok perlakuan BM, BMK, BMA dan BMKA berturut-turut 126,1%, 244,93%, 149,28% dan 213,04% bila dibandingkan kelompok DM ((Gambar 3)).



Gambar 3. Pengaruh pemberian BM, BMK, BMA dan BMKA terhadap nilai

FRAP (µmol/L)

~~Hasil penelitian menunjukkan ada peningkatan nilai FRAP yang cukup signifikan pada kelompok perlakuan BM, BMK, BMA dan BMKA berturut turut 126,1%, 244,93%, 149,28% dan 213,04% bila dibandingkan kelompok DM. Uji statistic menunjukkan ada pengaruh antara perlakuan pakan dengan nilai FRAP dengan p=0,000, sedangkan uji lanjut menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan kecuali pada kelompok normal dengan kelompok perlakuan beras merah yang ditambah kappa-karagenan.~~

Tabel 2. Uji korelasi antara kadar glukosa darah dan FRAP

Parameter Kadar glukosa darah		FRAP
Minggu 1	Pearson Correlation	0.005
	Sig(2tailed)	-.498
Minggu 2	Pearson Correlation	0.000
	Sig(2tailed)	-.788
Minggu 3	Pearson Correlation	0.000
	Sig(2tailed)	-.856
Minggu 4	Pearson Correlation	0.000
	Sig(2tailed)	-.896
Minggu 5	Pearson Correlation	0.000
	Sig(2tailed)	-.882
Minggu 6	Pearson Correlation	0.000
	Sig(2tailed)	-.883

Commented [N9]: Setiap munculnya Tabel or gambar atau lampiran harus ada narasinya, supaya pembaca dg mudah membaca dan memahami

Commented [N10]: Tabel ini tdk perlu dimuat disini. Tekankan pembahasannya!, jgn dipenuhi tabel

Uji korelasi pearson menunjukkan ada korelasi ~~negative-negatif~~ antara kadar glukosa darah dengan nilai FRAP. Semakin tinggi kadar glukosa darah akan semakin rendah nilai FRAP. Artinya apa???

KESIMPULAN sepertinya sec statistik tidak ada perbedaan antara pemberian BM,

BMK, BMA dan BMKA...> coba deh cermati lagi

Beras merah dan hasil pengkayaannya mampu menurunkan dan mengontrol kadar glukosa darah tikus DM sampai kondisi normal pada 6 minggu setelah perlakuan sebesar 34,23 sampai 40,77%. Secara statistik ada pengaruh yang sangat signifikan antara perlakuan pakan dengan kadar glukosa darah. Kadar MDA pada minggu ke 6 mengalami penurunan pada semua kelompok dengan variasi 34,7% sampai 42,5%, sedangkan kelompok tikus DM terjadi

peningkatan 0.2 %. Kadar FRAP tikus DM setelah perlakuan 6 minggu menunjukkan peningkatan yang signifikan antara 126,1% sampai 244,93%.

Secara statistik ada pengaruh yang sangat signifikan antara perlakuan pakan dengan kadar MDA dan FRAP. Kadar glukosa darah dengan MDA dan FRAP menunjukkan korelasi yang signifikan, yaitu korelasi positif untuk MDA dan korelasi negatif untuk FRAP.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah mendanai sebagian penelitian ini melalui hibah penelitian disertasi doktor tahun anggaran 2015-2016, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Astawan, M., Tuti, W. dan Anas, B.H. (2005). Pemanfaatan rumput laut sebagai sumber serat pangan untuk menurunkan kolesterol darah tikus. *Hayati* **12**(1) : 23-27.
- Baynes, J.W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* **40**: 405-412.
- Benzie, I. dan Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239**: 70-76.
- Direktorat Bina Farmasi Komunitas Dan Klinik Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian Dan Alat Kesehatan departemen Kesehatan RI. (2005). Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus :15.
- Dreher, M.L. (1987). *Handbook of Dietary Fiber*. Marcell Dekker, Inc. New York and Basel.
- Gandhi, G.R., Ignacimuthu, S. dan Paulraj, M.G. (2011). Solanum torvum swartz fruit containing phenolic compounds shows antidiabetic and antioxidant effects in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal Food and Chemical Toxicology* **49**: 2725-2733.
- Herawati, E.R.N., Santosa, U., Astuti, M., Suharwaadji. dan Ariani, D. (2013). Pengaruh konsumsi ekstrak antosianin ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) terhadap glukosa darah, dan produk oksidasi lipid (Malonaldehyde) tikus hiperglikemia induksi aloksan. *Prosiding Seminar Nasional Konsumsi Pangan Sehat dengan Gizi Seimbang Menuju Tubuh Sehat Bebas Penyakit* : 191-197. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.

Commented [N11]: Perhatikan cara penulisan di panduan

Utk semua pustaka silahkan dicermati yaa..

- International Diabetes Federation. (2005). Guidelines task force global for type 2 diabetes.Brussels.
- Jeyabalan, A.,Caritis,S.N. (2006). Antioxidantand the prevention of preeklapmsia-unresolved issues. *The New England Journal ofMedicine* **354**(17):1841-3.
- Jung, E.H., Kim, S.R., Hwang, I.K. dan Ha, T.Y. (2007). Hypoglycemic Effects of a Phenolic Acid Fraction of Rice Bran and Ferulic Acid in C57BL/KsJdb/db Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 9800–9804.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki,T., Sugita, K., Terahara, N. dan Matsumoto, K. (2001a).Alpha-glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity.*Journal ofAgricultural and Food Chemistry* **49**(4):1948-51.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki,T., Sugita, K., Terahara, N. dan Matsumoto, K. (2001b). α -glucosidaseinhibitory action of natural acylated anthocyanins. 2. α -glucosidase inhibition by isolated acylated anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**: 1952-1956.
- Matsui, T., Ebuchi, S., Kobayashi, M., Fukui, K., Sugita, K., Terahara, N. dan Matsumoto, K. (2002). Antihyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from ipomoea batatas cultivar ayamurasaki can be achieved through the α -glucosidase inhibitory action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 7244-7248.
- Mansjoer, A., Triyanti, K., Savitri, R.,Wardhani, W.I. dan Setiowulan, W. (2007). *Kapita Selekt Kedokteran*. Edisi 3. Jilid 1: 580-588. Jakarta.
- Nurhidajah., Astuti.M., Sardjono.dan Murdiati,A. (2013). Evaluasi sifat fisik, sensoris dan kimia beras merah yang diperkaya kappa-karagenan dan ekstrak antosianin. *Prosiding Seminar Nasional Konsumsi Pangan Sehat dengan Gizi Seimbang Menuju Tubuh Sehat Bebas Penyakit* 219-225.Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Pramitasari, R. (2014). Potensi antioksidatif minuman fungsional berbasis beras hitam (*Oryza Sativa L. Indica*) dan kedelai hitam (*Glycine Max L. Merr.*) untuk lansia penyandang diabetes mellitus tipe 2. *Tesis*. Program Studi PascasarjanaFakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Reeves, P.G., F.H. Nielsen. danFahey, G.C. Jr. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition and adhoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A diet. *Journal of Nutrition* **123**:1939-1951.
- Santoso A. (2011). Serat pangan (*dietary fiber*)dan manfaatnya bagi kesehatan.*Magistra* No. 75 Th. XXIII ISSN 0215-9511.

- Souza, T.P., de Oliveira, P.R. dan Pereira, B. (2005) Physical exercise and oxidative stress. Effect of intense physical exercise on the urinary chemiluminescence and plasmatic malondialdehyde. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* **11**: 1.
- Suda, I., Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y. dan Furuta, S. (2003). Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. *Japan Agricultural Research Quarterly* **37**(3):167-173.
- Taguchi, Y. (1985). *Experimental Animals*. Clea Japan, Inc. Tokyo.
- World Health Organization (WHO). (1999). Definition of metabolic syndrome in definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus. *World Health Organization, Departement of Noncommunicable Disease Suveillance*. Geneva.
- Yao, Y., Sang, W., Zhou, M. dan Ren, G. (2010). Antioxidant and α-glucosidase inhibitory activity of colored grains in china. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 770–774.
- Yawadio, R.S., Tanimori, N. dan Morita. (2007). Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chemistry* **101** : 1616-1625.
- Zhang, G., Malik, V.S., Pan, A., Kumar, S., Holmes, M.D., Spiegelman, D., Lin, X. dan Hu, F.B. (2010). Substituting pigmented rice for white rice to lower diabetes risk: A focus-group study in chinese adults. *Journal of the American Dietetic Association* **110**:1216-1221.

Profil Antioksidan Darah Tikus Diabetes dengan Asupan Beras Merah yang Diperkaya Kappa-Karagenan dan Ekstrak Antosianin

Blood Antioxidant Profile of Diabetes Rats Feed with Red Rice Enriched with Kappa-Carrageenan and Anthocyanin Extracts

Nurhidajah¹, Mary Astuti², Sardjono², Agnes Murdiati²

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang 50273, Indonesia

²Departemen Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta 5528, Indonesia
Email: nurhidajah@unimus.ac.id

Submisi: 17 Desember 2015; Penerimaan: 29 April 2016

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh pemberian beras merah yang diperkaya kappa-karagenan dan ekstrak antosianin terhadap profil antioksidan darah pada tikus Diabetes Melitus (DM). Indikator penelitian adalah penurunan glukosa darah dan angka Malondialdehid (MDA) serta peningkatan antioksidan plasma dengan metode *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP). Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba tikus Wistar usia 2,5 bulan dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL). Tikus dibagi 6 kelompok pakan, yaitu standar negatif dan positif (normal dan DM), beras merah (BM), beras merah ditambah kappa-karagenan (BMK), beras merah ditambah ekstrak antosianin (BMA), dan beras merah ditambah kappa-karagenan dan ekstrak antosianin (BMKA). Percobaan dilakukan selama 6 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok BMKA setelah intervensi terjadi penurunan kadar glukosa darah dari 234,26 menjadi 84,78 mg/dL ($p = 0,000$), MDA kelompok DM dibandingkan BMKA masing 2,175 dan 0,530 $\mu\text{mol/L}$ ($p = 0,000$) serta FRAP pada kelompok DM dan BMKA masing-masing 69 dan 216 nmol/mL ($p = 0,000$). Kesimpulannya adalah beras merah dengan pengkayaan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin mampu menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan status antioksidan tikus diabetes yang ditandai dengan penurunan nilai MDA dan peningkatan nilai FRAP.

Kata kunci: Antosianin; antioksidan; kappa-karagenan; beras merah

ABSTRACT

This study aimed to analyze the effect of red rice enriched-kappa-carrageenan and anthocyanin extracts on blood antioxidant profile in diabetic rats. Variables analyzed in this research were blood glucose, malondialdehyde (MDA) level, and plasma antioxidant by Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) method. This study was conducted *in vivo* on male Wistar rats aged 2.5 months using completely randomized design. Rats divided into 6 groups based on types of feed, standard feed (normal and DM), red rice (BM), red rice enriched kappa-carrageenan (BMK), red rice enriched extracts of anthocyanin (BMA) and red rice enriched with kappa-carrageenan and extract anthocyanin (BMKA). Experiments were carried out for 6 weeks. Rats feed with red rice showed decreased in blood glucose levels from 234.26 to 84.78 mg/dL ($p = 0.000$), MDA diabetic group compared to BMKA 2.175 and 0.530 $\mu\text{mol/L}$ ($p = 0.000$) respectively, and the rate of FRAP in DM and BMKA 69 and 216 nmol/mL ($p = 0.000$) respectively. This study showed that red rice enriched with kappa-carrageenan and anthocyanin extract was able to decrease blood glucose levels and increase antioxidant status of diabetic rats which characterized by decreased MDA value and increased FRAP value.

Keywords: Anthocyanins; antioxidant; kappa-carrageenan; red rice

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit dengan gangguan metabolisme kronis yang ditandai tingginya kadar glukosa darah sebagai akibat ketidakcukupan fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin disebabkan oleh defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta langerhans kelenjar pankreas, atau kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO, 1999). Diabetes melitus tipe 2 dengan jumlah penderita 90-95 %, disebabkan karena multi faktor. Faktor terbesar karena genetik dan pengaruh lingkungan, di antaranya obesitas, diet tinggi lemak, dan rendah serat, serta kurangnya aktifitas tubuh (Depkes, 2005). Menurut *International Diabetes Federation* (2005), Indonesia diperkirakan mengalami kenaikan prevalensi dari peringkat kelima pada tahun 2003 menjadi peringkat ketiga di dunia pada tahun 2025.

Beberapa upaya yang dapat dilakukan untuk menangani diabetes yaitu pengobatan, peningkatan aktivitas fisik, dan pengelolaan diet (konsumsi makanan). Antioksidan dari bahan makanan juga terbukti dapat memperbaiki glukosa darah tikus diabetes (Jung dkk., 2007; Gandhi dkk., 2011; Herawati dkk., 2013; Pramitasari, 2014).

Diet beras merah terbukti memiliki potensi untuk pengobatan obesitas dan diabetes tipe 2 pada manusia (Kozuka dkk., 2013). Beberapa hasil penelitian tentang beras merah dan antosianin menunjukkan kemampuannya dalam perbaikan kondisi glikemik. Komponen utama beras merah yaitu *oryzanol* mampu meningkatkan intoleransi glukosa, mencegah obesitas, dan DM tipe 2. Antosianin pada beras berpigmen menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap aldosa reduktase dan memberi kontribusi yang signifikan dalam memerangi komplikasi diabetes (Yawadio dkk., 2007; Zhang dkk., 2010). Yao dkk. (2010) juga membuktikan ada hubungan antara total fenolik beras berpigmen dengan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang berdampak pada penundaan pencernaan karbohidrat di dalam saluran cerna.

Hasil penelitian Kristanti (2015) menunjukkan beras merah *precooked* mempunyai kadar serat pangan lebih tinggi dibandingkan beras putih dengan angka masing-masing 7,96 dan 6,83 % db. Santoso (2011) dan Astawan dkk. (2005) menyampaikan beberapa manfaat serat pangan (*dietary fiber*) untuk kesehatan yaitu dapat mengontrol berat badan, mencegah gastrointestinal, kanker kolon, mengurangi kadar kolesterol, dan mengontrol glukosa darah pada penderita penyakit diabetes. Diet cukup serat juga menyebabkan terjadinya kompleks karbohidrat dan serat, sehingga daya cerna karbohidrat berkurang. Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikannya tetap terkontrol. Salah satu sumber serat pangan adalah rumput laut

yang mengandung komponen agar, alginat, dan karagenan yang merupakan senyawa hidrokoloid komersial dari rumput laut merah (*Rhodopyaceae*). Beberapa keuntungan dari asupan serat pangan bagi penderita diabetes meliputi penghambatan laju postprandial glisemia, mengurangi konsentrasi glukosa basal, dan menaikkan sensitivitas pada insulin (Marsono, 2004). Hasil penelitian ini dapat diaplikasikan sebagai terapi diet pada penyandang diabetes untuk mempertahankan level glukosa darah mendekati normal.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu, dan Tempat

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada hewan coba tikus *Wistar* jantan dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL), dari bulan Februari-Desember 2014. Uji *in vivo* menggunakan hewan coba dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beras merah varietas Mandel Handayani dari Gunung Kidul, kappa-karagenan dari Fakultas MIPA UII, antosianin diekstrak dari beras hitam varietas Melik (Bantul, Yogyakarta).

Bahan pakan standar AIN 93 meliputi maizena, kasein, sukrosa, minyak kedelai, agar-agar (serat), mineral mix, vitamin mix, *L-cystin* dan *cholin bitartrat*, Reagen GOD-PAP (*Glucose Oksidase-Phenol Amino peroxidase*), *Streptozotocin* (STZ) (Nacalai Tesque, USA), *Nicotinamide* (NA), reagen uji Malondialdehid (MDA) meliputi asam fosfat, TEP standar, TBA dan reagen uji FRAP, larutan standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, buffer asetat pH 3,6, TPTZ, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan FeSO_4 .

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang individual, botol air, neraca analitik, mangkok aluminium, sarung tangan karet, *sprit disposable*, tabung *eppendorf*, tabung reaksi, *centrifuge*, dan spektrofotometer UV-Vis.

Hewan Percobaan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus jantan galur *Wistar* berat badan antara 175-250 g, dilengkapi keterangan kelaikan etik nomor: 182/KEC-LPPT/IX/2014 yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM.

Persiapan Hewan Coba (Induksi STZ-Na)

Tahap persiapan hewan coba meliputi aklimatisasi selama 5 hari kemudian tikus dipuasakan 1 malam, lalu diinjeksi STZ-Na dengan dosis tunggal STZ 65 mg/kg berat

badan (dilarutkan dalam 0,1 mol/L buffer sitrat pH 4,5) dan NA 230 mg/kg berat badan secara intraperitoneal (Szkudelski, 2012). Setelah induksi, hewan coba diaklimatisasi 5 hari. Tikus dinyatakan diabetes, bila kadar glukosa darah > 200 mg/dl (Anwer, 2014).

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 1 minggu sekali selama intervensi, MDA dilakukan pada minggu ke 3 dan ke 6 (akhir penelitian), sedangkan FRAP dilakukan diakhir penelitian (pada minggu ke 6).

Pengelompokan Hewan Percobaan dan Intervensi

Tikus dibagi menjadi 6 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

1. Normal: tikus sehat (tanpa induksi STZ-NA) sebagai kontrol diberi diet pakan standar AIN 93M.
2. DM: tikus diinduksi STZ-NA (DM) diberi pakan standar AIN 93M.
3. BM: tikus DM diberi diet tepung beras merah.
4. BMK: tikus DM diberi diet tepung beras merah + kappa-karagenan.
5. BMA: tikus DM diberi diet tepung beras merah + ekstrak antosianin
6. BMKA: tikus DM diberi diet tepung beras merah + kappa-karagenan + ekstrak antosianin. Intervensi dilakukan selama 6 minggu.

Tabel 1. Komposisi pakan ransum standar (AIN 93M)

Bahan (g)	Kelompok pakan					
	Normal	DM	BM	BMK	BMA	BMKA
Maizena	62,5	62,5	20	19,2	20	19,2
TBM	0	0	62,7	0	0	0
TBMK	0	0	0	63,9	0	0
TBMA	0	0	0	0	62,7	0
TBMKA	0	0	0	0	0	63,9
Kasein	14	14	7,91	7,79	7,91	7,83
Sukrosa	10	10	15	15	15	15
Minyak kedelai	4	4	2,72	2,70	2,72	2,64
Agar-agar (serat)	5	5	0	0	0	0
Mineral mix	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Vitamin mix	1	1	1	1	1	1
L-Cystin	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Cholin Bitartrat	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Total (g)	100,4	100,4	99,73	100,0	99,73	100,02
Kkal	361,9	361,9	361,4	361,8	361,4	361,8

Sumber: Reeves dkk. (1993) dengan modifikasi

Keterangan: TBM (tepung beras merah), TBMK (tepung beras merah + kappa-karagenan), TBMA (tepung beras merah + ekstrak antosianin) dan TBMKA (tepung beras merah + kappa-karagenan + ekstrak antosianin)

Komposisi masing-masing kelompok pakan dihitung berdasarkan kesamaan kadar protein dan kalori dipaparkan pada Tabel 1.

Penambahan kappa-karagenan dan ekstrak antosianin berdasarkan nilai tertinggi dari uji sensoris. Kappa-karagenan ditambahkan sebanyak 2 % sedangkan ekstrak antosianin 5 mL/100 g beras + kappa-karagenan (Nurhidajah dkk., 2013)

Kadar Glukosa Puasa (GOD-PAP)

Kadar glukosa puasa ditentukan dengan metode enzimatis *Glucose Oxidase-Phenol 4-Aminoantipirin*. Penentuan kadar glukosa serum menggunakan kit analisis dari Dia Sys yang terdiri dari larutan standart dan reagen. Sebanyak 10 µL serum ditambah reagen GOD-PAP sebanyak 1000 µL, kemudian divorteks. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit pada suhu 20-25 °C, kemudian diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm, kadar glukosa dihitung menggunakan rumus:

$$Glukosadarah \left(\frac{mg}{dl} \right) = \frac{\Delta \text{ sampel}}{\Delta \text{ standar}} \times \text{kadar standar}$$

Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma (*Thiobarbituric Acid*)

Darah tikus diambil minggu ke 3 dan 6 (akhir intervensi) sebanyak 0,1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi EDTA. Malondialdehid diukur dengan metode TBARS yaitu mengukur konsentrasi *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*. Sebanyak 750 µL asam fosfat dimasukkan ke dalam tabung *polypropilen* 13 mL. Sebanyak 50 µL sampel plasma/aquades ditambahkan ke dalam tabung.

Campuran dikocok sampai homogen kemudian ditambahkan 250 µL larutan TBA 40 mM. Selanjutnya ditambahkan aquades sebanyak 450 µL ke dalam tabung dan ditutup rapat. Campuran dididihkan, kemudian didinginkan dalam *ice bath*. Sampel yang sudah dingin diaplikasikan ke dalam *Set Pack C 18-column*. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.

Analisis Antioksidan Plasma dengan *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP) (Benzie, 1996)

Pengujian kapasitas antioksidan plasma dengan metode FRAP, sebanyak 30 µL reagen FRAP yang telah dihangatkan pada 37 °C ditambahkan 10 µL sampel plasma/larutan standard FeSO₄·7H₂O kemudian ditambah 30 µL aquades, dicampur dengan vorteks kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Setelah itu dilakukan peneraan absorbansi pada panjang gelombang 593 nm.

Reagen FRAP dibuat dengan mencampurkan 25 mL buffer asetat pH 3,6 dengan 2,5 mL larutan TPTZ, dan 2,5 mL larutan FeCl₃·6H₂O. Larutan standar FeSO₄ dibuat dengan

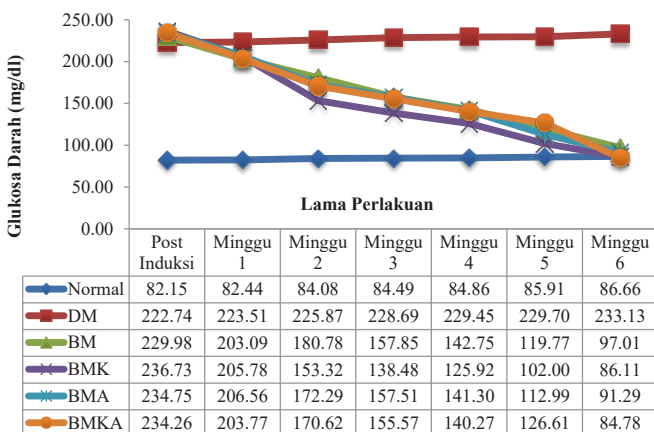
rentang kadar 100–1000 µmol/L untuk pembuatan kurva standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Pakan Beras Merah dengan Kappa-karagenan dan Ekstrak Antosianin terhadap Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah hewan coba yang diinduksi STZ mengalami peningkatan di atas 200 mg/dL pada semua kelompok. Keadaan ini tergolong hiperglikemia yang ditandai dengan kadar glukosa darah di atas normal. Menurut Taguchi (1985), tikus putih galur SD jenis kelamin jantan mempunyai kadar glukosa darah normal 105,2 ± 14,2 mg/dL Pada manusia, glukosa darah sewaktu > 200 mg/dl atau glukosa darah puasa > 126 mg/dl dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis Diabetes Melitus (Mansjoer dkk., 2007). Data rata-rata kadar glukosa dipaparkan pada Gambar 1.

Kadar glukosa darah pada semua kelompok tikus DM yang diberi perlakuan selama 6 minggu mengalami penurunan. Prosentase penurunan kadar glukosa darah tikus DM dengan perlakuan pakan BM, BMK, BMA dan BMKA berturut-turut 57,83 %, 63,63 %, 61,11 % dan 63,81 % (dihitung dari kadar glukosa darah setelah induksi). Hal ini disebabkan kandungan serat pangan yang cukup tinggi pada beras merah. Uji Anova menunjukkan ada pengaruh yang sangat signifikan antara perlakuan pakan dengan kadar glukosa darah (*p* = 0,000).



Gambar 1. Rata-rata kadar glukosa darah selama perlakuan (6 minggu)

Keterangan :

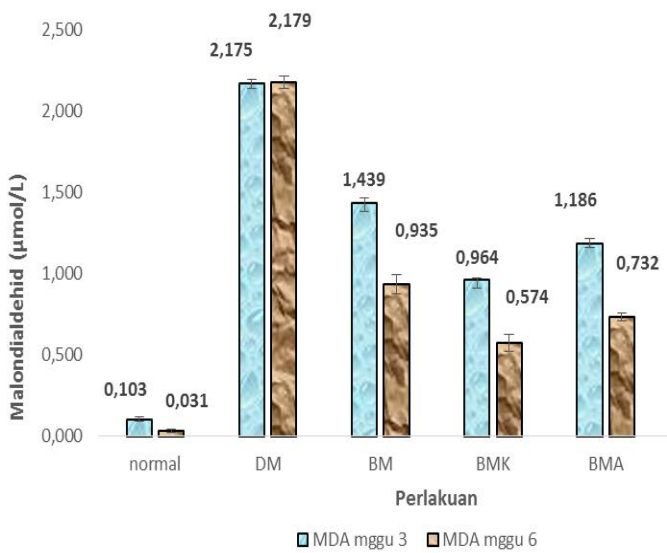
- Normal : tikus sehat dengan pakan standar AIN 93 M
- DM : tikus diabetes dengan pakan standar AIN 93 M
- BM : tikus diabetes dengan pakan beras merah
- BMK : tikus diabetes dengan pakan beras merah + kappa-karagenan
- BMA : tikus diabetes, pakan beras merah + antosianin
- BMKA : tikus diabetes, pakan beras merah + kappa-karagenan + ekstrak antosianin

Uji lanjut Duncan menunjukkan ada perbedaan kelompok perlakuan kecuali kelompok normal, BMK dan BMKA. Menurut Santoso (2011), serat pangan mampu menyerap air dan mengikat glukosa, sehingga mengurangi ketersediaan glukosa. Diet cukup serat juga menyebabkan terjadinya kompleks karbohidrat dan serat, sehingga daya cerna karbohidrat berkurang. Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikannya tetap terkontrol.

Selain serat, antosianin pada beras merah mengindikasikan berfungsi antihiperlikemik. Menurut Banerjee dan Vats (2014), pada kondisi hiperglikemia biasanya diikuti dengan peningkatan produksi radikal bebas atau kegagalan fungsi pertahanan antioksidan dalam tubuh. Hal ini akan menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Suda dkk. (2003) berpendapat bahwa tikus hiperglikemik yang diberi antosianin dari ubi jalar varietas Ayamurasaki (100 mg/kg) mampu menurunkan kadar glukosa darah 16,5 % setelah 30 menit dibanding perlakuan kontrol. Hal ini disebabkan terdapatnya efek antihiperlikemik dari antosianin dengan menghambat aktivitas enzim maltase dalam menghasilkan glukosa. Kandungan polifenol pada beras merah juga dapat mempengaruhi penurunan glukosa darah. Konsumsi fenolik terbukti mampu meningkatkan penghambatan enzim α-glukosidase yang berperan dalam hidrolisis karbohidrat. Hasil penelitian Yao dkk. (2010) membuktikan bahwa biji-bijian berwarna mengandung antosianin berfungsi sebagai antioksidan. Terdapat korelasi positif yang signifikan dari aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan alpha-glukosidase dengan total kandungan antosianin. Beras hitam memiliki aktivitas antioksidan dan alpha-glukosidase inhibitor tertinggi dan ada hubungan antara total fenolik beras dengan aktivitas penghambatan α-glukosidase, yang berdampak pada penundaan pencernaan karbohidrat di dalam saluran pencernaan sehingga dapat digunakan sebagai terapi bagi penderita diabetes (Matsui dkk., 2001; 2002).

Pengaruh Pemberian Pakan Beras Merah dengan Kappa-karagenan dan Ekstrak Antosianin terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma Tikus Diabetes

Malondialdehid (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas dalam tubuh dalam bentuk bebas atau terikat dengan jaringan di dalam tubuh yang menjadi salah satu indikator untuk menentukan stres oksidatif dalam tubuh dan merupakan biomarker stres oksidatif (Jeyabalan dan Caritis, 2007; Souza dkk., 2005). Peningkatan stres oksidatif berbanding lurus dengan pembentukan MDA. Proses autooksidasi pada hiperglikemia memicu pembentukan radikal bebas khususnya radikal superoksida (O₂⁻) dan oksidan hidrogen peroksida (H₂O₂) melalui reaksi *Haber-Weis* dan *Fenton* akan membentuk radikal hidroksil (OH⁻). Radikal bebas dapat merusak membran sel menjadi



Gambar 2. Perubahan kadar MDA minggu ke 3 dan ke 6

Tabel 2. Uji korelasi antara kadar glukosa darah dan MDA

Parameter (Kadar glukosa darah)	MDA minggu ke 3	MDA minggu ke 6
Pearson Correlation Coefficient	0.779	0.927
Sig(2tailed)	0,000	0,000

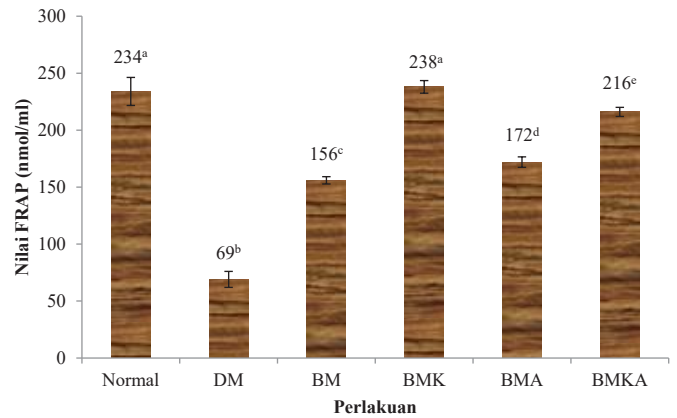
lipid peroksida atau MDA (Baynes, 1991). Rata-rata kadar MDA minggu ke 3 dan 6 dipaparkan seperti Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan kadar MDA pada minggu ke 6 mengalami penurunan pada semua kelompok tikus normal maupun yang diberi perlakuan pakan. Hasil anova menunjukkan ada pengaruh yang sangat signifikan ($p = 0,000$) antara perlakuan pakan terhadap kadar MDA pada minggu ke 3 dan ke 6. Uji lanjut Duncan menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan kecuali kelompok BMK dan BMKA. Kappa-karagenan yang ditambahkan pada beras merah terbukti memberikan efek terbaik pada penurunan MDA baik pada minggu ke 3 maupun minggu ke 6. Uji korelasi antara glukosa darah dan MDA dipaparkan pada Tabel 2.

Analisis korelasi menunjukkan ada korelasi positif yang sangat bermakna antara kadar glukosa darah dengan MDA baik pada minggu ke 3 maupun akhir intervensi.

Pengaruh Perlakuan Pakan terhadap Kadar Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP)

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi senyawa besi (III)-tripiridil-triazin menjadi besi (II)-tripiridil triazin pada pH 3,6. Hasil penelitian menunjukkan ada perbedaan



Gambar 3. Pengaruh pemberian pakan terhadap nilai FRAP.

yang cukup signifikan nilai FRAP pada kelompok perlakuan BM, BMK, BMA dan BMKA berturut-turut 126,10 %, 244,93 %, 149,28 % dan 213,04 % bila dibandingkan kelompok DM (Gambar 3).

Uji statistik menunjukkan ada pengaruh antara perlakuan pakan dengan nilai FRAP ($p = 0,000$), sedangkan uji lanjut menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan kecuali pada kelompok normal dengan kelompok perlakuan beras merah yang ditambahkan kappa-karagenan. Uji korelasi antara kadar glukosa darah dan FRAP menunjukkan korelasi negatif antara kadar glukosa darah dengan nilai FRAP. Semakin tinggi kadar glukosa darah semakin rendah nilai FRAP. Yao dkk. (2010) membuktikan bahwa antioksidan beras merah memiliki kemampuan menghambat enzim α -glukosidase (IC50) sebesar > 1 g/mL.

Mekanisme penurunan kadar glukosa darah puasa tikus kelompok perlakuan juga dapat terjadi melalui perbaikan status antioksidan darah tikus karena adanya kandungan antioksidan yang tinggi pada pakan sehingga kapasitas antioksidan darah (FRAP) juga tinggi pada tikus kelompok perlakuan.

KESIMPULAN

Beras merah dan hasil pengkayaannya mampu menurunkan dan mengontrol kadar glukosa darah tikus DM mendekati kondisi normal pada 6 minggu setelah perlakuan dengan variasi penurunan 57,82 % sampai 63,81 %. Kadar MDA pada minggu ke 3 dan 6 mengalami penurunan pada semua kelompok dengan variasi 33,84 % sampai 57,47 % (minggu ke 3) dan 57,09 % sampai 75,69 % (minggu ke 6). Angka FRAP tikus DM menunjukkan peningkatan yang signifikan antara 126,1 % sampai 244,93 %. Penelitian ini membuktikan bahwa konsumsi beras merah yang diperkaya kappa-karagenan dan ekstrak antosianin mampu memperbaiki kadar glukosa darah dan status antioksidan pada tikus diabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwer, T. (2014). Melatonin ameliorates hyperinsulinemia, glucose intolerance and insulin resistance in STZ-Nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **6**(2): 133-136.
- Astawan, M., Tuti, W. dan Anas, B.H. (2005). Pemanfaatan rumput laut sebagai sumber serat pangan untuk menurunkan kolesterol darah tikus. *Hayati* **12**(1): 23-27.
- Banerjee, M. dan Vats, P. (2014). Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in Type 2 diabetes melitus. *Journal Redox Biology* **2**: 170-177.
- Baynes, J.W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* **40**: 405-412.
- Benzie, I. dan Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* **239**: 70-76.
- Direktorat Bina Farmasi Komunitas Dan Klinik Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan departemen Kesehatan RI. (2005). Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes melitus.
- Gandhi, G.R., Ignacimuthu, S. dan Paulraj, M.G. (2011). Solanum torvum swartzfruit containing phenolic compounds shows antidiabetic and antioxidant effects in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal Food and Chemical Toxicology* **49**: 2725-2733.
- Herawati, E.R.N., Santosa, U., Astuti, M., Suharwaadji dan Ariani, D. (2013). Pengaruh konsumsi ekstrak antosianin ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*l.) terhadap glukosa darah, dan produk oksidasi lipid (Malonaldehyde) tikus hiperglikemia induksi aloksan. *Prosiding Seminar Nasional Konsumsi Pangan Sehat dengan Gizi Seimbang Menuju Tubuh Sehat Bebas Penyakit*: 191-197. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- International Diabetes Federation. (2005). Guidelines task force global for type 2 diabetes. Brussels.
- Jeyabalan, A. dan Caritis, S.N. (2006). Antioxidant and the prevention of preeclampsia-unresolved issues. *The New England Journal of Medicine* **354**(17): 1841-3.
- Jung, E.H., Kim, S.R., Hwang, I.K. dan Ha, T.Y. (2007). Hypoglycemic Effects of a Phenolic Acid Fraction of Rice Bran and Ferulic Acid in C57BL/KsJdb/db Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 9800-9804.
- Kozukaa, C., Yabikua, K., Takayamab, C., Matsushitac, M., Shimabukurod, M., Masuzakia, H. (2013). Natural food science based novel approach toward prevention and treatment of obesity and type 2 diabetes: Recent studies on brown rice and oryzanol. *Obesity Research and Clinical Practice* **7**: 165-172.
- Kristanti, D. (2015). Perbandingan efek diet beras merah (mandel handayani) dan Beras putih (ir64) *precooked* pada kadar glukosa darah, Antioksidan darah, profil mikrobiota, dan *short chain Fatty acids* (scfa) digesta tikus wistar hiperglikemia. *Tesis*. Program Studi Pascasarjana Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N. dan Matsumoto, K. (2001). α -glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 2. α -glucosidase inhibition by isolated acylated anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**: 1952-1956.
- Matsui, T., Ebuchi, S., Kobayashi, M., Fukui, K., Sugita, K., Terahara, N. dan Matsumoto, K. (2002). Antihyperglycemic effect of diacylated anthocyanin derived from ipomoea batatas cultivar ayamurasaki can be achieved through the α -glucosidase inhibitory action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 7244-7248.
- Mansjoer, A., Triyanti, K., Savitri, R., Wardhani, W.I. dan Setiowulan, W. (2007). *Kapita Selekta Kedokteran*. Edisi 3. Jilid 1: 580-588. Jakarta.
- Marsono, Y. (2004). Serat pangan dalam perspektif ilmu gizi. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Nurhidajah, Astuti, M., Sardjono dan Murdiati, A. (2013). Evaluasi sifat fisik, sensoris dan kimia beras merah yang diperkaya kappa-karagenan dan ekstrak antosianin. *Prosiding Seminar Nasional Konsumsi Pangan Sehat dengan Gizi Seimbang Menuju Tubuh Sehat Bebas Penyakit* 219-225. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Pramitasari, R. (2014). Potensi antioksidatif minuman fungsional berbasis beras hitam (*Oryza Sativa* L. *Indica*) dan kedelai hitam (*Glycine Max* L. Merr.) untuk lansia penyandang diabetes melitus tipe 2. *Tesis*. Program Studi Pascasarjana Fakultas Teknologi Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Reeves, P.G., F.H. Nielsen. dan Fahey, G.C. Jr. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition and adhoc writing

- committee on the reformulation of the AIN-76A diet. *Journal of Nutrition* **123**:1939-1951.
- Santoso A. (2011). Serat pangan (*dietary fiber*) dan manfaatnya bagi kesehatan. *Magistra* No. 75 Th. XXIII ISSN 0215-9511.
- Souza, T.P., de Oliveira, P.R. dan Pereira, B. (2005). Physical exercise and oxidative stress. Effect of intense physical exercise on the urinary chemiluminescence and plasmatic malondialdehyde. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 11: 1.
- Suda, I., Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y. dan Furuta, S. (2003). Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods. *Japan Agricultural Research Quarterly* **37**(3): 167-173.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Journal Experimental Biology and Medicine* **237**: 481-490.
- Taguchi, Y. (1985). *Experimental Animals*. Clea Japan, Inc. Tokyo.
- World Health Organization (WHO). (1999). Definition of metabolic syndrome in definition, diagnosis and classification of diabetes melitus. *World Helth Organization Departement of Noncommunicable Disease Suveillance*. Geneva.
- Yao, Y., Sang, W., Zhou, M. dan Ren, G. (2010). Antioxidant and r-glucosidase inhibitory activity of colored grains in china. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 770-774.
- Yawadio, R.S., Tanimori, N. dan Morita. (2007). Identification of phenolic compounds isolated from red rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chemistry* **101**: 1616-1625.
- Zhang, G., Malik, V.S., Pan, A., Kumar, S., Holmes, M.D., Spiegelman, D., Lin, X. dan Hu, F.B. (2010). Substituting red rice for white rice to lower diabetes risk: A focus-group study in chinese adults. *Journal of the American Dietetic Association* 110: 1216-1221.