



# Pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) terhadap kadar MDA, SOD dan trigliserida pada tikus diabetes mellitus tipe 2

*Effect of black rice bran extract (Oryza sativa L. indica) on MDA, SOD, and triglyceride levels in mice with type 2 diabetes mellitus*

Monikasari<sup>1\*</sup>, Nyoman Suci Widyastiti<sup>2</sup>, Endang Mahati<sup>3</sup>, Ahmad Syauqy<sup>4</sup>, Ahmad Ni'Matullah Al-Baarri<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia. E-mail: [monikasari2104@gmail.com](mailto:monikasari2104@gmail.com)

<sup>2</sup> Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia. E-mail: [nyoman.suci@gmail.com](mailto:nyoman.suci@gmail.com)

<sup>3</sup> Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia. E-mail: [endang.mahati@gmail.com](mailto:endang.mahati@gmail.com)

<sup>4</sup> Program Studi Ilmu Gizi, Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia. E-mail: [syauqy@lecturer.undip.ac.id](mailto:syauqy@lecturer.undip.ac.id)

<sup>5</sup> Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia. E-mail: [albari@lecturer.undip.ac.id](mailto:albari@lecturer.undip.ac.id)

## \*Correspondence Author:

Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro. Jalan Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275, Indonesia. E-mail: [monikasari2104@gmail.com](mailto:monikasari2104@gmail.com)

## Article History:

Received: November 15, 2021; Revised: September 16 through October 06, 2022; Accepted: October 24, 2022; Published: March 25, 2023.

## Publisher:



Politeknik Kesehatan Aceh  
Kementerian Kesehatan RI

© The Author(s). 2023 **Open Access**

This article has been distributed under the terms of the *License Internasional Creative Commons Attribution 4.0*



## Abstract

In type 2 diabetes mellitus, the pancreas can produce the hormone insulin, but the body has difficulty using it. The study aimed to prove the effect of black rice bran extract on MDA, SOD, and triglyceride in type 2 Diabetic Mellitus rats. The method is quasi-experimental with a pre-posttest randomized control group design in 2021. The intervention was given for 21 days to 42 male Wistar rats. MDA examination using the TBARs method, SOD examination using a UV-Visible spectrophotometer. Triglyceride examination using a spectrophotometer. Statistical analysis used Paired T-Test or Wilcoxon test and One-Way ANOVA or Kruskal Wallis test. Descriptive research findings show that the intervention of black rice bran extract at a dose of 60 mg/200g reduced MDA in rats to 2,21 mmol/ml and triglycerides to 85,17 mg/dL. In addition, it can increase SOD to 69,67 units/ml. Almost the same as the intervention of metformin 9 mg/200 g body weight. However, statistically, no significant difference exists in the interventions carried out ( $p > 0,05$ ). The study concluded a decrease in MDA, SOD, and triglyceride in rats, given the black rice bran extract intervention.

**Keywords:** Black rice bran extract, MDA, SOD, triglyceride

## Abstrak

Diabetes mellitus tipe 2 organ pankreas dapat memproduksi hormon insulin, namun tubuh mengalami kesulitan untuk menggunakannya. Penelitian bertujuan untuk mengukur pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras hitam mengandung banyak antosianin yang berpengaruh terhadap MDA, SOD, dan trigliserida pada tikus diabetes mellitus tipe 2. Metode penelitian *quasi experimental* dengan *pre-post test randomixed control group design*. Intervensi dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, pada bulan Maret-Mei 2021 selama 21 hari terhadap 42 ekor tikus wistar. MDA diuji menggunakan metode TBARs, SOD menggunakan spektrofotometer UV-Visible dan trigliserida menggunakan spektrofotometer. Analisis statistik menggunakan uji *Paired T-Test* atau *Wilcoxon*, dan uji *One-Way ANOVA* atau *Kruskal Wallis* pada CI:95%. Hasil penelitian telah menunjukkan intervensi ekstrak bekatul beras hitam dosis 60 mg/200 g berat badan (BB) dapat menurunkan MDA tikus dari 9,82 mmol/ml menjadi 2,21 mmol/ml, meningkatkan SOD tikus dari 23,49 unit/ml menjadi 69,67 unit/ml ( $p = 1,000$ ) dan menurunkan trigliserida tikus dari 147,16 mg/dL menjadi 85,17 mg/dL, hampir sama dengan intervensi metformin 9 mg/200 g ( $p > 0,05$ ). Kesimpulan, terdapat penurunan MDA, peningkatan SOD dan penurunan trigliserida pada tikus yang diberikan intervensi ekstrak bekatul beras hitam.

**Kata Kunci:** Beras hitam, ekstrak bekatul, MDA, SOD, trigliserida

## Pendahuluan

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit kronis yang terjadi karena organ pankreas tidak dapat menghasilkan hormon insulin yang cukup atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan hormon insulin yang diproduksi. Pada diabetes mellitus tipe 2 organ pankreas dapat memproduksi hormon insulin, namun tubuh mengalami kesulitan untuk menggunakannya (Okur et al, 2017). Diabetes mellitus tipe 2 ditandai dengan resistensi insulin dan kadar glukosa darah di atas normal atau hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia yang terjadi pada diabetes mellitus tipe 2 berpengaruh terhadap endotel pembuluh darah akibat dari adanya proses auto oksidasi glukosa dalam bentuk radikal bebas (Deepthi B et al, 2018).

Akumulasi radikal bebas yang terjadi dapat mengakibatkan stres oksidatif yang kemudian akan mempengaruhi kadar malondialdehid (MDA), hal ini dikarenakan MDA merupakan salah satu biomarker stres oksidatif (Verma et al., 2019). Meningkatnya stres oksidatif pada individu yang mengalami diabetes mellitus tipe 2 menghasilkan *reactive oxygen species (ROS)* yang berlebihan seperti superoksida, hidroksil dan hidrogen peroksida. Adanya stres oksidatif mengakibatkan penurunan superoksida dismutase (SOD) yang merupakan enzim detoksifikasi pertama dan antioksidan paling kuat dalam sel. Penurunan SOD terjadi karena banyak digunakan untuk menanggulangi tingginya ROS (Ighodaro & Akinloye, 2018). Pada individu yang mengalami diabetes mellitus tipe 2 terjadi kelainan lipid darah. Kelainan lipid ini terjadi karena resistensi insulin mengganggu lipolisis trigliserida yang dilakukan oleh enzim lipase. Efek dari terganggunya lipolisis trigliserida mengakibatkan naiknya kadar lipid dalam darah (Nurhidajah et al., 2019).

Pemberian antioksidan merupakan salah satu cara untuk menekan produksi ROS dan meningkatkan kemampuan enzim pertahanan terhadap radikal bebas untuk mencegah terjadinya stres oksidatif. Flavonoid merupakan jenis antioksidan eksogen yang memperkuat pertahanan antioksidan tubuh dengan cara membentuk komponen komplementer. Flavonoid banyak terkandung dalam berbagai jenis bahan makanan memberikan efek yang dapat bekerja sama dengan tubuh ataupun sebagai tambahan untuk menurunkan risiko

penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif seperti diabetes mellitus tipe 2 (Fang et al., 2019).

Antosianin merupakan pigmen larut air yang paling penting dari kelompok flavonoid. Antosianin yang terdapat dalam makanan dapat mengurangi komplikasi yang terjadi pada diabetes mellitus tipe 2 melalui penangkalan radikal bebas. Antosianin terutama jenis sianidin 3-glukosida menunjukkan aktivitas antioksidan yang dapat mengambil radikal bebas sehingga menurunkan stres oksidatif (Tan et al., 2019). Beras hitam merupakan sumber pangan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat dapat membantu memperbaiki komplikasi dari penyakit diabetes mellitus tipe 2 karena banyak mengandung antosianin (Cruz et al., 2021).

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan pengaruh pemberian antioksidan yang terkandung dalam beras hitam, kacang merah dan daun kelor (betamelor) pada hewan coba selama 28 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah dari 122,69 mg/dL menjadi 97,70 mg/dL dan 123,91 mg/dL menjadi 113,28 mg/dL dengan pemberian pakan betamelor sebanyak 80% dari 5% berat badan (Utama et al., 2021). Penelitian lainnya yang menggunakan *Caralluma europaea*, yang merupakan tanaman obat tradisional untuk mengobati diabetes mellitus di Maroko. Pemberian *Caralluma europaea* sebanyak 60 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan. *Caralluma europaea* memiliki efek antihiperglikemik dari kandungan senyawa flavonoid yang dapat bereaksi sendiri atau sinergis untuk menghilangkan radikal bebas dari efek pemberian aloksan (Ouassou et al., 2021). Penelitian lain yang juga menggunakan tikus diabetes mellitus tipe 2 dilakukan selama 17 hari yang diberi perlakuan bekatul beras hitam, mendapatkan hasil menurunkan glukosa darah (Chaiyasut et al., 2017).

Bekatul merupakan produk sampingan dari proses penggilingan sereal, yang terdiri dari perikarp, aleuron dan sub aleuron. Bekatul banyak mengandung zat gizi seperti protein, lemak, vitamin, mineral dan kaya akan sumber senyawa fitokimia. Bekatul beras hitam paling banyak mengandung antosianin jenis sianidin 3-glukosida. Antosianin pada bekatul beras hitam lebih tinggi dibandingkan pada bekatul beras putih. Sianidin 3-glukosida memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat mengambil radikal bebas pada kondisi stres oksidatif yang

kemudian akan menurunkan kadar MDA. Selain dapat menurunkan kadar MDA, aktivitas antioksidan juga dapat meningkatkan mediator antiinflamasi seperti SOD (Mingyai et al., 2017; Tantipaiboonwong et al., 2017). Antosianin juga memiliki kemampuan untuk dapat mempengaruhi laju aktivitas enzim lipase yang berperan dalam metabolisme lemak (Tantipaiboonwong et al., 2017). Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras hitam berpengaruh terhadap kadar MDA, SOD dan trigliserida pada tikus diabetes mellitus tipe 2.

## Metode

Jenis penelitian yang digunakan adalah *quasi experimental* dengan rancangan *pre - post tes randomixed control group design*. Penelitian dan pengumpulan data mulai dilakukan Maret-Mei 2021 di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada (UGM), Yogyakarta.

Pembuatan ekstrak bekatul beras hitam dilakukan di Laboratorium Chemix-Pratama, Daerah Istimewa Yogyakarta, pengentalan ekstrak dilakukan di Laboratorium Kimia, Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG), Pusat Antar Universitas (PAU), Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta dan analisis kadar MDA, SOD, dan trigliserida dilakukan di Laboratorium PSPG, PAU, UGM, Yogyakarta. Subjek yang digunakan penelitian adalah tikus Wistar dengan jenis kelamin jantan berumur 8 minggu, kondisi sehat, berat badan tikus 150-200 g, kadar glukosa darah puasa setelah diinduksi *Streptozotin* (STZ)+Nikotinamide (NA) >250 mg/dL, kriteria eksklusi tikus yaitu tikus mati, berat badan mengalami penurunan >10% saat penelitian, tikus tidak mau makan atau lemas saat penelitian. Penentuan besar sampel disesuaikan dengan kriteria *Wold Health Organization*, dimana setiap kelompok perlakuan terdapat minimal empat ekor tikus. Untuk mengantisipasi adanya *drop out*, maka jumlah sampel yang digunakan menggunakan rumus sebagai berikut (Arifin & Zahiruddin, 2017):

$$n' = n/(1-f)$$

Keterangan:

- n' : Jumlah sampel yang direncanakan
- n : Jumlah sampel yang dihitung
- f : Perkiraan proporsi *drop out* (40%)

Jumlah sampel yang dihitung berdasarkan kriteria WHO adalah 4, dengan perkiraan proporsi *drop out* (40%), maka:

$$\begin{aligned} n' &: n/(1-f) \\ n' &: 4/(1-40\%) \\ n' &: 4/0,6 \\ n' &: 6,67 \approx 7 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan menunjukkan jumlah sampel yang digunakan pada setiap kelompok sebanyak 7 sampel. Terdapat 6 kelompok perlakuan, maka jumlah total sampel yang digunakan adalah 42 ekor tikus, dengan kriteria inklusi yaitu tikus putih Wistar jantan, berumur 8 minggu, berat tikus 150-200 g, kadar glukosa darah puasa setelah diinduksi STZ+NA >250 mg/dL, kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok yang dijelaskan melalui Tabel 1. Variabel bebas penelitian yaitu pemberian ekstrak bekatul beras hitam, variabel terikat yaitu kadar MDA, SOD dan trigliserida. Variabel terkontrol yaitu galur tikus, umur, jenis kelamin, kandang, pakan, dan berat badan hewan coba.

**Tabel 1.** Kelompok tikus perlakuan

Kelompok Tikus	Perlakuan
Normal (N)	Pakan standar + minum <i>ad libithum</i>
Kontrol Negatif (K <sup>-</sup> )	Pakan tinggi lemak + minum <i>ad libithum</i>
Kontrol Positif (K <sup>+</sup> )	Pakan tinggi lemak + minim <i>ad libithum</i> + metformin 9 mg/kg BB
Perlakuan 1 (P1)	Pakan tinggi lemak + minum <i>ad libithum</i> + ekstrak bekatul beras hitam 15 mg/200 gr BB
Perlakuan (P2)	Pakan tinggi lemak + minum <i>ad libithum</i> + ekstrak bekatul beras hitam 30 mg/200 gr BB
Perlakuan (P3)	Pakan tinggi lemak + minum <i>ad libithum</i> + ekstrak bekatul beras hitam 60 mg/200 kg BB

Dosis intervensi berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yaitu 15, 30 dan 60 mg/200 g BB/hari, dimana pemberian ekstrak bekatul beras hitam sebanyak 200 mg/kg BB signifikan menurunkan kadar glukosa darah dan kadar insulin pada tikus diabetes mellitus tipe (Sari & Wahyuni, 2018).

Saat perlakuan, tikus kelompok N diberikan pakan standar, kelompok K<sup>-</sup> (Kontrol Negatif) diberikan pakan tinggi lemak, K<sup>+</sup> (Kontrol Positif) diberikan pakan tinggi lemak

dan metformin 9 mg/200 g BB, P1 (Perlakuan 1) diberikan pakan tinggi lemak dan ekstrak bekatul beras hitam 15 mg/200 g BB, P2 (Perlakuan 2) diberikan pakan tinggi lemak dan ekstrak bekatul beras hitam 30 mg/200 g BB, dan P3 (Perlakuan 3) diberikan pakan tinggi lemak dan ekstrak bekatul beras hitam 60 mg/200 g BB.

Penelitian dimulai dengan pembuatan ekstrak bekatul beras hitam. Bubuk bekatul beras hitam dimaserasi sebanyak dua kali dengan menggunakan pelarut (Etanol:DCI = 85:15) dengan rasio 10:1 (v:w) selama 48 jam dan sesekali dikocok. Dilanjutkan dengan proses penguapan filtrat dengan menggunakan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 70°C untuk mendapatkan ekstrak kental.

Tikus 42 ekor dilakukan aklimatisasi selama 7 hari dengan diberikan pakan standar dan minum *ad libitum* agar tikus beradaptasi dengan kondisi lingkungan selama penelitian. Setelah dilakukan aklimatisasi tikus dirandomisasi menjadi 6 kelompok. Setelah dirandomisasi tikus kelompok diabetes mellitus tipe 2 diberikan *High Fat Diet (HFD)* selama 14 hari, kemudian tikus diinjeksi STZ 45 mg/kg BB dan NA 110 mg/kg BB. Kemudian setelah 3 hari tikus dipuaskaan selama 8-10 jam dan diambil darah sebanyak 2 cc melalui *plexus retroorbitalis* untuk pengukuran kadar glukosa darah puasa, MDA, SOD dan trigliserida *pretest*. Tikus dinyatakan mengalami diabetes mellitus tipe 2 pasca induksi apabila memiliki kadar glukosa darah puasa >250 mg/dL. Setelah tikus dinyatakan mengalami diabetes mellitus tipe 2, kemudian diberikan perlakuan ekstrak bekatul beras hitam selama 28 hari sebanyak 21 ekor tikus (P1, P2 dan P3) tikus diberikan perlakuan sesuai dosis yaitu masing-masing 15 mg/200 gr BB, 30 mg/200 gr BB, 60 mg/gr BB. Penggunaan ekstrak bekatul beras hitam sebagai intervensi. Ekstrak bekatul beras hitam digunakan sebagai intervensi karena memiliki kadar antosianin tinggi dan merupakan bahan makanan yang mudah didapatkan di Indonesia yang termasuk dalam lima negara produsen beras terbesar. Intervensi akan dilakukan untuk mengetahui dosis yang paling efektif terhadap kadar MDA, SOD dan trigliserida pada tikus diabetes mellitus tipe 2 akibat dari pemberian diet tinggi lemak dan induksi STZ+NA. Penelitian dilakukan terhadap tikus karena memiliki sifat-sifat genetik yang mirip dengan manusia (Diaz et al., 2019).

Data yang dikumpulkan meliputi berat badan yang diukur setiap 7 hari sekali dari awal penelitian hingga akhir penelitian. Setelah 28 hari intervensi dilakukan analisis MDA, SOD dan trigliserida *post-test*. MDA diukur menggunakan metode TBA, SOD diukur menggunakan spektrofotometer, dan trigliserida diukur menggunakan metode GPO-PAP.

Analisis data yang dilakukan melalui tiga tahap yaitu dari data normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk*. Kadar MDA, SOD dan trigliserida diuji menggunakan *dependent t-test* apabila data berdistribusi normal dan *wilcoxon* apabila data berdistribusi tidak normal. Perbedaan kadar MDA, SOD dan trigliserida *pre-test* dan *post-test* diuji menggunakan *Paired T-Test*. Kadar MDA, SOD dan trigliserida antar kelompok perlakuan uji menggunakan *One-way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*.

Penelitian telah memperoleh *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dengan nomor 17/EC/H/FK-UNDIP/II/2021.

## Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian (Tabel 2), menunjukkan perubahan berat badan tikus pada keenam kelompok. Terdapat perbedaan yang signifikan antara berat badan sebelum dan sesudah intervensi pada semua kelompok ( $p < 0,05$ ). Penurunan berat badan sebesar 21,00 g terjadi pada kelompok K-. Terdapat perbedaan perubahan berat badan yang signifikan pada kelompok K+, P1, P2 dan P3 dibandingkan dengan kelompok K-. Terdapat perbedaan berat badan antar kelompok sesudah intervensi. Berat badan setelah intervensi pada kelompok K+, P1, P2 dan P3 lebih tinggi dan berbeda signifikan dengan kelompok K- ( $p < 0,05$ ). Perbaikan berat bada pada kelompok intervensi ekstrak bekatul beras hitam (P1, P2, dan P3) berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok K+ ( $p < 0,05$ ).

Komposisi *HFD* yang diberikan terdiri dari pakan standar *Comfeed II* 80%, lemak minyak babi 20%, dan kolesterol 1,5% dari keseluruhan berat pakan. Pakan tinggi lemak mengandung kalori yang tinggi berasal dari tingginya komposisi lemak dibandingkan zat gizi lainnya. Konsumsi pakan tinggi lemak yang tidak diimbangi dengan aktivitas fisik dapat mengakibatkan peningkatan berat badan tikus. Pemberian pakan tinggi lemak

pada tikus dapat menyebabkan peningkatan berat badan yang juga akan mengakibatkan peningkatan lemak pada tubuh, selain itu terjadi juga peningkatan risiko diabetes mellitus tipe 2. Resistensi insulin yang merupakan ciri penting

dari penyakit diabetes mellitus tipe 2. Induksi STZ dapat menyebabkan masalah kesehatan seperti gangguan sekresi insulin yang dikemudian hari dapat menjadi penyakit diabetes mellitus tipe 2 (Cruz et al., 2021).

**Tabel 2.** Berat badan tikus sebelum dan sesudah intervensi ekstrak bekatul beras hitam

Berat Badan (BB)	Kelompok Tikus (Mean±SD)						Nilai p <sup>2</sup>
	Normal	Kontrol-	Kontrol+	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3	
BB Sebelum Intervensi (g)	187,0±2,76	192,0±4,00	192,9±3,67	191,1±5,34	191,3±4,39	193,8±3,06	0,060
BB Setelah Intervensi (g)	205,4±3,74	171,0±4,00	211,0±3,56	201,4±5,59	207,3±4,86	209,8±3,49	0,000*
Selisih BB (g)	18,4±1,27	-21,0±0,82	18,1±0,69	10,3±0,76	16,0±0,82	16,0±0,89	0,000*
Nilai p <sup>1</sup>	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	

p<sup>1</sup>= Paired T-Test; p<sup>2</sup>= One-Way ANOVA; \*= p <0,05 (bermakna)

Pengembangan hewan coba tikus yang diberikan pakan tinggi lemak dan diinduksi STZ sangat mirip dengan riwayat alami dari kejadian penyakit diabetes mellitus tipe 2, mulai dari resistensi insulin sampai dengan disfungsi sel β. Pengkondisian hewan coba dengan metode ini memiliki keunggulan seperti lebih murah, bahan dan alat yang mudah diakses, serta praktis apabila akan dilakukan pengujian berbagai senyawa untuk pengobatan dari penyakit diabetes mellitus tipe 2 (Ghasemzadeh et al., 2018).

**Kadar Malondialdehyde (MDA)**

Kadar MDA darah dianalisis sebanyak dua kali yaitu setelah pemberian *HFD*, injeksi STZ-NA dan

setelah intervensi. Terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata kadar MDA sebelum dan sesudah intervensi pada masing-masing kelompok (p<0,05). Peningkatan kadar MDA terjadi pada kelompok N dan kelompok K yang diberikan diet standar dan tidak diberikan intervensi apapun. Terdapat hubungan yang signifikan kadar MDA setelah intervensi ekstrak bekatul beras hitam pada kelompok K+, P1, P2 dan P3 dibandingkan dengan kelompok K-. Intervensi ekstrak bekatul beras hitam dosis 60 mg/200 g berat badan yang diberikan dapat menurunkan kadar MDA tikus hampir menyamai apabila dibandingkan dengan intervensi dengan intervensi 9 mg/200 gr BB (p<0,05).

**Tabel 3.** Kadar MDA sebelum dan sesudah intervensi ekstrak bekatul beras hitam

Kelompok Tikus Intervensi	Kadar MDA (mmol/ml)			
	Sebelum (Mean ± SD)	Setelah (Mean ± SD)	Nilai p	Selisih Rata-rata (Lower - Upper)
Normal	1,63 ± 0,08	1,72 ± 0,07	0,000*	0,09 (0,06 - 0,14)
Kontrol-	9,89 ± 0,09	9,96 ± 0,08	0,000*	0,07 (0,03 - 0,10)
Kontrol+	9,80 ± 0,14	1,97 ± 0,04	0,000*	7,81 (7,65 - 8,07)
Perlakuan1	9,84 ± 0,20	3,81 ± 0,17	0,000*	5,90 (5,74 - 6,52)
Perlakuan2	9,86 ± 0,12	3,02 ± 0,86	0,000*	6,83 (6,67 - 7,03)
Perlakuan3	9,82 ± 0,18	2,21 ± 0,15	0,000*	7,63 (7,18 - 7,91)

\*= p <0,05 (bermakna)

Penelitian lainnya juga membuktikan bahwa pemberian ekstrak jagung ungu yang mengandung antosianin mengurangi kerusakan membran melalui proses penurunan peroksidasi lipid. Efek dari pemberian ekstrak jagung ungu secara bersamaan dengan pemberian *HFD* dapat menurunkan produksi MDA plasma sebesar 33-39%. Perubahan yang mencolok juga terjadi pada hasil uji jaringan hati. *HFD* menyebabkan peningkatan produksi MDA hati sebesar 300%,

namun keadaan ini dapat diperbaiki dengan pemberian ekstrak jagung ungu, dengan terbukti dapat menurunkan MDA sebesar 12-65% Putri, Lestari, & Gofur, 2020). Pada penelitian lainnya yang menggunakan jeli ubi ungu A3 terjadi penurunan kadar MDA setelah pemberian selama 14 hari terjadi penurunan kadar MDA sebanyak -136,78 ± 3,94 mg/dL. Ubi ungu mengandung tingkat antioksidan yang tinggi dan dapat menurunkan kadar glukosa darah, menurunkan

MDA, dan meningkatkan oksidan total darah secara keseluruhan yang dapat memperbaiki sel  $\beta$  pankreas. Antosianin yang terkandung dalam ubi ungu dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara mengurangi kadar MDA sebagai salah satu indikator stres oksidatif, meningkatkan SOD, dapat bertindak sebagai katalase dan enzim antioksidan pada keadaan diabetes mellitus (Guo et al., 2018).

#### Kadar Superoksida Dismutase (SOD)

Kadar SOD diukur sebelum dan sesudah intervensi ekstrak bekatul beras hitam. Terdapat

perbedaan yang bermakna pada rerata kadar SOD sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok ( $p < 0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan perubahan kadar SOD kelompok P3 dengan kelompok K<sup>+</sup> dengan nilai  $p = 0,94$ , yang menunjukkan bahwa kenaikan kadar SOD yang terjadi pada kelompok tikus diabetes mellitus tipe 2 yang diberikan intervensi ekstrak bekatul beras hitam sebanyak 60 mg/200 g berat badan hampir menyamai kenaikan kadar SOD tikus diabetes mellitus tipe 2 yang diberikan intervensi metformin 9 mg/200 g berat badan (Tabel 4).

**Tabel 4.** Kadar SOD sebelum dan sesudah intervensi ekstrak bekatul beras hitam

Kelompok Tikus Intervensi	Kadar SOD (unit/ml)			
	Sebelum (Mean $\pm$ SD)	Setelah (Mean $\pm$ SD)	Nilai p	Selisih Rata-rata (Lower - Upper)
Normal	81,97 $\pm$ 3,54	78,69 $\pm$ 3,54	0,020*	3,28 (1,64 - 6,56)
Kontrol-	26,69 $\pm$ 4,61	23,41 $\pm$ 4,98	0,040*	3,28 (1,64 - 6,56)
Kontrol+	21,07 $\pm$ 4,77	67,21 $\pm$ 3,54	0,000*	47,54 (34,43 - 52,46)
Perlakuan1	22,95 $\pm$ 6,34	47,77 $\pm$ 3,95	0,000*	22,95 (18,03 - 39,34)
Perlakuan2	24,12 $\pm$ 5,33	61,82 $\pm$ 4,40	0,000*	39,34 (22,95 - 45,91)
Perlakuan3	23,49 $\pm$ 4,59	69,67 $\pm$ 3,06	0,000*	48,36 (37,70 - 54,10)

\*=  $p < 0,05$  (bermakna)

Peningkatan kadar SOD yang terjadi pada penelitian ini sama dengan hasil penelitian sebelumnya yang memberikan perlakuan STZ sebanyak 25 mg/kg dan *HFD*, membuktikan bahwa konsumsi makanan tinggi lemak dapat meningkatkan kadar trigliserida darah dan stres oksidatif yang ditandai dengan penurunan enzim antioksidan dan peningkatan produk oksidasi. Asam lemak secara langsung dapat mempengaruhi peningkatan ROS melalui reaksi peroksidasi dan melalui produksi di mitokondria. *HFD* menyebabkan penurunan SOD dan meningkatkan peroksidasi lipid, dimana hal ini menunjukkan bahwa adanya kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif terlibat dalam penyakit diabetes mellitus tipe 2.

Konsumsi lemak yang tinggi menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas dalam plasma dan meningkatkan radikal bebas dalam plasma yang merupakan tanda bahwa terjadinya stres oksidatif. Peningkatan asam lemak bebas menginduksi produksi ROS dan ROS menyebabkan stres oksidatif yang mempengaruhi produksi sitokin proinflamasi dari jaringan adiposa dan menghasilkan resistensi insulin. *HFD* menginduksi disfungsi mitokondria dan selanjutnya dapat menginduksi pembentukan radikal bebas. *HFD* menyebabkan

kerusakan pada sel dan tingkat molekuler, dimana hal ini memicu stres oksidatif dan kemudian menyebabkan peroksidasi lipid. *HFD* dapat bertindak sebagai penginduksi stres oksidatif, karena secara signifikan melemahkan sistem antioksidan enzim hati dan meningkatkan tingkat peroksidasi lipid yang merupakan produk dari hati dan plasma hati dan meningkatkan tingkat peroksidasi lipid yang merupakan produk dari hati dan plasma (Gofur et al., 2019). Penelitian lainnya yang menggunakan jagung ungu sebagai intervensinya membuktikan bahwa pemberian 12,5 mg sianidin 3-glukosida/kg berat badan dapat meningkatkan SOD, sebagaimana dibuktikan dengan peningkatan yang tertinggi pada aktivitas SOD hati, apabila dibandingkan dengan dosis pemberian 6,25 mg sianidin 3-glukosida atau 25 mg sianidin 3-glukosida (Putri et al., 2020).

Selain itu terdapat penelitian sebelumnya yang menggunakan kedelai hitam dan ubi ungu, kandungan antosianin yang terdapat didalamnya dapat meningkatkan enzim antioksidan seperti SOD melalui proses kompleks Nrf2-Keap1. Antosianin meningkatkan SOD dalam kondisi diabetes mellitus tipe 2. Kedelai hitam dan ubi ungu bertindak secara sinergis dalam menanggapi kerusakan intraseluler yang

disebabkan oleh ROS melalui peningkatan sinyal Nrf-2 untuk menghasilkan antioksidan (Gofur et al., 2019).

### Kadar Trigliserida

Kadar trigliserida darah diukur sebelum dan sesudah intervensi ekstrak bekatul beras hitam. Terdapat perbedaan yang signifikan kadar trigliserida sebelum dan sesudah intervensi pada masing-masing kelompok ( $p < 0,05$ ). Penurunan

kadar trigliserida terjadi pada kelompok K<sup>+</sup>, P1, P2 dan P3 ( $p = 0,00$ ). Sebaliknya, terdapat peningkatan kadar trigliserida pada kelompok N dan K. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K<sup>+</sup> apabila dibandingkan dengan kelompok P3. Hal ini menunjukkan bahwa intervensi ekstrak bekatul beras hitam 60 mg/200 gram berat badan hampir menyamai intervensi metformin 9 mg/200 gram berat badan ( $p = 0,670$ ).

**Tabel 5.** Kadar trigliserida sebelum dan sesudah intervensi bekatul beras hitam

Kelompok Tikus Intervensi	Kadar Trigliserida (mg/dL)			
	Sebelum (Mean $\pm$ SD)	Setelah (Mean $\pm$ SD)	Nilai p	Selisih Rata-rata (Lower - Upper)
Normal	63,24 $\pm$ 2,28	65,27 $\pm$ 2,16	0,000*	1,76 (1,37 - 3,27)
Kontrol-	142,63 $\pm$ 3,25	144,58 $\pm$ 3,05	0,000*	1,80 (1,33 - 3,14)
Kontrol+	144,43 $\pm$ 3,18	78,29 $\pm$ 1,53	0,000*	65,34 (60,92 - 72,54)
Perlakuan1	143,08 $\pm$ 2,50	120,48 $\pm$ 2,52	0,000*	24,38 (16,71 - 26,04)
Perlakuan2	144,66 $\pm$ 6,59	93,54 $\pm$ 1,87	0,000*	49,36 (42,10 - 61,55)
Perlakuan3	147,16 $\pm$ 3,44	85,17 $\pm$ 2,53	0,000*	62,10 (56,80 - 68,35)

\*=  $p < 0,05$  (bermakna)

Penurunan kadar trigliserida pada penelitian ini sama dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan ekstrak air murbei. Ekstrak air murbei mengandung antosianin sebanyak 0,5-20% per 100 g dapat menurunkan berat badan, massa lemak viseral, menurunkan trigliserida, kolesterol total dan rasio LDL/HDL. Ekstrak air murbei mengatur lipogenesis dan lipolisis dalam penelitian hewan coba yang diberikan perlakuan *HFD*, sehingga ekstrak air murbei dianggap sebagai agen terapan tambahan untuk mengelola obesitas.

Pada penelitian yang lainnya suplementasi bubuk *blueberry* yang mengandung antosianin sebanyak 2% per 100 g pada tikus jantan *Zucker* yang diberikan perlakuan *HFD* selama 90 hari terbukti dapat menurunkan trigliserida, kadar insulin puasa, *HOMA-IR* dan massa lemak viseral. Suplementasi *blueberry* menunjukkan peningkatan PPAR yang terkait dengan jaringan adiposa dan otot rangka, peran pengaturan PPAR terkait dengan oksidasi lemak dan penyerapan glukosa. Penelitian lainnya yang menggunakan jus *blueberry* dan murbei sebagai intervensi sebanyak 40 mg/kg berat badan atau antosianin murbei 200 mg/kg selama 12 minggu secara signifikan menekan kenaikan berat badan dan mengurangi resistensi insulin dan akumulasi lipid pada hewan coba tikus yang diberikan pakan tinggi lemak. Penelitian lainnya suplementasi antosianin murni sianidin 3-

glukosida sebanyak 1 g/kg berat badan selama 12 minggu terbukti dapat mencegah kejadian obesitas pada tikus jenis KK-Ay. Tikus KK-Ay merupakan strain KK diabetes yang dibuat oleh Profesor Kyoji Kondo pada tahun 1957, persilangan antara KK diabetes dengan Ay (*Agouti Yellow*). Pemberian suplementasi antosianin menunjukkan penekanan berat badan, penurunan berat hati dan penurunan berat jaringan adiposa viseral. Kadar trigliserida dalam plasma dan hati berkurang pada hewan coba yang diberikan intervensi sianidin 3-glukosida. Antosianin meningkatkan aktivitas pAMPK dan pACC (*Acetyl-coenzyme A carboxylase phosphorylation*) dan menekan protein pengikat elemen pengatur sterol 1 yang terkait dengan sintesis asam lemak. Antosianin meningkatkan metabolisme lipid dan mengurangi reaksi inflamasi pada tikus yang diinduksi *HFD* (Sivamaruthi et al., 2020).

Penurunan kadar MDA yang terjadi pada penelitian ini sama dengan hasil penelitian sebelumnya, seperti ekstrak antosianin yang diperoleh dari tempe kedelai hitam dan ubi ungu dengan perbandingan 1:3 terbukti dapat menurunkan kadar MDA pada tikus yang diinduksi STZ dan pemberian *HFD* (Ghasemzadeh et al., 2018). Hiperglikemia merupakan penanda dari kelainan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein. Keadaan hiperglikemia dapat meningkatkan radikal bebas dalam sel dan akan

mengakibatkan stres oksidatif. Keadaan stres oksidatif meningkatkan oksidasi glukosa, asam amino dan lipid yang mempengaruhi produksi MDA. MDA merupakan salah satu penanda adanya kerusakan sel. Senyawa antioksidan dapat mencegah radikal bebas. Salah satu bahan makanan yang banyak mengandung antioksidan adalah bekatul beras hitam. Ekstrak bekatul beras hitam terbuat dari bubuk bekatul beras hitam yang diekstraksi menjadi cairan kental. Kandungan antosianin yang terdapat pada ekstrak bekatul beras hitam bekerja dengan cara meningkatkan kerja reseptor insulin, meningkatkan status antioksidan dengan menekan produksi MDA. Senyawa flavonoid bekerja dalam berbagai sistem seperti sistem reproduksi, antikanker dan mengurangi *Age-Rage* yang dapat memicu pembentukan ROS. Antosianin dapat mengurangi aktivitas ROS dengan cara mendonorkan elektron ke radikal bebas dari gugus hidroksil (-OH) yang terikat dengan cincin fenolik. Elektron akan menstabilkan dan menonaktifkan radikal bebas. Dalam proses ini agen pereduksi polifenol berubah menjadi aroksil radikal, yang memiliki sifat lebih stabil karena resonansi radikal bebas yang telah berkurang, dimana hasil keseluruhannya adalah penghentian dari reaksi oksidatif yang berantai (Chayati et al., 2019).

Keterbatasan pada penelitian ini adalah belum diketahui efek jangka panjang dari pemberian ekstrak bekatul beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) terhadap hipoglikemia.

## Kesimpulan

Bekatul beras hitam yang diekstrakkan terbukti menurunkan kadar MDA, meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar trigliserida pada tikus diabetes mellitus tipe 2. Intervensi ekstrak bekatul beras hitam dapat menurunkan prevalensi nasional penyakit tidak menular seperti dislipidemia dan diabetes mellitus tipe 2.

Penelitian ini masih diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan berbagai jenis bekatul beras hitam yang ada di Indonesia. Perlu dilakukan perkembangan uji kandungan zat gizi lain yang banyak terkandung dalam ekstrak bekatul beras hitam yang bermanfaat untuk kesehatan.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak/Ibu dosen pembimbing dan penguji Magister Ilmu Gizi, Universitas Diponegoro, rekan tim penelitian, tenaga laboratorium CV. Chem-Mix Pratama, tenaga laboratorium PSPG UGM Yogyakarta.

## Daftar Rujukan

- Arifin, W. N., & Zahiruddin, W. M. (2017). Sample size calculation in animal studies using resource equation approach. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS*, 24(5), 101–105. <https://doi.org/10.21315/mjms2017.24.5.11>
- Chaiyasut, C., Sivamaruthi, B. S., Pengkumsri, N., Keapai, W., Kesika, P., Saelee, M., Tojing, P., Sirilun, S., Chaiyasut, K., Peerajan, S., & Lailerd, N. (2017). Germinated Thai black rice extract protects experimental diabetic rats from oxidative stress and other diabetes-related consequences. *Pharmaceuticals*, 10(1), 3. <https://doi.org/10.3390/ph10010003>
- Chayati, I., Marsono, Y., & Astuti, M. (2019). Purple Corn Anthocyanin Extract Improves Oxidative Stress of Rats Fed High Fat Diet via Superoxide Dismutase Mechanism. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 8(8), 1057–1065. <https://doi.org/10.21275/ART2020413>
- Cruz, P. L., Moraes-Silva, I. C., Ribeiro, A. A., Machi, J. F., de Melo, M. D. T., dos Santos, F., da Silva, M. B., Strunz, C. M. C., Caldini, E. G., & Irigoyen, M. C. (2021). Nicotinamide attenuates streptozotocin-induced diabetes complications and increases survival rate in rats: role of autonomic nervous system. *BMC Endocrine Disorders*, 21(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00795-6>
- Deepthi, B., Sowjanya, K., Lidiya, B., Bhargavi, R. S., & Babu, P. S. (2018). A modern review of diabetes mellitus: An annihilatory metabolic disorder. *Journal of In Silico & In Vitro Pharmacology*, 3(1), 1–5. <https://doi.org/10.21767/2469-6692.100014>
- Fang, J. Y., Lin, C. H., Huang, T. H., & Chuang, S. Y.

- (2019). In vivo rodent models of type 2 diabetes and their usefulness for evaluating flavonoid bioactivity. *Nutrients*, 11(3), 530. <https://doi.org/10.3390/nu11030530>
- Ghasemzadeh, A., Karbalaii, M. T., Jaafar, H. Z. E., & Rahmat, A. (2018). Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0382-9>
- Gofur, A., Witjoro, A., Ningtiyas, E. W., Setyowati, E., Mukharromah, S. A., Atho'illah, M. F., & Lestari, S. R. (2019). The evaluation of dietary black soybean and purple sweet potato on insulin sensitivity in streptozotocin - Induced diabetic rats. *Pharmacognosy Journal*, 11(4), 639–646. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.102>
- Guo, X. xuan, Wang, Y., Wang, K., Ji, B. ping, & Zhou, F. (2018). Stability of a type 2 diabetes rat model induced by high-fat diet feeding with low-dose streptozotocin injection. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 19(7), 559–569. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1700254>
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Mingyai, S., Kettawan, A., Srikaeo, K., & Singanusong, R. (2017). Physicochemical and antioxidant properties of rice bran oils produced from colored rice using different extraction methods. *Journal of Oleo Science*, 66(6), 565–572. <https://doi.org/10.5650/jos.ess17014>
- Nurhidajah, Astuti, R., & Nurrahman. (2019). Black rice potential in HDL and LDL profile in sprague dawley rat with high cholesterol diet. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 292(1), 012019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/292/1/012019>
- Okur, M. E., Karantas, I. D., & Siafaka, P. I. (2017). Diabetes mellitus: A review on pathophysiology, current status of oral medications and future perspectives. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 55(1), 61–82. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.0555>
- Ouassou, H., Bouhrim, M., Bencheikh, N., Addi, M., Hano, C., Mekhfi, H., Ziyat, A., Legssyer, A., Aziz, M., & Bnouham, M. (2021). In vitro antioxidant properties, glucose-diffusion effects,  $\alpha$ -amylase inhibitory activity, and antidiabetogenic effects of C. Europaea extracts in experimental animals. *Antioxidants*, 10(11), 1747. <https://doi.org/10.3390/antiox10111747>
- Putri, E. P., Lestari, S. R., & Gofur, A. (2020). The combination of black soybean tempeh and purple sweet potato affect reactive oxygen species and malondialdehyde level in streptozotocin-induced diabetic rats. *Majalah Obat Tradisional*, 25(2), 76. <https://doi.org/10.22146/mot.51544>
- Sari, N., & Wahyuni, A. S. (2018). Effect of black rice bran extract (Black rice bran) to decrease decrease of glucose level in diabetic rats. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 14(1), 8–13. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v14i1.539>
- Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., & Chaiyasut, C. (2020). The influence of supplementation of anthocyanins on obesity-associated comorbidities: A concise review. *Foods*, 9(6), 1–25. <https://doi.org/10.3390/foods9060687>
- Tan, J., Li, Y., Hou, D. X., & Wu, S. (2019). The effects and mechanisms of cyanidin-3-glucoside and its phenolic metabolites in maintaining intestinal integrity. *Antioxidants*, 8(10), 1–16. <https://doi.org/10.3390/antiox8100479>
- Tantipaiboonwong, P., Pintha, K., Chaiwangyen, W., Chewonarin, T., Pangjit, K., Chumphukam, O., Kangwan, N., & Suttajit, M. (2017). Anti-hyperglycaemic and anti-hyperlipidaemic effects of black and red rice in streptozotocin-induced diabetic rats. *ScienceAsia*, 43(5), 281–288. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2017.43.281>
- Utama, L. J., Suryana, S., & Sembiring, A. C. (2021). Effects of mixture powder of black rice (*Oryza sativa* L indica), red beans (*Phaseolus vulgaris* L), and moringa leaves

(*Moringa oleifera* L) on blood glucose concentration in hyperglycemic Rats. *Jurnal Gizi Indonesia*, 9(2), 136–143. <https://doi.org/10.14710/jgi.9.2.136-143>  
Verma, M. K., Jaiswal, A., Sharma, P., Kumar, P., &

Singh, A. N. (2019). Oxidative stress and biomarker of TNF- $\alpha$ , MDA and FRAP in hypertension. *Journal of Medicine and Life*, 12(3), 253–259. <https://doi.org/10.25122/jml-2019-0031>