

PENGARUH JENIS YEAST HYDROLYSATE ENZYMATIC (YHE) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN BERAT BADAN MENCIT (*Mus musculus*) YANG TERINDIKASI DIABETES MELLITUS TIPE II

EFFECT OF TYPE YEAST HYDROLYSATE ENZYMATIC (YHE) TO THE LEVEL OF BLOOD GLUCOSE AND WEIGHT MICE (*Mus musculus*) INDICATIONS OF DIABETES MELLITUS TYPE II

Salma Nabilah dan Rudiana Agustini*

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
State University of Surabaya

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, email : rudianaagustini@yahoo.co.id

Abstrak. *Diabetes mellitus* tipe II merupakan penyakit yang mengganggu fungsi kerja insulin, umumnya terjadi pada penderita obesitas, obesitas terjadi akibat komposisi makanan dan diet tinggi lemak. Peran kunci dari kromium dalam tubuh berhubungan erat dengan kontrol glukosa darah, kromium dapat ditemukan dalam YHE. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis YHE terhadap kadar glukosa darah dan berat badan pada mencit, penelitian ini juga dibandingkan dengan kontrol normal, kontrol negatif, dan kontrol positif. Jenis YHE yang digunakan adalah YHE beras putih, YHE beras merah, dan YHE beras hitam. YHE dengan berbagai jenis sebanyak 1 mL diberikan kepada mencit dengan cara disonde selama 1 minggu, pengukuran berat badan menggunakan timbangan digital dan pengukuran kadar glukosa darah menggunakan glukometer (*Freestyl Optium*). Hasil rata-rata penurunan kadar glukosa darah pada YHE beras putih 87 mg/dL, YHE beras merah 138 mg/dL, dan YHE beras hitam 103 mg/dL, sedangkan hasil rata-rata pengukuran berat badan pada YHE beras putih sebesar 5 gram, YHE beras merah 6 gram, dan YHE beras hitam 7 gram. YHE dari berbagai jenis memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah dan kenaikan berat badan mencit yang terindikasi *diabetes mellitus* tipe II. Dan yang memiliki potensi penurunan terbaik adalah YHE beras merah, sehingga baik digunakan sebagai anti *diabetes mellitus* tipe II.

Kata kunci: *Diabetes mellitus* tipe II, Jenis *Yeast Hydrolysate Enzymatic* (YHE), Berat badan, Kadar glukosa darah, dan Kromium.

Abstract. *Diabetes mellitus* type II is a disease that interferes the function of insulin, commonly it occurs in obesity people, obesity occurs due to food composition and high-fat diets. The important role of chromium in the body closely relates to blood glucose control, chromium can be found in the YHE. This research aims to determine the influence of YHE type on blood glucose levels and weight in mice, the research is also compared to normal control, negative control, and positive control. YHE type used is YHE white rice, YHE red rice, and YHE black rice. YHE with a range of 1 ml was given to rats via gastric catheter for 1 weeks, the weight measurement uses digital scales and the blood glucose level measurement uses glucometer (*Freestyl Optium*). The average yield reduction in blood glucose levels in the YHE white rice is 87 mg/dL, YHE red rice 138 mg/dL, and YHE black rice 103m/dL, whereas the average result of weight measurement in a row is the YHE white rice 5 grams, YHE red rice 6 grams, and YHE black rice 7 grams. YHE of various types have an influence on decreasing blood glucose levels and increasing weight mice indicated type II *diabetes mellitus*. And that has the best reduction potential is YHE red rice, so it is used as anti-*diabetes mellitus* type II.

Keywords: *Diabetes mellitus* type II, Type *Yeast Hydrolysate Enzymatic* (YHE), Weight, Blood glucose levels, and Chromium.

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein akibat terjadinya insufisiensi fungsi insulin [1]. Umumnya penyakit *diabetes mellitus* tipe II ini dapat terjadi pada seseorang dengan gaya hidup dan pola makan yang tidak sehat dan berlebihan, salah satunya obesitas. Obesitas berhubungan dengan resistensi insulin [2] yang ditandai oleh hiperglikemia disertai dengan hipertensi, hipertigliserida dan rendahnya HDL, kondisi demikian disebut sindroma metabolik.

Pengobatan *diabetes mellitus* selama ini yang sering dilakukan adalah terapi insulin dan obat oral anti *diabetes mellitus*, akan tetapi pengobatan tersebut dapat memberikan efek negatif, sehingga banyak penderita yang berusaha mengendalikan kadar glukosa darahnya dengan pengobatan tradisional [3]. Salah satunya yang memiliki potensi adalah tanaman padi yang kemudian diolah menjadi tepung beras. Tepung beras digunakan sebagai media pertumbuhan *yeast* yang akan dihidrolisis secara enzimatis menjadi *Yeast Hydrolysate Enzymatic* (YHE).

Yeast Hydrolysate Enzymatic (YHE) adalah suatu *yeast* ekstrak yang diperoleh dari proses secara hidrolisis enzimatis dari ragi roti (*bakery's yeast*) yang difermentasi dalam media tepung beras dalam berbagai variasi [4]. Pemilihan YHE ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari variasi YHE dalam penurunan kadar glukosa darah dan berat badan mencit yang terindikasi *diabetes mellitus* tipe II dikarenakan dalam *Yeast Hydrolysate Enzymatic* (YHE) mengandung kromium, kadar kromium dalam jenis YHE berbeda-beda. Kadar kromium pada YHE beras putih sebesar 32×10^{-4} , sedangkan kadar kromium pada YHE beras merah sebesar 37×10^{-4} dan kadar YHE pada beras hitam sebesar 40×10^{-4} [4].

Kromium berfungsi untuk membantu masuknya glukosa dalam sel-sel tubuh. Glukosa tersebut dapat masuk ke dalam sel-sel tubuh dengan bantuan hormon insulin [5]. Peran kunci kromium dalam tubuh berhubungan erat dengan kontrol glukosa darah. Ada molekul sinyal yang disebut LMWCr atau ada juga yang menyebutnya chromodulin, LMWCr ini mengikat insulin, suatu hormon yang mengendalikan glukosa darah yang berinteraksi diluar sel [6]. Ketika konsentrasi insulin didalam darah meningkat, apoLMWCr akan mengubah insulin reseptor menjadi aktif yang

kemudian kromium bebas dalam sel akan diikat oleh LMWCr, pengikatan kromium oleh LMWCr mengubah menjadi bentuk aktif holo yang selanjutnya LMWCr akan membantu dalam mempertahankan aktivitas reseptor insulin. Pemberian YHE dalam berbagai jenis pada penelitian ini diharapkan memiliki pengaruh untuk membantu dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Pemberian YHE dalam berbagai jenis pada penelitian ini juga diharapkan memiliki pengaruh untuk membantu dalam menormalkan kembali berat badan mencit, sehingga mencit memiliki berat badan yang kembali normal. Penelitian ini dilakukan dengan metode *in vivo* menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini juga mengukur berbagai kontrol sebagai data pembanding dengan pemberian glibenklamid sebagai kontrol positif, pemberian CMC Na sebagai kontrol negatif, dan kontrol normal sebagai data pembanding.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan mencit *Mus musculus* galur ddy, penutup kandang, serbuk gergaji kayu, botol minum, timbangan untuk mengukur berat badan tikus (timbangan digital dalam gram), suntik kecil (*onmed* 1 cc), jarum sonde gavage kecil, sarung tangan (*Glove*), masker, Alat ukur kadar glukosa darah (*Freestyl Optium*), glukometer (*Freestyl Optium*), gunting, dan Alkohol swabs.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mencit *Mus musculus* galur ddy jantan umur ± 4 minggu dengan berat badan 20 sampai 24 gram, Aquades, Pakan por atau pelet 549, YHE-Beras Putih, YHE-Beras Merah, YHE-Beras Hitam, minyak babi, fruktosa 55%, glibenklamid, CMC Na 1%.

PROSEDUR PENELITIAN

a. Pembuatan Tepung

Beras putih dicuci hingga bersih, kemudian ditiriskan. Setelah kering dihaluskan menggunakan gilingan, lalu dibiarkan diudara terbuka sampai dingin dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh. Tahap tersebut dilakukan juga pada tepung beras merah dan tepung beras hitam.

b. Pembuatan Ekstrak Enzim Bromelin

Mula-mula buah nanas dibersihkan terlebih dahulu dari kotoran dan kulitnya, kemudian diambil daging buah dan batang buahnya, dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender, kemudian disaring dengan serbet atau kain yang bersih dan disentrifuge dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Menghasilkan residu dan filtrat, diambil filtratnya, kemudian ditambahkan dengan amonium sulfat 30-40% dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dalam kondisi dingin selama 45 menit dengan kecepatan sedang, lalu didiamkan selama 1 malam pada suhu dingin dan disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 6000 rpm, menghasilkan ekstrak kasar enzim bromelin.

c. Produksi yeast dalam berbagai media

Tepung beras putih ditimbang sebanyak 25 gram dan ditambahkan dengan aquades mendidih 250 mL menghasilkan gelatin tepung beras. Kemudian ditambahkan dengan campuran enzim α -amilase dan glukoamilase sebanyak 5 gram, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, ditambahkan ragi roti (*bakery yeast*) sebanyak 10 gram, dan difermentasi secara anaerob selama 36 jam pada suhu 27°C ($\pm 3^\circ\text{C}$), menghasilkan gelembung gas dan terbentuk dua fasa. Ditambahkan NaCl 35%, diautolisis selama 48 jam, disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit, menghasilkan supernatan dan pasta fermentasi. Tahap tersebut dilakukan juga pada tepung beras merah dan tepung beras hitam.

d. Produksi YHE

Pasta fermentasi ditambahkan dengan ekstrak kasar enzim bromelin, kemudian diproses secara hidrolisis enzimatis pada suhu 37°C selama 48 jam. Menghasilkan YHE (*Yeast Hydrolysate Enzymatic*), tahap tersebut dilakukan juga pada tepung beras merah dan tepung beras hitam.

e. Pengujian pada mencit

Mencit diadaptasikan selama 7 hari, diberi makan dan minum seperti biasa. Mencit dipilih secara acak (*simple random sampling*) untuk menghindari bias, kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Kelompok kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan YHE-BP, perlakuan YHE-BM, dan perlakuan YHE-BH. Kontrol

normal, mencit diberi pakan biasa (pelet 549) selama 1 minggu kemudian mencit diberi CMC Na 1% 1 mL 1 kali sehari selama 1 minggu dan setelah 7 hari diukur berat badan dan kadar glukosa darahnya melalui ekor mencit.

Kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan YHE-BP, perlakuan YHE-BM, dan perlakuan YHE-BH. Diberi pakan tinggi lemak sampai berat badan mencapai ± 30 gram dan kadar glukosa mencapai ± 140 -160 mg/dL, mencit obesitas dan terindikasi *diabetes mellitus* Tipe II. Kontrol negatif mencit diberi CMC-Na 1% pakan 1 mL 1 kali sehari selama 1 minggu, kontrol positif mencit diberi glibenklamid dosis 0,013 dalam CMC-Na 1% pakan 1 mL 1 kali sehari selama 1 minggu, perlakuan YHE-BP mencit diberi pakan YHE-BP dengan 1 mL 1 kali sehari selama 1 minggu, perlakuan YHE-BM mencit diberi pakan YHE-BM dengan dosis 1 mL 1 kali sehari selama 1 minggu, dan perlakuan YHE-BH mencit diberi pakan YHE-BH dengan dosis 1 mL 1 kali sehari selama 1 minggu. Setelah 7 hari diukur berat badan dan kadar glukosa darahnya melalui ekor mencit dan analisis data berat badan dan kadar glukosa darah.

HASIL DAN PEMBAHASAN**a. Pembuatan Tepung**

Beras putih, beras merah, dan beras hitam terlebih dahulu dilakukan preparasi untuk dihasilkan tepung, preparasi dilakukan melalui beberapa tahap diantaranya pencucian, penggilingan, dan pengayakan menggunakan ayakan 100 *mesh*.

b. Tahap Fermentasi

Tahap gelatinisasi dilakukan terlebih dahulu sebelum masuk kedalam tahap fermentasi, tahap gelatinisasi menghasilkan tepung dengan tekstur yang berbeda yakni seperti bubur. Kemudian ditambahkan enzim α -amilase dan glukoamilase sebanyak 5 gram yang bertujuan untuk mengkatalisis hidrolisis pati menjadi gula. Hasilnya tepung beras dengan tekstur kental seperti bubur akan kembali mencair, hal ini menunjukkan hidrolisis pati telah terbentuk.

Didinginkan disuhu ruang dan dipindahkan kewadah transparan tertutup dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dan ditambahkan *bakery yeast* sebanyak 10 gram dan difermentasi secara anaerob selama 36

jam pada suhu 27°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$), hal ini bertujuan untuk mengembangbiakkan bakteri dengan menyesuaikan keadaan lingkungannya. Pada pembuatan YHE perlu ditambahkan *bakery yeast* (*Saccharomyces cerevisiae*) karena mampu bekerja dengan baik pada media tepung yang kandungan utamanya adalah pati dan tahan terhadap alkohol yang dihasilkan. Proses fermentasi yang dilakukan selama 36 jam menghasilkan gelembung gas yang banyak, hal ini menandakan bahwa proses hidrolisis bekerja dengan baik.



Gambar 1. Hasil Salah Satu Jenis Produk YHE

c. Produksi YHE

Pasta hasil fermentasi ditempatkan dalam wadah tertutup, ditambahkan ekstrak kasar enzim bromelin dan diaduk hingga rata, kemudian diproses secara hidrolisis enzimatis pada suhu 37°C selama 48 jam. Hidrolisis enzimatis pada penelitian ini bertujuan untuk menghidrolisis protein pada substrat fermentasi, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit, kemudian YHE dari berbagai jenis tepung terlebih dahulu diukur kadar airnya untuk menyamakan konsentrasi pada masing-masing jenis YHE.

d. Pengujian pada Mencit

Hewan coba pada penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) galur ddy, mencit diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dan diberi makan pellet 549 dan minum seperti biasa, kemudian dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Kelompok 1 sampai 5, mencit diinduksi dengan fruktosa 55% dan minyak babi sebanyak 1 mL perhari yang kemudian diukur kadar glukosa darah dan berat badannya, untuk induksi fruktosa diberikan sebanyak 0,6 mL setiap pagi dan minyak babi diberikan sebanyak 0,4 mL setiap sore. Mencit kelompok 1 sampai 3 yang memenuhi kualifikasi akan diinduksi dengan ketiga jenis YHE, yakni YHE beras putih, YHE beras merah, dan YHE beras hitam, masing-masing diberi 1 mL perhari.

Tabel 1. Hasil rata-rata kadar glukosa darah dan berat badan sebelum dan sesudah pemberian YHE-Beras Putih (YHE-BP), YHE-Beras Merah (YHE-BM), dan YHE-Beras Hitam (YHE-BH)

| Jenis YHE | Kadar glukosa Sebelum (mg/dL) | Kadar glukosa Sesudah (mg/dL) | Selisih Kadar glukosa (mg/dL) | Berat badan sebelum (gram) | Berat badan sesudah (gram) | Selisih Berat badan (gram) |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| YHE-BP | 147 | 56 | 87 | - | - | 5 |
| YHE-BM | 181 | 51 | 138 | - | - | 6 |
| YHE-BH | 152 | 49 | 103 | - | - | 7 |

Berat badan pada setiap perlakuan memiliki rata-rata selisih penurunan yang berbeda-beda, untuk YHE beras putih memiliki selisih 5 gram, YHE beras merah memiliki selisih 6 gram, dan YHE beras hitam memiliki selisih 7 gram. Berat badan berkaitan erat dengan protein, protein memiliki peran dalam metabolisme mencit dalam penyimpanan glukosa di dalam darah. Pemberian YHE dalam berbagai jenis pada penelitian ini memiliki pengaruh untuk membantu dalam menormalkan kembali berat badan mencit, sehingga mencit

memiliki berat badan yang kembali normal, hal ini dikarenakan YHE memiliki komposisi kimia yang mampu untuk menormalkan kembali berat badan mencit.

Kadar glukosa darah yang memiliki kemampuan untuk menurunkan paling baik adalah YHE beras merah, dengan rata-rata penurunan kadar glukosa darah dari 181 mg/dL menjadi 51 mg/dL dengan selisih 138 mg/dL. Jika ditinjau dari karakterisasi atau komposisi kimia, YHE beras merah memiliki kandungan serat yang tinggi yakni sebesar 6,77% jika dibandingkan dengan YHE beras

putih dan YHE beras hitam sebesar 5,89% dan 6% [7]. Serat bagi penderita *diabetes mellitus* tipe II dapat memperlambat absorpsi glukosa dan membantu menjaga kadar glukosa darah agar tetap normal, sehingga dapat memperlambat penyerapan glukosa dari usus kecil ke dalam darah, hal ini dapat memungkinkan peningkatan hormon insulin untuk menjaga kadar glukosa darah agar tetap normal [8].

Serat tidak dapat dicerna oleh tubuh, namun dipecah di dalam usus dengan bantuan mikrobiota yang ada dalam usus. Dalam mikrobiota usus memiliki dinding sel bakteri yang disebut lipopolisakarida yang seharusnya berada didalam saluran cerna namun masuk kedalam sirkulasi dalam darah sehingga terjadi low grade inflammation [9] hal inilah yang menyebabkan terjadinya perubahan metabolisme pada penderita *diabetes mellitus* tipe II. Oleh karena itu perlu adanya terapi atau obat untuk menurunkan kadar glukosa darah dalam tubuh salah satunya yakni YHE, hal ini dikarenakan di dalam YHE memiliki kandungan kromium, dimana kromium berfungsi untuk membantu masuknya glukosa dalam sel-sel tubuh.

Peran kunci kromium dalam tubuh berhubungan erat dengan kontrol glukosa darah. Ada molekul sinyal yang disebut LMWCr atau ada juga yang menyebutnya

chromodulin, LMWCr ini mengikat insulin, suatu hormon yang mengendalikan glukosa darah yang berinteraksi diluar sel [6]. Ketika konsentrasi insulin didalam darah meningkat, apoLMWCr akan mengubah insulin reseptor menjadi aktif yang kemudian kromium bebas dalam sel akan diikat oleh LMWCr, pengikatan kromium oleh LMWCr mengubah menjadi bentuk aktif holo yang selanjutnya LMWCr akan membantu dalam mempertahankan aktivitas reseptor insulin.

Kandungan kromium pada YHE beras merah sebesar 37×10^{-4} , kandungan kromium pada YHE beras merah lebih kecil jika dibandingkan dengan YHE beras hitam sebesar 40×10^{-4} [4]. Peran kunci kromium dalam tubuh berhubungan erat dengan kontrol gula darah. Kromium pada beras hitam memiliki kadar yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kromium pada beras merah dan beras putih, namun yang memiliki penurunan kadar glukosa paling baik adalah pada konsumsi YHE beras merah, hal ini dapat dijelaskan bahwa ada faktor lain selain kromium untuk menurunkan kadar glukosa darah, salah satu kemungkinan adalah komposisi mikrobiota yang ada didalam usus. Komposisi mikrobiota ini jenis dan jumlahnya sangat dipengaruhi oleh komposisi makanan yang dikonsumsi.

Tabel 2. Hasil rata-rata kadar glukosa darah dan berat badan pada kontrol negatif, kontrol normal, dan kontrol positif

| Jenis Kontrol | Kadar glukosa Sebelum (mg/dL) | Kadar glukosa Sesudah (mg/dL) | Selisih Kadar glukosa (mg/dL) | Berat badan sebelum (gram) | Berat badan sesudah (gram) | Selisih Berat badan (gram) |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Kontrol Positif | 145 | 66 | 78 | - | - | 5 |
| Kontrol Negatif | 142 | 76 | 66 | - | - | 6 |
| Kontrol Normal | 133 | 71 | 62 | - | - | 7 |

Kadar glukosa darah pada kontrol positif dengan pemberian glibenklamid memiliki penurunan yang baik sebesar 78 mg/dL jika dibandingkan dengan kontrol normal dan kontrol negatif dengan pemberian CMC-Na 1% yang hanya sebesar 62 mg/dL dan 66 mg/dL. Hal ini dikarenakan Glibenklamid termasuk salah satu jenis obat hipoglikemik sulfonilurea, glibenklamid ini memiliki efek samping, dimana seseorang dapat mengalami hipoglikemia (kadar glukosa darah yang terlalu rendah).

Penurunan pada kelompok ini diduga glibenklamid mampu menggantikan peran ATP, sehingga dengan adanya glibenklamid maka terjadi proses glikolisis dan sekresi insulin [10], namun penurunan ini tidak begitu baik jika dibandingkan dengan YHE beras merah. Pada kontrol negatif dan kontrol normal dengan pemberian CMC Na 1% tidak memiliki pengaruh yang signifikan, karena CMC Na merupakan turunan dari selulosa yang sering dipakai dalam industri pangan untuk mencegah terjadinya *retrogradasi* [11]

dan tidak memiliki efek analgesik atau hipoglikemik sulfonilurea, sehingga CMC Na tidak memiliki pengaruh yang berarti terhadap kadar glukosa darah dan berat badan mencit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dipaparkan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. YHE dari berbagai jenis memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit yang terindikasi *diabetes mellitus* tipe II.
2. YHE dari berbagai jenis memiliki pengaruh terhadap kenaikan berat badan mencit yang terindikasi *diabetes mellitus* tipe II.
3. Jenis YHE yang memiliki potensi penurunan terbaik adalah YHE beras merah dengan selisih rata-rata sebesar 138m/dL, sehingga baik digunakan sebagai anti *diabetes mellitus* tipe II.

DAFTAR PUSTAKA

1. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine*. 2003; 1: 1-14.
2. Abel, E. Dale. *Free fatty acid oxidation in insulin resistance and obesity*. Heart Metab. 2010; 48:5-10.
3. Shafiee, Gita, M. Reza Mohajeri Tehrani, M. Pajouhi and L. Bagher. 2012. *The importance of hypoglycemia in diabetic patients*. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 2012, 11:17.
4. Agustini, Rudiana. 2018. *Penamfaatan yeast hydrolysate enzymatic (YHE) yang diproduksi dalam berbagai media pertumbuhan sebagai obat DM 2 dengan mengkaji kandungan chromium (III)*. Usulan Penelitian Hibah Bersaing Lanutan. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya (tidak dipublikasikan).
5. Anderson RA, Cheng N, Bryden NA, Polansky MM, Cheng N, Chi J, et al. Elevated intakes of supplemental chromium improve glucose and insulin variables in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes* 1997;46:1786-91.
6. Vincent, J.B and C.M.David. 1997. Chromium in carbohydrate and lipid metabolism. *J.Bio. Sci.* 2:675-679.
7. Agustini, Rudiana. 2015. *Yeast Hydrolysate Enzymatic (YHE) Hasil Degradasi Menggunakan Bromelin Nanas Sebagai Bahan Preparasi Media Kultur Mikrobiologi dan Biofertilizer*. Usulan Penelitian Hibah Bersaing Lanutan. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya (tidak dipublikasikan).
8. Karam, J., Patricia, P., Salber., Forsham, P. 1996. *Basic and Clinical Endocrinology: Pancreatin Hormones and Diabetes Mellitus*. London: Prentice-Hall International Inc.
9. Marisa. 2016. Peran Serat Pada Modulasi Mikrobiota Usus Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala Volume 16 Nomor 2*. Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala.
10. De Ruiter, Jack. 2003. Overview i the Antidiabetic Agents. *Endocrine Pharmacotherapy Modelu Spring*. 1-33.
11. Fennema, O. R., M. Karen, and D. B. Lund. 1996. *Principle of Food Science*. The AVI Publishing, Connecticut.