

## LAPORAN HASIL PENELITIAN

(SKEMA: PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI)



### PENGEMBANGAN FORMULA PATI RESISTEN PISANG KEPOK DAUN KELOR PADA MIKROBIOTA USUS TIKUS WISTAR SEBAGAI KANDIDAT PREBIOTIK TINGGI Fe (Tahap 2: Paparan DSS)

#### Tim Peneliti:

Fifi Luthfiah, SST., M.Kes	NIP	197404082001122001
Apt. Retno Ikayanti, S.Farm	NIP	198202192008012014
Fransisca Dwipajati, SST.M.Gz	NIP	198810082010122005



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA

POLITEKNIK KESEHATAN MALANG

2024

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**

Judul Penelitian : **Pengembangan Formula Pati Resisten Pisang  
Kepok Daun Kelor Pada Mikrobiota Usus Tikus  
Wistar Sebagai Kandidat Prebiotik Tinggi  
Fe(TAHAP 2: PAPAN DSS)**

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 354/Illmu Gizi

Peneliti

a. Nama Lengkap : Fifi Luthfiyah, SST. M.Kes

b. NIDN : 40008121974

c. Jabatan Fungsional : Lektor

d. Program Studi : Prodi D-IV Gizi

e. Nomor HP : 08175707804

f. Alamat surel (email) : fifiluthfiyah@poltekkes-malang.ac.id

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Apt. Retno Ikayanti, S.Farm.

b. NIDN : -

c. Program Studi : Prodi D-III Analisis Farmasi dan Makanan

d. Perguruan Tinggi : Poltekkes Kemenkes Malang

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap : Fransisca Dwipajati, SST.M.Gz

b. NIK : 4008108801

c. Program Studi : D3 Gizi

d. Perguruan Tinggi : Poltekkes Kemenkes Malang

Lama penelitian keseluruhan : 2 Tahun

Usulan Penelitian Tahun ke-1 : 80.000.000

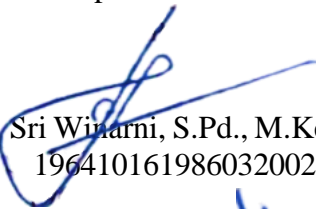
Biaya penelitian keseluruhan : 150.000.000

Biaya penelitian

Diusulkan ke Poltekkes : -

Dana institusi lain : -

Mengetahui,  
Kepala Pusat PPM

  
Sri Winarni, S.Pd., M.Kes  
196410161986032002

Malang, 15 Nopember 2024  
Ketua

  
Fifi Luthfiyah, SST. M.Kes.  
NIP. 197404082001122001

Mengesahkan,  
Direktur Poltekkes Kemenkes Malang



Dr. Moh. Wildan A.Per.Pen.M.Kes  
NIP. 196804211988031001

## RINGKASAN

Ekstrak pati pisang kepok diketahui mengandung Pati Resisten yang cukup tinggi dan berpotensi sebagai prebiotic. Pati resisten merupakan substrat yang difermentasikan oleh bakteri probiotik yang menghasilkan short chain fatty acid (SCFA) yang sangat dibutuhkan untuk metabolisme tubuh. Manfaat pati resisten dari pisang kapok mampu meningkatkan pertumbuhan microbiota dan penambahan serbuk kelor meningkatkan keunggulan prebiotic ini sebagai prebiotic dengan komposisi Fe, Vitamin C, Mg, Ca dan zat-zat bioaktif. Keunggulan lainnya yaitu mampu memulihkan invasi jaringan usus (intestine) yang telah terinfeksi Dextran Sulfat Sodium (DSS). Penelitian ini menggunakan tikus sebagai hewan coba yang diuji dengan pemberian suplemen pati resisten dari pisang kapok daun kelor, yang selanjutnya diinfeksi DSS selama 6 hari, kemudian diperiksa perubahan microbiota dalam usus, dan profil darah lengkap.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan/pengaruh yang signifikan pada pemeriksaan pertumbuhan lactobacillus (microbiota) pada tikus yang diberikan PKK dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan PKK (control positif) yaitu  $P=0,023$  ( $P<0,05$ ) dan terdapat penurunan pertumbuhan bakteri *Enterobacter pylori* dengan nilai  $P= 0,01$  ( $P<0,05$ ). Pada pemeriksaan darah lengkap terdapat pengaruh signifikan pada pemeriksaan TIBC (Total Iron Binding Capacity) tikus yang diberikan PPK dibandingkan dengan tikus yang tidak diberikan PPK dengan  $P= 0,0042$  ( $P<0,005$ ) dan Saturasi Darah menunjukkan perbedaan signifikan yaitu  $P=0,038$  ( $P<0,05$ ).

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....	i
RINGKASAN .....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
BAB I LATAR BELAKANG .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
BAB III METODE PENELITIAN.....	33
BAB IV HASIL PENELITIAN .....	51
BAB V PEMBAHASAN .....	63
BAB VI KESIMPULAN .....	71
DAFTAR PUSTAKA .....	72
LAMPIRAN.....	79

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Nilai Rujukan Kadar Hemoglobin .....	9
Tabel 2. Patogenesis anemia pada penyakit radang usus .....	10
Tabel 3. Nilai normal pemeriksaan darah tikus .....	11
Tabel 4. Kandungan zat gizi pisang kepok kuning .....	19
Tabel 5. Kandungan pati dari hasil penelitian.....	23
Tabel 6. Definisi Operasional Variable.....	36
Tabel 7. Hasil Pemeriksaan Angka Lempeng Total dan Kapang Khamir serta E-coli pada Pati Non Steril (Pati dari UMKM SIDOD GEDANGAN).....	54
Tabel 8. Hasil Uji Nilai ALT PKKS dan Nilai AKK PKKS .....	55
Tabel 9. Hasil UJI ALT dan AKK PKKS dengan Metode Uji Cepat.....	56
Tabel 10. Dokumentasi Pengadaan Hewan Coba .....	57
Tabel 11. Hasil Pemeriksaan Darah Lengkap .....	58
Tabel 12. Hasil Uji Beda Berat Badan Setiap Kelompok Perlakuan .....	60
Tabel 13. Hasil Uji Beda Bakteri Setiap Kelompok Perlakuan .....	61
Tabel 14. Hasil Analisis Effect size .....	62

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Penampakan Buah Pisang Kepok.....	16
Gambar 2. Struktur Amilosa dan Amilopektin .....	20
Gambar 3. Hasil Berat Badan pada Setiap Kelompok Perlakuan .....	59
Gambar 4. Hasil Lactobacillus sp. pada Setiap Kelompok Perlakuan .....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. SERTIFIKAT ETHICAL CLEARANCE .....	80
LAMPIRAN 2. SURAT IJIN PENELITIAN .....	81
LAMPIRAN 3. LUARAN PENELITIAN HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL .....	82
LAMPIRAN 4. DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN (PERSIAPAN) .....	83
LAMPIRAN 5. DOKUMENTASI PENELITIAN (PELAKSANAAN) .....	84
LAMPIRAN 6. DOKUMENTASI PEMBEDAHAN .....	85
LAMPIRAN 7. SERTIFIKAT ORAL PRESENTATION PADA ICNF IPB 2024 .....	86
LAMPIRAN 8. HASIL UJI STATISTIK .....	87

# **BAB I**

## **LATAR BELAKANG**

Kanker usus besar adalah kanker paling umum ke 5 di dunia. Khusus bagi pria kanker usus menduduki peringkat ke 4 dan pada Wanita menduduki peringkat ke 7 di dunia. Terdata tahun 2015-2018 terdapat lebih dari satu juta kejadian kasus baru kanker lambung. Kemungkinan kejadian ini akan lebih meningkat dari tahun ke tahun. (Bray et al., 2018)

Suatu senyawa bioaktif bisa juga dibuat dari suatu proses pengolahan, tidak hanya didapatkan pada bahan alami yang segar. Salah satunya adalah pati. Pati resisten merupakan pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan dan tahan terhadap asam lambung sehingga dapat mencapai usus besar untuk difermentasi bakteri probiotik. (Haryo et al., 2017) (Bimo setiarto, et al., 2015), (Syamsuri et al., 2020). Disamping itu pati merupakan suatu zat yang dikenal dikonsumsi untuk mendapatkan energi. Bila suatu pangan memiliki kelebihan dan berefek memperbaiki Kesehatan maka pangan tersebut dapat disebut memiliki zat bioaktif/senyawa bioaktif berbasis pati juga beberapa dikenal mampu mengikat lemak dan memiliki efek hipoglikemia. . (Suloi Fajri Nur Andi & Suloi, 2015) (Suloi, 2019)

Pati yang tidak tercerna (pati resisten) di usus halus memiliki beberapa efek fisiologi yang bermanfaat bagi Kesehatan manusia, diantaranya adalah mencegah terjadinya kanker usus besar, menurunkan kadar gula darah, sebagai prebiotic, menurunkan kadar kolesterol, menghambat penumpukan lemak, memberikan efek rasa kenyang dan juga meningkatkan penyerapan berbagai mineral serta mengurangi risiko terbentuknya batu empedu. (Mora-Flores et al., 2023). Pati resisten ini terdapat cukup tinggi di dalam ekstrak pisang kapok. (Marsono Y, 2016). Pisang kapok meningkat komposisi pati resistennya sebanyak 53% lebih banyak dari pisang tanduk 40%) setelah dikukus dan mengalami pendinginan. (Y Marsono, 2015)

Menurut beberapa penelitian bahwa pati tidak tercerna dapat juga meningkatkan penyerapan besi di dalam tubuh. Sedangkan pati yang mudah tercerna dapat menghambat penyerapan zat besi, sehingga asupan zat besi tidak bersamaan dengan



pati tercerna. Sedangkan di Indonesia, pola konsumsinya Sebagian besar merupakan bahan nabati yang memiliki kandungan pati tercerna cukup tinggi, jika dibandingkan dengan bahan makanan hewani. (Haryo et al., 2017, 2018)( Bimo setiarto,et al., 2015).

Kombinasi zat bioaktif pati resisten sebaiknya dikombinasikan dengan bahan pangan yang memiliki kadar vitamin C dan Fe yang memadai. Hal tersebut justru berdampak baik terutama dalam metabolisme protein dan penyerapan mineral mikro. Vitamin C merupakan zat yang dibutuhkan oleh tubuh manusia untuk memelihara fungsi metabolisme. Vitamin C juga merupakan vitamin yang mudah larut dalam air. Di dalam tubuh, vitamin C memiliki peranan penting dalam mempercepat proses penyembuhan luka, mempercepat proses metabolisme dan sebagai antioksidan. (Tahir & Hikmah, 2015)Manusia tidak dapat mensintesis vitamin C dengan sendirinya karena tidak memiliki Gulonolactone Oxidase, yaitu enzim yang diperlukan untuk biosintesis vitamin C sehingga untuk memenuhi kebutuhan vitamin C didalam tubuh, manusia perlu mengkonsumsi buah dan sayuran.(Vergara-Jimenez et al., 2017) Salah satu sayuran yang memiliki kandungan vitamin C dan Fe yang baik adalah daun kelor. Berdasarkan penelitian terdahulu, dalam 100gram serbuk daun kelor mengandung vitamin C setara 7 kali kandungan vitamin C pada jeruk,(Thippeswamy et al., n.d.) (Rahmatu, 2018) bahkan beberapa literatur dijelaskan kelor mengandung zat besi dan vitamin C setara 5 kali bayam dan 2 kali lebih banyak kandungan Kalsium dibandingkan susu sapi(Sarni et al., 2020).

Disbiosis microbiota usus dari waktu ke waktu juga telah dianggap sebagai salah satu keadaan yang mendasari terjadinya perubahan metabolic terkait obesitas yang meningkatkan risiko DM tipe 2 dan penyakit kardiovaskular, yang ditandai dengan hiperglikemia, hiperlipidemia, resistensi insulin, gangguan fibrinolysis, dislipidemia dan NALD.(Yoo et al., 2024)

Dalam beberapa tahun terakhir, microbiota usus berperan penting dalam kesehatan manusia dan telah menarik perhatian banyak peneliti. (Wan et al., 2019). Usus manusia mampu menampung triliunan mikroorganisme, termasuk lebih dari 10<sup>14</sup>

bakteri dari 2000 spesies. Ukuran 3 genom dari organ mikroba ini, secara kolektif disebut mikrobioma, melebihi ukuran genom inti manusia sebanyak 100 kali lipat dan memberikan manusia fungsi biologi dan metabolisme tambahan untuk mempertahankan homeostasis dalam tubuh. (Wan et al., 2019).

Berbagai mikroorganisme yang dilaporkan sebagai penyebab diare antara lain *Escherichia coli*, Rotavirus, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Camphylobacter sp.*, dan *Vibrio Cholerae*. (Jap & Widodo, 2021) Diare karena infeksi bakteri ditularkan melalui fekal-oral dengan perantara lingkungan dan perilaku yang tidak sehat atau lebih sering melalui makanan, minuman, atau alat dapur yang terkontaminasi bakteri patogen dari feses manusia atau hewan. (Jap & Widodo, 2021)

Pemberian prebiotik dalam keadaan diare telah berkembang dengan pesat, walaupun masih terdapat kontroversi mengenai penggunaan prebiotik dalam terapi diare akut. Prebiotik adalah suatu senyawa yang dibutuhkan bakteri hidup yang bila diberikan atau dikonsumsi dalam jumlah cukup dapat memberikan efek menguntungkan bagi tubuh. Bakteri Asam Laktat (BAL) yang hidup dan mempunyai sifat dasar sebagai probiotik dan menghasilkan senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh BAL ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri enteropatogenik seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhimurium*. Bakteri Asam Laktat dan *Bifidobacterium* merupakan kelompok bakteri yang umum digunakan sebagai mikroorganisme probiotik bagi konsumen. (Masrukan, 2020)

Pada penelitian kali ini menggunakan tikus betina strain Wistar. Tikus betina memiliki sensitivitas yang lebih cepat dalam menerima paparan induksi agent infeksi di bagian organ lambung dan intestine. Menurut penelitian Yessi astir, dkk. 2012 terdapat perbedaan dosis daun dewa sebagai penyebab tukak lambung pada tikus betina maupun tikus jantan. Pada tikus betina dengan dosis 3,75 g/kgBB sudah menunjukkan terjadinya perdarahan lambung. Sedangkan tikus jantan pada dosis 15 g/KgBB. Disamping hal tersebut, factor hormonal juga menjadi factor proteksi terhadap lambung, dalam hal ini estrogen. Sehingga tikus betina lebih rentan terhadap infeksi lambung, dibandingkan tikus jantan. (Astri et al., 2012)

Penelitian tahun ke 2 ini focus pada menilai pertumbuhan microbiota pada tikus yang terinfeksi dengan suspensi infeksius DSS (Dextran Sodium Sulfat). DSS adalah polisakarida sulfat bermuatan negative yang larut dalam air dengan berat molekul sangat bervariasi mulai dari 5 sampai 1400kDa. Model tikus colitis yang paling banyak digunakan diinduksi menggunakan DSS, colitis pada murine yang paling parah, yang merupakan model yang paling mirip dengan Ulkus manusia. Tikus model infeksi usus dihitung pertumbuhan microbiota dan diintervensi dengan prebiotik PKK (Pati Kepok Kelor) dan juga diperiksa profil darah meliputi, Hb, Leukosit, Fe, TIBC dan Limfosit. (Adamkova et al., 2022)

Berdasarkan hal tersebut maka peneliti tertarik untuk mengembangkan formula pati resisten pisang kapok daun kelor terhadap microbiota usus tikus wistar betina yang dipapar DSS.

Rumusan Masalah :

1. Apakah Formula Serbuk Pati Resisten Pisang Kepok Kelor dapat meningkatkan jumlah microbiota di dalam usus pada tikus wistar?
2. Apakah Formula Serbuk Pati Resisten Pisang Kepok Kelor dapat mengoptimalkan profil darah?

Tujuan Umum :

Membuktikan Serbuk Prebiotik Pisang Kepok Kelor dapat meningkatkan jumlah microbiota usus dan mengoptimalkan kadar profil darah tikus yang dipapar DSS.

Tujuan Khusus :

- 1) Mengidentifikasi kondisi subyek penelitian (umur, berat badan, jumlah konsumsi pakan per hari)
- 2) Mengidentifikasi kadar TIBC tikus pada kelompok P0,P1,P2, P3 dan P4
- 3) Mengidentifikasi jumlah bakteri enterpatogenik pada kelompok P0,P1,P2, P3 dan P4
- 4) Mengidentifikasi kadar profil darah lengkap pada kelompok P0,P1,P2, P3 dan P4
- 5) Menganalisis perbedaan kadar profil darah lengkap pada P0,P1,P2, P3 dan P4

P4

- 6) Menganalisis perbedaan jumlah microbiota pada kelompok P0,P1,P2, P3 dan P4

Manfaat Penelitian :

Hasil penelitian diharapkan mampu menjadi kandidat prebiotic yang mengandung Fe dan dapat dikembangkan sebagai functional food terstandar.

Temuan Ilmiah Baru

Temuan baru yang dihasilkan dari peneltian ini adalah diperolehnya perubahan jumlah pertumbuhan microbiota usus setelah tikus diberikan Serbuk Pati Resisten Pisang Kepok Kelor

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **1. Penyakit Saluran Cerna**

Sistem pencernaan pada tubuh manusia berfungsi menerima makanan dan mencerna menjadi nutrisi yang diserap oleh tubuh untuk disalurkan ke organ-organ oleh darah. Penyakit pencernaan merupakan penyakit yang menyerang organ pencernaan sehingga mengganggu kerja sistem pencernaan. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan penyakit pencernaan antara lain makanan yang kurang baik, keseimbangan nutrisi, pola makan yang tidak teratur, dan infeksi serta kelainan pada organ pencernaan (Ma' & Kesuma, 2018)

Saluran pencernaan jika terus-menerus terpapar oleh banyak bakteri serta racun yang berasal dari makanan dan lingkungan, memberikan efek rentan terhadap penyakit pencernaan seperti *Inflammatory bowel diseases* (IBD) penyakit radang usus pada saluran pencernaan Penyakit Crohn (CD) dan Kolitis Ulseratif (UC), ditandai dengan peradangan usus akut dan kronis dengan etiologi multifactorial (Sina et al., 2021)

Inflamasi Bowel Disease (IBD) adalah peradangan kronik berulang pada usus halus dan kolon yang belum diketahui penyebabnya dengan gejala sakit perut yang berat dan diare. Terdapat 2 penyakit utama IBD pada kolon, yaitu Crohn's disease (CD) dan Ulcerative colitis (UC) yang ditandai dengan peradangan progresif pada sistem saluran cerna dan mukosa kolon. IBD dapat menyebabkan morbiditas dan kematian dengan kualitas hidup dan harapan hidup yang menurun (Lipinwati, 2021)

##### a) Etiologi

###### 1) Genetik

IBD terjadi pada kelainan poligenik sebanyak 5 – 10 % dan sporadik. Secara genetika, adanya mutasi pada gen NOD2/gen CARD15 pada kromosom 16 dihubungkan dengan terjadinya IBD, gen polimorfisme lainnya adalah ATG16L1, IRGM, IL23R, JAK2.

## 2) Peranan mikrobiota usus

Saluran pencernaan mengandung lebih dari 10 bakteri, lebih dari 1000 spesies, bakteri paling banyak terdapat di kolon. Mikrobiota komensal mempengaruhi komposisi dan fungsi imunitas alami dan adaptif yang berhubungan dengan IBD. Adanya ketidakseimbangan mikrobiota komensal akan menyebabkan peradangan dan inflamasi usus, terjadi perubahan baik dalam jumlah dan jenis bakteri usus. Pada studi fekal mikrobiota, pada pasien IBD terjadi penurunan bakteri Bacteroidetes, Firmicutes dan peningkatan Proteobacteria dan Actinobacteria (Park et al., 2021)

Peradangan usus terjadi karena penurunan produksi musin, depleksi sel goblet, dan disfungsi epitel tight junction, dan masuknya antigen lumen usus ke dalam mukosa. Pada model hewan coba IBD, inflamasi terjadi berhubungan dengan penurunan bakteri Bacteroidetes, dan peningkatan Proteobacteria seperti Enterobacteriaceae. (Park et al., 2021)

## 3) Sistem imunitas

Respon imunitas alami berupa masuknya sel imun ke dalam mukosa usus, dan mengaktifkan sel imunitas adaptif dan terjadi peningkatan sitokin TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ . Imunitas alami diaktivasi oleh antigen mikroba melalui PRR seperti TLR, dan NOD. Aktivasi tersebut akan merangsang aktivasi jalur NF $\kappa$ B yang menghasilkan mediator pro-inflamasi (Park et al., 2021)

## 4) Faktor lingkungan

Komponen diet seperti asam lemak rantai panjang, protein dan karbohidrat, antibiotik, dan infeksi patogen berperan dalam patogenesis IBD dengan mengubah mikrobiota usus, meningkatkan permeabilitas usus dan merangsang inflamasi usus.

## b) Patogenesis (Lipinwati, 2021)

Patogenesis IBD secara jelas belum diketahui, disebabkan oleh peran kompleks antara mikrobiota usus, disregulasi sistem imun, peran genetik dan faktor lingkungan.

a. Imunitas alami

Imunitas alami dibentuk oleh barier epitel, netrofil, makrofag, sel dendritik, sel natural killer. Imunitas alami diaktivasi oleh toksin dan agen mikroba yang dikenal oleh reseptor spesifik seperti toll-like receptors (TLRs) dan NOD-like receptors. Sel tersebut merangsang inflamasi dengan melepaskan sitokin pro inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 dan IL-8 yang akan mengaktifkan respon imun adaptif. Sitokin TNF- $\alpha$  merupakan sitokin yang berperan menyebabkan inflamasi kolon pada UC dan CD.

b. Mikrobiota usus

Mikrobiota usus berfungsi menjaga keseimbangan usus, pada IBD terjadi ketidakseimbangan bakteri usus pada mukosa usus hapten menyebabkan inflamasi berikatan dengan Antigen Presenting Cells (APC) dan menyebabkan kerusakan pada lapisan mukosa. Mikrobiota usus dipengaruhi oleh makanan, probiotik, prebiotik, antibiotik, enzim eksogen, transplantasi mikrobiota feses, dan faktor lingkungan lainnya.

c. Kerusakan barier mukosa

Kerusakan barier mukosa dalam gangguan permeabilitas epitel usus dapat merangsang respon imun mukosa yang berlebihan dan inflamasi kronik usus. Mekanisme kehilangan barier mukosa belum diketahui, beberapa penelitian melaporkan bahwa sitokin, TNF- $\alpha$ , interleukin terlibat dalam patogenesis CD dan UC.

d. Stes oksidasi

Pada IBD didapatkan ketidakseimbangan antara spesies oksidatif (ion superoksida, ion peroksinitrit dan hidrogen peroksida) dan antioksidan endogen (glutation, katalase dan superoksida dismutase/SOD) sehingga terjadi stres oksidasi. Pada pasien dengan IBD didapatkan peningkatan ROS dan penurunan antioksidan pada lapisan mukosa yang mengalami inflamasi sehingga terjadi kerusakan jaringan

c) Gejala Klinik

Gejala klinik IBD terbagi atas gejala intestinal (diare kronik dengan atau tanpa disertai darah, nyeri perut, mual, dan muntah), gejala ekstraintestinal (arthritis, uveitis, pioderma gangrenosum, eritema nodosum, kolangitis), dan

gejala sistemik (anemia, demam, dan gangguan nutrisi). Gejala klinik UC meliputi: adanya darah dalam feses, kram perut bagian bawah. Perjalanan klinik IBD ditandai oleh episode aktif, remisi, kronik, dan eksaserbasi.

d) Penatalaksanaan (Danastri Mahaprani I Gusti Ayu, 2010)

Manajemen IBD terdiri dari farmakoterapi, nutrisi, operasi dan psikoterapi. Farmakoterapi terbagi atas 6 kategori asam amino salisat, kortikosteroid, imunomodulator, antibiotik, probiotik dan terapi biologi, pemberian farmakoterapi tergantung pada derajat keparahan penyakit. Pada beberapa penelitian, pemberian probiotik pada CD dan UC memberikan hasil yang baik. Pemberian nutrisi pada CD merupakan terapi primer atau tambahan dan pada UC merupakan terapi tambahan. (Lipinwati, 2021).

## 2. Indikator Terjadinya Peradangan

### 1. Profil darah

Perubahan hematologi yang terkait dengan penyakit saluran cerna sering kali tidak spesifik, yang mencerminkan respons sistemik terhadap inflamasi, endotoksemia, atau sepsis. Leukositosis neutrofil dan anemia normokromik, normositik dengan atau tanpa hiperfibrinogenemia umumnya dikaitkan dengan kondisi peradangan kronis pada usus. Pemeriksaan sitologi tinja dan tes darah samar mendeteksi peradangan mukosa, erosi, atau ulserasi (Sanchez, 2018)

#### a) Hemoglobin

Hemoglobin merupakan komponen utama sel darah merah yang berperan penting dalam pengangkutan oksigen dan karbondioksida (Yartireh and Hashemian, 2013). Kadar hemoglobin adalah ukuran dari pigmen respiratorik dalam butiran darah merah. Berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2011 nilai rujukan kadar hemoglobin adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Nilai Rujukan Kadar Hemoglobin

Nilai Rujukan	Kadar Hemoglobin
Pria	13-18 g/dL
Wanita	12-16 g/dL

Sumber : kementerian Kesehatan RI tahun 2011



Secara umum, jumlah hemoglobin kurang dari 12 g/dL menunjukkan indikasi anemia. Anemia merupakan penurunan massa sel darah merah atau penurunan konsentrasi hemoglobin yang secara fungsional anemia adalah penurunan kompetensi darah untuk membawa oksigen ke jaringan sehingga menyebabkan hipoksia jaringan (Hamid, 2013).

Penyakit radang usus yang, ditandai dengan peradangan kronis pada saluran pencernaan dikaitkan dengan berbagai gejala dan komplikasi, yang paling umum adalah anemia defisiensi besi. Defisiensi zat besi pada peradangan saluran cerna disebabkan oleh asupan yang tidak memadai, malabsorpsi (termasuk keterlibatan duodenum dan operasi pengangkatan), dan kehilangan darah kronis akibat ulserasi mukosa. (Mahadea et al., 2021)

Pedoman *European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO)* mengklasifikasikan anemia pada pasien IBD sebagai anemia defisiensi besi (IDA), anemia penyakit kronis (ACD), dan anemia terkait defisiensi B12 atau asam folat (Akhueomonkhan et al, 2017). Namun, perlu dicatat bahwa pasien *Inflammatory bowel diseases (IBD)* datang dengan disertai perdarahan usus kronis, peradangan dan ulserasi, gangguan penyerapan, malnutrisi, efek toksik obat, dan menjalani prosedur pembedahan, etiologi pasti dari anemia tidak dapat ditentukan (Foteinogiannopoulou et, al. 2021)

Tabel 2. Patogenesis anemia pada penyakit radang usus

Type of Anemia	Cause
IDA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Iron loss from bleeding</li> <li>• Decreased iron intake from enterocytes</li> <li>• Impaired iron absorption</li> </ul>
ACD	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibition of erythropoiesis due to inflammatory cytokines</li> <li>• Iron trapped in macrophages</li> <li>• Dysfunction of iron transport</li> </ul>
Vitamin B12 and foliate deficiency-associated anemia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Malabsorption</li> <li>• Extensive small bowel resection</li> </ul>
Drug-induced anemia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thiopurines, Sulfasalazine</li> <li>• Methotrexate</li> </ul>

IDA—Iron deficiency anemia, ACD—anemia of chronic disease.

Sumber : mahadea et al, 2021

## b) Nilai Laboratorium Normal

Informasi biokimia mencakup data hasil pemeriksaan laboratorium yang terkait dengan kondisi gizi, keseimbangan

metabolik, dan evaluasi fungsi organ yang dapat mempengaruhi timbulnya masalah gizi (Kemenkes RI, 2016).

Tabel 3. Nilai normal pemeriksaan darah tikus

Pemeriksaan	Nilai Rujukan
Eritrosit (RBC)(x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,00 – 12,00
Hemoglobin (g/dl)	11,1 – 18,0
MCV (μ <sup>3</sup> )	44,5 – 69,0
MCH (μg)	12,0 – 24,5
MCHC (%)	21,6 – 42,0
Hematokrit (PCV) (ml %)	36,0 – 52,0
Leukosit (WBC) (x10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	3,00 – 15,00
Neutrofil (x10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	1,10 – 4,00
Eusinofil (x10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,00 – 0,08
Basofil (x10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,00 – 4,00
Limfosit (x10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	4,00 – 10,00
Monosit (x10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	0,00 – 0,10
Glukose (mg/dl)	50 – 135
BUN (mg/dl)	5,0 – 29,0
Kolesterol (mg/dl)	10,0 – 54,0
Total protein (g/dl)	4,70 – 8,15
Albumin (g/dl)	2,70 – 5,10
SGOT (IU/l)	45,7 – 80,8
SGPT (IU/l)	17,5 – 30,2
Alkaline fosfatase (IU/l)	56,8 – 128

Sumber: (Kusumawati 2004)

Sedangkan defisiensi zat besi pada *Inflammatory bowel diseases* disebabkan oleh asupan yang tidak memadai, malabsorpsi dan kehilangan darah kronis akibat ulserasi mukosa. Defisiensi zat besi dan suplementasi zat besi telah dikaitkan dengan perubahan mikrobiota usus. Anemia terkait *Inflammatory bowel diseases*, khususnya anemia defisiensi besi, dikaitkan dengan penurunan kualitas hidup yang signifikan dan gejala klinis seperti kelelahan kronis, sakit kepala dan pusing, kulit pucat, kuku, konjungtiva, dan pingsan (Mahadea et al., 2021).

Anemia, yang dianggap sebagai komplikasi metabolik paling umum dari penyakit radang usus, telah dikaitkan dengan penurunan kualitas hidup dan fungsi kognitif. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), anemia didefinisikan sebagai kadar hemoglobin <13 g/dL pada pria atau <12 g/dL pada wanita tidak hamil (Mahadea et al., 2021).

## 2. Berat badan

Gambaran klinis pada dari kasus peradangan saluran cerna seperti Kolitis Ulseratif yakni muncul BAB berdarah dan bisa disertai dengan tenesmus, sedangkan pada kasus Penyakit Crohn sering didapatkan fistula

dan abses, nyeri akut pada perut bagian kanan bawah mirip seperti apendisitis dan obstruksi intestinal. Kehilangan berat badan juga merupakan manifestasi klinis dari penyakit radang usus (IBD), hal ini dikarenakan adanya malabsorpsi yang terjadi pada saluran cerna (Danastri and Putra, 2013).

Munculnya manifestasi klinis dari penyakit radang usus (IBD) terjadi ketika sistem kekebalan mukosa gagal mempertahankan toleransi, mikroba patogen dapat menginfeksi inang. Gangguan toleransi imun di usus dapat menyebabkan penyakit radang usus seperti penyakit Crohn dan kolitis ulseratif. Pengobatan dengan pengobatan DSS meniru kondisi gangguan toleransi imun karena mengganggu penghalang mukosa sel epitel pada permukaan luminal. Model kolitis murine yang diinduksi oleh pemberian DSS oral, suatu reagen yang mengganggu fungsi penghalang sel epitel mukosa (Shon et al., 2015)

Pengobatan dengan DSS 2% yang diberikan pada hewan coba menghasilkan reaksi inflamasi yang nyata. Dalam pengobatan dengan DSS 2%, memberikan efek penurunan berat badan progresif, peningkatan indeks aktivitas penyakit (DAI) termasuk diare parah dan pendarahan usus serta pemendekan panjang usus besar terdeteksi, respon inflamasi pada tikus yang terkena DSS, menyebabkan perbedaan yang signifikan dalam berat badan, menandakan bahwa gangguan toleransi imun yang berdampak pada radang usus memberikan efek kehilangan berat badan pada hewan coba (Shon et al., 2015)

### **3. Agent Infeksi Dextran Sodium Sulfat**

#### **1. Pengertian Dextran Sodium Sulfat**

Dekstran Sodium Sulfat (DSS), suatu kolitogen kimia dengan sifat antikoagulan, untuk menginduksi penyakit. DSS adalah polisakarida sulfat bermuatan negatif yang larut dalam air dengan berat molekul sangat bervariasi mulai dari 5 hingga 1400 kDa. Model kolitis tikus yang paling banyak digunakan diinduksi menggunakan DSS, kolitis murine yang paling

parah, yang paling mirip dengan UC manusia (Okeasu et al., 1990), diakibatkan oleh pemberian DSS 40-50kDa dalam air minum.

Inflammatory bowel diseases (IBD), penyakit radang usus terutama terdiri dari Kolitis Ulseratif dan Penyakit Crohn yang merupakan penyakit kompleks dan multifaktorial dengan etiologi yang tidak diketahui. Selama 20 tahun terakhir, untuk mempelajari IBD manusia secara mekanis, sejumlah model kolitis murine telah dikembangkan. Model-model ini merupakan alat yang sangat diperlukan untuk menguraikan mekanisme yang mendasari patogenesis IBD serta untuk mengevaluasi sejumlah terapi potensial. Di antara berbagai model kolitis yang diinduksi bahan kimia, model kolitis yang diinduksi DSS banyak digunakan karena kesederhanaannya dan banyak kesamaan dengan kolitis ulserativa pada manusia. (Chassaing et al., 2014)

## **2. Patogenesis Induksi Dextran Sodium Sulfat**

Secara Luas DSS telah dianggap memiliki sifat racun bagi sel epitel kolon dan menyebabkan kerusakan pada integritas penghalang epitel, sehingga meningkatkan permeabilitas mukosa kolon untuk memungkinkan permeasi molekul besar seperti DSS. Perubahan pertama terkait DSS diamati setelah 1 hari pemberian DSS. Perubahan ini adalah hilangnya salah satu komponen kompleks persimpangan ketat. Pada hari ke 3 pengobatan DSS, terjadi peningkatan permeabilitas yang signifikan terhadap *Evan's blue*.

Ketika tikus BALB/c imunokompeten yang diobati dengan DSS dan tikus SCID yang imunodefisiensi (kekurangan limfosit T dan B) dipertahankan dalam kondisi konvensional, kedua strain tersebut mengalami perubahan besar pada mukosa usus besar. Tikus BALB/c menunjukkan hilangnya epitel permukaan dan infiltrasi sel inflamasi yang parah. Temuan serupa diamati oleh Kitajima dkk, menunjukkan bahwa tikus IQI/Jic dalam kondisi bebas kuman tidak memiliki lesi yang mengindikasikan kolitis di usus besar 3 hari setelah pengobatan DSS 5%, sedangkan tikus IQI/Jic dalam kondisi konvensional mengalami erosi fokal di sebagian besar usus besar. Dalam percobaan lain tikus diobati dengan

DSS 1% selama 14 hari, tikus dalam kondisi bebas kuman mengalami sedikit infiltrasi sel inflamasi dan edema pada lamina propria sekum dan kolon proksimal serta ulserasi parah, perdarahan dengan trombus yang sering, dan sedikit infiltrasi sel inflamasi di kolon distal (Perse et, al. 2012).

### **3. Mekanisme Kerja**

Saat ini terdapat banyak penelitian yang menggunakan model kolitis yang diinduksi DSS untuk menyelidiki patogenesis kolitis dan berbagai faktor yang mempengaruhi kolitis dengan cara penambahan DSS ke air minum. Tergantung pada konsentrasi, durasi, dan frekuensi pemberian DSS, hewan dapat mengalami kolitis akut atau kronis atau bahkan lesi displastik akibat kolitis. Tikus menunjukkan kerentanan dan respons yang berbeda terhadap kolitis yang diinduksi DSS. Variasi respons terhadap DSS tampaknya bergantung tidak hanya pada DSS (konsentrasi, berat molekul, durasi paparan DSS, produsen, dan batch) namun juga faktor genetik (strain dan substrain, jenis kelamin) dan mikrobiologis (keadaan mikrobiologis dan flora usus) dari DSS (Perse et, al. 2012).

Mekanisme DSS menginduksi peradangan usus kemungkinan besar merupakan akibat dari kerusakan pada lapisan epitel tunggal yang melapisi usus besar sehingga memungkinkan penyebaran isi usus proinflamasi (misalnya bakteri dan produknya) ke dalam jaringan di bawahnya. Model kolitis DSS sangat populer dalam penelitian IBD karena kecepatan, kesederhanaan, reproduktifitas, dan pengendaliannya. Model peradangan usus akut, kronis dan kambuhan dapat dicapai dengan memodifikasi konsentrasi DSS dan frekuensi pemberian (Chassaing et al., 2014)

### **4. Perlakuan Tikus**

Gambaran klinis dan histopatologis dari DSS-colitis mencerminkan gambaran yang terlihat pada IBD manusia. Kolitis akut biasanya disebabkan oleh pemberian DSS 2–5% secara terus menerus dalam jangka waktu singkat (4–9 hari). Kolitis kronis dapat disebabkan oleh pengobatan terus menerus dengan DSS konsentrasi rendah atau pemberian DSS secara berulang. Misalnya, 4 siklus perlakuan DSS selama 7 hari diikuti dengan

pemberian air selama 10 hari. Manifestasi klinis kolitis DSS pada fase akut dapat berupa penurunan berat badan, diare, darah samar pada tinja, piloereksi, anemia, dan akhirnya kematian. Namun, manifestasi klinis pada kolitis fase kronis biasanya tidak mencerminkan tingkat keparahan peradangan atau gambaran histologis yang ditemukan pada usus besar. Perubahan histologis pada kolitis akibat DSS dapat diklasifikasikan menjadi akut (awal) dan kronis (lanjutan) (Perse et, al. 2012)

DSS membentuk kompleks dengan asam lemak rantai menengah yang ada di usus besar untuk mengaktifkan peradangan, menyebabkan kerusakan integritas penghalang, dan meningkatkan permeabilitas mukosa, serupa dengan apa yang diamati pada pasien IBD. Dosis DSS antara 2 dan 5% digunakan untuk menghasilkan kolitis, yang berhubungan dengan penurunan berat badan dan peradangan serta permeabilitas usus (Irwin, dkk. 2016).

Setelah menambahkan DSS ke air minum, tikus harus dipantau setiap hari untuk mengetahui berat badan dan adanya darah dalam tinja. Secara umum, dan sesuai dengan rekomendasi IACUC (*Institutional Animal Care and Use Committee*), hilangnya 25-30% dari total berat badan awal dianggap sebagai kematian dengan euthanasia yang dilakukan sesuai pedoman institusi. Tingkat keparahan penyakit dan kematian dapat bervariasi, jumlah hewan yang memadai (sesuai usia, jenis kelamin, dan berat badan) perlu dipertimbangkan, sebaiknya 5-10 tikus per kelompok perlakuan, kontrol sebaiknya diberi air tanpa tambahan (Chassaing et al., 2014)

## **5. Bahan Pembuatan Pati Resisten Pisang Kepok Kelor**

### **a) Definisi Pisang Kepok**



Gambar 1. Penampakan Buah Pisang Kepok

Sumber : (Dokumentasi Pribadi, 2024)

Pisang kepok (*Musa paradisiaca* forma *typica*) merupakan jenis pisang olahan yang paling sering diolah terutama dalam olahan pisang goreng dalam berbagai variasi, sangat cocok diolah menjadi keripik, buah dalam sirup, aneka olahan tradisional, dan tepung. Pisang dapat digunakan sebagai alternatif pangan pokok karena mengandung karbohidrat yang tinggi, sehingga dapat menggantikan sebagian konsumsi beras dan terigu (Prabawati dkk., 2008)

Pemilihan pisang sebagai bahan baku pada penelitian ini disebabkan karena pisang merupakan tanaman pangan hortikultura yang banyak ditemukan di Indonesia. Ditinjau dari rata-rata konsumsi masyarakat Indonesia sebesar 81,14 gram/kapita/hari (BPS, 2021). Dimana rata rata konsumsi di paling banyak dipegang oleh pisang dengan angka (24,71 gram/kapita/hari), diikuti jeruk (12,57 gram/ kapita/hari).

Menurut Prabawati dkk., (2008), pisang kepok memiliki kulit yang sangat tebal dengan warna kuning kehijauan dan kadang bernoda cokelat, serta daging buahnya manis. Pisang kepok tumbuh pada suhu optimum untuk pertumbuhannya sekitar 27°C dan suhu maksimum 38°C. Bentuk buah pisang kepok agak gepeng dan bersegi. Ukuran buahnya kecil, panjangnya 10-12 cm dan beratnya 80-120 gram. Pisang kepok memiliki warna daging buah putih dan kuning.

Buah pisang termasuk jenis buah klimaterik, yaitu jenis buah yang mengalami kenaikan kecepatan respirasi dengan cepat setelah

dipanen/dipetik dari pohonnya. Kenaikan kecepatan respirasi ditandai dengan berbagai perubahan baik fisik maupun kimia yaitu perubahan warna, tekstur, karbohidrat, gula total dan total asam. Kenaikan laju respirasi pada buah-buahan klimaterik adalah indikasi dimulainya proses pematangan (Winarti, 2010)

#### **b) Klasifikasi Pisang kepok**

Berdasarkan klasifikasi taksonomi pisang kepok kuning termasuk ke dalam family Musaceae yang berasal dari India Selatan. Kedudukan taksonomi, tanaman pisang kepok adalah sebagai berikut (Satuhu dan Supriyadi, 2008) :

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Zingiberales

Famili : Musaceae

Genus : Musa Spesies : Musa paradisiaca forma typica

Sewaktu pisang masih mentah asam organik utamanya adalah asam oksalat, tetapi setelah tua dan matang asam organik yang utama adalah asam malat. Perubahan tersebut mengakibatkan pH menurun dari 5,4 (mentah) menjadi 4,5 ketika pisang menjadi matang. (Lolodatu, 2015)

#### **c) Morfologi Pisang Kepok**

Tanaman pisang kepok merupakan tanaman herba tahunan yang mempunyai sistem perakaran dan batang dibawah tanah dimana tanaman ini hanya berbuah sekali (monokarpik), dan kemudian mati. Pohon pisang memiliki akar yang rimpang dan berpangkal pada umbi batang. Akar terbanyak berada di bagian bawah tanah sampai kedalaman 75 – 150 cm, sedangkan akar yang berada di bagian samping umbi batang tumbuh ke samping atau mendatar. Perkembangan pada buah pisang terjadi tanpa pembuahan (partenokarpi) dan tidak mengandung biji



Deskripsi morfologi pisang kepok adalah sebagai berikut:

Tinggi : 3 meter

Panjang tandan buah : 30-60 cm

Jumlah sisir per tandan : 5-9 sisir

Jumlah rata-rata buah per sisir : 10-20 buah

Berat per tandan : 14-22 kg

Bentuk buah : berpenampang segitiga, segi empat, atau bulat

Daging buah : berwarna putih kekuning-kuningan, putih keunguan

Daya simpan pisang kepok pada suhu kamar mencapai 15-21 hari (Kaleka, 2013)

#### **e) Manfaat Pisang Kepok**

Buah pisang dapat digunakan sebagai alternatif pangan pokok karena mengandung karbohidrat yang tinggi, sehingga dapat menggantikan sebagian konsumsi beras dan terigu. Buah pisang memiliki kandungan karbohidrat buah pisang merupakan karbohidrat kompleks tingkat sedang yang tersedia secara bertahap sehingga dapat menyediakan energi dengan waktu yang tidak terlalu cepat. Dibandingkan dengan karbohidrat yang ada pada gula pasir dan sirup, karbohidrat dalam buah pisang menyediakan energi yang sedikit lambat, namun lebih cepat dari pada nasi, biskuit dan sebagainya. Pisang kepok banyak dikonsumsi dalam bentuk olahan (Prabawati, dkk. 2008)

Pisang juga salah satu jenis buah yang diketahui memiliki kandungan antioksidan, vitamin, dan mineral yang penting bagi tubuh, serta serat yang dibutuhkan oleh tubuh, karena kandungan karbohidrat kompleks dan simpleks ini pisang dapat digunakan sebagai sumber energi untuk meningkatkan daya tahan tubuh (Rianti., 2014)

#### **f) Kandungan Pisang Kepok**

Pisang, termasuk salah satu jenis buah yang nilai gizinya cukup tinggi. Kandungan vitamin dan mineralnya dipercaya mampu menyuplai cadangan energi secara cepat sehingga mudah diserap tubuh ketika

dibutuhkan. Kandungan gizi pisang kepok dalam 100 gram menurut Tabel Komposisi Pangan Indonesia bahan cukup lengkap yaitu meliputi karbohidrat 26,3 g, lemak 0,5 g, protein 0,8 g, kalsium 300 mg, fosfor 30 mg, zat besi 0,5 mg, vitamin C 9 mg, dan serat 5,7 g.

Hasil kandungan zat gizi per 100 gram buah pisang kepok kuning pada Tabel 5. Yang dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Uji kandungan gizi ini dilakukan untuk mengetahui jumlah zat yang terkandung dalam pisang kepok kuning (Wahyuni, dkk. 2015).

Tabel 4. Kandungan zat gizi pisang kepok kuning

Kandungan Zat gizi	% 100 g Pisang Kepok Kuning
Air	65,54
Abu	0,72
Lemak	0,95
Protein	1,75
Karbohidrat	31,04
Jumlah	100 %
Aktifitas Antioksidan	12,35 %
Serat kasar	1,14 %
Inulin	0,13 mg

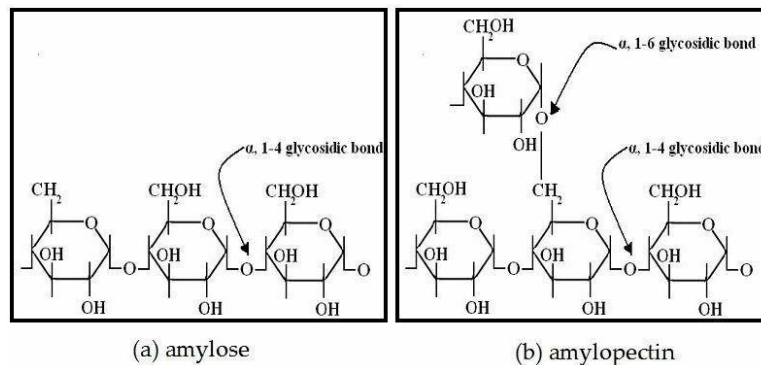
Sumber : Wahyuni , dkk 2015

## Pati

Pati adalah karbohidrat kompleks utama yang tidak larut dalam air, yang berasal dari tanaman atau buah-buahan, bersifat tawar dan tidak berbau memiliki berat molekul tinggi yang terdiri atas polimer glukosa yang bercabang-cabang yang diikat dengan ikatan glukosidik,. Pati termasuk salah satu jenis polisakarida, merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa (sebagai produk fotosintesis) seperti sereal (beras, gandum, jagung), umbi-umbian (ketela pohon, ubi jalar, kentang), dan empulur batang palma (sagu, aren, sagu baruk).

Makhluk hidup menjadikan pati sebagai sumber energi yang sangat penting dalam melakukan aktivitas. Pati yang terdapat pada sebagian besar tanaman ini terdiri atas tiga fraksi penyusun, yaitu amilosa, amilopektin, dan bahan antara seperti protein dan lemak. Pati

tersusun dari dua macam karbohidrat, amilosa dan amilopektin, dalam komposisi yang berbeda-beda.



Gambar 2. Struktur Amilosa dan Amilopektin

Amilosa memberikan sifat keras, dan lengket, dan memberikan warna ungu pekat ketika dilakukan tes iodin. Amilosa merupakan rantai lurus yang terdiri atas molekul-molekul glukosa yang berikatan dengan  $\alpha$ -1,4-D-glukosidik. Jumlah molekul glukosa pada rantai amilosa berkisar antara 250-350 unit. Panjang rantai polimer akan mempengaruhi berat molekul amilosa dan panjang rantai polimer ini sangat dipengaruhi oleh sumber pati.

Amilopektin merupakan polisakarida yang tersusun dari monomer  $\alpha$ -glukosa, merupakan molekul yang sangat besar dan terkandung dalam pati. Walaupun tersusun dari monomer yang sama, amilopektin berbeda dari amilosa, yang terlihat dari karakteristik fisiknya. Secara struktural, amilopektin terbentuk dari rantai glukosa yang terikat dengan ikatan 1,4- glikosidik. Namun demikian, pada amilopektin terbentuk cabang-cabang (sekitar tiap 20 mata rantai glukosa) dengan ikatan 1,6-glikosidik sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4, sehingga struktur molekulnya sangat besar. Amilopektin meningkatkan karakteristik lembab pada makanan, seperti kue.

Pati dapat diaplikasikan dalam berbagai macam produk seperti makanan, kertas, tekstil, bahan perekat, farmasi, dan bahan bangunan. Viskositas/tingkat kekentalan yang dimiliki oleh amilosa cukup tinggi, dan tingkat kelarutannya (solubility) dalam pelarut sangat rendah. Pada suatu makanan atau produk kue, amilosa memberi: efek bentuk,

penampilan, dan rasa. Kandungan amilosa dapat diketahui dengan melakukan tes iodometri. Iodine akan memberikan efek warna biru tua pada pati.

**a) Hidrolisis pati**

Sebagian besar pati yang diperoleh langsung dari tanaman penghasilnya merupakan pati alami. Namun sebagian besar penggunaan pati di industri berupa hidrolisat pati karena memiliki karakteristik dan sifat yang mudah dikontrol dalam pembuatan produk-produk tertentu dengan kualitas yang baik. Salah satu alasannya karena hidrolisat pati merupakan pati alami yang telah mengalami modifikasi seperti penghilangan komponen-komponen minor pada pati sehingga hanya tersisa kandungan amilosa dan amilopektin yang lebih mudah diolah menjadi beberapa produk turunan pati yang dapat diaplikasikan di industri. (Sulistiastutik. , 2020)

Prinsip hidrolisis pati adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit dekstrosa. Pada umumnya hidrolisat pati dikarakterisasi berdasarkan tingkat derajat hidrolisisnya yang dinyatakan dengan nilai DE (dextrose equivalent) yang menunjukkan persentase kandungan dekstrosa murni dalam basis bobot kering pada produk hidrolisis (Kearsley 1995). Dextrose Equivalent (DE) merupakan parameter kemurnian sirup glukosa atau maltosa yang didefinisikan sebagai persentase perbandingan antar gula pereduksi dengan bobot kering sirup glukosa atau maltosa. Jika nilai DE sebesar 100%, maka dapat diartikan seluruh bahan kering pada sirup glukosa merupakan gula pereduksi. (Sulistiastutik, dkk. 2020)

Gula pereduksi merupakan golongan gula yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron. Pada umumnya gula pereduksi mengandung gugus aldehida atau keton bebas. Contoh dari gula pereduksi, antara lain semua monosakarida (glukosa, fruktosa, dan galaktosa) dan disakarida (laktosa dan maltosa). Tinggi rendahnya gula

pereduksi suatu produk dipengaruhi oleh sumber pati dan aktivitas enzim pada tiap komoditas sumbernya. Hubungan antara aktivitas enzim dan gula pereduksi yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin tinggi aktivitas enzim, maka semakin tinggi juga gula pereduksi yang dihasilkan (Lehninger 1982). Nilai DE berhubungan dengan derajat polimerisasi (DP). Nilai DP menyatakan jumlah unit monomer dalam satu molekul.

**b) Pati Resisten**

Salah satu fraksi pati berupa pati resisten secara klinis sudah terbukti dapat meningkatkan imun tubuh. Pati resisten menstimulasi pertumbuhan bakteri probiotik seperti *Lactobacillus plantarum* yang melakukan aksi pemblokiran efek bakteri patogen dan mengatur respon imun bawaan (Setiarto et al., 2015; Yan & Polk, 2011).

Komposisi kimia pati yaitu kadar amilopektin sangat berpengaruh pada kandungan pati resisten. Semakin tinggi kandungan amilopektin maka pati akan semakin sulit (resisten) untuk dicerna. Menurut Winarno (2008) laju hidrolisis oleh enzim alfa amilase akan lebih cepat pada rantai lurus (amilosa) dibandingkan pada rantai yang bercabang (amilopektin) (Musita, 2012).

Keberadaan pati resisten dalam bahan makanan dapat meningkatkan efek fisiologis dari makanan tersebut. Salah satu sifat fisiologis dari pati resisten adalah kemampuannya untuk dapat difermentasi oleh bakteri-bakteri usus yang menguntungkan (Johnson and Southgate, 1994). Di dalam usus kecil pati resisten tidak diserap sehingga tetap utuh sampai di dalam usus dan akan difermentasi oleh bakteri-bakteri menguntungkan seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacilli*, sehingga pati resisten juga berpotensi sebagai prebiotik (Haralampu, 2000). Menurut Gibson and Roberfroid (1995), prebiotik didefinisikan sebagai bahan makanan yang tidak dapat dicerna yang mampu berfungsi sebagai substrat bagi pertumbuhan atau penyeleksian sejumlah bakteri yang menguntungkan yang tumbuh dalam usus manusia.

### c) Pati Resisten Pada Pisang Kepok

Pati resisten merupakan fraksi pati atau produk degradasi pati yang tidak terabsorpsi di dalam usus halus dan memiliki sifat resisten oleh hidralisis enzim pencernaan. Sehingga menyebabkan pati resisten tidak diabsorpsi dan langsung menuju usus besar kemudian terfermentasi oleh mikroflora di dalamnya. Meningkatnya konsentrasi dari asam lemak pendek / Short Chain Fatty Acid (SCFA) khususnya asam butirat merupakan energi bagi sel kolorektal penghambat terjadinya proliferasi sel kanker kolorektal dan menginduksi apoptosis, sehingga mampu menghambat sel kanker semua ini terjadi karena adanya fermentasi pati resisten (Ahsin, dkk, 2020).

Menurut American Association of Cereal Chemist (AACC) (2001), pati resisten merupakan total pati dan pati dari hasil degradasi pati yang tidak dapat diserap oleh usus halus manusia dan lolos ke dalam usus besar (kolon), dan dikategorikan ke dalam serat pangan (dietary fiber). Adanya kandungan pati resisten pada pati pisang ambon, batu, janten, kapas, kapok kuning, kepok manado, muli, nangka, raja bulu, raja sereh, dan janten menunjukkan kesebelas jenis pisang tersebut berpotensi sebagai sumber serat pangan (dietary fiber) dan diharapkan dapat bermanfaat bagi kesehatan manusia. (Musita, 2012).

Tabel 5. Kandungan pati dari hasil penelitian

Jenis Pisang	Rendemen pati (%)	Pati resisten (%)	Daya serap air (ml/g)	Daya Kembang (g/g)
Ambon	8,58	29,37	1.44	2.53
Batu	0,87	39,35	0.80	1.76
Janten	3,95	26,17	-	-
Kapas	5,08	26,55	-	-
Kepok Kuning	22,01	27,70	1.49	2.58
Kepok Manado	12,24	27,21	-	-
Muli	6,62	26,42	-	-
Nangka	3,12	26,28	-	-
Raja Bulu	24,12	30,66	0.89	2.11
Raja Sereh	2,32	25,63	-	-
Tanduk	2,07	29,60	1.32	2.23

Sumber: (Musita, 2012)

### d) Prebiotik Pada Pisang

Serat prebiotik seperti pati resisten yang merupakan fraksi dari pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim  $\alpha$ - amylase sehingga dapat melewati saluran pencernaan dan sampai ke kolon kemudian difermentasi oleh mikroba kolon (Birt, dkk., 2013).

Pati resisten didefinisikan sebagai fraksi pati yang tidak dihidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh pankreas selama 120 menit setelah dikonsumsi. Terdapat beberapa manfaat pati resisten, seperti merangsang pertumbuhan dan / atau aktivitas satu atau lebih jenis bakteri baik meliputi lactobacilli dan bifidobacteria, memiliki efek perlindungan terhadap kanker kolon karena mikroflora mampu mengubah pati resisten menjadi senyawa asam lemak berantai pendek, serta berpotensi sebagai prebiotik (Suloi, 2019).

e) **Kandungan Antioksidan**

Adanya kandungan antioksidan dalam pisang kepok yang melawan efek radikal bebas yang jika terkumpul dalam tubuh dalam waktu yang lama akan berubah menjadi racun. Antioksidan berperan penting dalam melindungi tubuh dari paparan radikal bebas yang nantinya akan bisa menimbulkan berbagai penyakit, mulai dari penyakit ringan hingga penyakit kronis. Antioksidan dinilai mampu meningkatkan imun atau sistem kekebalan tubuh dalam melawan sumber penyakit.

Selain itu antioksidan dapat meredakan inflamasi atau peradangan didalam tubuh, serta perkembangan sel kanker atau tumor dalam tubuh dapat terhambat dengan kandungan antioksidan yang ada dalam pisang kepok ini. Penyakit degeneratif pun bisa diminimalisir oleh pisang kepok kuning kaya akan zat antioksidan seperti karotenoid, flavonoid, polifenol, dan asam askorbat, Antioksidan berfungsi sebagai penetralisir radikal bebas yang dapat memicu timbulnya penyakit degeneratif (Lovabyta, 2017).

**G. Daun Kelor**

1. **Definisi Daun Kelor**

Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Tanaman kelor merupakan tanaman perdu dengan ketinggian 7-11 meter dan tumbuh subur mulai dari dataran rendah sampai ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Kelor mudah ditanam pada banyak jenis cuaca, tanaman tersebut dapat tumbuh pada daerah tropis, subtropis dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan (Aminah et al, 2015).

## 2. **Klasifikasi**

Berdasarkan klasifikasi spesies Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) merupakan tanaman yang berasal dari dataran sepanjang sub Himalaya yaitu India, Pakistan, Bangladesh, dan Afghanistan. (Veronica, 2017)

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lam

## 3. **Morfologi**

### a) Batang

Kelor termasuk jenis tumbuhan perdu yang dapat memiliki ketinggian batang 7 - 12 meter tumbuhan yang berbatang dan termasuk jenis batang berkayu, sehingga batangnya keras dan kuat. Bentuknya sendiri adalah bulat (teres) dan permukaannya kasar. Arah tumbuhnya lurus ke atas atau biasa yang disebut dengan tegak lurus (*erectus*).

Percabangan pada batangnya merupakan cara percabangan simpodial dimana batang pokok sukar ditentukan, karena dalam



perkembangan selanjutnya batang pokok menghentikan pertumbuhannya atau mungkin kalah besar dan kalah cepat pertumbuhannya dibandingkan cabangnya. Arah percabangannya tegak (*fastigiatus*) karena sudut antara batang dan cabangamat kecil, sehingga arah tumbuh cabang hanya pada pangkalnya saja sedikit lebih serong ke atas, tetapi selanjutnya hampir sejajar dengan batang pokoknya (Krisnadi, 2015)

b) Daun

Daun majemuk, bertangkai panjang, tersusun berseling (*alternate*), beranak daun gasal (*imparipinnatus*), helai daun saat muda berwarna hijau muda - setelah dewasa hijau tua, bentuk helai daun bulat telur, panjang 1 - 2 cm, lebar 1 - 2 cm, tipislemas, ujung dan pangkal tumpul (*obtusus*), tepi rata, susunan pertulangan menyirip (*pinnate*), permukaan atas dan bawah halus. (Krisnadi, 2015)

Jenis daun bertangkai karena hanya terdiri atas tangkai dan helaian saja. Tangkai daun berbentuk silinder dengan sisi atas agak pipih, menebal padapangkalnya dan permukaannya halus. Bangun daunnya berbentuk bulat atau bundar (*orbicularis*), pangkal daunnya tidak bertoreh dan termasuk ke dalam bentuk bangun bulat telur. Ujung dan pangkal daunnya membulat (*rotundatus*) dimana ujungnya tumpul dan tidak membentuk sudut sama sekali, ujung daun membentuk busur (Krisnadi, 2015).

Susunan tulang daunnya menyirip (*penninervis*), dimana daun Kelor mempunyai satu ibu tulang yang berjalan dari pangkal ke ujung, dan merupakan terusan tangkai daun. Kelor mempunyai tepi daun yang rata (*integer*) dan helaian daunnya tipis dan lunak. Berwarna hijau tua atau hijaukecoklatan, permukaannya licin (*laevis*) dan berselaput lilin (*pruinosis*) (Krisnadi, 2015).

c) Bunga

Bunga muncul di ketiak daun (*axillaris*), bertangkai panjang, kelopak berwarna putih agak krem, menebar aroma khas. Bunganya berwarna putih kekuning-kuningan terkumpul dalam pucuk lembaga

di bagian ketiak dan tudung pelepah bunganya berwarna hijau. Malai terkulai 10 – 15 cm, memiliki 5 kelopak yang mengelilingi 5 benang sari dan 5 *staminodia*. Bunga Kelor keluar sepanjang tahun dengan aroma bau semerbak

d) Buah atau Polong

Kelor berbuah setelah berumur 12 - 18 bulan. Buah atau polong Kelor berbentuk segi tiga memanjang yang disebut kluentang (Jawa) dengan panjang 20 - 60 cm, ketika muda berwarna hijau - setelah tua menjadi coklat, biji didalam polong berbentuk bulat, ketika muda berwarna hijau terang dan berubah berwarna coklat kehitaman ketika polong matang dan kering. Ketika kering polong membuka menjadi 3 bagian. Dalam setiap polong rata-rata berisi antara 12 dan 35 biji. (Krisnadi, 2015)

4. **Kandungan dan Manfaat Daun Kelor**

Kelor dikenal di seluruh dunia sebagai tanaman fungsional yang sangat bergizi dan berkhasiat. WHO telah memperkenalkan kelor sebagai salah satu pangan alternatif untuk mengatasi masalah gizi (malnutrisi). Di Afrika dan Asia. Daun kelor direkomendasikan sebagai suplemen yang kaya zat gizi untuk ibu menyusui dan anak pada masa pertumbuhan. Semua bagian dari tanaman kelor memiliki nilai gizi, berkhasiat untuk kesehatan dan manfaat dibidang industri (Aminah et al, 2015).

Daun kelor sebagai sumber antioksidan alami yang baik karena kandungan berbagai jenis senyawa antioksidan pada daun kelor seperti asam askorbat, flavonoid, fenolik, dan karotenoid. Tingginya konsentrasi asam askorbat, zat estrogen dan  $\beta$ -sitosterol, besi, kalium, fosfor, tembaga, vitamin A, B, C yang membuat daun kelor memiliki banyak manfaat bagi kesehatan (Veronica, 2017).

**H. Kombinasi Prebiotik dan Serbuk Kelor**

Prebiotik dapat ditemukan dalam bentuk serat pangan pada sayuran dan buah-buahan. Prebiotik secara selektif mampu meningkatkan pertumbuhan bakteri menguntungkan pada saluran pencernaan. Pemanfaatan bakteri probiotik dan senyawa prebiotik pada buah pisang terutama bagian buahnya

terbukti memiliki efek prebiotik. Hasil pengujian oleh berbagai peneliti menunjukkan bahwa buah pisang dapat secara selektif meningkatkan pertumbuhan probiotik *Lactobacillus* dan atau *Bifidobacterium*. Bentuk ekstrak yang dinyatakan memiliki efek prebiotik adalah serbuk buah utuh (Sumardi, dkk. 2022)

Tanaman kelor mengandung banyak zat gizi yang bermanfaat dan sudah digunakan sejak jaman dahulu sebagai obat untuk mencegah atau menyembuhkan berbagai penyakit. Salah satu manfaat daun kelor adalah sumber antioksidan. Beberapa senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan pada daun kelor adalah tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid. Semakin banyak konsentrasi ekstrak daun kelor yang diberikan maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Penggunaan ekstrak daun kelor dalam penelitian ini bertujuan untuk memperkaya manfaat aktivitas antioksidan (Dewi, 2023)

## **I. Hubungan Kandungan Pisang Kepok dengan Mikrobiota Usus**

Pisang telah lama direkomendasikan sebagai suplemen makanan bagi para penderita gangguan pencernaan (Witono dkk., 2012).

### **1. Kandungan Prebiotik Pisang Kepok**

Pisang merupakan salah satu prebiotik yang baik, prebiotik merupakan nutrisi untuk bertumbuhnya bakteri baik dalam usus yang bermanfaat bagi kesehatan. Hal ini karena pisang mengandung fruktooligosakarida sebesar 0,3% sebagai prebiotik (Hidayati, 2015). Selain itu, pisang kepok merupakan jenis pisang plantain yang memiliki kandungan pati resisten dan serat yang tinggi.

Penelitian hardisari (2016) menunjukkan, bahwa syarat prebiotik yang baik yaitu tidak dapat dihidrolisa di saluran gastrointestinal atas, dapat dicerna oleh bakteri baik yang ada di kolon, sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen. Semakin banyak penambahan tepung pisang kepok, maka jumlah bakteri *Lactobacillus casei* juga semakin tinggi, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Lactobacillus casei* juga memiliki enzim *alfa-galaktosidase* yang dapat memecah ikatan *alfa-galaktosidase* yang dapat memecah polisakarida menjadi galaktosa, glukosa, dan fruktosa. Glukosa digunakan sebagai nutrisi pertumbuhan

*Lactobacillus casei*, sehingga dengan penambahan tepung pisang kepok jumlah bakteri *Lactobacillus casei* semakin banyak.

## 2. Sumber Nutrisi Mikrobiota Usus Sebagai Perkembangan Antibodi

Buah pisang mengandung serat yang tinggi sebanyak serat 5,7 g menurut tabel komposisi pangan Indonesia yang berperan penting dalam melancarkan pencernaan karena memiliki fungsi untuk mengikat air dalam usus besar. Serat yang terkandung dalam pisang juga berperan sebagai prebiotik (serat dari tanaman khusus), dimana prebiotik sendiri berperan sebagai sumber makanan yang berguna untuk mendorong terbentuknya mikrobiota bakteri baik. Mikrobiota/bakteri baik ini biasa disebut dengan probiotik yang ada di dalam usus sehingga dengan adanya prebiotik, pertumbuhan probiotik akan meningkat. Jumlah bakteri baik (probiotik) dan prebiotik yang seimbang tentunya akan menunjang kesehatan usus dan melancarkan pencernaan.

Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (FAO/WHO, 2002; ISAPP, 2009) dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan (Shitandi et al., 2007; Dommels et al., 2009; Weichselbaum, 2009).

Mikrobiota pada usus salah satunya *Lactobacillus* telah lama dikenal sebagai flora normal yang berfungsi sebagai agen probiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi seperti diare. *Lactobacillus* dapat berfungsi untuk kekebalan tubuh karena bakteri ini mampu merangsang pembentukan antibodi yang mencegah kelebihan pertumbuhan bakteri berbahaya, mencegah timbulnya infeksi saluran kemih, meningkatkan perlindungan terhadap patogen, virus dan bakteri jahat, memulihkan keseimbangan usus setelah pemberian antibiotik, kemoterapi, mencegah pembentukan gas akibat pembusukan (Rusli, dkk. 2018)

Peningkatan daya tahan tubuh oleh *Lactobacillus* berhubungan dengan tingkat IgA. Bakteri probiotik juga menstimulasi produksi sitokin

dalam darah dan meningkatkan aktivitas makrofag. Menjaga sistem pencernaan dilakukan guna memperbaiki daya tahan tubuh diperlukan karena produksi antibodi dan populasi sel penghasilnya paling banyak ditemukan di saluran cerna (Subianto, 2018).

#### **K. Tikus Sebagai Hewan Coba**

Tikus digunakan untuk uji coba tentang makanan dan defisiensi zat makanan pada semua jenis hewan termasuk manusia. Tikus memiliki kesamaan dengan manusia dalam sistem reproduksi, sistem saraf, penyakit misalnya kanker dan diabetes, dan kecemasannya. Hal ini terjadi karena adanya kesamaan organisasi DNA dan ekspresi gen di mana 98% gen manusia memiliki gen sebanding dengan gen tikus (Rejeki., 2019). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba karena mempunyai respon yang cepat serta dapat memberikan gambaran secara ilmiah, yang mungkin terjadi pada manusia maupun hewan lain.

Karantina bagi binatang penting dilakukan, stabilisasi dilakukan pada tikus selama 3–5 hari untuk mengurangi stressor yang didapatkan tikus karena perbedaan lingkungan baru di tempat penelitian dan lingkungan sebelumnya. Selain mengurangi stressor handling, hal ini juga mempermudah tikus bereaksi terhadap stimulus yang digunakan pada penelitian (Rejeki., 2019).

Tiga hari masa aklimasi merupakan waktu minimal yang dibutuhkan tikus untuk beradaptasi, walaupun beberapa binatang percobaan kadang memerlukan masa aklimasi yang lebih panjang, disesuaikan dengan prosedur penelitian, dan sistem organ atau parameter fisiologi yang diteliti. Tikus memiliki nilai-nilai fisiologi normal yang dapat dijadikan patokan dalam menentukan kriteria inklusi penelitian dan pemberian intervensi (Rejeki., 2019).

Suhu tubuh	99,9°F (37,3°C)
Denyut jantung	300–500 bpm
Respirasi	70–150 kali per menit
Berat dewasa	267–500 gram (jantan) 225–325 gram (betina)

Masa hidup	2–3 tahun (tikus betina dapat hidup lebih lama)
Target suhu lingkungan	50–68°F (18–26°C)
Target kelembapan lingkungan	40–70%
Gestasi	20–22 hari
Minum	22–33 ml/hari

**a) Penggunaan Hewan Coba Tikus Wistar Betina**

Kelebihan dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai binatang percobaan antara lain bersifat omnivora (pemakan segala), mempunyai jaringan yang hampir sama dengan manusia, dan gizi yang dibutuhkan juga hampir sama dengan manusia. Selain itu dari segi ekonomi memiliki harga yang murah, ukuran yang kecil, dan berkembang dengan cepat. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) percobaan galur Wistar yang dikembangkan secara luas sangat mudah menyesuaikan diri dengan lingkungan. Makanan tikus putih (*Rattus norvegicus*) juga mempunyai variasi susunan, meliputi: protein 20-25 %, karbohidrat 45- 50%, serat 5%. Setiap hari seekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa membutuhkan makanan antara 12-20 gr, air minum antara 20-45 ml, mineral berupa besi sebesar 35 mg/kg

Sindrom iritasi usus besar (IBS) merupakan salah satu gangguan fungsional usus yang paling umum. Gender tampaknya memainkan peran penting dalam IBS dua pertiga penderita IBS adalah perempuan. Bukti yang mendukung perbedaan gender dalam fungsi usus (motilitas, waktu transit), sensitivitas nyeri viseral dan somatik, karakteristik psikologis, dan respons terhadap terapi.

Di antara pasien IBS, wanita lebih cenderung mengalami gejala parah dan disertai kecemasan atau depresi; sembelit atau kembung, mungkin sebagian karena gangguan buang air besar, yang menyebabkan sembelit, sering terjadi pada wanita. Konsep saat ini menunjukkan bahwa gangguan biologis (misalnya peradangan mukosa persisten setelah gastroenteritis akut) berinteraksi dengan faktor lingkungan lain dan stresor psikologis, yang mempengaruhi

otak dan usus untuk mengubah motilitas dan/atau sensasi saluran pencernaan, sehingga menyebabkan gejala (Narayana, et. All. 2022)

Menurut penelitian Yessi, dkk, 2017. Adanya Perbedaan dosis ekstrak etanol daun dewa pada kelompok tikus jantan sebesar 15 g/kgBB dan tikus betina 3,75 g/kgBB. Hal ini memperlihatkan perbedaan sensitivitas organ, yaitu lambung antara kedua kelompok jenis kelamin, dan tikus betina memiliki kerentanan yang lebih besar dibandingkan dengan tikus jantan.

b) **Intervensi Tikus Selama 50 hari**

Makanan dan minuman yang mengandung probiotik memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, seperti membantu proses sistem pencernaan dan penyerapan nutrisi. Selain itu, produk probiotik tersebut dapat menghambat patogen di saluran pencernaan (yaitu *Escherichia coli* , *Streptococcus aureus* , *Salmonella typhimurium* , *Vibrio cholerae* , dan *Mycobacterium tuberculosis* ). Selain itu, mengonsumsi makanan atau minuman yang mengandung probiotik dapat mencegah sembelit, kanker, kadar kolesterol darah berlebih, intoleransi laktosa, dan meningkatkan respon imun

Berdasarkan Penelitian yang dilakukan Rahmawai, dkk., 2022 menunjukkan hasil Hasil penelitian bahwa pemberian yang mengandung probiotik memberikan hasil pemeriksaan hematologi, mampu menjaga jumlah trombosit, leukosit, limfosit, neutrofil, dan monosit. Signifikansi statistik diperoleh ketika tikus yang terinfeksi diberikan dosis  $\pm 1,00$  mL/hari selama tujuh hari pengobatan

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian dengan desain *True Experimen*, menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan 5 perlakuan yaitu: P0 = Tikus sehat+. Pakan standar, P1=Pakan standar+ Paparan DSS P2= Pakan Standar + DSS +prebiotik pisang kepok kelor (PKK) dosis 1 (rendah); P3=. Pakan standar+DSS+PKK dosis 2 (sedang), P4=Pakan standar+DSS+PKK dosis 3 (tinggi). Penelitian ini menggunakan tikus putih strain Wistar betina dengan berat kurang lebih 80-150 g usia 6-8 minggu. Setiap perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus yang masing-masing diberikan pakan standar dan pati resisten sesuai perlakuan. Pada masa aklimatisasi tikus diberikan pakan standar selama 1 minggu, dilanjutkan dengan pemberian pakan dan tambahan prebiotik pisang kepok kelor sebagaimana tercantum selama 4 minggu (30 hari). DSS sebagai agent infeksi diinjeksi selama 5 hari berturut-turut.

Populasi penelitian ini yaitu tikus wistar betina. Besar sampel dalam penelitian ini menggunakan 5 taraf perlakuan. Masing-masing taraf perlakuan dibutuhkan 6 ekor tikus dengan jumlah sampel 30 ekor tikus.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

- 1) Pembuatan Bahan Intervensi dilaksanakan di Laboratorium Kimia, Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Kuliner Jurusan Gizi Poltekkes Malang (Mei 2024).
- 2) Pemberian intervensi ke tikus (hewan coba) di Lab LPHC (Laboratorium Pengembangan Hewan Coba - FKUB) sejak Juni- Juli 2024
- 3) Pemeriksaan specimen tikus dilakukan di Lab. Mikrobiologi dan Lab. Patologi Klinik FK-UB.



## C. Populasi dan Sampel

### 1. Populasi

Populasi penelitian ini yaitu tikus wistar betina. Besar sampel dalam penelitian ini menggunakan 5 taraf perlakuan. Masing-masing taraf perlakuan dibutuhkan 6 ekor tikus dengan jumlah sampel 30 ekor tikus.

### 2. Sampel

Sampel (subyek penelitian) yang digunakan adalah hewan coba, yaitu tikus putih betina Strain Wistar betina dengan usia 6-8 minggu yang memiliki bobot badan 80-150 g. Penggunaan tikus betina karena wanita lebih cenderung mengalami gejala parah gangguan biologis (misalnya peradangan mukosa persisten setelah gastroenteritis akut) berinteraksi dengan faktor lingkungan lain dan stresor psikologis, yang mempengaruhi otak dan usus untuk mengubah motilitas dan atau sensasi saluran pencernaan.

Cara pengambilan sampel dengan metode simple random sampling. Besar sampel yang digunakan dengan cara menghitung berdasarkan rumus *federer* yaitu

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

$$(4 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan : t= jumlah kelompok tikus, n= besar sampel per kelompok

Sehingga besar sampel ideal menurut rumus *federer* adalah 6 ekor tikus. Dengan demikian jumlah tikus semua kelompok adalah 24 ekor, untuk mengantisipasi adanya sampel yang gugur karena sakit saat penelitian, peneliti menambah 10% dari jumlah sampel tiap kelompok (2 ekor) sehingga jumlah tikus wistar betina keseluruhan menjadi 32 ekor.

Jadi total =

$$6 + 2 = 8 \text{ per kelompok}$$

$$8 \times 4 = 32 \text{ ekor}$$

### **3. Kriteria inklusi eksklusi**

#### **a. Kriteria inklusi**

Tikus betina

Galur \ strain wistar

Berusia 50-55 hari (6-8 minggu)

Berat badan 80-150 g

Secara makroskopis tidak ada kelainan morfologi

#### **b. Kriteria eksklusi**

Mengalami kondisis sakit dan mati saat penelitian berlangsung

Tidak mau makan selama 2-3 hari berturut-turut

### **4. Besar sampel**

Populasi penelitian ini yaitu tikus wistar betina. Besar sampel dalam penelitian ini menggunakan 5 taraf perlakuan. Masing-masing taraf perlakuan dibutuhkan 6 ekor tikus dengan jumlah sampel 30 ekor tikus.

### **D. Alat dan bahan penelitian**

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah alat dan bahan. Rincian alat dan bahan adalah sebagai berikut:

#### **1. Alat**

##### **a. Pemeliharaan tikus putih:**

Kandang tikus wistar individu dan tempat makanan, tempat minuman.

##### **b. Perlakuan pada tikus putih**

Neraca analitik, alat homogenisasi, sonde lambung, tabung, sonde, mikropipet, vortex, gelas kaca, spuit 1 cc steril, seperangkat alat bedah steril, pipet pasteur, pipet eppendorf, petridish, inkubator, ose.

##### **c. Pengambilan data spesimen**

Gunting medis, sarung tangan, pinset, spuit 3 ml.

##### **d. Alat pelindung diri peneliti**

Masker, penutup kepala, alas kaki khusus laboratorium, jas laboratorium, dan handscoon.

**2. Bahan:**

- a. Tikus putih yang diperoleh dari Peternak Lokal Bandung yang telah tersertifikat dan dilampirkan hasil pemeriksaan dokter hewan, Strain Wistar, Jenis Kelamin Betina, Berat 80-120 gram, usia 5-6 minggu
- b. Serbuk ekstrak pati resisten pisang kepok daun kelor dibuat di Laboratorium Kimia Poltekkes Kemenkes Malang.
- c. Sampel spesimen berupa darah, organ sekum dan feses Tikus wistar betina.
- d. Reagen Yang Digunakan Alkohol 70%, Media Macconkey, Larutan NaCl Fisiologis steril Alat pemberian intervensi melalui oral tikus adalah sonde dengan spuit jarum dengan ujungnya bulat.
- e. Pakan standar yang digunakan adalah COMFEED AD II. COMFEED AD II mengandung karbohidrat 51%, protein kasar 15%, lemak kasar 7% dan serat kasar 6%

**E. Variable penelitian**

**1. Variable Bebas**

Variable independent (bebas) dalam penelitian ini adalah pemberian prebiotik pati resisten pisang kepok kelor

**2. Variable Terikat**

Variable dependent (terikat) dalam penelitian ini adalah profil darah seperti : kadar hemoglobin, berat badan dan jumlah mikrobiota

**F. Definisi Operasional Variabel**

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah komposisi pati resisten pada Ekstrak pati pisang kepok daun kelor dan efek suplemen terhadap mikrobiota usus tikus dan profil darah tikus setelah intervensi suplemen.

Tabel 6. Definisi Operasional Variable

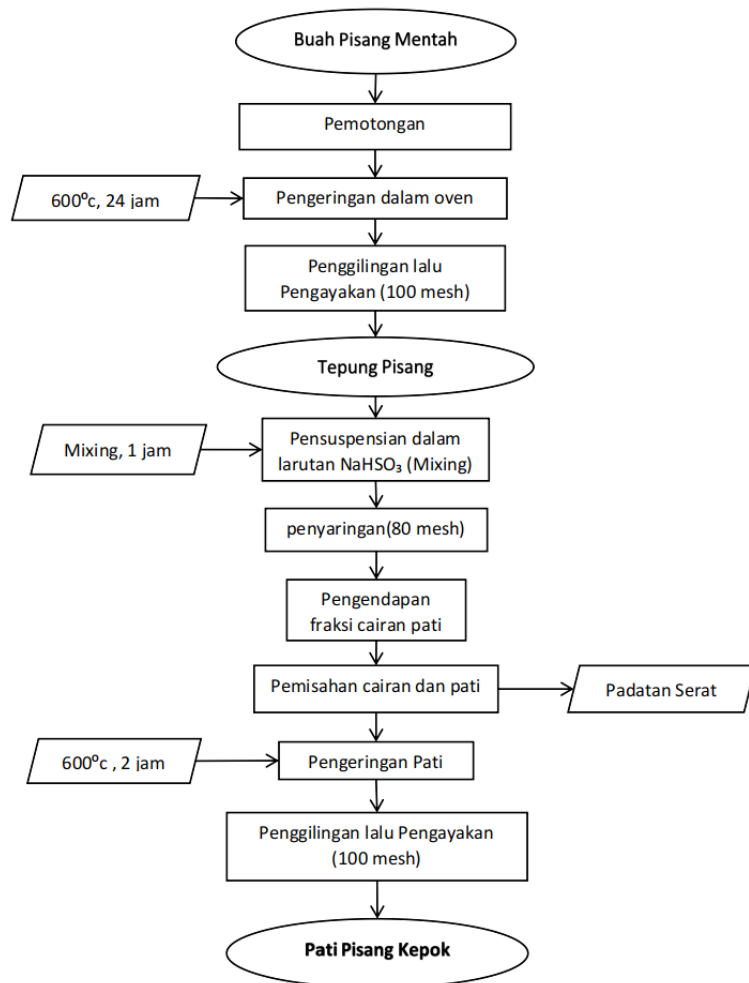
<b>Variable</b>	<b>Definisi Operasional</b>	<b>Metode dan alat ukur</b>	<b>Skala ukur</b>
Pemberian ekstrak pati resisten pisang kepok kelor	Pemberian ekstrak pati resisten pisang kepok kelor dengan 3 taraf perlakuan yang	Mengukur pemberian pati resisten kepok kelor (P1: diinduksi DSS 5% (waktu 5 hari) + pakan standart +	Rasio

	diberikan selama 50 hari.	prebiotik kepok kelor (0,1 mg/kgBB), P2: diinduksi DSS 5% (waktu 5 hari) + pakan standart + prebiotik kepok 0,05 mg/kgBB), P3: diinduksi DSS 5% (waktu 5 hari) + pakan standart + prebiotik kepok kelor (0,2 mg/kgBB).	
Profil Darah Lengkap	Perubahan Kadar Leukosit, Eritrosit, Trombosit, Hemoglobin, Limfosit, Fe, TIBC darah pada tikus tiap kelompok pelakuan dilakukan pada akhir penelitian	Kadar Hemoglobin dalam serum tikus wistar betina yang dilihat dari hasil laboratorium dengan menggunakan Analisis Complete Blood Cell	Rasio
Berat Badan	Perubahan ukuran yang diperlukan untuk pengukuran pertumbuhan fisik tikus diperoleh dari hasil.	penimbangan tikus 1 minggu sekali menggunakan timbangan digital	Rasio
Mikrobiota	Perubahan jumlah microbiota intestine (Lactobacillus sp dan Bifidobacteria)	Culture biakan bakteri enterobakteri (Salmonellaa, e-coli, Enterobacter) dan kultur biakan microbiota (lactobacillus dan bifidobanteria)	

## **G. Prosedur penelitian**

### **1. Prosedur pembuatan pati pisang kepok**

- a. Prosedur laboratorium pembuatan ekstrak pati pisang
  - a) Buah pisang yang mentah dikupas dari kulitnya,
  - b) Dipotong-potong menjadi kubus-kubus berukuran 2 cm<sup>3</sup> dan dikeringkan dalam oven pada suhu 600°C selama 24 jam.
  - c) Kubus-kubus pisang yang sudah kering kemudian digiling dan diayak dengan ayakan 100 mesh untuk mendapatkan tepung pisang.
  - d) Lima ratus gram tepung pisang disuspensikan dalam larutan sodium bisulfit pada konsentrasi tertentu sambil diaduk pada kecepatan tetap selama 1 jam.
  - e) Selanjutnya, suspensi dilewatkan pada ayakan 80 mesh untuk memisahkan fraksi padatan yang mengandung serat dan fraksi cairan yang mengandung pati.
  - f) Fraksi cairan dibiarkan untuk mengendap selama 4 jam, dan beningnya dipisahkan dengan penyedotan menggunakan pipa kecil.
  - g) Cairan yang masih tertinggal bersama pati dicuci sebanyak 3 kali dengan menggunakan akuades baru, kemudian pati dipisahkan dengan air pencucian.
  - h) Pati dikeringkan dalam oven pada 600°C selama 2 jam. Pati yang sudah kering digiling dan dilewatkan pada ayakan 100 mesh dan ditimbang.
  - i) Setelah itu, pati disimpan dalam wadah yang kedap udara.



## 2. Prosedur Pada Hewan Coba

Semua tikus ditimbang berat badannya setiap satu minggu sekali Sedangkan untuk pengukuran mikrobiota di feses dan sekum (usus besar) dilakukan 1 kali yaitu pada akhir intervensi. Pemeriksaan dengan menggunakan sampel darah untuk profil darah lengkap, feses dan sekum dilakukan setelah 50 hari pemeliharaan dan intervensi tikus. Demikian juga dengan pembedahan pada sekum untuk mengetahui pertumbuhan mikrobiota.

### 1. Pemeliharaan awal hewan coba

Dua puluh delapan tikus diaklimatisasi di ruang aklimatisasi Laboratorium Pengembangan Hewan Coba (LPHC) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tikus ditempatkan pada kandang berventilasi cukup selama 7 hari . Tikus diberikan pakan standar AD II dan minum air mineral selama masa aklimatisasi.

Berat badan ditimbang dan dicatat saat awal datang, kemudian dilakukan setiap 3 hari saat dimulai perlakuan. Pakan standar diberikan sebanyak 30 g dan selanjutnya diberikan secara terus menerus hingga hewan coba berhenti sendiri sesuai keinginannya.

Suhu ruang aklimatisasi 20-22°C dan siklus pencahayaan 12 jam (siklus terang 07.00-19.00). Pembersihan kandang dilakukan setiap hari sekali oleh tim peneliti bersama petugas laboratorium yang telah ditunjuk oleh kepala laboratorium.

2. Pemberian Perlakuan
  - a. P0 = Kontrol negative = tikus sehat (tanpa infeksi DSS) dan tanpa PKK
  - b. P1 =Perlakuan kelompok kontrol positif : diinduksi dengan DSS 5% (dalam waktu 5 hari) + pakan standart.
  - c. Perlakuan kelompok model 1 : Perlakuan kelompok model : diinduksi dengan DSS 5% (waktu 5 hari) + pakan standart + prebiotik kepok kelor dosis 1 (0,1 mg/kgBB) .
  - d. Perlakuan kelompok model 2 : Perlakuan kelompok model : diinduksi dengan DSS 5% (waktu 5 hari) + pakan standart + prebiotik kepok kelor dosis 2 (0,05 mg/kgBB).
  - e. Perlakuan kelompok model 3 : Perlakuan kelompok model : diinduksi dengan DSS 5% (waktu 5 hari) + pakan standart + prebiotik kepok kelor dosis 3 (0,2 mg/kgBB).
  - f. Intervensi prebiotik kepok kelor diberikan secara oral dengan mencampurkan PKK ke pakan standar. Periode intervensi dilakukan selama 30 hari dengan pemberian intervensi per oral dicampur pakan sesuai dosis pada tiap kelompok perlakuan.
3. Pembedahan dan Pengumpulan Specimen darah, feses dan sekum
  - a. Cara pengambilan sampel darah dilakukan pada akhir penelitian. Sampel darah diambil melalui jantung, darah yang keluar ditampung pada tabung apendorf.

- b. Periode pembedahan dan pengumpulan specimen darah, feses dan sekum (dilakukan dengan membius tikus dan dikerjakan oleh analis Laboratorium Pengembangan Hewan Coba)
- c. Tahap pemeriksaan specimen. Spesimen darah dan sekum diperiksa di Laboratorium Patologi Klinik FKUB sedangkan sekum dan feses dianalisis di Lab Mikrobiologi FKUB

**H. Perhitungan dosis ekstrak pati pisang kepok daun kelor**

Faktor Konversi pada BB tikus 100g yaitu faktor konversi manusia BB 70 kg ke tikus 200 g adalah 0,018.

Berat badan tikus yang digunakan rata-rata 100 g

$$\frac{100g}{200g} \times 0,018 = 0,009 \text{ mg}$$

Dosis sedang untuk pati kepok kelor

$$\frac{0,009}{11g} \times 0,099 = 0,1 \text{ mg}$$

Dosis rendah pati kepok kelor

$$\frac{0,1g}{2} = 0,05 \text{ mg}$$

Dosis tinggi pati kapok kelor

$$0,1g \times 2 = 0,2 \text{ mg}$$

Dosis pemberian pati pisang kepok kelor didasarkan pada dosis efektif pada penelitian sebelumnya dalam meningkatkan jumlah mikrobiota usus.

**Pemeriksaan Mikrobiota Usus (Sekum)**

KEGIATAN	PROSEDUR
Membuat Media MRS Agar	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menimbang MRS Agar Base 62 gram</li> <li>2. Memasukkan kedalam botol tutup ulir 1 lt</li> <li>3. Menambahkan Aquadest pelan-pelan sambil botol digoyang untuk membantu kelarutan agar base sampai ad 1000 ml</li> <li>4. Mengukur pH media ad 7,4</li> <li>5. Melarutkan media pada hot plate stirer suhu 100 °C kecepatan putaran 150 rpm selama 15 menit atau sampai media terlarut sempurna</li> <li>6. Mensterilisasi media dalam Autoclave 121 °C, 1 atm selama 15 menit</li> <li>7. Mendinginkan media hingga suhu 45 °C atau hangat-hangat kuku</li> </ol>



	8. Media siap digunakan untuk uji TPC
Menimbang Sampel Feces dan Usus mencit	<p>Menimbang Sampel</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menekan tombol on pada timbangan digital</li> <li>2. Menekan panel auto zero</li> <li>3. Meletakkan aluminium foil sebagai tempat sampel diatas meja timbang</li> <li>4. Mengembalikan kembali dengan menekan panel autozero</li> <li>5. Dengan sendok plastic mengambil sampel feces dan meletakkannya diatas aluminium foil</li> <li>6. Menimbang sampel 0,1 gram / sampel feces mencit</li> <li>7. Memasukkan sampel pada tabung NaCl 0,9 % 9,9 ml</li> <li>8. Menghomogenkan sampel uji dengan memvortex sampai sampel benar-benar terlarut sempurna</li> </ol>
Membuat pengenceran bertingkat	<p>Pengenceran Bertingkat</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sampel uji feces 0,1 dalam NaCl 0,9 % 9,9 ml dipipet 1 ml dimasukkan kedalam tabung NaCl 0,9 ml, menghomogenkan dengan memvortex hingga terlarut sempurna</li> <li>2. Dari sampel pada pengenceran poin 1, dipipet 1ml kembali dimasukkan pada NaCl 0,9 ml 9ml</li> <li>3. Sudah didapatkan hasil pengenceran bertingkat : <math>10^{-2}</math> s.d <math>10^{-4}</math></li> <li>4. Memipet dari masing-masing sampel pengenceran sebanyak 1 ml sampel masukkan kedalam cawan petri steril dan diberi label <math>10^{-2}</math>, <math>10^{-3}</math>, <math>10^{-4}</math></li> </ol>
Mengkultur TPC dengan Bakteri Target Lactobacillus spp. i metode Pour Plate	<p>Mengkultur TPC Sampel Uji Metode Pour Plate</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Memipet sampel uji masing-masing 1 ml dari tabung pengenceran <math>10^{-2}</math>, <math>10^{-3}</math>, <math>10^{-4}</math></li> <li>2. Memasukkan kedalam cawan petri steril sesuai label seri pengenceran</li> <li>3. Menambahkan kurang lebih 20 ml Media MRS Agar yang masih cair /suhu <math>45^{\circ}\text{C}</math> (hangat-hangat kuku)</li> <li>4. Menncampurkan supaya homogen sampel uji dengan MRSAgar dengan cara mengoyang pelan-pelan searah jarum jam cawan petri selama 10 kali putaran</li> <li>5. Mendinginkan sampai media benar-benar memadat</li> <li>6. Setelah dipastikan media memadat, media berisi sampel uji tersebut diinkubasikan <math>37^{\circ}\text{C}</math> selama 2 x 24 Jam</li> </ol>

	<ol style="list-style-type: none"> <li>7. Koloni yang tumbuh pada media MRS Agar di setiap label seri pengenceran dihitung dengan Colony Counter</li> <li>8. Semua koloni yang tumbuh di medium MRS Agar dihitung kecuali jika ditemukan pertumbuhan koloni yang melebihi kapasitas cawan petri (Over Capacity : &gt;&gt;300 CFU/plate)</li> <li>9. Pada setiap 3 seri pengenceran seharusnya didapatkan minimal 1 seri pengenceran yang dapat dihitung</li> <li>10. Jika didapatkan hasil ketiga seri pengenceran tidak terdapat pertumbuhan maka dianggap seri pengenceran terlalu tinggi, maka dilakukan kultur ulang dengan sampel seri pengenceran dibawahnya /seri yang lebih kecil</li> <li>11. Jika didapatkan ketiga seri pengenceran semuanya over capacity (&gt;&gt;300 CFU/Plate) maka dilakukan kultur ulang dengan sampel seri pengenceran diatasnya</li> <li>12. Pertumbuhan koloni yang dapat dihitung 30 s.d 300 CFU/plate</li> </ol>
Membuat Media EMB Agar	<p>Menimbang Media EMB Agar Base 37 gram  Masukkan kedalam botol tutup ulir 1 lt  Menambahkan Aquadest pelan-pelan sambil botol digoyang untuk membantu kelarutan agar base sampai ad 1000 ml  Mengukur pH media ad 7,4  Melarutkan media pada hot plate stirer suhu 100 °C kecepatan putaran 150 rpm selama 15 menit atau sampai media terlarut sempurna  Mensterilisasi media dalam Autoclave 121 °C, 1 atm selama 15 menit</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>9. Mendinginkan media hingga suhu 45 °C atau hangat-hangat kuku</li> <li>10. Media siap digunakan untuk uji TPC</li> </ol>
Mengkultur TPC dengan Bakteri Target Coliform.metode Pour Plate	<p>Mengkultur Total Plate Count Bakteri Target Coliform Sampel Uji Metode Pour Plate</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Memipet sampel uji masing-masing 1 ml dari tabung pengenceran <math>10^{-2}</math>, <math>10^{-3}</math>, <math>10^{-4}</math></li> <li>2. Memasukkan kedalam cawan petri steril sesuai label seri pengenceran</li> <li>3. Menambahkan 20 ml Media EMB Agar yang masih cair /suhu 45 °C (hangat-hangat kuku)</li> <li>4. Menncampurkan supaya homogen sampel uji dengan EMB Agar dengan cara mengoyang pelan-pelan searah jarum jam cawan petri selama 10 kali putaran</li> <li>5. Mendinginkan sampai media benar-benar memadat</li> </ol>

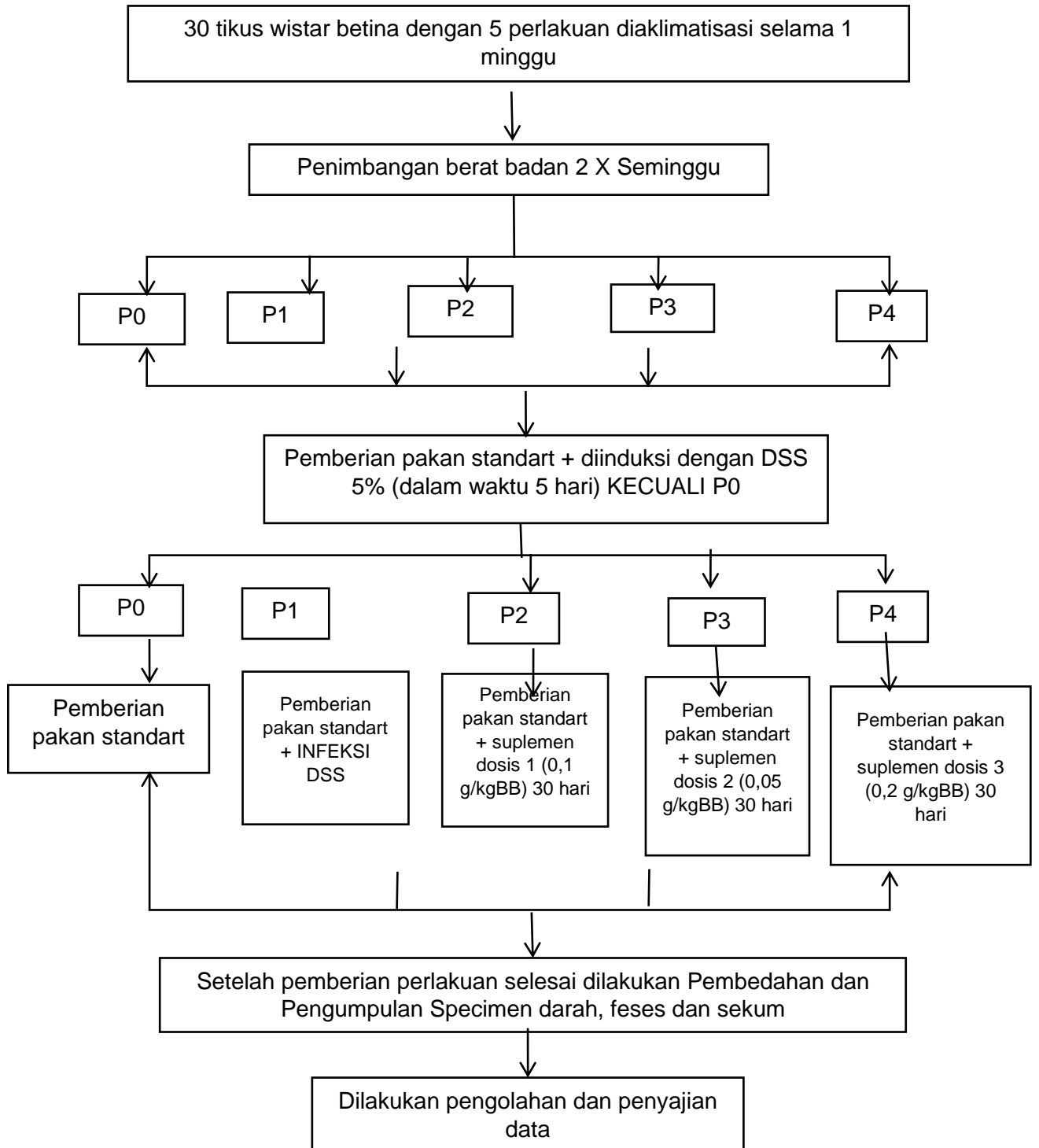
	<ol style="list-style-type: none"> <li>6. Setelah dipastikan media memadat, media berisi sampel uji tersebut diinkubasikan 37 °C selama 24 Jam</li> <li>7. Koloni yang tumbuh pada media EMB Agar di setiap label seri pengenceran dihitung dengan Colony Counter</li> <li>8. Semua koloni yang tumbuh di medium EMB Agar dihitung kecuali jika ditemukan pertumbuhan koloni yang melebihi kapasitas cawan petri (Over Capacity : &gt;&gt;300 CFU/plate)</li> <li>9. Pada setiap 3 seri pengenceran seharusnya didapatkan minimal 1 seri pengenceran yang dapat dihitung pertumbuhan koloninya</li> <li>10. Jika didapat ketiga seri pengenceran tidak ada pertumbuhan maka dianggap seri pengenceran terlalu tinggi, maka dilakukan kultur ulang dengan sampel seri pengenceran dibawahnya /seri yang lebih kecil</li> <li>11. Jika didapatkan ketiga seri pengenceran semuanya over capacity (&gt;&gt;300 CFU/Plate) maka dilakukan kultur ulang dengan sampel seri pengenceran diatasnya Pertumbuhan koloni yang dapat dihitung 30 s.d 300 CFU/plate</li> </ol>
<p>Mengidentifikasi secara mikroskopis koloni bakteri yang tumbuh</p>	<p>Metode Pewarnaan Gram</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menyiapkan Koloni bakteri Lactobacillus spp. usia kultur 2 x 24 jam</li> <li>2. Menyiapkan objek glass, membuat lingkaran dengan spidol marker sebagai penanda</li> <li>3. Mengambil aquadest steril dengan ose steril memindahkan pada lingkaran objek glass</li> <li>4. Mengambil 1 Koloni bakteri Lactobacillus spp. menggunakan ose steril, meresuspensi dengan aquadest</li> <li>5. Membuat hapusan smear melingkar pada objek glass</li> <li>6. Setelah dibiarkan kering udara, hapusan smear siap untuk dilakukan pewarnaan</li> <li>7. memfixasi hapusan dengan cara melewatkan 3 x preparat diatas api bunsen</li> <li>8. Meletakkan hapusan smear pada camber pengecatan</li> <li>9. Menggenangi hapusan dengan cat Kristal Violet selama 1 menit</li> <li>10. Membuang cat Kristal violet, dan membilas dengan mengalirkan air suling</li> <li>11. Menggenangi hapusan dengan larutan Lugol selama 1 menit</li> <li>12. Membuang lugol, dan membilas dengan mengalirkan air suling</li> </ol>

	<p>13.Melakukan dekolorisasi dengan menggenangi hapusan dengan alcohol 96% selama 10 detik</p> <p>14.Membuang alcohol 96% dan membilas hapusan dengan mengalirkan air suling</p> <p>15.Menggenangi dengan Cat Safranin selama 30 detik</p> <p>16.Membuang cat Safranin dan membilas hapusan dengan mengalirkan air</p> <p>17.Mengeringkan hapusan dengan meresapkan sisa air di hapusan dengan tissue</p> <p>18. Preparat hapusan sampel Lactobacillus spp siap diamati di mikroskop</p>
	<p>Melakukan Pengamatan preparat hapusan Lactobacillus spp. di mikroskop Binokuler</p> <p>1.Mengoperasionalkan mikroskop dengan menekan tombol power on</p> <p>2.Meletakkan preparat pada meja objek mikroskop</p> <p>3.Memastikan tepat di tengah tanda lingkaran preparat</p> <p>4.Membesarkan volume pencahayaan mikroskop</p> <p>5.Menaikkan kondensor mikroskop</p> <p>6.Menambahkan immersion oil diatas preparat</p> <p>7.Mencari bentukkan Sel Basil Gram Positif dengan cara memutar pelan-pelan makrometer mikroskop</p> <p>8.Memfokuskan bentukkan Basil Gram Positif dengan memutar micrometer mikroskop</p> <p>9.Mengamati bentukkan Sel Basil Gram Positif, Mengambil gambar Sel Basil Gram Positif, dengan menggunakan kamera</p>
Melakukan Uji Katalase	<p>Prosedur Uji Katalase</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menyiapkan Objek Glass membersihkannya dengan tissue</li> <li>2. Memipet 10 ul aquadest dan meneteskan di atas objek glass</li> <li>3. Mengambil 1 koloni uji dengan ose steril, dan mencampurkan dengan aquadest sehingga terbentuk suspensi bakteri uji</li> <li>4. Menambahkan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% 1-2 tetes tepat diatas suspensi bakteri uji.</li> <li>5. Mengamati terbentuknya reaksi gelembung-gelembung udara jika hasil uji dinyatakan positif Dan tidak terbentuk gelembung udara jika hasil ujinya negatif</li> </ol>
Melakukan Uji Biokimia ImViC Bakteri Coliform	<p>Prosedur Inokulasi bakteri Uji pada medium SIM:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menggunakan ose jarum steril, mengambil koloni bakteri uji dengan menempelkan ujung ose ke koloni uji</li> <li>2. Menusukkan ujung ose jarum tepat tegak lurus di tengah medium SIM</li> <li>3. Mencabut ose jarum pelan-pelan, jangan sampai keluar dari bekas tusukan awal</li> <li>4. Menginkubasikan medium SIM yang sudah</li> </ol>

	<p>mengandung bakteri uji kedalam inkubator 37 OC selama 24 jam</p> <p>5. Setelah inkubasi 24 jam, sebelum mengamati hasilnya, meneteskan 1-2 tetes reagen kovac Indol tepat dipermukaan medium</p> <p>6. Ada 3 parameter yang dapat diamati dari uji SIM</p> <p>Sulfite : Warna Hitam (+) Tidak terbentuk warna hitam (-)</p> <p>Indol : terbentuk warna cincin merah pada permukaan media SIM (+)</p> <p>Motility: terbentuk kekeruhan di menyebar disekitar area bekas tusukkan</p>
Melakukan Uji Biokimia MR VP	<p>Prosedur melakukan Uji Biokimia MR dan VP Bakteri Uji Coliform</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menggunakan ose bulat steril, mengambil 1 koloni murni bakteri uji secara aseptis</li> <li>2. Memasukkan kedalam medium MR dan VP</li> <li>3. Mengaduk aduk hingga koloni terlepas kedalam medium MR dan VP</li> <li>4. Memvortex hingga homogen</li> <li>5. Menginkubasikan suhu 37 °C selama 24 jam</li> <li>6. Sebelum mengamati hasil uji, menambahkan dahulu reagen uji, untuk tabung MR ditambahkan 1-2 tetes reagen MR</li> <li>7. Mengamati perubahan warna paska penambahan reagen Metil Red, jika terdapat perubahan warna dari semula coklat menjadi merah artinya hasil uji positif, dan jika hasilnya tetap berwarna coklat artinya hasil uji negatif</li> <li>8. Sampel uji vp sebelum diamati hasil ujinya perlu ditambahkan 1-2 tetes reagen alpa naptol 5 % dan reagen KOH 40 %</li> <li>9. Sampel uji dibiarkan bereaksi 10 menit, jika terdapat perubahan warna menjadi merah dari permukaan ke dasar tabung, artinya hasil uji VP positif, sedangkan jika tak ada perubahan warna setelah didiamkan 10 menit artinya hasil uji VP negatif</li> </ol>
Melakukan Uji Citrat	<p>Prosedur melakukan uji Simon Citrat</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menyiapkan media agar miring Simon citrat</li> <li>2. Menggunakan ose bulat koloni bakteri uji diambil kemudian menggoreskan pada permukaan agar miring simon Citrat</li> <li>3. Pengerjaan secara aseptis, sebelum dan setelah mengambil bakteri uji ose dipanaskan hingga pijar membara</li> </ol>

	<p>4. Menginkubasikan media simon Citrat yang sudah mengandung bakteri uji pada suhu 37 °C selama 24 jam</p> <p>5. Setelah menginkubasi 24 jam, melakukan pengamatan hasil, hasil uji Simon Citrat dinyatakan positif jika terjadi perubahan warna dari semula hijau berubah warna menjadi biru prusian. Hasil uji dinyatakan negatif jika tak ada perubahan warna (tetap hijau)</p>																														
<p>Melakukan Uji Fermentasi 3 Karbohidrat di medium Triple Sugar Iron (TSI)</p>	<p>Prosedur melakukan uji Fermentasi 3 karbohidrat (TSI)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menyiapkan media agar miring TSI</li> <li>2. Dengan menggunakan ose jarum steril, mengambil 1 koloni murni bakteri uji, kemudian menusukkan sampai but agar dan menggoreskan di permukaan slant medium TSI</li> <li>3. Menginkubasikan media TSI yang sudah mengandung bakteri uji pada suhu 37 OC selama 24 jam</li> <li>4. Setelah masa inkubasi, mengamati hasil uji dengan melihat perubahan warna pada medium uji</li> </ol> <p>Evaluasi pengujian</p> <table border="1" data-bbox="692 994 1257 1361"> <thead> <tr> <th>Slant</th> <th>But</th> <th>H2S</th> <th>Gas</th> <th>Hasil</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Kuning</td> <td>Kuning</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>As/As,H2S-, G+</td> </tr> <tr> <td>Kuning</td> <td>Kuning</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>As/As, H2S+, G+</td> </tr> <tr> <td>Merah</td> <td>Kuning</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>Alk/As,H2S-,G+</td> </tr> <tr> <td>Merah</td> <td>Kuning</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>Alk/As, H2S+, G-</td> </tr> <tr> <td>Merah</td> <td>Merah</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>Alk/Alk, H2S-, G+</td> </tr> </tbody> </table> <p>Interpretasi hasil : Lihat referensi</p>	Slant	But	H2S	Gas	Hasil	Kuning	Kuning	-	+	As/As,H2S-, G+	Kuning	Kuning	+	+	As/As, H2S+, G+	Merah	Kuning	-	-	Alk/As,H2S-,G+	Merah	Kuning	+	-	Alk/As, H2S+, G-	Merah	Merah	-	-	Alk/Alk, H2S-, G+
Slant	But	H2S	Gas	Hasil																											
Kuning	Kuning	-	+	As/As,H2S-, G+																											
Kuning	Kuning	+	+	As/As, H2S+, G+																											
Merah	Kuning	-	-	Alk/As,H2S-,G+																											
Merah	Kuning	+	-	Alk/As, H2S+, G-																											
Merah	Merah	-	-	Alk/Alk, H2S-, G+																											

## I. Diagram alur penelitian



## **J. Metode Pengumpulan Data**

### **1. Asupan makanan**

Asupan makanan tikus diperoleh dari selisih berat makanan yang dihitung setiap hari sebelum pemberian makan dihari selanjutnya. Cara menghitungnya yaitu dengan melihat selisih berat makanan yang diberikan dengan berat makanan yang tersisa.

### **2. Berat badan tikus**

Berat badan tikus diperoleh dari hasil penimbangan tikus seminggu satu kali menggunakan timbangan

### **3. Profil darah tikus**

Pengukuran sampel darah tikus seperti kadar hemaglobin diperoleh dari pemeriksaan profil darah di laboratorium Patologi Klinik FKUB dilakukan pada akhir penelitian, sampel darah diambil dengan darah yang keluar ditampung pada tabung apendorf sampel darah diuji dengan alat yang tersedia.

## **K. Pengolahan dan Analisis Data**

Data yang diperoleh setelah dikumpulkan, dikoding dan dientry dalam file computer dengan menggunakan aplikasi SPSS for Windows Release 15,0. Uji homogenitas Shaphiro Wilk untuk melihat normalitas distribusi data. Digunakan uji normal Shapiro wilk karena jumlah sampel yang kecil ( $n < 50$ ). Bila hasil uji menunjukkan nilai  $p > 0,05$  maka ditribusi normal. Lalu untuk menentukan ada tidaknya perbedaan kadar Hb, jumlah microbiota dan pH sekum tikus pada tiap kelompok digunakan paired sample t test. Namun jika distribusi data tidak normal digunakan uji statistic non parametrik Wilcoxon.

Uji One Way ANOVA untuk melihat secara umum beda rerata profil darah lengkap, jumlah dan jenis microbiota serta pH sekum tikus pada semua kelompok. Selanjutnya dilakukan Uji Post Hoc (Tukey) untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda. Perbedaan dinilai bermakna bila nilai  $p < 0,05$  pada uji one Way ANOVA. Bila data terdistribusi tidak normal dengan  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis untuk melihat beda rerata kadar pemeriksaan di atas antar kelompok perlakuan. Perbedaaan dinilai bermakna



apabila  $p < 0,05$ . Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney antara kelompok-kelompok perlakuan

#### **L. Hipotesis Statistika**

Pada penelitian ini terdapat dua macam hipotesis penelitian yaitu

H<sub>0</sub> : Tidak terdapat pengaruh pemberian prebiotik pisang kepok daun kelor terhadap kadar hemoglobin dan berat badan pada tikus yang diinduksi DSS

H<sub>1</sub> : Terdapat pengaruh pemberian prebiotik pisang kepok daun kelor terhadap kadar hemoglobin dan berat badan pada tikus yang diinduksi DSS

#### **M. Instrumen Analisis Data Penelitian**

Instrument untuk analisis data antara lain kalkulator scientific, computer dengan program Microsoft Word, Microsoft Excel, dan SPSS serta alat tulis.

#### **N. Pengajuan Etik Penelitian Poltekkes Malang**

Peneliti mengajukan izin etik kepada Komisi Etik Penelitian Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang sebelum melakukan penelitian. Laboratorium Laboratorium Pengembangan Hewan Coba (LPHC) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang akan memelihara tikus wistar jantan yang akan digunakan untuk penelitian. Hewan yang digunakan dalam percobaan medis untuk manusia biasanya mengalami berbagai hal yang tidak menyenangkan bagi mereka, seperti hewan akan mengalami ketidaknyamanan (inconvinience), ketidakseimbangan (discomfort), tekanan (distress), nyeri (pain), dan kematian (death).

Persetujuan etika penelitian sebagai prosedur pertama untuk melakukan penelitian eksperimen. Berikut prosedur pengajuan Uji Etik Lulus Poltekkes Malang:



- 1) Registrasi di web [Kepk.poltekkes-malang.ac.id](http://Kepk.poltekkes-malang.ac.id)
- 2) Isi kelengkapan data
- 3) Mengisi identitas peneliti
- 4) Mendownload form penelitian sesuai judul skripsi peneliti
- 5) Input data sesuai arahan yang ada di web

## BAB IV









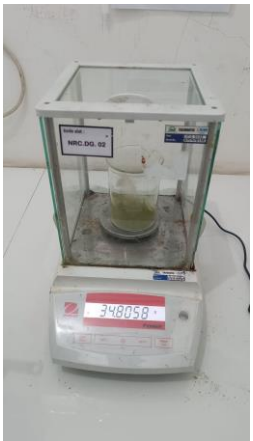


### HASIL PENELITIAN

#### 1. PERSIAPAN PENELITIAN

1) **Produksi Pati Pisang Kepok Kelor (PKK).** Pati dari Pisang Kepok tua yang diproses dimaksudkan untuk mendapatkan pati resisten. Pati resisten merupakan pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan dan tahan terhadap asam lambung sehingga dapat mencapai usus besar untuk difermentasi bakteri probiotik. (Haryo et al., 2017) Pembuatan Pati PKK diawali dengan merencanakan pengadaan bahan dan alat-alat. Disamping itu menghubungi pihak mitra penelitian. Mitra penelitian adalah UMKM yang memproduksi tepung pisang. UMKM tersebut yaitu Perusahaan SIDOD GEDANGAN yang memproduksi aneka kripik dan tiwul pisang, yang berlokasi di Dusun Umbulrejo RT 015, RW 05, Desa Sidodadi, Kecamatan Gedangan, Kabupaten Malang.

	
Pertemuan Tim Peneliti dengan Pihak Mitra	Pertemuan melalui Zoom Meeting dengan Pihak Mitra

Sesuai kesepakatan, maka telah disepakati pembuatan pati pisang di lokasi mitra dan di laboratorium mikrobiologi dilakukan pemeriksaan mikrobiologi.

			
Pengupasan Pisang	Pengeringan	Pengovenan	Serbuk Pati Pisang
			
Pengendapan Pati dengan Aquades (Pati Resisten Pisang)	Pengeringan Pati Resisten Pisang	Pengayakan	Pati Resisten Pisang Kepok
			
Produk Pati Resisten Kepok	Penimbangan Produk per Porsi	Pencampuran Produk (Pati Kepok dan Kelor)	Produk Sudah Dikemas

Kombinasi zat bioaktif pati resisten sebaiknya dikombinasikan dengan bahan pangan yang memiliki kadar vitamin C dan Fe yang memadai. Hal tersebut justru berdampak baik terutama dalam metabolisme protein dan penyerapan mineral mikro. Vitamin C merupakan zat yang dibutuhkan oleh tubuh manusia untuk memelihara fungsi metabolisme. Vitamin C juga merupakan vitamin yang mudah larut dalam air. Didalam tubuh, vitamin C memiliki peranan penting dalam mempercepat proses penyembuhan luka, mempercepat proses metabolisme dan sebagai antioksidan.(Ria Erika Marita Dellima et al., 2022) Manusia tidak dapat mensintesis vitamin C dengan sendirinya karena tidak memiliki gulonolactone oxidase yaitu enzim yang diperlukan untuk biosintesis vitamin C sehingga untuk memenuhi kebutuhan vitamin C didalam tubuh, manusia perlu mengkonsumsi buah dan sayuran(Vergara-Jimenez et al., 2017) Salah satu sayuran yang memiliki kandungan vitamin C dan Fe yang baik, adalah daun kelor. Berdasarkan penelitian dalam 100 gram daun kelor mengandung vitamin C yang setara dengan 7 kali kandungan vitamin C yang ada pada buah jeruk, bahkan beberapa literatur dijelaskan kelor mengandung zat besi dan vitamin C bayam, 12 kali kalsium serta 2 kali protein susu (Rahmatu, 2018)

## 2) **Pemeriksaan Mikrobiologi Produk Serbuk Pati Resisten Kepok Kelor**

Pemeriksaan mikrobiologi dilakukan pada sampel pati pisang meliputi uji Angka Lempeng Total (ALT), Angka Kapang Khamir (AKK) dan uji *Escherichia coli*. Pemeriksaan terhadap cemaran pada produk penting dilakukan karena merupakan produk yang langsung dikonsumsi atau dicampurkan pada makanan siap saji. Peneliti melakukan pemeriksaan ALT dan AKK di Laboratorium Mikrobiologi Polkesma dan di Laboratorium GiziGo (terakreditasi KAN) yang merupakan lembaga penyedia jasa analisis kandungan gizi produk makanan atau minuman. ALT menunjukkan jumlah mikroba dalam suatu produk. Di beberapa negara dinyatakan sebagai *Aerobic Plate Count* (APC) atau *Standard Plate Count* (SPC) atau *Aerobic Microbial Count* (AMC). ALT disebut juga *Total Plate Count* (TPC) yaitu jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per mililiter contoh yang ditentukan melalui metode standar. Sampel yang diperiksa terdiri dari dua jenis. Pati yang pertama adalah pati yang diproduksi oleh UMKM SIDOD GEDANGAN, dan jenis yang kedua adalah pati produk UMKM SIDOD GEDANGAN yang disterilisasi dengan sinar UV selama 3 jam.

Tabel 7. Hasil Pemeriksaan Angka Lempeng Total dan Kapang Khamir serta E-coli pada Pati Non Steril (Pati dari UMKM SIDOD GEDANGAN)

**HASIL PENGUJIAN**

Parameter	Satuan	Hasil	Metode Uji/Teknik
Angka lempeng total (30 <sup>0</sup> C, 72 jam)	Koloni/gram	1,9 x 10 <sup>6</sup>	SNI ISO 4833-1:2015, SNI ISO 7218:2012
Angka lempeng total (30 <sup>0</sup> C, 72 jam)	Koloni/gram	1,8 x 10 <sup>6</sup>	SNI ISO 4833-1:2015, SNI ISO 7218:2012
<i>Escherichia coli</i>	APM/gram	< 3	BAM 2017, Chapter 4
<i>Escherichia coli</i>	APM/gram	3	BAM 2017, Chapter 4
Kapang	Koloni/gram	3,9 x 10 <sup>3</sup>	BAM 2001, Chapter 18
Kapang	Koloni/gram	3,8 x 10 <sup>3</sup>	BAM 2001, Chapter 18
Khamir	Koloni/gram	3,2 x 10 <sup>3</sup>	BAM 2001, Chapter 18
Khamir	Koloni/gram	2,9 x 10 <sup>3</sup>	BAM 2001, Chapter 18

Berdasarkan Tabel 1 rata-rata nilai ALT PKK adalah  $1,85 \times 10^6$  koloni/gram. Metode uji yang digunakan adalah SNI ISO 4833-1:2015 yaitu metode horizontal untuk menghitung mikroorganisme yang dapat tumbuh dan membentuk koloni dalam media padat setelah inkubasi aerobik pada suhu 30°C. Menurut ketentuan Peraturan BPOM No. 13 Tahun 2019 tentang Batas Cemar Mikroba pada Produk Pangan (STANDAR BATAS AMAN CEMARAN MIKROBA MAKANAN, 2019), pada kategori tepung dan pati adalah dari 5 sampel maksimal nilai 2 pengujian adalah  $1 \times 10^6$  koloni/gram dan 3 sampel yang lain maksimal  $1 \times 10^5$  koloni/gram. Sedangkan untuk persyaratan AKK dari 5 sampel maksimal nilai 2 pengujian adalah  $1 \times 10^4$  koloni/gram dan 3 sampel yang lain maksimal  $1 \times 10^3$  koloni/gram. Untuk persyaratan *Escherichia coli* dari 5 sampel maksimal nilai 2 pengujian adalah 11 APM/gram dan 3 sampel yang lain maksimal 7,4 APM/gram. Jika dilihat dari persyaratan tersebut maka hasil pengujian nilai ALT dari PKK tidak memenuhi persyaratan BPOM.

Selain nilai ALT, dilakukan juga pemeriksaan terhadap nilai kapang dan nilai khamir PKK dan diperoleh hasil pengujian masih berada dalam rentang acuan nilai AKK pada peraturan BPOM. Dari 3 jenis pengujian yang telah dilakukan tersebut, nilai ALT tidak memenuhi ketentuan peraturan BPOM, sedangkan nilai AKK dan *Escherichia coli* memenuhi persyaratan BPOM untuk kategori produk pati. Oleh karena itu dilakukan proses tambahan berupa sterilisasi dengan sinar UV selama 2 jam pada PKK. Hasil dari proses tersebut adalah Pati Kepok Kelor steril (PKKS).

Tabel 8. Hasil Uji Nilai ALT PKKS dan Nilai AKK PKKS

REPLIKASI	1	2	3	STANDAR* (koloni/g)
<b>ALT (koloni/g)</b> 3M® Petrifilm <i>Aerobic Count Plates</i>	1x10 <sup>4</sup> s/d 1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>4</sup> s/d 1x10 <sup>5</sup>	-	1x10 <sup>5</sup> s/d 1x10 <sup>6</sup>
<b>AKK (koloni/g)</b> 3M® Petrifilm <i>Yeast and Mold Plates</i>	1x10 <sup>2</sup> s/d 1x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>2</sup> s/d 1x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>2</sup> s/d 1x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>3</sup> s/d 1x10 <sup>4</sup>

\*Peraturan BPOM Nomor 13 Tahun 2019 tentang Batas Maksimal Cemaran Mikroba dalam Pangan Olahan

PKKS tersebut diuji kembali terhadap ketentuan BPOM yaitu uji ALT, dan AKK. Metode uji yang digunakan adalah dengan uji cepat dengan 3M® Petrifilm *Aerobic Count Plates* dan 3M® Petrifilm *Yeast and Mold Plates*. Hasil yang diperoleh dari uji ALT dan AKK untuk PKKS (Tabel 2) adalah nilai ALT PKKS masih memenuhi ketentuan peraturan BPOM tentang persyaratan nilai ALT dan AKK dari produk kategori tepung dan pati.

Tabel 9. Hasil Uji ALT dan AKK PKKS dengan Metode Uji Cepat







<b>.Parameter</b>	<b>Satuan</b>	<b>Hasil</b>	<b>Metode Uji/Teknik</b>
Angka lempeng total (30 <sup>0</sup> C , 72 jam)	Koloni/gram	1,0 x 10 <sup>7</sup>	SNI ISO 4833-1 : 2015, SNI ISO 7218 : 2012
Angka lempeng total (30 <sup>0</sup> C , 72 jam)	Koloni/gram	2,6 x 10 <sup>7</sup>	SNI ISO 4833-1 : 2015, SNI ISO 7218 : 2012
Kapang Khamir	Koloni/gram	1,2 x 10 <sup>5</sup>	SNI ISO 21527-2 : 2012,  SNI ISO 7218 : 2012
Kapang Khamir	Koloni/gram	5,8 x 10 <sup>4</sup>	SNI ISO 21527-2 : 2012,  SNI ISO 7218 : 2012
Kapang Khamir	Koloni/gram	3,2 x 10 <sup>4</sup>	SNI ISO 21527-2 : 2012,  SNI ISO 7218 : 2012

2. **Persiapan Intervensi pada Hewan Coba.** Hewan coba yang digunakan yaitu Tikus Strain Wistar Betina usia 7-8 minggu dengan berat badan 100-120 gram. Jumlah sampel 30 ekor dan diadaptasi selama 7 hari. Perlakuan dilakukan selama 30 hari dan telah mendapatkan ijin etik. Dewan Komisi Etik Penelitian Poltekkes Malang telah menerbitkan Sertifikat ijin etik dengan nomor 811/KEPK-POLKESMA/2024 tanggal 24 Juli 2024. Pengadaan hewan coba pada penelitian tahap ke 2 diperoleh dari Perusahaan Kencana Bandung, yang merupakan Perusahaan Penyedia Hewan Coba tersertifikasi. Berlokasi di Kelurahan Ciateul, Kec. Regol, Kota Bandung. Sebelum mendapatkan hewan coba tersebut, seluruh hewan coba sudah diperiksa kesehatannya oleh dokter hewan yang dibuktikan dengan terbitnya surat keterangan kesehatan hewan nomor TN.01.01..11/4174-DKPP/VIII/2024. Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Pengembangan Hewan Coba (LPHC) Fakultas Kedokteran Univ. Brawijaya. Ijin pemeliharaan hewan coba dibuktikan dengan dokumen ijin penelitian dari LPHC nomor 21/UN10.F06.42/PP/2024. Saat pelaporan ini, hewan coba sedang dalam masa pemeliharaan dan pemberian intervensi dan



dalam kondisi sehat.

Tabel 10. Dokumentasi Pengadaan Hewan Coba

			
<p>Dokumen Etik</p>	<p>Dokumen Pemeriksaan Hewan</p>	<p>Tikus Strain Wistar Betina</p>	<p>Dokumen Ijin LPHC FKUB</p>
			
<p>Pengiriman Tikus dari Bandung</p>	<p>Masa Adaptasi Tikus</p>	<p>Pemeliharaan Tikus di LPHC</p>	<p>Tim Peneliti Merawat Hewan Coba</p>

## 2. PELAKSANAAN PENELITIAN

### 1) Pemeriksaan Uji Darah Lengkap

Profil darah atau hematologi merupakan salah satu indikator status kesehatan tubuh. Darah memiliki berbagai fungsi yang penting bagi makhluk hidup, antara lain sebagai pengangkut oksigen dan nutrisi, perlindungan dan pertahanan tubuh dari bakteri maupun virus, dan pengangkut sisa metabolisme tubuh (Nugroho dkk., 2021)



Hasil pemeriksaan darah lengkap disajikan dalam Tabel 11.

Tabel 11. Hasil Pemeriksaan Darah Lengkap

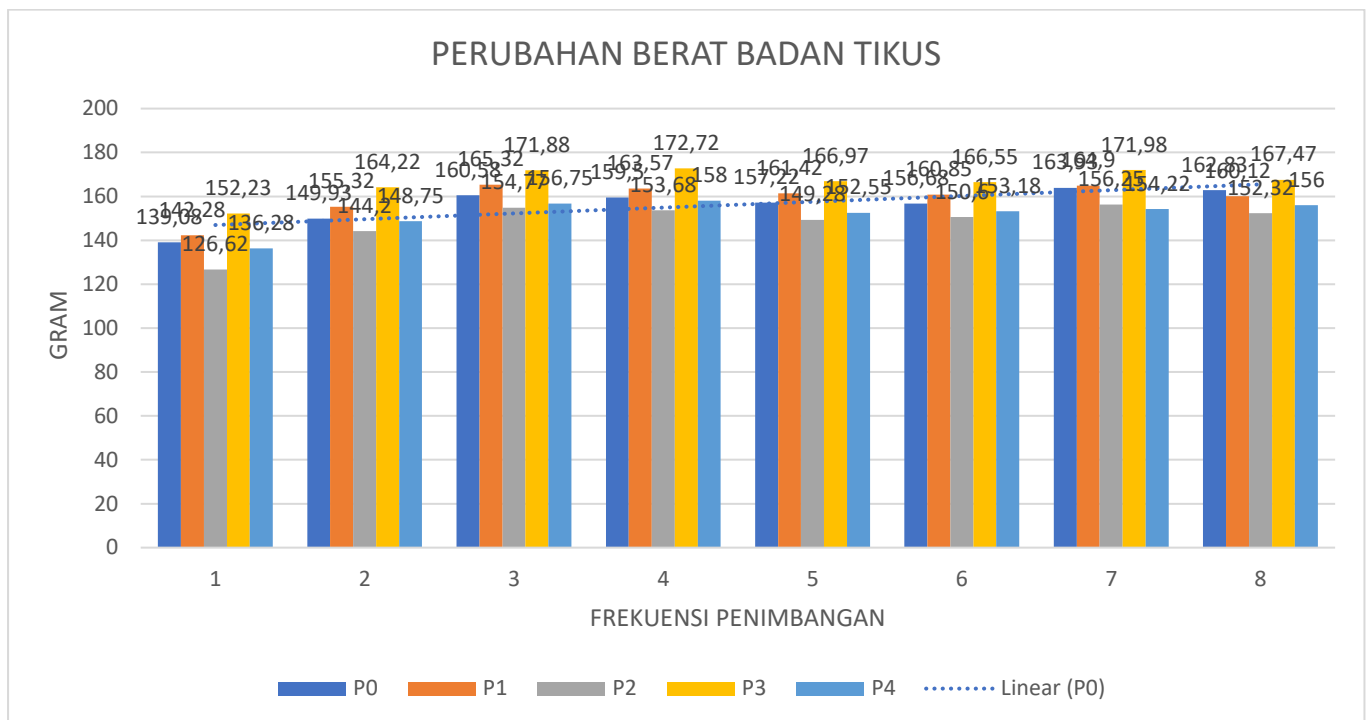
NO.	Pemeriksaan (satuan)	Kelompok					p-value	Keterangan
		P0	P1	P2	P3	P4		
1	Leukosit	4,3	4,8	5,1	4,1	4,0	0,3	
2	Eritrosit	7,6	7,6	7,7	7,6	7,1	0,29	
3	Hemoglobin	15,4	15,2	15,2	15,4	14,1	0,11	
4	Hematokrit	43,2	43,3	43,5	44,0	40,3	0,13	
5	Trombosit	576,0	718,5	626,3	557,8	579,8	0,01*	meningkat
6	Netrofil	20,6	22,2	22,2	24,7	24,7	0,26	
7	Limfosit	62,8	69,5	69,3	65,5	68,3	0,67	
8	Fe	271	280,7	236,7	310	312,7	0,23	
10	TIBC (ug/dl)	520	540	507,3	544	535,3	0,042*	Meningkat
11	Saturasi transferrin (%)	52	51	46	46	58	0,04*	Meningkat
12	Glukosa (mg/dl)	241,5	221,8	247,8	266,3	285,2	0,12	
13	Cholesterol	62,2	66,8	64,2	78,3	66,5	0,13	
14	Trigliserida (mg/dl)	7,83	17,50	11,75	21	19,4	0,048*	Meningkat
15	HDL (mg/dl)	11,9	10,8	15,67	19,92	19,17	0,26	
16	LDL (mg/dl)	9,00	8,75	17,93	24,7	17,2	0,043*	Meningkat

Ket.: P0=normal; P1=DSS; P2=DSS+PKK dosis 1; P3=DSS+PKK dosis 2; P4=DSS+PKK dosis3

Terdapat 16 parameter pemeriksaan darah lengkap yang dilakukan. Hasil uji beda (Anova dan Kruskal Wallis) pada Sebagian besar indicator tidak berbeda secara bermakna. Tetapi pada indicator Trombosit, sehingga Serbuk Pati Kepok Kelor (PKK) memberikan pengaruh perbedaan yang bermakna terhadap kadar Trombosit kelompok P0 ( $P=0,01$ ) bila dibandingkan dengan kelompok P1,P2,P3 dan P4.

Pada pemeriksaan TIBC (Total Iron Binding Capacity) juga menunjukkan perbedaan bermakna, sehingga Serbuk Pati Kepok Kelor (PKK) memberikan pengaruh perbedaan yang bermakna terhadap kadar TIBC kelompok P0 ( $P=0,01$ ) bila dibandingkan dengan kelompok P1,P2,P3 dan P4.

## 2) Data Berat Badan Sampel



Gambar 3. Hasil Berat Badan pada Setiap Kelompok Perlakuan

Tests of Normality							
	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB	P0	.304	6	.088	.831	6	.109
	P1	.339	6	.030	.762	6	.026
	P2	.351	6	.020	.793	6	.051
	P3	.136	6	.200*	.979	6	.949
	P4	.251	6	.200*	.863	6	.200

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan uji normalitas data, diketahui data BB pada P1 tidak normal karena  $P=0,026$  ( $<p,05$ ) dikatakan data terdistribusi normal bila  $P>0,05$ . Uji beda untuk P1 menggunakan Kruskal Wallis.

Hasil Uji Kruskal Wallis utk P0,P1, P2,P3 dan P4 yaitu :

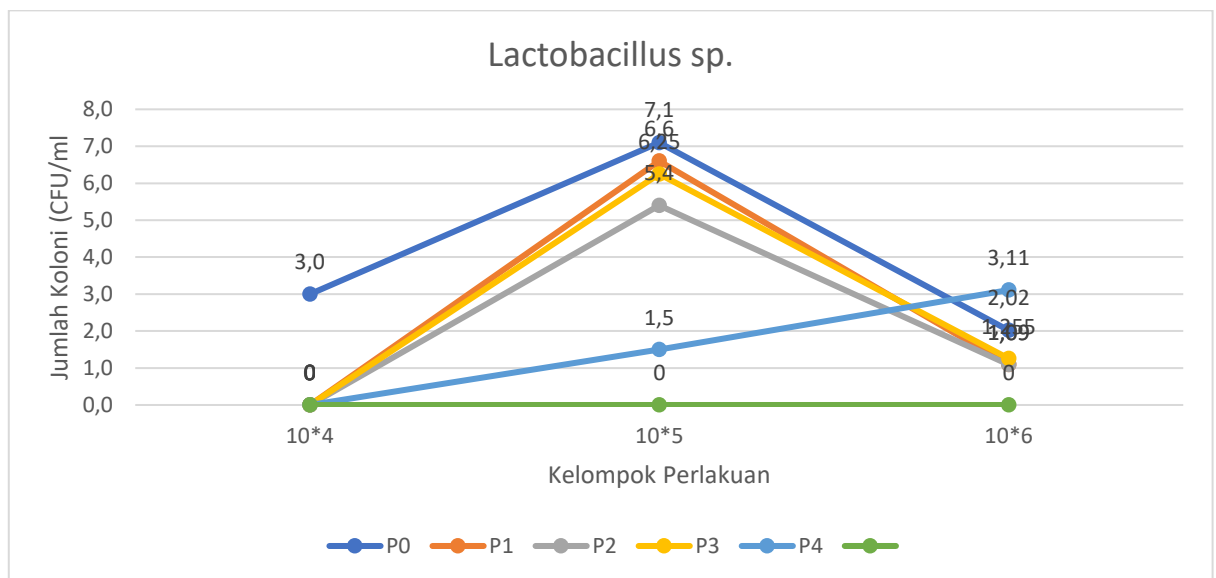
Tabel 12. Hasil Uji Beda Berat Badan Setiap Kelompok Perlakuan

Parameter	Kelompok					p-value
	P0	P1	P2	P3	P4	
Berat Badan (gram)	153,8	158,9	153,0	152,8	165,7	0,030

Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan angka  $P=0,030$  yaitu  $P<0,05$ . Berarti terdapat perbedaan Berat Badan pada setiap kelompok perlakuan.

### 3. DATA MIKROBIOTA DAN BAKTERI PATOGEN

a) Grafik pertumbuhan Mikrobiota *Lactobacillus sp* pada setiap kelompok perlakuan



Gambar 4. Hasil *Lactobacillus sp.* pada Setiap Kelompok Perlakuan

3) Hasil Uji Perbedaan pada P0, P1, P2, P3 dan P4

Uji beda yang digunakan yaitu Kruskal Wallis karena data tidak terdistribusi normal.

Adapun hasil uji sebagai berikut :

Tabel 13. Hasil Uji Beda Bakteri Setiap Kelompok Perlakuan

Jumlah Koloni Mikrobiota (CFU/ml)	Kelompok					p-value
	P0	P1	P2	P3	P4	
Lactobacillus sp	10,29	9,33	13,67	19,83	18,83	0,032*
Salmonella	13,75	12,83	16,00	20,17	14,75	0,64
Enterobacter	7,75	15,67	12,83	25,33	15,92	0,01*

Berdasarkan uji beda nilai signifikansi pada penelitian ini yaitu 0,032 (Lactobacillus) dan 0,010 (Enterobacter). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah bakteri Lactobacillus dan Enterobacter pada ke 5 kelompok.

Selanjutnya untuk mengetahui besaran pengaruh dari setiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui Effect Size (ES). ES dari intervensi/paparan terhadap outcome dinyatakan dengan angka peringkasan korelasi (r family), e.g: Pearson's Product Moment r, Spearman's Rank r, R, RR, OR) atau angka peringkasan selisih (d family, e.g.: d=selisih mean, d=selisih proporsi) yang distandarisasi maupun yang tidak distandarisasi. (Walker, 2017). ES dianggap bermakna jika r atau d > r atau d minimum yang ditetapkan sebelumnya. Menetapkan ES minimum dapat dengan patokan umum (e.g., Cohen's rule of thumb) atau dengan pembandingan empiric (empirical benchmark). Interpretasi effect size bergantung pada konteks penelitian dan parameter yang diukur. Sebagai contoh, jika Anda mengukur berat badan atau penyerapan nutrisi pada tikus setelah pemberian serbuk pati resisten, dan mendapatkan nilai **Cohen's d** sebesar 0.8, ini menunjukkan bahwa ada **efek besar** dari pati resisten terhadap parameter yang diukur dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sebaliknya, jika nilai Cohen's d hanya 0.2, ini menunjukkan bahwa pengaruh pati resisten terhadap parameter tersebut relatif **kecil**.

**Cohen's d:** Digunakan untuk mengukur perbedaan antara dua kelompok. Jika ada lebih dari dua kelompok, Cohen's d sering digunakan untuk membandingkan kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol. Cohen's d dihitung sebagai selisih antara rata-rata dua kelompok dibagi dengan standar deviasi gabungan dari kedua kelompok tersebut. Rumusnya:

$$d = \frac{M_1 - M_2}{SD_p}$$

di mana:

- M1M\_1M1 dan M2M\_2M2 adalah rata-rata dari dua kelompok yang dibandingkan.
- SDpSD\_pSDp adalah standar deviasi gabungan dari kedua kelompok.

Interpretasi dari Cohen's d:

- **d ≈ 0.2:** Efek kecil.
- **d ≈ 0.5:** Efek sedang.
- **d ≈ 0.8 atau lebih:** Efek besar

Tabel 14. Hasil Analisis Effect size

Kelompok	Variabel Effect Size	Hasil Analisis	Keterangan
P0-P4	Berat badan	-0,6	
	Lactobacillus	-0,48	
	Enterobacter	0,98	Efek kuat
<b>P0-P3</b>	<b>Berat badan</b>	<b>1,51*</b>	<b>Efek kuat, Meningkat</b>
	<b>Lactobacillus</b>	<b>0,65*</b>	<b>Efek sedang, Meningkat</b>
	Enterobacter	-1,86	
P0-P2	Berat Badan	-0,93	
	Lactobacillus	0,79*	Meningkat
	Enterobacter	-1,17	

Pengukuran effect size dilakukan pada parameter berat badan dan microbiota karena tujuan utama penelitian ini untuk mengetahui pengaruh dari pemberian Serbuk Prebiotik Kepok Kelor terhadap risiko infeksi dan pertumbuhan microbiota. Dari Tabel 13 terbukti pemberian serbuk Prebiotik Kepok Kelor yang memiliki pengaruh kuat ada pada kelompok P3, dimana Berat Badan terbukti dapat meningkat kuat, dengan nilai effect size 1,51 sedangkan pada pertumbuhan Lactobacillus ES = 0,65 berarti Efek Sedang dan pertumbuhannya meningkat.

## BAB V

### PEMBAHASAN

#### 1. Profil Darah Lengkap

##### a) Trombosit

Hasil uji beda menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada kadar trombosit di setiap perlakuan. Pada perlakuan P0 trombosit normal, dibandingkan pada P1 trombosit terlihat menurun. P1 telah dipapar DSS selama 5 hari dan menunjukkan tanda-tanda peradangan. Trombosit darah adalah sel darah kecil yang memiliki peran penting dalam proses pembekuan darah (hemostasis). Mereka membantu menghentikan perdarahan dengan membentuk gumpalan darah di tempat cedera. Trombosit berfungsi sebagai salah satu komponen penting dalam mekanisme tubuh untuk mengatasi perdarahan akibat luka atau cedera pada pembuluh darah.

Trombosit atau platelet adalah elemen darah berbentuk diskus kecil yang diproduksi di sumsum tulang oleh sel induk yang disebut megakariosit. Trombosit tidak memiliki inti dan memiliki ukuran yang sangat kecil, sekitar 2-4 mikrometer. Trombosit memiliki peran utama dalam pembekuan darah dan penyembuhan luka. Ketika terjadi cedera pada pembuluh darah, trombosit akan menempel pada dinding pembuluh darah yang rusak dan mengaktifkan proses pembekuan darah untuk membentuk gumpalan darah yang menghentikan perdarahan.

Jumlah trombosit dalam darah biasanya diukur dalam satuan platelets per microliter (plt/ $\mu$ L) atau platelets per liter (plt/L). Nilai normal trombosit bervariasi berdasarkan usia, jenis kelamin, dan kondisi tubuh seseorang, tetapi pada umumnya, nilai normal untuk trombosit adalah sebagai berikut:

-Orang dewasa: 150.000–450.000 trombosit/ $\mu$ L darah

- Anak-anak: 150.000–450.000 trombosit/ $\mu$ L darah

Kadar normal trombosit pada tikus (sebagai hewan coba) berbeda sedikit dibandingkan dengan manusia, tetapi masih dalam rentang yang cukup dapat diperkirakan. Berdasarkan berbagai referensi, kadar trombosit pada tikus biasanya berada dalam kisaran berikut:

- **Jumlah trombosit normal pada tikus: sekitar 500.000 hingga 1.000.000 trombosit/ $\mu$ L darah.**

Namun, nilai ini dapat bervariasi tergantung pada beberapa faktor seperti jenis tikus (misalnya, tikus Wistar atau C57BL/6), usia, serta kondisi kesehatan hewan tersebut. Penting untuk dicatat bahwa dalam eksperimen atau penelitian hewan coba, pengukuran trombosit harus dilakukan dengan teknik yang tepat dan berdasarkan pada metode standar yang berlaku di laboratorium yang bersangkutan.

Jika jumlah trombosit terlalu rendah atau terlalu tinggi, itu bisa mengindikasikan adanya masalah medis yang perlu ditangani lebih lanjut. Mekanisme Trombosit dalam Mengatasi Infeksi, yaitu bahwa trombosit bukan hanya berperan dalam pembekuan darah, tetapi juga dalam respon imun terhadap infeksi. Ketika terjadi infeksi, trombosit bisa membantu melawan patogen melalui beberapa mekanisme, antara lain: 1) Pengikatan dan Penghancuran Patogen: Trombosit dapat berinteraksi dengan bakteri, virus, dan mikroorganisme lainnya, membantu menahan atau mengeliminasi patogen tersebut. Mereka mengandung berbagai molekul yang dapat merangsang reaksi kekebalan tubuh dan mendukung pertahanan tubuh terhadap infeksi. 2) Pelepasan Sitokin dan Molekul Pro-Inflamasi: Trombosit dapat melepaskan sitokin dan molekul inflamasi yang membantu memperkuat respons imun tubuh terhadap infeksi. Ini termasuk molekul yang menarik sel-sel sistem imun lainnya ke lokasi infeksi. 3) Pembentukan Mikrothrombus: Pada beberapa infeksi, terutama infeksi bakteri atau virus tertentu, trombosit membantu membentuk mikrothrombus (gumpalan kecil) yang mengisolasi infeksi dan mencegah penyebaran lebih lanjut.

Peningkatan jumlah trombosit dapat terjadi dalam kondisi tertentu yang disebut trombositosis. Trombositosis dapat disebabkan oleh: 1. Respons terhadap Infeksi: Dalam beberapa infeksi akut atau kronis, jumlah trombosit bisa meningkat sebagai respons tubuh untuk memperbaiki jaringan yang rusak akibat infeksi. 2. Penyakit Peradangan Kronis: Beberapa penyakit inflamasi seperti rheumatoid arthritis atau penyakit inflamasi usus dapat meningkatkan jumlah trombosit. 3. Penyakit Kanker: Beberapa jenis kanker, seperti kanker paru-paru atau kanker saluran pencernaan, dapat menyebabkan peningkatan trombosit. 4. Kehilangan Darah atau Kerusakan Pembuluh Darah: Peningkatan trombosit juga bisa terjadi setelah kehilangan darah atau cedera pembuluh darah sebagai upaya tubuh untuk memperbaiki kerusakan. Jumlah trombosit bisa menurun dalam kondisi yang disebut trombositopenia. Beberapa penyebab trombositopenia meliputi: 1) Gangguan Pembentukan Trombosit: Gangguan pada sumsum tulang, seperti pada leukemia atau anemia aplastik, dapat menyebabkan produksi trombosit menurun. 2) Peningkatan Kehilangan Trombosit: Penyakit autoimun

seperti trombositopenia imun (ITP) atau penggunaan obat-obatan tertentu yang merusak trombosit bisa menyebabkan penurunan jumlah trombosit. 3)Kerusakan pada Trombosit: Infeksi tertentu, seperti virus dengue atau HIV, bisa menyebabkan kerusakan pada trombosit, yang mengarah pada penurunan jumlah trombosit.4)Penyakit Hati atau Ginjal: Gangguan fungsi hati atau ginjal yang parah dapat mengganggu produksi trombosit, yang berujung pada trombositopenia.5)Penyakit Sistemik dan Infeksi: Penyakit infeksi, seperti demam berdarah, dapat menyebabkan penurunan jumlah trombosit secara signifikan.

#### b) Total Iron Binding Capacity (TIBC)

Total Iron Binding Capacity (TIBC) adalah ukuran yang digunakan untuk menilai kapasitas darah dalam mengikat dan membawa zat besi. TIBC mengukur jumlah total tempat pengikatan zat besi yang tersedia dalam plasma darah, yang sebagian besar diwakili oleh transferrin, protein utama yang mengangkut zat besi dalam darah.

TIBC merujuk pada total kapasitas darah dalam mengikat zat besi, yang dihitung berdasarkan kadar transferrin dalam darah. Transferrin adalah protein pengangkut utama yang mengikat zat besi dan mengangkutnya ke berbagai jaringan, termasuk sumsum tulang dan hati, untuk digunakan dalam produksi hemoglobin (Hb) dan proses fisiologis lainnya.

TIBC dihitung dengan cara mengukur jumlah serum iron yang ada, dan kemudian mengukur berapa banyak zat besi yang dapat diikat oleh transferrin dalam plasma. TIBC yang lebih tinggi menunjukkan lebih banyak tempat pengikatan zat besi yang tersedia, sementara nilai yang lebih rendah bisa menunjukkan kekurangan transferrin atau defisiensi zat besi dalam tubuh.

Fungsi utama TIBC adalah untuk menilai status cadangan zat besi dalam tubuh, yang sangat penting dalam proses pembentukan hemoglobin (Hb) dalam sel darah merah. TIBC dapat memberikan informasi tentang status zat besi dalam tubuh, apakah ada defisiensi zat besi atau tidak. Fungsi yang lain : 1) Mencerminkan kapasitas pengangkutan transferrin: TIBC memberikan indikasi jumlah transferrin yang ada dalam darah, yang berfungsi untuk mengikat dan mengangkut zat besi. 2) Diagnostik untuk anemia defisiensi besi: Ketika tubuh kekurangan zat besi, kadar transferrin biasanya meningkat, yang mengarah pada peningkatan TIBC. Sebaliknya, pada anemia yang disebabkan oleh penyakit kronis, TIBC biasanya rendah. 3) Membantu dalam diagnosa gangguan metabolisme zat besi: 4) TIBC juga berguna untuk mengidentifikasi gangguan seperti hemochromatosis (penyakit penumpukan zat besi) atau anemia defisiensi besi.



Dengan demikian, TIBC yang meningkat adalah tanda bahwa tubuh berusaha mengkompensasi kekurangan zat besi dan mencegah terjadinya anemia defisiensi besi. Waktu paruh adalah waktu yang dibutuhkan oleh suatu zat untuk mengurangi jumlahnya setengahnya dalam tubuh. Pada TIBC, hemoglobin (Hb), dan zat besi serum (Fe), waktu paruhnya berbeda karena mereka berfungsi dalam jalur yang berbeda dalam tubuh: Waktu Paruh TIBC: TIBC, yang menggambarkan kapasitas pengikatan transferrin, biasanya lebih stabil dibandingkan dengan kadar zat besi serum dan Hb. TIBC akan lebih bergantung pada produksi transferrin oleh hati dan perubahan status zat besi tubuh secara keseluruhan. Umumnya, waktu paruh TIBC lebih lama dan lebih lambat berubah. Waktu Paruh Hemoglobin (Hb): Waktu paruh Hb lebih cepat karena berkaitan langsung dengan sel darah merah yang memiliki umur hidup sekitar 120 hari. Pada kondisi defisiensi besi, kadar Hb akan turun lebih cepat. Waktu Paruh Zat Besi Serum (Fe): Waktu paruh Fe serum lebih cepat dibandingkan TIBC dan Hb karena berhubungan langsung dengan aliran zat besi dalam darah yang tersedia untuk hemoglobin dan proses metabolik lainnya.

Penting untuk dicatat bahwa Hb dan Fe serum akan lebih cepat menunjukkan perubahan ketika tubuh mengalami kekurangan zat besi atau kelainan lain terkait zat besi, sementara TIBC mungkin menunjukkan perubahan lebih lambat tetapi memberikan gambaran yang lebih jelas tentang kapasitas tubuh dalam mengelola dan mengangkut zat besi.

#### c) Low Density Lipoprotein (LDL)

Low-Density Lipoprotein (LDL) adalah salah satu jenis lipoprotein yang berperan penting dalam transportasi kolesterol dalam tubuh. LDL sering disebut sebagai kolesterol jahat karena peningkatan kadar LDL dalam darah dapat meningkatkan risiko penyakit jantung dan pembuluh darah. Berikut penjelasan lebih rinci mengenai LDL, fungsinya, cara terbentuknya, dan mengapa kadarnya bisa meningkat dalam darah. LDL adalah jenis lipoprotein yang terdiri dari kolesterol, trigliserida, fosfolipid, dan protein. Secara spesifik, LDL mengandung sebagian besar kolesterol dalam darah dan memiliki densitas lebih rendah dibandingkan dengan jenis lipoprotein lainnya, seperti High-Density Lipoprotein (HDL) yang sering disebut sebagai kolesterol baik. Lipoprotein adalah partikel yang berfungsi untuk membawa lipid (lemak), seperti kolesterol dan trigliserida,

melalui darah. LDL memiliki konsentrasi kolesterol yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis lipoprotein lainnya, dan karenanya, lebih berpotensi menyebabkan penumpukan kolesterol di dinding pembuluh darah.

Fungsi utama LDL adalah untuk mengangkut kolesterol dari hati ke sel-sel tubuh yang membutuhkannya. Kolesterol ini digunakan untuk berbagai fungsi seluler, termasuk pembentukan membran sel, sintesis hormon steroid (seperti estrogen, testosteron, dan kortisol), serta produksi empedu yang diperlukan untuk mencerna lemak.

Namun, meskipun kolesterol diperlukan untuk fungsi tubuh yang normal, peningkatan kadar LDL dalam darah dapat berbahaya. Jika terlalu banyak kolesterol yang dibawa oleh LDL, kolesterol tersebut bisa menumpuk di dinding pembuluh darah, membentuk plak yang dapat menghambat aliran darah, yang pada gilirannya meningkatkan risiko aterosklerosis, serangan jantung, dan stroke.

Kadar LDL dalam darah bisa meningkat karena beberapa faktor yang melibatkan gaya hidup, pola makan, serta faktor genetic.

**Polarisasi Diet (Makanan Tinggi Lemak Jenuh dan Kolesterol):** Diet yang kaya akan lemak jenuh, trans-fats (lemak trans), dan kolesterol dapat meningkatkan produksi LDL di hati. Makanan tinggi lemak jenuh seperti daging merah, produk susu penuh lemak, dan makanan olahan dapat mempengaruhi kadar LDL dengan meningkatkan sintesis kolesterol dalam hati. **Obesitas dan Kurangnya Aktivitas Fisik:** Obesitas, terutama lemak perut, dapat menyebabkan peningkatan kadar LDL karena gangguan dalam metabolisme lipid dan sensitivitas tubuh terhadap insulin. Kurangnya olahraga juga dapat menurunkan kadar HDL (kolesterol baik), yang membantu mengangkut kolesterol dari arteri kembali ke hati, sehingga LDL menjadi lebih dominan dalam aliran darah. **Genetik (Dislipidemia Keluarga):** Beberapa orang mewarisi kecenderungan genetik yang menyebabkan peningkatan kadar LDL dalam darah. Penyakit seperti hiperkolesterolemia familial (peningkatan kolesterol darah akibat mutasi gen yang mengatur metabolisme kolesterol) dapat menyebabkan kadar LDL yang sangat tinggi.

**Diabetes dan Resistensi Insulin:** Diabetes tipe 2 dan resistensi insulin sering berhubungan dengan peningkatan kadar LDL. Ini terjadi karena resistensi insulin memengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol, menyebabkan kolesterol yang lebih tinggi dan partikel LDL yang lebih kecil dan lebih berbahaya.

## 2. Berat Badan Tikus

Berat badan pada hewan coba dapat meningkat ataupun menurun seperti manusia. Berdasarkan hasil uji perbedaan terhadap berat badan tikus, menunjukkan angka  $P=0,030$  yaitu  $P<0,05$ . Berarti terdapat perbedaan Berat Badan pada setiap kelompok perlakuan.

Perubahan berat badan pada tikus, khususnya tikus strain Wistar betina, dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik internal maupun eksternal. Tikus strain Wistar sering digunakan dalam penelitian hewan coba karena sifatnya yang relatif mudah dipelihara dan responsif terhadap berbagai perlakuan, serta memiliki karakteristik fisiologis yang diketahui dengan baik. Berikut adalah penjelasan mengenai faktor-faktor yang memengaruhi berat badan tikus betina strain Wistar, serta pertanyaan terkait berat badan optimal dan kemungkinan penurunan berat badan meskipun ransum diberikan secara teratur.

Perubahan berat badan pada tikus, khususnya tikus strain Wistar betina, dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik internal maupun eksternal. Tikus strain Wistar sering digunakan dalam penelitian hewan coba karena sifatnya yang relatif mudah dipelihara dan responsif terhadap berbagai perlakuan, serta memiliki karakteristik fisiologis yang diketahui dengan baik. Berikut adalah penjelasan mengenai faktor-faktor yang memengaruhi berat badan tikus betina strain Wistar, serta pertanyaan terkait berat badan optimal dan kemungkinan penurunan berat badan meskipun ransum diberikan secara teratur.

Berat badan tikus betina bisa menurun karena beberapa faktor berikut: Infeksi bakteri, virus, atau parasite dapat menyebabkan penurunan berat badan yang signifikan pada tikus. Penyakit yang mengganggu metabolisme atau penyerapan nutrisi, seperti infeksi saluran pencernaan atau infeksi sistemik, dapat mengurangi nafsu makan dan menyebabkan penurunan berat badan. Stres yang dihasilkan dari perubahan lingkungan, pemeliharaan yang tidak memadai, atau gangguan seperti suara bising, pencahayaan yang tidak teratur, atau suhu ekstrem dapat mempengaruhi nafsu makan dan metabolisme, menyebabkan penurunan berat badan.

Gangguan seperti hipertiroidisme atau ketidakseimbangan hormon lainnya dapat menyebabkan peningkatan berat badan, meskipun lebih jarang dibandingkan dengan penurunan berat badan.

Kekurangan nutrisi dalam ransum atau ketidakseimbangan dalam komposisi diet (misalnya, kekurangan protein, lemak, atau vitamin) dapat mengurangi pertumbuhan dan menyebabkan penurunan berat badan.

Pada tikus strain Wistar betina yang berusia 8-12 minggu, berat badan yang normal atau optimal biasanya berkisar antara 180 hingga 250 gram. Berat badan ini dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti genetika, diet, dan lingkungan. Tikus pada usia ini sudah berada pada fase pubertas, dan tubuhnya sedang mengalami pertumbuhan yang pesat sebelum mencapai kedewasaan penuh.

Terdapat perbedaan berat badan yang signifikan antara tikus yang diberi perlakuan dan tanpa perlakuan. Konsumsi prebiotik tertentu, seperti pati resisten, oligo-fruktosa, xilooligosakarida, dan fruktooligosakarida, menunjukkan beberapa efek menguntungkan pada malnutrisi dan penyakit penyerta terkait. Oleh karena itu, dapat meningkatkan toleransi glukosa dan keseimbangan metabolisme lipid berat badan.(ref.diWoC)

#### 4) Pertumbuhan Mikrobiota

Berdasarkan data pada grafik... tampak bahwa kelompok P0 dibandingkan dengan P1, P2, P3, dan P4 pada pertumbuhan *Lactobacillus* sp terdapat trend pertumbuhan yang meningkat terutama pada P4 yaitu angkanya berfluktuasi dan pada pertumbuhan terbanyak yaitu  $3,11 \times 10^6$  CFU/ml. Rerata pertumbuhan *Lactobacillus* sp pada kelompok P0. Setelah uji beda dengan menggunakan uji Kruskal Wallis terdapat perbedaan bermakna dengan hasil  $P=0,032$  ( $P<0,05$ ). *Lactobacillus* sp. adalah kelompok bakteri asam laktat yang memiliki peran penting dalam kesehatan pencernaan, termasuk dalam fermentasi karbohidrat dan produksi asam laktat yang dapat menurunkan pH usus, membantu melawan patogen, dan meningkatkan kesehatan saluran cerna secara keseluruhan. Mekanisme pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh sumber prebiotik yang tersedia di usus, seperti pati resisten dan inulin, yang berfungsi sebagai substrat untuk pertumbuhannya. *Lactobacillus* sp. memanfaatkan prebiotik sebagai sumber karbohidrat yang tidak dapat dicerna oleh tubuh manusia, tetapi dapat difermentasi oleh mikroorganisme di usus. Pati resisten dan inulin merupakan dua jenis prebiotik yang sering digunakan oleh *Lactobacillus* sp. dalam saluran pencernaan.

Pati resisten adalah jenis pati yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan manusia, sehingga langsung menuju kolon dan menjadi substrat untuk fermentasi oleh mikroorganisme usus, termasuk *Lactobacillus*. Pati ini dapat ditemukan dalam berbagai sumber makanan, seperti kentang, jagung, dan beberapa produk olahan gandum. *Lactobacillus* sp. memfermentasi pati resisten ini untuk menghasilkan asam laktat dan senyawa lain seperti asam asetat dan propionat yang dapat menurunkan pH kolon, menciptakan lingkungan yang tidak ramah bagi patogen, serta meningkatkan penyerapan mineral (contohnya kalsium).

Inulin adalah oligosakarida yang terdiri dari unit-fruktosa dan biasanya tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan manusia. Inulin ditemukan dalam berbagai jenis tanaman, termasuk pisang. Di dalam usus, inulin menjadi substrat bagi bakteri seperti *Lactobacillus* sp. yang dapat mencerna oligosakarida ini. Proses fermentasi inulin oleh *Lactobacillus* menghasilkan asam laktat, serta senyawa bioaktif lain yang berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri baik di usus dan mengurangi jumlah bakteri patogen. Inulin juga meningkatkan motilitas usus dan meningkatkan konsentrasi bifidobacteria, yang saling berinteraksi dengan *Lactobacillus* untuk meningkatkan keseimbangan mikroflora usus.

*Lactobacillus* sp. dapat ditemukan dalam jumlah yang cukup besar di usus manusia, terutama pada bagian usus besar. Konsentrasi *Lactobacillus* sp. dalam saluran pencernaan manusia dapat bervariasi, namun secara umum, konsentrasi bakteri ini di usus berkisar antara  $10^7$  hingga  $10^{12}$  CFU/g (colony-forming units per gram) dari materi feces (Sekara et al., 2015). Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhannya antara lain jenis diet (termasuk keberadaan prebiotik), penggunaan antibiotik, dan kondisi kesehatan individu.

Dalam kondisi normal, *Lactobacillus* sp. menyumbang sekitar 1-5% dari total mikroflora usus. Namun, pada individu yang mengonsumsi banyak prebiotik (seperti inulin atau pati resisten), jumlah bakteri *Lactobacillus* ini bisa meningkat secara signifikan. Konsentrasi ini cenderung lebih tinggi pada individu yang memiliki pola makan kaya serat dan prebiotik.

## BAB VI

### KESIMPULAN

- 1) Kondisi subyek penelitian (umur, berat badan, jumlah konsumsi pakan per hari) teridentifikasi sesuai dengan tujuan penelitian yaitu tikus putih betina strain wistar, memiliki kesehatan yang optimal, berat badan 120-160 gram, berat badan di setiap kelompok homogen, terdapat perbedaan yang bermakna peningkatan BB pada kelompok P3 dibandingkan semua kelompok selama perlakuan.
- 2) Kadar TIBC tikus pada kelompok P0,P1,P2, P3 dan P4 meningkat dan berbeda bermakna dengan  $P=0,042$  ( $P<0,05$ )
- 3) Jumlah bakteri enterpatogenik dan microbiota (lactobacillus) pada kelompok P0,P1,P2, P3 dan P4 untuk Salmonella sp tidak berbeda bermakna dengan  $P=0,64$  ( $P>0,05$ ) ; sementara untuk Enterobacter terdapat perbedaan bermakna dengan  $P=0,01$  ( $P<0,05$ ). Perbedaan bermakna juga terdapat pada pertumbuhan lactobacillus dengan  $P=0,032$  ( $P,0,05$ )
- 4) Kadar profil darah lengkap pada kelompok P0,P1,P2, P3 dan P4 meliputi kadar leukosit, eritrosit, trombosit, hemoglobin, hematokrit, limfosit, netrofil,Fe, TIBC, saturasi transferin, dan Profil Lemak (Kolesterol, Trigliserida, LDL dan HDL), serta Glukosa. Seluruh pemeriksaan disajikan dalam grafik trend menunjukkan hasil beragam, berfluktuasi dan mengarah pada kondisi normal.
- 5) Hasil uji perbedaan (Anova dan Kruskal Wallis) menunjukkan perbedaan bermakna pada kadar profil darah antara lain : trombosit ( $P=0,01$ ), TIBC (0,042), Saturasi transferin (0,04), Trigliserida (0,048) dan LDL (0,04)
- 6) Hasil uji Effect Size pada kelompok perlakuan (P0,P2,P3,P4) terhadap berat badan dan pertumbuhan microbiota non pathogen (Lactobacillus sp) menunjukkan hasil bahwa perlakuan yang memiliki effect besar pada P3 (SE=1,51) dan pertumbuhan lactobacillus dengan effect sedang juga pada kelompok P3 (SE-0,65)

## DAFTAR PUSTAKA

- Adamkova, P., Hradicka, P., Skalnikova, H. K., Cizkova, V., Vodicka, P., Iannaccone, S. F., Kassayova, M., Gancarcikova, S., & Demeckova, V. (2022). Dextran Sulphate Sodium Acute Colitis Rat Model: A Suitable Tool for Advancing Our Understanding of Immune and Microbial Mechanisms in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Veterinary Sciences*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/vetsci9050238>
- Astri, Y., Sitorus, T., Sigit, J. I., & Sujatno, M. (2012). *Toksitas Akut per Oral Ekstrak Etanol Daun Dewa (Gynura pseudochina (Lour.) DC) terhadap Kondisi Lambung Tikus Jantan dan Betina Galur Wistar* (Vol. 44, Issue 1).
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68(6), 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- Danastri Mahaprani I Gusti Ayu, dkk. (2010). INFLAMMATORY BOWEL DISEASE. *Ilmu Bedah Digestive*, 1–29.
- Haryo, R., Setiarto, B., Widhyastuti, N., & Fairuz, I. (2017). PENGARUH STARTER BAKTERI ASAM LAKTAT DAN PENAMBAHAN TEPUNG TALAS TERMODIFIKASI TERHADAP KUALITAS YOGURT SINBIOTIK EFFECT OF LACTIC ACID BACTERIA STARTER AND THE FORTIFICATION OF MODIFIED TARO FLOUR ON THE QUALITY OF SYNBIOTIC YOGURT. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 11(1), 18–30.
- Haryo, R., Setiarto, B., Widhyastuti, N., & Sumariyadi, D. A. (2018). *PENINGKATAN KADAR PATI RESISTEN TIPE III TEPUNG SINGKONG TERMODIFIKASI MELALUI FERMENTASI DAN PEMANASAN BERTEKANAN-PENDINGINAN (Improvement Level of Resistant Starch Type III on Modified Cassava Flour Using Fermentation and Autoclaving-Cooling)*.
- Jap, A. L. S., & Widodo, A. D. (2021). Diare Akut yang Disebabkan oleh Infeksi. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 27(3), 282–288. <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v27i3.2068>
- Lipinwati. (2021). *INFLAMASI BOWEL DISEASE*.
- Ma', S., & Kesuma, C. (2018). PENGEMBANGAN SISTEM PAKAR MENDETEKSI PENYAKIT PENCERNAAN MENGGUNAKAN METODE NAIVE BAYES BERBASIS WEB 1). In *Jurnal Evolusi* (Vol. 6).
- Marsono Y. (2016). PENGARUH PENGOLAHAN TERHADAP PATI RESISTEN PISANG KEPOK DAN PISANG TANDUK. *Agritech*, 22(2), 56–59.
- Masrukan. (2020). POTENSI MODIFIKASI PATI DENGAN ESTERIFKASI SEBAGAI PREBIOTIK. *Jurnal Agrotech*, 1(1), 1–14.
- Mora-Flores, L. P., Moreno-Terrazas Casildo, R., Fuentes-Cabrera, J., Pérez-Vicente, H. A., de Anda-Jáuregui, G., & Neri-Torres, E. E. (2023). The Role of Carbohydrate Intake on the Gut Microbiome: A Weight of Evidence Systematic Review. In *Microorganisms*

(Vol. 11, Issue 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11071728>

- Park, H., Yeo, S., Kang, S., & Huh, C. S. (2021). Longitudinal microbiome analysis in a dextran sulfate sodium-induced colitis mouse model. *Microorganisms*, 9(2), 1–18.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9020370>
- Rahmatu, R. (2018). KADAR KLOOROFIL DAN VITAMIN C DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam) DARI BERBAGAI KETINGGIAN TEMPAT TUMBUH Chlorophyll and Vitamin C Levels of Moringa Leaf (*Moringa Oleifera* Lam) Growing on Various Altitudes. *J. Agrotekbis*, 6(2), 152–158.
- Ria Erika Marita Dellima, B., Kartika Sari, E., & Tinggi Ilmu Kesehatan Akbidyo, S. (2022). ANALISIS VITAMIN C EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) DAN FORMULASINYA DALAM SEDIAAN SABUN MANDI TRANSPARAN *Analysis Vitamin C of Ethanol Extract of Moringa Leaves (Moringa oleifera Lam.) and Its Formulation in Transparent Bath Soap* (Vol. 2, Issue 2).
- Sarni, S., Hamzah, H., Malik, A., A, I. I., & Khadijah, K. (2020). Analisis Kandungan Vitamin C Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Pada Ketinggian Berbeda di Kota Baubau. *Techno: Jurnal Penelitian*, 9(1), 337. <https://doi.org/10.33387/tjp.v9i1.1719>
- Sina, I., Kedokteran, J., Kedokteran, K.-F., Islam, U., Utara, S., Rachmi, E., Pustaka, T., Teknik, A. B., Lingkungan, K., Pemberantasan, D., Kelas, P., Medan, I., & Artikel, H. (2021). PATOFISIOLOGI KOLITIS YANG DIINDUKSI DEXTRAN SODIUM SULFAT PATHOPHYSIOLOGY INDUCED COLLITIS DEXTRAN SODIUM SULFAT. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan-FKUniv Islam Sumatera Utara*, 20. <http://bit.ly/OJSIbnuSina>
- STANDAR BATAS AMAN CEMARAN MIKROBA MAKANAN. (2019).
- Suloi Fajri Nur Andi, & Suloi, F. (2015). POTENSI PATI RESISTEN DARI BERBAGAI JENIS PISANG-A REVIEW (*Potential Resisten Starch Prepared by Banana-A Review*).
- Tahir, M., & Hikmah, N. (2015). ANALISIS KANDUNGAN VITAMIN C DAN  $\beta$ -KAROTEN DALAM DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(1), 135–140.
- Thippeswamy, T. G., Shreedhar, M. V, Murty, S., & Thejaswi, N. (n.d.). *Ascorbic acid and mineral content in Moringa oleifera leaves: A study of ascorbic acid stability*.
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M., & Fernandez, M. L. (2017). Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. In *Antioxidants* (Vol. 6, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox6040091>
- Y Marsono. (2015). PENGARUH PENGOLAHAN TERHADAP PATI RESISTEN PISANG KEPOK DAN PISANG TANDUK. *Agritech*, 22(2), 56–59.
- Yoo, S., Jung, S. C., Kwak, K., & Kim, J. S. (2024). The Role of Prebiotics in Modulating Gut Microbiota: Implications for Human Health. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25094834>



Ahsin, A., Wijayanti, H. S., & Afifah, D. N. (2020). Aktivitas antioksidan, kadar pati resisten, dan organoleptik es krim pisang batu (*Musa balbisiana* Colla) sebagai makanan fungsional untuk pencegahan penyakit kanker kolorektal.

Akhueomonkhan, E., Parian, A, Miller, K.; Hanauer, S.; Hutfless, S. (2017). Prevalence and screening for anemia in mild to moderate Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States, 2010–2014. *BMJ Open Gastroenterol.*

Aprilia, D., Hermalia, S., Rahayu, R., & Destiana, I. D. (2019). Pengaruh perbedaan konsentrasi pisang sebagai prebiotik alami dan pektin terhadap karakteristik cocogurt. In *Prosiding Industrial Research Workshop and National Seminar* (Vol. 10, No. 1, pp. 41–46).

Ariani, S. (2015). *Stop Kanker*. Penerbit : Istana Media.

Bhattacharya, S., Heidler, P., & Varshney, S. (2023). Incorporating neglected non-communicable diseases into the national health program—A review. *Frontiers in public health*, 10, 1093170.

Bilal M, Yusufzai A, Asghar N, Sohail A, Khan ZZ, Zahid T, Mumtaz H, Ahmad S. Total Leukocyte Count Depicting the Degree of Inflammation in Acute Appendicitis. *Cureus*. 2021 Aug 30;13(8):e17566. doi: 10.7759/cureus.17566. PMID: 34646622; PMCID: PMC8481137.

Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J. L., Hollis, J., Li, L., McClelland, J., Moore, S., Phillips, G. J., Rowling, M., Schalinske, K., Paul Scott, M., & Whitley, E. M. (2013). Resistant starch: Promise for improving human health. *Advances in Nutrition*, 4(6), 587–601.

Budreviciute A, Damiani S, Sabir DK, Onder K, Schuller-Goetzburg P, Plakys G, Katileviciute A, Khoja S, Kodzius R. (2020). Management and Prevention Strategies for Non-communicable Diseases (NCDs) and Their Risk Factors. *Front Public Health*.

Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. (2014) Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Curr Protoc Immunol*. doi: 10.1002/0471142735.im1525s104. PMID: 24510619; PMCID: PMC3980572.

Damayanti, N. A. (2018). *Dukungan Keluarga Terhadap Tingkat Stres Pada Pasien Kanker Kolon Yang Menjalani Kemoterapi Di Ruang Cendrawasih Rsup Dr Kariadi* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Semarang).

Dewi, A., Idi, S., & Slamet, I. (2016). *Variasi Campuran Tepung Kulit Pisang Kepok Sebagai Sumber Kalsium Pada Brownies Kukus Ditinjau Dari Sifat Fisik, Organoleptik Dan Kadar Kalsium* (Doctoral dissertation, Poltekkes kemenkes Yogyakarta).

Djojoningrat D, Simadibrata M, Makmun D, Abdullah M, Syam A, F, Lelosutan S, AR, et al. *Konsensus Nasional Penatalaksanaan IBD di Indonesia 2011*

Eichele DD, Kharbanda KK., (2017) Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(33):6016.

Foteinogiannopoulou, K.; Karmiris, K.; Axiaris, G.; Velegraki, M.; Gklavas, A.; Kapizioni, C.; Karageorgos, C.; Kateri, C.; Katsoula, A.; Kokkotis, G.; et al. The burden and management of anemia in Greek patients with inflammatory bowel disease: A retrospective, multicenter, observational study. *BMC Gastroenterol*. 2021, 21, 269.

Geng, F., Zhang, Y., Lu, Z., Zhang, S., Pan, Y., (2020). *Fusobacterium nucleatum* caused DNA damage and promoted cell proliferation by the Ku70/p53 pathway in oral cancer cells. *DNA Cell Biol*. 39, 144–151

Gibson, G.R. and M.B. Roberfroid. (1995). Dietary Modulation of Human Clonal Microbiota: Introduction The Concept of Prebiotic. *J. Nutr*. 125: 1401-1412

Gvirtzman, R., Livovsky, D.M., Tahover, E. et al. Anemia can predict the prognosis of colorectal cancer in the pre-operative stage: a retrospective analysis. *World J Surg Onc* 19, 341 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12957-021-02452-7>

Haralampu, S.G. (2000). Resistant Starch-A Review of The Physical Properties and Biological Impact of RS. *J. Carbohydr. Polym*. 41 : 285- 292.

Hardisari, R., & Amaliawati, N. (2016). Manfaat prebiotik tepung pisang kepok (*Musa paradisiaca formatypica*) terhadap pertumbuhan probiotik *Lactobacillus casei* secara in vitro. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 5(2), 64-67.

Irwin, R., Raetz, S., Parameswaran, N., & McCabe, L. R. (2016). Intestinal inflammation without weight loss decreases bone density and growth. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 311(6), R1149-R1157.

Ihedioha JI, Ugwuja JI, Noel-Uneke OA, Udeani IJ, Daniel-Igwe G. (2012). Reference values for the haematology profile of conventional grade outbred albino mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria. *Anim. Res. Int*. 9(2): 1601-1612.

Itani, M., Menias, C. O., Mellnick, V. M., El Zakhem, A., Elsayes, K., Katabathina, V., & Revzin, M. V. (2021). Imaging of abdominal and pelvic infections in the cancer patient. *Abdominal Radiology*, 46, 2920-2941.

Johnson, L.T. and D.A.R. Soutgate. (1994). *Dietary Fiber and Related Substrate*. Chapman and Hall London.

Kemenkes RI. (2018). *Panduan Penatalaksanaan Kanker Kolorektal*. Kesehatan.

Kemenkes, RI., (2019), *Buku Pedoman Pencegahan Penyakit Tidak Menular*, Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular, Kemenkes RI, Jakarta.

Kheriyah, . (2014) *Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas Antikanker Senyawa Turunan Bakteriofeoforbida (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO)*.

- Krisnadi, A. D. (2015). Kelor super nutrisi. *Blora: Pusat informasi dan pengembangan tanaman kelor Indonesia*.
- Kurniasari, F. N., Harti, L. B., Arietiningsih, A. D., Wardhani, S. O., & Nugroho, S. (2017). *Buku Ajar Gizi dan Kanker*. Universitas Brawijaya Press
- Kusmardika, D. A. (2020). Potensi aktivitas antioksidan daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam mencegah kanker. *Journal of Health Science and Physiotherapy*, 2(1), 46-50.
- Lipinwati, L. (2021). INFLAMASI BOWEL DISEASE. *Electronic Journal Scientific of Environmental Health And Disease*, 2(2), 141-147.
- Lolodatu, E. S. (2015). Kualitas Non Flaky Crackers Coklat Dengan Variasi Substitusi Tepung Pisang Kepok Kuning (*Musa Paradisiaca Forma Typica*). *Jurnal Teknobiologi*, 1-14.
- Macharia, J. M., Mwangi, R. W., Rozmann, N., Zsolt, K., Varjas, T., Uchechukwu, P. O., & Raposa, B. L. (2022). Medicinal plants with anti-colorectal cancer bioactive compounds: Potential game-changers in colorectal cancer management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113383.
- Mahadea D, Adamczewska E, Ratajczak AE, Rychter AM, Zawada A, Eder P, Dobrowolska A, Krela-Kaźmierczak I. (2021) Iron Deficiency Anemia in Inflammatory Bowel Diseases-A Narrative Review. *Nutrients*. Nov 10;13(11):4008. doi: 10.3390/nu13114008. PMID: 34836263; PMCID: PMC8624004.
- Maharani, S. (2012). *Kanker : mengenal 13 jenis kanker & pengobatannya* (Cet. 2). Yogyakarta: Katahati.
- Musita, N. (2012). Kajian kandungan dan karakteristiknya pati resisten dari berbagai varietas pisang. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*, 23(1), 57- 65.
- Muti, K. A. (2021). *Perbedaan Penggunaan Antikoagulan Na<sub>2</sub>EDTA, K<sub>2</sub>EDTA dan K<sub>3</sub>EDTA Terhadap Profil Leukosit Yang Diperiksa Dengan Hematology Analyzer* (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta).
- Narayanan SP, Anderson B, Bharucha AE. Sex- and Gender-Related Differences in Common Functional Gastroenterologic Disorders. *Mayo Clin Proc*. 2021 Apr;96(4):1071-1089. doi: 10.1016/j.mayocp.2020.10.004. PMID: 33814075; PMCID: PMC8075061.
- Nurani, L. H., Nurkhasanah, & Irham, L. M. (2023). *Kanker Dan Karsinogenesis* (Cetakan Pertama). Kampus II Universitas Ahmad Dahlan.  
<https://eprints.uad.ac.id/45456/1/kanker%20dan%20karsinogenesis%20p.pdf>
- Perše, M., & Cerar, A. (2012). Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks. *BioMed Research International*.
- Prabawati, S. Y., & Wijaya, A. G. (2008). Pemanfaatan Sekam Padi Dan Pelepah Pohon Pisang Sebagai Bahan Alternatif Pembuat Kertas Berkualitas. *Aplikasia* VOL IX, NO. 1 JUNI 2008.

- Prabawati, S., Setyabudi, S., & A, D. (2008). Teknologi Pasca Panen dan Teknik Pengolahan Buah Pisang. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Rahmawati N, Syukri M, Darmawi D, Zachreini I, Zulfiani U, Yusuf M, Idroes R. Haematological Features of White Rats (*Rattus norvegicus*) Infected with *S. pyogenes* and Administered with Probiotics (Yogurt). *ScientificWorldJournal*. 2022 Jun 30;2022:2899462. doi: 10.1155/2022/2899462. PMID: 35811999; PMCID: PMC9262534.
- Raigond, P., Dutt, S., Singh, B. (2019). Resistant Starch in Food. In: Mérillon, JM., Ramawat, K.G. (eds) *Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6\\_30](https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_30)
- Rianti.,C, Syauqy., A. (2014). Pengaruh Pemberian Pisang( *Musaparadisiaca*) terhadap Kelelahan Otot Aerob pada Atlet Sepak Takraw.1–25
- Rifati, I. S. M. (2016, December). Pengembangan sistem pakar mendeteksi penyakit pencernaan menggunakan metode naive bayes berbasis web. In *Seminar Nasional Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Komputer* (pp. 394- INF).
- Ruhdiana, T., & Sandi, S. P. H. (2023). Kandungan Gizi Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn) Keripik Pisang Terhadap Glukosa Darah. *Abdimajurnal Pengabdian Mahasiswa*, 2(1), 3503-3508.
- Rusdiana, R., & Syauqy, A. (2015). Pengaruh pemberian pisang kepok (*Musa Paradisiaca* Forma Typical) terhadap kadar trigliserida tikus sprague dawley pra sindrom metabolik (Doctoral dissertation, Diponegoro University).
- Rusli, R., Amalia, F., & Dwyana, Z. (2018). Potensi bakteri *lactobacillus acidophilus* sebagai antidiare dan imunomodulator. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 3(2), 25-30.
- Sanchez, L. C. (2018). Disorders of the gastrointestinal system. *Equine internal medicine*, 709.
- Sanjaya, I. W. B., Lestarini, A., & Bharata, M. D. Y. (2023). Karakteristik Klinis pada Pasien Kanker Kolorektal yang Menjalani Kolonoskopi di RSUD
- Sanjiwani Gianyar Tahun 2019-2020. *AMJ (Aesculapius Medical Journal)*, 3(1), 43-48.
- Sumardi, S., Handayani, K., Susanto, G. N., Oktavia, N., & Prihadi, E. (2022). Pengaruh empon-empon dan prebiotik terhadap pertumbuhan benur Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dalam mengontrol bakteri *Vibrio* (*Vibrio* sp.). *Sriwijaya Bioscientia*, 3(2), 33-39.
- Septiawati, D. (2022). Formulasi Dan Uji Mutu Sediaan Sabun Padat Ekstrak Daun Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn.) Dengan Variasi Konsentrasi Minyak Kelapa (Doctoral dissertation, ITSK RS dr. Soepraen).

- Shon, W. J., Lee, Y. K., Shin, J. H., Choi, E. Y., & Shin, D. M. (2015). Severity of DSS-induced colitis is reduced in Ido1-deficient mice with down-regulation of TLR-MyD88-NF-kB transcriptional networks. *Scientific reports*, 5(1), 17305.
- Smock K, Perkins S. (2013). Examination of the blood and bone marrow. In: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT, Paraskevas F, Rodgers GM, Foerster J, eds. *Wintrobe's clinical hematology: fourteenth edition*. Philadelphia: Wolters Kruer, 1–18.
- Sudarmo, Subijanto & Basrowi, Ray & Chairunita, Chairunita. (2018). *Saluran Cerna, Mikrobiota Usus dan Daya Tahan Tubuh*. (buku)
- Sudayasa, I. P., Rahman, M. F., Eso, A., Jamaluddin, J., Parawansah, P., Arimaswati, A., & Kholidha, A. N. (2020). Deteksi Dini Faktor Risiko Penyakit Tidak Menular Pada Masyarakat Desa Andepali Kecamatan Sampara Kabupaten Konawe. *Journal of Community Engagement in Health*, 3(1), 60-66.
- Sulistiastutik., Suwita, I. K., & Ikayanti, R. (2020) Potensi Ekstrak Pati Pisang Kepok Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus* Secara Invitro,. Laporan Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi.
- Suloi, A. N. F. (2019). POTENSI PATI RESISTEN DARI BERBAGAI JENIS PISANG—A REVIEW (Potential Resisten Starch Prepared by Banana—A Review). *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Agrokompleks*, 92-96.
- Tangkas, P. J. W., Suarsana, N., & Gunawan, I. W. N. F. (2021). Hematology profile *Rattus norvegicus* that given intensive training and extract of *Musa paradisiaca* formatypica.
- Veronika, M. (2017). Efektivitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai bio-sanitizer tangan dan daun selada (*Lactuca sativa*) (Doctoral dissertation, UAJY).
- Vidayanana, L. R., SARI, F. K., & DAMAYANTI, A. Y. (2020). Pengaruh penambahan daun kelor terhadap penerimaan, nilai proksimat dan kadar zat besi pada nugget lele. *Sagu*, 19(1), 27-39.
- Witono, J., Kumalaputri, A., dan Lukmana, H. 2012. Optimasi Rasio Tepung Terigu, Tepung Pisang, dan Tepung Ubi Jalar, serta Konsentrasi Zat Adiktif Pada Pembuatan Mie. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Katolik Parahayangan.
- Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2007;448:427–434
- Yartireh, H. & Hashemian, A., 2013. The Effect of Occupational Exposure to Lead on Blood Hemoglobin Concentration in Workers of Kermanshah Oil. *Iranian Journal of Toxicology*, 6(19).

# LAMPIRAN

## LAMPIRAN 1. SERTIFIKAT ETHICAL CLEARANCE



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE  
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MALANG  
STATE POLYTECHNIC OF HEALTH MALANG

KETERANGAN LULUS KAH ETIK  
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL  
"ETHICAL APPROVAL"  
Reg.No.:511 / KEPK-POLKESMA/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh / The research protocol prepared by Fifi Iuthiyah, SST MKes  
Peneliti Utama / Principal Investigator Fifi Iuthiyah, SST MKes

Nama Institusi / Name of the Institution Poltekkes Malang

Dengan Judul / With Title  
PENGEMBANGAN FORMULA PATI RESISTEN PISANG KEPOK DAUN KELOR PADA MIKROBIOTA USUS  
TIKUS WISTAR SEBAGAI KANDIDAT PREBIOTIK TINGGI Fe (tahap2)  
DEVELOPMENT OF KEPOK BANANA AND MORINGA LEAF RESISTANT STARCH FORMULA IN  
MICROBIOTICS WISTAR RAT INTO AS A HIGH PREBIOTIC CANDIDATE Fe (session 2)

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah,

3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

*Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risk, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.*

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 24 Juli 2024 sampai dengan 24 Juli 2025

*This declaration of ethics applies during the period July 24, 2024 until July 24, 2025*

Malang, 24 Juli 2024  
Head of Committee



Dr. SUSI MILWATI, S.Kp, M.Pd  
NIP. 196312011987032002

LAMPIRAN 2. SURAT IJIN PENELITIAN



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET, DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Veteran, Malang 65145, Indonesia  
Telp. +62341 531611. Pcs. 213.214: 569117, 567192. Fax. +62341 565420  
E-mail : [selcr.fk@ub.ac.id](mailto:selcr.fk@ub.ac.id) <http://fk.ub.ac.id>

**FORMULIR IJIN PENELITIAN DI LPHC FKUB**

Nomor : 21AUN10.F08.42PP0204

Saya yang bertanda tangan dibawah ini mengajukan permohonan ijin penelitian di Laboratorium Penelitian Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang:

**I. IDENTITAS PEMOHON**

1	Nama Ketua & No. HP WA	FIFI LUTHFIYAH, SST.M.Kes - 085238984308
2	Nama Anggota & No. HP WA	Apl.Ratno Bayanti, S.Farm.,M.Farm - 08175411817
	Alamat Rumah	Perumahan Srimaya, Jl. Balai Desa Kapoharjo, Blok D11 Upadmasana, Karangploso, Kab. Malang
	E-mail	fifiluthfiyah@poltekkes-malang.ac.id
4	Institusi Asal	Prodi STeGz Poltekkes Malang - Jurusan Gizi Poltekkes Malang

**II. PENELITIAN**

- a. Judul Penelitian : PENGEMBANGAN FORMULA PATI RESISTEN PISANG KEPOK DAUN KELOR PADA MIKROBIOTA USUS TIKUS WISTAR SEBAGAI KANDIDAT PREBIOTIK TINGGI Fa (Tahap 2: Paparan DSS)
- b. Penelitian/tindakan apa saja yang akan dilakukan di LPHC FKUB : Pemeliharaan Tikus, Pemberian Paparan DSS, Intervensi PKK dan Pembedahan
- c. Pembimbing Penelitian : Prof. Sukanto
- d. Sumber Dana :
  1. Mandiri / Hibah / Proyek : Hibah
  2. Lain-lain (Sebutkan) : -
- e. Penelitian Dikerjakan
  1. Peneliti Sendiri : Peneliti dan didampingi Laboran LPHC
  2. Laboran LPHC : Budi Wicaksono
- f. Jenis Hewan Coba : Tikus Betina
  1. Jumlah Hewan Coba : 28 ekor
  2. Jumlah Kandang : Kandang Sedang 28
- g. Perlakuan Hewan Coba : Imun dan Infeksi
- h. Alokasi Waktu
  1. Mulai Penelitian (Tanggal) : 12 Agustus 2024 s.d. 17 September 2024
  2. Alokasi Waktu Kerja : 1 Bulan

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui semua ketentuan dan aturan yang berlaku di Laboratorium Penelitian Hewan Coba (LPHC) Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Mengetahui,  
Koordinator Divisi Imun dan Infeksi,

Malang, 13 Agustus 2024  
Pemohon,

Prof. Dr. dr. ... nggar Fiti, M.Kes, Sp.Park  
NIP 196-... 032001

FIFI LUTHFIYAH, SST.M.Kes  
NIP 197404082001122001

Kepala Sub LPHC,

Dr. Nuning Winarta, S.SI, M.Sc.  
NIK 2014058711062001

LAMPIRAN 3.



### LAMPIRAN 3. LUARAN PENELITIAN HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL

  
 REPUBLIK INDONESIA  
 KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

## SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202418522, 5 November 2024  
 Pencipta : FIFI LUTHFIYAH, SST.M.Kes., Apt., RETNO IKAYANTI, M.Apt dkk.  
 Nama : FIFI LUTHFIYAH, SST.M.Kes., Apt., RETNO IKAYANTI, M.Apt dkk.  
 Alamat : Perumahan Srimaya, Jl. Bali Desa Kepuharjo, Blok D11/Klaster Padmaana, Nejo, Karangloso, Kab. Malang, Karangloso, Malang, Jawa Timur, 65152  
 Alamat : Perumahan Srimaya, Jl. Bali Desa Kepuharjo, Blok D11, Karangloso, Karangloso, Malang, Jawa Timur, 65152  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Pemegang Hak Cipta : Poltekkes Kemenkes Malang  
 Nama : Poltekkes Kemenkes Malang  
 Alamat : Jl. Besar Ijen No.79C Klojèn, Klojèn, Malang, Jawa Timur 65119  
 Alamat : Jl. Besar Ijen No.79C Klojèn, Klojèn, Malang, Jawa Timur 65119  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Jenis Ciptaan : Brosur  
 Judul Ciptaan : BROSER FUNCTIONAL FOOD PREBIOTIK KEPOK KELOR UNTUK REMAJA  
 Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 5 Oktober 2024, di Malang  
 Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 5 Oktober 2024, di Malang  
 Angka waktu perlindungan : Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak Ciptaan tersebut pertama kali dilakukan Pengumuman.  
 Nomor pencatatan : 000790954  
 Nomor pencatatan : 000790954

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.  
 Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.

s.d. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
 DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL  
 dan  
 Direktur Hak Cipta dan Desain Industri

  
 IGNATIUS M.T. SILALAH  
 NIP. 196812301996031001

HKI Brosur Pati Kepok Kelor

  
 REPUBLIK INDONESIA  
 KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

## SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202418520, 5 November 2024  
 Pencipta : FIFI LUTHFIYAH, SST.M.Kes. dan Apt., RETNO IKAYANTI, M.Apt.  
 Nama : FIFI LUTHFIYAH, SST.M.Kes. dan Apt., RETNO IKAYANTI, M.Apt.  
 Alamat : Perumahan Srimaya, Jl. Bali Desa Kepuharjo, Blok D11, Karangloso, Karangloso, Malang, Jawa Timur, 65152  
 Alamat : Perumahan Srimaya, Jl. Bali Desa Kepuharjo, Blok D11, Karangloso, Karangloso, Malang, Jawa Timur, 65152  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Pemegang Hak Cipta : Poltekkes Kemenkes Malang  
 Nama : Poltekkes Kemenkes Malang  
 Alamat : Jl. Besar Ijen No.79C Klojèn, Klojèn, Malang, Jawa Timur 65119  
 Alamat : Jl. Besar Ijen No.79C Klojèn, Klojèn, Malang, Jawa Timur 65119  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Kewarganegaraan : Indonesia  
 Jenis Ciptaan : Buku  
 Judul Ciptaan : MANFAAT PREBIOTIK PATI RESISTEN PISANG KEPOK KELOR TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBIOTA USUS  
 Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 23 Oktober 2024, di Malang  
 Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 23 Oktober 2024, di Malang  
 Angka waktu perlindungan : Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak Ciptaan tersebut pertama kali dilakukan Pengumuman.  
 Nomor pencatatan : 000790952  
 Nomor pencatatan : 000790952

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.  
 Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.

s.d. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
 DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL  
 dan  
 Direktur Hak Cipta dan Desain Industri

  
 IGNATIUS M.T. SILALAH  
 NIP. 196812301996031001

HKI Buku Monograf Manfaat Prebiotik Kepok Kelor Terhadap Pertumbuhan Mikrobiota Usus

#### LAMPIRAN 4. DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN (PERSIAPAN)



Rapat tim internal (Pengadaan Tikus)



Rapat eksternal Bersama Mitra Penelitian



Rapat Zoom untuk Pembuatan Pati Pisang



Rapat Technical Meeting untuk Penyiapan alat dan Bahan

Penyerahan Alat Produksi kepada Mitra

Pencampuran Pati Kepok Kelor

LAMPIRAN 5. DOKUMENTASI PENELITIAN (PELAKSANAAN)



Penempatan Tikus di Pakan pellet Kandang



Pemberian DSS melalui sonde



Pencampuran PKK dalam pelet

Penyiapan porsi pellet per tikus

Penimbangan Berat Badan



Tim Penelitian Pati Kepok Kelor 2024

LAMPIRAN 6. DOKUMENTASI PEMBEDAHAN



Alat spuit



Ketamin (Anastesi)



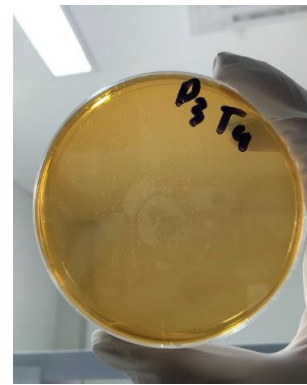
Pembedahan



Biakan bakteri E-coli



Biakan Bakteri Enterobacter



Biakan Lactobacillus



LAMPIRAN 7. SERTIFIKAT ORAL PRESENTATION PADA ICNF IPB 2024

The certificate features a decorative background with abstract green and blue geometric shapes and wavy lines. At the top left, there are logos for the 3<sup>rd</sup> ICNF (International Conference on Nutrition and Food 2024), IPB University, and UPM (Universitas Padjadjaran). The main title 'Certificate of Appreciation' is written in a large, elegant cursive font. Below it, the recipient's name 'Fifi Luthfiyah, SST., M. Kes' is written in a similar cursive font. The text 'PRESENTER' is prominently displayed in bold, uppercase letters. The topic of the presentation is detailed in bold, uppercase letters. The event details, including the dates and location, are provided at the bottom. Two signatures are present: one from the Dean of the Faculty of Human Ecology and another from the Head of the Department of Community Nutrition.

**3<sup>rd</sup> ICNF**  
IPB INTERNATIONAL  
CONFERENCE  
ON NUTRITION  
AND FOOD 2024

**IPB University**  
Bogor Indonesia

**UPM**  
UNIVERSITAS PADJADJARAN


**ICNF 2024**  
THE 3<sup>rd</sup> IPB INTERNATIONAL CONFERENCE ON NUTRITION AND FOOD  
"Sustainable Food and Nutrition for Human Development"

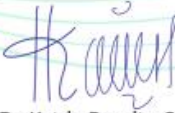
*Certificate of Appreciation*

Number: 4271/IT3.FS.1/PK.01.02/MT/2024  
is presented to  
*Fifi Luthfiyah, SST., M. Kes*

in recognition as a  
**PRESENTER**  
for the topic  
**Kepok banana starch (*Musa paradisiaca formatypica*) and moringa (*Moringa oleifera*)-based prebiotic products as functional food for wistar strain female rats**  
(Fifi Luthfiyah, Retno Ikayanti, Fransisca Dwipajati, Dwi Nastiti Iswarawanti)

at the 3<sup>rd</sup> IPB International Conference on Nutrition and Food (ICNF 2024)  
**"Sustainable Food and Nutrition for Human Development"**  
07-08 October 2024, IPB University, Bogor-Indonesia

  
Dr. Sofyan Sjaif, S.Pt, M.Si  
Dean of Faculty of Human Ecology  
IPB University

  
Prof. Dr. Katrin Roosita, SP, M.Si  
Head of Department of Community Nutrition  
IPB University

## LAMPIRAN 8. HASIL UJI STATISTIK

(UJI NORMALITAS, UJI ONE WAY ANOVA, UJI KRUSKAL WALLIS)

### HASIL UJI NORMALITAS DATA BERAT BADAN

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P0	.381	8	.001	.558	8	.000
P1	.388	8	.001	.533	8	.000
P2	.331	8	.010	.660	8	.001
P3	.238	8	.200*	.814	8	.041
P4	.381	8	.001	.632	8	.000

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

TIDAK NORMAL

LANJUT UJI WILCOXON

Test Statistics <sup>a</sup>			
	P2 - P0	P3 - P1	P4 - P1
Z	-1.540 <sup>b</sup>	-2.521 <sup>c</sup>	-1.680 <sup>b</sup>
Asymp. Sig. (2-tailed)	.123	.012	.093

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on positive ranks.

c. Based on negative ranks.

PERBEDAAN SIGNIFIKAN PADA BERAT BADAN P3 DIBANDINGKAN P1 YAITU  $P < 0,05$  YAITU  $P=0,012$

Uji anova non parametrik yaitu Uji Kruskal Wallis

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	POSTTEST
Chi-Square	21.181
df	4
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

KELOMPOK

Perbedaan terlihat  $P < 0,05$  ( $P=0,000$ )

**ANOVA**

BBa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1508.978	3	502.993	8.018	.001
Within Groups	1756.499	28	62.732		
Total	3265.477	31			

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: BBa

			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) klp	(J) klp				Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	0	2	7.75375	3.96018	.228	-3.0588	18.5663
		3	-10.53375	3.96018	.058	-21.3463	.2788
		4	4.25250	3.96018	.708	-6.5600	15.0650
	2	0	-7.75375	3.96018	.228	-18.5663	3.0588
		3	-18.28750*	3.96018	.000	-29.1000	-7.4750
		4	-3.50125	3.96018	.813	-14.3138	7.3113
	3	0	10.53375	3.96018	.058	-.2788	21.3463
		2	18.28750*	3.96018	.000	7.4750	29.1000
		4	14.78625*	3.96018	.004	3.9737	25.5988
	4	0	-4.25250	3.96018	.708	-15.0650	6.5600
		2	3.50125	3.96018	.813	-7.3113	14.3138
		3	-14.78625*	3.96018	.004	-25.5988	-3.9737
Bonferroni	0	2	7.75375	3.96018	.362	-3.4889	18.9964
		3	-10.53375	3.96018	.077	-21.7764	.7089
		4	4.25250	3.96018	1.000	-6.9902	15.4952
	2	0	-7.75375	3.96018	.362	-18.9964	3.4889
		3	-18.28750*	3.96018	.000	-29.5302	-7.0448
		4	-3.50125	3.96018	1.000	-14.7439	7.7414
	3	0	10.53375	3.96018	.077	-.7089	21.7764
		2	18.28750*	3.96018	.000	7.0448	29.5302
		4	14.78625*	3.96018	.005	3.5436	26.0289
	4	0	-4.25250	3.96018	1.000	-15.4952	6.9902
		2	3.50125	3.96018	1.000	-7.7414	14.7439
		3	-14.78625*	3.96018	.005	-26.0289	-3.5436

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**BBa**

	klp	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD <sup>a</sup>	2	8	148.4650	
	4	8	151.9663	
	0	8	156.2188	156.2188
	3	8		166.7525
Sig.			.228	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8,000.

## HASIL UJI INDEPENDENT T-TEST PADA PARAMETER MIKROBIOTA

### 1) Uji Independent T Tes Jumlah Lactobacillus P0 dibandingkan P2

**Group Statistics**

	klp	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Lactobacillus	2	8	78.25	62.978	22.266
	0	8	118.63	110.601	39.103

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Lactobacillus	Equal variances assumed	4.210	.059	-.897	14	.385	-40.375	44.998	-136.887	56.137
	Equal variances not assumed			-.897	11.107	.389	-40.375	44.998	-139.299	58.549

Tidak ada perbedaan yang bermakna pada P0-P2 dengan P=0,385



2) Hasil Uji Independent T Test pada Pertumbuhan Lactobacillus kelompok P0 dibandingkan P3

	klp	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Lactobacillus	3	8	290.88	127.339	45.021
	0	8	118.63	110.601	39.103

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Lactobacillus Equal variances assumed	1.269	.279	1.212	14	.036	72.250	59.632	-55.648	200.148
Lactobacillus Equal variances not assumed			1.212	13.731	.036	72.250	59.632	-55.884	200.384

Tidak berbeda bermakna P0 : P3 yaitu P=0,036

3) Hasil Uji Independent T Tes Lactobacillos P0 dibandingkan P4

	klp	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Lactobacillus	4	6	225.17	161.357	65.874
	0	8	118.63	110.601	39.103

**Independent Samples Test**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
Lactobacillus Equal variances assumed	2.164	.167	1.471	12	.167	106.542	72.425	-51.258	264.342	
Lactobacillus Equal variances not assumed			1.391	8.400	.200	106.542	76.606	-68.659	281.743	

Tidak ada perbedaan bermakna pada pertumbuhan lactobacillus di kelompok P0:P4 yaitu  $P = 0,167$

**HASIL UJI NORMALITAS DATA PADA PARAMETER PEMERIKSAAN DARAH LENGKAP**

**1. LEUKOSIT**

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Leukosit	.128	30	.200*	.963	30	.375

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

BERDASARKAN UJI SHAPIRO WILK (krm sampel < 50) data tsb terdistribusi normal yaitu  $p = 0,375 > p 0,05$

**2. Eritrosit**

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Eritrosit	.095	30	.200*	.977	30	.753

\*. This is a lower bound of the true significance.

- a. Lilliefors Significance Correction

BERDASARKAN UJI SHAPIRO WILK (krn sampel < 50) data tsb terdistribusi normal yaitu  $p = 0,735 > p 0,05$

### 3. Hemoglobin

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hemoglobin	.087	30	.200*	.969	30	.509

\*. This is a lower bound of the true significance.

- a. Lilliefors Significance Correction

BERDASARKAN UJI SHAPIRO WILK (krn sampel < 50) data tsb terdistribusi normal yaitu  $p = 0,735 > p 0,05$

### 4. Hematokrit

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hematokrit	.128	30	.200*	.942	30	.104

\*. This is a lower bound of the true significance.

- a. Lilliefors Significance Correction

BERDASARKAN UJI SHAPIRO WILK (krn sampel < 50) data tsb terdistribusi normal yaitu  $p = 0,104 > p 0,05$

### 5. Trombosit

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Trombosit	.169	30	.029	.853	30	.001

- a. Lilliefors Significance Correction

BERDASARKAN UJI SHAPIRO WILK (krn sampel < 50) data tsb tidak terdistribusi normal yaitu  $p = 0,01 < p 0,05$

### 6. Neutrofil

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Neutrofil	.166	30	.034	.975	30	.682