Potensi Penggunaan Metode *In Vitro* dalam Memperkirakan Peningkatan Indeks Glikemik *In Vivo* pada Beberapa Varietas Beras yang Dimasak

Aprinia Dian Nurhayati^{1*}, Rimbawan Rimbawan¹, Faisal Anwar¹, Adi Winarto²

¹ Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia (FEMA), Institut Pertanian Bogor

² Departemen Anatomi Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

*Alamat korespondensi: Email: aprinia.dn@gmail.com, Tlp : +6283834398117

Diterima: Mei 2019

Direview: Mei 2019

Dimuat: Desember 2019

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah menguji metode *in vitro* yang paling potensial digunakan dalam skrining indeks glikemik (IG) pada nasi yang menurut literatur memiliki IG berbeda (rendah, sedang dan tinggi). Metode Englyst *et al.* (2003) dan Argyri *et al.* (2016) menjadi metode *in vitro* terpilih yang diuji validitasnya untuk mengetahui kemampuan keduanya dalam menggolongkan pangan sesuai hasil pengujian IG *in vivo*. Sebanyak enam varietas beras dimasak menggunakan *rice cooker* kemudian nasi diuji kadar proksimat (protein, lemak, air, abu, karbohidrat), serat pangan total, amilosa, amilopektin dan pati. Sebanyak 20 orang yang memenuhi kriteria inklusi dibagi dalam dua kelompok sebanding untuk diukur kadar gula darah 2 jam setelah mengonsumsi makanan. Nasi hitam Cirebon, Cisokan dan Inpara 5 memiliki IG sedang, sedangkan nasi Inpari 24, Sintanur dan ketan Grendel tergolong IG tinggi. Kadar glukosa nasi pada metode Englyst *et al.* (2003) menit ke-20 dan Argyri *et al.* (2016) menit ke-120 apabila dibuat pemeringkatan terendah hingga tertinggi menunjukkan urutan peringkat yang sesuai dengan urutan nilai IG *in vivo*. Kesimpulan penelitian ini adalah metode Argyri *et al.* (2016) menunjukkan hasil yang lebih mendekati nilai IG *in vivo* dan prosedur pengukuran yang dilakukan lebih mirip dengan proses pencernaan pada tubuh manusia, sehingga metode ini lebih direkomendasikan dalam memperkirakan pengkategorian IG *in vivo* pada sampel berupa nasi ($r^2=0,461$, $p<0,01$).

Kata kunci: indeks glikemik, *in vitro*, nasi

Abstract

The aim of this study was to test the most potential *in vitro* methods to used in screening the glycemic index (GI) of rice which according to the literature had different GI category (low, medium, high). Englyst *et al.* (2003) and Argyri *et al.* (2016) became the selected *in vitro* method that tested their validity by determine their ability to classify food according to the results of *in vivo* GI. Six rice varieties were cooked using a rice cooker then tested for proximate analysis (protein, fat, water, ash, carbohydrate), total dietary fiber, amylose, amylopectin and starch. A total of 20 subjects who met the inclusion criteria were divided into two comparable groups to measure their blood glucose levels for 2 hours after consuming test food. Cirebon black rice, Cisokan and Inpara 5 have moderate GI, while Inpari 24, Sintanur and Grendel glutinous rice were classified as high GI. Glucose levels of rice as measured by Englyst *et al.* (2003) at 20th minute and Argyri *et al.* (2016) at 120th minute has a comparable rank with *in vivo* GI. The conclusion of this study is

method by Argyri *et al.* (2016) showed results that were closer to the *in vivo* GI and the measurement procedure was more similar to the digestive process in the human body, thus its became more recommended method to estimating the categorization of *in vivo* GI in rice samples ($r^2=0,461$, $p<0,01$).

Keywords: glycemic index, *in vitro*, rice

PENDAHULUAN

Indeks glikemik (IG) menunjukkan respon kenaikan kadar glukosa darah setelah mengonsumsi makanan uji yang mengandung sejumlah karbohidrat tersedia (*available carbohydrate*) dibandingkan dengan respon glikemik terhadap konsumsi karbohidrat acuan (larutan glukosa murni atau roti putih) [1,2]. Pemilihan makanan berdasarkan nilai indeks glikemik yang tepat dapat membantu seseorang mencapai tujuan dietnya. Seseorang yang memiliki tujuan diet untuk menurunkan risiko menderita penyakit seperti diabetes, kanker, obesitas dan penyakit jantung sebaiknya mengonsumsi makanan berindeks glikemik rendah [3]. Sementara makanan berindeks glikemik tinggi sebaiknya dikonsumsi oleh seseorang yang ingin mengganti kehilangan glikogen secara cepat [4]. Hal ini menunjukkan pentingnya indeks glikemik menjadi salah satu kriteria dalam pemilihan makanan yang tepat sesuai tujuan diet, sekaligus faktor yang perlu diperhatikan dalam formulasi produk pangan baru.

Indeks glikemik umumnya diketahui melalui pengujian metode *in vivo* yang membandingkan respon glikemik subjek (manusia) setelah mengonsumsi 50 gram (atau pada beberapa kondisi diberikan 25 gram) *available carbohydrate* [1,2]. Metode ini memiliki beberapa kelemahan diantaranya membutuhkan banyak tenaga sukarelawan sebagai subjek, membutuhkan kerjasama dan motivasi dari sukarelawan yang bersedia mengikuti penelitian dibawah persetujuan komite etik, membutuhkan

tenaga medis dalam pengambilan sampel darah, biaya yang relatif mahal, inefisiensi waktu terutama jika menguji beberapa makanan atau jika penelitian dilakukan pada laboratorium yang tidak diatur untuk penelitian klinis [5,6]. Beberapa penelitian menyarankan penggunaan metode *in vitro* untuk meniru pencernaan karbohidrat dalam gastrointestinal sehingga dianggap dapat memprediksi respon glikemik darah *in vivo* [7-13]. Kelebihan metode *in vitro* yang sederhana, cepat dan membutuhkan biaya yang relatif sedikit ini dapat dimanfaatkan pada skrining indeks glikemik [14].

Berbagai metode *in vitro* dalam memprediksi indeks glikemik telah banyak dikembangkan. Penelitian ini memilih menguji validasi metode Englyst *et al.* (2003). Metode tersebut dipilih karena telah banyak dirujuk oleh beberapa penelitian lain [15-22]. Sementara itu, Argyri *et al.* (2016) menyatakan metode uji yang digunakan dalam penelitiannya lebih sederhana, cepat, dan murah dibanding metode *in vitro* yang telah ada sebelumnya [13].

Beberapa penelitian yang menggali hubungan antara metode *in vitro* dan *in vivo* memiliki keterbatasan penelitian berupa penggunaan data kandungan zat gizi dan nilai indeks glikemik *in vivo* dari data yang telah terpublikasi sebelumnya sehingga berpeluang menimbulkan bias [5,13,23]. Hal ini mendasari pentingnya dilakukan pengujian kandungan zat gizi serta indeks glikemik *in vivo* dan *in vitro* secara langsung pada sampel makanan yang sama dalam satu penelitian. Sampel makanan yang digunakan pada pengujian indeks glikemik merupakan

pangan sumber karbohidrat dengan lebih dari 80% energi pangan berasal dari karbohidrat [1]. Sumber karbohidrat yang dikonsumsi oleh lebih dari setengah penduduk dunia sekaligus menjadi makanan pokok yang banyak dikonsumsi di Indonesia adalah nasi [24,25]. Penelitian indeks glikemik menggunakan sampel nasi dilakukan karena nasi sebagai makanan pokok bagi lebih dari setengah penduduk dunia, terutama orang Asia dan Indonesia, pada umumnya memiliki indeks glikemik tinggi (73 ± 4) yang dikaitkan dengan munculnya kasus diabetes mellitus ($RR=1,11$, $p<0,001$) [24-27]. Padahal Kaur *et al.* (2016) menyebutkan tidak semua jenis nasi berindeks glikemik tinggi dan indeks glikemik antara satu jenis nasi dengan nasi lainnya dapat bervariasi tergantung varietasnya [28]. Kondisi tersebut sesuai dengan tujuan penelitian ini yang membutuhkan pangan dengan kategori indeks glikemik berbeda untuk menguji kemampuan metode *in vitro* dalam menggolongkan pangan sesuai kategori indeks glikemik *in vivo*.

Berdasarkan uraian di atas dapat disimpulkan bahwa diperlukan adanya penelitian untuk mengetahui validitas metode *in vitro* Englyst *et al.* (2003) dan Argyri *et al.* (2016) dalam memperkirakan indeks glikemik *in vivo* secara tepat sesuai kategori indeks glikemik masing-masing sampel uji. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji validitas metode *in vitro* Englyst *et al.* (2003) dan Argyri *et al.* (2016) terhadap metode *in vivo* dengan menggunakan nasi dari beras yang memiliki kategori indeks glikemik berbeda (rendah, sedang dan tinggi).

METODE PENELITIAN

Rancangan/Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan

rancangan acak lengkap (RAL). Variabel bebas (*independent*) adalah jenis makanan uji (nasi), sedangkan variabel terikat (*dependent*) adalah nilai indeks glikemik *in vivo* dan *in vitro*.

Sebanyak 24 orang yang terdiri dari 20 orang subjek minimal ditambah DO 20% (sebanyak 4 orang) dibagi dalam dua kelompok sebanding untuk terlibat dalam penelitian ini. Pembagian kelompok responden A dan B bertujuan untuk mengurangi risiko pengunduran diri responden ditengah penelitian disebabkan banyaknya frekuensi pengujian indeks glikemik dan pengambilan sampel darah yang dilakukan. Masing-masing kelompok terdiri atas 12 orang responden yang memiliki karakteristik sama diberi nasi yang memiliki indeks glikemik rendah, sedang dan tinggi. Sebanyak 4 orang responden keluar dari penelitian sehingga terdapat total 20 orang yang mengikuti penelitian hingga akhir. Subjek dipilih menggunakan *purposive sampling* berdasarkan kriteria inklusi. Kedua kelompok diberi enam varietas beras yang memiliki kategori indeks glikemik berbeda menurut literatur yaitu beras berindeks glikemik rendah (beras hitam lokal Cirebon dan beras putih varietas Cisokan), sedang (beras putih varietas Inpara 5 dan beras merah varietas Inpari 24) dan tinggi (beras putih varietas Sintanur dan beras ketan varietas Grendel). Kelompok A mendapatkan nasi Cisokan, Inpari 24 dan Sintanur, sedangkan kelompok B mendapatkan nasi hitam varietas lokal Cirebon, Inpara 5 dan Ketan Grendel. Beras didapatkan dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB Padi) Subang, Jawa Barat. Analisis estimasi indeks glikemik metode *in vitro* dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan pada masing-masing sampel untuk mengetahui presisi metode *in vitro* [29]. Sampel diambil

secara acak menggunakan *simple random sampling*.

Sumber Data

Data primer yang digunakan berupa 1) kadar proksimat (lemak, protein, air, abu, dan karbohidrat total *by difference*) yang merujuk pada SNI 01-2891-1992, 2) kadar total serat pangan metode enzimatis AOAC 991.43, 3) Kadar pati berdasarkan metode titrimetri, 4) kadar amilosa didapat dari pengujian menggunakan metode spektrofotometri dan amilopektin *by difference*, 5) nilai indeks glikemik *in vivo* sesuai metode FAO/WHO (1998) yang disesuaikan dengan Brouns *et al.* (2005) dan ISO 26642:2010 [1,2,30], 6) estimasi nilai indeks glikemik *in vitro* dengan metode Englyst *et al.* (2003) dan Argyri *et al.* (2016). Data sekunder mengenai nilai indeks glikemik nasi yang dijadikan dasar pemilihan varietas beras didapat dari jurnal penelitian.

Subjek Penelitian

Subjek yang terlibat dalam pengukuran indeks glikemik memenuhi kriteria inklusi berupa laki-laki maupun perempuan berusia 18-30 tahun dengan indeks massa tubuh (IMT) normal ($18,5-22,9 \text{ kg/m}^2$), kadar gula darah puasa (GDP) normal, tidak memiliki riwayat diabetes mellitus, tidak alergi terhadap makanan uji, tidak mengalami gangguan pencernaan, tidak mengkonsumsi obat-obatan yang mempengaruhi kadar glukosa darah, tidak mengkonsumsi alkohol, tidak merokok, bersedia mengikuti penelitian hingga selesai dan menandatangani *informed consent*.

Pengembangan Instrumen dan Teknik Pengumpulan Data

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2018 hingga Januari 2019.

Pengujian indeks glikemik *in vivo* dengan subjek manusia dilakukan di Laboratorium Dietetik, Jurusan Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang. Persetujuan etik didapat dari Komisi Etik Penelitian yang Melibatkan Subjek Manusia Institut Pertanian Bogor dengan nomor: 075/IT3.KEPMSM-IPB/SK//2018.

Pengujian kadar proksimat nasi (protein, lemak, air, abu, karbohidrat), amilosa, amilopektin dan pati dilakukan di Laboratorium Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan (ITP), Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Pengujian total serat pangan nasi dilakukan di Laboratorium Saraswanti Indo Genetech (SIG) Bogor. Pengujian indeks glikemik *in vitro* metode Englyst *et al.* (2003) dan Argyri *et al.* (2016) dilakukan di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Alur Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan secara berurutan yaitu: (1) tahap pemasakan beras menjadi nasi, (2) tahap analisis zat gizi nasi yang meliputi uji proksimat nasi (karbohidrat, protein, lemak, air, abu), kandungan serat pangan, pati, amilosa-amilopektin, (3) tahap perekrutan dan pemilihan subjek (manusia), (4) tahap pengujian indeks glikemik *in vivo*, (5) tahap pengujian metode *in vitro* yang terdiri dari pengujian metode Englyst *et al.* (2003) dan Argyri *et al.* (2016), (6) analisis data dan pembahasan hasil.

Prosedur Pemasakan Beras

Beras dimasak dengan metode pemasakan modern menggunakan *rice cooker* sebelum diuji kandungan gizi, indeks glikemik dan kadar glukosanya. Setiap varietas beras ditimbang kemudian dicuci menggunakan air kran dan ditiriskan. Beras ketan Grendel

mendapat perlakuan berbeda dari lima varietas beras lainnya yaitu perendaman selama satu jam (1 jam) sebelum penirisan. Beras yang telah ditiriskan kemudian ditimbang untuk mengetahui perubahan berat beras sebelum dan sesudah pencucian. Sampel yang telah ditiriskan kemudian dimasukkan ke dalam panci *rice cooker* dan diberi air dengan perbandingan beras dibanding air adalah 1:2 (b/v). Beras ketan Grendel memiliki perbandingan beras dan air yang berbeda dengan beras lainnya yaitu 5:7 (b/v). Pemasakan beras dihitung lama waktu masak menggunakan *stopwatch* dan dianggap telah matang jika lampu indikator berpindah dari posisi “cook” (memasak) ke posisi “warm” (menghangatkan) [31].

Prosedur Pengujian Indeks Glikemik In Vivo

Jumlah *available carbohydrate* didapatkan dari hasil pengurangan karbohidrat *by difference* dengan kadar total serat pangan. Masing-masing bahan makanan dihitung jumlah *available carbohydrate* yang terkandung didalamnya kemudian dihitung porsi makanan uji pada metode *in vivo* (setara dengan 50 g *available carbohydrate*) [1,2,30]. Responden yang telah mengonsumsi makanan uji setara 50 gram *available carbohydrate* diambil sampel darahnya oleh tenaga medis (dokter dan perawat) untuk diukur kadar glukosa darah. Pengambilan darah menggunakan *finger-prick capillary blood samples method* atau penusukan pada jari tangan subjek dengan alat *EasyTouch*®. Pengambilan dilakukan sebanyak 7 kali dengan waktu pengambilan pada menit ke 0, 15, 30, 45, 60, 90 dan 120 setelah konsumsi makanan. Penghitungan nilai indeks glikemik berdasarkan perbandingan luas area dibawah kurva

(iAUC) pangan uji dan pangan acuan dengan mengabaikan kurva yang berada dibawah kadar gula darah puasa [1].

Prosedur Pengujian Metode Englyst et al. (2003)

Metode Englyst *et al.* (2003) menggunakan sampel nasi sebanyak 500 mg *available carbohydrate* dengan porsi berkisar antara 1,70126 g sampai 2,13038 g. Metode ini mengukur kadar glukosa pada menit ke-20 dan 120. Sampel diinkubasi dengan 10 ml pepsin-guar gum (*porcine pepsin*, P-7000, ≥ 250 units/mg, Sigma-Aldrich) selama 30 menit dengan suhu 37°C. Sebanyak 10 ml 0,25 mol/L natrium asetat dicampurkan pada sampel. Sampel, standar dan blanko diinkubasi selama 2 jam menggunakan campuran enzim dari pankreatin (*porcine pancreatin from porcine pancreas*, 4x USP specifications, P-1750, Sigma-Aldrich), amiloglukosidase (≥ 260 U/mL, A-7095, Sigma-Aldrich) dan invertase (200-300 units/mg, I9274, Sigma-Aldrich). Kadar glukosa dianalisis menggunakan metode *glucose oxidase* (GOD) pada 510 nm [11].

Prosedur Pengujian Metode Argyri et al. (2016)

Metode Argyri *et al.* (2016) menggunakan sampel nasi sebanyak 250 mg *available carbohydrate*. Pengujian kadar glukosa diawali dengan proses pencernaan karbohidrat di mulut. Sampel nasi dipertemukan dengan α -amilase yang meniru pencernaan pertama karbohidrat dalam tubuh manusia. Sampel yang telah dihomogenisasi dengan air kemudian diinkubasi dengan α -amilase (185 U/g *available carbohydrate*, α -amilase dari saliva manusia, tipe XIII-A, 300-1.500 units/mg, A1031-1KU, Sigma-Aldrich). Sampel direaksikan dengan 0,1M HCl sampai pH menjadi 2,5 [13]. Proses ini

bermaksud untuk menirukan pencernaan pati dalam lambung. Lambung memiliki suasana asam akibat adanya sekresi HCl oleh sel parietal yang mengakibatkan aktivitas α -amilase dalam 0,1M HCl, *porcine pepsin*, ≥ 250 units/mg, P-7000, Sigma-Aldrich). Sebanyak 2 ml 0,1M PIPES buffer pH 6,5 (P-3678, Sigma-Aldrich) ditambahkan pada sampel kemudian dipasang membran dialysis (MWCO 6-8 kDa, spectrum laboratories). *Aliquots* diambil setelah inkubasi 30 menit dengan suhu 37°C . Amiloglukosidase 3260 U/ml AMG (≥ 260 U/mL, A-7095, Sigma-Aldrich dari *Aspergillus niger*) dan 0,5 ml campuran garam empedu-pankreatin (0,2 g *porcine pancreatin from porcine pancreas*, 4 x USP specifications, P-1750, Sigma-Aldrich dan 1,2 g ekstrak empedu yang dilarutkan dalam 100 ml 0,1M NaHCO_3 , B-8631, Sigma-Aldrich) ditambahkan pada sampel. Sampel diinkubasi selama 2 jam dan diambil *aliquots* setiap 30 menit ($t = 30, 60, 90, 120$). Analisis kadar glukosa dilakukan pada 575 nm menggunakan metode *dinitrosalicylic acid* (DNS 98%, 12,884-8, Sigma). Metode Argyri *et al.* (2016) menguji kadar glukosa nasi dengan selang waktu 30 menit yang dimulai dari sebelum penambahan enzim amiloglukosidase dan garam empedu-pankreatin (menit ke-0) hingga 120 menit setelah penambahan tersebut [13].

Teknik Analisis Data

Kadar gula darah subjek dimasukkan dalam grafik dengan sumbu x sebagai waktu pengambilan glukosa darah (dalam menit) dan sumbu y sebagai kadar glukosa darah dalam mg/dl. Nilai indeks glikemik (IG) setiap subjek didapat dari perbandingan luas area dibawah kurva pangan uji terhadap pangan acuan dengan mengabaikan kurva yang berada dibawah kadar gula

terhambat sekaligus memulai hidrolisis pati oleh kondisi asam [14]. Sampel kemudian diinkubasi dengan 0,1 ml pepsin (*porcine pepsin*, 4 g/100 ml

darah puasa (*incremental area under curve* atau iAUC). Nilai IG nasi didapatkan dari rerata nilai indeks glikemik seluruh subjek. Hasil pengukuran IG dikategorikan menjadi rendah (≤ 55), sedang (56-69), dan tinggi (≥ 70) [30,32-34].

Kadar glukosa pada Englyst *et al.* (2003) didapat berdasarkan persamaan:

$$\text{Glukosa (\%)} = \frac{A(t)VC}{A(s)W}$$

A(t) = absorbansi larutan uji menit ke-x

V = volume larutan uji

C = konsentrasi standar

A(s) = absorbansi larutan standar pada menit ke-x

W = berat sampel

x = menit ke-20 dan 120

Argyri *et al.* (2016) mendapatkan kadar glukosa berdasarkan persamaan:

$$\text{DGR} = \frac{a}{b}$$

DGR = *dialyzable glucose ratio*

a = glukosa yang mampu melalui dialysis pada menit ke-x setelah inisiasi tahap kedua *in vitro* makanan uji

b = glukosa yang mampu melalui dialysis pada menit ke-x setelah inisiasi tahap kedua *in vitro* makanan standar

x = menit ke-0, 30, 60, 90, dan 120

Karakteristik responden pada kelompok A dan B diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-Wilk* ($p > 0,05$). Karakteristik kelompok yang terdistribusi normal diuji beda menggunakan uji *independent t-test*. Nilai indeks glikemik *in vivo* dan *in vitro* dinyatakan dalam rerata $\pm$ SEM (*standar error mean*). Pengolahan secara deskriptif untuk menjelaskan hasil indeks glikemik yang didapat dari

ketiga metode. Uji korelasi antara metode *in vitro* Englyst *et al.* (2003) dan Argyri *et al.* (2016) dengan hasil metode *in vivo* dilakukan dengan korelasi univariat.

Penghitungan RMSE (*Root Mean Square Error*), nilai r^2 (*r squared*) dan nilai p (*p-value*) dilakukan untuk mengetahui metode *in vitro* yang lebih mendekati hasil metode *in vivo*. Metode yang memiliki nilai RMSE lebih kecil dianggap sebagai metode estimasi yang lebih akurat dibandingkan metode estimasi lain yang memiliki nilai RMSE

lebih besar. Analisis data dan pengolahannya menggunakan program *Microsoft excel* 2016, *software statistical program for social science* (SPSS) versi 24 dan *R-statistical program*.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Sampel Nasi

Seluruh varietas mengalami penambahan berat yang berkisar antara 12,5% hingga 40,5% dari berat semula. Hasil pengujian kandungan gizi nasi tercantum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Zat Gizi Nasi

Varietas Nasi	Kandungan gizi (b/b)								
	Protein (%)	Lemak (%)	Air (%)	Abu (%)	KH (%)	Serat Pangan Total (%)	Amilosa (%)	Pati (%)	Amilopektin (%)
Hitam Cirebon	4,20	0,22	65,22	0,41	29,95	6,48	4,88	23,83	18,95
Cisokan	2,98	0,27	66,25	0,20	30,30	5,81	5,48	19,17	13,69
Inpara 5	3,70	0,27	62,15	0,20	33,68	6,85	8,31	23,59	15,28
Inpari 24	4,44	0,23	56,44	0,40	38,50	9,11	5,18	19,02	13,84
Sintanur	3,53	0,41	66,44	0,47	29,15	4,23	5,32	23,40	18,08
Ketan Grendel	3,31	0,51	65,12	0,49	30,57	2,79	2,55	25,79	23,24

Karakteristik Responden

Hasil uji beda t-test menunjukkan karakteristik responden kelompok A dan B tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) sehingga kedua

kelompok dianggap sama dan tidak akan mempengaruhi hasil pengukuran indeks glikemik. Karakteristik kedua kelompok responden tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik Subjek	Kelompok		Rerata (n=20)	*P
	A (n=10)	B (n=10)		
Umur (tahun)	22,40±2,066	22,1±2,68	22,25±2,337	0,783
Jenis kelamin				
Perempuan	8 orang	7 orang	15 orang	0,615
Laki-laki	2 orang	3 orang	5 orang	
Berat badan (kg)	52,29±5,95	52,42±4,73	52,36±5,23	0,957
Tinggi badan (cm)	158,06±6,10	157,3 (152,3-167,3)	157,68±5,39	0,762
IMT (kg/m ²)	20,87±1,25	21,16±1,23	21,01±1,21	0,609

Data dinyatakan sebagai rerata ± standar deviasi;

*P-value berdasarkan t-test, kecuali jenis kelamin menggunakan Mann Whitney karena data terdistribusi tidak normal

Respon Glikemik In Vivo

Keterangan: respon glikemik responden saat mengonsumsi makanan uji dan acuan pada menit ke 0, 15, 30, 45, 60, 90 dan 120

Gambar 1. Respon Glikemik terhadap Nasi Hitam Cirebon, Inpara 5, Ketan Grendel dan Glukosa Murni

Keterangan: respon glikemik responden saat mengonsumsi makanan uji dan acuan pada menit ke 0, 15, 30, 45, 60, 90 dan 120

Gambar 2. Respon Glikemik terhadap Nasi Cisokan, Inpara 24, Sintanur dan Glukosa Murni

Indeks Glikemik In Vivo

Nasi Cisokan, Inpara 5 dan nasi hitam Cirebon memiliki nilai indeks glikemik yang tergolong sedang. Nasi Sintanur, Inpara 24, dan ketan Grendel tergolong berindeks glikemik tinggi. Hasil pengujian nilai indeks glikemik tercantum dalam Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Indeks Glikemik Nasi

Varietas	Indeks Glikemik (%) (rerata $\pm$ SEM) (n=10)
Hitam Cirebon	63,60 $\pm$ 4,82
Cisokan	64,05 $\pm$ 6,74
Inpara 5	67,59 $\pm$ 3,63
Inpara 24	76,46 $\pm$ 7,06
Sintanur	81,65 $\pm$ 5,54
Ketan Grendel	88,93 $\pm$ 4,00

Data dinyatakan sebagai rerata $\pm$ SEM (*standar error mean*)

Metode Englyst et al. (2003)

Pengukuran kadar glukosa pada menit ke-20 menunjukkan nasi ketan lokal varietas Grendel memiliki kadar glukosa tertinggi (89,75 $\pm$ 2,08), sedangkan kadar glukosa terendah terdapat pada nasi hitam Cirebon (31,17 $\pm$ 2,48). Hasil pengukuran kadar glukosa pada menit ke-120 menunjukkan kadar glukosa tertinggi masih dimiliki oleh ketan lokal varietas Grendel (123,05 $\pm$ 4,03), sedangkan terendah pada nasi Cisokan (43,51 $\pm$ 2,72). Hasil pengukuran glukosa menggunakan metode Englyst et al. (2003) secara lebih terperinci terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Glukosa Metode Englyst *et al.* (2003)

Nasi	Kadar Glukosa (%)	
	Menit ke-20	Menit ke-120
	(rerata $\pm$ SEM) (n=6)	(rerata $\pm$ SEM) (n=6)
Hitam	31,17 $\pm$ 2,48	54,30 $\pm$ 1,49
Cirebon		
Cisokan	41,06 $\pm$ 2,06	43,51 $\pm$ 2,72
Inpara 5	43,27 $\pm$ 0,16	49,73 $\pm$ 1,47
Inpari 24	54,54 $\pm$ 1,20	55,43 $\pm$ 1,74
Sintanur	83,73 $\pm$ 4,88	93,60 $\pm$ 2,22
Ketan	89,75 $\pm$ 2,08	123,05 $\pm$ 4,03
Grendel		

Data dinyatakan sebagai rerata $\pm$ SEM (*standar error mean*)

Metode Argyri *et al.* (2016)

Hasil pengukuran kadar glukosa nasi pada menit ke-0, 30, 60, 90 dan 120 menggunakan metode Argyri *et al.* (2016) tercantum dalam Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Glukosa Metode Argyri *et al.* (2016)

Nasi	Kadar Glukosa (%) pada Menit ke-				
	0	30	60	90	120
	(rerata $\pm$ SEM)	(rerata $\pm$ SEM)	(rerata $\pm$ SEM)	(rerata $\pm$ SEM)	(rerata $\pm$ SEM)
Hitam	62,24 $\pm$ 4,08	38,79 $\pm$ 8,94	35,07 $\pm$ 2,68	55,97 $\pm$ 18,24	47,34 $\pm$ 4,88
Cirebon					
Cisokan	59,56 $\pm$ 7,21	61,33 $\pm$ 14,09	59,96 $\pm$ 5,05	59,26 $\pm$ 2,50	66,13 $\pm$ 4,81
Inpara 5	29,87 $\pm$ 2,12	66,51 $\pm$ 2,92	66,86 $\pm$ 3,98	65,59 $\pm$ 4,97	67,97 $\pm$ 2,29
Inpari 24	15,71 $\pm$ 1,78	22,75 $\pm$ 10,14	70,48 $\pm$ 9,57	62,81 $\pm$ 7,97	77,16 $\pm$ 2,52
Sintanur	60,36 $\pm$ 3,20	53,82 $\pm$ 7,68	73,71 $\pm$ 8,26	67,70 $\pm$ 7,77	90,22 $\pm$ 22,89
Ketan Grendel	61,98 $\pm$ 6,42	84,51 $\pm$ 25,33	72,65 $\pm$ 7,94	78,91 $\pm$ 5,91	94,32 $\pm$ 7,85

Data dinyatakan sebagai rerata $\pm$ SEM (*standar error mean*)

Peringkat hasil uji metode in vivo dan in vitro

Hasil uji nilai indeks glikemik dan kadar glukosa pada kedua metode

in vitro dengan urutan dari terendah hingga tertinggi dicantumkan secara terperinci pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Pemeringkatan Kadar Glukosa Nasi

Nasi	Indeks Glikemik <i>In Vivo</i>	Urutan kadar glukosa terendah hingga tertinggi						
		Metode Englyst menit ke-		Metode Argyri menit ke-				
		20	120	0	30	60	90	120
Hitam Cirebon	1	1	3	6	2	1	1	1
Cisokan	2	2	1	3	4	2	2	2
Inpara 5	3	3	2	2	5	3	4	3
Inpari 24	4	4	4	1	1	4	3	4
Sintanur	5	5	5	4	3	6	5	5
Ketan Grendel	6	6	6	5	6	5	6	6

Penghitungan RMSE, r^2 dan Nilai p Metode In Vitro

Hasil analisis RMSE, r^2 dan nilai p dari metode Englyst *et al.* (2003) dan

Argyri *et al.* (2016) menggunakan software R-statistical program tercantum pada tabel 7 berikut.

Tabel 7 Hasil Penghitungan RMSE, r^2 dan Nilai p Metode *In Vitro*

Metode	Nilai RMSE	r^2	p
Englyst <i>et al.</i> (2003)			
Menit ke-20	21.32	0.906	$p < 0.01^*$
Menit ke-120	21.01	0.831	$p < 0.01^*$
Argyri <i>et al.</i> (2016)			
Menit ke-0	33.09	0.004	$p > 0.01$
Menit ke-30	32.85	0.060	$p > 0.01$
Menit ke-60	17.02	0.339	$p = 0.01^*$
Menit ke-90	16.39	0.187	$p > 0.01$
Menit ke-120	16.63	0.461	$p < 0.01^*$

* P -value berdasarkan analisis regresi ($p < 0.01$)

PEMBAHASAN

Pemasakan Beras

Beras dicuci terlebih dahulu sebelum dimasak dengan tujuan menghilangkan benda maupun kotoran yang berbahaya [28]. Setelah pencucian, seluruh varietas beras mengalami penambahan berat yang berkisar antara 12,5% hingga 40,5% dari berat semula. Perbedaan penambahan berat pada setiap varietas beras dipengaruhi oleh banyaknya air yang terserap setelah pencucian [35]. Beras yang telah dicuci kemudian dimasak menggunakan *rice cooker*. Pemilihan metode pemasakan dengan *rice cooker* bertujuan untuk menyesuaikan dengan kondisi masyarakat saat ini yang telah banyak beralih dari metode memasak nasi tradisional ke metode *rice cooker*.

Kandungan Gizi Nasi

Nasi merupakan salah satu sumber utama pati alami di Indonesia [36,37]. Berdasarkan kandungan amilosanya, nasi dapat digolongkan menjadi lima yaitu *waxy* apabila mengandung amilosa 0-2%, sangat rendah jika amilosa 5-12%, rendah jika amilosa 12-20%, sedang jika amilosa 20-25%, tinggi jika amilosa 25-33% [38]. Hasil uji amilosa pada nasi menunjukkan ketan Grendel memiliki kadar amilosa paling rendah (2,55%) yang tergolong *waxy*. Inpara 5 memiliki

kadar amilosa tertinggi dibanding nasi lainnya (8,31%), tetapi masih tergolong sangat rendah. Keempat varietas nasi lainnya juga memiliki kadar amilosa yang sangat rendah. Amilosa merupakan salah satu komponen penyusun pati dengan struktur rantai yang berbeda dengan amilopektin [39,40]. Rasio amilosa dan amilopektin dapat mempengaruhi proses pemasakan dan kualitas nasi [28]. Kedua komponen penyusun pati ini memiliki ikatan hidrogen di dalam molekulnya yang mengatur integritas granula pati. Ikatan hidrogen dapat melemah akibat proses gelatinisasi yang terjadi saat pemasakan nasi sehingga terbentuk gugus hidroksil bebas yang mampu menyerap molekul air dan mengakibatkan granula pati mengalami pembengkakan [37]. Inilah sebabnya semakin tinggi kadar amilopektin pada nasi maka semakin tinggi pula kadar air pada nasi.

Nasi merah Inpari 24 memiliki kadar protein tertinggi (4,44%), sedangkan kadar protein terendah terdapat pada nasi putih Cisoka (2,98%). Hasil ini berbeda dengan penelitian lain yang justru menunjukkan kadar protein tertinggi terdapat pada beras putih (8,70% b/b), sedangkan kadar protein terendah terdapat pada beras merah (6,93% b/b) [41]. Perbedaan ini diduga disebabkan perbedaan bentuk sampel ketika diuji.

Penelitian ini menguji kadar protein pada nasi, sedangkan literatur tersebut menggunakan sampel uji berupa beras. Penggunaan suhu tinggi pada proses pemasakan beras dapat mengakibatkan kerusakan protein sehingga kadar protein nasi lebih rendah dibanding beras [42].

Kadar lemak tertinggi terdapat pada nasi ketan lokal varietas Grendel (0,51%), sedangkan lemak terendah pada nasi hitam varietas lokal Cirebon (0,22%). Indrasari *et al.* (2008) menyebutkan beras Cisokan memiliki kadar lemak sebesar 0,56%, sedangkan hasil penelitian Ikhwan *et al.* (2017) menunjukkan hasil yang lebih besar yaitu 1,90% b/k [43,44]. Nasi Cisokan yang digunakan pada penelitian ini mengandung lemak sebesar 0,27% yang lebih rendah dibanding literatur. Kondisi serupa ditemukan pada sampel nasi Sintanur dan ketan Grendel. Lemak dapat mencair dan menguap (*volatile*) menjadi komponen lainnya ketika melewati pemanasan sehingga kadarnya lebih rendah pada makanan yang telah matang, tetapi hal ini sangat dipengaruhi suhu dan lama pemasakan [42].

Respon Glikemik In Vivo

Penelitian ini meminta responden mengonsumsi sejumlah makanan uji dan makanan acuan yang menyebabkan perubahan kadar glukosa darah responden. Perubahan konsentrasi gula darah yang disebabkan oleh makanan yang telah dicerna dikenal sebagai respon glikemik [45]. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setiap varietas nasi memiliki respon glikemik yang berbeda seperti tampak pada Gambar 1 dan 2. Respon glikemik dapat dipengaruhi oleh banyak hal, salah satunya adalah kandungan zat gizi dalam makanan itu sendiri [46]. Kandungan zat gizi terutama kadar serat

pangan serta keberadaan amilosa-amilopektin diketahui dapat mempengaruhi respon glikemik suatu makanan [20]. Semakin tinggi kandungan serat pangan, amilosa, serta rasio amilosa-amilopektin maka respon glikemik dan indeks glikemiknya akan semakin rendah. Serat pangan mampu menurunkan kecepatan pengosongan lambung, sehingga respon glikemik menurun. Keberadaan amilosa yang sulit dicerna oleh enzim pencernaan menyebabkan respon glikemik semakin rendah [20,28].

Hasil uji kandungan zat gizi enam jenis nasi menunjukkan ketan Grendel memiliki kadar total serat pangan yang paling rendah (2,79%) kemudian diikuti oleh Sintanur (4,23%). Sementara pada pengujian nilai indeks glikemik, ketan Grendel justru memiliki nilai indeks glikemik tertinggi ($88,93\% \pm 4,00\%$) yang diikuti oleh Sintanur ($81,65\% \pm 5,54\%$). Kondisi ini didukung oleh Gambar 1 yang menunjukkan respon glikemik yang tinggi saat mengonsumsi ketan Grendel. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa keberadaan total serat pangan dapat mempengaruhi respon glikemik makanan [47]. Secara fisiologis, serat pangan mampu membentuk gel kental dalam saluran cerna yang dapat mencegah interaksi enzim α -amilase dengan makanan sehingga menurunkan pemecahan glukosa dan menurunkan kecepatan absorpsi karbohidrat sekaligus meningkatkan kecepatan makanan dalam melewati saluran cerna. Seluruh mekanisme tersebut pada akhirnya menyebabkan penurunan respon glikemik [20,47]. Oleh karena itu, makanan dengan kandungan serat pangan rendah akan memiliki respon glikemik dan indeks glikemik yang cenderung tinggi [43].

Berdasarkan teori diatas, nasi Inpari 24 yang memiliki kadar serat pangan tertinggi (9,11%) seharusnya memiliki nilai indeks glikemik terendah. Nasi Inpara 5 memiliki kadar serat pangan yang berada di urutan ke-2 tertinggi setelah nasi Inpari 24 seharusnya juga memiliki nilai indeks glikemik yang berada di urutan ke-2 terendah. Hasil penelitian ini menunjukkan indeks glikemik terendah justru dimiliki oleh nasi Hitam Cirebon yang diikuti oleh nasi Cisokan. Artinya terdapat faktor selain kadar serat pangan yang juga berperan penting dalam menentukan indeks glikemik nasi. Salah satunya adalah kadar pati dan keberadaan amilosa-amilopektin.

Pati terdiri dari dua penyusun utama yaitu amilosa dan amilopektin [28]. Amilosa memiliki beberapa karakteristik yang mengakibatkan amilosa bersifat sulit tercerna oleh enzim pencernaan manusia. Struktur amilosa berbentuk lurus dan terikat kuat oleh ikatan hidrogen sehingga relatif sulit dipecah. Selain itu, amilosa memiliki ukuran granula yang kecil (10^5) sehingga strukturnya lebih mudah bergabung, mengkristal dan sulit tergelatinisasi yang menyebabkan amilosa sulit dicerna oleh enzim pencernaan [28,39,40,48]. Karakteristik amilosa ini menyebabkan semakin tinggi kandungan amilosa maka semakin rendah respon glikemiknya. Berdasarkan karakteristik amilosa seharusnya nasi Inpara 5 yang memiliki kadar amilosa tertinggi (8,31%) akan memiliki respon glikemik yang paling rendah, tetapi pada Gambar 1 justru Inpara 5 tampak memiliki respon glikemik yang cenderung lebih tinggi dibanding nasi Hitam Cirebon pada menit ke-90 dan 120. Hal ini menunjukkan adanya faktor lain yang juga berperan menentukan respon glikemik yaitu rasio amilosa-

amilopektin. Berbeda dengan amilosa, amilopektin memiliki karakteristik yang lebih mudah dipecah sehingga menghasilkan kadar glukosa yang lebih tinggi dan meningkatkan nilai indeks glikemik [28, 43]. Semakin tinggi rasio amilosa-amilopektin pada makanan maka respon glikemiknya akan semakin rendah [20]. Gambar 2 menunjukkan nasi Sintanur memiliki respon glikemik yang lebih tinggi dibanding Inpari 24. Hal ini didukung oleh hasil penelitian ini yang menunjukkan rasio amilosa-amilopektin nasi Sintanur lebih rendah dibanding Inpari 24.

Indeks Glikemik In Vivo

Penelitian ini menguji indeks glikemik nasi dari beras hitam lokal varietas Cirebon yang belum diteliti sebelumnya. Hasil uji menunjukkan indeks glikemik nasi hitam Cirebon tergolong sedang dengan nilai sebesar $63,60 \pm 4,82$. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Auliya (2017) yang menunjukkan indeks glikemik beras hitam non-pratanak dan pratanak tergolong sedang dengan nilai indeks glikemik berturut-turut sebesar $65,45 \pm 19,48$ dan $58,70 \pm 24,30$ [49].

Terdapat perbedaan nilai indeks glikemik Cisokan pada penelitian ini dibandingkan dengan nilai yang tercantum dalam literatur. BB Padi (2010) menyatakan Cisokan memiliki nilai indeks glikemik yang rendah (34), sedangkan pada penelitian ini Cisokan memiliki indeks glikemik sedang ($64,05 \pm 6,74$) [50]. Nilai indeks glikemik yang dicantumkan oleh BB Padi tersebut merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Indrasari *et al.* (2008) [43]. Berdasarkan telaah pustaka didapatkan beberapa faktor yang diduga menjadi penyebab perbedaan nilai indeks glikemik tersebut, diantaranya adanya perbedaan metode pemasakan, perbedaan jumlah responden dan

perbedaan metode pengukuran gula darah.

Indeks glikemik nasi Inpara 5 tergolong sedang dengan nilai sebesar $67,59 \pm 3,63$. Meskipun nilai indeks glikemik dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan temuan Wahab *et al.* (2017) yang menyebutkan nilai indeks glikemik Inpara 5 sebesar 59, namun keduanya masih berada dalam satu kategori yaitu indeks glikemik sedang [50].

Nasi merah Inpari 24 memiliki nilai indeks glikemik sebesar $76,46 \pm 7,06$ yang tergolong tinggi. Hasil ini berbeda dengan nilai indeks glikemik Inpari 24 menurut BB Padi dalam Septianingrum *et al.* (2016) sebesar 64 dan tergolong indeks glikemik sedang [46]. Beberapa faktor diketahui dapat memengaruhi respon glikemik, diantaranya varietas beras, komponen monosakarida (glukosa, fruktosa, dan galaktosa), komponen pati (amilosa, amilopektin, interaksi pati dengan zat gizi lain, pati resisten), pengolahan pangan (tingkat gelatinisasi pati, ukuran partikel, bentuk makanan, struktur sel), komponen zat gizi lain (lemak, protein, serat pangan, zat anti gizi dan asam organik) [2,28].

Nasi varietas Sintanur berindeks glikemik tinggi dengan nilai sebesar $81,65 \pm 5,54$. Nilai ini lebih tinggi dibanding hasil penelitian Widowati *et al.* (2009) sebesar 76,32, tetapi lebih rendah dibanding hasil penelitian Suprihatno *et al.* (2010) sebesar 91 [48,51]. Meski nilai indeks glikemik Sintanur pada penelitian ini berbeda dengan literatur, tetapi ketiganya masih berada dalam satu kategori yaitu indeks glikemik tinggi.

Ketan selama ini diketahui memiliki amilosa rendah sehingga menghasilkan nilai indeks glikemik yang tinggi. Penelitian ini menggunakan ketan putih lokal varietas Grendel yang

belum ditemukan literatur mengenai nilai indeks glikemiknya. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai indeks glikemik ketan Grendel tergolong tinggi yaitu sebesar $88,93 \pm 4,00$. Penelitian lain yang meneliti ketan putih varietas Ketonggo mendapatkan nilai indeks glikemik sebesar 79 [43]. Meskipun berbeda varietas, namun dapat ditarik kesimpulan bahwa ketan putih memiliki indeks glikemik yang tinggi.

Pengukuran Glukosa Metode Englyst et al. (2003)

Hasil uji korelasi univariat menunjukkan pembacaan glukosa metode Englyst *et al.* (2003) pada menit ke-20 memiliki urutan pemeringkatan yang sesuai dengan peringkat nilai indeks glikemik pada metode *in vivo*. Berdasarkan kadar glukosa yang terbaca pada menit ke-20 didapatkan pemeringkatan sampel dari terendah hingga tertinggi dengan urutan yaitu nasi hitam varietas lokal Cirebon, nasi Cisokan, nasi Inpara 5, nasi merah Inpari 24, nasi Sintanur dan ketan Grendel. Urutan peringkat ini sesuai dengan urutan nilai indeks glikemik terendah hingga tertinggi yang didapatkan pada metode *in vivo*. Oleh karena itu, pengukuran glukosa metode Englyst pada menit ke-20 dianggap mampu menjadi prediktor nilai indeks glikemik yang baik. Hasil ini sesuai dengan beberapa literatur yang menyebutkan pengukuran glukosa pada menit ke-20 mampu menjadi prediktor nilai indeks glikemik yang baik [9,11,17,52,53,54]. Hal ini menunjukkan semakin tinggi nilai indeks glikemik sampel maka kadar glukosa sampel yang terukur pada menit ke-20 juga semakin meningkat [53].

Pengukuran glukosa nasi pada menit ke-120 menggunakan metode Englyst *et al.* (2003) menunjukkan kadar glukosa nasi hitam Cirebon lebih

tinggi dibanding nasi Cisokan dan Inpara 5. Urutan peringkat kadar glukosa nasi hitam Cirebon pada menit ke-120 berbeda dengan urutan peringkatnya pada pengukuran indeks glikemik *in vivo*, namun urutan peringkat untuk kelima varietas nasi lainnya sesuai dengan hasil nilai indeks glikemik *in vivo*. Perbedaan urutan peringkat kadar glukosa pada menit ke-120 dibandingkan dengan IG *in vivo* pada nasi hitam Cirebon kemungkinan disebabkan kadar protein nasi hitam Cirebon (4,20%) yang lebih tinggi dibanding nasi Cisokan (2,98%) dan Inpara 5 (3,70%).

Diduga masih terdapat banyak protein pada nasi hitam Cirebon saat pembacaan glukosa menit ke-20 sehingga enzim yang bertugas memecah pati menjadi glukosa sulit menjangkau molekul pati dan kadar glukosa menit ke-20 yang terbaca menjadi yang paling rendah ($31,17 \pm 2,48$) dibanding kadar glukosa menit ke-20 pada nasi lainnya. Hal ini dapat dikaitkan dengan teori yang menyebutkan secara supramolekuler, protein tampak seperti menyelimuti molekul pati [14]. Protein dapat membentuk jaringan seperti pelindung di sekitar molekul pati yang dapat mencegah interaksi enzim glikolisis dengan pati. Penghambatan kinerja enzim glikolisis mengakibatkan penurunan jumlah karbohidrat yang dipecah sehingga kadar glukosa yang didapat juga akan turun [34].

Kadar glukosa nasi hitam Cirebon ($54,30 \pm 1,49$) justru berada di urutan ke-3 yang artinya enzim glikolisis telah menjangkau lebih banyak molekul pati sehingga jumlah glukosa yang terlepas pada saat ini menjadi lebih banyak dibanding Cisokan ($43,51 \pm 2,72$) dan Inpara 5 ($49,73 \pm 1,47$). Kadar glukosa yang terukur pada menit ke-120 menggambarkan jumlah pati yang sulit

tercerna sekaligus menunjukkan pelepasan glukosa yang lambat [53].

Kadar protein yang rendah serta rasio amilosa-amilopektin dalam pati diduga menyebabkan pati dari nasi Cisokan mudah tergelatinisasi. Hal ini mengakibatkan pada menit ke-20 nasi Cisokan telah mengalami gelatinisasi sempurna sehingga tidak mengalami perubahan kadar glukosa yang signifikan hingga menit ke 120. Saat pencernaan pati telah mencapai titik cabang polisakarida, maka kecepatan hidrolisis amilase dan amiloglukosidase mengalami penurunan [14].

Pengukuran Glukosa Metode Argyri et al. (2016)

Hasil penelitian ini menunjukkan ketika dilakukan pemerinkatan kadar glukosa nasi yang terukur pada menit ke-0 dan menit ke-30 dari terendah hingga tertinggi didapatkan urutan peringkat yang berubah-ubah. Pengukuran kadar glukosa pada menit ke-60 menunjukkan urutan peringkat yang hampir mendekati peringkat IG pada metode *in vivo*. Meskipun demikian pada menit ke-60 sampel nasi Sintanur memiliki kadar glukosa yang lebih tinggi dibanding nasi ketan Grendel sehingga urutan peringkat pada keduanya berbeda dengan hasil peringkat IG *in vivo*. Kondisi serupa ditemukan pada pengukuran glukosa menit ke-90. Peringkat kadar glukosa nasi pada menit ke-90 menunjukkan kemiripan dengan urutan nilai IG *in vivo*, namun sayangnya terdapat perbedaan pada sampel Inpara 5. Sampel Inpara 5 memiliki kadar glukosa yang lebih tinggi dibanding Inpara 24 saat dilakukan pengukuran glukosa pada menit ke 90 sehingga urutan keduanya berbeda dengan urutan nilai IG *in vivo*.

Metode Argyri *et al.* (2016) menyarankan hasil pengukuran kadar

glukosa menit ke-120 untuk memperkirakan nilai indeks glikemik *in vivo* [13]. Hasil penelitian ini menunjukkan kadar glukosa nasi pada menit ke-120 memiliki urutan peringkat terendah hingga tertinggi berturut-turut yaitu nasi hitam Cirebon, nasi Cisokan, nasi Inpara 5, nasi Inpari 24, nasi Sintanur dan ketan Grendel. Secara keseluruhan, kadar glukosa seluruh sampel nasi yang terukur pada menit ke-120 memiliki kesesuaian urutan peringkat dengan indeks glikemik *in vivo*.

Perbandingan Pengukuran Indeks Glikemik In Vivo dan Respon Glikemik In Vitro

Secara teori, indeks glikemik menggambarkan hasil pengukuran respon glikemik terhadap makanan yang berasal dari hasil seluruh mekanisme didalamnya, baik dari faktor makanan maupun dari faktor fisiologis manusia [1]. Hasil pengukuran metode Englyst dan Argyri hanya menggambarkan jumlah glukosa yang dilepaskan pada proses hidrolisis karbohidrat setelah masa inkubasi oleh enzim pencernaan dalam kondisi terstandar [9,53]. Kadar glukosa yang terukur pada metode Englyst *et al.* (2003) menit ke-20 menggambarkan jumlah glukosa yang cepat diabsorpsi dalam saluran cerna sehingga mampu menggambarkan respon kenaikan gula darah secara tepat, sedangkan kadar glukosa menit ke-120 menggambarkan jumlah glukosa yang dilepaskan secara lambat dalam pencernaan karbohidrat. Semakin tinggi kadar glukosa menit ke-120, maka semakin banyak jumlah glukosa yang lambat dilepas. Konsumsi makanan yang mengandung karbohidrat lambat cerna dalam jumlah yang tinggi akan membantu mengendalikan kadar glukosa darah dan respon insulin yang lebih baik [53].

Hasil pengujian metode Englyst *et al.* (2003) pada menit ke-20 dan metode Argyri *et al.* (2016) pada menit ke-120 menunjukkan kesesuaian peringkat dengan nilai indeks glikemik metode *in vivo*. Perangkingan tersebut mampu menunjukkan kesesuaian urutan hasil pengujian *in vitro* terhadap *in vivo*, namun belum menggambarkan kedekatan nilai hasil pengukuran. Oleh karena itu, dibutuhkan penghitungan RMSE (*root mean squared error*) untuk mengetahui metode *in vitro* yang lebih mendekati hasil metode *in vivo*. Hasil penghitungan RMSE menunjukkan metode Argyri *et al.* (2016) pada menit ke-90 memiliki nilai RMSE terendah. Berdasarkan nilai RMSE seharusnya metode Argyri *et al.* (2016) menit ke-90 menjadi metode dengan titik pengambilan sampel yang paling sesuai digunakan untuk memperkirakan hasil indeks glikemik manusia, namun hasil pengukuran yang didapat pada menit ke-90 memiliki kedekatan yang rendah dengan nilai IG *in vivo* dan tidak signifikan secara statistik ($r^2=0,187$, $p>0,01$). Oleh karena itu, diambil nilai RMSE terendah berikutnya yang terdapat pada hasil pengukuran metode Argyri *et al.* (2016) pada menit ke-120. Hasil pengujian metode Argyri *et al.* (2016) pada menit ke-120 menunjukkan kedekatan sebesar 46% dengan hasil pengukuran *in vivo* dan signifikan secara statistik ($r^2=0,461$, $p<0,01$). Hal ini menunjukkan metode Argyri *et al.* (2016) pada menit ke-120 metode dengan titik waktu pengambilan sampel yang paling sesuai dengan hasil IG *in vivo*. Faktor lain yang perlu dipertimbangkan selain nilai RMSE, nilai r^2 dan nilai p adalah kesesuaian urutan atau perangkingan hasil pengukuran kadar glukosa metode *in vitro* terhadap nilai indeks glikemik *in vivo*. Berdasarkan hasil perangkingan kadar glukosa yang didapat dari metode

in vitro yang paling sesuai dengan hasil *in vivo* adalah hasil pengukuran metode Englyst *et al.* (2003) pada menit ke-20 dan Argyri *et al.* (2016) menit ke-120. Hal ini menyebabkan hanya nilai RMSE dari keduanya yang dipertimbangkan. Nilai RMSE hasil pengujian metode Argyri *et al.* (2016) menit ke-120 (RMSE=16,63) lebih rendah dibanding Englyst *et al.* (2003) menit ke-20 (RMSE=21,32). Semakin rendah nilai RMSE maka estimasi kesalahan pengukuran dari metode tersebut semakin rendah pula [55]. Oleh karena itu, metode Argyri *et al.* (2016) pada menit ke-120 dianggap lebih sesuai untuk memperkirakan nilai indeks glikemik manusia berdasarkan nilai RMSE yang rendah yaitu 16,63 ($r^2=0,461$, $p<0,01$) dan kesesuaian perangkungan terhadap nilai IG yang didapat.

Perbedaan hasil pengukuran metode *in vitro* dengan *in vivo* kemungkinan disebabkan adanya faktor lain di dalam makanan yang lebih dominan mempengaruhi respon glikemik. Kadar glukosa yang terukur pada menit ke-20 dan 120 sangat ditentukan oleh karakteristik makanan, khususnya yang berkaitan dengan jenis dan kekuatan granula pati, rasio amilosa-amilopektin, keberadaan dinding sel tumbuhan dalam bahan pangan, serta matriks pangan (meliputi varietas dan pengolahan pangan) [54].

Jumlah sampel yang digunakan pada Metode Englyst *et al.* (2003) adalah setara 500 mg *available carbohydrate*, sedangkan metode Argyri *et al.* (2016) menggunakan sampel dengan jumlah setengah dari jumlah sampel pada metode Englyst *et al.* (2003) yaitu 250 mg *available carbohydrate* [11,13]. Kedua metode tersebut menggunakan enzim pepsin, pankreatin, amiloglukosidase, dan asam HCl. Perbedaan kedua metode terdapat

pada penggunaan enzim invertase oleh metode Englyst *et al.* (2003) dan penggunaan α -amilase, garam empedu, serta membran dialisis pada metode Argyri *et al.* (2016). Perbedaan jenis dan jumlah enzim yang digunakan berpengaruh terhadap hasil pembacaan kadar glukosa sampel yang diuji.

Metode Argyri menggunakan enzim α -amilase yang berasal dari saliva manusia dengan aktivitas enzim sebesar 185 U/g *available carbohydrate*. Enzim α -amilase dapat menghidrolisis ikatan α -(1-4) pada polisakarida seperti pati menjadi maltosa, dekstrin, hingga glukosa. Satu unit α -amilase mampu melepaskan 1 mg maltose dari pati dalam waktu 3 menit pada pH 6,9 dengan suhu 20°C. Hal ini menunjukkan dalam kondisi pH netral dan suhu 20°C akan terdapat sekitar 46 unit maltose yang terlepas dari pati dalam waktu 3 menit. Meskipun demikian metode Englyst tidak melibatkan enzim ini dalam prosedur ujinya sehingga diperkirakan hal ini menyebabkan hasil pembacaan glukosa pada metode Argyri relatif lebih tinggi dibanding Englyst.

Metode Argyri *et al.* (2016) memang menggunakan jumlah sampel nasi dan enzim yang lebih sedikit dibandingkan dengan metode Englyst *et al.* (2003) sehingga dari segi biaya memang akan membutuhkan biaya yang relatif lebih rendah. Ditinjau dari proses pengerjaan di laboratorium memang metode Argyri *et al.* (2016) lebih mirip dengan proses pencernaan dalam tubuh manusia dibanding metode Englyst *et al.* (2003) karena sudah menggunakan proses homogenisasi yang menirukan proses mengunyah pada manusia, menggunakan membran dialisis yang berfungsi seperti dinding usus manusia, serta proses yang simultan. Metode Englyst *et al.* (2003) apabila ditinjau dari segi waktu, membutuhkan waktu

yang lebih singkat dalam pengerjaannya yaitu 2 jam 55 menit, sementara metode Argyri *et al.* (2016) membutuhkan waktu 5 jam 25 menit.

SIMPULAN

Hasil pengukuran kadar glukosa nasi menggunakan metode *in vitro* pada Englyst *et al.* (2003) menit ke-20 dan Argyri *et al.* (2016) menit ke-120 memiliki urutan peringkat yang sesuai dengan urutan nilai indeks glikemik *in vivo*, sehingga keduanya dapat digunakan untuk memperkirakan pengkategorian indeks glikemik *in vivo*. Metode Argyri *et al.* (2016) menunjukkan hasil yang lebih mendekati nilai indeks glikemik *in vivo* (RMSE=16.63, $r^2=0.461$, $p<0.01$) dan prosedur pengukuran yang dilakukan lebih mirip dengan proses pencernaan pada tubuh manusia, sehingga metode Argyri *et al.* (2016) menjadi metode yang lebih direkomendasikan dalam memperkirakan pengkategorian indeks glikemik *in vivo* pada sampel berupa nasi. Meskipun demikian pengkajian lebih lanjut mengenai ketepatan metode Englyst *et al.* (2003) dan metode Argyri *et al.* (2016) dalam memperkirakan indeks glikemik *in vivo* dengan menggunakan sampel yang memiliki karakter berbeda dengan nasi perlu dilakukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah memberikan pendanaan pada penelitian ini. Peneliti juga berterima kasih atas bantuan Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB Padi) Subang, Jawa Barat yang telah memberikan sampel beras.

DAFTAR RUJUKAN

1. Brouns F, Bjorck I, Frayn KN, Gibbs AL, Lang V, Slama G, Wolever TMS. Glycemic Index Methodology. *Nutr Res Rev.* 2005; 18 (1):145-71.
2. Food and Agriculture Organization (FAO). Carbohydrates in human nutrition: Report of A Joint FAO/WHO Expert Consultation. 66. Rome: FAO; 1998. 1-40.
3. Larsson SC, Giovannucci EL, Wolk A. Prospective study of glycemic index load, glycemic index, and carbohydrate intake in relation to risk of biliary tract cancer. *Am J Gastroenterol.* 2016; 111 (6): 891-96.
4. Kaviani M, Chilibeck PD, Jochim J, Gordon J, Zello GA. The glycemic index of sport nutrition bars affects performance and metabolism during cycling and next-day recovery. *Journal of Human Kinetics.* 2019; 66:69-79.
5. Hettiaratchi UPK, Ekanayake S, Welihinda J. Prediction of glycaemic indices (GI) of meals by starch hydrolysis indices. *Int Food Res J.* 2012; 19 (3): 1153-59.
6. Woolnough JW, Monro JA, Brennan CS, Bird AR. Simulating human carbohydrate digestion dari metode *in vitro*: A review of methods and the need for standardization. *Int J Food Sci Technol.* 2008; 43 (12): 2245-56.
7. Snow P dan O'Dea K. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in food. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34 (12): 2721-27.
8. Goñi I, Garcia-Alonso A, Saura-Calixto F. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research.* 1997; 17 (3): 427-37.
9. Englyst KN, Englyst HN, Hudson GJ, Cole TJ, Cummings JH. Rapidly

- available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69 (3): 448-54.
10. Englyst KN, Hudson GJ, Englyst HN. Starch analysis in food. *Encyclopedia of analytical chemistry.* 2000; 1 (1): 4246-62.
 11. Englyst KN, Vinoy S, Englyst HN, Lang V. Glycemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *Br J Nutr.* 2003; 89 (3): 29-339.
 12. Frei MP, Siddhuraju K, Becker. Studies on the in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. *Food Chemistry.* 2003; 83 (3): 395-402.
 13. Argyri K, Anthnasatou A, Binga M, Kapsokafalou M. The potential of an in vitro digestion method for predicting glycemic response of foods and meals. *Nutrients.* 2016; 8 (4): 209-20.
 14. Dona AC, Pages G, Gilbert RG, Kuchel PW. Digestion of starch: in vivo and in vitro kinetic models used to characterize oligosaccharide or glucose release. *Carbohydr Polym.* 2010; 80 (3): 599-617.
 15. Araya H, Contreras P, Alvina M, Vera G, Pak N. A comparison between an in vitro method to determine carbohydrate digestion rate and the glycemic response in young men. *Eur J Clin Nutr.* 2002; 56 (8): 735-39.
 16. Flint A, Moller BK, Raben A, Pedersen D, Tetens I, Holst JJ, Astrup A. The use of glycaemic index tables to predict glycaemic index of composite breakfast meals. *B J Nutr.* 2004; 91 (6): 979-89.
 17. Garsetti M, Vinoy S, Lang V, Holt S, Loyer S, Brand-Miller JC. The glycemic and insulinemic index of plain sweet biscuits: relationship to in vitro starch digestibility. *Journal of the American College of Nutrition.* 2005; 24 (6): 441-47.
 18. Chung HJ, Shin DH, Lim ST. In vitro starch digestibility and estimated glycemic index of chemically modified corn starches. *Food Research International.* 2008; 41(6):579–85.
 19. Al-Mssallem MQ, Hampton SM, Frost GS, Brown JE. A study of Hassawi rice (*Oryza sativa* L.) in terms of its carbohydrate hydrolysis (in vitro) and glycaemic and insulinaemic indices (in vivo). *Eur J Clin Nutr.* 2011; 65 (5): 627-634.
 20. Meynier A, Goux A, Atkinson F, Brack O, Vinoy S. Postprandial glycaemic response: how is it influenced by characteristics of cereal products?. *Br J Nutr.* 2015; 113 (12): 1931-39.
 21. Fujiwara N, Hall C, Jenkins AL. Development of low glycemic index (GI) foods by incorporating pulse ingredients into cereal-based products: use of in vitro screening and in vivo methodologies. *Cereal Chem J.* 2016; 94 (1): 110-16.
 22. Shumoy H, Raes K. In vitro starch hydrolysis and estimated glycemic index of tef porridge and injera. *Food Chem.* 2017; 229 (1): 381-87.
 23. Akerberg AKE, Liljeberg HGM, Grandfelt YE, Drews AW, Bjork IME. An in vitro method, based on chewing, to predict resistant starch content in foods allows parallel determination of potentially available starch and dietary fiber. *J Nutr.* 1998; 128 (3): 651-660.
 24. Kubo M, Purevdorj M. The future of rice production and consumption. *J Food Dist Res.* 2004; 35(1): 129-142.
 25. Badan Ketahanan Pangan Kementrian Pertanian RI. Roadmap

- diversifikasi pangan 2011-2015. Kementerian Pertanian. 2012.
26. Seah JYH, Koh WP, Yuan JM, Dam RMV. Rice intake and risk of type 2 diabetes: the Singapore Chinese Health Study. *Eur J Nutr.* 2018.
27. Hu EA, Pan A, Malik V, Sun Q. White rice consumption and risk of type 2 diabetes: meta-analysis and systematic review.. *BMJ.* 2012; 344:1-9.
28. Kaur B, Ranawana V, Henry J. The glycemic index of rice and rice products: a review, and table of GI values. *Critical Reviews on Food Science and Nutrition.* 2016; 56: 215-36.
29. Magnusson B, Ornemark U. Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods – a laboratory guide to method validation and related topics. Edisi 2. 2014.
30. ISO 26642:2010. Food products – determination of the glycemic index (GI) and recommendation for food classification. British Standard. Switzerland. ISBN 978 0 580 56630 1. 2010.
31. Hidayati N, Aisuwarya R, Putri RE. Sistem control kestabilan suhu penghangat nasi menggunakan metode fuzzy logic. *Jurnal UMJ.* 2017.
32. Wolever TMS, Brand-Miller JC, Abernethy J. Measuring the glycemic index of foods: interlaboratory study. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87(suppl): 247S-57S.
33. Brand-Miller JC, Stockmann K, Atkinson F, Petocz P, Denyer G. Glycemic index, postprandial glycemia, and the shape of the curve in healthy subjects: analysis of a database of more than 1000 foods. *Am J Clin Nutr.* 2009; 89: 97-105.
34. Henry CJK dan Thondre PS. The Glycaemic Index: Concept, Recent Developments and Its Impact on Diabetes and Obesity. *Smith Gordon.* 2011; 15 (2): 154-75.
35. Subarna, Suroso, Budijanto S, Sutrisno. Pengembangan metode menanam optimum untuk beras varietas Sintanur, IR 64 dan Ciherang. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. 2005; 1: 376-86.
36. Pudjihastuti I. Pengembangan proses inovatif kombinasi reaksi hidrolisis asam dan reaksi fotokimia UV untuk produksi pati termodifikasi dari tapioka. [tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2010.
37. Herawati H. Potensi pengembangan produk pati tahan cerna sebagai pangan fungsional. *Jurnal Litbang Pertanian.* 2011; 30(1): 31-9.
38. Juliano BO. Rice in human nutrition. Collaboration IRRI and FAO. Rome.
39. Brody T. Nutritional Biochemistry 2nd Ed. Academic Press. 1999. ISBN 0-12-134836-9.
40. Singh J, Dartois A, Kaur L. Starch digestibility in food matrix: a review. *Trends in Food Science & Technology.* 2010; 21(4):168-180.
41. Hernawan E, Meylani V. Analisis karakteristik fisikokimia beras putih, beras merah, dan beras hitam (*Oryza sativa* L., *Oryza nivara* dan *Oryza sativa* L. *indica*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada.* 2016; 15 (1): 79-91.
42. Sundari D, Almasyhuri, Lamid A. Pengaruh proses pemasakan terhadap komposisi zat gizi bahan pangan sumber protein. *Media Litbangkes.* 2015; 25 (4): 235-42.
43. Indrasari SD, Purwani EY, Wibowo P, Jumali. Nilai indeks glikemik beras beberapa varietas padi. Sukamandi (ID): Balai Besar

- Penelitian Tanaman Padi. 2008; 27(3):127-134.
44. Ikhwani, Wardhana P, Priatmodjo B, Purwani EY. Pengembangan varietas padi karakteristik khusus di lahan sawah irigasi [Internet]. Balitbangtan Kementan. [diunduh 2018 Januari 20]. 2017; Tersedia pada: <http://pangan.litbang.pertanian.go.id/files/seminar/2017/Seminar%20Puslitbang%20Ikhwani%2009022017.pdf>
 45. Jones JM. Glycemic response definitions. AACC International. 2007; 27 (2): 54-55.
 46. Septianingrum E, Liyanan, Kusbiantoro B. Review indeks glikemik beras: faktor-faktor yang mempengaruhi dan keterkaitannya terhadap kesehatan tubuh. *Jurnal Kesehatan*. 2016; 9: 1-9.
 47. Ali A, Al-Kindi YSM, Al-Said F. Chemical Composition and glycemic index of three varieties of Omani dates. *Int J Food Sci Nutr*. 2008. 60(S4): 51-62.
 48. Widowati S, Santosa BAS, Astawan M, Akhyar. Penurunan Indeks Glikemik Berbagai Varietas Beras Melalui Proses Pratanak. *J Pascapanen*. 2009; 6: 1-9.
 49. Auliya SS. Sifat fisikokimia serta penurunan indeks glikemik beras hitam dan beras merah pratanak. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2017.
 50. Wahab MI, Satoto, Rahmat R, Guswara A, Suharna. Deskripsi Varietas Unggul Baru Padi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian. 2017.
 51. Suprihatno B, Daradjat AA, Satoto, Baehaki, Suprihanto, Setyono A, Indrasari SD, Wardana IP, Sembiring H. Deskripsi Varietas Padi. Subang: Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 2010; 4.
 52. Grabitske HA, Slavin JL. Gastrointestinal effects of low-digestible carbohydrates. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2009; 49: 327-60.
 53. Al-Mssallem MQ, Frost GS, Brown JE. The metabolic effects of two meals with the same glycaemic index but different slowly available glucose parameters determined in vitro: a pilot study. *Ann Nutr Disord & Ther*. 2014; 1(1): 5.
 54. Englyst KN, Englyst HN. Carbohydrate bioavailability. *BJN*. 2005; 94(1):1-11.
 55. Widayati CSW. Komparasi beberapa metode estimasi kesalahan pengukuran. *Jurnal Penelitian dan Evaluasi Pendidikan*. 2009; 13(2): 182-197.