

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Suplementasi Soya Yogurt Untuk Perbaikan Kelimpahan Mikroba Sekum (Bakteri Asam Laktat Dan *Escherichia coli*) Tikus Diabetes

Soya Yogurt Supplementation To Improve Abundance Of Cecum Microbial (Lactic Acid Bacteria And *Escherichia coli*) In Diabetic Rats

Ni Wayan Desi Bintari^{1*}, Putu Ayu Parwati²

^{1,2}Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Diploma Tiga STIKes Wira Medika Bali

*Email: desibintari@gmail.com

INTISARI

Disbiosis mikroba usus dapat memicu terjadinya sindrom metabolik. Peningkatan bakteri patogen akibat disbiosis memperbanyak pelepasan lipopolisakarida yang mendasari resistensi insulin pada diabetes melitus (DM). Modulasi mikrobiota usus menuju eubiosis penting dilakukan salah satunya melalui konsumsi probiotik. Produk probiotik yang potensial dikembangkan adalah soya yogurt yang mengandung bakteri hidup dan tinggi protein serta isoflavon. Tujuan penelitian ini adalah menguji pengaruh suplementasi soya yogurt terhadap kelimpahan mikroba sekum (Bakteri Asam Laktat dan *Escherichia coli*) tikus DM. Penelitian dilakukan di Laboratorium Stikes Wira Medika Bali (Mei-September 2020). Jenis penelitian adalah eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap. Kelompok percobaan terdiri atas K1 (tikus sehat); K2 (tikus DM); K3 (tikus DM disuplementasi soya yogurt); K4 (tikus DM disuplementasi *milk based* yogurt); K5 (tikus sehat disuplementasi soya yogurt); K6 (tikus sehat disuplementasi *milk based* yogurt). Pengkondisian diabetes melitus dilakukan dengan induksi nikotinamid 230 mg/kg BB dan streptozotolin 65 mg/kg BB dosis tunggal. Analisa total BAL dan *E. coli* dilakukan dengan *Total Plate Count* melalui teknik dilusi. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan suplementasi soya yogurt pada tikus diabetes selama 28 hari berpengaruh terhadap kelimpahan mikroba sekum. Total kelimpahan BAL pada tikus dengan diabetes adalah $7,36 \pm 0,15$ Log₁₀ CFU/mL dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan tikus dengan perlakuan suplementasi soya yogurt yaitu sebanyak $8,08 \pm 0,1$ Log₁₀ CFU/mL. Kelimpahan *E. coli* pada tikus dengan diabetes adalah $9,42 \pm 0,12$ Log₁₀ CFU/mL dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan tikus dengan perlakuan suplementasi soya yogurt yaitu sebanyak $8,14$ Log₁₀ CFU/mL. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan suplementasi soya yogurt secara teratur berkorelasi positif dalam perbaikan kelimpahan mikroba sekum tikus diabetes melitus.

Kata kunci: Disbiosis, hiperglikemia, isoflavon, probiotik

ABSTRACT

Intestinal microbial dysbiosis will triggers metabolic syndrome. The increase in pathogenic bacteria in dysbiosis triggers the high release of lipopolysaccharides which underlie the incidence of insulin resistance in diabetes mellitus. It is important to modulate the intestinal microbiota towards eubiosis through consumption of probiotics. A potential probiotic product is soy yogurt which contains live bacteria and high protein and isoflavones. The aim of this study was to examine the effect of soy

yogurt supplementation on the abundance of cecum microbes (Lactic Acid Bacteria and *Escherichia coli*) in diabetic rats. The research was conducted at the Laboratory of Stikes Wira Medika Bali. Type of research is experimental with a completely randomized design consist of 6 groups. The conditioning of diabetes mellitus was done by induction of nicotinamide 230 mg / kg BW and streptozotocin 65 mg / kg BW. Abundance of cecum microbes analysis using Total Plate Count. The results showed soya yogurt supplementation in rat with diabetes mellitus influential to improving the abundance of microbial cecum. The total abundance of LAB in diabetic rat was $7.36 \pm 0.15 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$ and was significantly different ($p < 0.05$) compared to diabetic rat treated with soy yogurt supplementation, namely as much as $8.08 \pm 0.1 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$. Meanwhile, the abundance of *E. coli* in diabetic rat was $9.42 \pm 0.12 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$ and was significantly different ($p < 0.05$) compared to rats treated with soy yogurt supplementation, namely $8.14 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$. In conclusion, this study show that soya yogurt supplementation has positive correlation to improve cecum microbial density in diabetic rat.

Key words: Dysbiosis, hyperglycemia, isoflavones, probiotics

PENDAHULUAN

Sistem gastrointestinal manusia merupakan sistem dengan mikrobioma terbesar yang memiliki peran penting dalam sistem imunitas, nutrisi dan perkembangan manusia (Hasibuan & Kolondam, 2017). Mikrobiota usus dalam kondisi seimbang (eubiosis) berperan penting dalam menjaga stabilitas fisiologis tubuh (Mutua *et al.*, 2020). Ketidakseimbangan mikrobiota usus dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas sistem imun. Sebagai dampaknya, disbiosis mikroba usus mengakibatkan munculnya penyakit autoimun dan sindrom metabolik, salah satunya adalah diabetes melitus tipe 2 (DMT2) (Sudarmono, 2016; Hosainzadegan, 2019).

Pada DMT2 terjadi penurunan fungsi sel beta pankreas dan peningkatan resistensi insulin yang berlanjut. Kejadian resistensi tersebut dilaporkan berkorelasi erat dengan peningkatan bakteri patogen sebagai akibat dari terjadinya disbiosis mikroba usus (Kau *et al.*, 2001; Gurung *et al.*, 2020; Chakaroun *et al.*, 2020). Berdasarkan hal tersebut banyak penelitian terkait yang memfokuskan pada pengaturan makanan (diet) yang tepat untuk memodulasi kembali keseimbangan mikrobiota usus pada DMT2 (Azad *et al.*, 2018; Rittiphairoj *et al.*, 2019).

Modulasi mikrobiota usus dapat dilakukan secara langsung dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung probiotik salah satunya yogurt atau susu fermentasi (Azad *et al.*, 2018). Bahan baku

pembuatan yogurt selain menggunakan susu sapi juga dapat dibuat dari susu kedelai yang dikenal dengan soya yogurt (Akusu & Wordu, 2017). Kedelai merupakan sumber pangan fungsional yang kaya akan protein dan isoflavones. Isoflavone telah banyak diteliti memiliki efek positif dalam meningkatkan sensitivitas insulin di dalam tubuh (Konya *et al.*, 2019; Sefni *et al.*, 2019; Uchitomi *et al.*, 2019). Selain itu konsumsi protein kedelai menurut Butteiger *et al.* (2016) secara signifikan berpengaruh dalam modulasi mikrobiota usus. Fujisawa *et al.*, (2017) juga melaporkan berdasarkan hasil *pilot study* konsumsi susu kedelai secara teratur berpengaruh dalam peningkatan kolonisasi spesies *Bifidobacterium* di dalam usus dan menurunkan spesies *Enterobacteriaceae*.

Pada penelitian ini kombinasi dari protein kedelai, isoflavone dan probiotik pada *soya yogurt* diharapkan dapat berpengaruh signifikan dalam perbaikan disbiosis mikrobiota usus pada tikus yang diinduksi diabetes melitus. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh suplementasi soya yogurt terhadap kelimpahan mikroba sekum pada tikus dengan diabetes melitus. Selain itu penelitian ini bertujuan mengetahui perbedaan efektivitas soya yogurt dengan *milk based yogurt* (susu sapi fermentasi) dalam perbaikan kelimpahan mikroba sekum tikus dengan diabetes melitus.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian adalah eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian meliputi pemeliharaan, pemberian perlakuan dan pemeriksaan hewan uji dilakukan di Lab. Hematologi dan Lab. Bakteriologi STIKes Wira Medika Bali pada Mei-September 2020. Protokol penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian (KEP) FK Universitas Udayana/RSUP Sanglah Denpasar dengan nomor 1703/UN14.2.2. VII.14/LT/2020.

Pembuatan soya yogurt dan *milk based* yogurt

Sari kedelai dipasterurisasi selama 30 menit kemudian ditambahkan susu skim sebanyak 15% volume. Pada *milk based* yogurt susu sapi UHT ditambahkan susu skim sebanyak 15% volume. Hasil campuran didinginkan sampai suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ kemudian diinokulasikan starter yogurt dengan kultur aktif *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* sebanyak 10% dengan perbandingan 1:1 sehingga dihasilkan yogurt dengan pH asam. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 12 jam dan dapat disimpan pada kulkas pendingin (Corrieu & Béal, 2015).

Persiapan dan pengkondisian hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar usia 1-2 bulan dengan berat badan rata-rata 100-120 gram/ekor. Pemeliharaan hewan uji sesuai dengan Kartika *et al.* (2014) yang dimodifikasi. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari sebelum dilakukan intervensi. Selama aklimatisasi dan intervensi tikus dipelihara dalam kandang yang dilengkapi alas tidur kayu pasahan, air minum dan diberikan pakan berbentuk pelet tepung secara *ad libitum* sebanyak 2 kali sehari. Penerangan diatur dengan intensitas 12 jam terang dan 12 gelap dengan suhu rata-rata ruangan 25-26°C.

Pengkondisian hewan uji dengan diabetes melitus dilakukan dengan pemberian induksi nikotinamid (NA) 230 mg/kg BB dan streptozotolin (STZ) 65 mg/kg BB dosis tunggal (Husna *et al.*, 2019). Sebelum diberi

perlakuan dilakukan pengukuran gula darah puasa menggunakan glukometer Easy Touch™ dan tikus dipuasakan selama ± 16 jam. Setelah 72 jam pasca induksi hewan coba dilakukan pengecekan gula darah puasa. Tikus dinyatakan positif diabetes melitus apabila kadar gula darahnya > 200 mg/dl (Lukacinova *et al.*, 2016).

Desain percobaan

Hewan uji dikelompokkan ke dalam 6 kelompok percobaan yang terdiri dari masing-masing 5 ekor tikus. Kelompok percobaan terdiri atas K1 (tikus dalam kondisi sehat); K2 (tikus dengan diabetes melitus); K3 (tikus dengan diabetes melitus dan diberikan suplementasi soya yogurt); K4 (tikus dengan diabetes melitus dan diberikan suplementasi *milk based* yogurt); K5 (tikus sehat dan diberikan suplementasi soya yogurt) dan K6 (tikus sehat dan diberikan suplementasi *milk based* yogurt). Perlakuan diberikan sebanyak 1x sehari sebanyak 4 mL (Bintari & Parwati, 2019) pada pagi hari selama 28 hari dengan menggunakan sonde oral.

Pengorbanan hewan uji

Hewan uji yang telah diberikan perlakuan selama 28 hari dikorbankan dengan sebelumnya dianestesi dengan kloroform (Putri, 2018). Bagian abdomen dibedah kemudian organ sekum diambil dan dibersihkan dengan larutan saline dan selanjutnya dilakukan analisa terhadap sampel isi sekum yang meliputi pemeriksaan mikroba sekum dan pengukuran pH isi sekum.

Analisa mikroba sekum

Analisa mikroba sekum yang dilakukan meliputi perhitungan total bakteri asam laktat (BAL) dan total *Escherichia coli* sesuai dengan Arief *et al.* (2010) yang dimodifikasi. Perhitungan menggunakan *Total Plate Count* (TPC) melalui teknik dilusi. Sampel isi sekum dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} . Perhitungan total BAL dilakukan dengan menginokulasikan 1 mL sampel pada faktor pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} pada media deMan Rogosa Sharpe Agar (MRSA) dengan

indikator *Bromo Cresol Purple* (BCP) dan diinkubasi secara an aerob (Affan *et al.*, 2019). Sedangkan untuk *E. coli* dilakukan inokulasi sampel pada media Eosin Metiline Blue Agar (EMBA) secara aerob. Inkubasi sampel dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada masing-masing media dilakukan perhitungan total bakteri dengan mengalikan jumlah koloni yg dihitung dengan faktor pengenceran.

Analisa data

Data hasil penelitian dilakukan analisa *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila terdapat beda nyata maka dilakukan uji duncan (DMRT) pada taraf kepercayaan 5%.

HASIL

Induksi diabetes melitus pada hewan uji

Tikus jantan sehat pada tahap aklimatisasi memiliki kisaran nilai gula darah puasa rata-rata berkisar pada 95-104 mg/dL. Setelah dilakukan induksi dengan nikotinamid (NA) 230 mg/kg BB dan streptozotolin (STZ) 65 mg/kg BB dosis tunggal terjadi peningkatan yang signifikan pada gula darah puasa (GDP) tikus setelah 72 jam pasca perlakuan. Tikus dengan induksi diabetogen memiliki nilai GDP rata-rata berkisar pada 510-518 mg/dL (Tabel 1). Nilai GDP tersebut telah > 200 mg/dL sehingga tikus dapat dikategorikan telah positif diabetes melitus dan selanjutnya diberikan perlakuan suplementasi.

Tabel 1. Kadar Gula Darah Hewan Uji Pasca Pengkondisian Diabetes Melitus

No.	Kelompok perlakuan	Nilai Gula Darah (mg/dL)	
		Sebelum induksi DM	Setelah induksi DM
1.	K1	98,2±2,4 ^a	95,8 ± 5,8 ^a
2.	K2	97,9±3,2 ^a	518,6 ± 22,5 ^b
3.	K3	101,2±3,4 ^a	573 ± 18,4 ^b
4.	K4	95,6±4,2 ^a	510,2 ± 18,9 ^b
5.	K5	99,7±5,1 ^a	94,2 ± 4,1 ^a
6.	K6	100,6±2,2 ^a	104,8 ± 4,7 ^a

Keterangan :

1. K1, K5, K6 (tikus sehat), K2, K3, K4 (tikus DM, induksi stz dan nikotinamid)

2. Huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan taraf kepercayaan 5%. Hasil merupakan nilai rata-rata dari 5 ulangan.

Total BAL isi sekum

Perlakuan suplementasi soya yogurt pada tikus dengan DM selama 28 hari menunjukkan hasil yang efektif dalam meningkatkan kolonisasi BAL. Hal tersebut ditunjukkan dengan adanya beda nyata signifikan ($P < 0,05$) pada perlakuan K3 dibandingkan dengan K2 (kontrol positif) (Tabel 2). Pemberian soya yogurt juga diketahui dapat memicu normalitas kolonisasi BAL pada sekum yang ditunjukkan dengan tidak adanya beda nyata ($p < 0,05$) total BAL sekum pada K3 dibandingkan dengan tikus sehat (K1). Meskipun demikian ditinjau dari perbedaan efektifitasnya dibandingkan *milk based* yogurt diketahui tidak ada beda nyata ($P < 0,05$) antara suplementasi soya yogurt dan *milk based* yogurt dalam normalisasi BAL sekum tikus dengan diabetes melitus.

Tabel 2. Total bakteri asam laktat (BAL) isi sekum

No.	Kelompok perlakuan	Total BAL (Log10 CFU/g)	Rata-rata GDL (mg/dL)
1.	K1	7,84±0,31 ^a	103,2±8,35 ^c
2.	K2	7,36±0,15 ^b	423±43,76 ^a
3.	K3	8,08±0,11 ^a	213,2±39,76 ^b
4.	K4	8,07±0,08 ^a	260,2±32,32 ^b
5.	K5	8,14±0,23 ^a	103±8,60 ^c
6.	K6	8,34±0,40 ^a	98,6±7,89 ^c

Keterangan :

1. K1 (tikus sehat), K2 (tikus dengan DM), K3 (Tikus DM, suplementasi soya yogurt), K4 (Tikus DM suplementasi *milk based* yogurt), K5 (Tikus sehat suplementasi soya yogurt), K6 (Tikus sehat suplementasi *milk based* yogurt).

2. Huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan taraf kepercayaan 5%. Hasil merupakan nilai rata-rata dari 5 ulangan.

Berdasarkan Tabel 2. juga dapat diketahui bahwa normalitas dari nilai BAL pada tikus yang disuplementasi soya yogurt (K3) serta *milk based* yogurt berkorelasi positif dengan penurunan kadar rata-rata GDP tikus dibandingkan dengan pasca induksi DM (Tabel

1). Suplementasi soya yogurt dan *milk based* yogurt secara teratur diketahui dapat menurunkan kadar gula darah tikus yg diinduksi diabetes. Hal tersebut terlihat dari adanya beda nyata signifikan ($P < 0,05$) pada perlakuan K3 dan K4 dibandingkan dengan tikus DM tanpa suplementasi (K2) (Tabel 2).

Total *E. coli* dan pH isi sekum

Suplementasi soya yogurt pada tikus dengan diabetes melitus juga berkorelasi positif terhadap normalitas bakteri *E. coli* pada sekum. Berdasarkan hasil analisa statistik diketahui tidak ada beda nyata ($P < 0,05$) pada total *E. coli* yang disuplementasi soya yogurt (K3) dibandingkan dengan tikus sehat (K1) (Tabel 3). Terdapat beda nyata signifikan ($P < 0,05$) antara perlakuan K3 dibandingkan dengan kontrol positif DM (K2) (Tabel 3), hal tersebut menunjukkan suplementasi soya yogurt secara nyata dapat mempengaruhi kolonisasi *E. coli* pada sekum tikus dengan DM. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada perlakuan K4, dimana suplementasi *milk based* yogurt juga berpengaruh positif terhadap normalitas total *E. coli* yang ditunjukkan dengan tidak adanya beda nyata ($P < 0,05$) dengan kelompok K1 dan K3.

Tabel 3. Total bakteri *E. coli* dan pH isi sekum

No.	Kelompok perlakuan	Total <i>E. coli</i> (Log10 CFU/g)	pH
1.	K1	8,28±0,42 ^a	6,76±0,17 ^a
2.	K2	9,42±0,12 ^b	6,80±0,17 ^a
3.	K3	8,14±0,08 ^a	6,56±0,21 ^a
4.	K4	8,03±0,11 ^a	6,50±0,22 ^a
5.	K5	8,33±0,02 ^a	6,80±0,06 ^a
6.	K6	8,28±0,22 ^a	6,74±0,05 ^a

Keterangan :

1. K1 (tikus sehat), K2 (tikus dengan DM), K3 (Tikus DM, suplementasi soya yogurt), K4 (Tikus DM suplementasi *milk based* yogurt), K5 (Tikus sehat suplementasi soya yogurt), K6 (Tikus sehat suplementasi *milk based* yogurt).

2. Huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan taraf kepercayaan 5%. Hasil merupakan nilai rata-rata dari 5 ulangan.

Ditinjau dari nilai pH isi sekum diketahui bahwa tidak ada pengaruh nyata sindrom DM nilai pH sekum. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak adanya beda nyata ($P < 0,05$) pada tikus DM (K2) dibandingkan dengan tikus sehat (K1) (Tabel 3). Suplementasi soya yogurt dan *milk based* yogurt juga diketahui tidak berpengaruh signifikan terhadap pH isi sekum baik pada tikus sehat maupun tikus dengan sindrom DM (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Pengkondisian diabetes melitus pada hewan uji dengan induksi nikotinamid (NA) 230 mg/kg BB dan streptozotolin (STZ) 65 mg/kg BB dosis tunggal secara signifikan meningkatkan kadar GDP setelah 72 jam perlakuan. Pada kelompok tikus diabetes rata-rata kadar GDP pasca induksi adalah 518,6±22,5 mg/dL (K2), 573±18,4 (K3) dan 510,2±18,9 (K4) (Tabel 1). Sedangkan pada kelompok tikus sehat kadar GDP pada rentang normal yaitu berkisar pada 95,8-104,8 mg/dL (Tabel 1). Tikus sehat menurut Wolfenshon and Lloyd (2013) memiliki kadar GDP normal yang sama dengan manusia yaitu berkisar pada 50-135 mg/dL. Tikus dikategorikan prediabetes menurut Fajardo *et al.* (2014) jika kadar GDP pada kisaran 200-250 mg/dL dan diabetes jika kadar GDP > 250 mg/dl.

Hasil pengkondisian tikus diabetes ini mendukung beberapa penelitian lain terkait efektifitas dari induksi NA dan STZ pada model hewan uji diabetes melitus. Induksi NA 230 mg/kg BB dan STZ 65 mg/kg BB dosis tunggal juga dilaporkan efektif dalam menginduksi tikus diabetes dengan menimbulkan hiperglikemia dengan kadar gula darah > 250 mg/dL (Ghasemi *et al.*, 2014; Raya *et al.*, 2016) (Palupi *et al.*, 2019). Signifikansi peningkatan kadar gula darah akibat induksi NA dan STZ menurut Ghasemi *et al.* (2014) sangat bervariasi. Beberapa hasil penelitian menunjukkan kondisi tersebut akan sangat bergantung pada dosis dari NA dan STZ yang digunakan, umur dan kondisi stress/ fisiologis hewan coba serta waktu relatif dari pemberian kedua diabetogen (Pandya *et al.*, 2010; Szkudelski, 2012).

Berdasarkan tipe diabetes yang ditimbulkan, induksi NA dan STZ menurut Elamin *et al.* (2018) dapat menyebabkan tikus mengalami diabetes melitus tipe 2. Sindrom tersebut didasarkan pada efek hiperglikemia, respon metformin, dislipidemia dan perubahan histopatologi yang ditimbulkan. Streptozotisin bersifat sitotoksik pada sel β pankreas. Gugus metilnitrosourea yang terkandung pada STZ dapat menyebabkan terjadinya metilasi DNA terutama pada posisi O⁶ guanin yang pada akhirnya menyebabkan nekrosis pada sel β pankreas (Eleazu *et al.*, 2013). Sedangkan NA merupakan inhibitor poli ADP ribosa polimerase (PARP) yang dapat menghambat metilasi DNA. Pemberian NA berfungsi untuk memproteksi sel pankreas agar tidak mengalami kerusakan masif akibat induksi dari STZ sehingga dampak diabetes yang dihasilkan cenderung konstan meskipun sangat tergantung dari kondisi penelitian (Szkudelski, 2012; Husna *et al.*, 2019).

Pada penelitian ini diketahui terdapat korelasi antara kadar gula darah tikus terhadap total mikroba sekum yaitu BAL dan *E. coli*. Pada tikus dengan diabetes melitus (K2, kontrol positif) diketahui total BAL isi sekum rata-rata sebanyak $7,36 \pm 0,15$ Log₁₀ CFU/g dan berbeda nyata secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan tikus sehat (K1). Adapun total BAL isi sekum pada tikus diabetes melitus (K2) lebih sedikit dibandingkan dengan tikus sehat (K1) (Tabel 2). Hasil yang berbeda ditunjukkan pada total kelimpahan *E. coli* isi sekum. Pada tikus diabetes melitus (K2, kontrol positif) jumlah *E. coli* lebih banyak ($9,42 \pm 0,42$ Log₁₀ CFU/g) dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan tikus sehat ($8,28 \pm 0,42$ Log₁₀ CFU/g). Meskipun demikian perbedaan total mikroba isi sekum pada kelompok K1 dan K2 diketahui tidak berpengaruh terhadap perubahan pH isi sekum.

Pada penelitian ini kejadian disbiosis BAL tikus diabetes (K2) ditunjukkan dengan terjadinya penurunan kelimpahan BAL pada isi sekum dibandingkan dengan tikus sehat (K1). Selain itu terjadi peningkatan kelimpahan bakteri *E. coli* yang merupakan kelompok Gram negatif pada sekum (Tabel 2 dan 3). Hasil

tersebut mendukung penelitian yang menyatakan bahwa keseimbangan mikrobiota usus sangat berpengaruh terhadap kontrol metabolisme (Azad *et al.*, 2018).

Pada kondisi DMT2 disbiosis mikroba usus menyebabkan terjadinya gangguan permeabilitas usus. Gangguan tersebut disebabkan karena pada umumnya DMT2 diawali oleh konsumsi diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak menyebabkan rusaknya protein *tight-junction* yaitu Zonula Occludens-1 (ZO-1) dan Occludin yang terlibat dalam mekanisme pertahanan usus. Selain itu diet tinggi lemak juga memicu penurunan fungsi *intestinal alkaline phosphatase* (IAP) yang berfungsi sebagai proses detoksifikasi lipopolisakarida (LPS) yang merupakan endotoksin yang diproduksi oleh bakteri Gram negatif (Vrieze *et al.*, 2010; Jinjie *et al.*, 2012; D'aversa *et al.*, 2013). Terganggunya permeabilitas usus menyebabkan LPS yang seharusnya berada di saluran cerna masuk ke sirkulasi dan mencetus *systemic low grade inflammation* dan endotoksimea. Keadaan tersebut selanjutnya mendasari penurunan sensitivitas insulin pada hati, otot dan jaringan adiposa dan kemudian berakhir pada resistensi insulin (Cani, 2013).

Pemberian suplementasi soya yogurt pada tikus dengan diabetes (K3) pada penelitian ini diketahui berpengaruh signifikan terhadap kadar gula darah dan mikroba sekum dibandingkan kelompok kontrol positif diabetes (K2). Suplementasi soya yogurt (K3) setelah 28 hari perlakuan dapat menurunkan GDL dari $573 \pm 18,4$ mg/dL (Tabel 1) menjadi $213,2 \pm 39,76$ mg/dL. Ditinjau dari mikroba sekum, terdapat beda nyata pada total BAL dan *E. coli* kelompok K3 dibandingkan K2 (tikus diabetes). Total BAL pada K2 sebanyak $7,36 \pm 0,15$ Log₁₀ CFU/g sedangkan pada K3 sebanyak $8,08 \pm 0,11$ Log₁₀ CFU/gr (Tabel 2). Hasil uji statistik menunjukkan total BAL pada K3 tidak berbeda nyata dengan K1 (tikus sehat), sehingga hasil tersebut menunjukkan suplementasi soya yogurt pada penelitian ini berpengaruh terhadap normalisasi kelimpahan BAL pada sekum tikus. Sementara itu ditinjau dari kelimpahan *E. coli* pada sekum diketahui terdapat perbedaan nyata pada kelompok perlakuan K3 dibandingkan K2.

Pada K2 total *E. coli* pada sekum sebanyak $9,42 \pm 0,12$ Log₁₀ CFU/g dimana jumlahnya lebih banyak dan berbeda nyata dengan tikus sehat (K1). Pada perlakuan K3 total *E. coli* pada sekum sebanyak $8,14 \pm 0,08$ Log₁₀ CFU/g dimana jumlah tersebut tidak berbeda nyata dengan tikus sehat (K1).

Efektivitas soya yogurt dalam menurunkan gula darah dan memperbaiki kolonisasi mikroba usus pada tikus dengan diabetes melitus sangat berkaitan erat dengan kandungan probiotik dan kandungan bioaktif dari susu kedelai sebagai bahan bakunya (Barengolts *et al.*, 2019; Dan Ramdath *et al.*, 2017). Probiotik merupakan strain mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi dalam jumlah yang seimbang dapat bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Strain probiotik telah banyak dilaporkan memberikan efek positif dalam upaya pencegahan dan pengendalian penyakit degeneratif seperti obesitas, diabetes, kanker, penyakit jantung dan hati (Azad *et al.*, 2018). Beberapa probiotik yang telah diteliti efektivitasnya seperti dari kelompok *Lactobacillus* sp. (Ostadrahimi *et al.*, 2015; Azad *et al.*, 2018), *Bifidobacterium* sp. (Ostadrahimi *et al.*, 2015; Groele *et al.*, 2017), *Streptococcus* sp. (Chen *et al.*, 2016; (Gao *et al.*, 2019) dan *Bacillus* sp. (Bazjoo dan Jafari, 2016).

Mikrobiota usus memiliki peran penting di dalam menjaga fungsi dan integritas saluran pencernaan, homeostatis dan energi metabolisme (Pflughoeft and Versalovic, 2012). Adanya perubahan komposisi mikrobiota tersebut akan mempengaruhi interaksi antara mikroba dengan hostnya yang berakhir pada kemunculan penyakit degeneratif (Cani *et al.*, 2013). Pada kondisi tersebut konsumsi probiotik dapat membantu pemulihan regulasi metabolisme melalui modulasi pertumbuhan mikrobiota normal saluran pencernaan (Panwar *et al.*, 2012).

Probiotik dalam mekanismenya memperbaiki mikrobiota normal dapat memproduksi zat antimikroba atau senyawa metabolit lainnya yang dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme lain selain mikrobiota normal (O'shea *et al.*, 2011). Selain

itu probiotik berperan dalam memodulasi host untuk memproduksi β defensins dan IgA yang berperan dalam mekanisme pertahanan tubuh awal terhadap patogen. Probiotik juga dilaporkan dapat membentuk barrier pertahanan usus dengan memproduksi mucin dan tight junction. Probiotik dapat memediasi imunomodulasi dengan memicu sekresi sitokin melalui jalur persinyalanan seperti NF κ B dan MAPK yang dapat mempengaruhi proliferasi dan diferensiasi sel kekebalan (seperti sel T) atau sel epitel (Thomas & Versalovic, 2010).

Soya yogurt juga memiliki potensi yang baik untuk diteliti selanjutnya karena tingginya kandungan protein, isoflavone dan zat metabolit yang diduga berpengaruh dalam normalisasi mikroba saluran cerna dan menurunkan kadar gula darah (Huang *et al.*, 2016). Susu kedelai sebagai komposisi utama mengandung 24% protein seperti glycine dan β -conglycinin, 45% karbohidrat meliputi raffinosa, sukrosa, fruktosa, glukosa, galaktosa dan mono serta oligosakarida lainnya dan 31% minyak esensial. Kandungan nutrisi tersebut dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme spesifik dan berpengaruh terhadap komposisi mikroba saluran cerna (Messina, 2016). Fernandez-Raudales *et al.*, (2012) melaporkan konsumsi susu kedelai dapat menurunkan populasi Bacteroidetes dan Proteobacteria dan meningkatkan kolonisasi Firmicutes dan Bacteroidetes. Perubahan rasio kelimpahan Firmicutes dan Bacteroidetes dilaporkan berpengaruh baik bagi kesehatan termasuk menurunkan resiko sindrom metabolik (Zhang *et al.*, 2010; Carmody *et al.*, 2015).

Pada penelitian ini kemampuan soya yogurt dalam memodulasi mikrobiota usus tidak berbeda nyata dengan perlakuan suplementasi *milk based* yogurt (Tabel 3). Berdasarkan hal tersebut soya yogurt sangat perlu dikembangkan potensinya sebagai makanan probiotik disamping yogurt susu sapi pada umumnya. Menurut Akusu & Wordu (2017), soya yogurt dapat dijadikan alternatif produk *non-dairy* khususnya bagi konsumen dengan laktosa intoleran. Soya yogurt juga dilaporkan memiliki nilai kolesterol yang rendah dibandingkan produk *dairy*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Serlahwaty *et al.* (2015) pada produksi soya yogurt, kandungan susu kedelai yang tinggi menghasilkan produk yogurt yang lebih encer, sehingga perlu pengental salah satunya susu skim. Pada penelitian ini soya yogurt yang diproduksi masih mengandung susu skim sehingga terdapat kandungan laktosa didalamnya. Disarankan pada penelitian selanjutnya produksi soya yogurt dilakukan dengan menggunakan susu kedelai murni sehingga dapat diteliti dan dikembangkan lebih lanjut sebagai diet sehat diabetes khususnya pada kondisi intoleransi laktosa.

KESIMPULAN

Suplementasi soya yogurt secara teratur pada tikus dengan diabetes melitus berkorelasi positif dalam perbaikan kolonisasi mikroba sekum dan kadar gula darah. Tidak ada beda nyata ($P < 0,05$) antara suplementasi soya yogurt dan *milk based* yogurt dalam normalisasi BAL sekum tikus dengan diabetes melitus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dapat terlaksana atas pendanaan hibah Dosen Pemula Kementerian Riset dan Teknologi/ Badan Riset dan Inovasi Nasional (Kemenristek/BRIN).

DAFTAR PUSTAKA

Affan, H. T., Y. Ramona., N.L. Suriani. (2019). Produksi virgin coconut oil (VCO) yang dikatalis oleh *Lactobacillus plantarum* dan Enzim yang terkandung dalam sari nanas. *Metamorfosa*, 6(2), 148-155. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2019.v06.i02.p03>

Akusu, O., and G. Wordu. (2017). Production and Evaluation of Composite Soymilk Yoghurt. *Indian Journal of Nutrition*, 4(4), 1–4. Retrieved from <https://www.opensciencepublications.com/wp-content/uploads/IJN-2395-2326-4-168.pdf>

Arief, I. I., B. S. L Jenie., M. Astawan., A. B. Witarto. (2010). Efektivitas probiotik *Lactobacillus plantarum* 2C12 dan *Lactobacillus acidophilus* 2B4 sebagai pencegah diare pada tikus percobaan.

Media Peternakan, 33(3), 137–143. <https://doi.org/10.5398/medpet.2010.33.3.137>

Azad, M. A. K., M. Sarker., T. Li., J. Yin. (2018). Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. *BioMed Research International*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/9478630>

Barengolts, E., E. D. Smith., S. Reutrakul., L. Tonucci., T. Anothaisintawee. (2019). The effect of probiotic yogurt on glycemic control in type 2 diabetes or obesity: A meta-analysis of nine randomized controlled trials. *Nutrients*, 11(3), 6–8. <https://doi.org/10.3390/nu11030671>

Bazjoo A., P. Jafari. (2016). Effect of cumin extract and bacillus subtilis JQ61819 on reducing blood sugar and improving lipid profile in diabetic rats. *NCMBJ*. 6 (22) :83-90. <http://ncmbjpiu.ir/article-1-814-en.html>

Bintari, N. W. D., and P. A. Parwati. (2019). Beneficial effect of soygurt intake in type 2 diabetes mellitus in animal model rat (*Rattus norvegicus*). *Medical Laboratory Technology Journal*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.31964/mltj.v>

Butteiger, D. N., A. A. Hibberd., N. J. McGraw., N. Napawan., J. M. Hall-Porter., E. S. Krul. (2016). Soy protein compared with milk protein in a western diet increases gut microbial diversity and reduces serum lipids in Golden Syrian hamsters. *Journal of Nutrition*, 146(4), 697–705. <https://doi.org/10.3945/jn.115.224196>

Cani, P. D. (2013). Gutmicrobiota and obesity: Lessons from the microbiome. *Briefings in Functional Genomics*, 12(4), 381–387. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elt014>

Carmody, R. N., G. K. Gerber., J. M. Luevano., D. M. Gatti., L. Somes, L., K. L. Svenson., P. K. Turnbaugh. (2015). Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host Microbe*, 17, 72–84.

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25532804/>
- Chakaroun, R. M., L. Massier., P. Kovacs. (2020). Gut microbiome, intestinal permeability, and tissue bacteria in metabolic disease: Perpetrators or bystanders? *Nutrients*, 12(4), 1–30. <https://doi.org/10.3390/nu12041082>
- Chen, L., H. Zhao., C. Zhang., Y.Lu., X. Zhu. (2016). γ -Aminobutyric acid-rich yogurt fermented by *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophiles* fmb5 appears to have anti-diabetic effect on streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of Functional Foods*. 20: 267-275.
- Corrieu, G., and C. Béal. (2015). Yogurt: The Product and its Manufacture. In *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed.). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00766-2>
- Dan Ramdath, D., E.M.T. Padhi., S. Sarfaraz., S. Renwick., A.M. Duncan. (2017). Beyond the cholesterol-lowering effect of soy protein: A review of the effects of dietary soy and its constituents on risk factors for cardiovascular disease. *Nutrients*, 9(324), 1–24. <https://doi.org/10.3390/nu9040324>
- D'Aversa F., A. Tortora., G. Laniro., F.R. Ponziani., B.E. Annicchiarico., A. Gasbarrini. (2013). Gut microbiota and metabolic syndrome. *Intern Emerg Med*, 8 Suppl 1, S11–5. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23468402/>
- Elamin, N. M., I. Fadlalla., S. A. Omer., H. A. Ibrahim. (2018). Histopathological Alteration in STZ-Nicotinamide Diabetic Rats, a Complication of Diabetes or a Toxicity of STZ? *International Journal of Diabetes and Clinical Research*, 5(3), 1–8. <https://doi.org/10.23937/2377-3634/1410091>
- Eleazu, C. O., K. C. Eleazu., S. Chukwuma., U. N. Essien. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-60>
- Fajardo, R. J., L. Karim., V. I. Calley., M. L. Bouxsein. (2014). A review of rodent models of type 2 diabetic skeletal fragility. *Journal of Bone and Mineral Research*, 29(5), 1025–1040. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2210>
- Fernandez-Raudales, D., J. L. Hoeflinger., N. A. Bringe., S. B. Cox., S. E. Down., M. J. Miller., E. G. de Mejia. (2012). Consumption of different soymilk formulations differentially affects the gut microbiomes of overweight and obese men. *Gut Microbes*, 3(6), 490–500. <https://doi.org/10.4161/gmic.21578>
- Fujisawa, T., Y. Ohashi., R. Shin., A. Narai-Kanayama., T. Nagasaki. (2017). The effect of soymilk intake on the fecal microbiota, particularly Bifidobacterium species, and intestinal environment of healthy adults: A pilot study. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 36(1), 33–37. <https://doi.org/10.12938/bmfh.16-017>
- Gao, X., F. Wang., P. Zhao., R. Zhang., Q. Zeng. (2019). Effect of heat-killed *Streptococcus thermophilus* on type 2 diabetes rats. *PeerJ*, 7, 1–24. <https://doi.org/10.7717/peerj.7117>
- Ghasemi A., S. Khalifi., S. Jedi. (2014). Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review). *Acta Physiol Hung*, 101(4), 408-20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25532953/>
- Groele, L., H. Szajewska., A. Szypowska. (2017). Effects of Lactobacillus rhamnosus GG and Bifidobacterium lactis Bb12 on beta-cell function in children with newly diagnosed type 1 diabetes: Protocol of a randomised controlled trial. *BMJ Open*, 7(10), 1–7. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-017178>
- Gurung, M., Z. Li., H. You., R. Rodrigues., D.B. Jump., A. Morgun., N. Shulzhenko. (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*, 51(102590), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.051>

- Hasibuan, F. E. B., and B.J. Kolondam. (2017). Interaksi Antara Mikrobiota Usus Dan Sistem Kekebalan Tubuh Manusia. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 35–42. <https://doi.org/10.35799/jis.17.1.2017.15221>
- Hosainzadegan, H. (2019). Gut Microbiota and Metabolic Syndrome (Diabetes). *Annal of Short Reports*, 2(2), 1–8. <http://www.remedypublications.com/open-access/gut-microbiota-and-metabolic-syndrome-diabetes-692.pdf>
- Huang, H., H.B. Krishnan., Q. Pham., L.L. Yu., T.T.Y. Wang. (2016). Soy and Gut Microbiota: Interaction and Implication for Human Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(46), 8695–8709. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03725>
- Husna, F., Suyatna, F. D., Arozal, W., & Purwaningsih, E. H. (2019). Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(3), 131–141. <https://doi.org/10.7454/psr.v6i3.4531>
- Jinjie, Q., L. Yingrui., C. Zhiming., L. Shenghui., Z. Jianfeng., F. Zhang. (2012). A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 490(7418), 55–60. <https://www.nature.com/articles/nature11450>
- Kartika, D., F. N. Dewi., D. Iskandriati., I. Winoto., Permanawati., A. Narani., I. N. Budiarsa. (2014). Nilai parameter hematologi tikus sprague dawley dan mencit BALB/C di Indonesia sebagai referensi dalam penelitian biomedis. *Prosiding Konferensi Ilmiah Veteriner Nasional (KIVNAS)*, 13(November), 109–111.
- Kau, A. L., P. P. Ahern., N. W. Griffin., A. L. Goodman., J. I. Gordon. (2001). Human nutrition, the gut microbiome and immune system: envisioning the future. *British Journal of Intensive Care*, 474(7351), 327–336. <https://doi.org/10.18848/1835-7156/cgp/v02i04/37077>
- Konya, J., T. Sathyapalan., E. S. Kilpatrick., S. L. Atkin. (2019). The effects of soy protein and cocoa with or without isoflavones on glycemic control in type 2 diabetes. A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Frontiers in Endocrinology*, 10(MAY), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00296>
- Lukacinova, A., B. Hubkova., O. Racz., F. Nistiar. (2016). Animal models for study of diabetes mellitus. *Intech*, (13), 229–254. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
- Messina, M. (2016). Soy and health update: Evaluation of the clinical and epidemiologic literature. *Nutrients*, 8(12), 1–42. <https://doi.org/10.3390/nu8120754>
- Mutua, M. P., S. Muya., G. M. Muita. (2020). A General Perspective of Microbiota in Human Health and Disease. *Archives of Clinical Microbiology*, 11(2), 1–6. <https://doi.org/10.36648/1989-8436.11.2.106>
- O’Shea, E., P. Cotter., C. Stanton., R. Ross., C. Hill. (2011). Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid. *Int J Food Microbiol*, 152, 189–205. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21742394/>
- Ostadrahimi, A., A. Taghizadeh., M. Mobasseri., N. Farrin., L. Payahoo., B. Gheshlaghi., M. Vahedjabbari. (2015). Effect of probiotic fermented milk (Kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Iranian Journal of Public Health*, 44(2), 228–237.
- Palupi, F. D., B. Waskita., A.M.P Nuhriawangsa. (2019). Pengaruh dosis dan lama waktu pemberian ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica*) terhadap kadar gula darah dan derajat insulinitis tikus model diabetes melitus tipe 2. *Media Gizi Mikro Indonesia*, 10(2), 111–124. <https://doi.org/10.22435/mgmi.v10i2.588>
- Pandya, K. G., M.R. Patel., C.A. Lau-Cam. (2010). Comparative study of the binding

- characteristics to and inhibitory potencies towards PARP and in vivo antidiabetogenic potencies of taurine, 3-aminobenzamide and nicotinamide. *Journal of Biomedical Science*, 17(SUPPL. 1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-S1-S16>
- Panwar, H., H. M. Rashmi., V. K. Batish., S. Grover. (2012). Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes – prospects and perspectives. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*. 29(2). <https://doi.org/10.1002/dmrr.2376>
- Pflughoeft, K. and J. Versalovic. (2012). Human microbiome in health and disease. *Annu Rev Pathol*, 7, 99–122. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21910623/>
- Putri, F. M. S. (2018). Urgensi Etika Medis Dalam Penanganan Mencit Pada Penelitian Farmakologi. *Jurnal Kesehatan Madani Medika*, 9(2), 51–61. <https://doi.org/10.36569/jmm.v9i2.11>
- Raya, M. K., A. M. Legowo., N. Wijayahadi. (2016). Efektivitas ekstrak umbi sarang semut (*myrmecodia pendens merr.& perry*) sebagai penurun kadar glukosa darah tikus sprague dawley yang diabetes mellitus. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, 4(2), 138–144. <https://doi.org/10.14710/jgi.4.2.138-144>
- Rittiphairoj, T., K. Pongripul., N. T. Mueller., T. Li. (2019). Probiotics for glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: Protocol for a systematic review. *Systematic Reviews*, 8(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s13643-019-1145-y>
- Sefni, Efrizal, R. Rahayu. (2019). Pemanfaatan kombinasi tepung daun talas (*Colocasia esculenta* L. Schoot) dan tepung kedelai dalam formulasi pakan buatan terhadap pertumbuhan berat badan ikan gurami (*Osphronemus goramy* L.). *Metamorfosa*, 6(1), 44.50. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.v06.i01.p08>
- Serlahwaty, D., Syarmalina, & Sari, N. (2015). Analisis kandungan lemak dan protein terhadap kualitas soygurt dengan penambahan susu skim. *Berkala Ilmiah Farmasi*, 4(2), 35–42. Retrieved from <http://journal.unair.ac.id/download-fullpapers-bikf0c57c542542full.pdf>
- Sudarmono, P. P. (2016). Mikrobioma: Pemahaman Baru tentang Peran Mikroorganisme dalam Kehidupan Manusia. *Mikrobioma*, 4(2), 71–75. <https://doi.org/10.23886/ejki.4.6291.71-5>
- Szkudelski, Tomasz. (2012). Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental biology and medicine* Maywood, N.J., 237, 481-90. [10.1258/ebm.2012.011372](https://doi.org/10.1258/ebm.2012.011372).
- Thomas, C. M., and J. Versalovic. (2010). Probiotic-host communication: Modulation of Host Signaling Pathways. *Gut Microbes*, 1(3), 148–163. Retrieved from www.landesbioscience.com/journals/gutmicrobes/article/11712
- Uchitomi, R., S. Nakai., R. Matsuda., T. Onishi., S. Miura., Y. Hatazawa., Y. Kamei. (2019). Genistein, daidzein, and resveratrols stimulate PGC-1 β -mediated gene expression. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 17, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2018.11.009>
- Vrieze, A., F. Holleman., E.G. Zoetendal., V.M. De Vos., J.B.L Hoekstra., M. Nieuwdorp. (2010). The environment within: How gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Diabetologia*, 53(4), 606–613. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1662-7>
- Wolfensohn, S., and M. Loyd. (2013). *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, 4th ed. Wiley-Blackwell. West Sussex. 234.
- Zhang, C., M. Zhang., S. Wang., R. Han., Y. Cao., W. Hua., Y. Mao., X. Zhang., X. Pang., C. Wei. (2010). Interactions between gut microbiota, host genetics and

diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J*, 4, 232–241. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1986518>
3/