

RESEARCH STUDY

Indonesian Version

OPEN ACCESS

Pengaruh Suplementasi β -Carotene terhadap Kadar Trigliserida Studi pada Tikus Wistar Diabetes Mellitus Tipe 2 yang Diberikan Pakan Tinggi Lemak dan Diinduksi Streptozotocin-Nicotinamide

The Effect of β -Carotene Supplementation on Triglyceride Levels Study on Type 2 Diabetes Mellitus Wistar Rats Fed High-Fat Diet and Induced Streptozotocin-Nicotinamide

Elida Soviana^{1*}, Tea Aviarani¹, Puspito Arum^{2,3}¹Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia²Program Studi Gizi Klinik, Jurusan Kesehatan, Politeknik Negri Jember, Jember, Indonesia³Graduate School of Medical Science, University of Groningen, Groningen, The Netherland

INFO ARTIKEL

Received: 04-11-2024

Accepted: 28-05-2025

Published online: 12-09-2025

*Koresponden:

Elida Soviana

elida.soviana@ums.ac.id

DOI:

10.20473/amnt.v9i3.2025.496-505

Tersedia secara online:

<https://e-journal.unair.ac.id/AMNT>

Kata Kunci:

 β -carotene, Diabetes Mellitus Tipe 2, Nicotinamide, Streptozotocin, Trigliserida

ABSTRAK

Latar Belakang: Hipertrigliseridemia berkaitan dengan penurunan sensitifitas insulin dan peningkatan resistensi insulin pada diabetes mellitus tipe 2. β -carotene memiliki efek cytoprotective yang mampu memperbaiki dan melindungi sel- β pankreas, sehingga sintesis dan sekresi insulin meningkat.

Tujuan: Untuk melihat pengaruh pemberian suplementasi β -carotene terhadap kadar trigliserida pada tikus galur Wistar diabetes Mellitus yang diberikan pakan tinggi lemak dan diinduksi dengan STZ-NA.

Metode: 18 ekor tikus jantan galur Wistar dibagi secara acak menjadi 3 kelompok: X₁ (kontrol negatif), X₂ (Kontrol positif), X₃ (STZ-NA+ β -carotene 10 mg/KgBB). Pemberian pakan tinggi lemak selama 14 hari sebelum dilakukan induksi diabetik pada kelompok X₂ dan X₃, sedangkan kelompok X₁ diberikan pakan standart. Tikus dikondisikan Diabetes Mellitus tipe 2 dengan Induksi STZ 45 mg/KgBB dan NA 110 mg/kgBB. Suplementasi β -carotene diberikan melalui sonde 2 hari sekali selama 30 hari. Pemeriksaan kadar trigliserida dengan metode GPO-PAP. Uji pengaruh kadar trigliserida diuji dengan uji *paired t-test* dan *one way anova*.

Hasil: Kadar glukosa darah pada kelompok X₂ dan X₃ mengalami peningkatan sebanyak 188,34 g/dl dan 186,34 g/dl setelah diinjeksi STZ dan NA. Terdapat pengaruh yang signifikan pada kadar trigliserida (*p-value*<0,001) setelah pemberian suplementasi β -carotene 10 mg/KgBB, dengan penurunan rata-rata kadar trigliserida sebesar 21,90% atau 28,42 mg/dL.

Kesimpulan: Pemberian suplementasi β -carotene dengan dosis 10 mg/KgBB melalui sonde 2 hari sekali selama 30 hari terbukti dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus Wistar diabetik.

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan salah satu masalah kesehatan dengan angka mortalitas dan morbiditas yang tinggi di dunia termasuk di Indonesia. Diabetes Mellitus tergolong penyakit degeneratif yang bersifat *silent killer* dan kebanyakan orang tidak menyadari menderita diabetes mellitus sampai terjadi komplikasi. Komplikasi pada penyakit diabetes mellitus antarlain terjadi penyakit jantung koroner, stroke, neuropati, nefropati dan retinopati¹. *Internasional Diabetes Federation* melaporkan bahwa pada tahun 2021 terdapat 537 juta jiwa atau 10,5% dari populasi usia (20-79 tahun) orang di dunia menderita diabetes mellitus. Indonesia menempati urutan keenam terbanyak setelah Cina, India, Amerika,

Brazil dan Mexico. Pada tahun 2030, IDF memperkirakan terdapat 643 juta jiwa yang menderita diabetes mellitus dan tahun 2045 naik menjadi 783 juta jiwa. Terdapat 90% dari kasus tersebut adalah diabetes mellitus tipe 2².

Diabetes Mellitus tipe 2 merupakan gangguan metabolisme glukosa dan lipid akibat gangguan sekresi insulin atau resistensi insulin. Resistensi insulin merupakan kegagalan jaringan merespon aktivitas hormon insulin, selain itu juga merupakan prediktor kuat dari diabetes mellitus tipe 2 dan hiperinsulinemia. Pada diabetes mellitus tipe 2 terjadi peningkatan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga terjadilah stress oksidatif³. Kadar ROS yang tinggi dapat menurunkan total antioksidan. Penelitian oleh

Mohieldein dkk (2015), membuktikan pasien prediabetes mengalami peningkatan stres oksidatif ditandai dengan penurunan total antioksidan dibanding dengan pasien sehat⁴. Antioksidan dapat melindungi tubuh dari efek negatif oksidan, radikal bebas, mencegah inflamasi dengan cara menangkalkan ROS, mencegah pembentukan ROS dan terjadinya penyakit komplikasi³. Stres oksidatif pada pasien diabetes mellitus tipe 2 juga dapat mempengaruhi metabolisme lipid dengan mengganggu fungsi enzim yang terlibat dalam metabolisme lipid seperti *Lipoprotein Lipase* (LPL) dan *hepatic lipase*, yang penting untuk mengatur kadar trigliserida dalam darah. Penurunan aktivitas enzim-enzim metabolisme lipid akibat stres oksidatif menyebabkan gangguan pemecahan trigliserida dan peningkatan kadar trigliserida dalam darah. Selain itu, stres oksidatif juga dapat meningkatkan produksi *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) oleh hati, yang merupakan pembawa utama trigliserida dalam plasma. Akibatnya, pasien diabetes mellitus tipe 2 dapat mengalami hipertrigliseridemia.

Hipertrigliseridemia dapat menjadi bisa menjadi faktor risiko yang dapat memicu perkembangan diabetes mellitus, dapat sebagai *co existing*/kondisi yang bersamaan, dan sebagai komplikasi yang bisa memperburuk kontrol glikemik dan meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular serta komplikasi lain. Manajemen dini dan optimalisasi kontrol lipid adalah kunci untuk meminimalkan dampaknya pada pasien diabetes mellitus tipe 2⁶. Kadar trigliserida yang meningkat disebabkan oleh kelebihan glukosa yang di konversi menjadi asam-asam lemak dan trigliserida terutama oleh jaringan lemak dan hati. Trigliserida yang terbentuk dalam hati di bebaskan ke dalam plasma sebagai VLDL kaya trigliserida yang akan di simpan di jaringan lemak, sehingga selain kontrol glikemik pasien diabetes mellitus juga perlu mengontrol lipid darah⁵. Penderita diabetes mellitus tipe 2 terjadi resistensi insulin yang berat dan memicu glukoneogenesis sehingga produksi glukosa dalam keadaan basal oleh liver meningkat⁶. Resistensi insulin menyebabkan terjadi peningkatan kadar glukosa dalam darah dan memicu pankreas menghasilkan insulin lebih banyak sehingga kadar insulin dalam darah meningkat (hiperinsulinemia). Resistensi insulin terutama pada otot membuat insulin kehilangan kemampuan untuk menstimulasi ambilan glukosa di jaringan adiposa dan mengakibatkan insulin tidak lagi dapat menghambat pelepasan asam lemak bebas, sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa dan asam lemak bebas dalam darah. Organ lain yaitu hati dan ginjal berusaha mempertahankan kepekaan insulin dan akibat dari peningkatan level insulin ini menstimulasi hati untuk mensintesis trigliserida. Pada kondisi hiperinsulinemia terjadi peningkatan *Free Fatty Acid* (FFA) dan penumpukan trigliserida di hati. Serum level trigliserida dan VLDL kaya trigliserida akan meningkat karena adanya peningkatan sintesis trigliserida serta sintesis dan sekresi VLDL kaya trigliserida. Penelitian Selvi et al (2021), membuktikan adanya peningkatan kadar trigliserida seiring dengan tingginya level HbA1c⁷.

Kadar trigliserida dapat menurun dengan mengkonsumsi antioksidan⁸. *β-Carotene* merupakan salah satu antioksidan yang memiliki efek *cytoprotective* yang mampu memperbaiki dan melindungi sel-β

pankreas, sehingga sintesis dan sekresi insulin dapat meningkat⁹. Aktivitas insulin dalam sel otot skelet, adiposa dan hati meningkat, sehingga terjadi penyerapan glukosa darah yang berlebih. *β-Carotene* selain digunakan sebagai kontrol glikemik juga dapat digunakan sebagai kontrol lipid terutama trigliserida¹⁰. Suplementasi *β-carotene* berperan dalam kontrol lipid mencegah percepatan pembentukan *atherosclerosis* pada pasien diabetes mellitus dengan cara meningkatkan sekresi asam empedu dan mengurangi konsentrasi kolesterol dalam plasma atau kolesterol hati yang akan digunakan untuk mengatur asam empedu. Kelarutan dan absorpsi kolesterol dapat dihambat dengan adanya *β-carotene* dengan cara mengganggu pembentukan misel di dalam usus halus¹¹. Gangguan sintesis kolesterol akan mengakibatkan menurunnya reseptor kilomikron VLDL yang mengikat trigliserida di dalam hati dan mengangkutnya menuju darah dan jaringan lemak. Penurunan pengikatan trigliserida terjadi karena berkurangnya reseptor kilomikron VLDL tersebut berakibat trigliserida dalam darah juga menjadi berkurang.

Penelitian Ermawati et al (2014), membuktikan bahwa pemberian suplementasi *β-carotene* melalui sonde pada hewan coba dengan dosis 1 mg/Kg BB, 10 mg/Kg BB dan 20 mg/Kg BB selama 30 hari, bahwa dosis yang paling efisien untuk menurunkan profil lipid yaitu dosis *β-carotene* 10 mg/Kg BB¹². Tikus Wistar merupakan salah satu hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian biomedis di laboratorium. Tikus dipilih karena memiliki fungsi sel dan organ yang pada dasarnya secara biologis sama dengan manusia. Tikus yang umum digunakan untuk penelitian eksperimental adalah tikus jantan karena tidak terganggu dengan pengaruh hormonal. Tikus jantan Wistar di kondisikan DM dengan diinduksi *streptozotocin* (STZ) dan *nicotinamide* (NA). *Streptozotocin* mengganggu oksidasi glukosa, menurunkan sintesis dan sekresi insulin, serta mengganggu *transport* glukosa dan aktifitas glukokinase di dalam sel-β. *Nicotinamide* memiliki efek sitotoksik protektif dengan menghambat β-sitotoksin akibat dari injeksi STZ. Tikus yang di induksi STZ-NA akan mengalami hiperglikemia yang mana tidak memerlukan injeksi insulin dari luar untuk bertahan dan mengalami intoleransi glukosa. Induksi STZ-NA juga dapat meningkatkan kadar trigliserida dalam plasma sebesar 40%, sehingga induksi STZ-NA dapat mengkondisikan tikus menjadi DM tipe 2¹³.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka tujuan dari penelitian ini yaitu untuk membuktikan pengaruh pemberian *β-carotene* dengan dosis 10 mg/Kg BB melalui sonde 2 hari sekali selama 30 hari terhadap penurunan kadar trigliserida pada tikus galur Wistar Diabetes mellitus yang diberikan pakan tinggi lemak dan diinduksi dengan STZ dan NA. Manfaat dari penelitian ini untuk memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh *β-carotene* terhadap penurunan kadar trigliserida pada pasien Diabetes mellitus. Penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk memanfaatkan sumber bahan makanan yang mengandung *β-carotene* guna menurunkan kadar trigliserida dalam darah sebagai tindakan pencegahan terhadap komplikasi Diabetes mellitus.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental *trial laboratories in vivo* pada hewan coba dengan desain *randomized pre and post test controlled group design*. Tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan Rattus Norvegicus galur Wistar dengan jumlah sample tikus sebanyak 18 ekor yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG), Universitas Gadjah Mada. Kriteria inklusi yang diajukan yakni meliputi usia hewan coba 10-16 minggu, berat badan 160-220 g, jenis kelamin jantan, kadar Glukosa Darah Puasa (GDP) awal <100 mg/dL dan GDP pasca induksi ≥ 126 mg dengan kriteria eksklusi yakni jika kadar GDP tikus pasca induksi <126 mg/dL. Pemeriksaan kadar GDP awal dengan metode GOD-PAP dan penimbangan berat badan awal menggunakan timbangan digital analitik dilakukan pada hari ke-1 sebelum masa adaptasi. Penimbangan selanjutnya dilakukan setiap minggu hingga akhir penelitian. Penelitian ini terdiri dari 3 rancangan kelompok yang terdiri dari kelompok X_1 (kontrol negatif/normal), kelompok X_2 (Kontrol positif/STZ+NA), kelompok X_3 (kelompok perlakuan/STZ+NA+suplementasi β -Carotene dosis 10 mg/KgBB).

Tikus dipelihara dalam kandang terpisah dengan suhu ruangan 25-28°C dan tingkat kelembaban berkisar 70-75%. Selama masa adaptasi dan intervensi suplementasi β -Carotene seluruh kelompok diberikan pakan standart comfeed AD II dan minum *ad libitum*. Kelompok X_2 dan X_3 setelah masa adaptasi pada hari ke-8 diberikan pakan tinggi lemak selama 14 hari. Semua prosedur pemeliharaan dan perlakuan penelitian telah disesuaikan dengan etika penelitian hewan coba. Nomor kode etik penelitian 2047/A.1/KEPK-FKUMS/IV/2019. Tanggal persetujuan etik pada tanggal 04 April 2019 dan institusi yang mengeluarkan persetujuan etik yaitu Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Hewan coba dikondisikan Diabetes Mellitus tipe 2 dengan diawali pemberian pakan tinggi lemak pada kelompok X_2 dan X_3 yang terbuat dari pakan *standart Comfeed AD II* yang ditambahkan bubuk kolesterol 1% dan lemak dari minyak babi 20% selama 14 hari, sedangkan pada kelompok X_1 diberikan pakan *standart Comfeed AD II* dan minum *ad libitum*. Selanjutnya, hewan coba diinduksi dengan NA 110 mg/KgBB yang dilarutkan

dalam NaCl 0,9% dan STZ 45 mg/KgBB yang dilarutkan dalam *buffer sitrat* 0,1M pH4,5 secara intraperitoneal *single dose* dengan jarak pemberian antar injeksi minimal 15 menit. Pemeriksaan kadar glukosa dengan metode *Glucose Oksidase-Peroxidase Aminoantipirin* (GOD-PAP) dan trigliserida dengan metode GPO-PAP *pre test* dilakukan 3 hari pasca induksi diabetik untuk memastikan hewan coba mengalami hiperglikemia serta mengalami kenaikan trigliserida darah.

Pemberian suplementasi β -Carotene yang telah dilarutkan dalam suspensi *Natrium Carboxymethyl Cellulose* (NaCMC) 0,5% dengan dosis 10 mg/KgBB diberikan pada kelompok X_3 dilakukan 2 hari sekali selama 30 hari secara sonde. Tikus di semua kelompok (X_1 , X_2 , dan X_3) pada masa intervensi diberikan pakan *standart Comfeed AD II* dan minum *ad libitum*. Pemeriksaan kadar trigliserida *post test* dilakukan 30 hari pasca pemberian suplementasi β -Carotene dengan metode GPO-PAP. Pengambilan darah diambil melalui *plexus retro orbital* sebanyak 2 ml, tikus dipuasakan selama 8-10 jam sebelum diambil darahnya untuk dianalisis kadar trigliserida.

Analisis statistik menggunakan SPSS versi 16 dengan uji *paired t-test* untuk uji beda antara *pre test* dan *post test*, dengan nilai signifikansi *p-value* < 0,05 yang artinya terdapat perbedaan kadar trigliserida sebelum dan setelah perlakuan. Sedangkan untuk membedakan pengaruh setelah pemberian suplementasi β -Carotene antar kelompok digunakan uji *one way anova*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Karakteristik Hewan Coba

Sebanyak 18 ekor tikus jantan jenis Wistar dijadikan sampel dalam penelitian ini, dengan penimbangan berat badan dilakukan setiap minggu sejak awal hingga akhir studi. Penimbangan pertama dilakukan saat pengambilan sampel berdasarkan kriteria inklusi. Selanjutnya, penimbangan dilakukan secara berkala setiap minggu, mencakup masa adaptasi dan periode pemberian pakan tinggi lemak selama dua minggu, penimbangan setelah proses induksi menggunakan STZ dan NA, serta selama periode suplementasi β -Carotene yang berlangsung selama 30 hari. Rerata dan perubahan berat badan tikus Wistar selama penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata dan Perubahan Berat Badan Tikus Wistar

Berat Badan (g)	Kelompok		
	X_1	X_2	X_3
Awal ^a	178,17 $\pm$ 3,06	172,83 $\pm$ 5,56	176,83 $\pm$ 2,64
Sebelum Induksi ^b	193,50 $\pm$ 3,08	202,17 $\pm$ 5,64	206,83 $\pm$ 2,99
Pra Perlakuan ^c	198,67 $\pm$ 2,81	197,50 $\pm$ 4,72	202,17 $\pm$ 3,49
Pasca Perlakuan ^d	230,00 $\pm$ 2,61	179,17 $\pm$ 5,42	231,17 $\pm$ 3,19
Delta 1 ^e	20,50	24,67	25,34
Delta 2 ^f	5,17	-4,67	-4,66
Delta 3 ^g	31,33	-18,33	29,00

X_1 = Kelompok Kontrol Negatif/Non Diabetik

X_2 = Kelompok Kontrol Positif/Diabetik

X_3 = Kelompok STZ + NA + β -Carotene 10 mg/KgBB

a) BB awal adalah BB tikus pada saat pengambilan sample hewan coba sesuai kriteria inklusi.

b) Sebelum induksi adalah BB tikus setelah masa adaptasi yaitu pemberi pakan tinggi lemak selama 14 hari dan sebelum dilakukan induksi STZ-NA.

- c) Pra perlakuan adalah BB tikus setelah induksi STZ-NA dan telah terjadi hiperglikemia.
d) Pasca perlakuan adalah BB tikus setelah induksi STZ-NA dan hiperglikemia serta telah mendapatkan suplementasi β -Carotene selama 30 hari.
e) Delta 1 adalah selisih antara BB tikus awal dan setelah mendapatkan pakan tinggi lemak selama 14 hari.
f) Delta 2 adalah selisih antara BB tikus sebelum induksi dan setelah induksi STZ-NA atau sebelum dilakukan perlakuan.
g) Delta 3 adalah selisih antara BB tikus yang telah diinduksi STZ-NA dan setelah pemberian β -Carotene selama 30 hari.

Data perubahan berat badan tikus dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa BB awal tikus yaitu 172,83 g sampai 178,17 g, hal ini menunjukkan bahwa BB awal tikus telah memenuhi kriteria inklusi penelitian. Berat badan tikus jantan Wistar dari awal pengumpulan sample hingga masa adaptasi dan pemberian pakan tinggi lemak yaitu selama rentang waktu 21 hari mengalami penambahan berat badan pada kelompok X_2 dan X_3 yaitu antara 24,67 g sampai 25,34 g. Pemberian pakan tinggi lemak memberikan kontribusi terhadap penambahan berat badan tikus, hal ini dikarenakan pakan tinggi lemak yang diberikan adalah hasil penambahan pakan standart dengan bubuk kolesterol dan lemak¹⁴.

Berat badan tikus jantan Wistar yang diinduksi STZ 45 mg/KgBB dan NA 110 mg/KgBB (setelah mengalami hiperglikemia) mengalami sedikit penurunan pada kelompok X_2 dan X_3 yaitu antara 4,66 g sampai 4,67 g setelah 3 hari induksi. Penurunan berat badan tikus terkait dengan gejala atau ciri-ciri umum hiperglikemia yaitu polidipsia (banyak minum), poliuria (produksi urin berlebih), polifagia (meningkatnya nafsu makan) serta penurunan berat badan secara tiba-tiba⁶. Penyebab utama terjadinya penurunan berat badan pada tikus setelah diinduksi oleh STZ dan NA adalah karena terjadinya lipolisis dan glukoneogenesis. Induksi STZ dan NA memberikan efek menurunnya kemampuan sel- β pankreas untuk mensintesis dan sekresi insulin (resistensi insulin), sehingga penyerapan glukosa untuk dimetabolisme menjadi energi berkurang. Akibatnya terjadi glukoneogenesis dimana katabolisme lemak dan protein meningkat. Lemak dan protein jaringan yang hilang akan menyebabkan penurunan massa otot dan menyebabkan penurunan berat badan¹⁵.

Kelompok perlakuan X_3 setelah mendapatkan suplementasi β -Carotene selama 30 hari mengalami peningkatan berat badan yaitu sebanyak 29 g. Berat badan pada kelompok perlakuan X_3 yang diberikan suplementasi β -Carotene mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok X_2 (kelompok kontrol positif diabetik yang tidak diberi suplementasi β -Carotene). β -Carotene memiliki efek *cytoprotective* yang memperbaiki dan melindungi sel- β pankreas, sehingga sintesis dan sekresi insulin meningkat¹⁰. Insulin yang disekresikan merespon kadar glukosa yang tinggi di

dalam darah dan menyerap glukosa darah kedalam jaringan, sehingga glukosa dapat digunakan untuk pembentukan energi dan glukoneogenesis tidak terjadi⁶. Efek β -Carotene yang mampu memperbaiki dan melindungi sel- β pankreas ini yang menyebabkan tikus pada kelompok perlakuan X_3 yang diberikan β -Carotene 10 mg/KgBB dapat mengalami kenaikan berat badan.

Kelompok kontrol positif mengalami penurunan terus-menerus hingga akhir penelitian, penurunan berat badan mencapai 11,37%. Penurunan berat badan dapat terjadi karena efek diabetes mellitus tipe 2 akibat dari induksi STZ dan NA pada tikus kelompok kontrol positif. Induksi STZ dan NA merusak sel- β pankreas yang dapat menyebabkan menurunnya kemampuan insulin sehingga terjadi peningkatan produksi glukosa oleh hati sementara pengangkutan glukosa berlebih kedalam sel berkurang. Kondisi banyaknya glukosa yang tidak dapat diubah menjadi energi ini memicu terjadinya glukoneogenesis yang menyebabkan turunnya massa otot dan massa lemak⁶. Tikus pada kelompok kontrol negatif (non diabetik dan tanpa perlakuan) mengalami peningkatan sebesar 29,09%. Tikus pada kelompok kontrol negatif mengalami kenaikan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif karena tikus pada kelompok negatif merupakan tikus sehat atau normal, sehingga nafsu makan pada tikus kontrol negatif baik dan memungkinkan untuk terjadi peningkatan berat badan.

Kadar Glukosa Darah

Induksi STZ dan NA menyebabkan menurunnya sintesis dan sekresi insulin pankreas sehingga dapat mengakibatkan terjadinya hiperglikemia. Pemeriksaan kadar glukosa darah merupakan parameter untuk mengetahui glukosa darah mengalami peningkatan. Kadar glukosa darah tikus jantan Wistar pada penelitian ini diperiksa 2 kali yakni, pada saat pengumpulan sample awal penelitian untuk menentukan sample sesuai dengan kriteria inklusi penelitian dengan kadar glukosa darah puasa <100 mg/dL dan 3 hari setelah induksi STZ dan NA. Kadar glukosa darah diperiksa dengan tujuan untuk memastikan tikus telah mengalami diabetes sebelum diberikan perlakuan. Kadar glukosa darah tikus jantan Wistar secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata dan Perubahan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar

Kadar Glukosa Darah (mg/dL)	Kelompok		
	X_1	X_2	X_3
Awal ^a	70,45 $\pm$ 2,91	72,63 $\pm$ 4,06	72,73 $\pm$ 3,20
Pre Test ^b	71,57 $\pm$ 2,47	260,97 $\pm$ 5,17	259,07 $\pm$ 5,45
Delta ^c	1,12	188,34	186,34

X_1 = Kelompok Kontrol Negatif/Non Diabetik

X_2 = Kelompok Kontrol Positif/Diabetik

X_3 = Kelompok STZ + NA + β -Carotene 10 mg/KgBB

a) Awal adalah kadar glukosa darah yang diambil saat awal pengambilan sample hewan coba sesuai dengan kriteria inklusi.

b) *Pre test* adalah kadar glukosa darah tikus setelah induksi STZ-NA dan terjadi hiperglikemia.

c) Delta adalah selisih antara kadar glukosa darah awal dan *pre test*.

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa rerata kadar glukosa darah tikus jantan Wistar pada saat awal adalah 70,45 mg/dL hingga 72,73 mg/dL. Rerata kadar glukosa darah puasa awal menunjukkan bahwa sampel tikus jantan Wistar pada semua kelompok telah memenuhi kriteria inklusi penelitian yaitu <100 mg/dL. Kadar glukosa darah pada kelompok X_1 (kontrol negatif/non diabetik) pada saat awal hingga post test mengalami kenaikan sebesar 2,13 mg/dL namun tetap dalam rentang normal. Kadar glukosa darah tikus pada kelompok X_2 dan X_3 mengalami peningkatan setelah 3 hari diinduksi STZ dan NA yaitu sebanyak 186,34 mg/dL hingga 188,34 mg/dL ($GDP \geq 126 \text{ mg/dL}$) sehingga dapat dikatakan tikus mengalami kondisi hiperglikemia dan masuk dalam diabetes mellitus tipe 2.

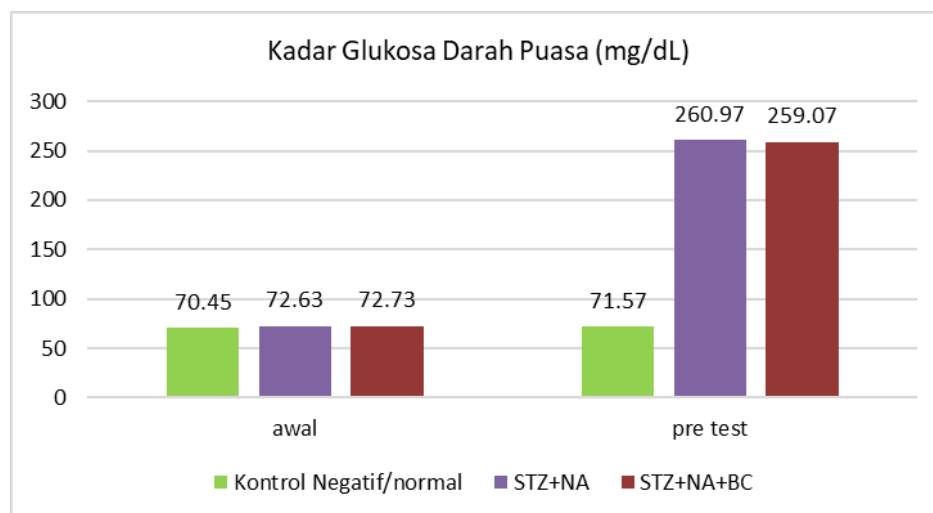
Tikus jantan galur Wistar dikondisikan diabetes mellitus tipe 2 diawali dengan pemberian pakan tinggi lemak selama 14 hari. Pakan tinggi lemak diberikan dengan tujuan untuk membuat tikus mengalami sindrom metabolik yang mengawali terjadinya resistensi insulin pada tikus jantan Wistar. Pemberian pakan tinggi lemak dapat menjadi faktor terjadinya peningkatan glukosa darah atau hiperglikemia dan hiperinsulinemia pada hewan coba dengan cara menyebabkan penurunan fungsi dari reseptor insulin, menghambat oksidasi asam lemak dalam otot skelet, mengurangi aktivitas *messenger-RNA* (mRNA) dan kandungan protein intraseluler dari *Glucose Transporter-4* (GLUT-4) dan mengurangi translokasi GLUT-4 ke membran sel.¹⁶ Pemberian pakan lemak juga dapat membuat tikus mengalami sindrom metabolik dan meningkatkan profil lipid.¹⁷ Akumulasi asam lemak bebas di dalam hati dapat mengakibatkan produksi trigliserida kaya *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) dan tingginya kadar trigliserida dalam darah. Kondisi tingginya kadar trigliserida dalam darah memicu terjadinya resistensi insulin pada penderita Diabetes mellitus tipe 2¹⁸.

Penelitian yang dilakukan Marques et al (2016), membuktikan bahwa pemberian pakan tinggi lemak pada dua strain tikus yaitu tikus Wistar dan *Sprague dawley* dalam jangka waktu lama terbukti dapat membuat tikus mengalami sindrom metabolik dan mengalami kenaikan kadar glukosa darah secara signifikan tanpa adanya induksi. Penelitian yang dilakukan Wickramasinghe et al (2022), membuktikan bahwa juga membuktikan bahwa pemberian pakan lemak selama 14 hari dan induksi STZ pada hewan coba, mampu membuat tikus mengalami peningkatan kadar trigliserida dan hiperglikemia¹⁹. Pemberian pakan lemak pada penelitian ini diberikan selama 2 minggu dapat membuat tikus mengalami peningkatan kadar trigliserida namun peningkatan yang

terjadi tidak sampai membuat tikus mengalami hipertrigliseridemia atau peningkatan kadar trigliserida tidak sampai 150 mg/dL. Pemberian pakan lemak pada penelitian ini diberikan guna membantu meningkatkan profil lipid sedangkan untuk memastikan tikus menjadi Diabetes mellitus tipe 2 serta meningkatkan kadar trigliserida karena efek hiperglikemia maka tikus perlu diinduksi dengan STZ dan NA.

Streptozotocin merupakan salah satu jenis antibiotik yang disintesis oleh *Streptomyces achromogenes* yang memiliki efek toksik yang selektif pada sel- β pankreas. *Streptozotocin* terakumulasi di dalam sel- β pankreas oleh *Glucose transporter-2* (GLUT-2) hal ini dapat menyebabkan organ lain disekitarnya seperti ginjal, hati dan instestinal juga mengalami kerusakan. Pada sel- β STZ menghalangi oksidasi glukosa, menurunkan sintesis dan sekresi insulin serta mengganggu transportasi glukosa dan aktivitas glukokinase. *Nitrosoamide moiety* dari STZ melalui *methil carbonium* menyebabkan metilasi dan kerusakan DNA pada sel β pankreas. Aktivitas *Poly [ADP-ribose] Polymerase* (PARP-1) pada pankreas menyebabkan deplesi ATP dan NAD⁺, penurunan sintesis protein serta nekrosis sel- β pankreas. *Streptozotocin* selain melalui alkilasi DNA juga menyebabkan kematian sel- β melalui stress oksidatif dan produksi NO, sehingga terjadi penurunan sintesis dan sekresi insulin serta mengganggu transportasi glukosa dan aktivitas glukokinase yang menyebabkan meningkatnya kadar glukosa darah atau hiperglikemia¹³.

Nicotinamide merupakan niacin (Vitamin B3) yang memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mengurangi efek *cytotoxic* dari STZ. *Nicotinamide* melindungi sel- β dari STZ dengan menghambat produksi NO radikal bebas, aktivitas PARP, menyediakan NAD⁺, menghambat apoptosis melalui pencegahan *phosphatidylserine* dan degradasi DNA. Mekanisme tersebut dapat mengkondisikan tikus yang di induksi STZ dan NA mengalami diabetes mellitus tipe 2 karena efek protektif NA terhadap STZ. Tikus yang diinduksi STZ dan NA akan mengalami hiperglikemia namun tidak memerlukan injeksi insulin untuk bertahan. Induksi STZ dan NA tidak hanya membuat tikus mengalami hiperglikemia namun juga meningkatkan kadar trigliserida sebesar 40%¹³. Huamanchumo et al (2019), membuktikan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kejadian hiperglikemia dengan peningkatan kadar trigliserida pada diabetes mellitus tipe 2²⁰. Penelitian ini menggunakan dosis STZ 45 mg/KgBB dan NA 110 mg/KgBB, dosis ini dapat mempercepat tikus menjadi diabetes mellitus tipe 2 dalam waktu 72 jam atau 3 hari¹³.



Gambar 1. Kadar Glukosa Darah Sebelum dan Setelah Perlakuan

Tikus jantan Wistar dilakukan pemeriksaan glukosa darah awal untuk memastikan bahwa hewan coba yang akan digunakan sebagai sample penelitian telah sesuai dengan kriteria inklusi yang diajukan. Pemeriksaan berikutnya yaitu setelah 3 hari tikus diinduksi dengan STZ dan NA. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa seluruh sample yaitu kelompok X_2 dan X_3 yang diinduksi STZ 45 mg/KgBB dan NA 110 mg/KgBB telah mengalami hiperglikemia dengan kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL, sehingga penelitian dapat dilanjutkan untuk diberikan perlakuan berupa suplementasi β -Carotene dengan dosis 10 mg/KgBB melalui sonde 2 hari sekali selama 30 hari untuk melihat pengaruhnya terhadap penurunan kadar trigliserida. Perubahan kadar glukosa darah pada tikus Wistar sebelum dan setelah perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

Kadar Trigliserida

Trigliserida merupakan bentuk lemak yang paling banyak disimpan di dalam tubuh terutama pada jaringan adiposa. Asam lemak dari trigliserida yang berlebihan akan disimpan sebagai cadangan energi dalam bentuk lemak di jaringan adiposa. Penderita diabetes mellitus tipe 2 mengalami resistensi insulin dan memicu glukoneogenesis sehingga produksi glukosa oleh hati meningkat, hal ini juga mempengaruhi otot dan jaringan lemak mensekresi asam lemak bebas yang berlebihan yang akan meningkatkan kadar trigliserida dalam darah. Kadar trigliserida tikus jantan wistar pada penelitian ini dipengaruhi oleh faktor pakan yaitu pakan tinggi lemak yang diberikan selama 14 hari setelah masa adaptasi, selain itu efek resistensi insulin dari induksi STZ dan NA yang dapat meningkatkan kadar trigliserida. Pemeriksaan kadar trigliserida pada penelitian ini dilakukan 2 kali yaitu setelah tikus diinduksi STZ 45 mg/KgBB dan NA 110 mg/KgBB (*pre test*) dan setelah mendapatkan perlakuan suplementasi β -carotene 10 mg/KgBB (*post test*). Hasil pemeriksaan kadar trigliserida dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata dan Perubahan Kadar Trigliserida Tikus Wistar

Kadar Trigliserida (mg/dL)	Kelompok		
	X ₁	X ₂	X ₃
Pre Test ^a	77,31±2,95	136,31±5,86	129,42±5,32
Post Test ^b	80,95±3,48	137,97±6,10	101,00±2,45
Delta 1 ^c	3,64	1,66	-28,42
p-value 1 ^d	0,005	0,019	0,001

p-value 2^e : 0,001

X₁ = Kelompok Kontrol Negatif/Non Diabetik

X₂ = Kelompok Kontrol Positif/Diabetik

X₃ = Kelompok STZ + NA + β -Carotene 10 mg/KgBB

a) Pre test adalah kadar trigliserida tikus setelah induksi STZ-NA dan terjadi hiperglikemia.

b) Post test adalah kadar trigliserida tikus setelah induksi STZ-NA dan hiperglikemia serta setelah pemberian suplementasi β -Carotene selama 30 hari.

c) Delta 1 adalah selisih antara kadar trigliserida *pre test* dan *post test*.

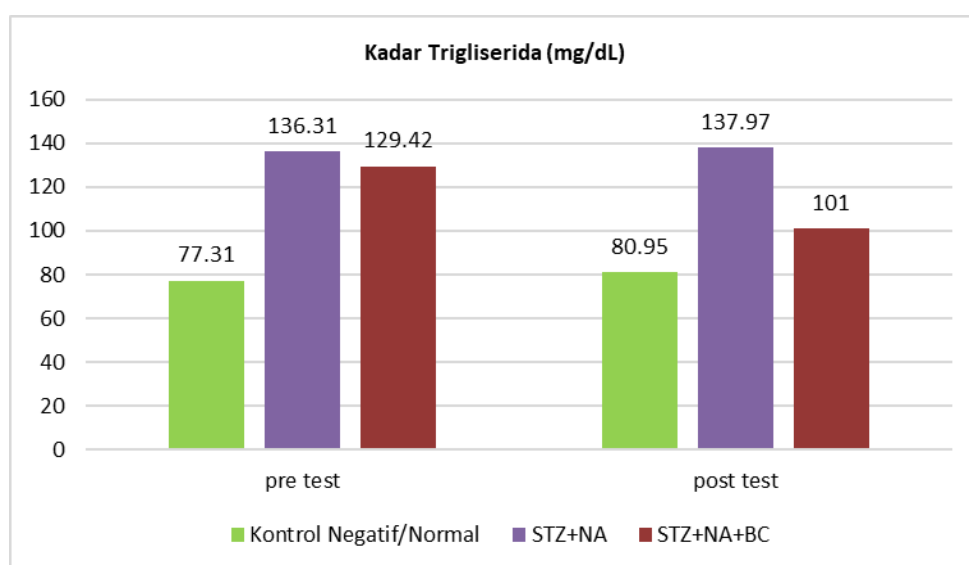
d) *p-value 1 adalah hasil uji *paired t-test* antara kadar trigliserida tikus *pre test* dan *post test*.

e) **p-value 2 adalah hasil uji *one way anova* antara kadar trigliserida kelompok X₁, X₂, dan X₃.

Analisis statistik kadar trigliserida pada kelompok X_1 , X_2 , dan X_3 menggunakan uji *paired t-test* karena data berdistribusi normal, analisis ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan *pre test* dan *post test* dalam kelompok. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok perlakuan X_3 memperoleh *p-value* 0,001 pada tingkat kepercayaan 95%, dengan demikian maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kadar trigliserida sebelum dan setelah pemberian suplementasi β -carotene dengan dosis 10 mg/KgBB selama 30 hari. Kelompok kontrol negatif dan kontrol positif memiliki *p-value* 0,005 dan 0,019 pada tingkat kepercayaan 95% yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar trigliserida *pre test* dan *post test*.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa pada kelompok perlakuan X_3 terdapat perbedaan yang signifikan yaitu kadar trigliserida *post test* menurun sebesar 21,90% atau 28,42 mg/dL jika dibandingkan

dengan kelompok tanpa perlakuan X_2 yang mengalami peningkatan 1,2% atau 1,6 mg/dL setelah 30 hari perlakuan. Uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok non perlakuan yaitu kelompok X_1 dan X_2 , namun jika dilihat pada delta atau selisih rata-rata antara *pre test* dan *post test* ini sangat kecil dan tampak meningkat jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan X_3 yakni menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan penurunan yang besar. Penurunan kadar trigliserida dapat terjadi karena efek pemberian suplementasi β -carotene dengan dosis 10 mg/KgBB. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan Ermawati (2014), membuktikan bahwa dosis pemberian suplementasi β -carotene yang paling efisien untuk menurunkan kadar trigliserida yaitu β -carotene dengan dosis 10mg/KgBB¹². Kadar trigliserida sebelum dan setelah perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kadar trigliserida (mg/dL) Sebelum dan Setelah Perlakuan

Penelitian Navaro et al (2016), membuktikan bahwa *Triglyceride-glucose index* (TyG Index) dapat mengidentifikasi secara dini terhadap individu yang beresiko mengalami diabetes mellitus tipe 2²⁰. Hubungan antara trigliserida dan resistensi insulin sangat erat dan berpusat pada gangguan metabolisme lipid dan glukosa. Trigliserida yang tinggi dalam darah terjadi karena asupan lemak berlebih atau gangguan metabolisme, dapat menyebabkan akumulasi lemak dalam jaringan non-adiposa, seperti otot dan hati. Akumulasi ini memicu lipotoksitas yang menghambat sinyal insulin, terutama pada jalur yang mengatur pengambilan glukosa oleh sel. Selain itu, tingginya trigliserida sering dikaitkan dengan peningkatan kadar asam lemak bebas, yang menginduksi stres oksidatif dan peradangan kronis. Proses ini memperparah disfungsi seluler, menurunkan sensitivitas insulin, dan mendukung terjadinya resistensi insulin²⁰. Akumulasi asam lemak yang berakibat resistensi insulin pada otot skelet mengakibatkan peningkatan rasio antara *acetyl coenzyme A* dan *coenzym A* serta rasio NADH dan NAD⁺ di dalam mitokondria, hal ini yang memicu inaktivasi *pyruvate dehidrogenase*. Konsentrasi sitrat juga meningkat dan menyebabkan penghambatan

phosphofructokinase serta meningkatkan konsentrasi intraselular *Glucose-6-phosphate* (G6P). Peningkatan G6P memicu sintesis glikogen dan menghambat hexokinase yang mengakibatkan peningkatan konsentrasi glukosa intraselular dan penurunan pengambilan glukosa otot²¹.

Peningkatan asam lemak intraselular seperti diasilgliserol dan acyl CoA akan mengaktifkan serin/treonin kinase yang menyebabkan fosforilasi serin/treonin pada subtrat reseptor insulin (IRS-1 dan IRS-2). Fosforilasi dapat mengurangi kemampuan reseptor insulin untuk mengaktifkan *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI-3-kinase) yang mengakibatkan terganggunya insulin *signaling pathway* dan terjadinya resistensi insulin. Mekanisme akumulasi asam lemak bebas yang mengakibatkan pelemahan signaling IRS/PI 3 kinase ini memicu penurunan pengangkutan glukosa oleh GLUT-4 ke dalam membran sel dan terjadi akumulasi glukosa berlebih atau hiperglikemia²¹.

Hiperglikemia menyebabkan kenaikan radikal bebas pada penderita diabetes mellitus yang disebut juga stress oksidatif. Stress oksidatif pada penderita diabetes mellitus dapat terjadi melalui tiga mekanisme yakni glikasi nonenzimatik pada protein, aldosa reduktase dan

adanya proses autooksidasi glukosa pada saat terjadinya hiperglikemia dimana radikal bebas dapat memicu kerusakan pada membran sel. Bahaya dari radikal bebas sebagai hasil dari reaksi kimia dan proses metabolik atau metabolisme oksidatif yang terjadi di dalam tubuh dapat di atasi dengan antioksidan²².

β -carotene yang merupakan provitamin A yang memiliki fungsi sebagai antioksidan dengan cara menekan stress oksidatif. Asupan makanan yang kurang mengandung antioksidan *liposoluble* (β -carotene) dapat menyebabkan kurangnya konsentrasi karotenoid didalam plasma darah, yang mana dapat mengganggu kemampuan insulin untuk menstimulasi glukosa diposal oleh otot⁹. β -carotene sebagai antioksidan berfungsi sebagai pemutus rantai radikal peroksida dengan memberikan ion hidrogen ke radikal bebas atau dengan cara menangkap *singlet oxygen*, sehingga mampu menghambat produksi radikal bebas yang berlebihan. β -carotene sebagai antioksidan juga berperan dalam melindungi membran *hepatosit line HepG2* dengan mencegah peroksidasi asam lemak bebas akibat radikal bebas²³.

Penelitian yang dilakukan De Castro et al (2013), membuktikan adanya efek β -carotene pada perbaikan sel β pankreas yang diinduksi STZ.¹⁶ Efek *cytoprotective* pada β -Carotene mampu memperbaiki dan melindungi sel- β pankreas, sehingga sintesis dan sekresi insulin dapat meningkat. Aktivitas insulin dalam sel otot skelet, adiposa dan hati meningkat, sehingga terjadi penyerapan glukosa darah yang berlebih. β -Carotene selain digunakan sebagai kontrol glikemik juga dapat digunakan sebagai kontrol lipid terutama trigliserida¹⁰. Penelitian Marcelino (2020), membuktikan bahwa dengan pemberian suplementasi β -Carotene pada tikus DM yang diinduksi STZ dan di beri tambahan pakan tinggi lemak 15% selama 14 hari mengalami penurunan yang signifikan terhadap kadar trigliserida⁹.

Suplementasi β -carotene sebagai kontrol lipid berperan dalam menormalkan oksidasi lipid dan berperan penting dalam mencegah percepatan pembentukan *atherosclerosis* pada pasien diabetes mellitus dengan cara meningkatkan sekresi asam empedu dan mengurangi konsentrasi kolesterol dalam plasma atau kolesterol hati yang akan digunakan untuk mengatur asam empedu. Kelarutan dan absorpsi kolesterol juga dapat dihambat dengan adanya β -carotene dengan cara mengganggu pembentukan misel di dalam usus halus. Gangguan sintesis kolesterol akan mengakibatkan menurunnya reseptor kilomikron dan VLDL yang mengikat trigliserida di dalam hati dan mengangkutnya menuju darah dan jaringan lemak. Terjadi penurunan pengikatan trigliserida karena berkurangnya reseptor kilomikron dan VLDL tersebut berakibat trigliserida dalam darah juga menjadi berkurang²⁴.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa hasil uji statistik *one way anova* menunjukkan perubahan kadar trigliserida terdapat perbedaan yang signifikan (*p-value* 0.001) pada setiap kelompok dan setelah mendapat perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa pemberian suplementasi β -carotene dengan dosis 10 mg/KgBB dapat berpengaruh terhadap penurunan kadar trigliserida. Berdasarkan uji *one way anova* dapat disimpulkan bahwa

pemberian β -carotene dengan dosis 10 mg/KgBB terbukti dapat menurunkan kadar trigliserida. Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa β -carotene mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap penurunan kadar trigliserida pada tikus Diabetes mellitus yang diinduksi dengan STZ dan NA. Hasil penelitian ini diharapkan bisa mempengaruhi kebijakan Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) dalam proses pemberian treatment diet kepada pasien diabetes melitus untuk mengkonsumsi bahan makanan sumber β -carotene. β -Carotene dengan dosis 10 mg/KgBB jika dikonversi ke dosis manusia yaitu 1,6 mg/KgBB. Aplikasi pada manusia dengan BB 50 kg yaitu 80 mg β -Carotene, setara dengan β -Carotene pada 1000 g wortel untuk dikonsumsi 2 hari sekali. Selain itu, pasien diabetes mellitus bisa mengkonsumsi 850 g ubi rebus untuk dikonsumsi 2 hari sekali.

Penelitian ini memiliki kelebihan yaitu menggunakan desain eksperimental yang jelas dan terkontrol. Penggunaan tikus Wistar yang diinduksi dengan STZ dan NA memberikan model yang sesuai untuk diabetes mellitus tipe 2. Parameter fisiologis yang relevan yaitu dengan melakukan pengukuran kadar glukosa darah dan trigliserida sebagai indikator utama valid dalam mengamati efek metabolik dari β -Carotene. Sedangkan kekurangan penelitian ini yaitu durasi intervensi yang terbatas, yaitu penelitian ini hanya dilakukan selama 30 hari suplementasi sehingga efek jangka panjang dari β -Carotene terhadap metabolisme tidak diketahui. Tidak ada data pendukung seperti analisis jaringan pankreas atau ekspresi gen/protein yang menunjukkan regenerasi sel β .

KESIMPULAN

Ada pengaruh yang signifikan pemberian suplementasi β -Carotene dengan dosis 10 mg/KgBB yang diberikan secara sonde 2 hari sekali dalam 30 hari terhadap penurunan kadar trigliserida tikus jantan Wistar Diabetes mellitus yang diberikan pakan tinggi lemak dan diinduksi dengan STZ dan NA. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian pakan tinggi lemak mampu membantu meningkatkan kadar trigliserida rata mencapai ± 136 mg/dL dengan nilai tertinggi 144 mg/dL, sedangkan nilai cut off point hipertrigliseridemia yaitu >150 mg/dL. Selanjutnya perlu diteliti berapa hari waktu yang diperlukan untuk pemberian pakan tinggi lemak agar kadar trigliserida darah pada tikus jantan Wistar mencapai >150 mg/dL guna memastikan tikus yang diberikan pakan tinggi lemak serta diinduksi STZ dan NA juga dapat mengalami hipertrigliseridemia.

ACKNOWLEDGEMENT

Terima kasih kepada kepala teknisi laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan fasilitas untuk pemeliharaan hewan coba, perlakuan serta pengukuran kadar glukosa dan kadar trigliserida. Terima kasih juga untuk teman satu tim yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN DAN SUMBER PENDANAAN

Semua penulis tidak memiliki konflik kepentingan terhadap artikel ini. Penelitian ini tidak mendapatkan sumber dana dari sponsor atau pihak manapun.

KONTRIBUSI PENULIS

ES: conceived conceptualization, experimental design of the study, methodology, supervision, writing-review and editing; ES, TA: writing-original draft, data analysis, resources; PA: writing-review and editing, data analysis, resources.

REFERENSI

1. Cole, J.B & Florez, J.C. Genetics of Diabetes Mellitus and Diabetes Complications. *Nature Review Nephrology*. **16**, 377-390. (2020). <https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5>
2. International Diabetes Federation (IDF). IDF Diabetes Atlas 10th Edition, International Diabetes Federation 2021. (2021). https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf
3. Ullah, A., Khan, A & Khan, I. Diabetes Mellitus and Oxidative Stress- A concise Review. *Elsevier. Saudi Pharmaceutical Journal*. **24**, 547-553. (2016). <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013>
4. Mohieldin, AH., Hasan, M., Al-Harbi, K.K., Alodailah, S.S, Azahrani, R.M & Al-Mushawwah, S.A. Dyslipidemia and Reduced Total Antioxidant Status in Young Adult Saudis with Prediabetes. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. **9**, 287-91. (2015). <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2014.04.017>
5. Hirano, T. Excess Triglycerides in Very Low-Density Lipoprotein (VLDL) Estimated from VLDL-Cholesterol could be a Useful Biomarker of Metabolic Dysfunction Associated with Stomatotic Liver Disease in Patients with Type 2 Diabetes. *J Atheroscler Thromb*. **31**, 1-12. (2024). <https://doi.org/10.5551/jat.65164>
6. Indonesian Endrokinology Society (PERKENI). *Guidelines for the Management and Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus in Indonesia*. Jakarta: PB PERKENI. (2021). <https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2021/11/22-10-21-Website-Pedoman-Pengelolaan-dan-Pencegahan-DMT2-Ebook.pdf>
7. Selvi, N.M.K., Nandhini, S., Sakthivadivel, V., Lokesh, Shanmugam, Srinivasan, A.B & Sumathi, S. Association of Triglyceride-Glucose Index (TyG index) with HbA1c and Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus. *MEDICA a Journal of Clinical Medicine*. **16**, 375-381. (2021). <https://doi.org/10.26574/maedica.2021.16.3.375>
8. Forno, A.H.D., Camara, D., Parise, B., Rodrigues, C.F., Soares, J.J., Wagner, R., Ribeiro, S.R., Folmer, V., Puntel, R., Haas, S.E., Farias, F.M., Denardin, E.L.G., Denardin, C.C & Avila, D.S. Antioxidant and Lipid Lowering Effect of Dried fruits oil extract of *Pterodon Emarginatus* in *Caenorhabditis elegans*. *Arabian Journal of Chemistry*, 1-11 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.04.001>
9. Marcelino, G., Machate, D.J., Freitas, K.D.C., Hiane, P.A., Maldonado, I.R., Pott, A., Asato, M.A., Candido, C.J., & Gumairaes, R.C.A. Beta Carotene: Preventive Role for Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity: A Review. *Molecules*. **25**, 5803. (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25245803>
10. Roohbakhsh, A., Kaarimi, G & Iranshahi, M. Carotenoids in the Treatment of Diabetes Mellitus and its Complications: A Mechanistic Review. *Elsevier Biomedicine and Pharmacotherapy*. **31-42** (2017). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.04.057>
11. Rajia, S., Yeasmin, M., Mostofa Kamal, A. H. M., & Khanam, K. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Activity of β -carotene on Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal of Pharmaceutical Research International*. **32**, 36-44. (2022). <https://doi.org/10.9734/jpri/2022/v34i627283>
12. Ermawati, D., Rachmawati, B & Nyoman S.W. Effects of β carotene supplementation on total cholesterol, triglycerides, and malondialdehyde in diabetic Sprague dawley rats. *Indonesian Journal of Nutrition*. **2**, 47-52. (2014). <https://doi.org/10.14710/jgi.2.2.47-52>
13. Ghasemi, A., Khalifi, S. & Jedi, S. Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Rat Model of Type 2 Diabetes (Review). *Acta Physiologica Hungarica*. **101**, 408-420. (2014). <https://doi.org/10.1556/APhysiol.101.2014.4.2>
14. Eluehike, N & Onoagbe, I. Changes in Organ and Body Weight, Serum Amylase and Antidiabetic Effects of Tannins from *Spondias Mombin* on Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Sabinet African Journal*. **3**. (2018). <https://hdl.handle.net/10520/EJC-13b8ee0f1f>
15. Petchi, R.R., Vijaya, C & Parasuraman, S. Antidiabetic Activity of Polyherbal Formulation in Streptozotocin - Nicotinamide Induced Diabetic Wistar Rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine Elsevier*. **4**, 108-117. (2014). <https://doi.org/10.4103/2225-4110.126174>
16. De Castro, U.G.M., Dos Santos, R.A.S., Silva, M.E., De Lima, W.G., Campagnole-santos, M.J & Alzamora, A.C. Age-dependent Effect of High-Fructose and High-Fat Diets on Lipid Metabolism and Lipid Accumulation in Liver and Kidney of Rats. *Journal of Lipids in Health and Disease BioMed Central*. **12**, 1-11. (2013). <https://doi.org/10.1186/1476-511X-12-136>
17. Qi, Y & Wang, X. The Role of Gut Microbiota in High-Fat-Diet-Induced Diabetes: Lessons from Animal Models and Humans. *MDPI Journals*. **15**, 922. (2023). <https://doi.org/10.3390/nu15040922>
18. Wang, Y., Fang, Y & Vrablik, M. Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance Mediates the Positive Association of Triglycerides with Diabetes. *Diagnostics (Basel)*. **14**, 733. (2024). doi: 10.3390/diagnostics14070733.
19. Wickramasinghe, A.S.D., Attanayajem A.P & Kalansuriya, P. Biochemical Characterization of High Fat Diet Fed and Low Dose Streptozotocin

- Induced Diabetic Wistar Rat Model. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. **113**. (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.vascn.2021.107144>
20. Navarro, D.G., Sanchez, L.I., Pastrana, J.D., Fernandez, A.M., Martinez, J.A. Triglyceride-glucose index (TyG index) in Comparison with Fasting Plasma Glucose Improved Diabetes Prediction in Patients with Normal Fasting Glucose: The Vascular-Metabolic CUN Cohort. *Preventive Medicine*. **86**, 99-105. (2016).
<https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2016.01.022>
 21. Tahapary, D.L., Prastishita, L.B., Fitri, N.A., Marcella, C., Wafa, S., Kurniawan, F., Rizka, A., Tarigan, T.J., Harbuwono, D.S., Purnamasari & D., Soewondo, P. Challenges in the Diagnosis of Insulin Resistance: Focusing on the role of HOMA-IR and Triglyceride/ Glucose Index. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. **16**, 8. (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2022.102581>Get rights and content
 22. Kusbandari, A., & Susanti, H. Beta-Carotene Content and Free Radical Capture Activity against DPPH (1,1-diphenyl 2-picrylhydrazyl) of Cantaloupe Fruit Extract (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L.) by UV-Visible Spectrophotometry. *Journal of Pharmaceutical Science and Community*. **14**, 37-42. (2017).
<http://dx.doi.org/10.24071/jpsc.141562>
 23. Salem, S.A. Effect of two Carotenoids (Lycopene and β carotene) Supplementation on Hyperlipidemia and Lipid Peroxidation in Experimental Albino Rats. *Journal of High Institute of Public Health*. **45**, 1-7. (2015).
 24. Qiu, Z., Chen, X., Geng, T., Wan, Z., Lu, Q., Li, L., Zhu, K., Zhang, X., Liu, Y., Lin, X., Chen, L., Shan, Z., Liu, L., Pan, Aliu, G. Associations of Serum Carotenoids with Risk of Cardiovascular Mortality Among Individuals with Type 2 Diabetes: Results From NHANES. *Diabetes Care*. **45**, 1453-1461. (2022). <https://doi.org/10.2337/dc21-2371>.