

***Lactobacillus casei* Fermented Milk as a Treatment for Diabetes in Mice (*Mus musculus*)**

Pratiwi Purnama Sari¹, Nurliana², M. Hasan³, Arman Sayuti³, Sugito³, Amiruddin³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: pratiwipurnama.sari@yahoo.com

ABSTRACT

The study aimed to find out the effect of Lactobacillus casei fermented milk as diabetic drug (Therapeutic). Mice were 3-4 month old, male and body weight ranged 20-30 g. This Research used Completely Randomized Design with factorial pattern, consisted of dose and duration of feeding. Treatments were divided into four treatment, P1 (no treatment), P2 (mice were induced with alloxan), P3 (mice were induced with alloxan and fed with fermented milk L. casei with 0.5 mL/mice) and P4 (mice were induced with alloxan and fed with Lactobacillus casei fermented milk 1 mL/mice). Provision of L. casei fermented milk provided at libitum and L. casei fermented milk given for 7 and 14 days. Blood were collected from Vena lateralis and dropped on the strip test Easy Touch GGHB. The results showed that not only dose administration of L. casei fermented milk had significantly decrease ($P < 0.01$) of glucose levels in mice, but also duration of treatment. It can be concluded that the administration of fermented milk L. casei can be used as a complement therapy for diabetic mice.

Key words: Fermented milk, antidiabetic, Lactobacillus casei, onset

PENDAHULUAN

Diabetes adalah gangguan metabolisme kronis yang disebabkan karena tingginya kadar glukosa darah (Lin dan Sun, 2010). Diabetes mellitus (DM) adalah suatu kelompok penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah melebihi normal (hiperglikemia). Hiperglikemia pada DM yang tidak terkontrol dapat menyebabkan kerusakan berat pada jaringan tubuh seperti saraf, dan pembuluh darah (Icks dkk., 2009). Laporan badan dunia World Health Organization (WHO) tahun 2000, menyatakan bahwa Indonesia berada di urutan keempat terbanyak kasus diabetes setelah India, Cina, dan Amerika Serikat, dengan prevalensi 8,6 persen dari total penduduk (WHO, 2009), sehingga diperlukan pertambahan jumlah dan jenis pengobatan diabetes tersebut. Obat antidiabetes yang beredar di pasaran cukup banyak dan bervariasi, namun terapi dengan sintesis sering menemui kegagalan, antara lain disebabkan resistensi terapi, efek samping, dan biaya yang tinggi akibat pengobatan jangka panjang (Marianne dkk., 2014). Menurut Balfour dan McTavish

(1993), penanganan yang paling efektif untuk pasien diabetes adalah dengan cara mengendalikan kadar glukosa darah pasien diabetes. Menurut Lye dkk. (2009), pengendalian diabetes dan penurunan kadar glukosa darah bisa dengan menggunakan probiotik. Glukosa darah tikus yang diberi perlakuan dengan *Lactobacillus BNR17* lebih rendah dari pada kelompok yang tidak diberikan perlakuan (Yun dkk., 2009).

Penggunaan probiotik telah lama digunakan untuk membuat produk susu fermentasi. Probiotik merupakan mikroorganisme berupa bakteri yang diberikan dalam takaran yang cukup memberikan manfaat kesehatan pada inangnya (Chen dkk., 2014). Bakteri yang lazim digunakan adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) untuk fermentasi seperti makanan fermentasi susu, keju dan makanan berbasis nabati (FAO, 2001; WHO, 2001).

BAL yang banyak digunakan sebagai bakteri probiotik adalah *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Populasinya sebanyak 56 spesies *Lactobacilli* dan 29 spesies *Bifidobacteria* kelompok bakteri probiotik. Spesies utama yang dipercaya mempunyai

karakteristik sebagai bakteri probiotik adalah *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacteria* (Shah, 2001).

Yakult Honsha, telah mengembangkan *L. casei* strain Shirota sebagai probiotik yang diaplikasikan dalam minuman fermentasi berbahan dasar susu skim. Bakteri tersebut adalah galur unggul yang mudah dan cocok untuk dikembangkan dalam minuman dasar susu, mampu bertahan dari pengaruh asam lambung dan dalam cairan empedu, sehingga mampu bertahan hidup hingga usus halus (Cahyanti, 2011).

L. casei adalah probiotik tambahan yang akan ditambahkan ke yoghurt atau kultur probiotik (McCann dkk., 1996). Selain potensi kesehatan, *L. casei* penting karena menjadi relatif stabil selama penyimpanan (Nighswonger dkk., 1996), dibandingkan dengan yoghurt lainnya (Rhom dkk., 1990). Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian susu fermentasi *L. casei* (*L. casei*) sebagai terapi diabetes pada mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 3-4 bulan dengan berat badan berkisar antara 20-30 gram/ekor.

MATERI DAN METODE

Prosedur Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari 4 kelompok dengan 4 kali ulangan. Adapun keempat kelompok penelitian tersebut adalah: P1, tanpa perlakuan (control); P2, diinduksi dengan Aloksan; P3, diinduksi dengan aloksan dan yogurt dosis 0,5 ml/ekor; P4, diinduksi dengan aloksan dan yogurt dosis 1 ml/ ekor.

Perlakuan hewan coba

Mencit (*Mus musculus*) sebanyak 16 ekor yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 20-30 gram akan diadaptasi selama 1 minggu, pada tahap ini semua mencit diberi pakan standar. Pada akhir masa adaptasi masing-masing mencit ditimbang untuk mengetahui

berat badannya untuk kesesuaian dengan kriteria yang telah ditetapkan. Pemaparan aloksan dilakukan pada hewan uji secara intraperitoneal dengan volume pemberian 0,1 ml seperti dijelaskan oleh Kusumaningtyas dkk. (2014).

Persiapan susu fermentasi

Susu fermentasi diperoleh dari susu SGM formula pada Laboratorium Susu Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala. Susu tersebut dikentalkan dan dipasteurisasi, kemudian ditambah starter *L. casei* melalui fermentasi sampai diperoleh keasaman, bau, dan rasa yang khas dengan atau tanpa penambahan bahan lain. Susu fermentasi disimpan pada suhu 10 °C.

Cara Pemberian

Susu fermentasi *L. casei* diberikan secara *ad libitum* pada mencit, dengan dosis pemberian 0,5 dan 1 ml/ekor, dalam 1 ml susu fermentasi *L. casei* mengandung *L. casei* 10⁸ CFU/ml, dan dalam 0,5 ml susu fermentasi mengandung 10⁴ CFU *L. casei*. Pemberian susu fermentasi *L. casei* diberikan satu kali sehari.

Pengukuran kadar glukosa darah

Mencit dipuasakan selama ±16 jam dengan tujuan untuk menghindari meningkatnya kadar glukosa darah yang akan diuji (Sunaryo dkk., 2014). Setelah pemberian perlakuan selama 14 hari, semua mencit diambil darahnya dan diukur dengan Easy Touch GGHb. Kadar glukosa darah diperiksa pada hari ke 7, 14, sesudah pemberian perlakuan (Erwin dkk., 2012).

Analisis Data

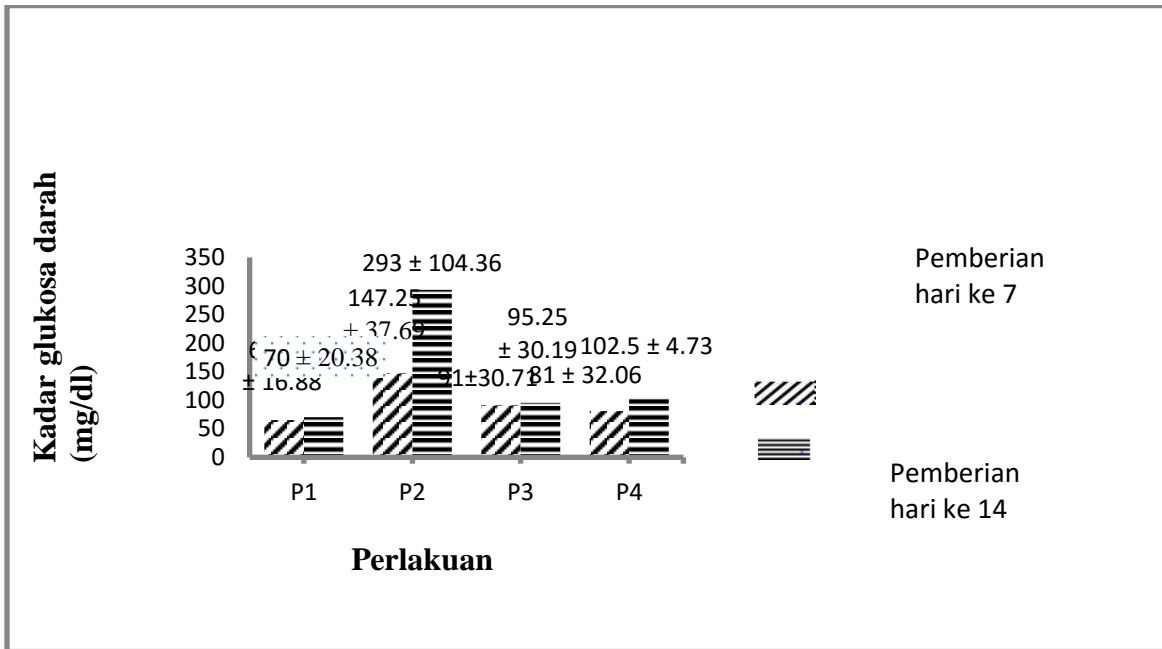
Data kadar glukosa darah mencit yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis dengan menggunakan Analisa Varians (ANAVA) pola faktorial untuk membandingkan antara masing-masing perlakuan. Untuk mengetahui perbandingan efek antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji berganda Duncan (Gesperz, 1989).

Rata-rata kadar glukosa darah mencit yang diberikan susu fermentasi *L. casei* sebagai

HASIL DAN PEMBAHASAN

terapi diabetes ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan pemberian susu fermentasi *L. casei* berpengaruh sangat nyata terhadap kadar

glukosa darah mencit ($P < 0,01$) sedangkan lama pemberian dan interaksinya berpengaruh ($P < 0,01$) terhadap penurunan gula darah mencit.



Gambar 1. Rata-rata kadar glukosa darah mencit yang diindikasikan diabetes dan diberi susu fermentasi *L. casei* selama 14 hari. P₁: Tanpa perlakuan (kontrol); P₂: Diinduksi dengan Aloxan, P₃: Diinduksikan aloksan dan yogurt dengan dosis 0,5 ml/ekor; P₄: Diinduksikan aloksan dan yogurt dengan dosis 1 ml/ekor

Kadar glukosa darah mencit yang tertinggi terdapat pada perlakuan P₂, dan kadar glukosa darah mencit yang terendah terdapat pada perlakuan P₁. Perlakuan P₃, P₄ kadar glukosa darah mencit berada pada kisaran normal, hal tersebut sesuai dengan pernyataan Malik dkk. (2015) bahwa kisaran normal kadar glukosa darah mencit <126 mg/dl. Berdasarkan uji Analisa Varians (ANOVA) dengan taraf signifikan 1% untuk rata-rata kadar glukosa darah diperoleh nilai *probabilitas* sebesar 0,000 ($P < 0,01$), hal ini menunjukkan bahwa pemberian susu fermentasi *L. casei* setelah mencit mengalami diabetes berpengaruh sangat nyata terhadap rata-rata penurunan kadar glukosa darah mencit.

Berdasarkan hasil uji lanjutan Duncan, pada perlakuan P₁ dan perlakuan P₂ nilai $P < 0,01$ yang artinya terdapat perbedaan kadar glukosa darah yang signifikan antara perlakuan P₁ dengan perlakuan P₂. Perlakuan P₁, kadar glukosa darah mencit berada pada kisaran normal, hal ini dikarenakan pada perlakuan P₁ tidak diberikan perlakuan apapun selama 14 hari, perlakuan P₂ menunjukkan hasil kadar glukosa darah mencit berada diatas normal, hal ini sesuai dengan pernyataan Szkudelski (2001), aloksan di dalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas, pada pulau Langerhans terlihat pengurangan jumlah massa

sel, beberapa pulau Langerhans mengalami kerusakan, dimana ukurannya menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang.

Kerusakan sel β , sel β tersebut mengakibatkan ketidak-mampuan menghasilkan insulin sehingga terjadi penyakit diabetes yang dikarakterisasi dengan keadaan hiperglikemia, hal ini sejalan dengan hasil penelitian Adewani (2008), menyatakan bahwa pemberian aloksan tanpa disertai dengan perlakuan yang dapat menurunkan kadar glukosa akan menyebabkan kadar glukosa darah tikus tetap tinggi.

Perlakuan P3, dan P4 kadar glukosa darah pada kisaran normal selama 14 hari perlakuan sama dengan perlakuan P1 kecuali pada perlakuan P2, hal ini dikarenakan pemberian susu fermentasi *L. casei* pada perlakuan P3 dan P4 yang berfungsi untuk menghambat enzim *alpha glukosidase* yang terdapat pada mikrofilus seperti dijelaskan oleh Jain dan Saraf (2010) bahwa bakteri golongan BAL dapat berperan sebagai penghambat enzim *alpha glukosidase* dan dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah mencit.

Pemberian susu fermentasi *L. casei* sebagai terapi diabetes pada mencit dapat menurunkan kadar glukosa darah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yamano dkk. (2006) bahwa tikus yang mengalami hiperglikemia mengalami penurunan kadar glukosa darah yang signifikan setelah diterapi dengan bakteri strain *L. johnsonii* LA1(LJLa1). Hal serupa juga dilaporkan oleh Karaca dkk. (2013) bahwa pemberian *L. shirrata* mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus. Sangwan dan Singh (2014) melaporkan pula bahwa konsumsi susu fermentasi probiotik LGG dan *L. casei* NCDC 19 secara signifikan menekan berbagai faktor resiko diabetes tipe 2 yaitu glukosa darah puasa.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian susu fermentasi *L. casei* dengan dosis

0,5 ml/ekor dengan lama pemberian 7 hari lebih baik dari pada 14 hari. Susu fermentasi *L. casei* dengan dosis 1 ml/ekor lebih berpengaruh pada hari ke 7 dari pada hari ke 14, dan pemberian dosis 1 ml/ekor lebih baik dari pada dosis 0,5 ml/ekor yang diberikan selama 7 hari pemberian. Ini kemungkinan diakibatkan oleh banyaknya *L. casei* dalam dalam dosis 1 ml/ekor yaitu sebanyak 10^8 CFU/ml sedangkan yang dosisnya 0,5 ml/ekor mengandung *L. casei* 10^4 CFU/ml, dan dari hasil penelitian pemberian susu fermentasi *L. casei* lebih dianjurkan pada 7 - 14 hari pemberian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa pemberian susu fermentasi *L. casei* dapat berpeluang sebagai terapi diabetes pada mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Adewani, N. 2008. Pengaruh Pemberian Rebusan Kulit Kayu Duwet Terhadap Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih. **Skripsi**. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Yogyakarta.
- Balfour, J.A. and D. McTavish. 1993. Acarbose. An Update of its Pharmacology and Therapeutic Use in Diabetes Mellitus. **Drugs**. 46:1025-1054.
- Cahyanti, A.N. 2011. Viabilitas probiotik *Lactobacillus casei* pada yougurt susu kambing selama penyimpanan beku. **Jurnal Teknologi Pertanian**. 12(3):176-180.
- Chen, P., Q. Zhang, H. Dang, X. Liu, F. Tian, J. Zhao, Y. Chen, H. Zhang, and W. Chan. 2014. Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and α -glucosidase inhibitory activity. **Food Control**. 35:65-72.
- Erwin, Etriwati, dan Rusli. 2012. Mencit (*Mus musculus*) galur BALB-C yang diinduksi streptozotosin berulang sebagai hewan

- model diabetes melitus. **Jurnal Kedokteran Hewan**. 6:48-50.
- FAO. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Report. <http://www.fao.org/es/ESN/Probio/probio.htm> (20 Desember 2015).
- Gesperz, V. 1989. **Metode Perancangan Percobaan**. Armico, Bandung.
- Icks, A., B. Haastert, C. Trautner, G. Giani, G. Glaeske, and F. Hoffman. 2009. Incidence of lower-limb amputations in the diabetic compared to the non-diabetic population. Findings from Nationwide Insurance Data. Germany 2005-2007. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**. 117:4-500.
- Jain, S. and S. Saraf. 2010. Type 2 diabetes mellitus- its global prevalence and therapeutic strategies. Diabetes and Metabolic Syndrome: **Clinical Research and Reviews**. 4(1):48-56.
- Kusumaningtyas, I.D., S. Fajariyah, dan E.T. Utami. 2014. Pengaruh seduhan kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap struktur pankreas mencit (*Mus musculus*) strain Balb-C diabetik. **Jurnal Ilmu Dasar**. 15(2):69-73
- Lin, Y. and Z. Sun. 2010. Current views on type 2 diabetes. **Journal of Endocrinol**. 204(1):1-11.
- Lye, H.S., C.Y. Kuan, J.A. Ewe, W.Y. Fung, and M.T. Liong. 2009. The improvement of hypertension by probiotics: effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. **International Journal of Molecular Sciences**. 10(9):3755-3775.
- Malik, M.I., E. Nasrul, dan Asterina. Hubungan hiperglikemia dengan *prothrombin time* pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan. 2015. **Jurnal Kesehatan Andalas**. 4(1):182-188.
- McCann, T., T. Egan, and G.H. Weber. 1996. Assay procedures for commercial probiotic cultures. **J. Food Protection**. 59:41-45.
- Nighswonger, B.D., Brashears, M.M, and Gilliland, S.E. 1996. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. **J. Dairy Sci**. 79:212-219.
- Rhom, H., F. Lechner, and M. Lehner. 1990. Microflora of Austrian natural-set yoghurt. **J. Food Protection**. 53:478-480.
- Sangwan, S., and R. Singh. 2014. Therapeutic effects of probiotic fermented milk (LGG and *L. casei* NCDC 19) on progression of type 2 diabetes. **Journal of Innovative Biology**. 1 (2):78-83.
- Shah, N.P. 2001. Functional foods from probiotics and prebiotic. **Food Technology**. 55(11):46-53.
- Sunaryo, H., Siska, Dwitiyanti, dan R.A. Rizky. 2014. Kombinasi ekstrak etanol rimpang Zingiber officinale Roscoe dengan Zn sebagai hipolipidemia pada mencit diabetik die tinggi kolesterol. **Media Farmasi**. 11(1):62-72.
- Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in cells of the rat pancreas. **Physiol. Res**. 50:536-546.
- WHO. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Report. <http://www.fao.org/es/ESN/Probio/probio.htm> (20 Desember 2015).
- WHO. 2009: Diabetes. <http://www.who.int/>. (24 Januari 2016).
- Yamano, T., M. Tanida, A. Nijima, K. Maeda, N. Okumura, Y. Fukushima, and K. Nagai. 2006. Effects of the probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* strain La1 on autonomic nerves and blood glucose in rats. **Elsevier**. 79(20):1963-1967.
- Yun, S. I., H.O. Park, and J.H. Kang. 2009. Effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on blood glucose levels and body weight in a mouse model of type 2 diabetes. **Journal of Applied Microbiology**. 107(5):1681-168