

KAJIAN KONSENTRASI *COCOA POWDER* PADA MINUMAN COKELAT TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH

Agus Sudrajat¹, Ai Susanti², Sani Fitriyani³

^{1,2,3}Program Studi Analisis Kesehatan, Politeknik Piksi Ganesha Bandung

JL.Jendral Gatot Subroto No.301 Bandung

Email : ¹manlab25@gmail.com, ²as.susanti.ppg@gmail.com, ³sanybeii90@gmail.com

ABSTRACT

One type of disease due to the pattern of wrong pattern of food consumption is Diabetes Mellitus (DM). Diabetes mellitus is characterized by an increase in blood glucose levels (hyperglycemia). The treatment of this disease requires a lot of cost and a long period of time, this experiment were intended to conduct research on cocoa powder which in the previous research reveals that cocoa powder contains high levels of flavonoids which has the potential as functional food to control or even lowered blood glucose levels. This research using experimental method of pretest and post test by using male wistar strain rats as the animal of experiment, with the total number of 35 rat. There were 5 group : the negative control which fed by standar food animal and drink, positive control was given food and drink and induced with alloxan, 4 treatment groups with chocolate beverage with cocoa powder concentration of 1%, 2% and 3% which was previously induced by alloxan. The treatment was performed in 14 days and on the 14th day, the blood glucose level was examined. Data were analyzed using Anova test, Tukey test and Paired T Test. The results showed that there was a decrease of the glucose level in treatment group which is treated by chocolate drink with 1%, 2% and 3% of cocoa powder concentration, with significant value in all statistical test with p value <0,05. The conclusion of this research was that the concentration of cocoa powder 1 until 3% in chocolate beverage has a functional characteristic to lowered blood glucose level.

Keywords: *Functional Food; Cocoa Powde; Diabetes Mellitus; Blood Glucose Level; Alloxan,*

ABSTRAK

Salah satu jenis penyakit akibat pola konsumsi pangan yang salah adalah Diabetes Melitus (DM), yang ditandai dengan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Pengobatan penyakit ini memerlukan biaya yang besar dan waktu lama, maka peneliti bermaksud untuk melakukan penelitian tentang *cocoa powder* yang pada penelitian sebelumnya dikemukakan bahwa *cocoa powder* mengandung kadar flavonoid yang tinggi yang berpotensi sebagai pangan fungsional untuk mengendalikan atau bahkan menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental *pretest* dan *post test* dengan menggunakan tikus jantan galur wistar sebagai hewan cobanya dengan total jumlah 35 ekor. Terdapat 5 kelompok yaitu kontrol negatif diberi makan pelet dan minum, kontrol positif diberi makan, minum dan diinduksi aloksan, 4 kelompok perlakuan dengan diberikan minuman coklat dengan kadar *cocoa powder* 1 %, 2 % dan 3 % yang sebelumnya diinduksi aloksan. Perlakuan dilakukan selama 14 hari dan pada hari ke 14 dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah. Data dianalisis dengan uji Anova, uji Tukey dan uji T Berpasangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar glukosa pada kelompok perlakuan dengan minuman coklat dengan konsentrasi *cocoa powder* 1%, 2% dan 3 %, dengan nilai yang bermakna pada semua uji statistik yaitu dengan nilai $p < 0,05$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah konsentrasi *cocoa powder* 1 sampai 3 % pada minuman coklat memiliki sifat fungsional untuk menurunkan kadar glukosa darah.

Kata Kunci : *Pangan Fungsional; Cocoa Powder; Diebetes Mellitus; Kadar Glukosa Darah, Aloksan.*

A. PENDAHULUAN

Saat ini teknologi pangan berkembang dengan cepat, pada proses pengolahan seperti kita ketahui saat ini terutama untuk produk pangan instant memakai bahan tambahan pangan, yang apabila dikonsumsi secara berlebihan tentu bisa menimbulkan masalah kesehatan. Perubahan gaya hidup khususnya pergeseran pola makan tradisional ke pola makan modern menyebabkan kerusakan sel islet sehingga insulin tidak dapat berfungsi secara normal. (Frankilawati, 2013). Hal tersebut bisa menyebabkan suatu penyakit yang terjadi akibat gangguan metabolisme karbohidrat yaitu *Diabetes Mellitus*. Dalam upaya menghindari penyakit yang berkaitan dengan metabolisme glukosa, penulis sangat tertarik untuk meneliti salah satu jenis pangan yang secara umum dikonsumsi oleh semua kalangan dari usia muda hingga tua, yaitu produk turunan kakao yaitu *cocoa powder* yang bisa dikategorikan sebagai salah satu jenis pangan fungsional, yang bisa berfungsi untuk memberikan manfaat yang baik untuk kesehatan, dan juga potensinya untuk menghindarkan seseorang dari mengkonsumsi obat – obatan berbahan kimia yang memiliki efek yang merugikan kesehatan. Konsumsi coklat bubuk menurut beberapa penelitian sebelumnya memiliki potensi untuk menurunkan kadar glukosa darah dan flavonoid yang terkandung pada coklat bisa menghambat kerusakan pada sel beta pankreas yang lebih jauh akibat pemasukan aloksan. Sel beta pankreas bertanggung jawab untuk produksi insulin pada tubuh

dan kerusakan sel beta pankreas bisa menyebabkan defisiensi insulin yang menyebabkan gangguan metabolisme karbohidrat. Jumlah pangan fungsional saat ini banyak menarik perhatian masyarakat karena bisa memberi manfaat yang baik bagi kesehatan. Saat ini di Jepang dikenal istilah FOSHU (*Food For Specified Health Use*). Situasi saat ini berkaitan dengan pengelolaan Diabetes Melitus telah menunjukkan peningkatan dalam hal kebutuhan akan pangan fungsional sebagai manajemen tambahan untuk pengelolaan diabetes (Jalil, 2009). Penelitian ini mengacu pada teori yang menyatakan bahwa kandungan flavonoid pada *theobroma cacao* dan produk turunannya yaitu *cocoa powder* dapat menurunkan kadar glukosa darah. Hal ini ditunjang pula dengan beberapa penelitian sebelumnya tentang efek konsumsi *theobroma cacao* terhadap penurunan glukosa darah. Penelitian ini memakai tikus karena harganya murah, perawatan mudah, dipilih jenis kelamin jantan sebagai objek percobaan karena memiliki kondisi biologis yang stabil, kondisi fisiologis dan biokimia yang hampir sama dengan manusia, pada penelitian ini penulis memakai coklat bubuk karena bahan pangan ini mudah didapatkan oleh masyarakat dan aplikasinya akan lebih mudah apabila pada penelitian ini terbukti bahwa *cocoa powder* dapat menurunkan kadar glukosa darah, mengingat *cocoa powder* telah dipakai oleh masyarakat untuk membuat produk makanan dan minuman. Dari data yang diperoleh tentang potensi pentingnya pengobatan dan pencegahan diabetes dikaitkan juga

dengan pangan fungsional yaitu *Theobroma cacao* dengan produk turunannya yaitu cokelat bubuk (*cocoa powder*) yang pada beberapa penelitian sebelumnya telah diketahui memiliki potensi untuk menurunkan kadar glukosa darah maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul kajian konsentrasi *cocoa powder* pada minuman cokelat terhadap kadar glukosa darah.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimen karena dalam penelitian ini menggunakan variabel yang akan diteliti (variabel terikat) semua ini sengaja ditimbulkan dengan menggunakan perlakuan yang sesuai dengan kebutuhan saat melakukan penelitian. Penelitian dilakukan melalui tiga tahap yaitu (1) Persiapan hewan percobaan, (2) Induksi hewan percobaan (3) Perlakuan hewan percobaan.

1. Tahap Persiapan Hewan Percobaan

Pada penelitian ini objek penelitian yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar. Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu usia 2-3 bulan, berat badan 150-300 gr, sehat dengan gerak aktif, kadar glukosa darah puasanya lebih dari 126 mg/dL. Kriteria eksklusi yaitu cacat fisik, sakit seperti adanya luka dan mati selama dilakukan adaptasi dan masa perlakuan. Tikus diadaptasikan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran selama 1 minggu, diberi makanan pelet dan minuman air putih. Setelah 1 minggu tikus yang masuk kriteria eksklusi disingkirkan

1.1 Persiapan Kandang

Kandang yang dipersiapkan berupa bak plastik berukuran 30 cm x 16 cm x 16 cm yang dilengkapi dengan penutup kandang berupa kawat. Kandang diberi alas berupa serbuk gergaji sebagai penghangat bagi tikus putih. Di dalam kandang disediakan botol minum berupa air jernih untuk mencit (*Mus Musculus*).

1.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 35 ekor tikus putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat 150 - 300 gram. Sebelum masuk ke tahap perlakuan, seluruh hewan percobaan terlebih dahulu di aklimatisasi selama 7 hari. Setiap mencit ditempatkan dalam kandang yang berbeda. Penimbangan berat badan tikus dilakukan setelah aklimatisasi. Keadaan selama aklimatisasi dan perlakuan dikontrol pada kisaran lingkungan yang tetap dengan tujuan agar hewan uji mampu beradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Selama percobaan suhu ruangan berkisar antara 23⁰C -27⁰C.

1.3. Penentuan Jumlah Sampel (populasi)

Jumlah sampel dihitung dengan menggunakan rumus Freederer, dengan perhitungan sebagai berikut:

Keterangan: $(r-1)(t-1) \geq 15$

r = ulangan

t = jumlah perlakuan

Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan maka,

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

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

$$\begin{aligned} (r-1)(3) &\geq 15 \\ (r-1) &\geq 15/3 \\ (r-1) &> 5 \\ r &\geq 5+1 \\ r &\geq 6 \end{aligned}$$

Dari hasil perhitungan didapatkan jumlah sampel pada tiap kelompok adalah 6 ekor tikus. Dengan mempertimbangkan jumlah sampel drop out dari tiap kelompok 10-20% maka tiap kelompok diambil 7 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok ($n=5$) sehingga jumlah tikus yang dilakukan perlakuan adalah 35 ekor tikus.

2. Tahap Induksi Hewan Percobaan

Setelah dilakukan pengadaptasian selama 7 hari lalu pada hari ke 8 tikus dipuasakan selama 8 jam dan diambil darah vena melalui ekor dan diukur kadar gula darahnya dengan menggunakan glukosa meter. Lalu kadar glukosa darah tikus ditingkatkan dengan induksi aloksan dengan dosis 125 mg/kgBB secara subkutan, setelah 3 hari dilakukan pengukuran kadar glukosa darah ulang, jika hasil kadar glukosa darah puasa meningkat lebih tinggi dari 126 mg/dL maka mulai diberikan pakan hewan dengan kandungan coklat bubuk 1 %, 2% dan 3 % satu kali sehari selama 14 hari.

2.1 Perhitungan Dosis Aloksan Untuk Induksi

Dosis yang digunakan adalah dosis tunggal 125 mg/KgBB diberikan secara intraperitoneal. Satu ekor tikus putih seberat 200 gr disuntik aloksan secara intraperitoneal sebanyak :

$$200 \text{ gr} / 1000 \text{ gr} \times 120 \text{ mg} = 25$$

Dalam pelaksanaannya dibuat stok larutan aloksan dengan konsentrasi 1 gram dalam 10 mL aquades. Bila

tikus beratnya 200 gr maka volume yang disuntik adalah :

$$25 \text{ mg} / 1000 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} = 0,25 \text{ mL}$$

3. Tahap Perlakuan Hewan Percobaan

Pada penelitian ini diperlukan 5 kelompok hewan percobaan, dengan jumlah hewan pada masing-masing kelompok perlakuan minimal 6 ekor tikus dan menambahkan 1 ekor tikus untuk menghindari hewan yang masuk ke dalam kriteria eksklusi. Sehingga jumlah dalam 1 kelompok percobaan adalah 7 ekor dan total keseluruhan hewan yang digunakan yaitu sebanyak 35 ekor tikus.

3.1 Pembuatan Minuman Coklat dengan *Cocoa Powder* konsentrasi 1 %, 2 % dan 3 %

Minuman bubuk kakao (coklat) yang siap dikonsumsi dibuat dengan melarutkan 4 gram bubuk kakao bebas lemak dalam 100 mL air hangat, ditambahkan 2 gram gula dan 2 gram susu bubuk skim. Minuman bubuk kakao diberikan terhadap hewan percobaan secara oral. (Erniati, et al, 2012).

3.2 Pembuatan Minuman Coklat Dengan Konsentrasi *Cocoa Powder* 1 %

Bubuk kakao bebas lemak sebanyak 1 g dilarutkan dalam 100 mL air panas, ditambahkan 2 g gula dan 2 g susu bubuk skim. Minuman coklat diberikan kepada hewan coba dengan cara per oral melalui mulut.

3.3 Pembuatan Minuman Coklat Dengan Konsentrasi *Cocoa Powder* 2 %

Bubuk kakao bebas lemak sebanyak 2 g dilarutkan dalam 100 mL air panas, ditambahkan 2 g gula dan 2 g susu bubuk skim. Minuman

coklat diberikan kepada hewan coba dengan cara per oral melalui mulut.

3.4 Pembuatan Minuman Coklat Dengan Konsentrasi Cocoa Powder 3 %

Bubuk kakao bebas lemak sebanyak 3 g dilarutkan dalam 100 mL air panas, ditambahkan 2 g gula dan 2 g susu bubuk skim. Minuman coklat diberikan kepada hewan coba dengan cara per oral melalui mulut.

3.5 Pembagian Kelompok Hewan Coba Berdasarkan Jenis Perlakuan

1. Kelompok 1 : kelompok kontrol negatif diberikan makanan pelet dan minuman air putih.
2. Kelompok 2 : kelompok kontrol positif diberikan makanan pelet, minum air putih dan diinduksi aloksan secara subkutan dengan dosis 125 mg/kgBB.
3. Kelompok 3 : diinduksi aloksan secara subkutan dengan dosis 125 mg/kgBB diberikan minuman *cocoa powder* konsentrasi 1 % secara oral selama 8 hari.
4. Kelompok 4 : diinduksi aloksan secara subkutan dengan dosis 125 mg/kgBB diberikan minuman *cocoa powder konsentrasi* 2 % secara oral selama 8 hari.
5. Kelompok 5 : diinduksi aloksan secara subkutan dengan dosis 125 mg/kgBB diberikan minuman *cocoa powder* konsentrasi 3 % secara oral selama 8 hari.

Setelah hari ke-8 dan hari ke - 14 perlakuan, maka dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah hewan percobaan melalui darah vena ekor hewan percobaan

menggunakan glukometer, data dicatat untuk keperluan analisis.

3.6 Analisis Data untuk Kadar Glukosa darah

Data yang diperoleh akan dianalisis secara statistik, dengan menggunakan program SPSS satatistic 17.0. Jika data yang didapatkan memiliki distribusi data normal dan varians data sama maka dianalisis dengan menggunakan uji parametrik *One Way Anova*. Uji *One Way Anova* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan dari kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok perlakuan. Apabila hasil menunjukkan perbedaan yang nyata, maka analisis statistik dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tukey* . Jika didapatkan data yang tidak terdistribusi tidak normal dan tidak homogen ($p < 0,05$), maka akan dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Dilakukan juga uji statistik *Paired T Test* untuk melihat apakah ada penurunan kadar glukosa darah yang bermakna sebelum dan setelah perlakuan dengan minuman coklat konsentrasi *cocoa powder* 1 – 3 %.

1. Bahan dan Alat Penelitian

4.1 Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan pada peneclitian ini adalah aloksan yang digunakan untuk menginduksi hewan coba. Pakan tikus berupa pelet degan spesifikasi P-551 yang diperoleh dari penjual pakan hewan. Air jernih digunakan untuk memenuhi kebutuhan minum hewan coba. Sekam kayu bentuk serbuk yang dipakai untuk alas kandang hewan coba supaya merasa nyaman. Hewan percobaan adalah tikus jantan galur wistar usia 2-3 bulan, berat badan 150-300 gr, sehat dengan gerak aktif, diperoleh dari

laboratorium hayati ITB. Susu bubuk skim sebagai bahan pembuat minuman cokelat. Gula pasir (sukrosa) sebagai bahan pembuat minuman cokelat. Aquadest sebagai pelarut aloksan. *Cocoa powder* yang dipakai di penelitian ini di peroleh dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember air putih sebagai bahan pembuat minuman cokelat.

4.2 Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Beaker glass* ukuran 500 mL untuk mencampurkan bahan – bahan pembuat minuman cokelat. Timbangan analitik elektronik Metler and Toledo untuk menimbang bahan percobaan seperti cocoa powder, glukosa dan susu bubuk skim dan aloksan. Timbangan merek Acis untuk mengukur berat badan tikus. Spidol permanen untuk menandai tikus pada ekor supaya tidak tertukar. Glukosameter (easy touch) untuk memeriksa kadar glukosa hewan. Gunting untuk mendapatkan sampel darah dengan memotong ekor. Batang pengaduk kaca untuk mengaduk bahan percobaan. Strip glukosa meter untuk menampung sampel pada glukosa meter. Gelas ukur untuk mengukur bahan percobaan berbentuk cair. Kandang hewan untuk tempat tinggal hewan percobaan selama penelitian. Kertas timbang untuk mengukur bahan penelitian berbentuk serbuk. Jarum suntik untuk menyuntikkan aloksan pada hewan coba. Kertas label untuk melabeli kandang hewan dan minuman cokelat supaya tidak tertukar.

5. KAJIAN TEORITIS

5.1 Pangan Fungsional

Pangan pada saat ini telah diketahui memiliki manfaat untuk kesehatan. Ungkapan yang mengatakan bahwa pangan dapat berperan sebagai untuk menjaga kesehatan telah diungkapkan oleh hipocrates dengan ungkapan “*let the food be thy medicine and medicine be thy food*”. Pada sekitar tahun 1970-an perhatian para ilmuwan secara dramatis berubah dari masalah kekurangan zat gizi menjadi kelebihan zat gizi. Sajak itu muncul anjuran untuk mengkonsumsi makanan rendah lemak jenuh, kaya akan sayuran dan buah – buahan, biji – bijian utuh, dan kacang-kacangan untuk mengurangi resiko timbulnya penyakit kronis seperti penyakit jantung, kanker, osteoporosis, diabetes dan stroke.

5.2 *Theobroma Cacao L.*

Kakao (*Theobroma cacao L.*) merupakan salah satu komoditi perdagangan yang mempunyai peluang untuk dikembangkan dalam rangka usaha memperbesar atau meningkatkan devisa negara serta penghasilan petani kakao. Produksi biji kakao di Indonesia secara signifikan terus meningkat, namun mutu yang dihasilkan sangat rendah dan beragam, antara lain kurang terfermentasi, tidak cukup kering, ukuran biji tidak seragam, kadar kulit tinggi, keasaman tinggi, cita rasa sangat beragam dan tidak konsisten. Hal tersebut tercermin dari harga biji kakao Indonesia yang relatif rendah dan dikenakan potongan harga dibandingkan harga produk sama dari negara produsen lain. Pulp merupakan senyawa yang sebagian besar terdiri atas air. Kakao dibagi tiga kelompok besar yaitu Criollo, Forestero, dan Trinitario.

5.3 *Cocoa Powder*

Coklat bubuk atau *cocoa powder* terbuat dari bungkil atau ampas biji coklat yang telah dipisahkan lemak coklatnya. Bungkil ini dikeringkan dan digiling halus sehingga terbentuk tepung coklat. Coklat bubuk ada dua jenis, yang pertama melalui proses natural dan yang kedua melalui proses dutch. kakao natural sedikit asam, sedangkan kakao *dutch* warnanya lebih gelap dan coklatnya lebih lembut.

5.4 Antioksidan Pada *Theobroma Cacao* dan Produk Turunannya

Senyawa polifenol yang merupakan antioksidan merupakan produk dari metabolisme sekunder tanaman, yang disintesis melalui dua jalur sintetik utama, yaitu jalur shikimat dan jalur piruvat, dimana asam shikimat dan asam piruvat merupakan hasil metabolisme dari senyawa glukosa. Jumlah serta jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao Jumlah kandungan senyawa polifenol pada biji kakao akan bervariasi tergantung pada tingkat kematangan buah, varietas atau kultivar dan lingkungan tempat tumbuh tanaman kakao tersebut.

5.5 Pengaruh Pengolahan Pangan Terhadap Kadar Antioksidan Kakao Dan Produk Turunannya

Proses pengolahan mempengaruhi pengurangan kandungan senyawa polifenol pada biji kakao. Adapun proses pengolahannya adalah proses fermentasi, pengeringan, penyangraian dan alkalisasi. Sedangkan proses pengolahan lainnya seperti proses produksi untuk menghasilkan berbagai produk coklat walaupun ada pengaruhnya, tetapi tidak sebesar pengaruh proses pengolahan sebelumnya

5.6 Pengaruh Kakao dan Produk Turunannya Terhadap Kadar Glukosa Darah

Banyak penelitian telah dilakukan tentang efek kakao untuk memperbaiki kesehatan, salah satu diantaranya mengenai manfaat konsumsi produk kakao untuk menurunkan kadar glukosa darah pada hewan percobaan, hal tersebut diduga karena kakao dan produk turunannya memiliki kadar antioksidan yang tinggi.

5.7. Kadar Glukosa Darah

Pada orang normal besar kisaran kadar glukosa darah puasa antara 80 sampai 90 mg/dL diukur sebelum makan pagi. Kadar glukosa darah akan meningkat menjadi 120 sampai 140 mg/dL selama 1 jam setelah makan. Kadar glukosa darah puasa dikatakan meningkat atau hiperglikemia jika lebih dari 126 mg/dL, dan pada kadar glukosa sewaktu adalah lebih dari 200 mg/dL. (Hifzil, 2015).

5.8 *Diabetes Melitus*

Diabetes Melitus merupakan kelainan kronik mengenai metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Gambaran khas penyakit ini adalah Hiperglikemia. Sampai sekarang ada bermacam kriteria untuk penyakit ini, beberapa gangguan menggunakan gambaran klinik, yang lain dari segi etiologinya.

5.9 Peran Insulin

Insulin merupakan protein kecil yang disintesis oleh sel beta yang memiliki berbagai peranan penting dalam keberlangsungan metabolisme karbohidrat, metabolisme lemak, metabolisme protein dan pertumbuhan. Dalam keadaan glukosa darah normal proses

glukoneogenesis akan dihambat oleh insulin. (Hifzil, 2015).

5.10 Aloksan Monohidrat

Aloksan merupakan substrat yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana. Nama aloksan merupakan penggabungan dari kata allantoin dan oksalurea. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan merupakan senyawa hidrofilik dan senyawa kimia tidak stabil. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37°C adalah 1,5 menit. Penyuntikan hewan coba atau tikus dengan aloksan adalah dengan tujuan membuat kondisi tikus menjadi hiperglikemia, dan agar kadar gula darah tikus meningkat maka perlu diinjeksikan aloksan sebanyak 120 – 150 mg/kgBB.

C. PEMBAHASAN

1. Hasil Penelitian

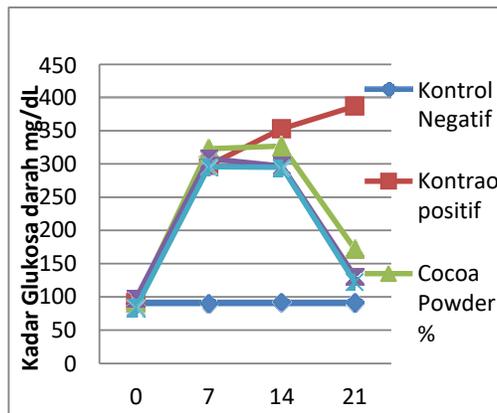
Hasil dari penelitian yang telah dilakukan akan mendeskripsikan penurunan kadar glukosa darah tikus setelah pemberian minuman cokelat dengan konsentrasi *cocoa powder* 1 %, 2 % dan 3 %, yang bisa menunjukkan sifat fungsional dari minuman cokelat untuk menjaga kesehatan. Objek penelitian adalah tikus putih jantan galur wistar sebanyak 35 ekor yang diperoleh dari laboratorium perkembangan hewan pusat ilmu hayati ITB. Semua objek

minggu, setelah itu tikus yang masuk ke kriteria inklusi dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan dengan berbagai konsentrasi *cocoa powder*. Setelah diadaptasikan tikus-tikus diinduksi aloksan kecuali kelompok kontrol negatif, lalu setelah 72 jam atau 3 hari penginduksian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa, didapatkan hasil yaitu hiperglikemia maka dilanjutkan dengan perlakuan pemberian minuman coklat dengan beragam konsentrasi *cocoa powder* selama 14 hari, pada hari ke - 14 dan ke - 21 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa tikus kembali. Jumlah tikus yang digunakan sebagai objek penelitian sampai pengolahan data adalah 35 ekor tikus. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Analisis data penurunan kadar glukosa darah menggunakan data hasil pengukuran darah semua kelompok, kemudian masing-masing kelompok dirata – ratakan, selanjutnya dibandingkan kadar glukosa darahnya sebelum dan sesudah perlakuan terlihat dari tabel di bawah ini :

Tabel 1. Rata – Rata Kadar Glukosa Darah Tikus Hari Ke – 0, 14, dan 21

Kelompok	Hari ke - 0	Hari ke - 7	Hari ke - 14	Hari ke - 21
Kontrol Negatif	90	90	92	91
Kontraol Positif	91	298	353	387
<i>Cocoa Powder</i> 1 %	93	323	327	172
<i>Cocoa Powder</i> 2 %	98	308	297	131
<i>Cocoa Powder</i> 3 %	84	296	295	122

penelitian diadaptasikan selama 1



Gambar 1. Rata – Rata Kadar Glukosa Darah Tikus Percobaan Tiap Kelompok Di Hari Ke -0, 7, 14 Dan 21.

Pada gambar 1 menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah tikus percobaan yang diinduksi aloksan pada hari ke - 7 yaitu kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan *cocoa powder* konsentrasi 1 – 3 %. Penelitian ini menunjukkan bahwa aloksan dapat meningkatkan kadar glukosa darah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Suarsana (2010) yang melaporkan bahwa tikus yang telah diinduksi aloksan mengalami peningkatan kadar glukosa darah. Olooto et al melaporkan peningkatan kadar glukosa darah tikus putih setelah induksi aloksan, dan juga kerusakan sel beta pankreas setelah induksi aloksan sehingga produksi insulin menurun dan kadar glukosa pada plasma meningkat, dan hal ini menjelaskan mengapa kadar glukosa darah tikus percobaan meningkat setelah induksi aloksan. (Olooto et al, 2014).

Pada kontrol negatif tidak dilakukan penginduksian aloksan, kadar glukosa darah tidak mengalami perubahan yang signifikan sampai

hari ke-21. Pada hari ke-14 kadar glukosa belum menurun secara signifikan dimungkinkan karena senyawa flavonoid pada minuman *cocoa powder* masih dalam proses untuk melakukan perbaikan kerusakan sel beta pankreas akibat induksi aloksan, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Olooto et al dan Ruzaidi et al yang menyatakan bahwa penurunan kadar glukosa yang signifikan terjadi di waktu akhir penelitian. Pemeriksaan darah selanjutnya dilakukan setelah diberikan minuman coklat dengan beragam konsentrasi *cocoa powder* yaitu 1 %, 2 %, dan 3 % selama 14 hari (2 minggu), yang diperiksa pada hari ke 14 dan ke-21. Hasil pemeriksaan menunjukkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah tikus yang bermakna pada hari ke -21, pada kelompok perlakuan dengan *cocoa powder* yaitu 1 %, 2 %, dan 3 %. Penurunan kadar glukosa darah setelah perlakuan dengan *cocoa powder* ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tomaru M, et al yang melaporkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah setelah perlakuan dengan *cocoa powder* dalam bentuk sediaan cair (Tomaru M, et al 2007), hal ini diduga karena kandungan antioksidan yang tinggi pada *cocoa powder* yang bisa memproteksi kerusakan lebih lanjut dari beta pankreas akibat induksi aloksan seperti yang dikemukakan oleh Dhande et al, dimana mekanisme kerja flavonoid dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan cara menghambat (menghambat) enzim aldose reduktase yang efeknya dapat menurunkan kadar glukosa darah.

(Swati et al, 2015). Sedangkan kelompok kontrol negatif tidak mengalami peningkatan kadar glukosa darah karena tidak diinduksi aloksan, dan mengalami sedikit peningkatan di hari ke 14 dan mengalami sedikit penurunan dihari ke 21. Sedangkan kelompok kontrol positif mengalami peningkatan kadar glukosa pada hari ke -14 dan ke - 21. Pada kontrolpositif pada grafik terlihat bahwa setelah hari ke - 7 sampai hari ke-21 kadar glukosa darah terus meningkat hal ini dimungkinkan karena terjadinya kerusakan organ pada sel pankreas karena induksi insulin, dan sel beta pankreas tidak terlindungi oleh zat antioksidan yang terdapat pada *cocoa powder*. Dari data yang terkumpul selama percobaan data dianalisis secara statistik pertama tama dengan melakukan uji normalitas dengan metode *Kolmogorov – Smirnov*, apabila data terdistribusi normal dilakukan uji parametrik *One Way Anova* untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan. Apabila pada uji *One Way Anova* terlihat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk melihat konsentrai *cocoa powder* pada minuman coklat yang paling efektif untuk menurunkan glukosa darah. Dalam penelitian ini dilakukan juga uji untuk melihat apakah ada perbedaan yang bermakna penurunan kadar

	Nilai p
Kontrol Negatif	0.905
Kontrol Positif	0.861
<i>Cocoa Powder</i> 1 %	0.875
<i>Cocoa Powder</i> 2 %	0.568
<i>Cocoa Powder</i> 3 %	0.954

glukosa darah sebelum dan sesudah perlakuan yaitu uji *Paired T Test*.

1.1 Hasil Uji Statistik

	Nilai p
Kontrol Negatif	0.924
Kontrol Positif	0.994
<i>Cocoa Powder</i> 1 %	0.958
<i>Cocoa Powder</i> 2 %	0.777
<i>Cocoa Powder</i> 3 %	0.988

1.1.2 Uji Normalitas Data dengan Metode *Kolmogorov – Smirnov*

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas *Kolmogorov-Smirnov* Glukosa Darah Awal

Untuk kadar glukosa darah awal, dari tabel di atas pada semua kelompok menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal sehingga bisa dilakukan uji parametrik anova, karena salah satu syarat untuk

Kelompok	Nilai p
Kontrol Negatif	0.865
Kontrol Positif	0.945
<i>Cocoa Powder</i> 1 %	0.334
<i>Cocoa Powder</i> 2 %	0.999
<i>Cocoa Powder</i> 3 %	0.622

melakukan uji anova adalah nilai p yang lebih $> 0,005$.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas *Kolmogorov-Smirnov* Glukosa darah Setelah Induksi Aloksan

Untuk kadar glukosa darah setelah induksi aloksan, dari tabel di atas pada semua kelompok menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal sehingga bisa dilakukan uji parametrik anova test.

Tabel 4. Hasil Uji Normalitas *Kolmogorov-Smirnov* Glukosa Arah Setelah Perlakuan 2 Minggu Dengan Minuman Coklat *Cocoa Powder* 1 – 3 %.

Untuk kadar glukosa darah setelah perlakuan, dari tabel 4 atas pada semua kelompok menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal sehingga bisa dilakukan uji parametrik anova.

1.1.3 Uji *One Way* ANOVA

Karena data terdistribusi dengan normal maka dilakukan uji parametrik yaitu uji Anova, uji Anova dilakukan untuk mengetahui perbedaan antara kelompok pemberian minuman cokelat dengan konsentari 1 %, 2 % dan 3 % dengan kontrol positif dan negatif. Uji Anova ini digunakan untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, jika nilai $p < 0,05$ maka data tersebut bermakna secara statistik dan bisa dilanjutkan dengan test *Post Hoc Tukey*. Hasil uji Anova dapat terlihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji *One Way* Anova

Kelompok	Nilai p
Glukosa darah awal	0.004
Glukosa darah induksi aloksan	0.000
Glukosa darah 2 minggu dengan <i>cocoa powder</i>	0.000

Keterangan : Nilai $p < 0,05$: adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan

Dari data pada tabel di atas dapat dilihat bahwa nilai p yang diperoleh adalah 0,000 ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa penurunan data didalam kelompok dan antar kelompok bermakna secara statistik dan bisa dilakukan uji *post hoc tukey* untuk melihat kelompok mana yang paling efisien untuk menurunkan kadar glukosa darah. Seluruh kelompok perlakuan dengan minuman coklat *cocoa powder* 1%, 2% dan 3 %

dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang telah diinduksi aloksan.

1.1.4 *Post Hoc Test Tukey*

Karena nilai uji anova yang bermakna yaitu nilai $p < 0,05$ maka kita dapat melakukan uji perbandingan diantara ketiga kelompok perlakuan dengan minuman coklat *cocoa powder* konsentrasi 1 – 3 % dengan menggunakan uji Tukey untuk melihat kelompok mana yang paling bermakna dalam menurunkan kadar glukosa darah dan juga untuk melihat konsentrasi *cocoa powder* mana pada minuman coklat yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah. Uji ini dilakukan dengan melihat perbedaan nilai p antara semua kelompok perlakuan dan kontrol negatif dengan kontrol positif untuk melihat konsentrasi *cocoa powder* yang paling efektif menurunkan kadar glukosa darah.

Hasil uji tersebut dapat kita lihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 6. Hasil Uji *Post Hoc Tukey* Perbandingan Nilai P Kelompok Perlakuan dengan Kontrol Positif

Kelompok	Nilai p
Kontrol negatif	0.000
<i>Cocoa powder</i> 1 %	0.000
<i>Cocoa powder</i> 2 %	0.000
<i>Cocoa powder</i> 3 %	0.000

Pada data tabel di atas dapat dilihat bahwa nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa ada penurunan data yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kontrol positif, dari tabel dapat dilihat bahwa kadar *cocoa powder* 1 % merupakan konsentrasi yang paling efisien yang dapat menurunkan glukosa darah mengingat konsentrasi 1 %

merupakan jumlah yang terkecil di antara ketiga kelompok perlakuan.

Untuk melihat kelompok mana yang paling bermakna yang dapat menurunkan kadar glukosa darah maka dilanjutkan dengan

No	Golongan Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	(-) Negatif
2	Senyawa Polifenolat	(+) Positif
3	Tanin	(-) Negatif
4	Flavonoid	(+) Positif
5	Monoterpenoid dan Sesquiterpenoid	(+) Positif
6	Steroid dan Triterpenoid	(-) Negatif
7	Senyawa Quinon	(-) Negatif

Perbandingan Kelompok	Antara Nilai P
Kadar Glukosa Awal – Glukosa Setelah Induksi	– 0.000
Glukosa Setelah Induksi – Glukosa Setelah 2 Minggu	– 0.000

menggunakan uji *Post Hoc* Tukey. Hasil dari uji *Post Hoc* Tukey dikatakan bermakna apabila diperoleh nilai signifikansi nya $p < 0,05$.

1.1.5 Paired T Test (Uji T Berpasangan)

Tabel 7. Perbandingan Kadar Glukosa Darah Antara Kelompok Awal – Setelah Induksi – Setelah Perlakuan

Dari data tabel di atas dapat dilihat bahwa ada perbedaan yang bermakna antara hasil pengukuran glukosa darah awal puasa dan kadar glukosa darah setelah induksi dengan nilai $p < 0,05$. Dari data diatas juga dapat dilihat bahwa pada perbandingan kelompok glukosa darah setelah induksi dan setelah perlakuan selama dua minggu

memiliki nilai $p < 0,05$ sehingga menunjukkan angka yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa kadar glukosa darah setelah dua minggu perlakuan dengan minuman coklat dengan *cocoa powder* konsentrasi 1 %, 2 %, dan 3 % secara bermakna dapat menurunkan kadar glukosa darah yang meningkat akibat induksi aloksan,

1.2 Hasil Uji Fitokimia Cocoa Powder

Penapisan fitokimia untuk mengetahui senyawa golongan apa saja yang terdapat didalam simplisia tersebut. fitokimia :

Tabel 8. Hasil Uji Fitokimia Cocoa Powder

2. Pembahasan

2.1 Mekanisme menurunnya kadar glukosa darah setelah pemberian minuman coklat dengan *cocoa powder* 1 %, 2 % dan 3 %.

Hasil penelitian ini menunjukan bahwa *cocoa powder* dengan kandungan flavanoidnya dapat berperan sebagai pangan fungsional untuk pencegahan penyakit gangguan metabolisme glukosa. Sejumlah studi menunjukkan bahwa cara kerja flavonoid dalam mencegah penyakit diabetes mellitus adalah dengan cara : (a) meregulasi penyerapan karbohidrat pada saluran pencernaan; (b) melindungi sel beta pankreas dari radikal bebas dan meningkatkan sekresi insulin; (c) meningkatkan sensitifitas insulin pada jaringan tepi seperti liver, jaringan adiposa, dengan cara meregulasi transporter glukosa; (d) mencegah kerusakan akibat stress oksidatif. (Ramos S, et al 2017).

2.2 Pengaruh Flavonoid Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah

Salah satu mekanisme yang diduga menyebabkan penurunan kadar glukosa pada hewan percobaan adalah dalam sebuah penelitian yang menyatakan bahwa prosianidin memiliki aktifitas anti karsinogen dengan cara menghambat kerusakan rantai DNA karena aktifitas antioksidatifnya dan juga karena penghambatan aktifitas COX-2 dan DNA topoisomerase. Prosianidin juga memodulasi pembentukan NO pada sel melalui makrofag, yang memiliki karakter untuk menginduksi nitrit oksida sintetase (iNOS) sehingga mempengaruhi enzim ribonuklease reduktase, sebuah enzim yang merubah ribonukleotida menjadi deoxyribonukleotida yang dibutuhkan untuk mensintesis DNA (Romanczyk, et al, 1997).

2.3 Pengaruh Sukrosa dan Susu Skim pada Minuman Coklat Terhadap Bioavailabilitas Flavonoid

Keberadaan sukrosa pada secara umum meningkatkan bioavailabilitas dari polifenol, Sedangkan protein dapan menurunkan bioavailabilitas polifenol. Pada sebuah penelitian oleh Schramm et al melaporkan terjadinya peningkatan ambilan dari flavonoid pada pangan segera setelah mengkonsumsi pangan kaya karbohidrat.

2.4 Pengaruh Pemberian Minuman Coklat dengan Beragam Konsentrasi Cocoa Powder Terhadap Kadar Glukosa Darah Hewan Coba

Perlakuan terhadap hewan coba dilakukan selama 14 hari, hasil kadar glukosa darah setelah perlakuan yang didapatkan akan dibandingkan dengan kadar glukosa darah sebelum

perlakuan atau *post* induksi aloksan, dan didapatkan hasil adanya penurunan antara sebelum dan setelah pemberian *cocoa powder*. Dari hasil tabel di bawah terdapat penurunan kadar glukosa darah tikus yang telah diinduksi aloksan pada seluruh kelompok kecuali pada kelompok kontrol positif. Penurunan kadar glukosa darah setelah pemberian minuman coklat dengan beragam konsentrasi *cocoa powder* terjadi karena flavonoid yang memiliki efek hipoglikemik dengan berbagai mekanisme, yaitu sebagai sekretagog insulin yaitu merangsang pengeluaran insulin dan dapat bertindak seperti insulin, meminimalisir penyerapan dan asupan glukosa di usus halus, meningkatkan pengambilan glukosa dari jaringan perifer, serta mengatur kerja enzim-enzim yang bekerja dalam metabolisme karbohidrat.

2.5 Pengaruh Proses Pembuatan Minuman Cokelat Terhadap Penurunan Kadar Glukosa

Sejumlah penelitian menunjukkan fakta bahwa meskipun telah melalui beberapa tahap proses dalam pembuatan produk kakao, sejumlah antioksidan berupa polifenol dan flavonoid tetap dapat dipertahankan pada hasil akhir produk pangan. (Hii, et al, 2009), salah satu contoh adalah suatu penelitian oleh Tamrin (2012) dimana dinyatakan bahwa aktifitas antioksidan yang tinggi dari bubuk coklat meskipun telah melalui sebuah proses produksi yaitu penyangraian dengan suhu 100 °C.

D. KESIMPULAN

Kesimpulan :

1. Konsentrasi *cocoa powder* 1%, 2% dan 3% pada minuman coklat

dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih yang telah diinduksi aloksan dan berpotensi untuk menjadi pangan fungsional dan berpotensi untuk menjaga kadar glukosa darah pada penderita penyakit DM.

2. Konsentrasi *cocoa powder* 1 % pada minuman coklat adalah konsentrasi yang paling efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah tikus putih yang diinduksi aloksan. Mengingat konsentrasi tersebut adalah konsentrasi terkecil pada minuman coklat yang mampu menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna.

Saran :

1. Perlu dilakukan penelitian konsentrasi *cocoa powder* pada minuman coklat yang lebih kecil dari 1 % yang dapat berpotensi menurunkan kadar glukosa darah.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan jenis flavonoid yang spesifik pada *cocoa powder* yang memiliki efek penurunan kadar glukosa darah.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji toksisitas yang dapat ditimbulkan oleh *cocoa powder*.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Ackar, D. Landic, K. V. Valek, M. Subaric, D. Milicevic, B. Babic, J. Nedic, H. 2013. *Cocoa Polyphenols: Can We Consider Cocoa And Chocolate As Potential Functional Food. Journal Of Chemistry.* 13 : 289-296.
- Azrimaidaliza. 2011. Asupan Zat Gizi dan Penyakit *Diabetes Mellitus*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat.* 6 (1) : 36-41.
- Cook, L, R. 2018. *Theobroma Cacao L.* Diakses melalui <<https://www.britannica.com/plant/cacao>> . [1/4/18].
- Erniati, Zakaria, F. R. Priosoeryanto, B. P. 2012. Efek Konsumsi Minuman Bubuk Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Bebas Lemak Terhadap Sifat Antioksidatif Subjek Perempuan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 23(1) : 81-85.
- Frankilawati, D. A. M. 2013. Hubungan Antara Pola Makan, Genetik Dan Kebiasaan Olahraga Terhadap Kejadian Diabetes Melitus Tipe II di Wilayah Kerja Puskesmas Nusukan, Surakarta. Diakses Melalui <eprints.ums.ac.id/28856/15/NASKAH_PUBLIKASI.pdf> . [17 / 3 / 17].
- Gabrielle. 2018. *Navitas Naturals Cacao Powder Review.* Diakses melalui <<http://www.eatdrinkshrink.com/product-reviews/navitas-naturals-cacao-powder>> [1/4/18].
- Grassi, D., S. Lippi, S. Nicoziona, C. Lippi, G. Croce, L. Valeri, P. Pasqualetti, J.B. Blumberg and C. Ferri. 2004. *Cocoa Induces Blood Pressure and Insulin Resistance and Improves Endothelium Dependent Vasodilation in Hypertensives. Hypertension Journal.* 46 : 398-405.
- Haerani, N. A. 2012. Studi Pengaruh Pencelupan Biji Kakao (*Theobroma Cacao L*) Basah Dalam Air Kapur Secara Berkala Selama Fermentasi. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Hifzil, N. Z. S. 2015. Efek Ekstrak Etanol Kulit Semangka (*Annona Muricata . L*) Terhadap Kadar

- Glukosa Darah Tikus Jantan Galur Winstar Yang Diinduksi Aloksan. Skripsi. Universitas Jenderal Achmad Yani. Cimahi
- Hii, C. L. Law, C. L. Suzannah, S. Misnawi. Cloke, M. 2009. *Polyphenols In Cocoa (Theobroma Cacao L.)*. *Asian Journal Of Food And Agro-Industry*. 2 (4) : 702-722.
- Jalil, A. M. B. M. 2009. *Effect of Polyphenol from Cocoa Powder on Diabetic Syndrome in Obese Diabetic Rat*. Thesis. Universiti of Putra Malaysia. Thesis. Diakses melalui <<http://psasir.upm.edu.my>> [17/10/17].
- Junaidi. 2013. Pengaruh Media Tanam Dan Konsentrasi Pupuk Cair D.I. Grow Terhadap Pertumbuhan Bibit Kakao (*Theobroma Cacao L.*). Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Teuku Umar Meulaboh. Aceh.
- Kakao (*Theobroma cacao*). Diakses Melalui <iccri.net/kakao-theobroma-cacao> [17/3/17].
- Kayaputri, I.L. Sumanti, D.M. Djali, M. Indiarjo, R. Dewi, D.L. 2014. Kajian Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*). *Chimica et Natura Acta*. 2 (1) : 83-90.
- Keogh, J. B. McInerney, J. Clifton, P. M. 2007. *The Effect of Milk Protein on the Bioavailability of Cocoa Polyphenols*. *Journal Of Food Science*. 72 (3) : S230-S233.
- Latif, R. 2013. *Chocolate/ Cocoa and Human Health : A Review*. *The Journal of Medicine* 71(2) : 63-68.
- Miller, K.B. Stuart, D.A. Smith, N.L. Lee, C.Y. Mc Hale, N.L. Flanagan, J.A. Ou, B. Hurst, W.J. 2006. *Antioxidant Activity and Polyphenols and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa Containing And Chocolate Product in The United States*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(11) : 4062-4068.
- Muchtadi, D^a. 2012. Klorofil, Flavonoid dan Karotenoid. Dalam Muchtadi, D. *Pangan Fungsional dan Senyawa Bioaktif*. Hlm 72-90. Alfabeta. Bandung.
- Muchtadi, D^b. 2012. *Pangan Fungsional dan Senyawa Bioaktif*. Hlm 1. Alfabeta. Bandung.
- Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta: EGC; 2009. hal 158-74.
- Nawaekasari, M. 2012. *Efek Senyawa Polifenol Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Lactobacillus Acidophilus*. Skripsi. Universitas Jember. Jember
- Olasope, T.M. Fadupin, G. T. Olubamiwa, O. O. Jayeola, C. O. 2016. *Glucose-lowering Potential of Cocoa Powder Intake - An Avenue for Positive Management of Diabetes Mellitus*. *British Journal of Medicine & Medical Research*. 16 (2) : 1-7.
- Olooto, W. E. Ogundagunsi, O.A. Banjo, T.A. Salau, B.A. Amballi, A.A. Anjani, E. O. Onakomaya, O.A. 2014. *Hypoglycemic and Modifying Effect of Aqueous Cocoa Powder Extract on Diabetic - Induced Histologic Changes in the Pancreas of Alloxan Diabetic Rats*. *Annals of Biological Sciences. Ogun State, Nigeria*. 2 (1) : 10 - 18.

- Othman, A. Ismail, A. Abdul, G.N.Adenan, I.2007. *Antioxidant Capacity And Phenolic Content Of Cocoa Beans. Food Chemistry*. 100(4) : 1523-1530.
- Priyatno. D. 2012. Belajar Praktis Analisis parametrik dan non parametrik dengan spss & prediksi pertanyaan pendadaran skripsi dan tesis. Gava Media. Yogyakarta.
- Ramos, S. Martin, M. A. Goya, L. 2017. *Effects of Cocoa Antioxidants in Type 2 Diabetes Mellitus*. MDPI.6 : 84
- Rein, D, Paglieroni, T. G. Wun,T.Pearson, D. A. Schmitz, H. H. Gosselin, R. Keen, C. L.2000.*Cocoa Inhibits Platelet Activation and Function*. Am J Clin Nutr.72:30–35.
- Robbins, S.L.Kumar, V. M. 1995. Buku Ajar Patologi I. Terjemahan Oswari J. Jakarta : ECG.
- Romanczyk, L. J. Hammerstone, J.F. Buck, M.M. Post. L. S. Cipolla, G. G. Micceland, CA, Mundt, J. A. Schmitz, H. H.1997. *Cocoa Extract Compounds and Methods For Makingand Using The Same Patent Cooperation Treaty (PCT) WO 97/36497*. Mars Incorporated. USA.
- Roura, E. Andr'es-Lacueva, C. Estruch, R. 2008. *Milk Does Not Affect the Bioavailability of Cocoa Powder Flavonoid in Healthy Human*. *Annals Of Nutrition And Metabolism*. 51 (6) : 493 – 498.
- Ruzaidi.A, Maleyki, A. Amin, I. Nawalyah, A. G.Muhajir, H. Pauliena, M. B. S. M.J. Muskinah, M. S. 2008. *Hypoglycaemic Properties Of Malaysian Cocoa (Theobroma Cacao) Polyphenols-Rich Extract*. *International Food Research Journal*.15(3): 1-8.
- Schramm, D. D. Karim, M. Schrader, H. R. 2003. *Food Effects on the Absorption and Pharmacokinetics of Cocoa Flavanols*. *Life Sciences*. 73 (7) : 857–869.
- Serafini, M. Bugianesi ,R. Maiani, G. Valtuena, S. de Santis, S. Crozier, A.2003. *PlasmaAntioxidants from Chocolate*. *Nature*. 424 (6952) : 1013,.
- Suarsana, I. N. Priosoeryanto, B. P. Bintang, M. Wresdiyati, T.2010. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan.JITV. 15(2): 118-123.
- Susan, O.Rita,R. K.Andrian,D. 2014.*Modern Nutrition 11th Edition, Editor A. Catherine Ross Et Al*.Philadelphia:Lippincott Willian & Wilkin.
- Swati, R. D. Lokegaonkar, D. V.Kadam, V. J. 2015. *Dark Chocolate- A Tempting Drug*. *European Journal of Pharmacheutical and Medical Research*.2(4) : 550-563.
- Saifunurmazah, D. 2013.Kepatuhan Penderita Diabetes Mellitus Dalam Menjalani Terapi Olahraga dan Diet (Studi Kasus pada Penderita DM Tipe 2 Di RSUD Dr.Soeselo Slawi).Skripsi. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Strat, K,M. Rowley, T,J. Smitshson, A, T. Tessem, J, S. Hulver, M, W. Liu, D. Davy, B, M. Davy, K, P. Neilson, A, P.2015. *Mechanism by Which Cocoa Flavanols Improve Metabolic Syndrome and Related Disorders*. *Journal Of Nutritional Biovhemistry*. Vol 35 : hal. 1-21.
- Stryer,L ; alihbahasa M. Sadikin dkk. Glikolisis. Dalam: Biokimia. Jakarta : EGC, 2000 : 505 – 79.

- Tamrin. 2012. Evaluasi Alkaktifitas Antioksidan Bubuk Kakao Pada Sistem Penyangaian Vakum. Seminar : Membangun Sinergi Riset Nasional Untuk Kemandirian Teknologi. Bandung.
- Tien R, Muchtadi. Sugiono. 1992. Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan. Petunjuk laboratorium. Bogor. IPB.
- Tomaru, M, Takano, H. Osakabe, N. Yasuda, A. Inoue, K. Yanahisawa, R. Ohwatari, T. Uematsu, H. 2007. *Dietary Supplementation with Cocoa Powder Liquor Proanthocyanidins Prevents Elevation of Blood Glucose Levels in Diabetic Obese Mice. Cocoa & Chocolates Research Briefs Analytical, Behavioral, Health&Nutrition Research.* Tokyo. 23(4) : 351 – 355.
- Tomas, B, F. Cienfuegos, J, E. Marin, A, M, B. Mugerza, B. Gillizquierdo, A. Cerda, B, Z, P. Morrilas, J. Mulero, J. Ibarra, A. Pasamar, M. Ramon, D. Espin, J. 2007. *A New Procces to Develop a Cocoa Powder with Higher Flavonoid Monomer Content and Enhanced Bioavaolibility in Healthy Human.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Volume (55) : halaman : 3926 – 3935.
- Towaha, J.2014. Kandungan Senyawa Polifenol Pada Biji Kakao dan Kontribusinya Terhadap Kesehatan. *Sirinov.* 2 (1) : 1 –16.
- Wahyono, H. Fitriani, L. Widyaningsih, T,D. 2015. Potensi Cincau Hitam Sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* Vol. 3 (3) Hal : 957-961.
- Wijayanti, D. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata .L*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Winstar Yang Diinduksi Aloksan Dibandingkan Dengan Glibenklamid. Skripsi. Universitas Jenderal Achmad Yani. Cimahi.
- Wollgast, J.2004. *The Contents and Effects of Polyphenols in Chocolate. (Disertation for Obtaining the Degree of Doctor of The Faculty of Agricultural and Nutritional Sciences).* *Disertation.* Home Economics and Environmental Management at the University of Gieben. Gieben.
- Wollgast, J. Anklam, E.2000. *Review of Polyhenols in Theobroma Cacao: Changes in Composition During the Manufacture of Chocolate and Methodology for Identification and Quantification.* *Food Research International.* 33 : 423-447.
- Wresdiyati, T. Astawan, M. Kesenja, R. Lestari, P. A. 2008. Pengaruh Pemberian Tepung Buah Pare (*Momordica Charantia L.*) Pada Sel B dan SOD Pankreas Tikus *Diabetes Mellitus.* *Jurnal Bahan Alam Indonesia.* 6 (5):193-200.
- Zakaria, F. R. Nurrahman. Prangdimurti. E. Tejasari. 2003. *Antioxidant and Immunoenhancement Activities of Ginger (Zingiberoficinale Roscoe) Extract Compound In Vitro and In Vivo Mouse And Human System.* *Nutraceutical And Food.* 8 : 96-104.