

Intervensi Bubuk Kakao terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Diabetes Melitus

Adhiningsih Yulianti^{1*}, Arisanty Nur Setia Restuti², Novita Nuraini³

^{1,2}Program Studi Gizi Klinik, Jurusan Kesehatan, Politeknik Negeri Jember, Jember, Indonesia

³Program Studi Manajemen Informasi Kesehatan, Jurusan Kesehatan, Politeknik Negeri Jember, Jember, Indonesia

*Korespondensi: adhiningsih@polije.ac.id

Abstrak

Diabetes melitus (DM) merupakan kelainan metabolisme persisten yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah akibat defisiensi insulin (sekresi dan/atau sintesis) dan respon insulin yang abnormal. Gangguan regulasi glukosa pada jaringan endokrin dapat mengganggu metabolisme dan transportasi karbohidrat, protein dan lemak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui intervensi bubuk kakao terhadap kadar kolesterol total tikus putih diabetes melitus. Jenis penelitian adalah eksperimental dengan desain *pretest-posttest control group design*. Sebanyak 9 tikus putih *Sprague dawley* sebagai sampel penelitian yang diperoleh dari LPPT 4 Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Tikus putih dibagi dalam 3 kelompok eksperimental (kelompok kontrol, kelompok diabetes, dan kelompok perlakuan). Kelompok kontrol diinjeksi intraperitoneal dengan fosfat buffer saline (PBS), kelompok diabetes diinjeksi intraperitoneal dengan STZ *single low dose* (30 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan diinjeksi intraperitoneal dengan STZ *single low dose* (30 mg/kgBB) dan diintervensi bubuk kakao. Pemeriksaan kadar kolesterol total dianalisis dengan metode CHOD-PAP. Data dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar kolesterol total *pretest* ($p=0,919$), *posttest* ($p=0,371$), dan selisih *pretest* dan *posttest* ($p=0,207$) antar kelompok. Intervensi bubuk kakao tidak dapat menurunkan kadar kolesterol total pada tikus putih diabetes melitus.

Kata Kunci: bubuk kakao, kolesterol total, diabetes melitus

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a persistent metabolic disorder characterized by increased blood glucose levels due to insulin deficiency (secretion and/or synthesis) and abnormal insulin response. Impaired regulation of glucose in endocrine tissues can interfere with the metabolism and transportation of carbohydrates, proteins and fats. This study aims to determine the potential of cocoa powder to decrease total cholesterol in diabetic mellitus rats. This research is experimental design with pretest-posttest control group design. A total of 9 white mice as the study sample were obtained from LPPT 4, Gadjah Mada University, Yogyakarta. White Sprague dawley rats were divided into 3 experimental groups (control, diabetes, and treatment). The control group was injected intraperitoneally with phosphat buffer saline (PBS), the diabetes group and the treatment group was injected intraperitoneally with a single low dose STZ (30 mg / kgBB), but the treatment group also intervened with cocoa powder. Total cholesterol level was analyzed by the CHOD-PAP method. Data were analyzed using One Way ANOVA. There was no significant difference between total cholesterol levels of pretest ($p = 0.919$), posttest ($p = 0.371$), and the difference between pretest and posttest ($p = 0.207$) between groups. The intervention of cocoa powder cannot reduce total cholesterol levels in diabetic mellitus rats.

Key words: Cacao powder, total cholesterol, diabetes mellitus.

I. PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan kelainan metabolisme persisten yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah akibat defisiensi insulin (sekresi dan/atau sintesis) dan respon insulin yang abnormal¹. Gangguan regulasi glukosa berkaitan dengan perubahan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak². Hiperlipidemia pada diabetes melitus ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, fosfolipid, dan perubahan lipoprotein^{1,3}. Diabetes melitus dan dislipidemia berhubungan dengan manifestasi klinik risiko terjadinya penyakit kardiovaskular⁴. Risiko morbiditas dan mortalitas meningkat akibat komplikasi vaskular pada pasien diabetes melitus berkaitan dengan faktor genetik, peningkatan kadar glukosa darah, hipertensi, obesitas, stres oksidatif, kelainan lipid darah, dan merokok².

Stres oksidatif berkontribusi terhadap patogenesis diabetes melitus dan memperburuk patologi dan komplikasi dengan mengganggu jalur regulasi yang terlibat dalam resistensi insulin dan disfungsi sel β pankreas⁵. Gangguan hemostasis metabolisme menyebabkan redistribusi lemak tubuh dari deposit subkutan ke lemak visceral sehingga terjadi penumpukan lemak akibat resistensi insulin¹. Suplemen antioksidan mempunyai potensi untuk melawan kondisi yang terkait dengan stres oksidatif dengan menangkalkan radikal bebas⁵.

Indonesia merupakan salah satu negara produsen kakao di dunia yang berada di urutan ketiga terbesar setelah Pantai Gading dan Ghana, dengan produksi sebesar 13% dari produksi kakao dunia. Adapun produksi Pantai Gading dan Ghana masing-masing adalah 39% dan 19%⁶. Biji kakao mempunyai kandungan senyawa polifenol yang terdiri atas 37 % monomer flavanol (epikatekin dan katekin), 4 % antosianin dan 58% polimer flavanol proisianidin⁷. Senyawa polifenol yang terkandung dalam bubuk kakao merupakan antioksidan yang sangat penting dalam menyehatkan tubuh manusia⁸. Senyawa polifenol tersebut mempunyai peran sebagai antioksidan, anti kanker, anti diabetes, anti hipertensi, anti inflamansi, menghilangkan stres, mencegah karies gigi, memperbaiki kemampuan kognitif, meningkatkan resistensi terhadap hemolisis, dan menyehatkan jantung⁹.

Antioksidan yang dimiliki biji kakao sangat aktif dalam melindungi sel tubuh dari serangan radikal bebas dan mudah diserap tubuh. Nilai ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) bubuk kakao paling tinggi (80,933) dibandingkan berbagai jenis makanan dan minuman yang lain, sehingga bubuk kakao mempunyai kemampuan paling tinggi dalam menangkalkan atau menghentikan kerusakan organ tubuh akibat radikal bebas. Antioksidan yang ada didalam kakao seperti flavonoid dan polifenol mempunyai efek protektif dari peningkatan radikal bebas pada penyakit degeneratif⁷. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi bubuk kakao terhadap kadar kolesterol total tikus putih diabetes melitus.

II. METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *pretest-posttest control group design*. Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan *Sprague dawley*. Jumlah sampel penelitian ini adalah 9 ekor tikus. Kriteria inklusi terdiri dari tikus putih jantan umur 3-4 bulan, berat badan 200-300 gram, dan gerak aktif. Kriteria eksklusi bila tikus mati pada saat penelitian. Hewan coba tikus putih didapatkan dari Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu 4 (LPPT 4) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pemeliharaan tikus putih dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pemeriksaan kadar kolesterol total tikus

putih dilakukan di Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember menggunakan metode CHOD-PAP.

Streptozotocin (STZ) dilarutkan dalam fosfat buffer saline (PBS) 0,1 M dengan pH 4.5. Induksi STZ diberikan dengan *single low dose* (30 mg/kgbb) secara intraperitoneal. Komposisi pakan standard (Rat Bio) terdiri dari karbohidrat (60%), protein (20%), lemak (4%), serat (4%), kalsium (12%), dan fosfor (0.7%)¹⁰. Pakan modifikasi terdiri atas pakan Rat Bio (50%), tepung terigu (25%), otak sapi (2%), dan minyak babi (5%)¹¹. Pemeriksaan berat badan tikus dengan timbangan digital dan dilakukan tiap minggu. Bahan perlakuan untuk intervensi adalah bubuk kakao murni didapatkan dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (*Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute / ICCRI*) yang ada di Kabupaten Jember Propinsi Jawa Timur. Dosis bubuk kakao yang diberikan pada tikus adalah 0,4 gram/ ekor/ hari selama 2 minggu¹⁰.

Tikus putih dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok diabetes, dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol merupakan tikus putih normal yang diberikan pakan standard (Rat Bio), diinjeksi *phosphat buffer saline* (PBS), dan air minum ad libitum. Kelompok diabetes merupakan tikus putih yang diinduksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/kgbb, diberikan pakan modifikasi dan air minum ad libitum. Kelompok perlakuan merupakan tikus putih diabetes yang diintervensi bubuk kakao, pakan modifikasi dan air minum ad libitum.

Tikus putih jantan dilakukan aklimatisasi selama 7 hari dan diberikan pakan standard (Rat Bio). Kelompok tikus kontrol diberikan pakan standard (Rat Bio), sedangkan kelompok diabetes dan kelompok perlakuan diberikan pakan modifikasi selama 5 minggu. Semua kelompok tikus dipuasakan semalam dan diambil sampel darah melalui sinus orbitalis, darah ditampung dalam tabung endorf, dan dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total awal.

Kelompok tikus kontrol diinjeksi PBS. Kelompok tikus diabetes dan kelompok perlakuan diinduksi STZ *single dose* 30 mg/kgBB secara intraperitoneal, kemudian diberikan dextrosa 10% selama semalam. Pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan 3 hari setelah induksi STZ dengan metode GOD-PAP untuk memastikan tikus dalam keadaan diabetes. Kelompok tikus perlakuan diintervensi bubuk kakao selama 2 minggu. Setelah intervensi bubuk kakao, maka tikus dipuasakan semalam dan diambil darahnya untuk pemeriksaan kadar kolesterol total akhir.

Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total tikus dianalisis secara deskriptif untuk mendapatkan nilai rerata dan simpangan baku untuk masing-masing kelompok. Analisis perbedaan rerata kolesterol total antar kelompok menggunakan uji *One Way ANOVA*. Penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Negeri Jember.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

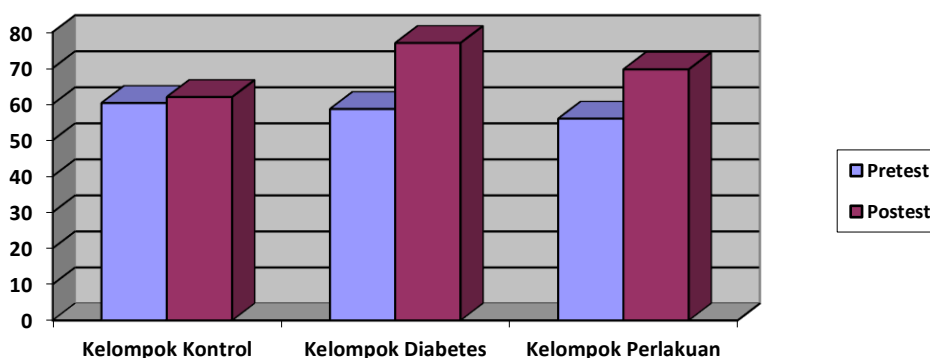
Rerata kadar kolesterol total tikus *pretest* kelompok kontrol ($60,33 \pm 5,13$ mg/dl), kelompok diabetes ($58,67 \pm 21,45$ mg/dl) dan kelompok perlakuan (56 ± 4 mg/dl). Rerata kadar kolesterol total *posttest* kelompok kontrol ($62 \pm 7,55$ mg/dl), kelompok diabetes ($77 \pm 18,74$ mg/dl) dan kelompok perlakuan ($69,67 \pm 4,72$ mg/dl). Menurut Kusumawati (2016), kadar kolesterol total tikus normal adalah 10-54 mg/dl. Rerata selisih kadar kolesterol total *pretest* dan *posttest* pada kelompok kontrol ($2,6 \pm 5,8$ mg/dl), kelompok diabetes ($18,3 \pm 17,6$ mg/dl) dan kelompok perlakuan ($13,6 \pm 3,2$ mg/dl).

Uji normalitas kadar kolesterol total tikus *pretest*, *posttest* dan selisih *pretest* dan *posttest* menunjukkan data berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan analisis *One Way ANOVA*. Hasil Uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara

kadar kolesterol total *pretest* ($p=0,919$), *posttest* ($p=0,371$), dan selisih *pretest* dan *posttest* ($p=0,207$) antar kelompok.

Tabel 1. Kadar Kolesterol Total Tikus

Kadar kolesterol total (mg/dl)	Kelompok			p*
	Kontrol	Diabetes	Perlakuan	
<i>Pretest</i>	60,33±5,13	58,67±21,45	56±4	0,919
<i>Posttest</i>	62±7,55	77±18,74	69,67±4,72	0,371
Selisih	2,6±5,8	18,3±17,6	13,6±3,2	0,207



Gambar 1. Kadar Kolesterol Total antar Kelompok

Pakan modifikasi yang digunakan untuk menginduksi dislipidemia pada tikus berupa Rat Bio (50%), tepung terigu (25%), kolesterol (2%), dan minyak babi (5%). Keadaan hiperkolesterolemik ditandai dengan kenaikan kadar kolesterol darah diatas normal. Kadar kolesterol darah tikus normal adalah 10-54 mg/dl¹². Pada tahap pretest rerata kadar kolesterol total tikus dalam keadaan hiperkolesterolemia, hal ini dikarenakan penempatan tikus dalam kandang satu ekor tikus, kemungkinan dapat menyebabkan stres karena tikus harus beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Faktor stres pada hewan coba dapat disebabkan tindakan yang dilakukan saat penelitian seperti cara pemegangan, pengambilan darah, pengukuran berat badan, proses penyondean, pengandangan individu, dan pembersihan kandang. Pada kelompok kontrol, tikus hanya diberikan pakan standard (Rat Bio) sehingga kadar kolesterol total hampir sama pada saat pretest. Kadar kolesterol total pada kelompok perlakuan menurun dikarenakan tikus diberikan intervensi bubuk kakao 0,4 gram per hari. Intervensi bubuk kakao tidak mampu menurunkan kadar kolesterol total darah tikus secara signifikan, sehingga pemberian bubuk kakao 0,4 gr per hari selama 14 hari tidak dapat menurunkan kadar kolesterol total secara signifikan.

Pada kelompok kontrol yang diberikan pakan standard (Rat Bio), dari awal hingga akhir perlakuan, pada hari ke-14 mengalami peningkatan kadar kolesterol total dan pada akhir penelitian terjadi kenaikan sebesar 2,7%. Pada kelompok diabetes yang diberikan pakan modifikasi diet terjadi peningkatan kadar kolesterol total 31,2%. Begitu juga pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan kadar kolesterol total 24,4%. Ekstrak biji kakao memiliki efek hipolipidemik. Kandungan flavonoid yang cukup tinggi pada biji kakao mampu menurunkan kadar kolesterol

total, trigliserida, LDL dan meningkatkan HDL. Antioksidan *flavanols* yang terdapat pada ekstrak biji kakao bekerja di membran sel dengan menangkap radikal bebas yang terbentuk di membran sel. Mekanisme kerja *flavanols* pada membran sel menetralkan radikal bebas asam lemak tidak jenuh (*peroxyl polyunsaturated fatty acid*) atau PUFA-OO pada membran *phospholipid* sel dan mengubahnya menjadi *hydroperoxy polyunsaturated fatty acid* (PUFA-OOH) yang tidak lagi bersifat radikal bebas, sehingga oksidasi lipid membran sel menurun^{13,14}.

Hasil penelitian ini menyatakan bahwa pemberian bubuk kakao pada tikus diabetes melitus tidak dapat menurunkan kadar kolesterol total tikus putih diabetes melitus secara signifikan. Hal ini dimungkinkan karena dosis yang diberikan kurang tepat dan waktu pemberian bubuk kakao belum optimal sehingga belum memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total.

IV. KESIMPULAN

Intervensi bubuk kakao tidak dapat menurunkan kadar kolesterol total pada tikus putih diabetes melitus selama 2 minggu. Penelitian selanjutnya perlu dipertimbangkan intervensi bubuk kakao dengan dosis dan durasi yang berbeda sehingga dapat diketahui dosis dan waktu yang optimal agar dapat menurunkan kadar kolesterol total.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Pusat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (P3M) Politeknik Negeri Jember yang telah bersedia mendanai program penelitian sumber dana Penerimaan Negara Bukan Pajak (PNBP).

DAFTAR PUSTAKA

1. Xu, S., Chen, Y., and Gong, Y. 2024. Improvement of Theaflavins on Glucose and Lipid Metabolism in Diabetes Melitus. *Foods* [serial on the Internet]. June 2024 [cited 2024 Juli 12]; 13: 1763. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/11/1763/>.
2. Dilworth, L., Facey, A., and Omoruyi, F. 2021. Diabetes Mellitus and Its Metabolic Complications: The Role of Adipose Tissues. *International Journal of Molecular Sciences* [serial on the Internet]. July 2021 [cited 2024 Juli 12]; 22 (14): 7644. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7644>.
3. Oktaviana, E., Nadrati, B., and Fitriani, A. 2022. Analysis of the Relationship of Blood Glucose Levels with Total Cholesterol and Age of Diabetes Mellitus Patients. *International Journal of Nursing and Health Services (IJNHS)* [serial on the Internet]. April 2022 [cited 2024 Juli 12]; 5 (2): 195-202. Available from: <https://ijnhs.net>.
4. Parhofer, K.G. Interaction between Glucose and Lipid Metabolism: More than Diabetic Dyslipidemia. *Diabetes Metabolism Journal* [serial on the Internet]. Oct 2015 [cited 2024 Jun 12]; 39 (5): 353–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4641964/#:~:text=Glucose%20and%20lipid%20metabolism%20are,of%20small%2Ddense%20LDL%20particles>
5. Fatima, MT., Bhat, AA., Nisar, S., Fakhro, KA., and Akil, ASA. 2023. The Role of Dietary Antioxidants in Type 2 Diabetes and Neurodegenerative Disorders: An assessment of the Benefit Profile. *Heliyon* [serial on the Internet]. December 2023 [cited 2024 July 12]; 9: 1-24. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12698>

6. ICCO. 2012. International Cocoa Organization Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XXXVIII, No. 4, Cocoa year 2011/2012. <http://www.icco.org/>. [5 Juni 2017]
7. Mulato, S., dan E. Suharyanto. 2014. Kakao, Cokelat dan Kesehatan. Cetakan-2. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.
8. Crozier, S.J., A.G. Preston, J.W. Hurst, M.J. Payne, J. Mann, L. Hainly and D.L. Miller. Cocoa seeds are a “Super Fruit” : A comparative analysis of various fruit powders and products. Chemistry Central Journal [serial on the Internet]. Jul 2011 [cited 2023 Jun 15]; 5 (5): 1-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3038885/>.
9. Latif, R. 2013. Chocolate / Cocoa and Human Health : a Review. The Journal of Medicine [serial on the Internet]. Mar 2013 [cited 5 Juni 2017]; 71 (2): 63–68 Available from: <https://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=1269>
10. Restuti, ANS., Yulianti, A., dan Nuraini, N. 2018. Effect of Modification Diet on The Body Weight of Sprague dawley Rats. Proceedings of The First International Conference Food and Agriculture (ICoFA) Politeknik Negeri Jember: Current Innovation and Implementation of Modern Technology in Food and Sustainable Agriculture. [cited 11 Juli 2023]; 583-586. <https://publikasi.polije.ac.id/index.php/ProceedingICoFA/article/view/1351>.
11. Restuti, ANS., dan Yulianti, A. 2019. Modification of High Fat Diet and Cattle Brain Sonde to Weight Changes in Wistar Dyslipidemia Rats. Proceedings of The Second International Conference Food and Agriculture (ICoFA) Politeknik Negeri Jember: Contribution Of Applied Sciences and Technology to Food and Agrotechnology. [cited 11 Juli 2023]; 70-73.
12. Kusumawati, D. 2016. Bersahabat dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
13. Ia DW, Iwg S. Pemberian Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap Profil Lipid dan Kadar NOx Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Dislipidemia. Available from: https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_penelitian_1_dir/2cba1fd7a89cd1bb0422587c148ce031.pdf
14. Othman, A., A.M.M. Jalil, K.K. Wang, A. Ismail, N.A. Ghani and I. Adenan. Epicatechin content and antioxidant capacity of cocoa beans from four different countries. African Journal of Biotechnology [serial on the Internet]. February 2010 [cited 5 Juni 2017]; 9 (7) : 1052-1059 Available from: <http://www.academicjournals.org/AJB>.