

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (Hidayah et al., 2023). Pada tahun 2019, jumlah penderita DM di seluruh dunia mencapai sekitar 463 juta orang, dengan angka kematian sebanyak 4,2 juta kasus (Cho et al., 2018). Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation* (IDF), jumlah penderita DM diperkirakan akan meningkat menjadi 578 juta pada tahun 2030 dan terus bertambah hingga mencapai 700 juta kasus pada tahun 2045 (IDF, 2019).

Diabetes terbagi menjadi tiga jenis utama, yaitu diabetes tipe 1 yang dikenal juga sebagai diabetes juvenil atau diabetes yang bergantung pada insulin, diabetes tipe 2 yang tidak bergantung pada insulin, dan diabetes gestasional (Kaur et al., 2021). Dari ketiganya, diabetes tipe 2 merupakan bentuk yang paling sering dijumpai, mencakup sekitar 90% hingga 95% dari seluruh kasus diabetes. Diabetes tipe 2 ditandai oleh resistensi terhadap insulin serta gangguan fungsi sel beta. Pada tahap awal, tubuh mencoba mengimbangi kondisi ini dengan meningkatkan produksi insulin guna menjaga kadar glukosa tetap normal. Namun, seiring waktu, kemampuan sel beta menurun dan tidak lagi mampu menghasilkan insulin dalam jumlah yang cukup untuk menjaga kestabilan glukosa darah, sehingga terjadilah hiperglikemia (Goyal et al., 2023). Diabetes tipe 2 muncul ketika sel β tidak mampu memproduksi insulin dalam jumlah yang memadai untuk memenuhi kebutuhan tubuh, umumnya terjadi akibat meningkatnya resistensi insulin. Kondisi resistensi ini sering kali dipicu oleh akumulasi lemak ektopik di jaringan hati dan otot. Penumpukan lemak juga bisa terjadi di pankreas, yang kemudian memperburuk fungsi sel β , memicu peradangan pada pulau-pulau Langerhans, dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel β (Skyler, 2017).

Penderita diabetes melitus tipe 2 memiliki risiko lebih tinggi mengalami berbagai jenis komplikasi, termasuk gangguan makrovaskular seperti hipertensi, kadar lemak darah tinggi, serangan jantung, penyakit jantung koroner, stroke, gangguan pada pembuluh darah otak, dan penyakit arteri perifer. Selain itu, mereka juga rentan terhadap komplikasi mikrovaskular, seperti kerusakan pada retina (retinopati), ginjal (nefropati), serta saraf (neuropati), bahkan memiliki kecenderungan lebih tinggi terhadap kanker (Wu et al., 2014). Prevalensi DM tipe 2 cenderung meningkat di berbagai wilayah di dunia (Komariah & Rahayu, 2020).

Salah satu pendekatan dalam pengobatan diabetes melitus adalah dengan menghambat penyerapan gula dalam tubuh melalui mekanisme yang melibatkan enzim pencernaan. Enzim pencernaan yang berperan penting dalam proses ini adalah α -amilase (Masoa et al., 2023). Enzim ini diproduksi oleh kelenjar pankreas dan kelenjar ludah, dan berfungsi untuk menguraikan polisakarida yang tidak larut menjadi senyawa yang lebih sederhana dan mudah diserap oleh tubuh, seperti maltosa, dekstrin, dan glukosa (Ariandi, 2016).

Salah satu upaya untuk menekan lonjakan kadar glukosa darah adalah dengan menghambat kerja enzim pencernaan karbohidrat di saluran pencernaan

(Gong et al., 2020). Inhibitor enzim ini berperan dalam memperlambat proses pemecahan karbohidrat, sehingga memperpanjang durasi pencernaan glukosa dan pada akhirnya membantu menurunkan lonjakan glukosa plasma setelah makan (Obloh et al., 2014).

Amilase merupakan enzim yang berperan penting dalam proses pencernaan dan metabolisme karbohidrat pada tubuh manusia. Enzim ini termasuk dalam kelompok enzim pencernaan yang diproduksi oleh pankreas. Meskipun amilase juga ditemukan di dalam duodenum, namun keberadaannya di sana berasal dari sekresi pankreas, karena duodenum berfungsi sebagai tempat bermuaranya getah pankreas (Mahardikaningrum & Yuanita, 2012). Enzim alfa-amilase berfungsi mengkatalisis tahap awal dalam pemecahan pati dengan cara menghidrolisis polisakarida menjadi tiga produk utama, yaitu maltosa, maltotriosa, dan limit dekstrin. Sementara itu, enzim α -glukosidase berperan dalam tahap akhir pencernaan pati dan disakarida. Inhibitor α -amilase bekerja dengan cara berikatan langsung pada beberapa bagian aktif enzim, sehingga mengurangi proses hidrolisis karbohidrat di usus halus. Hal ini berdampak pada penurunan lonjakan kadar glukosa darah setelah makan (Ahmed et al., 2020)

α -amilase merupakan enzim utama yang berperan dalam pemecahan substrat polimer menjadi oligomer yang lebih pendek dengan mengkatalisis pemutusan ikatan -1,4-glukan yang terdapat pada pati, maltodekstrin, dan berbagai karbohidrat sejenis. Penghambat α -amilase yang mampu memperlambat tahap akhir pencernaan karbohidrat dapat menghambat penyerapan glukosa ke dalam aliran darah, sehingga dinilai efektif sebagai strategi pencegahan terhadap hiperglikemia. Meski demikian, penggunaan inhibitor α -amilase sintetis maupun kimiawi dapat menimbulkan sejumlah efek samping, seperti gangguan pada sistem pencernaan berupa perut kembung, diare, dan nyeri perut (Gong et al., 2020).

Enzim α -amilase bekerja melalui dua tahap utama. Pada tahap pertama, amilosa diuraikan dengan cepat menjadi maltosa dan maltotriosa, yang disertai dengan penurunan viskositas secara nyata. Selanjutnya, pada tahap kedua, proses hidrolisis berlangsung secara spesifik, menghasilkan glukosa dan maltosa sebagai produk akhir. Ketika substratnya adalah amilosa, kedua senyawa tersebut terbentuk sebagai hasil reaksi. Namun, apabila enzim ini bekerja pada amilopektin, maka akan dihasilkan glukosa, maltosa, serta berbagai α -limit dekstrin dan oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih unit glukosa, yang terikat melalui ikatan α -1,6-glikosidik (Ariandi, 2016).

STZ (streptozotocin) merupakan agen diabetogenik yang sering digunakan untuk menginduksi diabetes, dan dianggap lebih efektif dibandingkan aloksan karena memiliki rentang dosis yang lebih luas serta mampu mempertahankan kondisi hiperglikemia pada tikus dalam jangka waktu yang lama. Pemberian STZ secara intraperitoneal dilakukan dengan dosis 30 mg/kg berat badan. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan tiga hari setelah penyuntikan STZ (Nuralifah, 2022).

STZ bekerja dengan cara menghasilkan radikal bebas yang merusak sel beta di pankreas, sehingga mengganggu produksi insulin. Zat ini masuk ke dalam sel beta melalui protein pengangkut glukosa tipe 2 (GLUT 2) dan kemudian menyebabkan kerusakan DNA melalui proses yang disebut alkilasi. Proses ini

didahului oleh gangguan pembentukan energi (ATP) di dalam mitokondria akibat radikal bebas yang dihasilkan, peningkatan aktivitas enzim *xanthine oxidase*, serta terhambatnya siklus Krebs, yang semuanya turut memperparah kerusakan sel beta (Munjianti et al., 2021).

Pengobatan penyakit diabetes menjadi masalah utama di bidang kesehatan hingga saat ini. Dikarenakan penggunaan obat antihiperlipidemia oral sintetis yang tersedia dinilai belum sepenuhnya efektif dalam mengendalikan kondisi pasien, bahkan sering menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, diperlukan upaya alternatif dalam pengobatan, salah satunya dengan memanfaatkan tanaman obat tradisional (Malviya et al., 2010). Salah satu tanaman tradisional yang berkhasiat untuk obat adalah pepaya (*Carica papaya L.*).



Gambar 1. Buah Pepaya California

Pepaya merupakan tanaman yang mudah dijumpai di Indonesia. Asalnya dari Meksiko dan Amerika Selatan, lalu menyebar ke berbagai negara beriklim tropis di Afrika dan Asia, termasuk masuk ke Indonesia sekitar abad ke-17 (Oktofani et al., 2019). Menurut (Ismawati, et al. 2019) Taksonomi Pepaya adalah sebagai berikut:

Kingdom: Plantae
 Division: Magnoliophyta
 Subdivision: Spermatophyta
 Class: *Magnoliopsida*
 Order: Brassicales
 Genus: *Carica*
 Species: *Carica Papaya Linn*

Pepaya adalah tanaman yang sudah akrab bagi masyarakat, dan hampir seluruh bagiannya bisa dimanfaatkan—mulai dari akar, daun, bunga, buah, biji, hingga kulitnya (Handayani et al., 2021). Menurut Santi et al. (2021), bagian hasil ekstrak etanol kulit pepaya, didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 13,769 µg/mL, yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Kulit pepaya mengandung berbagai nutrisi penting seperti vitamin A, B1, dan C yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas, serta mineral seperti kalsium, fosfor, kalium, dan zat besi. Selain itu, juga mengandung protein, lemak, karbohidrat (termasuk sukrosa, glukosa, dan fruktosa), serta senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, dan fenol (Santi et al., 2021).

Penelitian sebelumnya oleh Marliani (2015) menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat. Hasil ini juga didukung oleh penelitian Maulira (2016), yang menemukan bahwa kadar glukosa darah mencit menurun setelah diberi ekstrak kulit pepaya, kemungkinan karena kandungan antioksidan di dalamnya. Kulit pepaya mengandung berbagai

senyawa penting seperti asam ferulat, asam p-kumarat, dan asam kafeat, serta karotenoid yang terdiri dari vitamin C, likopen, β kriptosantin, dan β -karoten. Semua kandungan tersebut dikenal memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi (Maulira et al., 2016).

Pepaya juga memiliki efek penghambatan aktivitas enzim α -amilase (Obloh, et al. 2014) pada penelitiannya mengatakan bahwa ekstrak air dari berbagai bagian pepaya memiliki efek penghambatan aktivitas enzim α -amilase, dan efek penghambatan pada bagian kulit buah pepaya dengan nilai IC50 = 0,96 mg/mL, hal ini diduga karena kandungan berbagai senyawa aktif seperti polifenol, flavonoid, dan serat larut yang terdapat dalam ekstrak pepaya (Obloh, et al. 2014). Kulit buah pepaya sebenarnya mengandung nutrisi yang cukup tinggi, namun sering kali hanya dianggap sebagai limbah dan dibuang begitu saja. Jika tidak dimanfaatkan, limbah ini bisa menumpuk dan berpotensi mencemari lingkungan (Paat et al., 2020). Kandungan nilai gizi dalam kulit pepaya matang adalah protein 3.5%, serat 26.2%, lemak 3.05%, kadar abu 15.03%, karbohidrat 52.2% (Akintunde, et al. 2022). Penelitian lain menunjukkan bahwa kandungan serat kasar kulit buah pepaya yaitu berkisar 11,81%-26,31% (Pavithra, et al. 2017). Salah satu cara untuk mengurangi limbah kulit buah pepaya yaitu dengan mengolahnya menjadi bahan makanan seperti pembuatan nata dengan bantuan bakteri *Acetobacter xylinum*.

Nata adalah jenis makanan berbentuk gel dengan tekstur kenyal, padat, berwarna putih, dan agak transparan. Makanan ini kaya akan selulosa, tidak mengandung kolesterol, dan rendah lemak, sehingga termasuk dalam kelompok serat pangan atau dietary fiber (Putri et al., 2021). Nata terbentuk dari selulosa yang diproduksi oleh bakteri *Acetobacter xylinum* melalui proses fermentasi, dan dikenal sebagai makanan sehat yang tinggi serat (Anam et al., 2019). Sebagai sumber serat, nata mengandung sekitar 2,5% selulosa dan lebih dari 95% air. Selain itu, nata juga mengandung serat kasar sebesar 2,75%, protein antara 1,5 2,8%, lemak sekitar 0,35%, dan sisanya terdiri dari air (Hamad et al., 2017).

Serat pangan adalah bagian dari tumbuhan yang bisa dimakan, namun tidak dapat dicerna atau diserap oleh usus halus manusia, dan akan difermentasi di usus besar (Masoa et al., 2023). Sumber serat ini bisa berasal dari buah-buahan, sayuran, maupun kacang-kacangan (Mahardikaningrum & Yuanita, 2012). Berdasarkan sifat kelarutannya, serat pangan dibagi menjadi dua jenis, yaitu serat larut air (seperti pektin dan gum) dan serat tidak larut air (seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin). (Loway, et al. 2023). Serat makanan berperan penting dalam pencegahan, pengurangan, dan pengobatan penyakit kronis seperti diabetes, obesitas, penyakit kardiovaskular, dan gangguan gastrointestinal (Liu et al., 2017). Menurut (Mogos, et al. 2017), rekomendasi asupan serat dalam diet diabetes yaitu 35–40- gram.

Serat pangan dapat membantu menurunkan kadar gula darah dengan cara menghambat penyerapan glukosa ke dalam aliran darah (Yuniastuti et al., 2018). Menurut Wang et al. (2021), baik serat larut maupun tidak larut dari buah kiwi dapat menghambat kerja enzim α -amilase. Namun, serat larut cenderung memiliki efek penghambatan yang lebih kuat dibandingkan dengan serat yang tidak larut. Peneliti lainnya juga menyatakan bahwa serat larut dalam ekstrak alga *Eucheuma spinosum* berpotensi dalam menghambat enzim α -amilase. (Masoa, et al. 2023) Mekanisme

serat dalam penghambatan enzim α -amilase diduga terjadi peningkatan viskositas akibat adanya serat larut dalam lumen usus juga dapat menghambat aktivitas α -amilase, dimana viskositas yang tinggi membuat enzim lebih sulit untuk berinteraksi dengan substratnya, sehingga mengurangi efisiensi hidrolisis pati (Masoa, et al. 2023)

Tikus merupakan salah satu hewan yang paling sering digunakan dalam penelitian biomedis. Hal ini karena tikus memiliki beberapa keunggulan, seperti masa kehamilan yang singkat, umur yang tidak terlalu panjang, jinak, serta memiliki riwayat kesehatan dan genetik yang sudah diketahui dengan baik. Selain itu, ukuran tubuhnya cukup besar untuk memudahkan prosedur seperti pembedahan atau transplantasi organ. Jenis tikus laboratorium yang umum digunakan adalah *Rattus norvegicus*, yang termasuk dalam ordo Rodentia dan famili Muridae (Husna et al., 2019).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk menghasilkan produk nata dari kulit buah pepaya dan meningkatkan nilai kegunaanya sebagai makanan yang sehat dan mengandung serat yang berpotensi dalam pencegahan dan pengelolaan diabetes mellitus tipe 2.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian nata kulit pepaya terhadap aktivitas enzim α -amilase dan kadar gula darah tikus serta histopatologi pankreas tikus hiperglikemik ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh pemberian nata kulit pepaya terhadap aktivitas enzim α -amilase dan kadar gula darah serta histopatologi pankreas tikus hiperglikemik

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Mengetahui pengaruh pemberian Nata kulit pepaya terhadap aktivitas enzim α -amilase usus halus tikus hiperglikemik
- 1.3.2.2 Melihat pengaruh pemberian Nata kulit pepaya terhadap kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemik
- 1.3.2.3 Mengetahui pengaruh pemberian Nata kulit pepaya terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus hiperglikemik

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

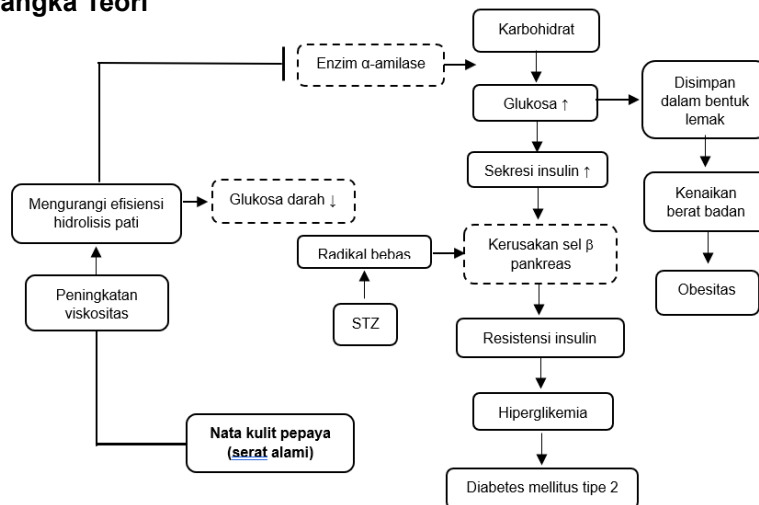
Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan menambah ilmu pengetahuan kepada masyarakat terkait pengaruh pemberian nata kulit pepaya terhadap aktivitas enzim α -amilase dan kadar glukosa darah serta histopatologi pankreas tikus hiperglikemik.

1.4.2 Manfaat Praktis

1.4.2.1 Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi dasar pemanfaatan dari nata kulit pepaya sebagai terapi pengobatan diabetes mellitus

1.4.2.2 Dapat mengurangi pencemaran lingkungan dari kurangnya pemanfaatan limbah kulit pepaya.

1.5 Kerangka Teori

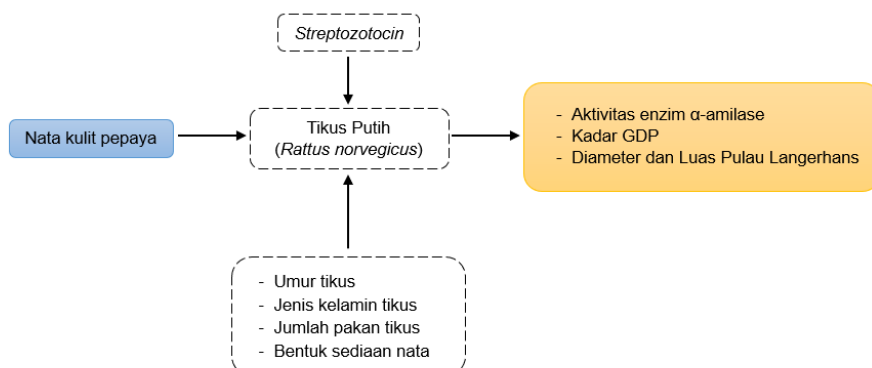


Keterangan:

- = variabel yang diteliti
- = variabel yang tidak diteliti
- = memicu
- = menghambat

Gambar 2. Kerangka Teori

1.6 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

1.7 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Makin tinggi pemberian konsentrasi Nata kulit pepaya makin tinggi pengurangan hisrolisis pati menjadi gula pada tikus hiperglikemik
2. Makin tinggi pemberian konsentrasi Nata kulit pepaya makin rendah kadar glukosa darah tikus hiperglikemik
3. Makin tinggi pemberian konsentrasi Nata kulit pepaya makin memperbaiki histopatologi pankreas tikus hiperglikemik

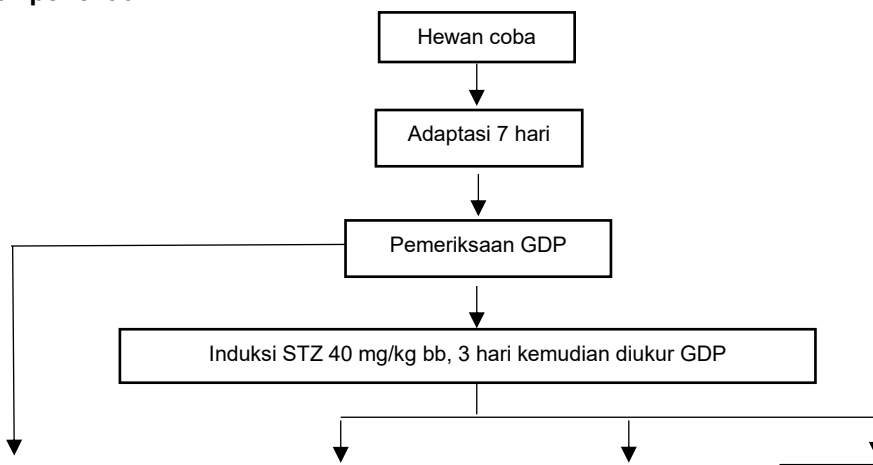
1.8. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Parameter	Definisi Operasional	Skala ukur
Variabel bebas	Nata kulit pepaya	Nata kulit pepaya yang digunakan dibuat dari bahan baku kulit pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dengan penambahan starter <i>Acetobacter xylinum</i> yang difermentasi selama 14 hari, kemudian dihaluskan dan dibuatkan dosis untuk perlakuan sebesar 0,5 gram, 0,6 gram, 0,7 gram	Nominal
	Induksi streptozotocin	Streptozotocin (STZ) merupakan zat kimia yang digunakan untuk menginduksi hewan coba menjadi DM. Dosis pemberian STZ sebesar 40 mg/kg BB tikus yang dilakukan pada hari kedelapan	
	Kontrol positif	Selulosa dengan dosis 0,6 gram/BB tikus/hari	Nominal

	Kontrol negatif	Aquades sebanyak 2 ml	Nominal
Variabel terikat	Pengukuran aktivitas enzim α -amilase	Satu unit aktivitas α -amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas 1 μ mol maltosa/ menit Aktivitas enzim α -amilase dapat dihitung dengan rumus Aktivitas enzim $\frac{U}{mL} = \frac{[Maltosa]}{BM} \times fp \times \frac{v}{t}$	Rasio
	Pemeriksaan histopatologi pankreas tikus	Pemeriksaan histopatologi pankreas dilakukan dengan proses parafin blok serta menggunakan pewarnaan HE	Rasio
	Pemeriksaan GDP	Pemeriksaan yang dilakukan dengan cara pengambilan sampel darah plasma tikus yang telah dipuasakan 16 jam sebelum pengambilan darah. Pengukuran glukosa darah puasa (GDP) dilakukan dari pembuluh darah ekor (vena lateralis) menggunakan glukometer glucoDR Biosensor. Tikus dinyatakan diabetes apabila glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL	Rasio

1.9 Alur penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

BAB II

METODELOGI PENELITIAN

2.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

2.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan bulan Oktober – Januari 2025

2.1.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di:

2.1.2.1 Pembuatan nata kulit pepaya dilakukan di Laboratorium BM Patch LPPM Universitas Hasanuddin.

- 2.1.2.2 Pemeliharaan, pemberian perlakuan kepada hewan coba dan pemeriksaan GDP dilakukan di Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
- 2.1.2.3 Pemeriksaan aktivitas enzim α -amilase dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.
- 2.1.2.4 Pemeriksaan histopatologi organ pankreas tikus dilakukan di Laboratorium PA Rumah Sakit Universitas Hasanuddin

2.2 Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah *true eksperimental* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dari rancangan tersebut terdapat 6 kelompok perlakuan. Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak empat kali yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian nata kulit pepaya terhadap aktivitas enzim α -amilase, kadar gula darah dan histopatologi pankreas tikus hiperglikemik.

Adapun rancangan penelitian sebagai berikut:

- KN : Kelompok kontrol normal yaitu tikus diberi pakan standar dan air aquades
- K- : Kelompok kontrol positif induksi STZ + pakan standar + selulosa 0.6 gram
- K+ : Kelompok kontrol negatif induksi STZ + pakan standar + aquades 2 ml
- NKP1 : Perlakuan dosis 1 induksi STZ + pakan standar + Nata kulit pepaya 0.5 gram
- NKP2 : Perlakuan dosis 2 induksi STZ + pakan standar + Nata kulit pepaya 0.6 gram
- NKP3 : Perlakuan dosis 3 induksi STZ + pakan standar + Nata kulit pepaya 0.7 gram

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

2.3.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan sebagai berikut:

2.3.1.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus sehat (mata jernih, bulu mengkilat, gerakan aktif lincah, feses baik/tidak lembek, berat badan tidak turun dari 10% selama masa aklimatisasi)
- b. Berat badan 200 gram
- c. Usia 6-8 minggu
- d. Jenis kelamin jantan
- e. Selama perlakuan tikus dalam keadaan hidup

2.3.1.2 Kriteria Eksklusi

- a. 2.4.2.1 Tikus sakit selama penelitian berlangsung
- b. 2.4.2.2 Tikus yang mati selama penelitian berlangsung

2.3.3 Sampel Penelitian

Penentuan sampel dilakukan dengan membagi ke dalam 6 kelompok perlakuan. Penentuan besar sampel dengan menggunakan rumus frederer:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

Dimana: t = banyaknya kelompok perlakuan

n = jumlah sampel per kelompok perlakuan

$$(n-1) (6-1) \geq 15$$

$$(n-1) (5) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n = 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka dengan adanya 6 kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan sebanyak 4 kali dalam setiap kelompok, sehingga dibutuhkan 24 ekor tikus hewan coba. Masing-masing kelompok ditambah 1 hewan coba sebagai cadangan apabila tikus mati di tengah perjalanan. Sehingga total tikus yang dibutuhkan pada penelitian ini yaitu 30 ekor.

2.4 Alat dan Bahan Penelitian

2.4.1 Untuk Pembuatan Nata kulit Pepaya

Alat yang digunakan untuk membuat Nata kulit pepaya adalah autoklaf, blender, kompor, panci, neraca analitik, pisau, baskom, gelas ukur, botol media, saringan, karet gelang, spuit, kertas pH, kertas HVS, dan tissue. Bahan yang digunakan dalam pembuatan Nata de Papaya adalah kulit buah pepaya, air, starter nata, gula, asam asetat, dan ZA food grade.

2.4.2 Untuk Pengujian Nata Kulit Pepaya pada Tikus

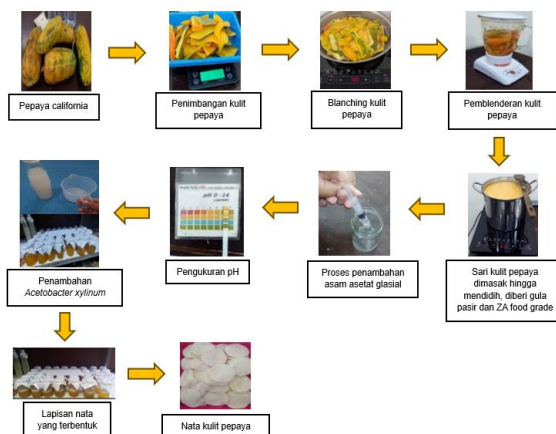
Alat yang digunakan untuk pengujian nata kulit pepaya pada tikus adalah alat bedah, sentrifuge, inkubator, mikropipet, vortex. Bahan yang digunakan untuk pengujian nata kulit pepaya pada tikus adalah tissue, usus halus tikus, blue tip, tabung eppendorf 50 ml, botol vial berwarna gelap, aquades, buffer Tris-HCl dingin pH 7, reagen DNS, buffer fosfat 0,2 M pH 7, heksana, HCl 6N.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pembuatan Nata Kulit Pepaya

Buah pepaya dipilih dengan jenis pepaya California. Kondisi buah dengan kulit yang bersih dan tanpa jamur atau tidak terserang hama. Buah pepaya diperoleh dari pasar Tidung, Kecamatan Rappocini, Kota Makassar. Buah pepaya kemudian dikupas dan kulitnya diambil. Irisan kulit pepaya diambil sebanyak 350 gram kemudian dilakukan proses *blanching* yang bertujuan untuk mensterilkan kulit buah pepaya dari kontaminan. Proses *blanching* dilakukan dengan cara merebus kulit pepaya sekitar 15 menit hingga mendidih, kemudian kulit pepaya diangkat dan disiram dengan air dingin. Setelah itu, kulit pepaya diblender dengan air sebanyak 1 liter. Kemudian disaring sehingga diperoleh sari kulit pepaya. Sari kulit pepaya ditambahkan gula sebanyak 30 gram dan ZA food grade sebanyak 7 gram, lalu dimasak hingga mendidih. Setelah mendidih, ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 1 ml. Penambahan asam asetat glasial adalah untuk mendapatkan kondisi asam (pH 4). pH campuran sari kulit pepaya dipastikan dengan melakukan pemeriksaan menggunakan kertas pH. Ketika didapatkan pH 4 maka selanjutnya campuran tersebut dimasukkan ke dalam botol media steril masing-masing 200 ml.

Botol media ditutup dengan kertas HVS yang sudah disterilkan dan diikat dengan karet untuk mencegah masuknya udara. Setelah dingin, maka starter nata (*Acetobacter xylinum*) ditambahkan ke dalam campuran sari kulit pepaya tersebut sebanyak 20 ml pada setiap botol media. Selanjutnya botol ditutup Kembali dan pastikan tidak tergoyang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 8 hari.



Gambar 5. Alur Pembuatan Nata Kulit Pepaya

2.5.2 Pembuatan Larutan Nata Kulit Pepaya

Nata kulit pepaya yang terbentuk kemudian dipisahkan dari air media hasil fermentasi. Setelah itu dicuci lalu dibersihkan dengan air mengalir. Kemudian disimpan dalam lemari es sampai tiba waktunya eksperimen hewan percobaan. Ketika ingin diujicobakan maka dicuci kembali, lalu dihaluskan dengan blender. Nata kulit pepaya ditimbang berdasarkan dosis yang telah ditentukan, lalu diberikan secara oral kepada tikus. Hal ini dilakukan untuk memudahkan pemberian Nata kulit pepaya secara oral dengan sonde.

2.5.3 Penentuan dosis

2.5.3.1 Dosis selulosa

Dosis pemberian selulosa merujuk pada (Mogos, et al. 2017; Nishida, et al. 2004) sebanyak 35 gram, kemudian dikonversikan dosis ke tikus menjadi: $35 \text{ g} \times 0.018 = 0.63$, dibulatkan menjadi 0.6 gram/hari.

2.5.3.2 Dosis nata kulit pepaya

Dosis yang diberikan berdasarkan dosis anjuran serat pada manusia yaitu 27 gram, 35 gram, dan 40 gram (Nishida et al. 2004, Mogos, et al. 2017). Kemudian dikonversikan ke dosis tikus sehingga dosis yang digunakan yaitu 0.5 gram, 0.6 gram, dan 0.7 gram per hari.

2.5.4 Induksi STZ untuk diabetes mellitus

Sebelum dilakukan induksi dengan Streptozotocin (STZ), tikus terlebih dahulu dipuasakan selama 16 jam. Larutan STZ untuk menginduksi diabetes melitus disiapkan dengan melarutkan 100 mg STZ ke dalam 10 ml buffer sitrat yang terdiri dari 50 mmol sodium sitrat dengan pH 4. Pemberian STZ dilakukan melalui injeksi intraperitoneal, dengan dosis yang disesuaikan berdasarkan berat badan masing-masing tikus, yaitu sebesar 45 mg per kilogram berat badan (Nurdiana, 1998). Induksi diabetes melitus dilakukan satu kali melalui injeksi tersebut.

2.5.5 Pengukuran gula darah puasa tikus

Pengukuran kadar glukosa darah puasa (GDP) pada tikus dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu sebelum dilakukan induksi dengan STZ, tiga hari setelah induksi, serta setelah pemberian nata dari kulit pepaya. Pemeriksaan GDP dilakukan melalui pengambilan darah dari vena lateralis pada ekor tikus menggunakan alat glukometer glucoDR Biosensor. Tikus dikategorikan mengalami diabetes apabila kadar glukosa darah puasa mencapai atau melebihi 126 mg/dL (Firdaus et al., 2016).

2.5.6 Pembuatan ekstrak usus halus

Pada akhir perlakuan, tepatnya pada minggu keempat, tikus dianestesi menggunakan ketamin sebelum dilakukan pembedahan untuk mengambil seluruh bagian usus halus. Usus tersebut kemudian dibelah secara longitudinal dan dibersihkan dengan aquades, lalu dipotong menjadi dua bagian. Selanjutnya, ditambahkan buffer Tris-HCl dingin dengan konsentrasi 50 mM dan pH 7. Campuran tersebut dihomogenisasi dan dimasukkan ke dalam tabung untuk kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Cairan supernatan yang dihasilkan disimpan di dalam lemari pendingin. Supernatan ini merupakan ekstrak kasar enzim yang selanjutnya digunakan untuk analisis aktivitas enzim α -amilase (Yuanita & Maulidah, 2022)

2.5.7 Pengukuran aktivitas enzim α -amilase

Penentuan aktivitas enzim amilase dilakukan dengan mencampurkan 0,5 ml ekstrak kasar enzim dengan 0,5 ml substrat berupa larutan pati 1% yang telah dilarutkan dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7. Setelah itu, ditambahkan 2 ml reagen DNS dan campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 40°C. Campuran kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Setelah proses pemanasan, larutan didinginkan dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 508 nm. Kadar gula pereduksi dalam sampel ditentukan dengan menggunakan kurva standar maltosa. Satu unit aktivitas enzim α -amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mampu melepaskan 1 mikromol maltosa per menit. Nilai kadar gula pereduksi dalam sampel diperoleh melalui perbandingan dengan kurva standar maltosa, dan aktivitas enzim α -amilase dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas enzim } \frac{U}{mL} = \frac{[Maltosa]}{BM} \times fp \times \frac{v}{t}$$

2.5.8 Pengamatan histopatologi organ pankreas tikus

Setelah 4 minggu perlakuan pada tikus, kemudian dibedah dan diambil organ pankreas untuk dibuat preparat histologi. Pembuatan preparat histopatologi dibuat sesuai prosedur yaitu pewarnaan dengan metode Harris hematoksilin-eosin (HE).

2.6 Analisis Data

Analisa data hasil pemeriksaan glukosa darah puasa, aktivitas enzim α -amilase dan data preparat histopatologi pankreas yang terkumpul diolah melalui analisis statistik menggunakan program GraphPad Prism versi 10. Analisis data yang digunakan adalah uji statistik dilakukan dengan uji one way ANOVA atau uji Kruskal-Wallis.

2.7 Izin Penelitian dan Kelayakan Etik

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin (RSPTN UH) – RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, Makassar, dengan Nomor Surat 1069/UN4.6.4.5.31/PP36/2024 dan nomor protocol UH24110968.