



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L.) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID JARINGAN HATI MENCIT DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Fergi Rizkhaltum Fitria**

**NIM 132210101022**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2017**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L.) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID JARINGAN HATI MENCIT DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Fergi Rizkhaltum Fitria**

**NIM 132210101022**

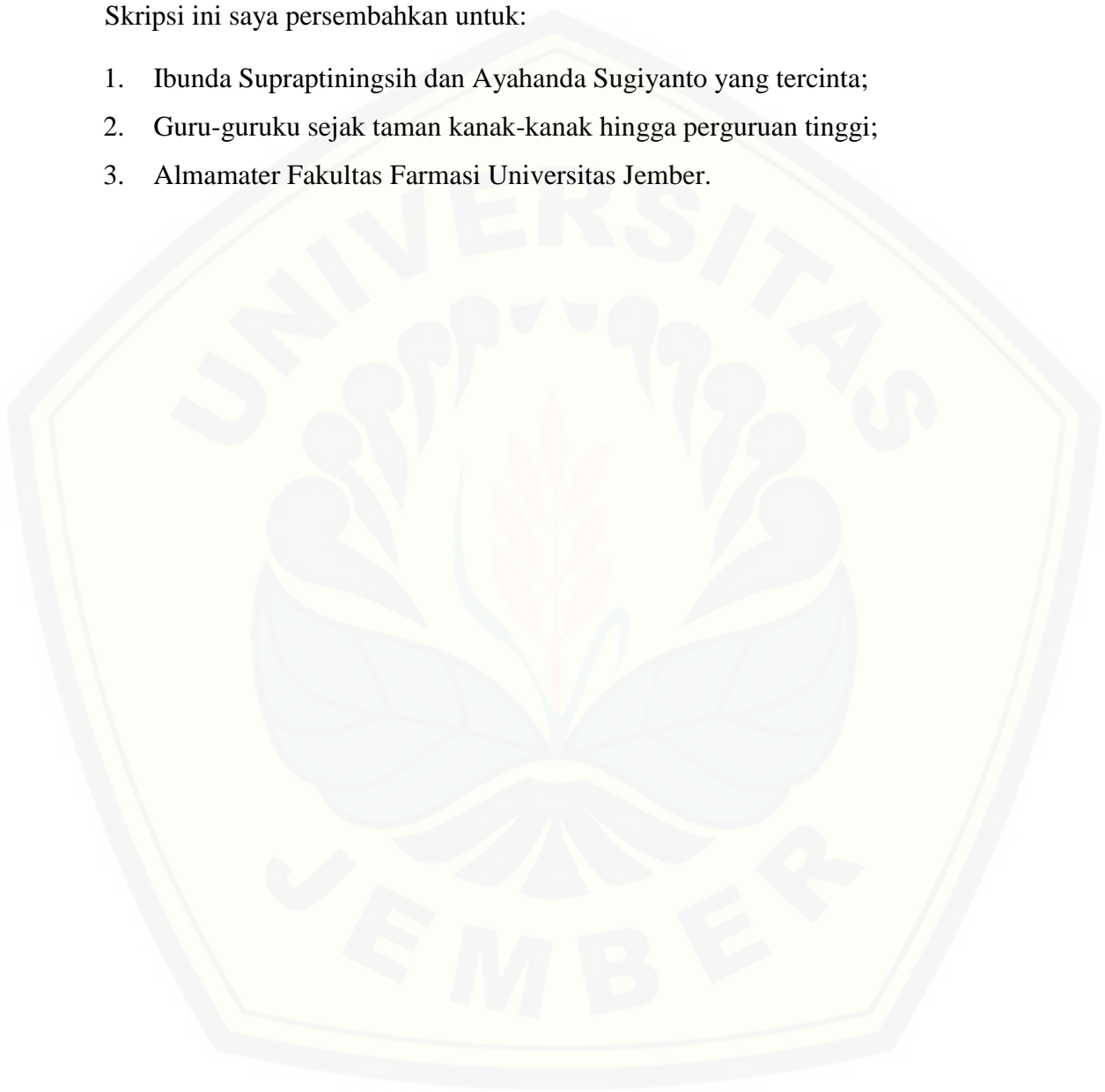
**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2017**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Supraptiningsih dan Ayahanda Sugiyanto yang tercinta;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.



## MOTO

Boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.

(terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 216)<sup>1</sup>



---

<sup>1</sup> Kementerian Agama Republik Indonesia. 2014. *Al-Qur'an Terjemah dan Tajwid*. Bandung: PT Sigma Examedia Arkanleema.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

nama : Fergi Rizkhaltum Fitria

NIM : 132210101022

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap Kadar Malondialdehid Jaringan Hati Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 Juli 2017

Yang menyatakan,

Fergi Rizkhaltum Fitria

NIM 132210101022

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEH HIJAU (*Camellia sinensis* L.)  
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID JARINGAN HATI MENCIT  
DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

Fergi Rizkhaltum Fitria

NIM 132210101022

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Diana Holidah, S. F., Apt., M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C., S. Farm., M. Farm., Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap Kadar Malondialdehid Jaringan Hati Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Jumat, 28 Juli 2017

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

Diana Holiday, S.F., Apt., M.Farm.  
NIP 197812212005012002

Fransiska M. C., S.Farm., M.Farm., Apt.  
NIP 198404062009122008

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP 198403082008012003

Ika Norcahyanti, S.Farm., Apt., M.Sc.  
NIP 198505112014042001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.  
NIP 197604142002122001



## RINGKASAN

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap Kadar Malondialdehid Jaringan Hati Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan;** Fergi Rizkhaltum Fitria; 132210101022; 2017; 45 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) adalah kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah di atas nilai normal karena terjadi abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Menurut data *International Diabetes Federation* (IDF), terdapat sekitar 10 juta kasus DM yang terjadi di Indonesia dan membuat Indonesia menempati peringkat ke-7 dari 10 negara dengan penderita DM dewasa tertinggi di dunia. Penyebab umum tingginya prevalensi DM yaitu kurangnya aktivitas fisik dan kelebihan nutrisi. Hal ini menyebabkan kadar glukosa dan *free fatty acid* (FFA) dalam darah meningkat sehingga produksi *reactive oxygen species* (ROS) juga meningkat. Tingginya jumlah ROS dapat memicu terjadinya stres oksidatif dan resistensi insulin, khususnya di organ hati. Ketika terjadi resistensi insulin hepatic, proses glukoneogenesis dan glikogenesis terganggu serta banyak lipid yang terakumulasi di sel hepatosit. ROS mampu menyerang *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga terbentuk produk akhir berupa senyawa aldehid yang reaktif, seperti malondialdehid (MDA).

Pada kondisi DM, kapasitas antioksidan mengalami penurunan, sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar. Salah satu sumber antioksidan alami yang berpotensi tinggi melawan radikal bebas adalah teh. Jenis teh yang memiliki manfaat kesehatan lebih banyak adalah teh hijau. Teh hijau mengandung flavonoid yang memiliki banyak gugus fenol (polifenol). Polifenol diketahui memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, salah satunya adalah sebagai antioksidan. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau dengan dosis yang berbeda terhadap kadar MDA pada jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

Jenis penelitian ini adalah eksperimen murni dan rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest* dengan kelompok kontrol. Sampel awal mencit dibagi menjadi enam kelompok dan setiap kelompok terdiri dari empat ekor mencit, meliputi kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan tiga kelompok perlakuan ekstrak teh hijau dengan dosis 600, 900, dan 1200 mg/kg BB. Setiap kelompok diinduksi dengan aloksan, kecuali kelompok kontrol normal. Perlakuan diberikan selama 14 hari dan pada hari ke-15 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dan pengambilan organ hati untuk pengukuran kadar MDA jaringan hati mencit.



Metode analisis yang digunakan untuk mengukur kadar MDA jaringan hati mencit adalah metode *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) dengan pengukuran secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm. Metode analisis tersebut divalidasi untuk memastikan bahwa metode yang digunakan untuk pengujian dapat memberikan hasil yang sesuai dengan tujuan penelitian. Berdasarkan hasil uji terhadap lima parameter validasi, meliputi linieritas, batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), presisi dan akurasi, dapat dikatakan bahwa metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini telah valid.

Uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata kadar MDA jaringan hati mencit berdasarkan keenam kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan ketiga kelompok dosis ekstrak teh hijau ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan ekstrak teh hijau memiliki aktivitas untuk menurunkan kadar MDA jaringan hati mencit yang diinduksi aloksan. Kelompok kontrol positif tidak berbeda signifikan dengan kelompok ekstrak dosis 900 dan 1200 mg/kg BB ( $p > 0,05$ ), namun antar kelompok ekstrak teh hijau tidak memberikan perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak teh hijau dosis 600, 900, dan 1200 mg/kg BB mampu menurunkan kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan, tetapi tidak berbeda signifikan secara statistik.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap Kadar Malondialdehid Jaringan Hati Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Fransiska Maria Christianty, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam skripsi ini;
3. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Ibu Ika Norcahyanti, S.Farm., Apt., M.Sc. selaku Dosen Penguji II yang telah bersedia memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan banyak ilmu yang bermanfaat selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Ayahanda Sugiyanto, Ibunda Supraptiningsih, dan Saudaraku Luthfi serta Bapak/Ibu Karno sekeluarga yang telah memberikan doa dan dukungan tiada henti demi terselesaikannya skripsi ini;

7. Mbak Indri dan Mbak Dini selaku teknisi Laboratorium Farmakologi serta Bu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi Laboratorium Fitokimia yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membantu dalam penelitian ini;
8. Risti, Nila, dan Andra sebagai rekan kerja yang telah memberikan semangat, motivasi, bantuan, dan kerjasama terbaik selama penelitian ini;
9. Fara, Ayunda, Sugi, Edwin, Cila, Raras, Zulfiah, Wulan, Wilda, Chita, Nina, PE, dan Laili sebagai rekan seperjuangan di Laboratorium Farmakologi yang telah memberikan banyak motivasi, semangat, dan bantuan selama penelitian ini;
10. Farmasetamol yang telah memberikan pengalaman, dukungan dan semangat selama penulis menjadi mahasiswa,
11. Dianfid, Betty, Osa, Maya, Ayup, Yenny, Rhea, Yesika, Alvin, Desy, Windy, Ratna, Siti, Dinda, Miarah, Eloks, Ine, Dita, Miores, Puput, Indah, Farin, dan Finda sebagai rekan yang telah memberikan doa, dukungan dan motivasi hingga terselesaikannya skripsi ini;
12. Ilyatul, Riska, Khilda, Nova, Mah Wicha, Terry, Mas Ocha, VJ dan Pak Dimas sebagai rekan KKN yang telah bersedia berbagi pengalaman dan semangat demi terselesaikannya skripsi ini;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2017

Penulis

**DAFTAR ISI**

|   | Halaman     |
|---|-------------|
| <b>HALAMAN SAMPUL</b> .....             | <b>i</b>    |
| <b>HALAMAN JUDUL</b> .....              | <b>ii</b>   |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....        | <b>iii</b>  |
| <b>HALAMAN MOTO</b> .....               | <b>iv</b>   |
| <b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....         | <b>v</b>    |
| <b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....       | <b>vi</b>   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....         | <b>vii</b>  |
| <b>RINGKASAN</b> .....                  | <b>viii</b> |
| <b>PRAKATA</b> .....                    | <b>x</b>    |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                 | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....               | <b>xv</b>   |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....              | <b>xvi</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....            | <b>xvii</b> |
| <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....         | <b>1</b>    |
| <b>1.1 Latar Belakang</b> .....         | <b>1</b>    |
| <b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....        | <b>4</b>    |
| <b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....      | <b>4</b>    |
| <b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....     | <b>4</b>    |
| <b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....    | <b>5</b>    |
| <b>2.1 Tinjauan tentang Teh</b> .....   | <b>5</b>    |
| 2.1.1 Deskripsi Tanaman .....           | <b>5</b>    |
| 2.1.2 Penggolongan Teh .....            | <b>6</b>    |
| 2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia Teh ..... | <b>8</b>    |
| 2.1.4 Penelitian tentang Teh Hijau..... | <b>8</b>    |

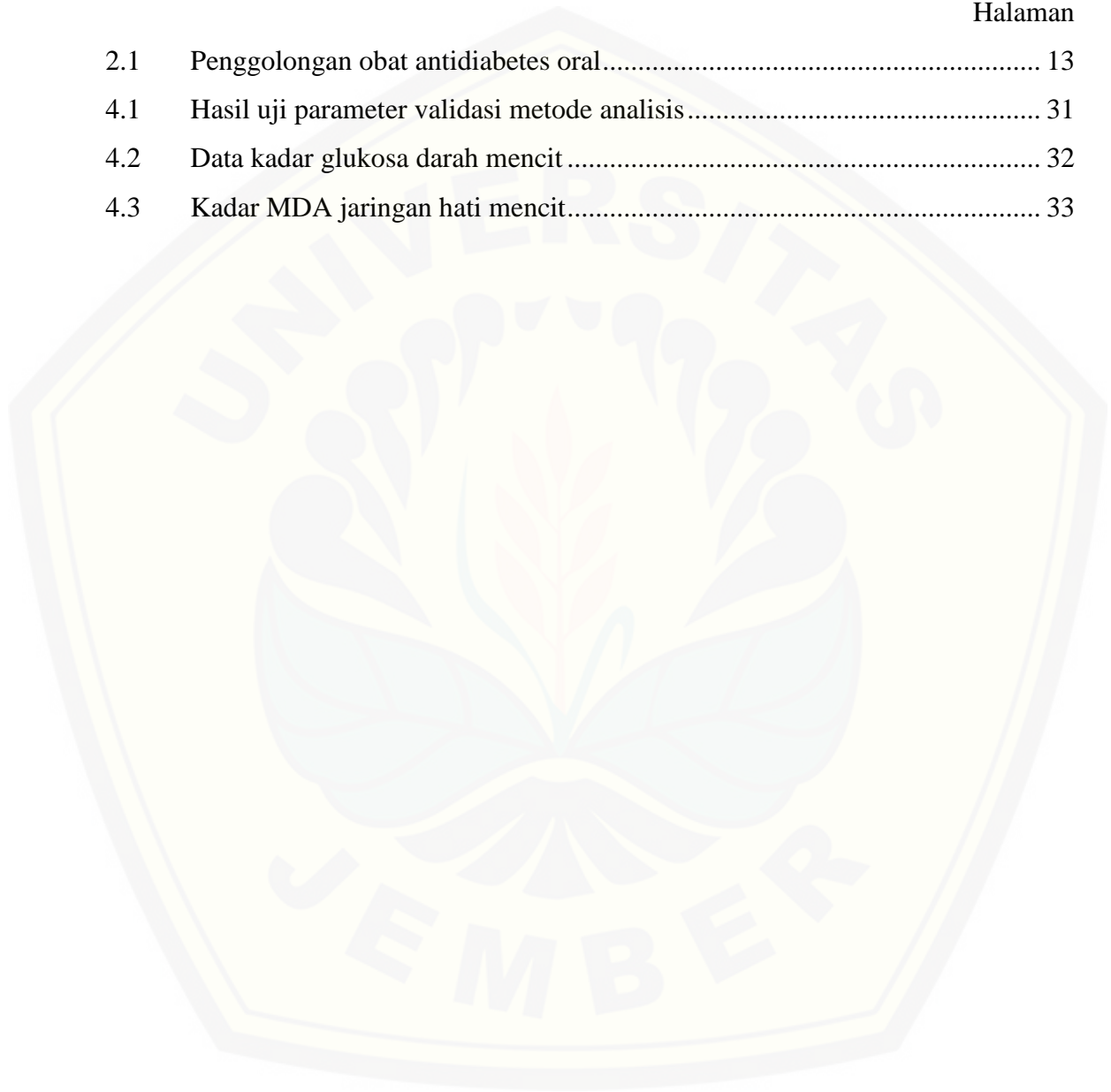
|  |           |
|--|-----------|
| <b>2.2 Tinjauan tentang Diabetes Melitus .....</b>                     | <b>9</b>  |
| 2.2.1 Definisi dan Klasifikasi .....                                   | 9         |
| 2.2.2 Diagnosa .....   | 10        |
| 2.2.3 Faktor Risiko.....   | 10        |
| 2.2.4 Perubahan Metabolisme.....                                       | 11        |
| 2.2.5 Komplikasi.....  | 12        |
| <b>2.3 Tinjauan tentang Stres Oksidatif .....</b>                      | <b>12</b> |
| 2.3.1 Definisi.....  | 12        |
| 2.3.2 Hubungan Stres Oksidatif dan Diabetes Melitus .....              | 12        |
| <b>2.4 Tinjauan tentang Obat Antidiabetes.....</b>                     | <b>13</b> |
| <b>2.5 Tinjauan tentang Metformin .....</b>                            | <b>14</b> |
| <b>2.6 Tinjauan tentang Malondialdehid.....</b>                        | <b>15</b> |
| <b>2.7 Tinjauan tentang Metode <i>Thiobarbituric Acid Reactive</i></b> |           |
| <b><i>Substances</i> .....</b>   | <b>16</b> |
| <b>2.8 Tinjauan tentang Alokasan .....</b>                             | <b>17</b> |
| <b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>                                   | <b>19</b> |
| <b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>                                       | <b>19</b> |
| <b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>                            | <b>19</b> |
| <b>3.3 Rancangan Penelitian .....</b>                                  | <b>19</b> |
| <b>3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....</b>                         | <b>20</b> |
| <b>3.5 Variabel Penelitian.....</b>                                    | <b>21</b> |
| 3.5.1 Variabel Bebas.....  | 21        |
| 3.5.2 Variabel Terikat .....   | 21        |
| 3.5.3 Variabel Terkendali .....  | 21        |
| <b>3.6 Definisi Operasional .....</b>                                  | <b>21</b> |
| <b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian.....</b>                              | <b>22</b> |
| 3.7.1 Alat Penelitian.....   | 22        |
| 3.7.2 Bahan Penelitian .....   | 22        |

|                             |  |           |
|-----------------------------|--|-----------|
| <b>3.8</b>                  | <b>Prosedur Penelitian .....</b>   | <b>22</b> |
| 3.8.1                       | Tahapan Persiapan .....  | 22        |
| 3.8.2                       | Induksi Diabetes .....   | 24        |
| 3.8.3                       | Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji .....  | 24        |
| 3.8.4                       | Pengukuran Kadar Glukosa Darah .....   | 24        |
| 3.8.5                       | Pengambilan Sampel Jaringan Hati Hewan Uji.....  | 25        |
| 3.8.6                       | Pengukuran Kadar MDA Jaringan Hati Hewan Uji .....   | 25        |
| <b>3.9</b>                  | <b>Analisis Data.....</b>  | <b>27</b> |
| <b>3.10</b>                 | <b>Skema Rangkaian Kerja .....</b>   | <b>28</b> |
| 3.10.1                      | Skema Ekstraksi Teh Hijau ( <i>Camellia sinensis</i> L.) dan<br>Pembuatan Suspensi Ekstrak Teh Hijau.....  | 28        |
| 3.10.2                      | Skema Penentuan Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau<br>( <i>Camelia sinensis</i> L.) terhadap Kadar MDA pada Jaringan<br>Hati Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan..... | 29        |
| <b>BAB 4.</b>               | <b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>   | <b>30</b> |
| <b>4.1</b>                  | <b>Hasil dan Analisis Data .....</b>   | <b>30</b> |
| 4.1.1                       | Pembuatan Ekstrak Teh Hijau .....  | 30        |
| 4.1.2                       | Validasi Metode Analisis.....  | 30        |
| 4.1.3                       | Pengukuran Kadar Glukosa Darah dan Kadar MDA Jaringan<br>Hati Mencit.....  | 32        |
| <b>4.2</b>                  | <b>Pembahasan.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>BAB 5.</b>               | <b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>  | <b>38</b> |
| <b>5.1</b>                  | <b>Kesimpulan.....</b>   | <b>38</b> |
| <b>5.2</b>                  | <b>Saran .....</b>   | <b>38</b> |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b> |  | <b>39</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>        |  | <b>46</b> |



**DAFTAR TABEL**

|   | Halaman |
|---|---------|
| 2.1 Penggolongan obat antidiabetes oral.....          | 13      |
| 4.1 Hasil uji parameter validasi metode analisis..... | 31      |
| 4.2 Data kadar glukosa darah mencit.....              | 32      |
| 4.3 Kadar MDA jaringan hati mencit.....               | 33      |





**DAFTAR GAMBAR**

|  | Halaman |
|--|---------|
| 2.1 Tanaman <i>Camellia sinensis</i> L. ....   | 6       |
| 2.2 Diagram alir proses pembuatan berbagai jenis teh .....   | 7       |
| 2.3 Mekanisme reaksi peroksidasi lipid .....   | 16      |
| 2.4 Mekanisme reaksi terbentuknya MDA-TBA <i>adduct</i> .....  | 17      |
| 2.5 Rumus struktur aloksan monohidrat .....  | 18      |
| 3.1 Skema rancangan penelitian.....  | 19      |
| 3.2 Skema ekstraksi teh hijau dan pembuatan suspensi ekstrak teh hijau .....   | 28      |
| 3.3 Skema penentuan pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan ..... | 29      |

**DAFTAR LAMPIRAN**

|  | Halaman |
|--|---------|
| 3.1 Perhitungan dosis aloksan .....  | 46      |
| 3.2 Perhitungan dosis metformin .....  | 47      |
| 3.3 Perhitungan dosis suspensi ekstrak teh hijau .....                               | 48      |
| 3.4 Perhitungan standar TEP .....  | 50      |
| 4.5 Perhitungan rendemen ekstrak teh hijau .....                                     | 52      |
| 4.6 Hasil validasi metode analisis .....   | 53      |
| 4.7 Hasil pengukuran kadar glukosa darah dan kadar MDA jaringan hati<br>mencit ..... | 58      |
| 4.8 Hasil uji statistik kadar MDA jaringan hati mencit .....                         | 59      |
| 4.9 Dokumentasi .....  | 61      |

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perubahan gaya hidup akibat urbanisasi dan modernisasi memunculkan berbagai jenis penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif merupakan penyakit yang muncul akibat menurunnya fungsi sel-sel tubuh dari keadaan normal. Salah satu penyakit degeneratif adalah diabetes melitus (Tapan, 2005). Diabetes melitus (DM) adalah kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah di atas nilai normal karena terjadi abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Ada empat tipe DM yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM) dan DM tipe lain. DM tipe 1 umumnya terjadi akibat kerusakan autoimun sel  $\beta$  pankreas sehingga perlu suplai insulin dari luar tubuh, sedangkan DM tipe 2 terjadi karena adanya resistensi insulin pada sel-sel tubuh atau sel  $\beta$  pankreas tidak dapat memproduksi insulin dalam jumlah cukup. GDM terjadi karena adanya intoleransi terhadap glukosa yang terdiagnosa selama masa kehamilan. DM tipe lain yaitu DM yang disebabkan oleh faktor lain (Wells dkk., 2015; ADA, 2017).

Jumlah penderita DM cenderung mengalami peningkatan setiap tahunnya. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO, 2016), prevalensi penderita DM usia 18 tahun keatas secara global meningkat dari 4,7% dengan total 108 juta penderita pada tahun 1980 menjadi 8,5% dengan total 422 juta penderita pada tahun 2014. Pada tahun 2012, sekitar 1,5 juta kematian secara langsung disebabkan oleh DM. Berdasarkan laporan hasil Riset Kesehatan Dasar di Indonesia yang diselenggarakan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2013), prevalensi DM mengalami peningkatan dari 1,1% pada tahun 2007 menjadi 2,1% pada tahun 2013. Menurut data *International Diabetes Federation* (IDF, 2015), ada sekitar 10 juta kasus DM yang terjadi di Indonesia dan membuat Indonesia menempati peringkat ke-7 dari 10 negara dengan penderita DM dewasa tertinggi di dunia.

Penyebab umum tingginya prevalensi DM yaitu kurangnya aktivitas fisik dan kelebihan nutrisi yang mengarah pada obesitas. Hal ini menyebabkan kadar glukosa dan *free fatty acid* (FFA) dalam darah meningkat (Tangvarasittichai, 2015; Holt dkk., 2016). Kedua kondisi tersebut dapat memicu timbulnya stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu keadaan dimana jumlah pro-oksidan lebih banyak dibandingkan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Salah satu pro-oksidan yang sering diproduksi sebagai konsekuensi dari metabolisme fisiologis di dalam tubuh adalah *reactive oxygen species* (ROS) (Maritim dkk., 2003; Tangvarasittichai, 2015). Tingginya jumlah ROS yang terbentuk dapat memicu terjadinya resistensi insulin, khususnya di organ hati (Tangvarasittichai, 2015).

Hati merupakan organ yang bertanggung jawab pada proses glukoneogenesis dan glikogenesis. Ketika terjadi resistensi insulin, kedua proses tersebut terganggu dan menyebabkan hiperglikemia. Hiperglikemia memicu ROS terbentuk kembali (Salway, 2012; Szendroedi dkk., 2012). Salah satu target utama ROS adalah lipid. Saat terjadi resistensi insulin hepatic, lipid banyak terakumulasi di sel hepatosit. Peningkatan lipid hepatoseluler yang mencapai  $\pm 5,5\%$  biasa disebut sebagai *nonalcoholic fatty liver* (NAFL) yang merupakan manifestasi dari DM (Szendroedi dkk., 2012). ROS mampu menyerang *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga terbentuk produk akhir berupa senyawa aldehyd yang reaktif, seperti malondialdehyd (MDA) (Tiwari dkk., 2013; Tangvarasittichai, 2015)

Pembentukan MDA dapat dicegah dengan adanya antioksidan. Pada DM, kapasitas antioksidan mengalami penurunan, sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar (Marra dkk., 2002). Dewasa ini, penemuan antioksidan alami menarik perhatian dunia untuk menggantikan antioksidan sintesis (Rahimi dkk., 2005). Salah satu sumber antioksidan alami yang berpotensi tinggi melawan radikal bebas adalah teh (Sung dkk., 2000).

Teh merupakan minuman kedua di dunia yang paling banyak dikonsumsi setelah air. Tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) digolongkan menjadi tiga macam berdasarkan

tingkat fermentasinya, yaitu tanpa fermentasi (teh hijau), fermentasi sebagian (teh oolong) dan fermentasi total (teh hitam) (Somantri dan Tanti, 2011). Jenis teh yang memiliki manfaat kesehatan lebih banyak adalah teh hijau (Singh dkk., 2011). Teh hijau mengandung golongan senyawa flavonoid yang memiliki banyak gugus fenol (polifenol) (Pasrija dan Anandharamakrishnan, 2015). Hal ini telah dibuktikan melalui penelitian yang dilakukan oleh Holidah dan Christianty (2015), dimana kandungan total polifenol terbesar diperoleh dari teh hijau dibanding teh hitam dan teh oolong. Polifenol diketahui memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, salah satunya adalah sebagai antioksidan (Juneja dkk., 2013). Salah satu senyawa polifenol terpenting adalah katekin (Pasrija dan Anandharamakrishnan, 2015).

Penelitian *in vivo* oleh Coimbra dkk. (2006) menyatakan bahwa seduhan teh hijau (1,75 g daun teh dalam 200 ml air) yang diminum selama empat minggu dapat mengurangi perkembangan stres oksidatif melalui penurunan kadar MDA plasma pada 34 orang sehat yang diamati. Ekstrak teh hijau yang diberikan pada mencit DM dengan dosis 600 mg/kgBB selama 14 hari mampu menurunkan kadar glukosa darah (Holidah dan Christianty, 2015). Ekstrak teh hijau (konsentrasi 3 g/l) yang diberikan pada tikus sehat selama lima minggu juga mampu menurunkan kadar MDA di hati, serum darah dan otak (Skrzydowska dkk., 2002)

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dalam menurunkan kadar MDA pada jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan sehingga dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek antioksidan ekstrak teh hijau sebagai alternatif antioksidan alami dalam terapi pada DM.



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- a. Apakah pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dapat berpengaruh terhadap kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan?
- b. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dosis 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB dan 1200 mg/kgBB terhadap kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan penelitian ini adalah untuk:

- a. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan.
- b. Menentukan pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dosis 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB dan 1200 mg/kgBB terhadap kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap kadar MDA pada jaringan hati mencit sebagai alternatif dalam mengatasi stres oksidatif pada DM.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Teh

#### 2.1.1 Deskripsi Tanaman

Dalam legenda Cina disebutkan bahwa teh ditemukan pada tahun 2700 SM oleh Kaisar Shen Nong (Mahmood dkk., 2010). Teh pertama kali dikenalkan dan ditanam di Indonesia pada masa penjajahan Belanda (Somantri, 2014). Sejak saat itu, perkebunan teh di Indonesia semakin meluas. Secara umum ada dua varietas tanaman teh, yaitu varietas *assamica* (berdaun besar) dan varietas *sinensis* (berdaun kecil) (Uhl, 2015). Tanaman teh yang tumbuh di Indonesia saat ini sebagian besar merupakan varietas *assamica* yang berasal dari India, sedangkan tanaman teh yang tumbuh di Tiongkok dan Jepang merupakan teh varietas *sinensis*. Teh varietas *assamica* memiliki kandungan katekin (zat bioaktif utama dalam teh) lebih banyak (Hartoyo, 2003). Berdasarkan *Integrated Taxonomic Information System* (2017), klasifikasi ilmiah teh adalah sebagai berikut:

|             |  |
|-------------|--|
| Kingdom     | : Plantae                              |
| Superdivisi | : Embryophyta                          |
| Divisi      | : Tracheophyta                         |
| Subdivisi   | : Spermatophytina                      |
| Kelas       | : Magnoliopsida                        |
| Ordo        | : Ericales                             |
| Famili      | : Theaceae                             |
| Genus       | : <i>Camellia</i> L.                   |
| Spesies     | : <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze |

*Camellia sinensis* L. merupakan pohon cemara atau semak yang ketinggiannya mencapai 10-15 meter di alam liar dan 0,6-1,5 meter ketika dibudidayakan. Daunnya berwarna hijau, berbentuk lanset, tepi bergigi, panjangnya bervariasi antara 5-30 cm dan lebarnya sekitar 4 cm. Daun dewasa berwarna hijau tua, sedangkan daun muda



berwarna hijau muda. Perbedaan umur daun memengaruhi kualitas teh karena komposisi kimianya yang bervariasi. Bunganya berwarna putih, harum, berdiameter 2,5 - 4 cm dengan petal berjumlah tujuh hingga delapan, soliter atau berkelompok dan memiliki banyak benang sari berwarna kuning. Buahnya pipih, halus, berbentuk seperti kapsul, berisi satu hingga enam biji berukuran kacang kecil (Mahmood dkk., 2010).



Gambar 2.1 Tanaman *Camellia sinensis* L. (Sumber: Liversidge, 2014)

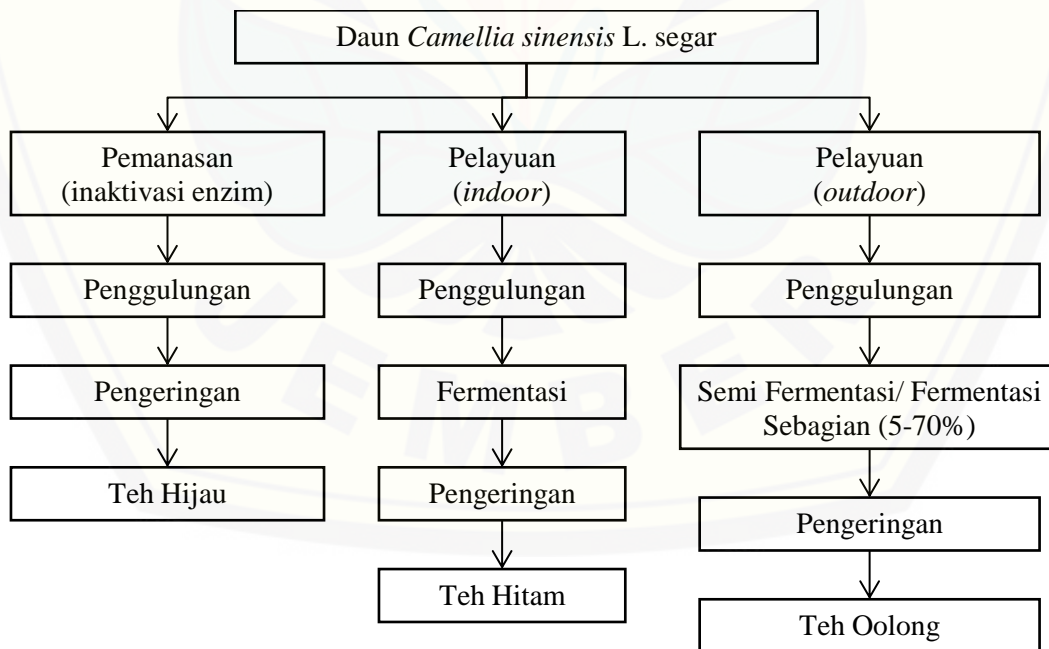
### 2.1.2 Penggolongan Teh

Tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) dapat digolongkan menjadi berbagai macam teh yang berbeda. Perbedaan ini terletak pada cara memproses daun teh setelah dipanen. Umumnya, teh digolongkan menjadi tiga macam berdasarkan tingkat fermentasinya, yaitu tanpa fermentasi (teh hijau), fermentasi sebagian (teh oolong), dan fermentasi total (teh hitam). Istilah fermentasi pada teh merujuk pada proses oksidasi yang merupakan reaksi yang dikatalisis oleh enzim polifenol oksidase (Somantri dan Tanti, 2011).

Teh hijau berasal dari pucuk daun teh segar yang dipanaskan untuk meminimalkan oksidasi enzimatik terhadap katekin dengan cara menginaktivasi enzim

polifenol oksidase sebelum penggulungan dan pengeringan (Somantri dan Tanti, 2011; Uhl, 2015). Berbeda dengan teh hijau, teh hitam adalah teh yang mengalami oksidasi total. Oleh karena itu, daunnya berwarna coklat gelap dan rasa pahitnya berkurang. Proses produksi teh hitam diawali dengan pelayuan daun teh segar dalam ruangan berventilasi. Proses selanjutnya adalah penggulungan yang bertujuan untuk mengeluarkan enzim secara merata ke seluruh permukaan daun teh. Setelah itu, daun dioksidasi kemudian dikeringkan sampai kadar air hilang (Somantri dan Tanti, 2011).

Teh oolong dibuat dengan waktu fermentasi yang lebih singkat dibandingkan teh hitam sehingga warna dan aromanya kurang kuat dibandingkan teh hitam. Proses pembuatannya diawali dari daun teh yang dilayukan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari, kemudian dioksidasi sebagian dan dikeringkan. Lamanya proses oksidasi tergantung persentase oksidasi yang diinginkan, biasanya 5-70%. Semakin tinggi tingkat oksidasinya, maka semakin gelap warna tehnya (Somantri dan Tanti, 2011).



Gambar 2.2 Diagram alir proses pembuatan berbagai jenis teh (Sumber: Juneja dkk., 2013)

### 2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia Teh Hijau

Senyawa kimia yang terkandung dalam teh sangat kompleks diantaranya adalah polifenol, asam galat, asam fenolat (asam klorogenat dan asam kafeat), flavonol (kaemferol, myrisetin, dan kuersetin), protein, asam amino (teanin, asam glutamat, triptofan, glisin, serin, asam aspartat, tirosin, valin, leusin, treonin, arginin, dan lisin), karbohidrat (selulosa, pektin, glukosa, fruktosa, sukrosa), lipid (linoleat dan asam linolenat), sterol (stigmasterol), vitamin (B, C, dan E), basa xantin (kafein dan teofilin), pigmen (klorofil dan karotenoid), senyawa volatil (aldehida, alkohol, ester, lakton, dan hidrokarbon), mineral dan mikronutrien (Ca, Mg, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K, F dan Al) (Cabrera dkk., 2006). Polifenol merupakan molekul bioaktif utama pada teh. Polifenol yang paling banyak adalah katekin, termasuk: epigalokatekin galat (EGCG) (59%), epigalokatekin (EGC) (19%), epikatekin galat (ECG) (13,6%), dan epikatekin (EC) (6,4%). Katekin paling banyak ditemukan pada teh hijau, dengan persentase sekitar 6-16% dari berat kering daun teh dan sekitar 10-50% dari persentase tersebut merupakan EGCG (Cabrera dkk., 2006; Preedy, 2013).

### 2.1.4 Penelitian tentang Teh Hijau

Penelitian *in vitro* menggunakan metode DPPH oleh Nkubana dan He (2008) menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau memiliki *total phenolic content* dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada teh oolong dan teh hitam dengan persentase penghambatan masing-masing 65%, 60% dan 49%. Ekstrak teh hijau yang diberikan pada mencit DM dengan dosis 600 mg/kgBB selama 14 hari mampu menurunkan kadar glukosa darah (Holidah dan Christianty, 2015). Ekstrak teh hijau (konsentrasi 3 g/l) yang diberikan pada tikus sehat selama lima minggu mampu menurunkan kadar MDA di hati, serum darah dan otak (Skrzydowska dkk., 2002). Seduhan teh hijau (1,75 g daun teh dalam 200 ml air) yang diberikan kepada 34 orang sehat selama empat minggu dapat mengurangi perkembangan atau peningkatan stres oksidatif melalui penurunan kadar MDA plasma (Coimbra dkk., 2006). Ekstrak teh hijau yang diberikan

pada pasien DM tipe 2 dalam bentuk kapsul (200 mg ekstrak/kapsul) selama 18 bulan secara signifikan mampu menurunkan kadar MDA plasma (Spadiene dkk., 2014).

## 2.2 Tinjauan tentang Diabetes Melitus

### 2.2.1 Definisi dan Klasifikasi

Diabetes melitus (DM) adalah kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah di atas nilai normal karena terjadi abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Wells dkk., 2015).

Menurut ADA (2017), DM dapat diklasifikasikan menjadi empat kategori, yaitu:

#### a. DM tipe 1

Dahulu, DM tipe 1 biasa disebut sebagai “diabetes tergantung insulin” ataupun “*juvenile-onset diabetes*”. DM tipe 1 merupakan DM yang terjadi karena pengrusakan sel  $\beta$  pankreas oleh autoimun yang mengarah pada penurunan sekresi hormon insulin atau bahkan insulin tidak dapat diproduksi kembali. Marker autoimun meliputi autoantibodi sel islet dan autoantibodi GAD (GAD65), insulin, tirosin fosfatase IA-2 dan IA-2 $\beta$ , dan ZnT8. Persentase penderita DM tipe 1 sekitar 5-10% dari semua tipe DM.

#### b. DM tipe 2

DM tipe 2 atau bisa juga disebut sebagai “*noninsulin-dependent diabetes*” atau “*adult-onset diabetes*” merupakan DM yang terjadi karena sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas berkurang secara progresif atau terjadi karena resistensi terhadap insulin. Kebanyakan penderita DM sebelumnya telah mengalami kelebihan berat badan hingga obesitas. Persentase penderita DM tipe 2 mencapai sekitar 90-95% dari semua tipe DM.

#### c. *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM)

Selama beberapa tahun terakhir, GDM diartikan sebagai adanya intoleransi terhadap glukosa yang terdiagnosa selama masa kehamilan, baik pada saat kehamilan maupun setelah masa kehamilan. Namun, definisi tersebut perlahan-lahan dirasa tidak



tepat. Baru-baru ini, GDM merupakan DM yang terdiagnosa saat kehamilan trimester ke-2 atau 3.

d. DM tipe lain

DM tipe lain yaitu DM yang disebabkan oleh faktor lain seperti sindrom diabetes monogenik (diabetes neonatal dan *maturity-onset diabetes of the young* (MODY)), penyakit pankreas eksokrin (*cystic fibrosis*), dan obat atau senyawa kimia tertentu yang dapat menginduksi DM (obat golongan glukokortikoid, obat untuk terapi HIV/AIDS, dan setelah transplantasi organ).

### 2.2.2 Diagnosa

Diagnosa DM biasanya dilakukan oleh tenaga kesehatan yang terlatih seperti dokter atau tenaga kesehatan di laboratorium. DM dapat didiagnosa melalui beberapa cara. Masing-masing cara seringkali dibutuhkan pengulangan untuk memastikan kebenaran dari diagnosa tersebut. Diagnosa didasarkan pada kriteria kadar glukosa darah meliputi *random plasma glucose* (RPG)  $\geq 200$  mg/dl, *fasting plasma glucose* (FPG)  $\geq 126$  mg/dl, atau nilai glukosa darah setelah dua jam (2-h PG) pemberian 75 gram selama *oral glucose tolerance test* (OGTT)  $\geq 200$  mg/dl, atau A1C  $\geq 6,5\%$ . RPG atau glukosa darah acak dapat dilakukan sewaktu-waktu sedangkan FGP diukur saat tubuh dalam keadaan puasa selama lebih dari 8 jam. A1C dilakukan untuk mengukur glukosa darah rata-rata selama 2-3 bulan terakhir tanpa puasa (ADA, 2017).

### 2.2.3 Faktor Risiko

Tingginya prevalensi DM disebabkan karena adanya faktor risiko yang memicu. Faktor risiko tersebut meliputi usia  $> 45$  tahun, obesitas, kurangnya aktivitas fisik, faktor yang berhubungan dengan makanan seperti asupan lemak hewani dan konsumsi makanan manis/tinggi gula berlebih, riwayat keluarga dengan diabetes, riwayat GDM, *polycystis ovary syndrome* (POS), hipertensi ( $< 140/90$  mmHg), hiperlipidemia, atau riwayat penyakit vaskular (Goldstein dkk., 2007; Holt, 2016).

#### 2.2.4 Perubahan Metabolisme

Glukosa merupakan sumber energi bagi sel-sel tubuh yang diperoleh dari makanan berkarbohidrat (Lanywati, 2001). Glukosa diabsorpsi melalui usus dan masuk ke hati melewati vena porta. Hati merupakan organ metabolik utama yang berperan penting dalam metabolisme energi bagi tubuh. Fungsi metabolisme hati dikontrol oleh hormon insulin dan hormon metabolit lainnya (Rui, 2014). Di hati, glukosa masuk ke sel hepatosit dengan perantara transporter glukosa 2 (GLUT2). Selanjutnya, glukosa dapat dilepaskan ke sirkulasi sistemik, dimetabolisme ataupun disimpan dalam bentuk glikogen di hati (Rizza, 2010; Rui, 2014). Sebelum disimpan, glukosa difosforilasi dengan katalis enzim glukokinase menjadi glukosa-6-fosfat yang merupakan prekursor untuk sintesis glikogen (Rui, 2014). Ketika puasa, glukosa diperoleh dari pemecahan glikogen (glikogenolisis) atau pembentukan glukosa dengan adanya prekursor berupa senyawa karbon seperti laktat, piruvat, asam amino, dan gliserol (glukoneogenesis) di hati (Consoli, 1992; Poretsky, 2010). Sesaat setelah makan, produksi glukosa endogen pada subjek non-DM umumnya mengalami penurunan dengan cepat, sedangkan pada penderita DM mengalami perlambatan dalam menekan produksi glukosa endogen pada saat yang sama. Hal ini menyebabkan kondisi hiperglikemia postprandial pada DM (Rizza, 2010).

Pada penderita DM, proses glikogenolisis dan glukoneogenesis terganggu karena produksi glukosa endogen merupakan proses yang dikontrol oleh insulin (Tripathy dkk., 2012). Kedua proses tersebut diketahui mengalami peningkatan. Akan tetapi, proses glukoneogenesis lebih dominan daripada proses glikogenolisis (Consoli, 1992). Meningkatnya proses glukoneogenesis saat resistensi insulin dapat terjadi akibat banyaknya prekursor glukoneogenik, seperti laktat dan alanin dari otot serta gliserol dari jaringan adiposa, yang terdapat dalam sirkulasi. Selain itu, peningkatan FFA dan kondisi hiperglukagonemia juga memicu peningkatan proses glukoneogenesis (Szendroedi dkk., 2012; Tripathy dkk., 2012).

### 2.2.5 Komplikasi

Kadar glukosa darah yang tidak terkontrol pada penderita DM menimbulkan berbagai komplikasi yang bersifat akut maupun kronik. Komplikasi akut meliputi ketoadosis diabetik dan keadaan hiperglikemia hiperosmolar. Berbeda dengan komplikasi akut, komplikasi kronik pada DM diklasifikasikan menjadi dua yaitu komplikasi mikrovaskular dan komplikasi makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi retinopati, nefropati dan neuropati, sedangkan komplikasi makrovaskular meliputi penyakit jantung koroner, stroke, dan penyakit vaskular perifer (Goldstein dkk., 2007; Wells dkk., 2015).

## 2.3 Tinjauan tentang Stres Oksidatif

### 2.3.1 Definisi

Stres oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah ROS dan antioksidan dalam suatu organisme. Stres oksidatif dapat muncul karena peningkatan produksi ROS dan/atau penurunan sistem antioksidan tubuh. ROS merupakan senyawa kimia dengan gugus reaktif yang dapat mendonorkan elektron bebasnya untuk berikatan dengan molekul lain (Roberts dan Sindhu, 2009; Tangvarasittichai, 2015). ROS dapat ditemukan dalam bentuk radikal seperti superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksil ( $OH^{\bullet}$ ), peroksil ( $RO^{\bullet}$ ), dan hidroperoksil ( $HRO^{\bullet}$ ) maupun dalam bentuk nonradikal seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Bentuk ROS yang paling reaktif dan sitotoksik adalah  $O_2^{\bullet-}$  (Johansen dkk., 2005).

### 2.3.2 Hubungan Stres Oksidatif dan Diabetes Melitus

Banyak penelitian yang menyebutkan bahwa penderita DM tipe 2 mengalami peningkatan produksi ROS yang menginduksi kerusakan oksidatif di dalam sirkulasi dan juga mampu mengurangi aktivitas antioksidan. Peningkatan produksi ROS pada diabetes dapat berasal dari metabolisme glukosa ataupun FFA. Peningkatan FFA berkontribusi melalui aktivitas mitokondria seperti fosforilasi oksidatif dengan



memproduksi ROS secara berlebihan sehingga mengganggu pertahanan antioksidan endogen dengan mengurangi glutathion intraseluler. Tingginya kadar glukosa dan FFA dalam sirkulasi serta akumulasi lipid dalam sel hepatosit dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran diiringi dengan penurunan sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas (Szendroedi dkk., 2012; Ali, 2015; Tangvarasittichai, 2015).

#### 2.4 Tinjauan tentang Obat Antidiabetes

Menurut Wells dkk. (2015), pengobatan DM dapat diberikan secara nonfarmakologi maupun farmakologi. Terapi nonfarmakologi dapat dilakukan melalui diet dan olahraga. Diet rendah karbohidrat dan lemak dapat membantu menurunkan berat badan. Olahraga atau latihan fisik yang teratur mampu meningkatkan sensitivitas insulin dan menurunkan risiko penyakit kardiovaskular. Berbeda dengan terapi nonfarmakologi, terapi farmakologi dilakukan dengan pemberian insulin ataupun obat-obatan antidiabetes oral. Insulin biasa diberikan secara parenteral melalui subkutan dan penggunaannya bisa dikombinasi dengan obat antidiabetes oral. Obat antidiabetes oral terdiri dari berbagai golongan seperti sulfonilurea, biguanida, meglitinida, thiazolidindion, inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, dan inhibitor dipeptidil peptidase-4 (DPP-4). Selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Penggolongan obat antidiabetes oral

| Golongan Obat | Contoh Obat   | Mekanisme Kerja   |
|---------------|---|---|
| Sulfonilurea  | a) Glimepirid<br>b) Glibenklamid<br>c) Glipizid<br>d) Tolbutamid<br>e) Klorpropamid<br>f) Asetoheksamid | menstimulasi sekresi insulin pankreatik                             |
| Biguanida     | Metformin   | meningkatkan sensitivitas insulin di hati dan jaringan otot perifer |
| Meglitinida   | a) Nateglinid<br>b) Repaglinid  | menstimulasi sekresi insulin pankreatik                             |

| Golongan Obat                            | Contoh Obat   | Mekanisme Kerja  |
|--|---|--|
| Thiazolidindion<br>(Glitazon)            | a) Pioglitazon<br>b) Rosiglitazon                                   | meningkatkan sensitivitas insulin di otot, hati, dan jaringan lemak              |
| Inhibitor $\alpha$ -glukosidase          | a) Akarbose<br>b) Miglitol  | mencegah pemecahan sukrosa dan kompleks karbohidrat lainnya pada usus kecil      |
| inhibitor dipeptidil peptidase-4 (DPP-4) | a) Sitagliptin<br>b) Saxagliptin<br>c) Linagliptin<br>d) Alogliptin | mengurangi aktivitas glukagon saat postprandial dan menstimulasi sekresi insulin |

(Sumber: Wells dkk., 2015)

## 2.5 Tinjauan tentang Metformin

Metformin (N,N-dimetilbiguanida) adalah obat antidiabetes golongan biguanida yang telah dikenal sejak tahun 1950-an (Ali, 2015). Metformin merupakan salah satu obat yang memiliki profil keamanan yang lebih baik dibandingkan obat golongan biguanida yang lain yaitu phenformin dan buformin. Phenformin dan buformin telah ditarik peredarannya karena menyebabkan asidosis laktat dan berpotensi meningkatkan mortalitas di awal tahun 1970-an. Kasus asidosis laktat jarang ditemui pada penggunaan metformin dalam rentang dosis terapi. Oleh sebab itu, metformin mulai banyak diresepkan sebagai terapi pilihan pertama untuk DM tipe 2 di seluruh dunia (Foretz dkk., 2014).

Metformin merupakan obat yang diadministrasikan secara oral dengan bioavailabilitas mencapai 50-60%. Dosis maksimal metformin peroral untuk penderita DM adalah sekitar 2 g/hari. Setelah pemberian *single dose* secara peroral, metformin langsung terdistribusikan dengan cepat ke berbagai jaringan dan banyak terakumulasi di hati dibandingkan jaringan lain (Viollet dkk., 2012; Foretz dkk., 2014). Secara irreversibel, metformin menurunkan perfusi respirasi dengan substrat kompleks I (glutamat, malat) tetapi tidak pada substrat kompleks II (suksinat) di hati. Penghambatan pada rantai respiratori kompleks I menyebabkan penghambatan

glukoneogenesis (Dykens dan Will, 2008). Selain itu melalui rantai respiratori kompleks I juga, metformin dapat menurunkan produksi ROS di mitokondria (Foretz dkk., 2014).

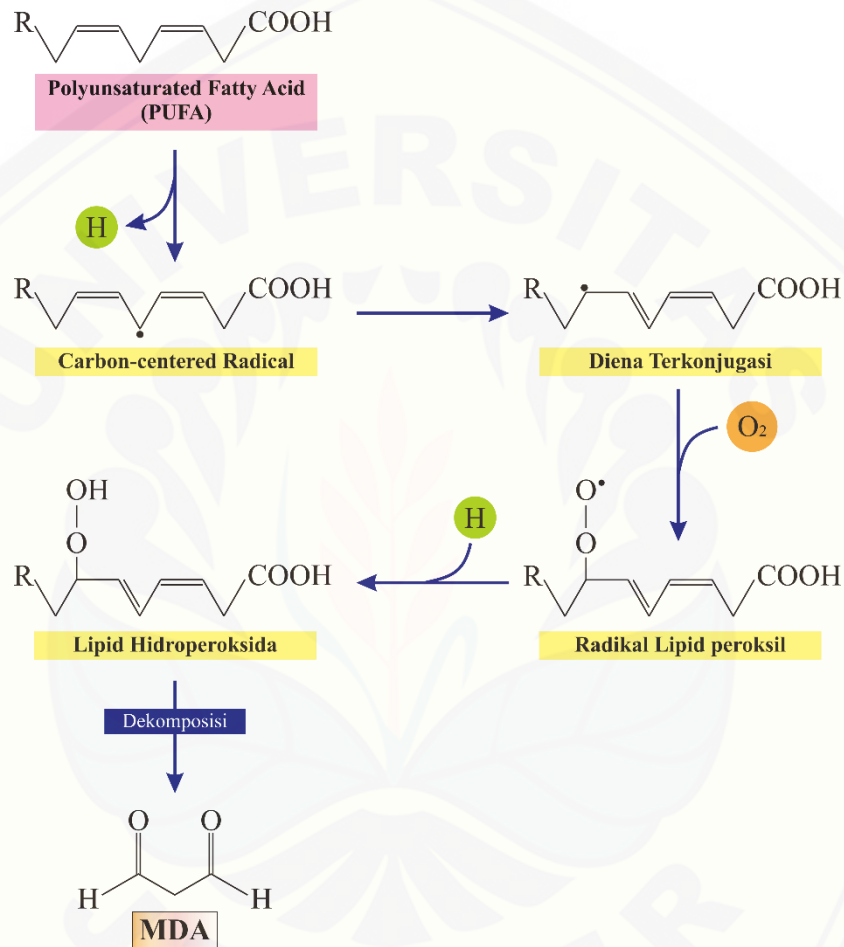
Secara luas, metformin telah diketahui memiliki efek farmakologi antihiperglikemia. Efek antihiperglikemia metformin yaitu meningkatkan sensitivitas insulin hepatic dan jaringan otot perifer, sehingga *uptake* glukosa meningkat dan produksi glukosa hepatic melalui proses glukoneogenesis dan glukogenolisis dapat ditekan (Koda-Kimble dkk., 2009; Wells dkk., 2015). Selain efek tersebut, metformin juga dapat memberikan efek antioksidatif. Metformin memberikan efek antioksidatif melalui beberapa mekanisme, antara lain meningkatkan aktivitas antioksidan endogen, mengurangi stres oksidatif, dan menghambat pembentukan AGEs (Esteghamati dkk., 2012).

Metformin umumnya memiliki efek samping berupa rasa tidak nyaman di daerah abdomen, diare, dan anoreksia. Efek samping ini dapat diminimalisir dengan cara titrasi dosis secara perlahan atau konsumsi bersamaan dengan makanan. Asidosis laktat dapat dihindari dengan tidak diberikan pada penderita dengan gangguan ginjal, gagal jantung kongestif, atau kondisi predisposisi hipoksemia (Wells dkk., 2015).

## 2.6 Tinjauan tentang Malondialdehid

MDA merupakan biomarker peroksidasi lipid yang diproduksi selama proses autooksidasi PUFA oleh suatu radikal bebas (Chow, 2007). Radikal bebas yang menyerang PUFA mampu menarik atom H pada gugus metilen dari PUFA dan membentuk suatu radikal yang disebut *carbon-centered radical*. Selanjutnya, radikal tersebut mengalami penata-ulangan molekul menjadi diena terkonjugasi yang akan bereaksi dengan molekul oksigen ( $O_2$ ) membentuk radikal lipid peroksil. Radikal lipid peroksil mampu menarik atom H dari PUFA lainnya sehingga terbentuk lipid hidroperoksida. Lipid hidroperoksida akan terdekomposisi membentuk produk akhir berupa aldehida, seperti MDA (Li, 2012). MDA bersifat sangat toksik karena dapat

memutus ikatan dan beragregasi dengan protein membran untuk membentuk adisi yang dapat menghasilkan kerusakan biomolekuler (Storey, 2005; Ayala dkk., 2014). Selain itu, MDA berpotensi menyebabkan kanker (Rio dkk., 2005).

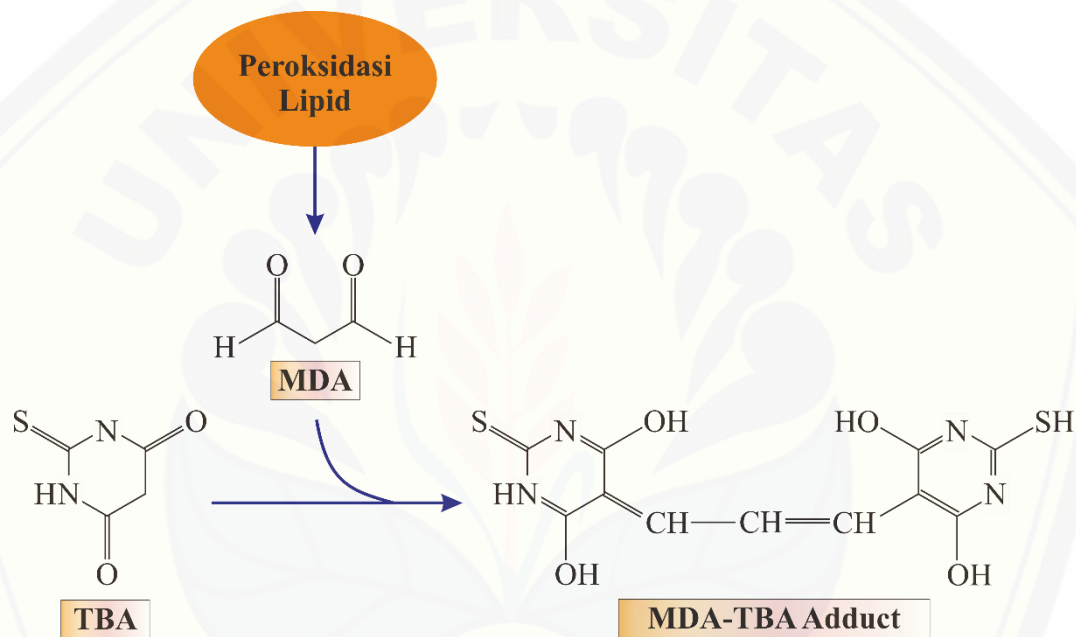


Gambar 2.3 Mekanisme reaksi peroksidasi lipid (Sumber: Li, 2012)

## 2.7 Tinjauan tentang Metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*

Metode *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) merupakan metode pengukuran yang umum digunakan untuk mengukur kadar MDA yang berasal dari proses peroksidasi lipid. Metode ini dapat diaplikasikan pada darah, jaringan dan urin.

Sampel yang akan dianalisis dipanaskan dengan *thiobarbituric acid* (TBA) pada pH asam (Grune, 2005; Storey, 2005). Reaksi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA menghasilkan produk akhir yang stabil berupa MDA-TBA *adduct*. MDA-TBA *adduct* merupakan kromogen berwarna merah muda hingga merah yang stabil dan memiliki absorbansi maksimum pada 532 nm dengan pengukuran secara spektrofotometri (Tangvarasittichai, 2015).

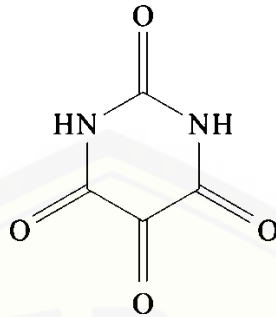


Gambar 2.4 Mekanisme reaksi terbentuknya MDA-TBA *adduct* (Sumber: Li, 2012)

## 2.8 Tinjauan tentang Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin) merupakan turunan pirimidin dengan rumus molekul  $C_4H_2N_2O_4$  (Royal Society of Chemistry, 2013). Senyawa kimia ini bersifat sangat tidak stabil sehingga mudah terdekomposisi. Aloksan memiliki waktu paruh yang pendek, yakni 1,5 menit pada pH 7,4 dan suhu  $37^\circ\text{C}$ . Selain itu, aloksan memiliki afinitas tinggi terhadap air dan oleh karena itu biasa ditemukan sebagai aloksan monohidrat (PubChem, 2005; Lenzen, 2008).





Gambar 2.5 Rumus struktur aloksan monohidrat (Sumber: *Royal Society of Chemistry*, 2013)

Aloksan dikenal sebagai agen diabetogenik yang bekerja selektif pada sel  $\beta$  pankreas dan umum digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan percobaan seperti kelinci, tikus, mencit dan anjing (Etuk, 2010). Kekurangan dari aloksan sebagai agen diabetogenik adalah tidak stabil pada kondisi fisiologis tubuh dan memiliki waktu paruh yang singkat. Apabila aloksan telah terdekomposisi menjadi asam aloksanat, maka efek diabetogenik tersebut hilang. Oleh karena itu, aloksan harus segera terakumulasi dengan cepat ke sel  $\beta$  pankreas setelah diinduksikan. Agar dapat memberikan efek diabetogenik, aloksan harus diadministrasikan secara parenteral melalui intravena, intraperitoneal atau subkutan. Dosis aloksan yang diadministrasikan melalui intraperitoneal dan subkutan biasanya 2-3 kali dari dosis intravena (65 mg/kg BB pada tikus). Dosis aloksan yang digunakan berpengaruh terhadap tingkat kerusakan yang ditimbulkan pada sel  $\beta$  pankreas (Szkudelski, 2001; Lenzen, 2008; Ellis dan West, 2011). Pengaturan dosis diabetogenik cukup sulit karena adanya beberapa faktor yang mengganggu kerja aloksan, antara lain keadaan puasa dan diet, usia, rute pemberian dan perbedaan spesies (Pour, 2006). Aloksan memiliki dua mekanisme patologis yang berbeda, yaitu menghambat sekresi insulin melalui penghambatan spesifik terhadap enzim glukokinase dan membentuk ROS (Szkudelski, 2001; Lenzen, 2008).

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

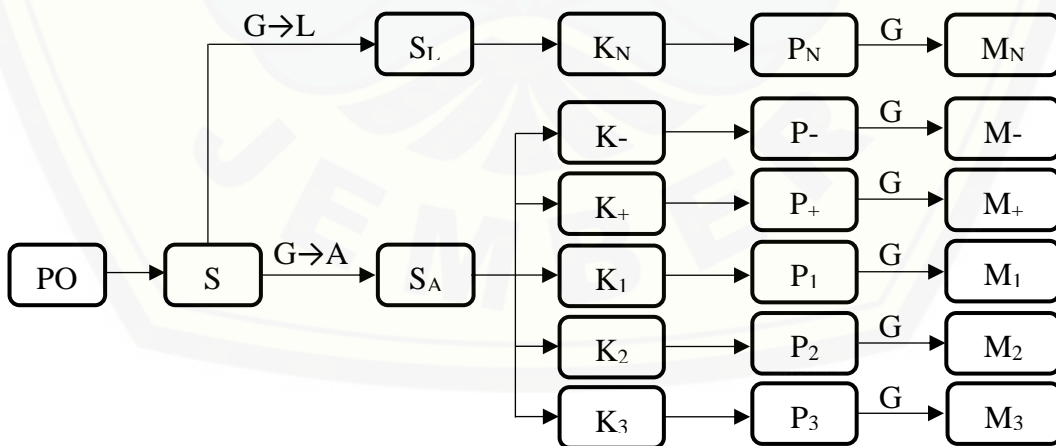
Jenis penelitian ini adalah eksperimen murni yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau dengan dosis yang berbeda terhadap kadar MDA pada jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

#### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai dari bulan Januari sampai Juli tahun 2017, bertempat di Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi Bagian Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember.

#### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest* dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2012). Pengaruh yang terukur dari kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Secara umum, rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian



Keterangan:

PO : Populasi

S : Sampel mencit

G : Pengukuran kadar glukosa darah mencit

L : Injeksi dengan NaCl 0,9% secara intraperitoneal

A : Induksi dengan aloksan dosis 210 mg/kgBB secara intraperitoneal

K : Kelompok sampel

N : Kontrol normal (diberi CMC Na 1% secara peroral)

- : Kontrol negatif (diberi CMC Na 1% secara peroral)

+ : Kontrol positif (diberi metformin dosis 110,5 mg/kgBB secara peroral)

1 : Dosis 600 mg/kgBB secara peroral

2 : Dosis 900 mg/kgBB secara peroral

3 : Dosis 1200 mg/kgBB secara peroral

P : Perlakuan selama 14 hari

M : Pengukuran kadar MDA pada jaringan hati mencit

### 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah mencit galur Balb/c yang diperoleh dari peternak daerah Malang. Sampel awal yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari populasi tersebut secara acak dengan memerhatikan kriteria inklusi meliputi: jenis kelamin jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 20-30 gram, sehat dan kadar gula darah normal yaitu 62-175 mg/dl (Ridwan dkk. 2012). Sampel awal mencit dibagi menjadi enam kelompok. Jumlah sampel tiap kelompok dapat dihitung menggunakan rumus Federer (Hakim, 2016), yaitu:

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

dimana:

n = jumlah sampel tiap kelompok;

t = jumlah kelompok

sehingga:

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

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, jumlah sampel tiap kelompok minimal 4 ekor atau jumlah sampel keseluruhan minimal 24 ekor.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak teh hijau, yaitu 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB, dan 1200 mg/kgBB.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar MDA jaringan hati mencit dalam satuan  $\mu\text{M}$ .

#### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah hewan uji (mencit jantan galur Balb/c, usia 2-3 bulan, berat badan 20-30 gram dan berstatus sehat), pemeliharaan hewan uji, perlakuan terhadap hewan uji, dan pengujian pengaruh ekstrak teh hijau.

### 3.6 Definisi Operasional

- a. Hewan uji digolongkan diabetes apabila memiliki kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dl setelah diinduksi aloksan (ADA, 2017).

- b. Ekstrak teh hijau dikatakan memiliki potensi antioksidan apabila dapat menurunkan kadar MDA jaringan hati mencit dibandingkan dengan kontrol negatif.

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *freeze drier* (ZiRBUS VaCo 5-II-D), spektrofotometer UV-Vis *Double-Beam* (Labomed, Inc), fotometer (Biolyzer 100), timbangan analitik (Ohaus), timbangan hewan uji (Ohaus), kandang mencit, panci infus, sentrifuge, *hot plate*, vortex, papan dan alat bedah, alat-alat gelas, mortir, stamper, mikropipet (Socorex swiss), *micro tube*, sonde, dan spuit injeksi.

#### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain teh hijau (PT Perkebunan Nusantara XII), pakan mencit, aloksan monohidrat (TCI), CMC Na, tablet metformin hidroklorida (PT Kimia Farma), *trichloroacetic acid* atau TCA (Sigma-Aldrich), *thiobarbituric acid* atau TBA (Sigma-Aldrich), NaOH (PT Brataco), 1,1,3,3-tetraetoksi propana atau TEP (Sigma-Aldrich), HCl, reagen *glucotest* (Fluitest®Glu), larutan fisiologis NaCl 0,9%, dan aquadest.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Tahapan Persiapan

##### a. Pembuatan ekstrak teh hijau

Ekstrak teh hijau dibuat dengan metode ekstraksi infusa. Simplisia teh hijau yang telah diserbuk di rendam dalam 1000 ml aquadest pada suhu 90°C selama 15 menit sambil diaduk. Filtrat disaring menggunakan vakum dan dibuat ekstrak kering dengan menggunakan *freeze drier* pada suhu -88°C selama 39 jam.

b. Pembuatan larutan aloksan dosis 210 mg/kgBB

Aloksan monohidrat sebanyak 84 mg dilarutkan dengan larutan NaCl 0,9% hingga 4 ml. Larutan aloksan tersebut diinjeksikan ke hewan uji secara intraperitoneal. Perhitungan dosis aloksan selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.1.

c. Pembuatan suspensi CMC Na 1%

CMC Na sebanyak 1 gram ditaburkan di atas 20 ml air panas (20 kali berat CMC Na) dan didiamkan agar mengembang. Setelah mengembang, diaduk hingga homogen dan ditambah aquadest sampai 100 ml, sehingga didapatkan suspensi CMC Na 1%.

d. Pembuatan suspensi metformin dosis 110,5 mg/kgBB

Tablet digerus halus kemudian ditimbang sejumlah tertentu sehingga mengandung 110,5 mg metformin. Serbuk sebanyak 119,6 mg (mengandung metformin 110,5 mg) disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga 10 ml. Perhitungan dosis metformin selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.2.

e. Pembuatan suspensi ekstrak teh hijau

Ekstrak teh hijau sebanyak 600 mg disuspensikan dalam CMC Na 1% sampai 10 ml, sehingga didapatkan suspensi ekstrak teh hijau dosis 600 mg/kgBB. Untuk suspensi ekstrak teh hijau dosis 900 mg/kgBB, ekstrak teh hijau sebanyak 900 mg disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga 10 ml. Untuk suspensi ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB, ekstrak teh hijau sebanyak 1200 mg disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga 10 ml. Perhitungan dosis suspensi ekstrak teh hijau selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.3.

f. Adaptasi hewan uji

Sebelum diberi perlakuan, hewan uji diadaptasikan dalam kondisi laboratorium selama satu minggu dan diberi makan *ad libitum*. Selama adaptasi, berat badan hewan uji ditimbang. Hewan uji yang digunakan adalah mencit yang sehat dan tidak ada perubahan berat badan yang melebihi 10% selama adaptasi serta secara visual menunjukkan perilaku yang normal.

### 3.8.2 Induksi Diabetes

Mencit dipuaskan selama 16 jam (tetap diberi air minum), kemudian diukur kadar glukosa darah normalnya dengan menggunakan fotometer (Biolyzer 100). Mencit yang kadar glukosa darahnya normal (62-175 mg/dl) diinduksi menggunakan larutan aloksan dengan dosis 210 mg/kgBB secara intraperitoneal. Pada hari ke-3, kadar glukosa darah mencit diukur. Mencit dengan kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dl adalah mencit yang digunakan dalam penelitian ini.

### 3.8.3 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji

Sampel hewan uji dibagi menjadi enam kelompok meliputi kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan tiga kelompok ekstrak teh hijau masing-masing dosis 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB, dan 1200 mg/kgBB. Setiap kelompok terdiri dari empat ekor mencit. Kelompok kontrol normal merupakan kelompok mencit yang diinjeksi dengan NaCl 0,9% secara intraperitoneal. Mencit yang telah diinduksi aloksan dan dinyatakan diabetes dibagi menjadi lima kelompok selain kelompok kontrol normal.

Suspensi ekstrak teh hijau diberikan secara peroral kepada kelompok perlakuan dosis 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB, dan 1200 mg/kgBB. Suspensi metformin dosis 110,5 mg/kgBB diberikan kepada kelompok kontrol positif secara peroral, sedangkan suspensi CMC Na 1% diberikan secara peroral kepada kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif. Perlakuan tersebut diberikan selama 14 hari.

### 3.8.4 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengukuran kadar glukosa darah mencit (sebelum diberi perlakuan) dilakukan pada hari ke-3 setelah induksi aloksan. Darah diambil dari bagian *plexus orbital vena* mata mencit. Pengukuran kadar glukosa darah mencit setelah diberi perlakuan dilakukan pada hari ke-15. Pengambilan darah mencit tersebut dilakukan melalui



intrakardiak. Kadar glukosa darah mencit diukur menggunakan fotometer (Biolyzer 100).

### 3.8.5 Pengambilan Sampel Jaringan Hati Hewan Uji

Pada hari ke-15, mencit dibedah dan diambil organ hatinya. Selanjutnya, hati mencit ditimbang sebanyak 100 mg lalu ditambahkan larutan fisiologis NaCl 0,9% sebanyak 500  $\mu$ l dan digerus hingga halus. Homogenat disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil menggunakan mikropipet kemudian ditampung menggunakan *micro tube* dan siap untuk dilakukan pengukuran kadar MDA jaringan hati mencit (Zainuri dkk., 2012).

### 3.8.6 Pengukuran Kadar MDA Jaringan Hati Hewan Uji

#### a. Persiapan reagen

Reagen-reagen yang digunakan untuk mengukur kadar MDA jaringan hati adalah TCA 20%, HCl 1N, dan Na-TBA 1%. Pembuatan TCA 20% dilakukan dengan cara melarutkan 2 gram TCA ke dalam aquadest hingga 10 ml. HCl 1N diperoleh dengan mengencerkan 2 ml HCl 6 N dalam aquadest sampai 12 ml, sedangkan Na-TBA 1% dibuat dengan cara melarutkan TBA sebanyak 0,1 gram ke dalam NaOH 1M hingga 10 ml. NaOH 1M didapatkan dengan cara menimbang 0,4 gram NaOH kemudian dilarutkan dengan aquadest hingga 10 ml.

#### b. Validasi metode analisis

Validasi metode analisis dalam penelitian ini dilakukan terhadap beberapa parameter validasi, antara lain linieritas, batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), presisi dan akurasi. Parameter-parameter tersebut dihitung sesuai dengan petunjuk pelaksanaan validasi. Linieritas ditentukan dari pengukuran 10 konsentrasi yang berbeda pada rentang konsentrasi 5  $\mu$ M sampai 39  $\mu$ M. Batas deteksi dan batas kuantitasi ditentukan dari 5 konsentrasi di bawah konsentrasi uji linieritas berdasarkan



persamaan regresi dan parameter linieritas. Presisi standar dilakukan dengan mengukur absorbansi 6 konsentrasi standar, yaitu 5, 7, 11, 15, 19, dan 23  $\mu\text{M}$ . Presisi *repeatability* standar dilakukan dengan mengukur absorbansi keenam konsentrasi standar tersebut sebanyak 3 kali replikasi dalam sehari, sedangkan presisi intermediet standar dilakukan dengan mengukur keenam konsentrasi standar tersebut di hari yang berbeda. Presisi *repeatability* sampel dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel sebanyak 6 kali replikasi. Akurasi ditentukan menggunakan metode penambahan standar (*standard addition method*) dimana sampel dianalisis kemudian sejumlah tertentu standar TEP ditambahkan pada sampel kemudian dianalisis lagi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Selisih dari keduanya dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (Harmita, 2004).

c. Penetapan kurva baku

Larutan stok I dibuat dengan cara melarutkan 5  $\mu\text{l}$  TEP dalam aquadest hingga 10 ml dan larutan stok II dibuat dengan cara melarutkan 1 ml larutan stok I dalam aquadest hingga 10 ml. Penetapan kurva baku dilakukan dengan cara mengencerkan larutan stok II menjadi 10 konsentrasi standar yang berbeda, yaitu 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, dan 39  $\mu\text{M}$ . Dari masing-masing konsentrasi standar tersebut, dipipet 50  $\mu\text{l}$  kemudian ditambah aquadest sebanyak 1 ml dan TCA 20% sebanyak 100  $\mu\text{l}$  lalu divortex. Setelah homogen, campuran ditambah 250  $\mu\text{l}$  HCl 1N dan 100  $\mu\text{l}$  Na-TBA 1% kemudian divortex kembali, lalu diinkubasi pada suhu 100<sup>o</sup>C selama 30 menit. Setelah dingin, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Dewi dkk., 2013; Lailatul dkk., 2015). Perhitungan standar TEP selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.4.

d. Penetapan kadar MDA jaringan hati hewan uji

Sampel jaringan hati mencit diambil 50  $\mu\text{l}$  lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml aquadest dan 100  $\mu\text{l}$  TCA 20% lalu divortex. Selanjutnya, campuran tersebut ditambah 250  $\mu\text{l}$  HCl 1N dan 100  $\mu\text{l}$  Na-TBA 1% kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 100<sup>o</sup>C selama 30 menit. Setelah dingin, sampel

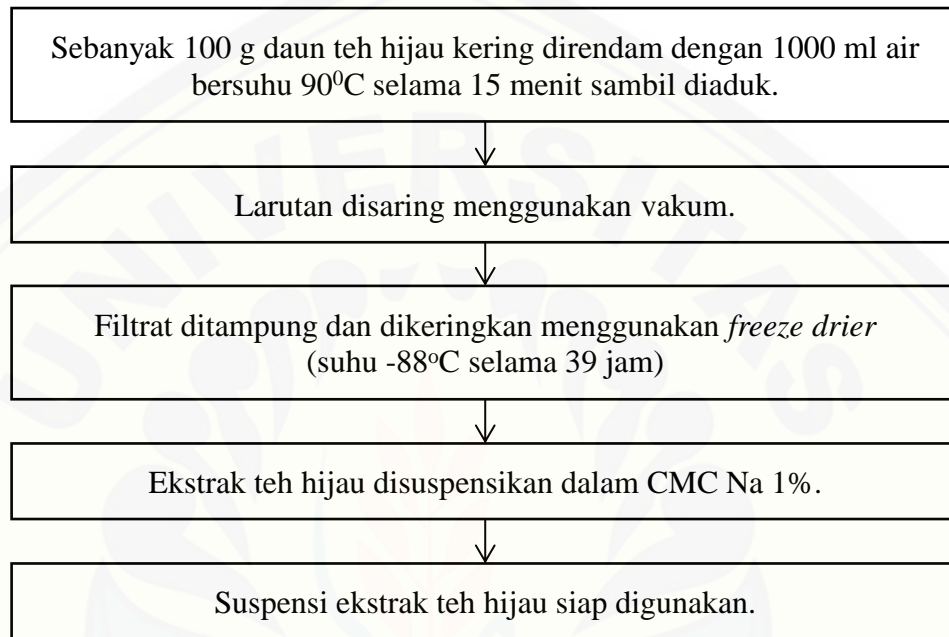
disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Dewi dkk., 2013; Lailatul dkk., 2015). Kadar MDA jaringan hati mencit dihitung menggunakan persamaan regresi pada kurva baku yang telah ditetapkan.

### 3.9 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji statistik parametrik dengan syarat data terdistribusi normal dan varian antar kelompok sama. Untuk mengetahui normal atau tidaknya distribusi data, dilakukan analisis normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk, sedangkan untuk mengetahui varian antar kelompok dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene statistic*. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk melihat signifikansi tiap kelompok. Apabila terdapat perbedaan bermakna antar kelompok yang ditandai dengan nilai  $p < 0,05$ , maka diuji lebih lanjut dengan uji *Least Significant Differences (LSD)*. Jika asumsi *One Way ANOVA* tidak dapat dipenuhi, maka data dapat dianalisis menggunakan alternatif pengujian lain yaitu uji statistik non parametrik dengan uji Kruskal-Wallis. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ).

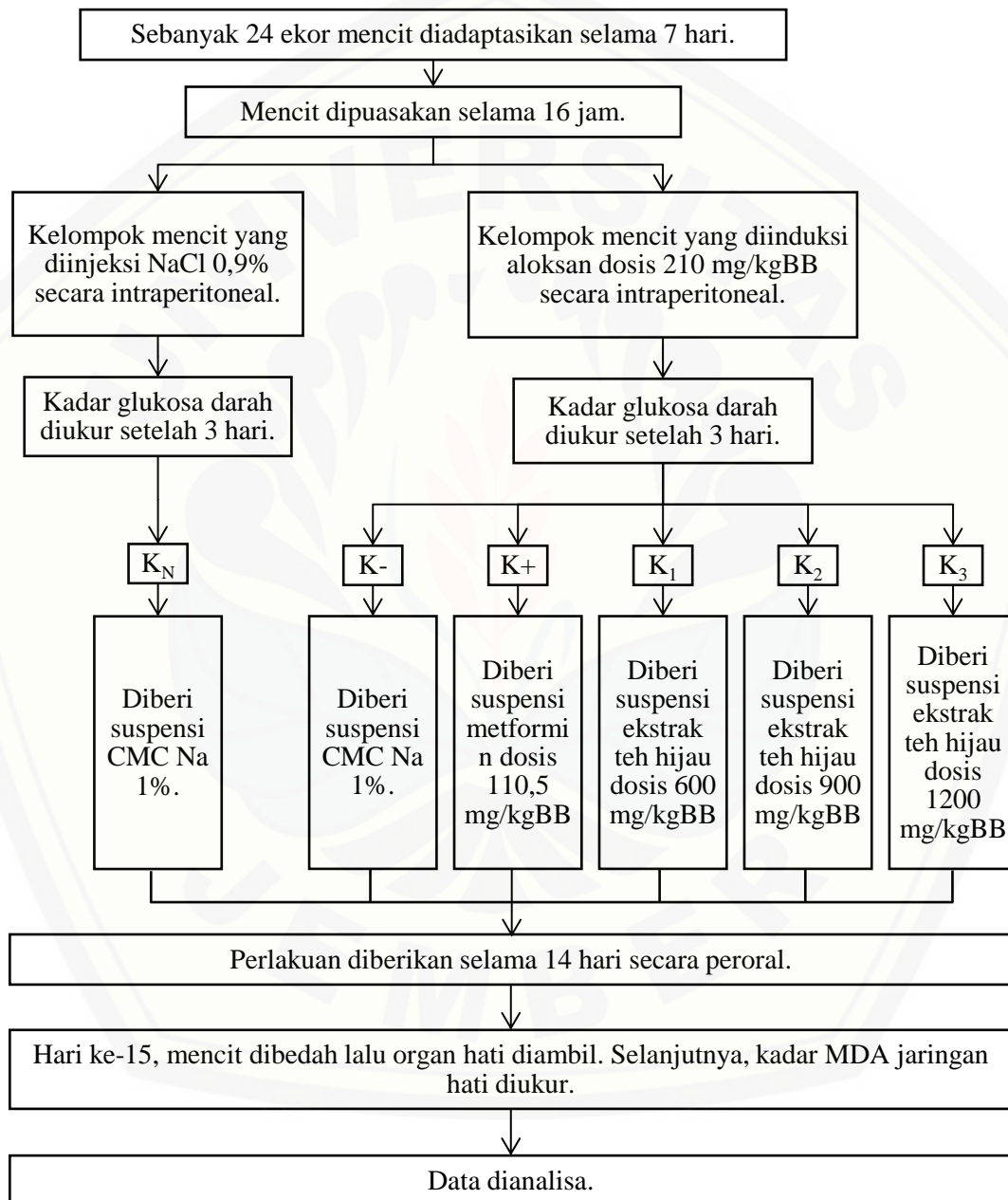
### 3.10 Skema Rangkaian Kerja

#### 3.10.1 Skema Ekstraksi Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) dan Pembuatan Suspensi Ekstrak Teh Hijau



Gambar 3.2 Skema ekstraksi teh hijau dan pembuatan suspensi ekstrak teh hijau

3.10.2 Skema Penentuan Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camelia sinensis* L.) terhadap Kadar MDA pada Jaringan Hati Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan



Gambar 3.3 Skema penentuan pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dapat menurunkan kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan.
2. Pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dosis 600, 900, dan 1200 mg/kg BB mampu menurunkan kadar MDA jaringan hati mencit diabetes yang diinduksi aloksan, tetapi tidak berbeda signifikan secara statistik.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang diberikan oleh peneliti adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak teh hijau untuk mengetahui batas keamanan penggunaan.
2. Perlu dilakukan pengembangan ekstrak teh hijau ke bentuk sediaan yang lebih mudah penggunaannya.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Ali, M. 2015. *A New Approach in Type 2 Diabetes Mellitus Treatment: Evaluation of the Beneficial Effect of L-cysteine in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus*. Hamburg: Anchor Academic Publishing.
- American Diabetes Association (ADA). 2017. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 40(1): 511-524.
- Ayala, A., M. F. Muñoz, dan S. Argüelles. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014: 1-31.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Cabrera, C., R. Artacho, dan R. Giménez. 2006. Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition*. 25(2): 79-99.
- Chacko, S. M., P. T. Thambi, R. Kuttan, dan I. Nishigaki. 2010. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chinese Medicine*. 5(13): 1-9.
- Chow, C. K. 2007. *Fatty Acids in Foods and their Health Implications, Third Edition, Food Science and Technology*. Boca Raton: CRC Press.
- Coimbra, S., E. Castro, P. Rocha-Pereira, I. Rebelo, S. Rocha, dan A. Santos-Silva. 2006. The effect of green tea in oxidative stress. *Clinical Nutrition*. 25(5): 790-796.
- Consoli, A. 1992. Role of liver in pathophysiology of NIDDM. *Diabetes Care*. 15(3): 430-441.
- Dewi, D. R. 2013. Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) Terhadap Kadar MDA dan Histologi Jaringan Pankreas pada Tikus *Rattus norvegicus* Diabetes Melitus Tipe 1 Hasil Induksi MLD-STZ (Multiple Low Dose - Streptozotocin). *Skripsi*. Malang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.
- Dyken, J. A., dan Y. Will. 2008. *Drug-induced Mitochondrial Dysfunction*. New Jersey: John Wiley & Sons.

- Ellis, G. P., dan G. B. West. 2011. *Progress in Medicinal Chemistry, Volume 8*. Inggris: Butterworth-Heinemann.
- Esteghamati, A., D. Eskandari, H. Mirmiranpour, S. Noshad, M. Mousavizadeh, M. Hedayati, dan M. Nakhjavani. 2012. Effects of metformin on markers of oxidative stress and antioxidant reserve in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*. 32(2): 179-185.
- Etuk, E. U. 2010. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 1(2): 130-134.
- Foretz, M., B. Guigas, L. Bertrand, M. Pollak, dan B. Viollet. 2014. Metformin: from mechanism of action to therapies. *Cell Metabolism*. 20(6): 953-966.
- Goldstein, B. J., dan D. Muller-Wieland. 2007. *Type 2 Diabetes: Principles and Practice*. Second Edition. Boca Raton: CRC Press.
- Grotto, D., L. S. Maria, J. Valentini, C. Paniz, G. Schmitt, S. C. Garcia, V. J. Pomblum, J. B. T. Rocha, dan M. Farina. 2009. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Química Nova*. 32(1): 169-174.
- Grune, T. 2005. *Free Radicals and Diseases: Gene Expression, Cellular Metabolism and Pathophysiology*. Amsterdam: IOS Press.
- Hakim, A. 2016. Profile number of mice takizoit after treatment with alkaloid fraction of *Alstonia scholaris* leaves. *Journal of Islamic Pharmacy*. 1(1): 7-11.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3): 117-135.
- Hartoyo, A. 2003. *Teh & Khasiatnya Bagi Kesehatan, Sebuah Tinjauan Ilmiah*. Yogyakarta: Kanisius.
- Holidah, D., dan F. M. Christianty. 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam, Teh Oolong, Dan Teh Hijau Secara In Vivo. *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinik*. 28 November 2015. UPT Penerbitan Universitas Jember: 73-79.
- Holt, R. I. G., C. Cockram, A. Flyvbjerg, dan Barry J. Goldstein. 2016. *Textbook of Diabetes Fifth Edition*. Voorhees: John Wiley & Sons.

- Huber, L. 2007. *Validation and Qualification in Analytical Laboratories*. Second Edition. New York: Informa Healthcare USA.
- Integrated Taxonomic Information System. 2017. *Camellia sinensis*. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=506801#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506801#null). [Diakses pada 12 Februari 2017].
- International Diabetes Federation. 2015. IDF Diabetes Atlas - 7<sup>th</sup> Edition. <http://www.diabetesatlas.org/resources/2015-atlas.html>. [Diakses pada 20 Maret 2017].
- Johansen, J. S., A. K. Harris, D. J. Rychly, dan A. Ergul. 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology*. 4(5): 1-11.
- Juneja, L. R., M. P. Kapoor, T. Okubo, dan T. Rao. 2013. *Green Tea Polyphenols: Nutraceuticals of Modern Life*. Boca Raton: CRC Press.
- Koda-Kimble, M. A., L. Y. Young, B. K. Alldredge, R. L. Corelli, B. J. Guglielmo, W. A. Kradjan, dan B. R. Williams. 2009. *Applied Therapeutics: The Clinical Use Of Drugs*. Ninth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Lailatul, N. 2015. Efek Pemberian Asam Alfa Lipoat Terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histologi pada Hati Tikus Wistar Jantan dengan Diabetes Melitus Tipe 1. *Skripsi*. Malang: Program Studi Ilmu Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- Lanywati, E. 2001. *Diabetes Mellitus: Penyakit Kencing Manis*. Yogyakarta: Kanisius.
- Lenzen, S. 2008. The mechanism of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 51: 216-226.
- Li, Y. R. 2012. *Free Radical Biomedicine: Principles, Clinical Correlations, and Methodologies*. Virginia: Bentham Science Publishers.
- Liversidge, C. 2014. *Homegrown Tea: An Illustrated Guide to Planting, Harvesting, and Blending Teas and Tisanes*. New York: St. Martin's Press.
- Mahmood, T., N. Akhtar, dan B. A. Khan. 2010. The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(19):2028-2033.

- Maritim, A. C., R. A. Sanders, dan J. B. Watkins III. 2003. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of Biochem Molecular Toxicology*. 17(1): 24-38.
- Marra, G., P. Cotroneo, D. Pitocco, A. Manto, M. A. S. Di Leo, V. Ruotolo, S. Caputo, B. Giardina, G. Ghirlanda, dan S. A. Santini. 2002. Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes: a case for gender difference. *Diabetes Care*. 25(2): 370-375.
- Nkubana, A., dan Q. He. 2008. A comparative study of antioxidant activity between black tea from Rwandan highlands with green and oolong teas from China. *International Journal of Food Safety Nutrition and Public Health*. 1(2): 159-166.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Pasrija, D., dan C. Anandharamakrishnan. 2015. Techniques for extraction of green tea polyphenols: a review. *Food and Bioprocess Technology*. 8(5): 935-950.
- Poretzky, L. 2010. *Principles of Diabetes Mellitus*. Second Edition. New York: Springer Science & Business Media.
- Pour, P. M. 2006. *Toxicology of the Pancreas, Target Organ Toxicology Series*. Boca Raton: CRC Press.
- Preedy, V. R. 2013. *Tea in Health and Disease Prevention*. London: Academic Press.
- PubChem. 2005. Alloxan. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5781#section=Top>. [Diakses pada 4 Maret 2017].
- Rahimi, R., S. Nikfar, B. Larijani, dan M. Abdollahi. 2005. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 59(7): 365-373.
- Ridwan, A., R. T. Astrian, dan A. Barlian. 2012. Pengukuran efek antidiabetes polifenol (polyphenon 60) berdasarkan kadar glukosa darah dan histologi pankreas mencit (*Mus musculus* L.) S.W. jantan yang dikondisikan diabetes mellitus. *Jurnal Matematika & Sains*. 17(2): 78-82.
- Rio, D. D., A. J. Stewart, dan N. Pellegrini. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 15(4): 316-328.



- Rizza, R. A. 2010. Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: implications for therapy. *Diabetes*. 59: 2697-2707.
- Roberts, C. K., dan K. K. Sindhu. 2009. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Science*. 84(21-22): 705-712.
- Royal Society of Chemistry. 2013. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Inggris: Royal Society of Chemistry.
- Rui, L. 2014. Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*. 4: 177-197.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Salway, J. G. 2012. *Medical Biochemistry at a Glance*. Third Edition. West Sussex: John Wiley & Sons.
- Singh, B. N., S. Shankar, dan R. K. Srivastava. 2011. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochemical Pharmacology*. 82(12): 1807-1821.
- Skrzydowska, E., J. Ostrowska, R. Farbiszewski, dan K. Michalak. 2002. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. *Phytomedicine*. 9(3): 232-238.
- Somantri, R. 2014. *The Story in A Cup of Tea*. Jakarta: TransMedia Pustaka.
- Somantri, R., dan Tanti. 2011. *Kisah dan Khasiat Teh*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Spadiene, A., N. Savickiene, L. Ivanauskas, V. Jakstas, A. Skesters, A. Silova, dan H. Rodovicius. 2014. Antioxidant effects of *Camellia sinensis* L. extract in patients with type 2 diabetes. *Journal of Food and Drug Analysis*. 22(4):1-7.
- Storey, K. B. 2005. *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Sung, H., J. Nah, S. Chun, H. Park, S. E. Yang, dan W. K. Min. 2000. In vivo antioxidant effect of green tea. *European Journal of Clinical Nutrition*. 54(7): 527-529.
- Supriyatna, Moelyono, Y. Iskandar, dan R. M. Febriyanti. 2014. *Prinsip Obat Herbal: Sebuah Pengantar untuk Fitoterapi*. Yogyakarta: Deepublish.



- Szendroedi, J., E. Phielix, dan M. Roden. 2012. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*. 8(2): 92-103.
- Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*. 50: 536-546.
- Tangvarasittichai, S. 2015. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*. 6(3): 456-480.
- Tapan, E. 2005. *Penyakit Degeneratif*. Jakarta: PT Alex Media Komputindo.
- Tripathy, B. B., H. B. Chandalia, A. K. Das, P. V. Rao, S. V. Madhu, dan V. Mohan. 2012. *RSSDI: Textbook of Diabetes Mellitus*. Second Edition. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Tiwari, B. K., K. B. Pandey, A. B. Abidi, dan S. I. Rizvi. 2013. Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. *Journal of Biomarkers*. 2013: 1-8.
- Uhl, J. W. 2015. *The Art and Craft of Tea: An Enthusiast's Guide to Selecting, Brewing, and Serving Exquisite Tea*. Massachusetts: Quarry Books.
- Villamena, F. A. 2013. *Molecular Basis of Oxidative Stress: Chemistry, Mechanisms, and Disease Pathogenesis*. New Jersey: John Wiley & Sons
- Viollet, B., B. Guigas, N. S. Garcia, J. Leclerc, M. Foretz, dan F. Andreelli. 2012. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical Science*. 122: 253-270.
- Volk, B. W., dan E. R. Arquilla. 2012. *The Diabetic Pancreas*. California: Springer Science & Business Media.
- Vuong, Q. V., J. B. Golding, C. E. Stathopoulos, M. H. Nguyen, dan P. D. Roach. 2011. Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water. *Journal of Separation Science*. 34(21): 3099-3106.
- Wells, Barbara G., J. T. DiPiro, T. L. Schwinghammer, dan C. V. DiPiro. 2015. *Pharmacotherapy Handbook Ninth Edition*. New York: McGraw-Hill Education.
- World Health Organization (WHO). 2016. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en>. [Diakses pada 3 Februari 2017].

Zainuri, M., dan S. I. Wanandi. 2012. Aktivitas spesifik manganese superoxide dismutase (MnSOD) dan katalase pada hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik: hubungannya dengan kerusakan oksidatif. *Media Litbang Kesehatan*. 22(2): 87-92.



## LAMPIRAN

### Lampiran 3.1 Perhitungan dosis aloksan

Dosis Aloksan yang digunakan adalah 210 mg/kg BB.

Dimisalkan berat badan satu ekor mencit adalah 20 g.

Volume pemberian sediaan untuk satu ekor mencit adalah 0,2 ml.

Jumlah mencit yang diinduksi aloksan sebanyak 20 ekor.

$$\begin{aligned}\text{Aloksan untuk seekor mencit (20 g)} &= \frac{210 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} \\ &= 4,2 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan} &= \sum \text{mencit} \times \text{volume pemberian tiap ekor mencit} \\ &= 20 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} \\ &= 4 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aloksan yang ditimbang} &= \frac{4,2 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 4 \text{ ml} \\ &= 84 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, aloksan ditimbang sebanyak 84 mg dilarutkan dalam NaCl 0,9% hingga 4 ml.

**Lampiran 3.2 Perhitungan dosis metformin**

Dosis Metformin pada manusia adalah 850 mg.

$$\begin{aligned}\text{Konversi dosis manusia ke mencit (20 g)} &= 0,0026 \times 850 \text{ mg} \\ &= 2,21 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Metformin untuk tiap kg BB mencit} &= \frac{2,21 \text{ mg}}{20 \text{ g}} \times 1000 \text{ g} \\ &= 110,5 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, dosis Metformin yang digunakan adalah 110,5 mg/kg BB.

Dimisalkan berat badan satu ekor mencit adalah 20 g.

Volume pemberian sediaan untuk satu ekor mencit adalah 0,2 ml.

Jumlah mencit yang diberi Metformin sebanyak 4 mencit.

Lamanya pemberian adalah 14 hari. Sediaan dibuat setiap 7 hari.

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan} &= \sum \text{mencit} \times \text{volume pemberian} \times \text{lama pemberian} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} \times 7 \text{ hari} \\ &= 5,6 \text{ ml}\end{aligned}$$

Volume yang dibuat = 10 ml

Bobot satu tablet Metformin adalah 920 mg.

$$\begin{aligned}\text{Metformin yang ditimbang} &= \frac{920 \text{ mg}}{850 \text{ mg}} \times 110,5 \text{ mg} \\ &= 119,6 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, tablet Metformin ditimbang sebanyak 119,6 mg disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga 10 ml.

**Lampiran 3.3 Perhitungan dosis suspensi ekstrak teh hijau**

Dimisalkan berat badan satu ekor mencit adalah 20 g.

Volume pemberian sediaan untuk satu ekor mencit adalah 0,2 ml.

Jumlah mencit yang diberi suspensi ekstrak tiap kelompok dosis sebanyak 4 mencit.

Lamanya pemberian adalah 14 hari. Sediaan dibuat setiap 7 hari.

a. Suspensi ekstrak teh hijau dosis 600 mg/kg BB

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak untuk seekor mencit (20 g)} &= \frac{600 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} \\ &= 12 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan} &= \sum \text{mencit} \times \text{volume pemberian} \times \text{lama pemberian} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} \times 7 \text{ hari} \\ &= 5,6 \text{ ml}\end{aligned}$$

Volume yang dibuat = 10 ml

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak yang ditimbang} &= \frac{12 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 600 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, ekstrak teh hijau ditimbang sebanyak 600 mg disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga 10 ml.

b. Suspensi ekstrak teh hijau dosis 900 mg/kg BB

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak untuk seekor mencit (20 g)} &= \frac{900 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} \\ &= 18 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan} &= \sum \text{mencit} \times \text{volume pemberian} \times \text{lama pemberian} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} \times 7 \text{ hari} \\ &= 5,6 \text{ ml}\end{aligned}$$

Volume yang dibuat = 10 ml

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak yang ditimbang} &= \frac{18 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 900 \text{ mg}\end{aligned}$$



Jadi, ekstrak teh hijau ditimbang sebanyak 900 mg disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga 10 ml.

c. Suspensi ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kg BB

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak untuk seekor mencit (20 g)} &= \frac{1200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} \\ &= 24 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume yang dibutuhkan} &= \sum \text{mencit} \times \text{volume pemberian} \times \text{lama pemberian} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} \times 7 \text{ hari} \\ &= 5,6 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\text{Volume yang dibuat} = 10 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak yang ditimbang} &= \frac{24 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1200 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi, ekstrak teh hijau ditimbang sebanyak 1200 mg disuspensikan dalam CMC Na 1% hingga 10 ml.

**Lampiran 3.4 Perhitungan standar TEP**

Dalam 1 botol TEP murni tertera:

Assay  $\geq 96\%$

Massa jenis ( $\rho$ ) = 0,919 g/ml

Mr = 220,31 g/mol

Volume = 25 ml

Maka:

$$\begin{aligned} \text{Molaritas TEP dalam 1 botol} &= \frac{\rho \times 1000 \times \text{kadar}}{\text{Mr}} \\ &= \frac{0,919 \text{ g/ml} \times 1000 \times \frac{96}{100}}{220,31 \text{ g/mol}} \\ &= 4,0045 \text{ M} \end{aligned}$$

Molaritas larutan TEP STOK 1 (pengenceran dengan aquadest):

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 4,0045 \text{ M} \times (5 \mu\text{L} \times 10^{-3}) \text{ mL} &= M_2 \times 10 \text{ mL} \\ 0,0200225 \text{ mol} &= M_2 \times 10 \text{ mL} \\ 0,00200225 \text{ M} &= M_2 \\ 2002,25 \mu\text{M} &= M_2 \end{aligned}$$

Molaritas larutan TEP STOK 2 (pengenceran dengan aquadest):

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 2002,25 \mu\text{M} \times 1000 \mu\text{L} &= M_2 \times 10000 \mu\text{L} \\ 2002250 \mu\text{mol} &= M_2 \times 10000 \mu\text{L} \\ 200,225 \mu\text{M} &= M_2 \end{aligned}$$

Konsentrasi larutan standar TEP:

$$\text{Standar 1} = \frac{0,250 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 5,01 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 2} = \frac{0,350 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 7,01 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 3} = \frac{0,550 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 11,0 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 4} = \frac{0,750 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 15,0 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 5} = \frac{0,950 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 19,0 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 6} = \frac{1,150 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 23,0 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 7} = \frac{1,350 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 27,0 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 8} = \frac{1,550 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 31,0 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 9} = \frac{1,750 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 35,0 \mu\text{M}$$

$$\text{Standar 10} = \frac{1,950 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,225 \mu\text{M} = 39,0 \mu\text{M}$$

**Lampiran 4.5 Perhitungan rendemen ekstrak teh hijau**

Berat simplisia = 100 gram

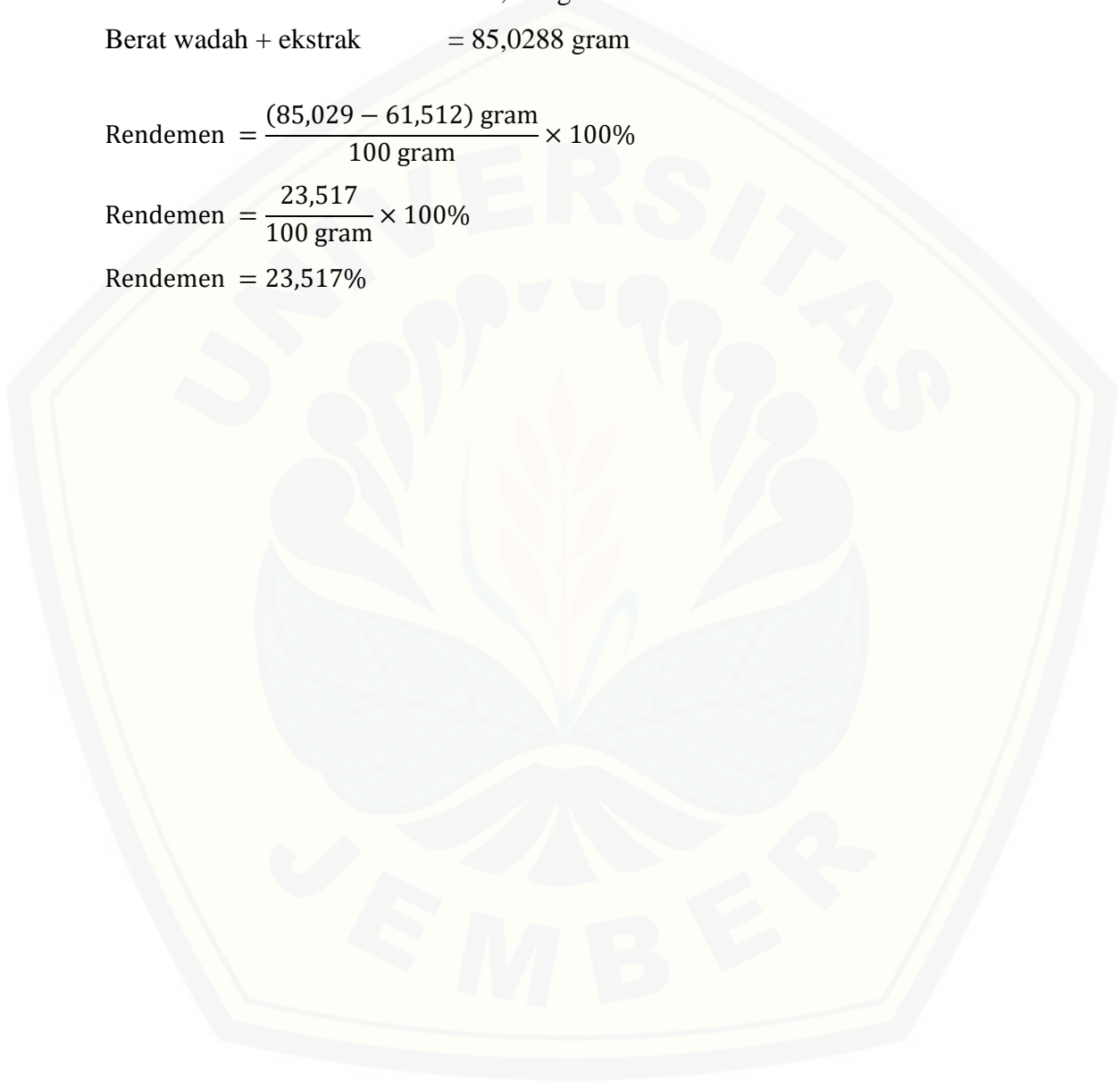
Berat wadah ekstrak = 61,512 gram

Berat wadah + ekstrak = 85,0288 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{(85,029 - 61,512) \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{23,517}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 23,517\%$$



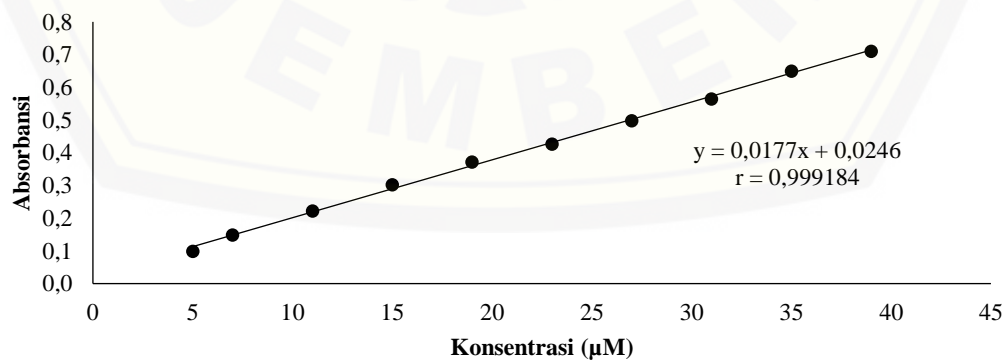
**Lampiran 4.6 Hasil validasi metode analisis**

## a. Optimasi konsentrasi uji

| Konsentrasi ( $\mu\text{M}$ ) | Absorbansi |
|-------------------------------|------------|
| 0,5                           | 0,055      |
| 1                             | 0,074      |
| 2,5                           | 0,093      |
| 5                             | 0,109      |
| 10                            | 0,213      |
| 25                            | 0,464      |
| 50                            | 0,848      |

## b. Uji linieritas

| Konsentrasi ( $\mu\text{M}$ ) | Absorbansi |
|-------------------------------|------------|
| 5                             | 0,099      |
| 7                             | 0,149      |
| 11                            | 0,222      |
| 15                            | 0,302      |
| 19                            | 0,372      |
| 23                            | 0,427      |
| 27                            | 0,498      |
| 31                            | 0,565      |
| 35                            | 0,650      |
| 39                            | 0,710      |

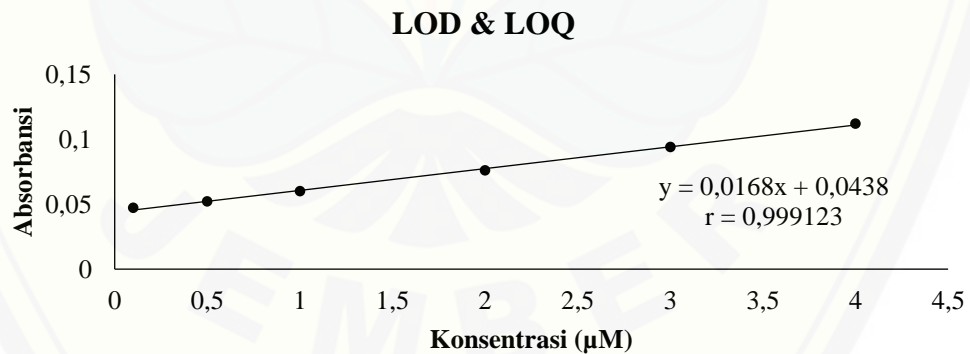
**Linieritas**



| Parameter                     | Hasil                          |
|-------------------------------|--------------------------------|
| <i>Method</i>                 | <i>Linierity</i>               |
| <i>Probability</i>            | 95%                            |
| <i>Number of data</i>         | 10                             |
| <i>Line equation</i>          | $Y = 0,02460246 + 0,01766147X$ |
| <i>Corelation coefficient</i> | 0,99918440                     |
| <i>S<sub>y</sub> value</i>    | 0,00893547                     |
| <i>X<sub>x0</sub> value</i>   | 2,38407800%                    |
| <i>X<sub>p</sub> value</i>    | 2,24403800                     |

c. Uji batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ)

| Konsentrasi (μM) | Absorbansi |
|------------------|------------|
| 0,1              | 0,047      |
| 0,5              | 0,052      |
| 1                | 0,060      |
| 2                | 0,076      |
| 3                | 0,094      |
| 4                | 0,112      |



| Parameter             | Hasil         |
|-----------------------|---------------|
| <i>Method</i>         | DL-QL         |
| <i>Number of data</i> | 6             |
| <i>DL value</i>       | 0,35732670 μM |
| <i>QL value</i>       | 1,07198000 μM |

## d. Uji presisi

| Konsentrasi<br>( $\mu\text{M}$ ) | Absorbansi |       |       |               | RSD<br>(%) | Absorbansi |       |       |               | RSD<br>(%) |
|----------------------------------|------------|-------|-------|---------------|------------|------------|-------|-------|---------------|------------|
|                                  | Hari ke-1  |       |       | Rata-<br>rata |            | Hari ke-2  |       |       | Rata-<br>rata |            |
|                                  | 1          | 2     | 3     |               |            | 1          | 2     | 3     |               |            |
| 5                                | 0,115      | 0,114 | 0,114 | 0,114         | 0,505      | 0,114      | 0,117 | 0,117 | 0,116         | 1,493      |
| 7                                | 0,156      | 0,156 | 0,153 | 0,155         | 1,117      | 0,155      | 0,154 | 0,156 | 0,155         | 0,645      |
| 11                               | 0,232      | 0,233 | 0,237 | 0,234         | 1,131      | 0,234      | 0,234 | 0,234 | 0,234         | 0,000      |
| 15                               | 0,302      | 0,308 | 0,305 | 0,305         | 0,984      | 0,305      | 0,298 | 0,300 | 0,301         | 1,198      |
| 19                               | 0,372      | 0,374 | 0,377 | 0,374         | 0,672      | 0,374      | 0,371 | 0,370 | 0,372         | 0,560      |
| 23                               | 0,432      | 0,430 | 0,431 | 0,431         | 0,232      | 0,431      | 0,433 | 0,432 | 0,432         | 0,231      |
| <b>Rata-rata RSD (%)</b>         |            |       |       |               | 0,774      |            |       |       |               |            |

| Volume<br>pengambilan<br>sampel ( $\mu\text{l}$ ) | Absorbansi | Konsentrasi<br>analit ( $\mu\text{M}$ ) | % v/v  | SD    | RSD<br>(%) |
|---|------------|---|--------|-------|------------|
| 50  | 0,110      | 4,825                                   | 9,650  | 0,018 | 0,183      |
|   | 0,110      | 4,825                                   | 9,650  |       |            |
|   | 0,110      | 4,825                                   | 9,650  |       |            |
|   | 0,110      | 4,825                                   | 9,650  |       |            |
|   | 0,112      | 4,938                                   | 9,876  |       |            |
|   | 0,114      | 5,051                                   | 10,102 |       |            |
| <b>Rata-rata</b>                                  |            | 4,881                                   | 9,763  |       |            |

Konsentrasi analit dihitung menggunakan persamaan regresi yang telah ditetapkan, yaitu:

$$y = 0,0177x + 0,0246$$

dimana : y = absorbansi; x = konsentrasi ( $\mu\text{M}$ )

Misal, pada replikasi ke-1 dengan absorbansi (y) = 0,110, dapat dihitung konsentrasi analitnya sebagai berikut:

$$y = 0,0177x + 0,0246$$

$$0,110 = 0,0177x + 0,0246$$

$$0,110 - 0,0246 = 0,0177x$$

$$4,825 = x$$

Persentase konsentrasi analit dalam sampel (% v/v) dapat dihitung dengan persamaan berikut ini:

$$\frac{\text{konsentrasi analit}}{\text{volume pengambilan sampel}} \times 100\%$$

Misal, dari konsentrasi analit replikasi ke-1 sebesar 4,825  $\mu\text{M}$  dengan volume pengambilan sampel sebanyak 50  $\mu\text{l}$  dapat dihitung % v/v sebagai berikut:

$$\frac{\text{konsentrasi analit}}{\text{volume pengambilan sampel}} \times 100\% = \frac{4,825 \mu\text{M}}{50 \mu\text{l}} \times 100\% = 9,650\%$$

e. Uji akurasi

| Penambahan standar (%) | Konsentrasi teoritis ( $\mu\text{M}$ ) | Absorbansi | Konsentrasi hasil percobaan ( $\mu\text{M}$ ) | Persen perolehan kembali | RSD (%) |
|------------------------|--|------------|---|--------------------------|---------|
| 30                     | 6,343                                  | 0,136      | 6,294   | 99,224                   | 2,480   |
|                        |  | 0,138      | 6,407   | 101,006                  |         |
|                        |  | 0,141      | 6,576   | 103,678                  |         |
| <b>Rata-rata</b>       |  |            |   | 101,302                  |         |

- Standar 1,1,3,3-tetraetoksi propana (TEP) yang ditambahkan ke dalam sampel sebesar 30% dari persentase konsentrasi analit dalam sampel atau % v/v (uji presisi), sehingga:

$$\frac{30}{100} \times 9,763\% = 2,929\%$$

maka, konsentrasi standar TEP yang ditambahkan:

$$\frac{2,929 \mu\text{M}}{100 \mu\text{l}} \times 50 \mu\text{l} = 1,464 \mu\text{M}$$

- Pembuatan standar TEP disesuaikan agar mendekati konsentrasi standar TEP yang telah dihitung, maka:

$$\frac{73 \mu\text{l}}{10000 \mu\text{l}} \times 200,225 \mu\text{M} = 1,462 \mu\text{M}$$

- Konsentrasi teoritis diperoleh dari penjumlahan antara konsentrasi analit dalam sampel (uji presisi) dan konsentrasi standar TEP yang ditambahkan, sehingga:  
Konsentrasi teoritis = 4,881  $\mu\text{M}$  + 1,462  $\mu\text{M}$  = 6,343  $\mu\text{M}$
- Persen perolehan kembali dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{\text{konsentrasi hasil percobaan}}{\text{konsentrasi teoritis}} \times 100\%$$

Misal, % perolehan kembali untuk percobaan replikasi ke-1 dapat dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ perolehan kembali} = \frac{6,294 \mu\text{M}}{6,343 \mu\text{M}} \times 100\% = 99,224\%$$

#### Kriteria Penerimaan Uji Akurasi dan Presisi

| Konsentrasi analit dalam sampel (%) | Persen perolehan kembali (%) | RSD (%)    |
|-------------------------------------|------------------------------|------------|
| 100                                 | 98-102                       | $\leq 1,3$ |
| > 10                                | 98-102                       | $\leq 2,8$ |
| > 1                                 | 97-103                       | $\leq 2,7$ |
| > 0,1                               | 95-105                       | $\leq 3,7$ |
| 0,01                                | 90-107                       | $\leq 5,3$ |
| 0,001                               | 80-110                       | $\leq 7,3$ |
| 0,000.1 (1 ppm)                     | 80-110                       | $\leq 11$  |
| 0,000.01 (100 ppb)                  | 80-110                       | $\leq 15$  |
| 0,000.001 (10 ppb)                  | 60-115                       | $\leq 21$  |
| 0,000.000.1 (1ppb)                  | 40-120                       | $\leq 30$  |

(Sumber: Huber, 2007)

**Lampiran 4.7 Hasil pengukuran kadar glukosa darah dan kadar MDA jaringan hati mencit**

| Kelompok                    | n | Kadar Glukosa Darah (mg/dl) |        | Kadar MDA ( $\mu$ M) | Rata-rata Kadar MDA $\pm$ SD |
|-----------------------------|---|-----------------------------|--------|----------------------|------------------------------|
|                             |   | Awal                        | Akhir  |                      |                              |
| Kontrol Normal              | 1 | 145,05                      | 134,29 | 3,412                | 3,949 $\pm$ 0,500            |
|                             | 2 | 141,28                      | 153,21 | 3,638                |                              |
|                             | 3 | 160,40                      | 85,71  | 4,316                |                              |
|                             | 4 | 124,00                      | 163,56 | 4,429                |                              |
| Kontrol Negatif             | 1 | 783,43                      | 330,99 | 8,497                | 10,136 $\pm$ 1,632           |
|                             | 2 | 737,71                      | 272,30 | 9,006                |                              |
|                             | 3 | 332,32                      | 393,98 | 11,209               |                              |
|                             | 4 | 373,85                      | 276,15 | 11,831               |                              |
| Kontrol Positif             | 1 | 385,78                      | 276,61 | 1,887                | 4,105 $\pm$ 1,739            |
|                             | 2 | 375,12                      | 133,94 | 3,864                |                              |
|                             | 3 | 395,21                      | 312,38 | 4,599                |                              |
|                             | 4 | 283,49                      | 214,22 | 6,068                |                              |
| Ekstrak dosis 600 mg/kg BB  | 1 | 400,46                      | 388,26 | 3,864                | 7,226 $\pm$ 2,641            |
|                             | 2 | 447,15                      | 363,96 | 7,141                |                              |
|                             | 3 | 414,45                      | 361,57 | 7,593                |                              |
|                             | 4 | 390,49                      | 388,43 | 10,305               |                              |
| Ekstrak dosis 900 mg/kg BB  | 1 | 277,98                      | 199,54 | 4,712                | 6,803 $\pm$ 2,541            |
|                             | 2 | 319,27                      | 309,47 | 4,825                |                              |
|                             | 3 | 419,39                      | 399,07 | 7,650                |                              |
|                             | 4 | 421,67                      | 289,35 | 10,023               |                              |
| Ekstrak dosis 1200 mg/kg BB | 1 | 412,44                      | 379,36 | 3,412                | 4,655 $\pm$ 0,975            |
|                             | 2 | 410,05                      | 181,19 | 4,599                |                              |
|                             | 3 | 414,35                      | 342,20 | 4,825                |                              |
|                             | 4 | 400,48                      | 194,04 | 5,785                |                              |



**Lampiran 4.8 Hasil uji statistik kadar MDA jaringan hati mencit**

a. Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk

**Tests of Normality**

| perlakuan       | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|-----------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|                 | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| kadarmda normal | 0.269                           | 4  | .    | 0.878        | 4  | 0.332 |
| negatif         | 0.256                           | 4  | .    | 0.884        | 4  | 0.358 |
| positif         | 0.195                           | 4  | .    | 0.989        | 4  | 0.952 |
| ekstrak 600     | 0.237                           | 4  | .    | 0.969        | 4  | 0.832 |
| ekstrak 900     | 0.282                           | 4  | .    | 0.876        | 4  | 0.323 |
| ekstrak 1200    | 0.227                           | 4  | .    | 0.975        | 4  | 0.875 |

a. Lilliefors Significance Correction

b. Uji homogenitas menggunakan *Levene Statistic*

**Test of Homogeneity of Variances**

kadarmda

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig.  |
|------------------|-----|-----|-------|
| 1.666            | 5   | 18  | 0.194 |

c. Uji *One Way* ANOVA

**ANOVA**

| kadarmda       | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig.  |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|-------|
| Between Groups | 114.932        | 5  | 22.986      | 6.787 | 0.001 |
| Within Groups  | 60.963         | 18 | 3.387       |       |       |
| Total          | 175.894        | 23 |             |       |       |

d. Uji *Least Significant Differences* (LSD)

|               |               | Multiple Comparisons  |            |       |                         |             |
|---------------|---------------|-----------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| (I) perlakuan | (J) perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig.  | 95% Confidence Interval |             |
|               |               |                       |            |       | Lower Bound             | Upper Bound |
| normal        | negatif       | -6.187000*            | 1.301308   | 0.000 | -8.92095                | -3.45305    |
|               | positif       | -0.155750             | 1.301308   | 0.906 | -2.88970                | 2.57820     |
|               | ekstrak 600   | -3.277000*            | 1.301308   | 0.021 | -6.01095                | -0.54305    |
|               | ekstrak 900   | -2.853750*            | 1.301308   | 0.042 | -5.58770                | -0.11980    |
|               | ekstrak 1200  | -0.706500             | 1.301308   | 0.594 | -3.44045                | 2.02745     |
| negatif       | normal        | 6.187000*             | 1.301308   | 0.000 | 3.45305                 | 8.92095     |
|               | positif       | 6.031250*             | 1.301308   | 0.000 | 3.29730                 | 8.76520     |
|               | ekstrak 600   | 2.910000*             | 1.301308   | 0.038 | 0.17605                 | 5.64395     |
|               | ekstrak 900   | 3.333250*             | 1.301308   | 0.020 | 0.59930                 | 6.06720     |
|               | ekstrak 1200  | 5.480500*             | 1.301308   | 0.001 | 2.74655                 | 8.21445     |
| positif       | normal        | 0.155750              | 1.301308   | 0.906 | -2.57820                | 2.88970     |
|               | negatif       | -6.031250*            | 1.301308   | 0.000 | -8.76520                | -3.29730    |
|               | ekstrak 600   | -3.121250*            | 1.301308   | 0.028 | -5.85520                | -0.38730    |
|               | ekstrak 900   | -2.698000             | 1.301308   | 0.053 | -5.43195                | 0.03595     |
|               | ekstrak 1200  | -0.550750             | 1.301308   | 0.677 | -3.28470                | 2.18320     |
| ekstrak 600   | normal        | 3.277000*             | 1.301308   | 0.021 | 0.54305                 | 6.01095     |
|               | negatif       | -2.910000*            | 1.301308   | 0.038 | -5.64395                | -0.17605    |
|               | positif       | 3.121250*             | 1.301308   | 0.028 | 0.38730                 | 5.85520     |
|               | ekstrak 900   | 0.423250              | 1.301308   | 0.749 | -2.31070                | 3.15720     |
|               | ekstrak 1200  | 2.570500              | 1.301308   | 0.064 | -0.16345                | 5.30445     |
| ekstrak 900   | normal        | 2.853750*             | 1.301308   | 0.042 | 0.11980                 | 5.58770     |
|               | negatif       | -3.333250*            | 1.301308   | 0.020 | -6.06720                | -0.59930    |
|               | positif       | 2.698000              | 1.301308   | 0.053 | -0.03595                | 5.43195     |
|               | ekstrak 600   | -0.423250             | 1.301308   | 0.749 | -3.15720                | 2.31070     |
|               | ekstrak 1200  | 2.147250              | 1.301308   | 0.116 | -.58670                 | 4.88120     |
| ekstrak 1200  | normal        | 0.706500              | 1.301308   | 0.594 | -2.02745                | 3.44045     |
|               | negatif       | -5.480500*            | 1.301308   | 0.001 | -8.21445                | -2.74655    |
|               | positif       | 0.550750              | 1.301308   | 0.677 | -2.18320                | 3.28470     |
|               | ekstrak 600   | -2.570500             | 1.301308   | 0.064 | -5.30445                | 0.16345     |
|               | ekstrak 900   | -2.147250             | 1.301308   | 0.116 | -4.88120                | 0.58670     |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4.9 Dokumentasi



Penimbangan mencit



Induksi aloksan secara intraperitoneal



Pemberian ekstrak teh hijau



Pembedahan



Pengambilan sampel darah mencit secara intrakardiak



Pengambilan organ hati mencit



Pengukuran kadar glukosa darah mencit



Homogenat sebelum disentrifuse pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit



Supernatan yang telah ditampung menggunakan *micro tube*



Pengukuran kadar MDA jaringan hati mencit