



**PEMBERIAN *DARK CHOCOLATE BAR* PER ORAL
TERHADAP KADAR PUNCAK (C_{max}), WAKTU PUNCAK (T_{max}),
WAKTU PARUH ($t_{1/2}$) DAN BERSIHAN TEOBROMIN
PADA SUKARELAWAN SEHAT**

Oleh
Nyoman Defriyana Suwandi
NIM 122010101012

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**PEMBERIAN *DARK CHOCOLATE BAR* PER ORAL
TERHADAP KADAR PUNCAK (C_{max}), WAKTU PUNCAK (T_{max}),
WAKTU PARUH ($t_{1/2}$) DAN BERSIHAN TEOBROMIN
PADA SUKARELAWAN SEHAT**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S-1)
Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Oleh
Nyoman Defriyana Suwandi
NIM 122010101012

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

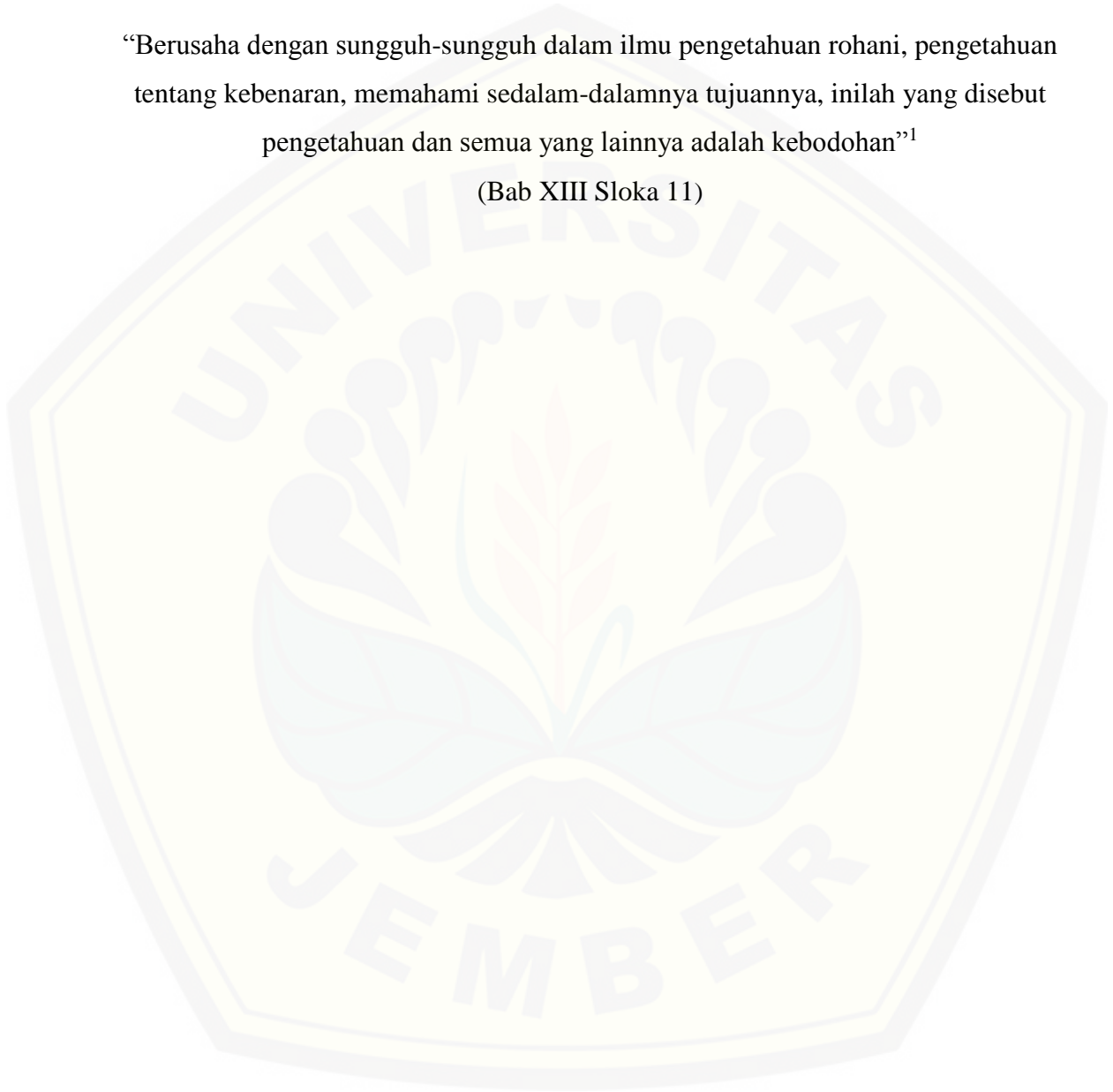
Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh rasa hormat dan cinta untuk:

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa, Tuhan Yang Maha Esa;
2. Orang tua saya tercinta, ayahanda Made Diyamika S.H dan ibunda Luh Sutresni S.E serta kakak saya dr. Gede Sasmika Suwandi dan Made Hadi Suwandi B.Bus;
3. Guru-guru sejak TK sampai Perguruan Tinggi yang telah mendidik, memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

“Berusaha dengan sungguh-sungguh dalam ilmu pengetahuan rohani, pengetahuan tentang kebenaran, memahami sedalam-dalamnya tujuannya, inilah yang disebut pengetahuan dan semua yang lainnya adalah kebodohan”¹

(Bab XIII Sloka 11)



¹ G. Pudja, MA.SH. 2003. Bhagavad Gita (Pancamo Veda). Denpasar. Paramita

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

nama : Nyoman Defriyana Suwandi

NIM : 122010101012

menyatakan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pemberian *Dark Chocolate Bar* Peroral Terhadap Kadar Puncak (C_{max}), Waktu Puncak (T_{max}), Waktu Paruh ($T_{1/2}$) dan Bersihan Teobromin Pada Sukarelawan Sehat” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Desember 2015

Yang menyatakan,

Nyoman Defriyana Suwandi

NIM. 122010101012

SKRIPSI

**PEMBERIAN *DARK CHOCOLATE BAR* PER ORAL
TERHADAP KADAR PUNCAK (C_{max}), WAKTU PUNCAK (T_{max}),
WAKTU PARUH ($t_{1/2}$) DAN BERSIHAN TEOBROMIN
PADA SUKARELAWAN SEHAT**

Oleh:

Nyoman Defriyana Suwandi
NIM 122010101012

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Cholis Abrori, M. Kes., M.Pd. Ked

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Muhammad Hasan, M.Kes., Sp.OT

PENGESAHAN

Karya ilmiah Skripsi berjudul “Pemberian *Dark Chocolate Bar* Peroral Terhadap Kadar Puncak (C_{max}), Waktu Puncak (T_{max}), Waktu Paruh ($T_{1/2}$) dan Bersihan Teobromin Pada Sukarelawan Sehat” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 18 Desember 2015

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

dr. Sugiyanta, M.Ked
NIP 19790207 200501 1 001

Penguji III,

dr. Cholis Abrori, M. Kes., M.Pd. Ked
NIP 19710521 199803 1 003

Penguji II,

dr. M.Ali Shodikin, M.Kes., Sp.A
NIP 19770625 200501 1 002

Penguji IV,

dr. Muhammad Hasan, M.Kes., Sp.OT
NIP 19690411 199903 1 001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Pemberian *Dark Chocolate Bar* Peroral Terhadap Kadar Puncak (C_{max}), Waktu Puncak (T_{max}), Waktu Paruh ($T_{1/2}$) dan Bersihan Teobromin Pada Sukarelawan Sehat; Nyoman Defriyana Suwandi, 122010101012; 2015: 36 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Cokelat merupakan salah satu olahan yang dapat berbentuk sebagai makanan dan juga minuman. Kreasi pengolahan biji kakao tersebut terus dikembangkan, begitu pula terhadap perkembangan pengolahan cokelat. Kini, cokelat yang dipasarkan dapat ditemukan dengan berbagai bentuk, campuran dan tingkat kemanisan. Masing-masing dari produk olahan memiliki komposisi yang berbeda-beda. Diantara keempat olahan produk tersebut yang memiliki kadar kakao tertinggi adalah *dark chocolate*.

Dark chocolate mengandung antioksidan (flavonoid dan polifenol) dan vitamin (terutama vitamin E). *Dark chocolate* juga kaya akan mineral seperti kalsium, kalium, zat besi dan terutama magnesium alami. Selain itu *dark chocolate* juga mengandung dua derivat metilsantin yaitu kafein (1,3,7-trimetilsantin) dan teobromin (3,7 dimetilsantin), akan tetapi pada *dark chocolate* kandungan teobromin lebih banyak jika dibandingkan dengan kandungan kafein. Teobromin dalam tubuh dapat memberikan beberapa efek bagi kesehatan. Kadar teobromin dalam plasma ditentukan oleh faktor-faktor farmakokinetik. Parameter farmakokinetik meliputi kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tentang pemberian *dark chocolate bar* terhadap farmakokinetik teobromin pada sukarelawan sehat. Parameter farmakokinetik yang diteliti adalah kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan. Hasil penelitian diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pertimbangan individu, masyarakat ataupun institusi sebagai salah satu cara implementasi suatu zat atau obat.

Penelitian dilakukan dengan mengambil sampel plasma pada sukarelawan sehat. Pengambilan sampel dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. *Dark chocolate bar* yang digunakan adalah cokelat dengan netto 60 gram yang diproduksi oleh Pusat Penelitian Biji Kopi dan Kakao Jember. Alat yang digunakan untuk memperoleh data penelitian ini adalah *Informed Consent*, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dan sampel plasma sukarelawan sehat.

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Quasi Experimental Design* dengan bentuk *Time-Series Design*. Setelah data terkumpul, dilanjutkan dengan membuat kurva kadar teobromin per satuan waktu. Kemudian menghitung nilai kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan teobromin.

Hasil penelitian yang telah didapatkan menunjukkan nilai parameter farmakokinetik dari teobromin. Waktu puncak (T_{max}) teobromin pada plasma adalah pada jam ke 2,501. Pada waktu puncak tersebut maka didapatkan pula kadar puncak (C_{max}) teobromin dalam plasma. Hasil penelitian ini menunjukkan kadar puncak teobromin dalam plasma adalah 4,714 mg/L. Waktu paruh ($t_{1/2}$) yang didapatkan adalah 4,880 jam. Hasil dari perhitungan bersihan sesuai dengan data analisis adalah 14,2 ml/kg/jam. Berdasarkan hasil analisis, didapatkan parameter farmakokinetik teobromin dalam plasma setelah mengkonsumsi *dark chocolate bar* per oral. Dengan mengetahui profil atau parameter farmakokinetik teobromin di dalam plasma akan diperoleh banyak informasi yang bermanfaat terutama untuk terapi penyakit tertentu, menentukan *drug of choice* dan manajemen pemberian terapi.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Ida Sang Hyang Widhi Wasa Tuhan yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga penulis diberikan kemudahan dan kelancaran dalam menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemberian *Dark Chocolate Bar* Peroral Terhadap Kadar Puncak (C_{max}), Waktu Puncak (T_{max}), Waktu Paruh ($T_{1/2}$) dan Bersihan Teobromin Pada Sukarelawan Sehat”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Cholis Abrori, M. Kes., M.Pd. Ked selaku Dosen Pembimbing Utama, dan dr. Muhammad Hasan, M.Kes., Sp.OT selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, serta perhatiannya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. dr. Sugiyanta, M.Ked dan dr. M.Ali Shodikin, M.Kes., Sp.A sebagai dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Bapak Made Diyamika S.H dan ibu Luh Sutresni S.E atas doa, kasih sayang dan dukungan tiada henti yang selalu menyertai setiap langkah saya;
5. Kakak saya, dr Gede Sasmika Suwandi dan Made Hadi Suwandi B.Bus atas motivasi dan kasih sayang yang melimpah untuk saya;
6. Teman seperjuangan, Monica Bethari Primanesa dan Bagus Dwi Kurniawan yang telah memberikan semangat, dukungan, canda tawa, pelajaran hidup;

7. Sahabat terkasih Putu Gian Mihartari, I Gede Putu Surya Darma Putra, Gede Angga Prawirayuda, Christo Edward, Ngurah Agung Reza Satria, Nyoman Yuniasih yang telah setia menemani saya sampai saat ini;
8. Teman-teman angkatan 2012 atas dukungan dan motivasi demi mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
9. Analis Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
10. Analis Laboratorium Kimia dan Instrumen Fakultas Farmasi Universitas Jember;
11. Segenap pegawai di Bagian Kepegawaian Universitas Jember dan seluruh pegawai yang telah bersedia membantu dalam penelitian ini;
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

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

Jember, Desember 2015

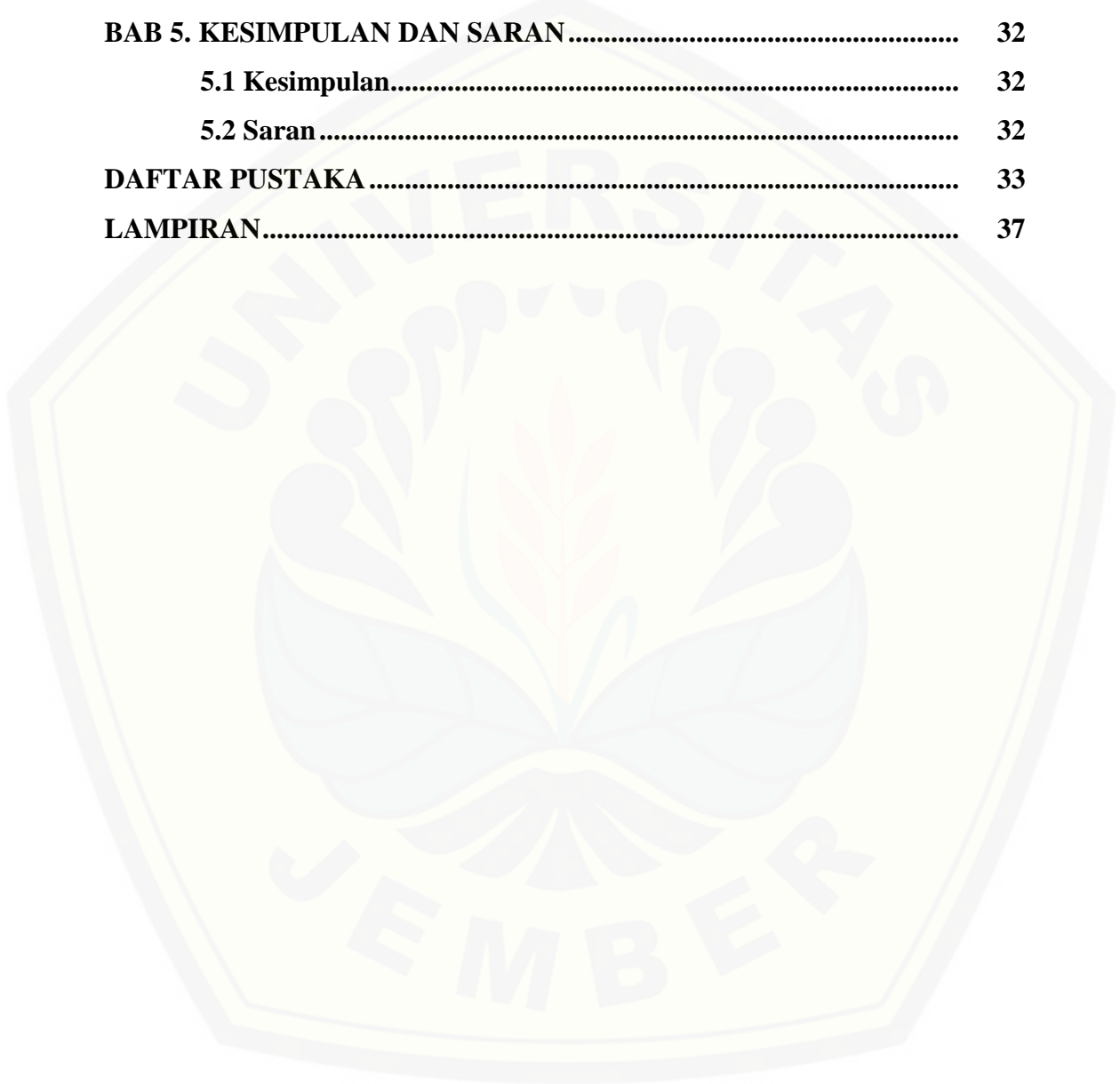
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kakao	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Karakteristik Kakao	5

2.1.3 Kakao untuk Produk Pangan	7
2.1.4 Manfaat Cokelat pada Kesehatan	9
2.2 Teobromin	11
2.2.1 Biosintesis Teobromin	11
2.2.2 Efek Teobromin pada Kesehatan	13
2.2.3 Farmakologi Teobromin	14
2.3 Parameter Farmakokinetik	15
2.4 Kerangka Konseptual	16
2.5 Hipotesis Penelitian	17
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	18
3.1 Jenis Penelitian.....	18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
3.3 Kriteria Sukarelawan	18
3.4 Variabel Penelitian.....	19
3.5 Definisi Operasional.....	19
3.5.1 <i>Dark chocolate bar</i>	19
3.5.2 <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	19
3.5.3 Kadar Puncak (C_{max}), Waktu Puncak (T_{max}), Waktu Paruh ($t_{1/2}$) dan Bersihan	20
3.6 Bahan dan Alat Penelitian.....	20
3.7 Rancangan Penelitian	20
3.8 Prosedur Pengambilan dan Analisis Data	21
3.8.1 Uji Kelayakan Etik.....	21
3.8.2 Pengambilan Data	21
3.8.3 Analisis Data.....	23
3.8.4 Skema Alur Penelitian	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil Penelitian	25
4.1.1 Waktu Puncak (T_{max}) dan Kadar Puncak (C_{max}).....	25

4.1.2 Waktu Paruh ($t_{1/2}$)	27
4.1.3 Bersihan	28
4.3 Pembahasan	30
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	37

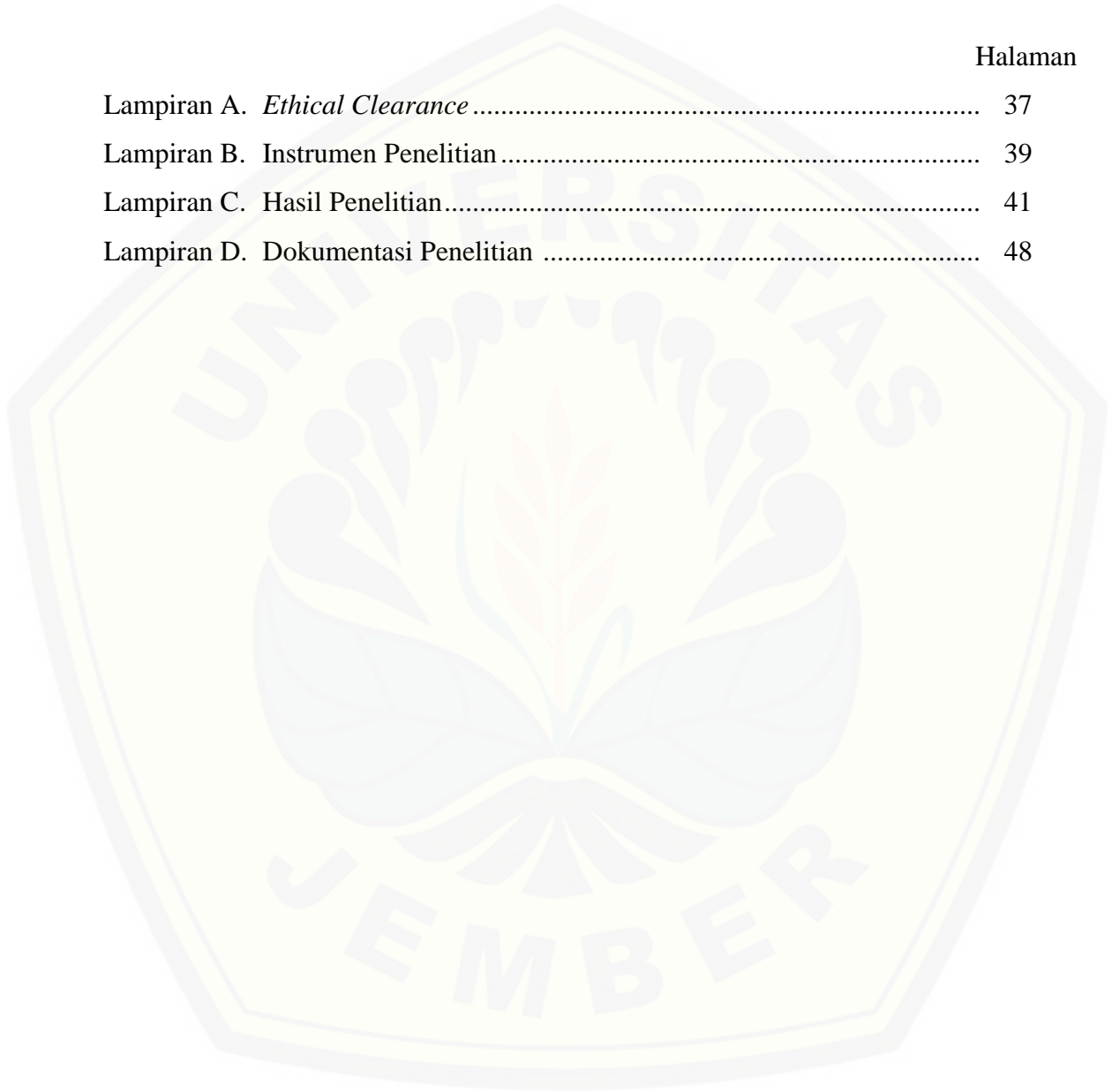


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Kimia Teobromin.....	12
Gambar 2.2 Biosintesis Teobromin	13
Gambar 2.3 Kerangka Konseptual.....	16
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian.....	21
Gambar 3.2 Grafik Konsentrasi Obat per Satuan Waktu	22
Gambar 3.3 Skema Alur Penelitian	24
Gambar 4.1 Kurva Kadar Teobromin dalam Plasma Terhadap Waktu.....	26
Gambar 4.2 Kurva Kadar Teobromin dalam Plasma Terhadap Waktu	28
Gambar 4.3 Kurva Kadar Teobromin dalam Plasma Terhadap Waktu.....	29

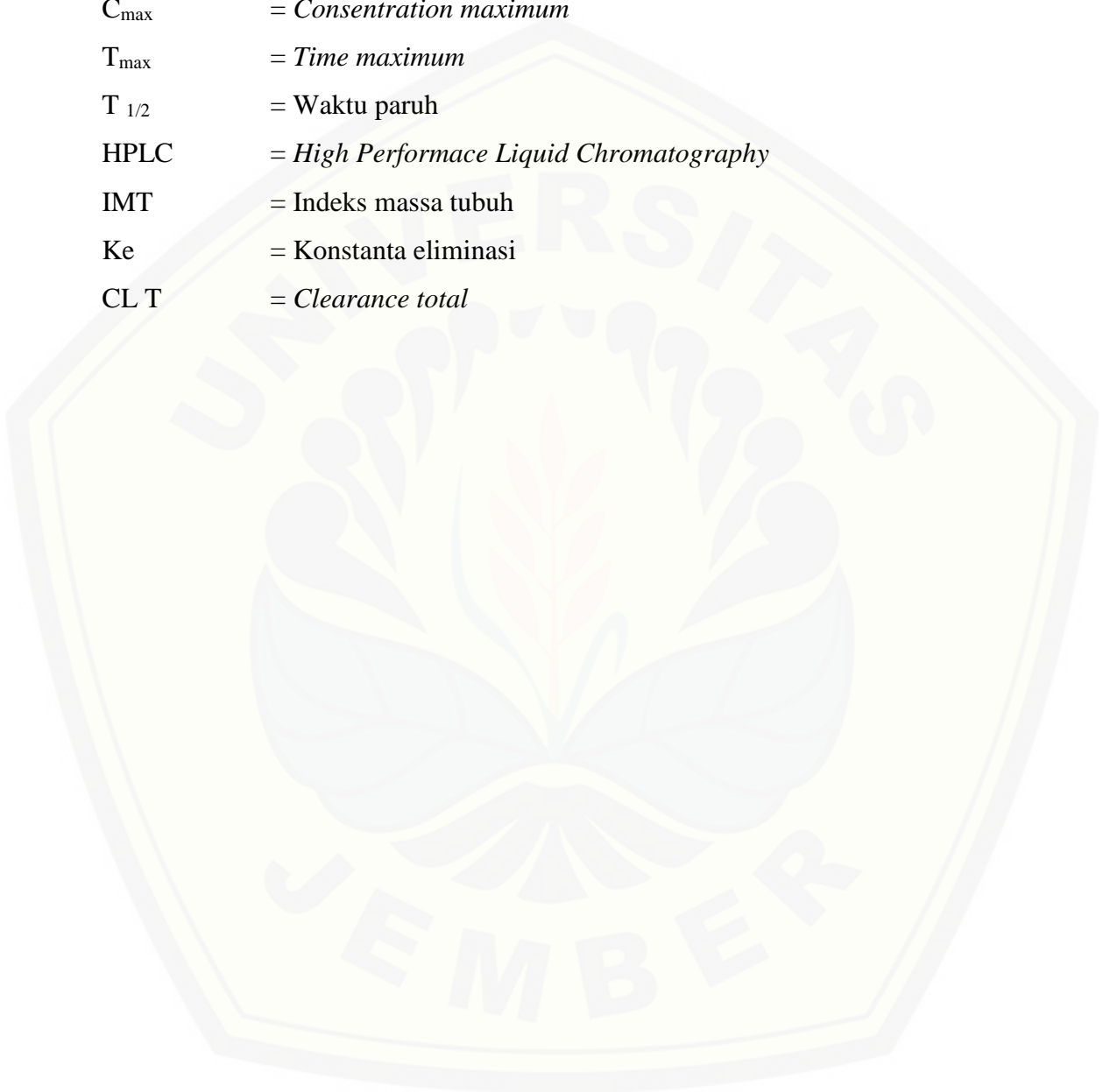
DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. <i>Ethical Clearance</i>	37
Lampiran B. Instrumen Penelitian	39
Lampiran C. Hasil Penelitian.....	41
Lampiran D. Dokumentasi Penelitian	48



DAFTAR SINGKATAN

C_{\max}	= <i>Concentration maximum</i>
T_{\max}	= <i>Time maximum</i>
$T_{1/2}$	= Waktu paruh
HPLC	= <i>High Performace Liquid Chromatography</i>
IMT	= Indeks massa tubuh
Ke	= Konstanta eliminasi
CL T	= <i>Clearance total</i>



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cokelat merupakan olahan dari kakao (*Theobroma cacao L.*) yang dapat disajikan sebagai makanan dan juga minuman. Indonesia dikenal sebagai negara pengekspor biji kakao terpenting di dunia. Tahun 2010 Indonesia menduduki posisi sebagai pengekspor biji kakao terbesar ketiga di dunia dengan produksi kering 550.000 ton (Rubiyo, 2012). Konsumsi kakao di Indonesia dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu cokelat bubuk dan cokelat instan. Perkembangan konsumsi kedua jenis produk tersebut berfluktuatif dari tahun 1982-2008. Peningkatan konsumsi cenderung meningkat sebesar 35,71% (cokelat instan) dan 17,31% (cokelat bubuk) (Pusat penelitian kopi dan kakao, 2015).

Kreasi pengolahan biji kakao tersebut terus dikembangkan, begitu pula terhadap perkembangan pengolahan cokelat. Kini cokelat yang dipasarkan dapat ditemukan dengan berbagai bentuk, campuran dan tingkat kemanisan. Komposisi kakao yang digunakan dapat beragam sesuai dengan produk yang akan dipasarkan. Kategori cokelat berdasarkan komposisinya dapat dibagi menjadi empat produk olahan yaitu *dark chocolate*, *sweet chocolate*, *milk chocolate* dan *white chocolate*.

Masing-masing dari produk olahan cokelat memiliki komposisi kakao yang berbeda-beda. Diantara keempat olahan produk tersebut yang memiliki kadar kakao tertinggi adalah *dark chocolate*. *Dark chocolate* berasal dari biji kakao yang telah diproses dan memiliki rasa yang lebih pahit. Semakin banyak campuran dengan gula, susu dan bahan-bahan lainnya akan mengurangi presentasi kandungan kakao dari sebuah cokelat. Oleh karena itu *dark chocolate* lebih baik untuk dikonsumsi karena kandungan kakao dalam *dark chocolate* lebih tinggi dibandingkan dengan olahan cokelat lainnya (Sellman, 2007). *Dark chocolate* minimal mengandung 35% pasta kakao dan sisanya mengandung komposisi lain seperti pemanis, lemak kakao, susu, perisa dan lemak nabati (Pusat penelitian kopi dan kakao, 2015).

Cokelat biasa dikonsumsi oleh banyak kalangan, banyak orang menyukai cokelat karena memiliki tekstur yang khas dan memiliki rasa manis serta sedikit

pahit. Beberapa penelitian menunjukkan *dark chocolate* mengandung antioksidan (flavonoid dan polifenol) dan vitamin (terutama vitamin E). *Dark chocolate* juga kaya akan mineral seperti kalsium, kalium, zat besi dan terutama magnesium alami (Nurazizah *et al.*, 2015). Pada *dark chocolate* mengandung dua derivat metilxantin yaitu kafein (1,3,7-trimetilxantin) dan teobromin (3,7 dimetilxantin), akan tetapi pada *dark chocolate* kandungan teobromin lebih banyak jika dibandingkan dengan kandungan kafein (Baggott *et al.*, 2013).

Tingkat kandungan teobromin dalam *dark chocolate* secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan *milk chocolate* (Meng *et al.*, 2009). Dosis teobromin yang terdapat pada *dark chocolate* berbeda-beda tergantung dari kandungan pasta kakao yang terdapat dalam *dark chocolate* tersebut. Teobromin dalam tubuh dapat memberikan efek positif maupun negatif. Efek tersebut tergantung dari dosis teobromin yang ada di dalam tubuh. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa teobromin dengan dosis yang rendah akan memberikan efek positif sedangkan pada dosis yang tinggi akan memberikan efek yang negatif. Pemberian teobromin yang dapat memberikan efek negatif yaitu pada dosis 1000 mg (Baggott *et al.*, 2013). Pada dosis berlebih teobromin akan memberikan efek samping yaitu efek laksatif (Bogaard *et al.*, 2010). Teobromin dalam tubuh dapat memberikan beberapa efek bagi kesehatan antara lain kesehatan saluran pernafasan, kesehatan gigi dan kesehatan mulut (Pusat penelitian kopi dan kakao Indonesia, 2015).

Teobromin pada tubuh dapat ditemukan dalam plasma. Kadar teobromin dalam plasma ditentukan tidak hanya oleh dosis obat tetapi juga oleh parameter farmakokinetik. Parameter farmakokinetik meliputi waktu paruh, kadar puncak, waktu puncak, bersihan, bioavailabilitas dan volume distribusi dalam keadaan fisiologi maupun patologi (Setiawati, 2012). Pengukuran kadar teobromin di dalam plasma untuk mengetahui parameter farmakokinetik dapat menggunakan dengan metode HPLC (*High Performace Liquid Chromatography*) (Meng *et al.*, 2009). HPLC (*High Performace Liquid Chromatography*) merupakan suatu teknik analitis yang berdasarkan pada pemisahan suatu molekul karena perbedaan struktur atau komposisinya. Prinsip dari HPLC (*High Performace Liquid Chromatography*) ini adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya (Kupiec, 2004).

Beberapa penelitian terdahulu telah banyak menjelaskan manfaat dari teobromin bagi tubuh. Sedangkan dari segi parameter farmakokinetik seperti waktu puncak, kadar puncak, waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan teobromin dalam plasma masih belum peneliti dapatkan hingga saat ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan, yaitu bagaimanakah efek pemberian *dark chocolate bar* terhadap kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan teobromin pada sukarelawan sehat ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tentang efek pemberian *dark chocolate bar* terhadap farmakokinetik teobromin pada sukarelawan sehat.

1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

- Mengetahui kadar puncak (C_{max}) teobromin dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* secara per oral
- Mengetahui waktu puncak (T_{max}) teobromin dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* secara per oral
- Mengetahui waktu paruh ($t_{1/2}$) teobromin dalam plasma setelah konsumsi *dark chocolate bar* secara per oral
- Mengetahui bersihan teobromin dalam tubuh setelah konsumsi *dark chocolate bar* secara per oral

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- Bagi peneliti

Penelitian ini dilakukan untuk menambah wawasan peneliti dalam bidang farmakokinetik klinik terutama tentang kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan teobromin setelah pemberian *dark chocolate bar* pada sukarelawan sehat dan diharapkan dapat mengimplementasikannya dalam zat atau obat yang lain saat berada dalam klinik.

b. Bagi institusi

Menjadi dasar bagi institusi untuk pengembangan penelitian selanjutnya, khususnya pada bidang farmakokinetik.

c. Bagi ilmu pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna mengenai farmakokinetik klinik teobromin setelah konsumsi *dark chocolate bar* secara per oral terutama dalam bidang pertanian dan pengolahan pangan sehingga bisa menghasilkan produk cokelat dengan efek terapi maksimal.

d. Bagi masyarakat

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan masukan kepada masyarakat mengenai dosis konsumsi *dark chocolate bar* sehubungan dengan kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan teobromin dalam plasma setelah mengkonsumsi *dark chocolate bar*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kakao

2.1.1 Taksonomi

Tanaman kakao yang dikomersilkan adalah spesies *Theobroma cacao* L., yang merupakan satu diantara 22 spesies dalam genus *Theobroma*, meskipun juga *T. pentagona*, namun nilai komersial masih rendah. Spesies selain itu hingga saat ini belum ada yang dikomersialkan, misalnya *Theobroma glandiflora* yang pulp buahnya beraroma harum sehingga berpotensi digunakan sebagai bahan minuman. Semua spesies marga *Theobroma* tersebut termasuk tanaman diploid dengan jumlah kromosom 20 buah. Sistematika kakao sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 1988).

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Subkelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Malvales</i>
Famili	: <i>Sterculiaceae</i>
Genus	: <i>Theobroma</i>
Spesies	: <i>Theobroma cacao</i> Linneaus

2.1.2 Karakteristik Kakao

Kakao adalah salah satu hasil panen yang sangat berharga di dunia, mempunyai peran penting dalam kehidupan sosial dan ekonomi untuk lebih dari 5 juta rumah tangga, dan mempengaruhi 25 juta orang miskin di daerah pedesaan di dunia. Negara penghasil kakao yang paling penting adalah Ivory Coast, Ghana, Nigeria, dan Brazil. Kakao tumbuh di 58 negara dan nilai pendapatan untuk ekonomi dunia mencapai lebih dari US\$ 4 miliar per tahun (Pohlan, 2012).

Sejak tahun 1930 kakao merupakan salah satu komoditas perkebunan yang mempunyai peran penting dalam perekonomian Indonesia. Tahun 2010 Indonesia merupakan pengeksport biji kakao terbesar ketiga dunia dengan produksi biji kering

550.000 ton setelah Negara Pantai Gading (1.242.000 ton) dan Ghana dengan produksi 662.000 ton (ICCO, 2011). Pada tahun tersebut, dari 1.651.539 ha areal kakao Indonesia, sekitar 1.555.596 ha atau 94% adalah kakao rakyat (Ditjenbun, 2010).

Area perkembangan kakao di Indonesia meliputi Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Tengah, Papua Barat, Jawa Timur, Lampung, Sumatera Barat, Sumatera Utara, dan NAD. Dari total area kakao di Indonesia seluas 1.745.789 ha, sekitar 57% atau seluas 1.004.158 ha tersebar di daerah Sulawesi, sedangkan daerah pengembangan baru yang direncanakan untuk mendukung produktivitas dan mutu kakao nasional adalah provinsi Papua, Kalimantan Timur, dan NTT (Rubiyo, 2012).

Kakao adalah tanaman panen yang sudah beradaptasi dengan baik pada iklim panas serta hujan. Daerah kultivasinya terfokus pada 0° sampai 20° utara dan selatan garis ekuator, sehingga daerah ini disebut dengan “*Cacao Belt*” atau “sabuk kakao” (Pohlan, 2012). Tanaman kakao umumnya dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah tergantung pada sifat fisik dan kimia tanahnya untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman kakao. Nilai pH tanah yang ideal untuk tanaman kakao adalah 6-7,5. Tekstur tanah yang baik untuk tanaman kakao adalah lempung liat berpasir dengan komposisi 30-40% fraksi liat, 50% pasir dan 10-20% debu. Curah hujan yang sesuai untuk pertanaman kakao adalah 1100-3000 mm, dengan distribusi curah hujan sepanjang tahun. Pola penyebaran hujan yang merata akan sangat berpengaruh terhadap penyebaran panen pada tanaman kakao, sedangkan temperatur 30-32 °C (Rubiyo, 2012).

Warna buah tanaman kakao beragam, tetapi pada dasarnya hanya ada dua macam warna. Buah yang ketika muda berwarna hijau atau hijau agak putih jika sudah masak akan berwarna kuning. Sementara itu, buah yang ketika muda berwarna merah, setelah masak berwarna jingga (orange). Kulit buah memiliki 10 alur dalam dan dangkal silih berganti. Untuk jenis *Criollo* dan *Trinitario* alur buah nampak jelas, kulit tebal tetapi lunak dan permukaan kasar. Sedangkan jenis *Forastero* umumnya permukaan halus atau rata dan kulit buah tipis (Puslit Kopi dan Kakao, 2012).

Buah kakao mengandung purin alkaloid, antara lain 1-metilxantin, 3-metilxantin, 7-metilxantosin, 7-metilxantin, teofilin, paraxantin, teobromin, dan kafein. Konsentrasi tertinggi purin alkaloid pada tanaman kakao ini ditemukan pada bijinya (kotiledon dan lokus embrional). Kandungan purin alkaloid yang tertinggi yaitu teobromin dengan kadar 22 $\mu\text{mol}/\text{gram}$ berat bersih, selanjutnya adalah kafein dengan kadar 4,9 $\mu\text{mol}/\text{gram}$ berat bersih (Zheng *et al.*, 2004).

2.1.3 Kakao Untuk Produk Pangan

Biji kakao dapat diolah menjadi berbagai macam produk antara lain pasta cokelat, bubuk cokelat, *cocoa butter*, *cocoa cake*. Awalnya kakao hanya diolah menjadi minuman yang dicampur dengan vanili dan kayu manis. Selanjutnya, kreasi dari kakao terus dikembangkan, hingga diperoleh permen cokelat. Kini, masyarakat mengolah biji kakao menjadi kembang gula, makanan, minuman bahkan masakan. Olahan dari kakao salah satunya adalah cokelat batang.

Cokelat batang diperoleh dari pasta kakao yang diproses melalui pencampuran dengan gula dan susu, penghalusan dan diikuti dengan pencetakan. Tahun 1878, Rudi Lindt dari Swiss menemukan metode *conching* yang membuat cokelat menjadi lebih halus. Pengolahan cokelat juga mempengaruhi cita rasa cokelat dan teksturnya ketika di dalam mulut (Beckett, 2000). Berkembangnya teknik pengolahan kakao menjadi cokelat memicu tumbuhnya industri-industri cokelat.

Produksi cokelat pertama terjadi tahun 1847 di Inggris, dan dipamerkan di Birmingham. Pada tahun 1868, John Cadbury memasarkan permen cokelat secara masal untuk pertama kalinya. Awal abad 1900, Milton Hershey dan meluncurkan permen M&M's yang terkenal (Meursing, 2009). Kini cokelat dipasarkan dalam berbagai bentuk, campuran dan tingkat kemanisan.

a. *Milk, sweet* dan *white chocolate*

Komposisi kakao yang digunakan dalam pembuatan cokelat menentukan kategori cokelat (Tabel 2.1). Cokelat dengan proporsi pasta kakao kurang dari 35% dinamakan *sweet chocolate*. Apabila cokelat menggunakan pasta kakao kurang dari 15% dan susu lebih dari 12% maka dinamakan *milk chocolate*. Istilah *white*

chocolate diberikan pada campuran lemak kakao dengan pemanis dan susu, tanpa adanya kandungan pasta kakao dan bubuk kakao.

b. *Dark chocolate*

Cokelat dengan proporsi pasta kakao lebih dari 35% dikategorikan *dark chocolate*. Pasta adalah yang kita dapatkan saat kita mengambil daging biji kakao tanpa kulit (nib) dan menggilingnya dalam air. Setelah beberapa saat, maka akan terbentuk dua komponen yang berbeda. Komponen yang pertama, yang memiliki bentuk kecil, merupakan serbuk partikel yang polar, yang memberi rasa pada cokelat. Sedangkan komponen yang kedua, yang berwarna putih adalah lapisan lipid yang non polar, yang memberi struktur pada cokelat (Indarti *et al.*, 2013)..

Dark chocolate bar adalah produk olahan kakao siap konsumsi, dengan komposisi pasta kakao lebih dari 35%, dan sisanya merupakan bahan campuran seperti pemanis, lemak kakao, susu, perisa dan lemak nabati. Bahan-bahan tersebut diaduk dan dicampur, lalu melewati proses *conching*, selanjutnya dilakukan proses *tempering*, dicetak, lalu disimpan dalam *refrigerator* atau pendingin (Indarti *et al.*, 2013).

Tabel 2.1 Komposisi kandungan cokelat

Komposisi	Sweet chocolate	Dark chocolate (bittersweet)	Milk chocolate	White chocolate
Pemanis	Diizinkan	Diizinkan	Diizinkan	Maks 55%
Pasta kakao	Min 15%	Min 35%	Min 10%	Tidak ditentukan
Lemak kakao	Min 18%	Min 18%	Min 15%	Min 20%
Susu	<5% & <12%	<5% & <12%	Min 12%	Min 14%
Perisa	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada	Tidak Ada
Lemak nabati	0-5%	0-5%	0-5%	0-5%

c. *Couverture*

Couverture adalah cokelat dengan kandungan lemak kakao yang tinggi. Suatu *couverture* harus memiliki setidaknya 31% lemak kakao. Umumnya, *couverture* digunakan dalam dunia kuliner sebagai cokelat pelapis dan hiasan.

d. *Ganache*

Ganache adalah campuran cokelat dengan krim, yang dibuat dengan menuangkan cokelat keatas krim yang mendidih, lalu diaduk dengan cepat. *Ganache* biasanya digunakan untuk isian cokelat *praline* dan *truffle*.

e. *Gianduja*

Gianduja adalah cokelat dengan campuran kacang di dalamnya. Kacang yang digunakan harus memiliki tingkat kehalusan tinggi sehingga menyerupai pasta. Jenis kacang yang digunakan umumnya adalah kacang almond atau kacang hazel dengan konsentrasi antara 2-40%.

f. *Fondue* cokelat

Merupakan hidangan penutup berupa aneka potongan buah untuk dicelupkan ke dalam semangkuk cokelat panas (Carmack, 2001). *Fondue* cokelat menggunakan alat yang dapat melelehkan dan juga mengalirkan cokelat. *Fondue* disajikan dengan panci *fondue* khusus ataupun menggunakan *chocolate fountain*. Cokelat yang digunakan bervariasi mulai dari cokelat susu, *dark chocolate* dan cokelat putih (Townsend, 2015).

2.1.4 Manfaat Cokelat pada Kesehatan

Konsumsi cokelat telah banyak dikaitkan dengan penurunan jangka pendek tekanan darah, kolesterol dan peningkatan sensitivitas insulin. Dari kandungan gizi, cokelat kaya akan energi, memiliki kandungan lemak yang tinggi (jenuh dan pada tingkat yang lebih rendah *mono-saturated fat*) dan gula. Selain kandungan tersebut cokelat juga mengandung mineral (potassium, fosfor, magnesium dan seng), flavonoid, amina biogenic (tyramine dan phenylethylamine) dan metilxantin (teobromin dan kafein). Mengonsumsi cokelat, khususnya *dark chocolate* memiliki hubungan meningkatkan kesehatan fisik yang lebih baik. Berkaitan dengan efek potensial pada kesehatan fisik, konsumsi cokelat dapat menurunkan

tekanan darah dan kolesterol, meningkatkan sensitivitas insulin dan fungsi pembuluh darah. Jenis pengolahan cokelat, baik pada *dark chocolate* atau *white chocolate* akan mempengaruhi kandungan gizi yang terdapat di cokelat seperti flavonoid dan kapasitas antioksidan (Castillo *et al.*, 2015).

Dark chocolate mengandung karbohidrat kompleks, antioksidan (flavonoid polyphenol), vitamin B6, asam lemak tidak jenuh (omega 3 dan omega 6) dan mineral (magnesium, kalsium, zat besi) yang berpengaruh dalam mengatur gejala premenstrual pada siklus menstruasi dengan cara menyeimbangkan kadar hormon estrogen dan progesterone dalam darah pada fase luteal selama siklus menstruasi. Konsumsi *dark chocolate* sebanyak 20 gram setiap hari selama 14 hari sebelum fase luteal dapat mengurangi gejala subjektif perempuan penderita sindroma premenstrual usia 18-22 tahun (Nurazizah *et al.*, 2015).

Metilxantin yang terkandung pada *dark chocolate* memiliki sifat farmakologi yang penting sehingga metilxantin ini dapat digunakan untuk terapi. Metilxantin juga memiliki efek stimulasi sistem saraf pusat seperti pada sistem pencernaan, kardiovaskuler, ginjal dan sistem pernafasan (Lopez *et al.*, 2014). Mengonsumsi produk olahan kakao memberikan banyak manfaat bagi kesehatan selain memberikan efek terhadap tekanan darah produk olahan dari kakao ini juga memberikan efek positif pada fungsi endotel, status antioksidan, aktivitas platelet dan resistensi insulin (Cooper *et al.*, 2008).

Produk kakao dalam bentuk cokelat dan minuman telah dibuktikan mampu menurunkan tekanan darah orang dewasa normal serta pasien prehipertensi atau hipertensi tahap 1 (Desch *et al.*, 2009). Orang yang memakan *dark chocolate* yang kaya polifenol, tekanan darahnya menjadi relatif lebih rendah daripada orang yang memakan cokelat putih yang tidak memiliki kandungan polifenol. Apabila *dark chocolate* dikonsumsi mencapai 100 g/hari, penurunan tekanan darah akan terlihat dalam waktu singkat (7-15 hari) (Grassi *et al.*, 2005), sedangkan apabila dikonsumsi sedikit demi sedikit (6,3 g/hari) maka hasilnya akan terlihat dalam 18 minggu (Taubert *et al.*, 2007). Secara umum, olahan produk kakao seperti *dark chocolate* dapat membantu menurunkan tekanan darah sistolik hingga 4,5 mmHg, dan tekanan darah diastoliknya hingga 2,3 mm Hg (Desch *et al.*, 2009). Kakao yang

memiliki kandungan flavanol pada dosis tertentu dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit kardiovaskular. Mengonsumsi *dark chocolate bar* 37g/hari selama 4 minggu dapat meningkatkan diameter dari arteri dan peningkatan aliran darah pada arteri brakialis (West *et al.*, 2013)

Peningkatan fungsi kognitif, dalam hal tingkat kesiagaan (*alertness*) dan pemrosesan informasi visual (*rapid visual information processing*) dilaporkan meningkat setelah konsumsi produk kakao. Konsumsi produk kakao menyebabkan responden menjadi lebih bersemangat (energik, siaga) dan lebih bahagia (senang, tenteram, tenang). Senyawa metilxantin dalam kakao yaitu teobromin dan kafein juga diyakini dapat membuat orang menjadi lebih responsif dan bergairah, terlihat setelah konsumsi coklat yang mengandung 20 mg kafein dan 250 mg teobromin (Smit *et al.*, 2004). Para peneliti selanjutnya menelaah bahwa terdapat dua senyawa dalam kakao yang berpengaruh terhadap aktivitas otak, yakni polifenol dan metilxantin. Studi terhadap beberapa tingkatan konsentrasi polifenol dalam minuman kakao menunjukkan bahwa kadar flavanol lebih dari 520 mg per sajian membantu fungsi kognisi dan emosi menjadi lebih baik (Desideri *et al.*, 2012).

Konsumsi kakao bubuk sebanyak 26 g/hari selama 4 minggu dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*), menurunkan konsentrasi dan menekan oksidasi kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) (Baba *et al.*, 2007).

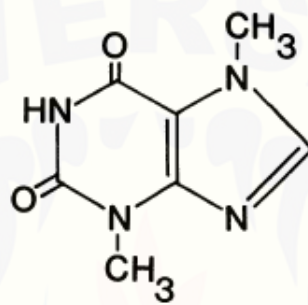
2.2 Teobromin

2.2.1 Biosintesis Teobromin

Teobromin bersama dengan kafein dan teofilin, merupakan derivat xantin yang merupakan alkaloid, terdapat pada tumbuh-tumbuhan. Ketiganya merupakan derivat xantin yang mengandung gugus metil. Xantin sendiri adalah dioksimurin yang mempunyai struktur mirip dengan asam urat. Xantin memiliki peran dalam katabolisme nukleotida dan juga asam nukleat, karena merupakan prekursor asam urat, yang merupakan produk akhir dari katabolisme purin (Franco *et al.*, 2013).

Teobromin merupakan metabolit sekunder golongan alkaloid. Definisi alkaloid adalah senyawa organik siklik yang mengandung unsur N dengan tingkat

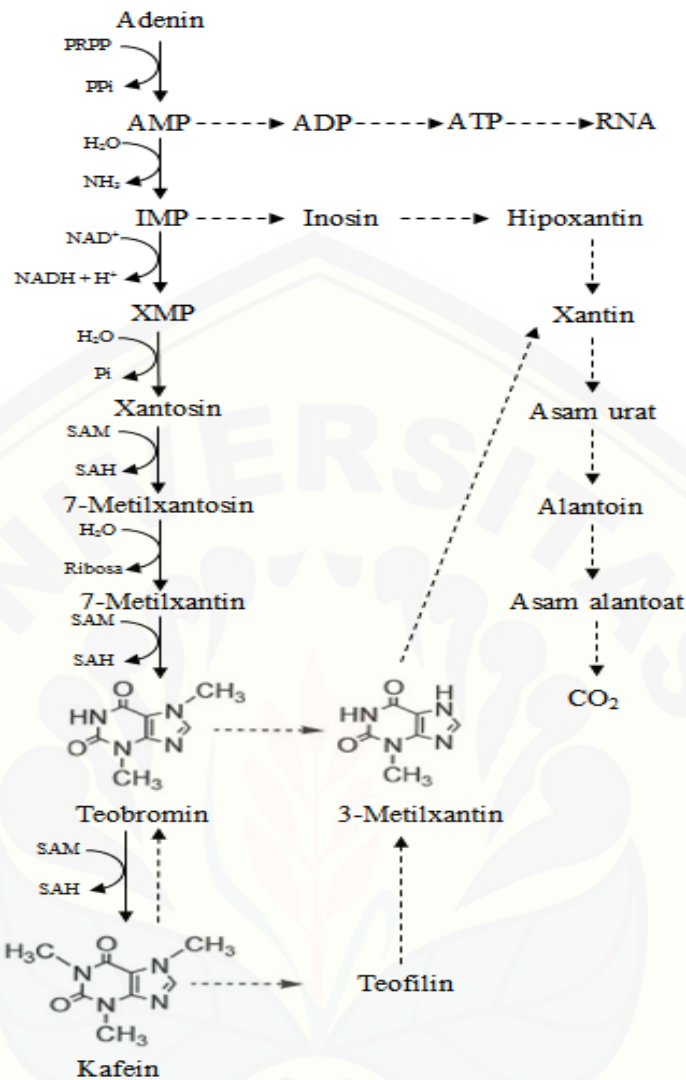
oksidasi negatif. Teobromin mempunyai formula kimia yaitu $C_7H_8N_4O_2$. Teobromin pada kakao merupakan hasil sintesis dari alkaloid golongan purin. Senyawa alkaloid purin diduga dibentuk dari hidrolisis nukleotida purin dengan beberapa modifikasi kerangka purin setelahnya. Purin merupakan kerangka hetrosiklik N yang termasuk pada basa nukleotida adenin dan guanin yang menyusun DNA dan RNA (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, 2015).



Gambar 2.1 Struktur Kimia Teobromin (Lelo *et al.*, 1986)

Biosintesis teobromin ini terutama terjadi pada tanaman kakao. Adenin adalah prekursor dari sintesis purine alkaloid. Dari adenin ini, akan terjadi tiga rute metabolik, yaitu: (i) sintesis purine alkaloid, (ii) sintesis RNA, dan (iii) katabolisme purine (Zheng *et al.*, 2004).

Metabolisme adenin dimulai dari pembentukan AMP yang dikatalisasi oleh adenin phosphoribosyltransferase. Dalam biosintesis purine alkaloid, AMP dikonversi menjadi xanthosine-5'-monophosphate (XMP) melalui inosine-5'-monophosphate oleh AMP deaminase dan IMP dehidrogenase. Xantosin terbentuk dari XMP oleh 5'-nukleotidase dan berperan utama dalam jalur purine alkaloid, yaitu: xantosin \rightarrow 7-methylxanthosine \rightarrow 7-metilxantin \rightarrow teobromin \rightarrow kafein. Sedangkan untuk sintesis RNA, AMP difosforilasi menjadi ATP melalui ADP dan akhirnya digunakan. Fraksi dari AMP terdegradasi melalui IMP dan asam urat (allantoin dan asam allantoit) menjadi CO_2 (Zheng *et al.*, 2004).

Gambar 2.2 Biosintesis Teobromin (Zheng *et al.*, 2004)

2.2.2 Efek Teobromin pada Kesehatan

Teobromin memiliki efek yang hampir sama dengan kafein yaitu dapat meningkatkan kewaspadaan, memiliki efek deuretik dan juga memiliki efek relaksasi pada otot bronkus (Mitchell *et al.*, 2011). Teobromin telah menunjukkan penekanan terhadap efek inhibisi aktivitas parasimpatis dan merupakan antagonis selektif reseptor A₁-adenosine. Mekanisme ini menjelaskan terjadinya peningkatan denyut nadi tanpa disertai perubahan *cardiac output* dan *stroke volume*. Teobromin juga mempunyai efek vasodilatasi endotelium dengan cara menghambat penguraian cAMP pada otot polos arterial (Bogaard *et al.*, 2010).

Teobromin yang termasuk dalam golongan metilxantin bekerja merangsang saraf pusat. Konsumsi teobromin memiliki efek positif terhadap kesehatan seperti meningkatkan kolesterol HDL pada plasma dan menurunkan kolesterol LDL pada plasma dan mengurangi resiko penyakit jantung coroner (Grases *et al.*, 2014). Teobromin juga memberikan manfaat pada kesehatan mulut yaitu perlindungan terhadap enamel. Penggunaan teobromin cair sebanyak 200mg/L dapat melindungi enamel (Amaechi *et al.*, 2012).

Efek yang ditimbulkan teobromin pada saraf pusat adalah *dose dependent*. Konsumsi teobromin dengan dosis rendah mampu menimbulkan efek yang positif. Namun konsumsi teobromin kadar tinggi berakibat timbulnya efek yang negatif. Terapi teobromin dengan dosis 250 mg memberikan efek positif. Sedangkan konsumsi teobromin pada kadar 1000 mg mampu menurunkan kewaspadaan (Baggott *et al.*, 2013).

Terapi dengan kakao yang diperkaya dengan teobromin sehingga kadarnya mencapai 979 mg menimbulkan efek yang tidak menyenangkan. Hal ini disebabkan karena teobromin memberikan efek laksatif. Adenosin dapat menghambat motilitas kolon. Teobromin adalah antagonis reseptor A1-adenosin, sehingga inhibisi pada reseptor adenosin dapat menstimulasi motilitas kolon dan inilah yang menjelaskan efek laksatif dari teobromin (Bogaard *et al.*, 2010).

Teobromin dapat menyebabkan *heart burn* atau rasa panas pada dada. Hal ini dikarenakan teobromin dapat merelaksasi otot sfingter esofagus, yang menyebabkan asam lambung dapat masuk atau *reflux* ke dalam esofagus dan menyebabkan rasa panas pada dada (Latif, 2013).

2.2.3 Farmakologi Teobromin

Teobromin merupakan senyawa tidak berwarna dan tidak berbau yang secara alami ada pada semua bagian tanaman kakao (Hartati, 2012). Secara umum metilxantin diserap di saluran pencernaan dan di metabolisme di hati sampai akhirnya diekskresi dalam urin (Lopez *et al.*, 2014). Teobromin diabsorpsi dengan baik pada usus dan mencapai kadar puncaknya dalam plasma dalam dua sampai tiga jam setelah konsumsi per oral (Baggott *et al.*, 2013).

Kadar puncak teobromin dalam plasma yang pernah diteliti adalah 6,72 $\mu\text{g/ml}$ setelah konsumsi kapsul teobromin 370 mg, serta 8,05 $\mu\text{g/ml}$ setelah konsumsi permen coklat dengan kandungan 72 mg kafein dan 370 mg teobromin (Mumford *et al.*, 1996).

Penelitian dengan pemberian teobromin secara oral dengan dosis 250 mg, didapatkan $t_{1/2}$ atau waktu paruh dari teobromin adalah 7.2 jam (Lelo *et al.*, 1986). Pada penelitian lain juga menyebutkan tentang $t_{1/2}$, volume distribusi, dan bersihan setelah abstinensi dari semua produk yang mengandung metilxantin, terutama teobromin. Nilai $t_{1/2}$ dari teobromin adalah 10 jam. Volume distribusi teobromin yaitu 0,76 L/kg dan bersihan pada teobromin adalah 0.88 ml/min/kg (Shively *et al.*, 1985).

2.3 Parameter Farmakokinetik

Efek obat terhadap tubuh pada dasarnya merupakan akibat interaksi obat dengan reseptornya; maka secara teoritis intensitas efek obat, baik efek terapi atau efek toksik tergantung dari kadar obat di tempat reseptor atau tempat kerjanya. Oleh karena kadar obat di tempat kerja belum dapat diukur, maka sebagai penggantinya diambil kadar obat dalam plasma/serum yang umumnya dalam keseimbangan dengan kadarnya di tempat kerja (Setiawati, 2012).

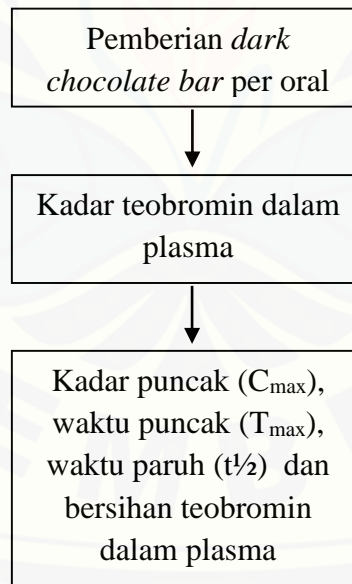
Prinsip farmakokinetik menggunakan model matematik untuk menguraikan kadar puncak (C_{\max}), waktu untuk mencapai kadar puncak (T_{\max}), waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$) dan bersihan (*clearance*) suatu obat di dalam plasma (Katzung *et al.*, 2012). Farmakokinetik dengan parameternya (waktu paruh, waktu puncak, kadar puncak, bersihan obat) membahas mengenai kadar serta hubungan dengan waktu dalam tubuh, sehingga dapat menjelaskan keberadaan sejumlah obat di dalam tubuh (Wijayanti *et al.*, 2010)

Kadar puncak (C_{\max}) merupakan kadar tertinggi suatu obat di dalam plasma yang terukur melalui suatu kurva atau grafik. Sedangkan waktu untuk mencapai kadar puncak (T_{\max}) merupakan waktu yang menunjukkan kadar obat dalam sirkulasi mencapai puncak (Katzung *et al.*, 2012).

Waktu paruh ($t_{1/2}$) adalah waktu yang dibutuhkan untuk mengubah jumlah obat dalam tubuh menjadi separuhnya selama eliminasi ($t_{1/2}$) atau selama pemasukan yang konstan. Waktu paruh eliminasi ini merupakan waktu yang diperlukan untuk turunnya kadar obat atau plasma pada fase eliminasi (setelah fase absorpsi dan distribusi) menjadi separuhnya. Waktu paruh obat berguna karena diperlukan untuk mencapai 50% dari keadaan stabil atau untuk menurun 50% dari kondisi stabil setelah perubahan kecepatan pemberian obat (Setiawati, 2012).

Bersihan obat adalah suatu ukuran eliminasi obat dari tubuh tanpa mempermasalahkan prosesnya. Eliminasi obat terdiri dari proses metabolisme dan ekskresi. Bersihan dapat di definisikan sebagai volume bersihan suatu obat dari tubuh persatuan waktu (Shargel *et al.*, 2005). Eliminasi obat di dalam tubuh dapat terjadi di ginjal dan juga hepar (Katzung *et al.*, 2012)

2.4 Kerangka Konseptual



Gambar 2.3 Kerangka konseptual

2.5 Hipotesis Penelitian

Dark chocolate bar mengandung lebih dari 35% pasta kakao mempunyai kandungan teobromin yang tinggi sehingga pemberian *dark chocolate bar* akan berpengaruh pada kadar puncak (C_{\max}), waktu puncak (T_{\max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan teobromin pada plasma sukarelawan.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Quasi Experimental Design* dengan bentuk *Time-Series Design*. Desain eksperimen ini merupakan pengembangan dari *true experimental design* yang sulit dilaksanakan. Desain ini mempunyai kelompok kontrol, namun tidak dapat berfungsi sepenuhnya untuk mengontrol variabel-variabel luar yang mempengaruhi pelaksanaan eksperimen. *Quasi experimental design* digunakan karena pada kenyataannya sulit mendapatkan kelompok kontrol yang digunakan untuk penelitian. Sehingga pada bentuk *Time-Series Design* hanya menggunakan satu kelompok saja, sehingga tidak memerlukan kelompok kontrol.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan November 2015. Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Instrumental Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pengujian sampel dilakukan pada bulan November 2015.

3.3 Kriteria Sukarelawan

Sukarelawan diambil dari masyarakat umum yang berada dalam lingkup usia dewasa muda. Jumlah sukarelawan pada penelitian ini adalah 3 orang. Sukarelawan pada penelitian ini ditentukan berdasarkan kriteria berikut:

- a. Usia, usia sukarelawan yang digunakan dalam penelitian ini adalah usia dewasa muda mulai dari usia 17 tahun sampai dengan usia 30 tahun. Karena pada usia tersebut keadaan fisiologis tubuh seseorang cenderung lebih baik.
- b. Jenis kelamin, pada penelitian ini jenis kelamin di batasi yaitu menggunakan sukarelawan yang memiliki jenis kelamin laki-laki.

- c. Indeks Masa Tubuh, Indeks Masa Tubuh yang digunakan pada penelitian ini adalah sekitar 17 sampai 30.
- d. Tekanan darah sistolik 90 mmHg sampai dengan 140 mmHg, tekanan darah diastolik 50 mmHg sampai dengan 90 mmHg.
- e. Tidak memiliki alergi terhadap makanan yang mengandung teobromin.
- f. Syarat sukarelawan, sukarelawan tidak diperkenankan untuk mengkonsumsi coklat selama seminggu sebelum tes dilaksanakan. Seluruh sukarelawan yang sudah menyetujui *informed consent* yang diberikan harus mematuhi seluruh prosedur penelitian.
- g. Sukarelawan yang tidak mengikuti instruksi yang diberikan oleh peneliti atau tidak disiplin dapat dikeluarkan dari penelitian.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis *dark chocolate bar* kepada sukarelawan. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan pada plasma sukarelawan. Sedangkan variabel kontrol dari penelitian ini adalah usia sukarelawan, IMT, dan *High Performance Liquid Chromatography*.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 *Dark chocolate bar*

Merupakan coklat yang mengandung sedikitnya 35% pasta kakao, dan sisanya adalah pemanis, lemak kakao, susu, lemak nabati. *Dark chocolate bar* ini berupa bentuk batang coklat dengan kandungan *cocoa liquor* sebesar 60% yang dikonsumsi secara per oral oleh sukarelawan. *Dark chocolate bar* yang digunakan dalam penelitian ini diproduksi oleh pusat penelitian kopi dan kakao kota Jember dengan netto 60 gram dan dengan tanggal produksi yang sama.

3.5.2 *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Pada penelitian ini digunakan instrumen analisis sampel kromatografi yaitu *High Performance Liquid Chromatography* untuk mengetahui kadar teobromin

dalam plasma dalam waktu tertentu. Prinsip dari *High Performance Liquid Chromatography* ini adalah pemisahan analit-analit berdasarkan kepolarannya. Suatu sampel diinjeksikan ke dalam kolom maka sampel tersebut kemudian akan terurai dan terpisah menjadi suatu senyawa-senyawa kimia (analit) sesuai dengan perbedaan afinitasnya. Hasil pemisahan tersebut kemudian akan dideteksi oleh *detector* pada panjang gelombang tertentu yang akan dicatat oleh *recorder* yang dapat ditampilkan menggunakan integrator atau *personal computer* yang terhubung online dengan alat HPLC tersebut.

3.5.3 Kadar puncak (C_{max}), Waktu Puncak (T_{max}), Waktu paruh ($t_{1/2}$) dan Bersihan

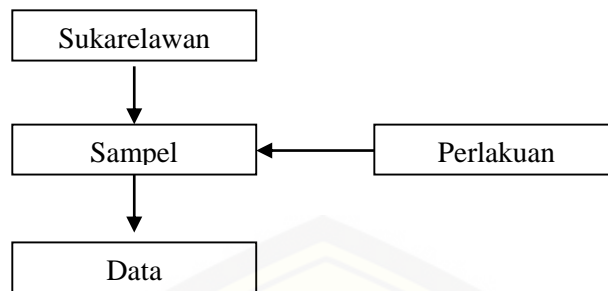
Parameter farmakokinetik meliputi kadar puncak (C_{max}), waktu puncak (T_{max}), waktu paruh ($t_{1/2}$) dan bersihan. Kadar puncak (C_{max}) menunjukkan konsentrasi obat maksimum dalam plasma setelah pemberian secara oral. Untuk beberapa obat diperoleh suatu hubungan antara efek farmakologi suatu obat dan konsentrasi obat dalam plasma. Sedangkan waktu puncak (T_{max}) adalah waktu konsentrasi plasma mencapai puncak dapat disamakan dengan waktu yang diperlukan untuk mencapai konsentrasi obat maksimum setelah pemberian obat. Waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$) merupakan waktu yang diperlukan untuk turunnya kadar obat atau plasma pada fase eliminasi (setelah fase absorpsi dan distribusi) menjadi separuhnya. Bersihan merupakan suatu ukuran eliminasi obat dari tubuh tanpa mempermasalahkan mekanisme dari prosesnya.

3.6 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan untuk kelompok perlakuan terdiri dari *dark chocolate bar* 60 gram. Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah *tourniquet*, spuit, kapas alkohol, *heparine tube*, plester, *High Performance Liquid Chromatography*, *ultrasentrifuge*, kalkulator.

3.7 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *quasy experimental design* dengan *time-series design*.



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

3.8 Prosedur Pengambilan dan Analisis Data

3.8.1 Uji Kelayakan Etik

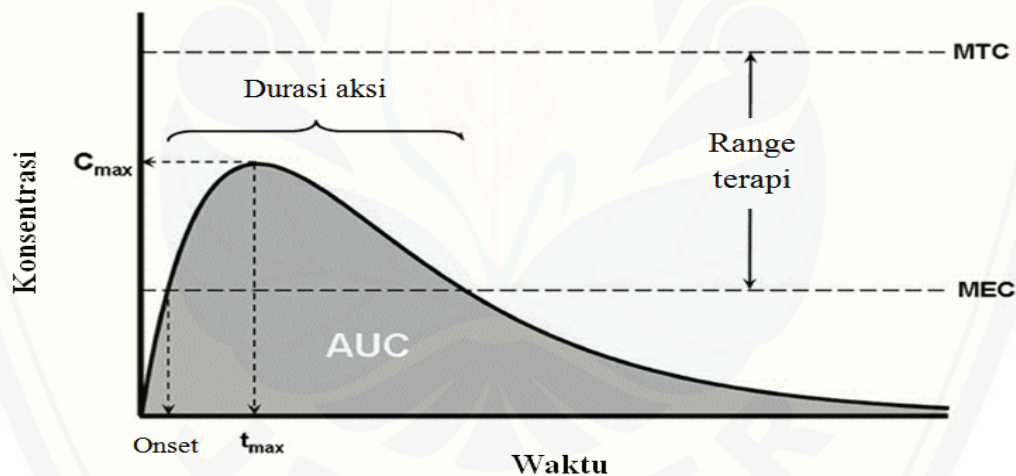
Pada penelitian ini, subjek yang digunakan adalah manusia yang dalam pelaksanaannya telah mendapatkan sertifikat kelayakan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Sertifikat kelayakan etik ini menjamin keamanan baik bagi peneliti maupun bagi sukarelawan, melindungi hak-hak sukarelawan serta memperjelas tujuan dan kewajiban peneliti.

3.8.2 Pengambilan Data

Pengambilan data pada penelitian ini dilakukan dengan cara:

1. Menyiapkan *dark chocolate bar* dengan dosis atau berat yang sama.
2. Mengumpulkan 3 sukarelawan yang bersedia. Sebelumnya, sukarelawan bisa mengisi lembar *informed consent* terlebih dahulu.
3. Sebelum sukarelawan mengkonsumsi *dark chocolate bar* yang sudah disediakan, dilakukan pengambilan darah jam ke-0 dengan menggunakan spuit sebanyak 3 cc.
4. Sukarelawan dapat mengkonsumsi *dark chocolate bar* setelah pengambilan sampel darah pada jam ke-0.
5. Jam ke-1,5 setelah konsumsi *dark chocolate bar* kembali dilakukan pengambilan sampel darah sukarelawan dengan menggunakan spuit sebanyak 3 cc, lalu disimpan dalam *heparine tube* dan diberi label.
6. Melakukan kembali pengambilan sampel darah sebanyak 3cc pada masing-masing sukarelawan pada jam ke 3, 6, 10, dan 24.

7. Sampel darah yang sudah ditempatkan pada *heparine tube* selanjutnya dilakukan pemisahan antara plasma dan serum. Pemisahan antara plasma dan serum menggunakan *ultra sentrifuge* dengan kecepatan 5000 rpm dalam waktu 300 detik dan suhu 4°C.
8. Setelah proses *sentrifuge*, bagian plasma diambil dan di simpan dalam *microtube* lalu diberikan label.
9. Setelah plasma sukarelawan terkumpul, lalu dilanjutkan dengan pengiriman sampel ke Laboratorium Kimia dan Instrumen Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk dilakukan analisis sampel menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).
10. Setelah analisis sampel selesai, data dimasukkan dalam tabel dan membuat grafik konsentrasi obat dalam plasma per satuan waktu seperti berikut.



Gambar 3.2 Grafik konsentrasi obat per satuan waktu (Katzung, 2012)

11. Menghitung parameter farmakokinetik. Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah kadar puncak, waktu puncak, waktu paruh dan bersihan (clearance). Nilai konsentrasi maksimum dan waktu maksimum dihitung dengan menggunakan persamaan garis kurva konsentrasi obat dalam plasma per satuan waktu.

12. Menghitung waktu paruh eliminasi ($t_{1/2}$)

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k_e}$$

k_e = konstanta eliminasi first order (per menit)

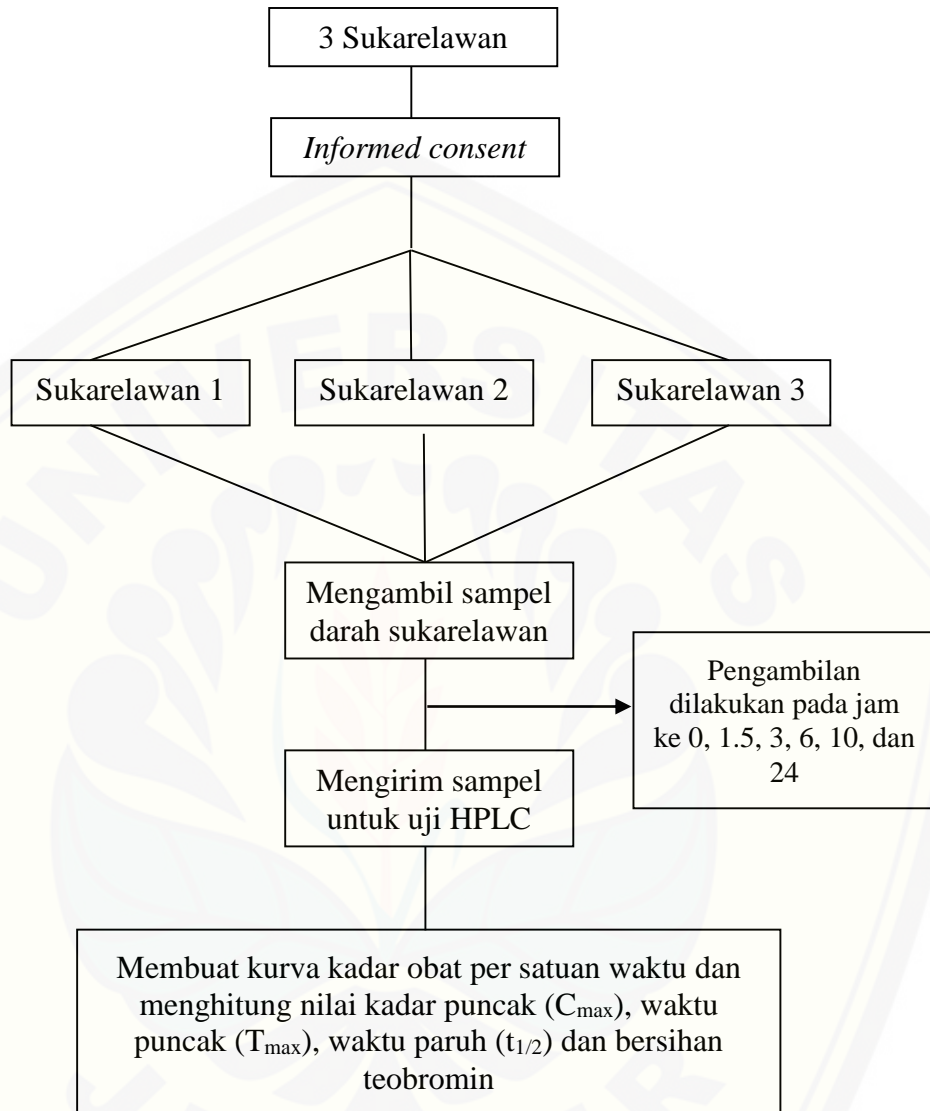
Slope fase eliminasi = $-k_e$

13. Menghitung bersihan (*clearance*)

3.8.3 Analisis Data

Setelah memperoleh data kadar teobromin plasma tiap waktu yang sudah ditentukan (0, 1.5, 3, 6, 10 dan 24 jam setelah konsumsi), maka data dimasukkan ke dalam grafik konsentrasi obat dalam plasma per satuan waktu. Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk mencari waktu puncak kadar teobromin dalam plasma, kadar puncak teobromin dalam plasma, waktu paruh dan bersihan teobromin dalam plasma sukarelawan.

3.8.4 Skema Alur Penelitian



Gambar 3.3 Skema Alur Penelitian