



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

SKRIPSI

Oleh

**Nila Lutfiatul Khoiroh
NIM 132210101110**

**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



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

SKRIPSI

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

Oleh

Nila Lutfiatul Khoiroh
NIM 132210101110

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada hamba-Nya yang selalu berjuang dalam kebaikan untuk menuntut ilmu;
2. Ayah dan Ibu, Khusairi dan Siti Romelah yang telah membesarkan dan mendidik saya dengan penuh kasih sayang, kesabaran, kerja keras, dan do'a beliau, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
3. Adik Achmad Raffi Ubaidillah dan Partner Muhammad Ridlo atas kasih sayang, motivasi, dan do'a sehingga skripsi ini dapat diselesaikan;
4. Guru, dosen, dan pendidik di "SD NU 09 Kepel Ampel Wuluhan, SMPN 1 Wuluhan, SMK Farmasi Jember dan Universitas Jember" yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan sejak bangku taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
5. Teman-teman seperjuangan Farmasi angkatan 2013 dan Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah 6)

“Hai Orang-orang yang beriman, jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu. Sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar”

(QS. Al Baqarah: 153)

“Kun Fayakun, mungkin terlihat tidak mungkin bagimu. Tapi ketahuilah, bahwasanya tidak ada yang tidak ada yang tidak mungkin bagi Allah”

(Anonim)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nila Lutfiatul Khoiroh

NIM : 132210101110

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Jantung pada 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 ini tidak benar.

Jember, 18 Juli 2016

Yang menyatakan,

Nila Lutfiatul Khoiroh

NIM 132210101110

SKRIPSI

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

Oleh

Nila Lutfiatul Khoiroh
NIM 132210101110

Pembimbing:

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

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

PENGESAHAN

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

Hari, tanggal : Selasa, 18 Juli 2017

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

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

Tim Penguji:

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Antonius N.W.P, S.Farm., M.P.H., Apt.
NIP 198309032008121001

Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt.
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 (MDA) Jantung pada Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan: Nila Lutfiatul Khoiroh, 132210101110; 2017: 68 halaman: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa di dalam darah (hiperglikemia) disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, penurunan kerja insulin, ataupun keduanya. DM dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan organ tubuh seperti pada mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah yang memicu terjadinya komplikasi. Salah satu komplikasi DM adalah komplikasi makrovaskuler seperti Penyakit Jantung Koroner (PJK). PJK terjadi akibat aterosklerosis atau penumpukan lemak di dinding pembuluh darah dan penyempitan pembuluh darah, sehingga suplai darah ke otot jantung berkurang dan tekanan darah meningkat. Faktor pemicu lain terhadap penumpukan lemak di dinding pembuluh darah adalah adanya kadar kolesterol yang tinggi. Peningkatan kadar kolesterol total dan glukosa darah pada penderita DM dapat meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Peningkatan jumlah radikal bebas di dalam tubuh akan mengoksidasi asam lemak tak jenuh, merusak membran sel dan membentuk suatu produk akhir peroksidasi lipid yaitu Malondialdehid (MDA). Peningkatan kadar MDA di dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan. Sumber antioksidan dari luar tubuh salah satunya berasal dari ekstrak teh hijau.

Ekstrak teh hijau memiliki kandungan senyawa katekin yang diduga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Kandungan katekin pada teh hijau mencapai 80-90% dari flavonoid total. Hal inilah yang menyebabkan penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA pada penderita DM menurun. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

Jenis penelitian ini adalah *True Experimental Laboratories* dengan rancangan penelitian *Pre and Post Test* untuk parameter kadar kolesterol total dan *Post Test* untuk parameter kadar MDA jantung. Sampel yang digunakan adalah mencit jantan sebanyak 24 ekor yang dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal, kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak teh hijau dosis 600, 900, dan 1200 mg/kgBB. Perlakuan dilakukan selama 14 hari, hari ke-1 dihitung saat hewan coba dinyatakan diabetes dengan kadar glukosa ≥ 200 mg/dL setelah diinduksi aloksan. Pada hari ke-15 hewan coba dikorbankan, lalu diambil darah dari jantung untuk mengukur penurunan kadar kolesterol total. Selain itu, juga dilakukan pengambilan organ jantung untuk dipreparasi menghasilkan supernatan untuk menentukan kadar MDA jantung. Pengukuran penurunan kadar kolesterol total dilihat dari persentase penurunan pada hari ke-1 sampai hari ke-15, sedangkan pengukuran kadar MDA jantung menggunakan test *Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS) berdasarkan hasil spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dapat menurunkan kadar glukosa darah, kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada mencit DM yang diinduksi aloksan. Pemberian dari masing-masing dosis ekstrak teh hijau menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam menurunkan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung. Berdasarkan data yang diperoleh, penurunan kadar kolesterol total mencit DM setelah pemberian ekstrak teh hijau dosis 600, 900 dan 1200 mg/kgBB berturut-turut ialah $17,55 \pm 3,86 \%$, $26,53 \pm 7,88 \%$ dan $43,03 \pm 9,02 \%$. Kadar MDA jantung mencit setelah pemberian ekstrak teh hijau dosis 600, 900 dan 1200 mg/kgBB berturut-turut ialah $11,51 \pm 0,17 \mu\text{M}$, $9,458 \pm 1,01 \mu\text{M}$, dan $4,641 \pm 0,47 \mu\text{M}$, yang artinya semakin tinggi dosis ekstrak teh hijau yang diberikan, maka semakin besar pula kemampuannya dalam menurunkan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung.

Kemampuan dalam menurunkan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB lebih besar dibandingkan metformin. Pada hasil analisis statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua perlakuan tersebut di dalam menurunkan kadar kolesterol total dan berbeda signifikan di dalam menurunkan kadar MDA jantung dengan hasil yang lebih baik. Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB diduga memiliki kemampuan yang setara di dalam menurunkan kadar kolesterol total dan lebih baik di dalam menurunkan kadar MDA jantung dibandingkan dengan metformin dosis 110,5 mg/kgBB.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat 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 (MDA) Jantung pada Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan”. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Tuhan Yang Maha Esa atas semua karunia yang telah diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Ibu Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Bapak Antonius Nugraha W.P, S.Farm., M.P.H., Apt. dan Ibu Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Dwi Nurahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan kepada penulis selama menempuh studi;
7. Ayahanda Khusairi, Ibunda Siti Romelah, Saudaraku Raffi Ubaidillah dan partner Muhammad Ridlo, atas do'a, semangat dan kasih sayang yang diberikan;

8. Mbak Dinik dan Mbak Indri selaku Teknisi Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang banyak membantu penelitian ini;
8. Sahabat Gengku PORSTEX (uti Risti Rostiani, Mama Fergi R. F, dan Andra) yang telah memberikan dukungan dan kerjasama terbaik dalam penelitian ini, dan sahabat terkasihku Putri, Via Lachtiany, Nur Laily Khomsiah, Amirotus Sajidah dan Meylia yang telah memberikan motivasi;
9. Geng SOCOREX (Edwin, Sugi, Ayunda dan Fara), Geng HERMLE (Cila, Raras), Geng BIOLIZER (Laily dan Putri Efina), Nina, Chita, Zulfiah, Niken, Siti, Carina, Wahyu, Riza, Wilda dan Wulan yang menjadi tempat berkeluh kesah dan berbagi cerita semangat;
10. Gati D. S., S.Farm, Wilda S.Farm, Wahyu S.Farm yang telah sabar membantu penulis dalam mengerjakan skripsi dan Bapak Hadi Paramu selaku pembimbing COP, Intan, Lian, Reza, Ridlo, Mas. Aan, Luluk S. E. dan Mas Ghani yang mengingatkan penulis untuk segera wisuda;
11. Keluarga besar FARMASETAMOL angkatan 2013 atas persaudaraan yang indah ini dengan berbagai macam keanehan di dalamnya;
12. Keluarga Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fakultas Farmasi dan keluarga LOLALOLITA BAPERIA geng BEM 2013 atas semua pengertian dan dukungan yang menyadarkan umur boleh tua tetapi semangat tetap muda;
13. Teman-teman kos KALPATUPAT dan keluarga KKN DWINK yang selalu menyemangati penulis;
14. Guru-guruku yang terhormat mulai dari taman kanak-kanak hingga SMA yang memberikan ilmu dan pengetahuan tanpa pamrih;
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung atas bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Jember, 18 Juli 2017

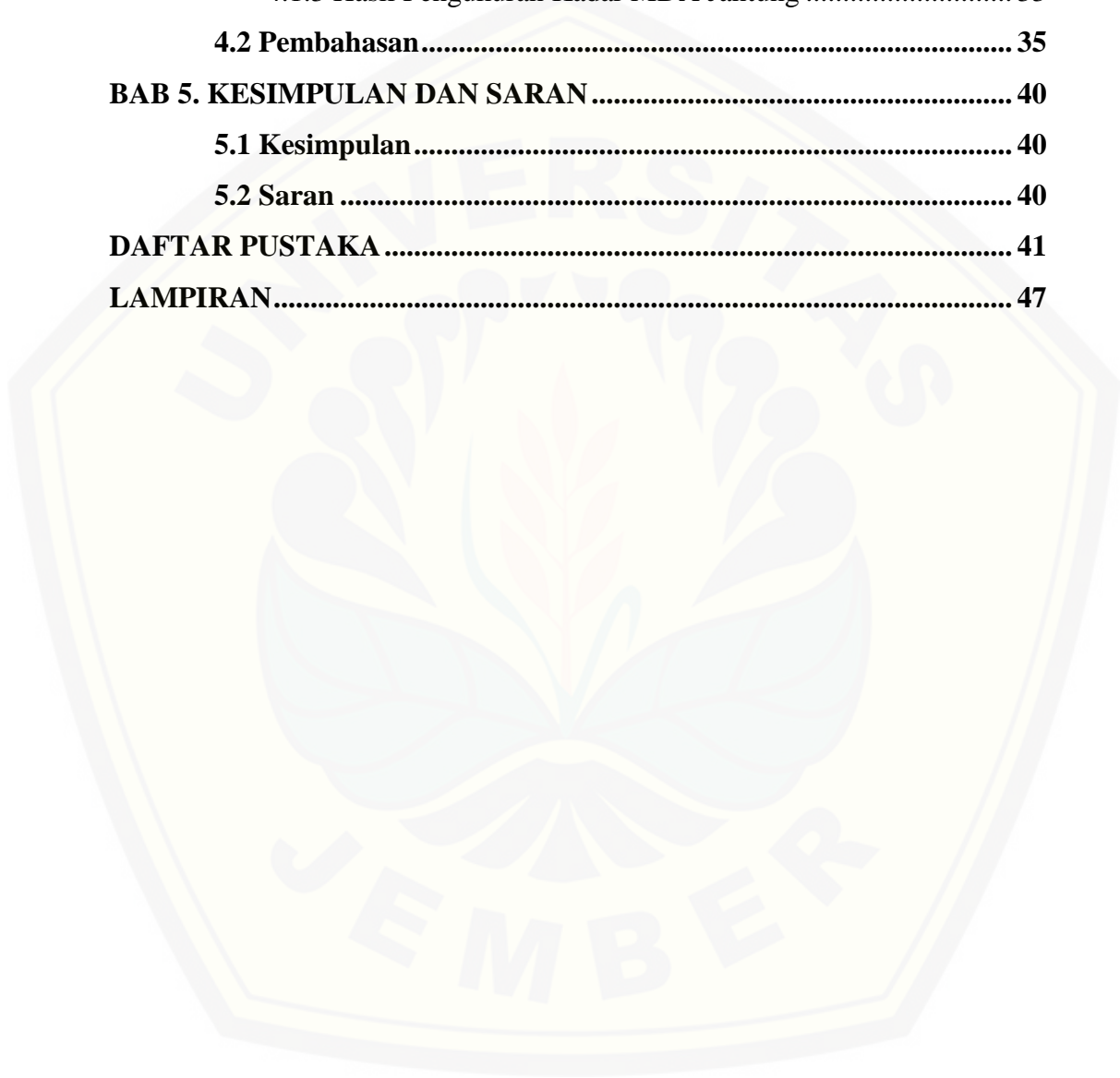
Penulis

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 TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan tentang Diabetes Melitus (DM)	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Diagnosa	5
2.1.3 Klasifikasi dan Etiologi	5
2.1.4 Komplikasi.....	6
2.1.5 Hubungan antara DM, Radikal Bebas dan Aterosklerosis ...	8
2.2 Tinjauan tentang Malondialdehid (MDA)	11
2.3 Tinjauan tentang Obat Antidiabetes	13

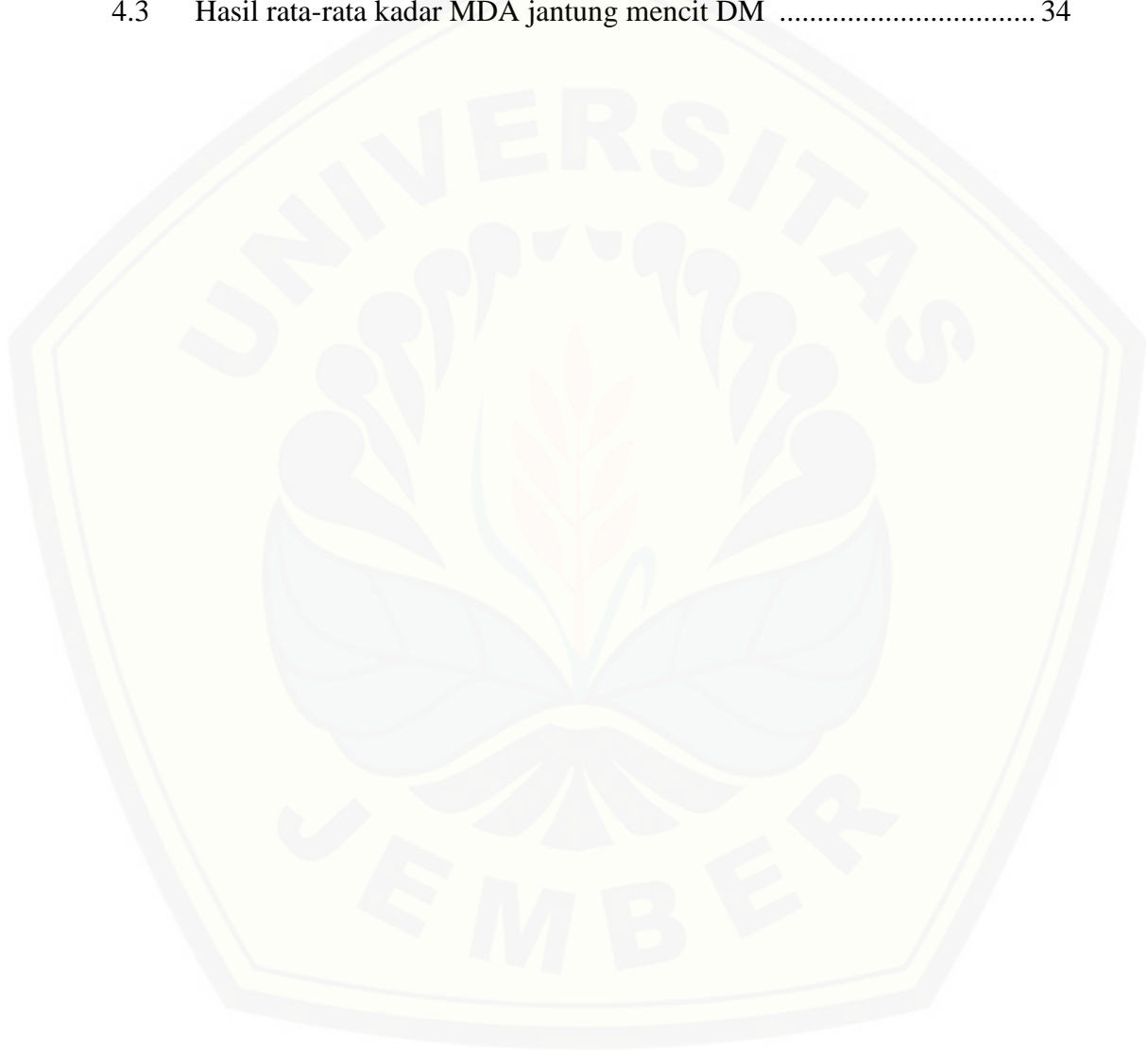
2.4 Tinjauan tentang Metformin	14
2.5 Tinjauan tentang Aloksan.....	15
2.6 Tinjauan tentang Teh	16
2.6.1 Klasifikasi Tanaman... ..	16
2.6.2 Komposisi dan Peran Teh Hijau.....	18
2.6.3 Penelitian tentang Teh Hijau.....	20
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian.....	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.3 Jumlah Sampel	21
3.4 Rancangan Penelitian	22
3.5 Alat dan Bahan.....	23
3.5.1 Alat Uji	23
3.5.2 Bahan Uji	23
3.6 Variabel Penelitian.....	23
3.6.1 Variabel Bebas	23
3.6.2 Variabel Terikat	23
3.6.3 Variabel Terkendali	24
3.7 Definisi Operasional.....	24
3.8 Prosedur Penelitian.....	24
3.8.1 Tahapan Persiapan	24
3.8.2 Adaptasi Hewan coba	25
3.8.3 Induksi Aloksan	25
3.8.4 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji	26
3.8.5 Pengukuran Kadar Kolesterol Total	26
3.8.6 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)	26
3.9 Analisis Data.....	27
3.10 Skema Rangkaian Kerja	28
3.10.1 Pembuatan Ekstrak Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i> L.).....	28
3.10.2 Perlakuan pada Hewan coba... ..	29

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil	30
4.1.1 Hasil Pembuatan Ekstrak Teh Hijau	30
4.1.2 Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total	30
4.1.3 Hasil Pengukuran Kadar MDA Jantung	33
4.2 Pembahasan	35
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	47



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Penggolongan obat hipoglikemik oral	14
2.2 Kandungan komponen senyawa katekin dalam daun teh segar	19
4.1 Rata-rata kadar glukosa darah dan kolesterol total	30
4.2 Penurunan kadar kolesterol total mencit DM	31
4.3 Hasil rata-rata kadar MDA jantung mencit DM	34



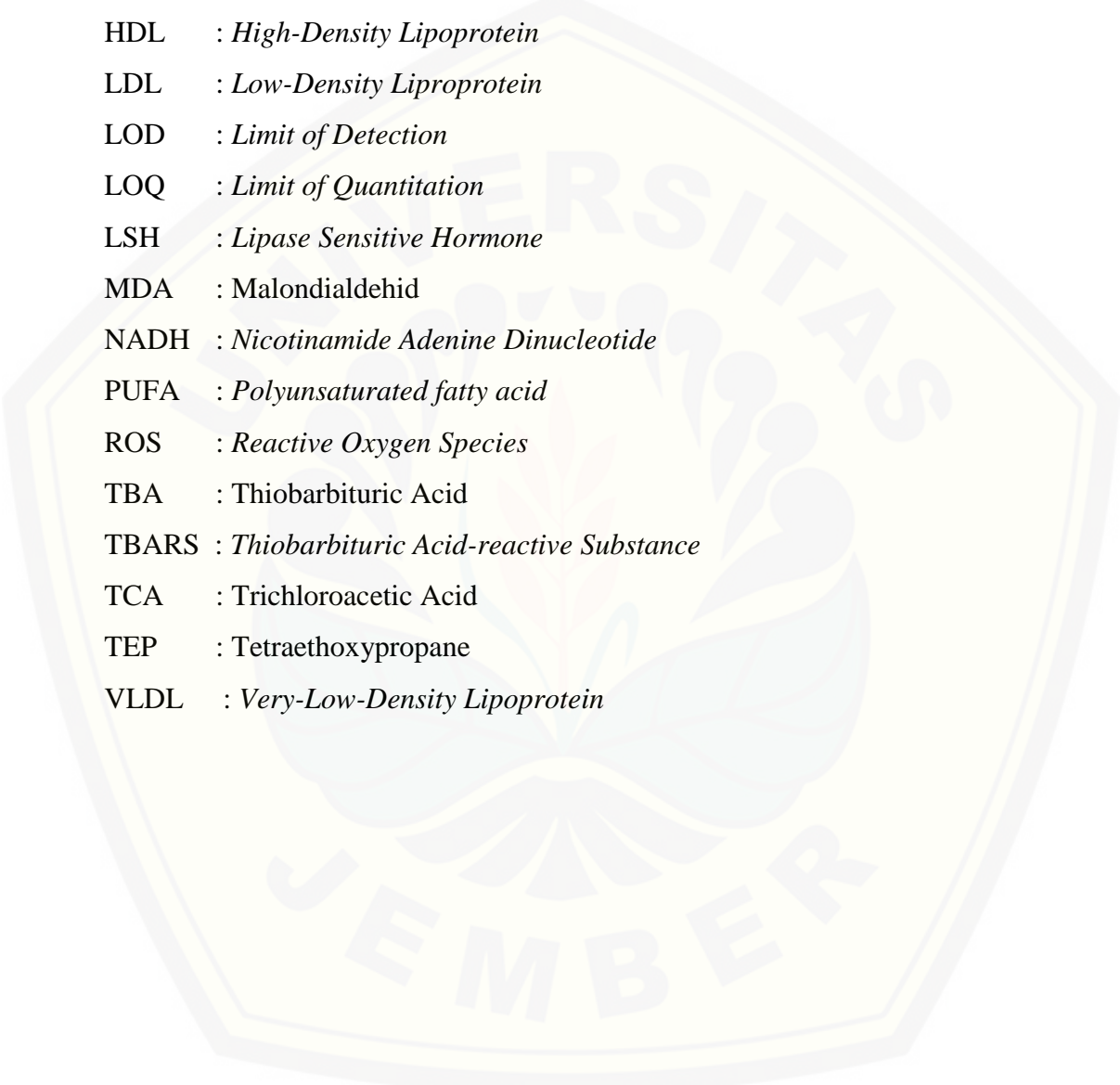
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Mekanisme hubungan antara DM, stres oksidatif, dan aterosklerosis ...	10
2.2 Tahapan mekanisme pembentukan peroksidasi lipid.....	12
2.3 Struktur aloksan	16
2.4 Tanaman teh	17
2.5 Struktur katekin.....	19
3.1 Skema rancangan penelitian.....	22
3.2 Skema pembuatan ekstrak teh hijau dan sediaan suspensi	28
3.3 Skema perlakuan pada hewan coba.....	29
4.1 Hasil uji linieritas	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1 Perhitungan Larutan Aloksan Dosis 210 mg/kgBB	47
2 Perhitungan Suspensi Dosis Metformin 110,5 mg/kgBB	48
3 Perhitungan Suspensi Dosis Ekstrak Teh Hijau.....	49
3. 1 Kelompok Uji Ekstrak Teh Hijau Dosis 600 mg/kgBB	49
3. 2 Kelompok Uji Ekstrak Teh Hijau Dosis 900 mg/kgBB	49
3. 3 Kelompok Uji Ekstrak Teh Hijau Dosis 1200 mg/kgBB	50
4 Perhitungan Konsentrasi Baku TEP	51
5 Perhitungan Pembuatan Reagen.....	53
6 Perhitungan Rendemen Ekstrak	54
7 Kadar Glukosa Darah	55
8 Kadar Kolesterol Total	56
9 Hasil Analisis Data Penurunan Kadar Kolesterol Total.....	57
9. 1 Uji Normalitas	57
9. 2 Uji Homogenitas.....	57
9. 3 Uji One-Way ANOVA.....	57
9. 4 Uji LSD	58
10 Kadar MDA Jantung	60
11 Hasil Analisis Data Kadar MDA Jantung.....	61
10. 1 Uji Normalitas	61
10. 2 Uji Homogenitas.....	61
10. 3 Uji One-Way ANOVA.....	61
10. 4 Uji LSD	62
12 Dokumentasi	64

DAFTAR SINGKATAN



AGEs	: <i>Advanced Glycosylation Endproducts</i>
ALB	: Asam Lemak Bebas
GDM	: <i>Gestational Diabetes Mellitus</i>
HDL	: <i>High-Density Lipoprotein</i>
LDL	: <i>Low-Density Lipoprotein</i>
LOD	: <i>Limit of Detection</i>
LOQ	: <i>Limit of Quantitation</i>
LSH	: <i>Lipase Sensitive Hormone</i>
MDA	: Malondialdehid
NADH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated fatty acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TBA	: Thiobarbituric Acid
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid-reactive Substance</i>
TCA	: Trichloroacetic Acid
TEP	: Tetraethoxypropane
VLDL	: <i>Very-Low-Density Lipoprotein</i>

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) adalah suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa di dalam darah (hiperglikemia). Keadaan hiperglikemia dapat disebabkan karena kekurangan jumlah insulin, terganggunya produksi insulin ataupun keduanya (IDF, 2015). Terdapat 3 tipe DM, yaitu DM tipe 1 yang ditandai penurunan sekresi insulin akibat kerusakan autoimun sel beta pankreas sehingga perlu suplai insulin dari luar tubuh, DM tipe 2 yang ditandai penurunan kerja dan sekresi insulin sel beta pankreas yang menyebabkan tingginya kadar glukosa di dalam darah, serta *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM) yang merupakan kondisi DM pada ibu hamil yang disebabkan oleh hormon estrogen yang dieksresikan oleh plasenta dan menghambat kerja insulin (Wells *et al.*, 2015; ADA, 2017).

Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2016, penderita DM usia 18 tahun ke atas mengalami peningkatan jumlah penderita dari 4,7% dengan total 108 juta penderita pada tahun 1980 menjadi 8,5% dengan total 422 juta penderita pada tahun 2014 (WHO, 2016). Menurut data *International Diabetes Federation* tahun 2015, diperkirakan kurang lebih 414,7 juta orang penduduk dunia berusia 20-79 tahun menderita DM. Indonesia sendiri menempati urutan ke-7 dengan jumlah penderita DM terbesar di dunia setelah China, India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia, dan Mexico. Pada tahun 2015, di Indonesia terdapat 10 juta orang penderita penyakit DM dan diperkirakan akan naik menjadi 16,2 juta penderita pada tahun 2040 (IDF, 2015).

Diabetes dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan organ tubuh seperti pada mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah yang memicu terjadinya komplikasi (Paneni *et al.*, 2013). Salah satu komplikasi DM adalah komplikasi makrovaskuler seperti Penyakit Jantung Koroner (PJK) (Fowler, 2008). Berdasarkan data *American Heart Association* (AHA), terdapat kurang lebih 40% kejadian komplikasi DM yang menyebabkan PJK (AHA, 2017). PJK terjadi akibat aterosklerosis atau penumpukan lemak di dinding pembuluh darah

dan penyempitan pembuluh darah, sehingga suplai darah ke otot jantung berkurang dan tekanan darah meningkat (Beckman *et al.*, 2013; Leon & Maddox, 2015).

Faktor pemicu lain terhadap penumpukan lemak di dinding pembuluh darah yaitu tingginya kadar kolesterol total dan trigliserida dalam darah yang melebihi batas normal (Beckman *et al.*, 2013). Peningkatan kadar kolesterol total terjadi pada pasien DM yang mengalami defisiensi insulin. Defisiensi insulin menyebabkan penyerapan glukosa di dalam sel terhambat serta gagal menjalankan fungsi dasarnya dalam mensintesis glukosa, lipid, dan protein. Secara spesifik pada metabolisme lipid, asam lemak tidak dapat bergabung dengan trigliserida pada sel adiposa. Ketika hormon insulin sedikit diproduksi atau tidak diproduksi, maka *lipase sensitive hormone* (LSH) menjadi sangat aktif sehingga kadar asam lemak bebas menjadi berlebihan di dalam plasma dan terjadi peningkatan pembentukan kolesterol bebas (Murray *et al.*, 2014).

Peningkatan kadar kolesterol bebas dan glukosa darah pada penderita DM dapat menimbulkan jumlah radikal bebas berlebih di dalam tubuh (Tangvarasittichai, 2015). Peningkatan jumlah radikal bebas di dalam tubuh akan mengoksidasi asam lemak tak jenuh serta dapat merusak membran sel dan membentuk suatu produk akhir peroksidasi lipid yaitu Malondialdehid (MDA). MDA dapat digunakan sebagai penanda biologis stres oksidatif. Semakin banyak jumlah radikal bebas dan lemak tak jenuh mengindikasikan peningkatan kadar MDA di dalam tubuh (Donne *et al.*, 2006). Peningkatan kadar MDA di dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan dari luar tubuh (Winarsi, 2007).

Antioksidan dari luar tubuh dapat diperoleh dari tanaman seperti teh (*Camellia sinensis* L.). Seduhan teh yang berasal dari daun *Camellia sinensis* L. merupakan minuman yang dikatakan paling sering dikonsumsi hampir di seluruh belahan dunia setelah air. Tanaman teh di Indonesia sendiri sebagian besar adalah varietas *assamica* dengan kandungan kimia katekin yang merupakan senyawa flavonoid termasuk ke dalam golongan polifenol (Hartoyo, 2003). Kandungan katekin pada teh hijau mencapai 80-90% dari flavonoid total (Harbowy &

Balentine, 1997). Menurut penelitian Hartoyo & Astuti pada tahun 2002, menyatakan bahwa pemberian ekstrak teh hijau pada tikus menunjukkan adanya penurunan kadar MDA tikus dalam kondisi hiperkolesterol. Penelitian Yusmiati pada tahun 2012, menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dosis 150 mg/kgBB maupun 300 mg/kgBB mampu memperbaiki keadaan stres oksidatif, meningkatkan fungsi endotel serta menurunkan risiko aterosklerosis. Selain itu, menurut hasil penelitian Holiday & Christianty (2015) infus teh hijau dengan dosis 600 mg/kgBB/hari mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 59,69% pada hewan coba yang diinduksi aloksan.

Pemberian ekstrak teh hijau diharapkan dapat menurunkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh dan menghindari terjadinya komplikasi DM makrovaskuler di jantung. Berdasarkan latar belakang di atas, maka pada penelitian ini akan diuji kemampuan ekstrak teh hijau untuk menurunkan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung mencit yang mengalami DM akibat induksi dari senyawa aloksan.

1.2 Rumusan Masalah

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

- 1) Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada mencit DM yang diinduksi aloksan?
- 2) Bagaimanakah perbedaan pengaruh yang ditimbulkan setelah pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dengan dosis 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB, dan 1200 mg/kgBB terhadap penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada mencit DM yang diinduksi aloksan?

1.3 Tujuan Penelitian

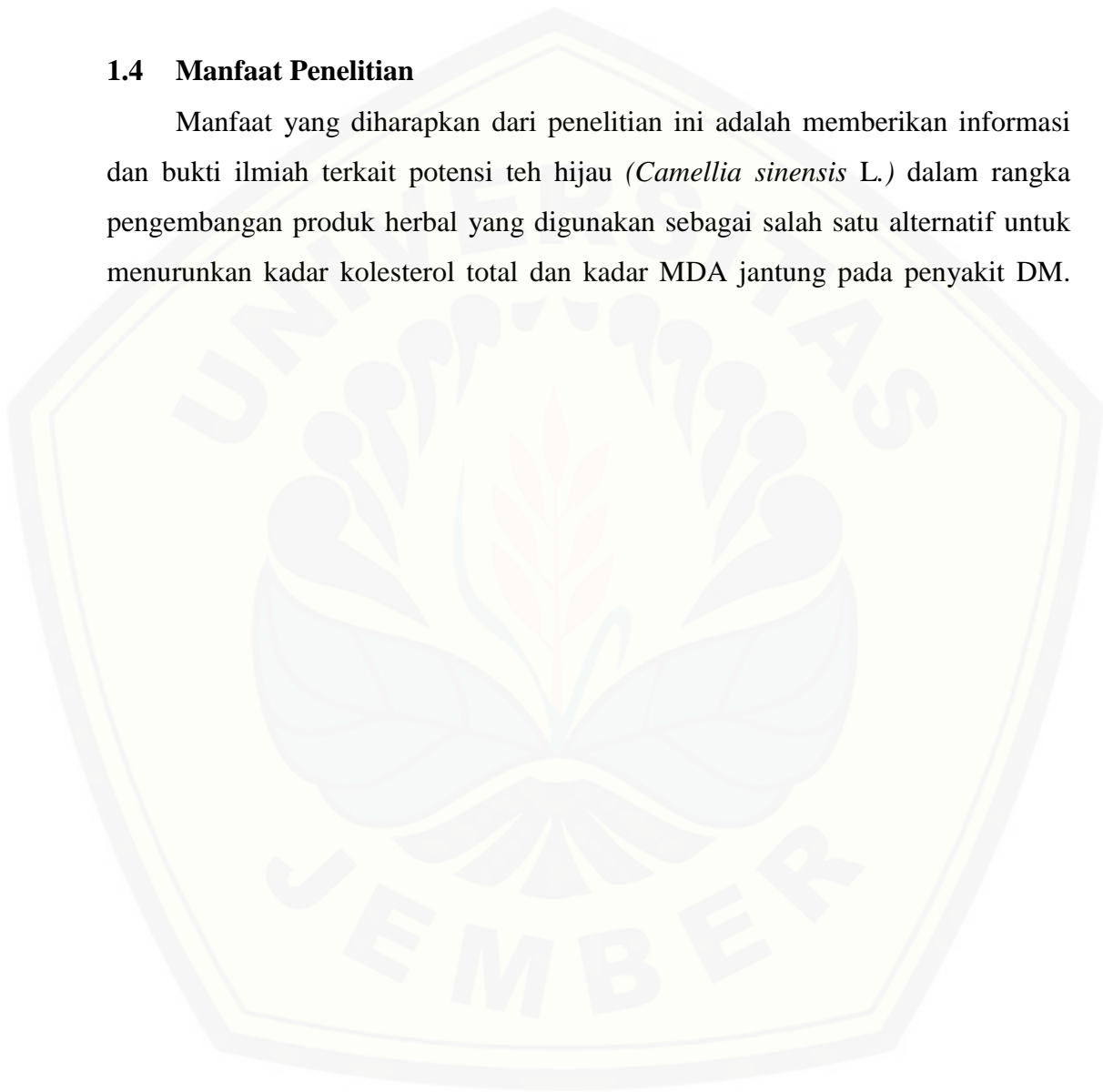
Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada mencit DM yang diinduksi aloksan.

- 2) Mengetahui perbedaan pengaruh yang ditimbulkan setelah pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dengan dosis 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB, dan 1200 mg/kgBB terhadap penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada mencit DM yang diinduksi aloksan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi dan bukti ilmiah terkait potensi teh hijau (*Camellia sinensis* L.) dalam rangka pengembangan produk herbal yang digunakan sebagai salah satu alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada penyakit DM.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi Diabetes Melitus

International Diabetes Federation (IDF) mendefinisikan Diabetes Melitus (DM) sebagai suatu penyakit yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa di dalam darah (hiperglikemia). Keadaan hiperglikemia disebabkan karena kekurangan jumlah insulin maupun terganggunya produksi insulin (IDF, 2015). Menurut *American Diabetes Association* (ADA), DM adalah kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa di dalam darah (hiperglikemia) yang terjadi akibat gangguan sekresi insulin, penurunan kerja insulin, atau akibat dari keduanya (Wells *et al.*, 2015; ADA, 2017).

2.1.2 Diagnosa Diabetes Melitus

Diagnosa DM dapat ditegakkan pada seseorang apabila seseorang tersebut menderita satu dari ketiga gejala umum DM seperti poliuria, polidipsia, ketonuria, dan penurunan berat badan, bersamaan dengan kadar glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL, kadar glukosa darah pada waktu puasa ≥ 126 mg/dL. Puasa berarti tidak ada makanan masuk kurang lebih 8 jam dan kadar glukosa darah dua jam sesudah makan ≥ 200 mg/dL (ADA, 2017).

2.1.3 Klasifikasi dan Etiologi Diabetes Melitus

Kriteria klasifikasi DM berdasarkan ADA pada tahun 2017, dibagi dalam beberapa tipe penyakit DM, yaitu:

a. DM Tipe 1 tergantung insulin (IDDM)

DM tipe 1 terjadi karena ketidakmampuan untuk menghasilkan insulin oleh sel beta pankreas yang rusak karena proses autoimun, sehingga pada tipe ini pasien sangat tergantung dengan pemberian insulin. Menurut Depkes RI (2005) menunjukkan bahwa prevalensi DM tipe 1 diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan prevalensi penderita DM, tetapi biasanya terjadi pada anak-anak.

b. DM Tipe 2 tidak tergantung insulin (NIDDM)

DM tipe 2 adalah jenis yang paling umum dari DM. Pada DM tipe 2, tubuh mampu memproduksi insulin tetapi dengan jumlah yang sedikit atau terjadi resistensi insulin yang menyebabkan peningkatan kadar glukosa di dalam darah. Pada kondisi resistensi insulin terjadi gangguan ikatan antara insulin dan reseptornya pada dinding sel sehingga insulin menjadi tidak efektif untuk menstimulasi pengambilan glukosa oleh jaringan. Untuk mengatasi resistensi insulin dan peningkatan kadar glukosa di dalam darah, sel beta pankreas akan meningkatkan produksi insulin sehingga kadar glukosa darah akan dipertahankan dalam keadaan normal. Namun, jika sel beta tidak mampu mengimbangi peningkatan kebutuhan terhadap insulin, maka kadar glukosa di dalam darah meningkat dan terjadi DM tipe 2. Menurut Depkes RI (2005) menunjukkan bahwa prevalensi DM tipe 2 diperkirakan mencapai 90-95% dari keseluruhan prevalensi penderita DM yang umumnya berusia di atas 45 tahun, tetapi akhir-akhir ini penderita DM tipe 2 di kalangan remaja dan anak-anak prevalensinya meningkat.

c. *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM)

DM tipe ini terjadi selama masa kehamilan, biasanya terjadi pada trimester kedua dan ketiga, disebabkan oleh hormon estrogen yang diekskresikan oleh plasenta dan menghambat kerja insulin. Biasanya pada GDM mengakibatkan komplikasi perinatal seperti melahirkan bayi makrosomia (bayi yang berukuran besar di atas rata-rata bayi normal). Penderita GDM memiliki risiko lebih besar untuk menderita DM yang menetap dalam jangka waktu 5-10 tahun setelah melahirkan.

2.1.4 Komplikasi Diabetes Melitus

Berdasarkan Fowler (2008), komplikasi DM dibagi menjadi dua kelompok yaitu komplikasi akut dan komplikasi kronik. Komplikasi akut seperti hipoglikemik, ketoasidosis diabetikum, dan hiperosmolar nonketotik. Komplikasi kronik sendiri dibagi lagi menjadi dua yaitu komplikasi mikrovaskuler dan komplikasi makrovaskuler. Komplikasi mikrovaskuler terjadi akibat penebalan membran basalis pembuluh kapiler. Beberapa contoh komplikasi mikrovaskuler

adalah retinopati, nefropati, dan neuropati. Komplikasi makrovaskuler terjadi akibat kondisi aterosklerosis pada pembuluh darah besar yang dapat menimbulkan penyakit seperti: PJK, hipertensi, dan stroke (Leon & Maddox, 2015).

PJK atau sering disebut penyakit arteri koroner adalah penumpukan plak di arteri jantung yang dapat menyebabkan serangan jantung. Penumpukan plak pada arteri koroner ini disebut dengan aterosklerosis koroner. Aterosklerosis koroner adalah kondisi patologis yang ditandai dengan penimbunan abnormal dari lipid dan jaringan fibrosa pada dinding pembuluh darah koroner yang dapat mengakibatkan perubahan struktur dan fungsi arteri sehingga terjadi penurunan aliran darah ke otot jantung (Beckman *et al.*, 2013; Leon & Maddox, 2015).

Salah satu penyebab aterosklerosis adalah dislipidemia. Dislipidemia merupakan suatu kelainan metabolisme lipid. Kelainan metabolisme lipid diantaranya adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol *Low-Density Lipoprotein* (LDL), kadar trigliserida, dan penurunan kadar *High-Density Lipoprotein* (HDL) (Adams, 2015). Kadar kolesterol total sendiri merupakan susunan dari banyak zat, termasuk trigliserida, LDL, HDL, dan *Very-Low-Density Lipoprotein* (VLDL). LDL (60-70% dari kolesterol total) merupakan lipoprotein aterogenik dan merupakan target utama dalam terapi penurunan kadar kolesterol. Hal ini dibuktikan dari beberapa penelitian yang menunjukkan efikasi penurunan kadar LDL untuk menurunkan risiko PJK, sedangkan 20-30% dari kolesterol total adalah HDL yang merupakan kolesterol penghambat timbulnya aterosklerosis dan 10-15% dari kolesterol total merupakan VLDL (NCEP, 2002).

Berdasarkan data *National Cholesterol Education Program* (NCEP), kadar kolesterol total normal adalah < 200 mg/dL, kadar kolesterol total meningkat adalah 200-239 mg/dL, dan kadar kolesterol total tinggi adalah ≥ 240 mg/dL (NCEP, 2002). Dikuatkan oleh *American Heart Association* (AHA), kadar kolesterol total yang ideal adalah < 200 mg/dL, kadar kolesterol total meningkat dan harus dikendalikan adalah 200-239 mg/dL, dan kadar kolesterol total tinggi adalah ≥ 240 mg/dL (AHA, 2017).

Penderita DM tipe 2 yang disertai dislipidemia akan memicu timbulnya PJK. Faktor risiko yang memengaruhi diantaranya adalah riwayat DM dalam

keluarga, riwayat DM gestasional, obesitas, usia 20-59 tahun 8,7% dan > 65 tahun 18%, hipertensi > 140/90 mmHg, kadar kolesterol HDL rendah < 35 mg/dL, kadar kolesterol LDL tinggi > 250 mg/dL, serta faktor lain seperti kurang olahraga dan pola makan rendah serat (Depkes RI, 2005).

2.1.5 Hubungan antara Diabetes Melitus, Radikal Bebas, dan Aterosklerosis

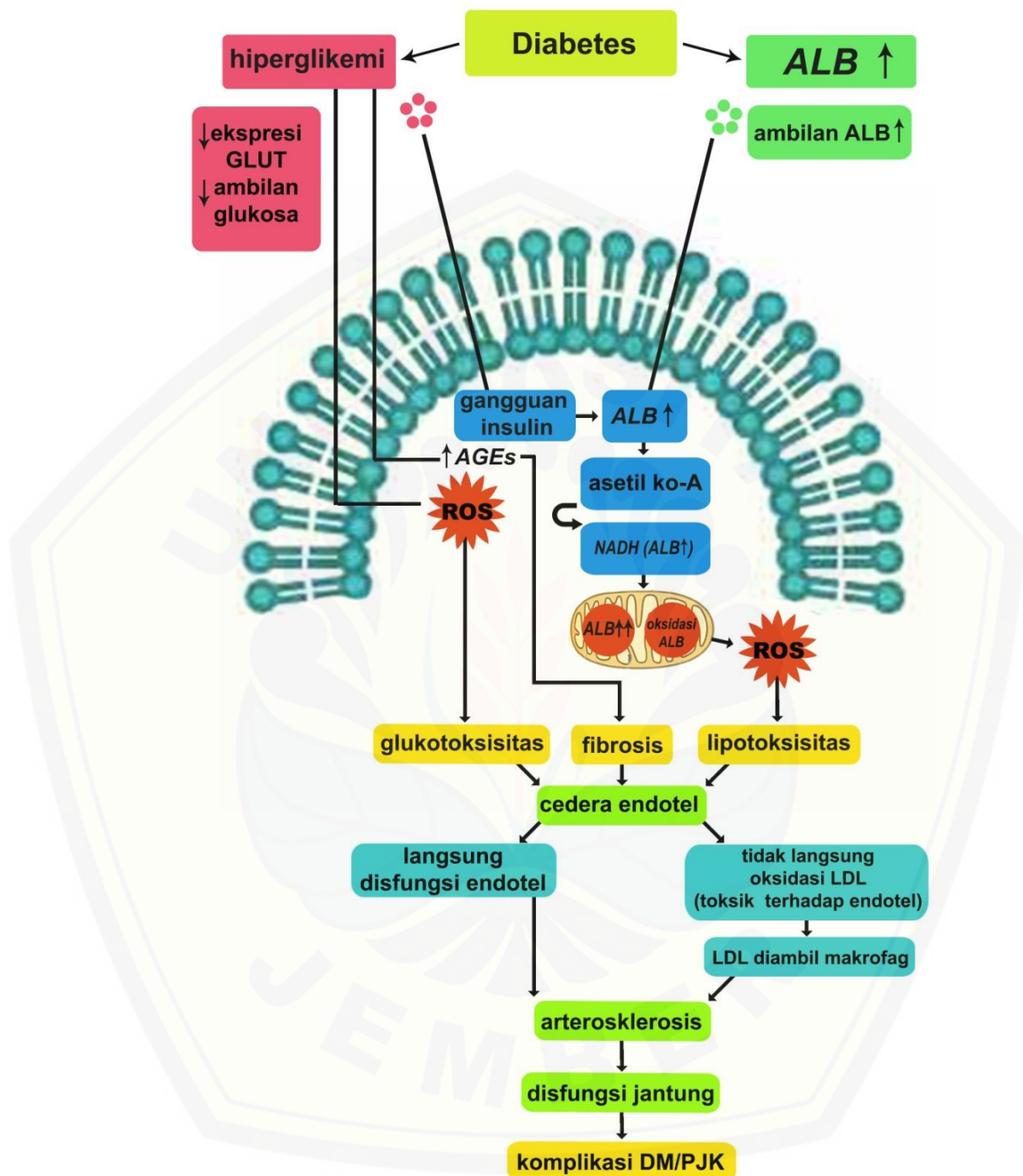
Diabetes melitus termasuk penyakit degeneratif yang jika tidak terkontrol dengan baik akan mengakibatkan suatu keadaan yang dipicu stres oksidatif, yaitu terjadinya produksi radikal bebas yang melebihi kemampuan antioksidan tubuh dalam menghambatnya (Setiawan, 2005). Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul dengan elektron tidak berpasangan dan tidak stabil. Ketidakstabilan radikal bebas memicu reaksi dengan atom atau molekul lain agar terjadi pasangan elektron sehingga menjadi bentuk yang stabil. Reaksi ini dapat mengubah formasi atau struktur senyawa yang berinteraksi dengan radikal bebas (Droge, 2002).

Radikal bebas memiliki hubungan dengan kondisi hiperglikemia dan peningkatan asam lemak bebas (ALB) yang berperan dalam patogenesis komplikasi DM pada jantung. Jalur yang pertama adalah kondisi hiperglikemia, kondisi tersebut dapat memicu reaksi pembentukan *Advanced Glycosylation Endproducts* (AGEs). AGEs berikatan dengan reseptornya yang ada di berbagai sel. Ikatan ini menginduksi sinyal transduksi di intraseluler. Adanya peningkatan glukosa di intraseluler mengakibatkan glukotoksitas karena adanya *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Tiwari *et al.*, 2013; Asmat *et al.*, 2016).

Jalur lain yaitu melalui jalur ALB. ALB yang tidak teresterifikasi meningkat pada pasien DM tipe 2, salah satunya disebabkan karena terjadi resistensi insulin. Salah satu fungsi insulin adalah menekan *lipase sensitive hormone*. Hormon tersebut bekerja pada jaringan adiposa untuk menekan jumlah ALB. Ketika insulin tidak ada atau sangat sedikit maka *lipase sensitive hormone* menjadi sangat aktif untuk menghidrolisis trigliserida yang disimpan sehingga terjadi pelepasan asam lemak dan gliserol pada sirkulasi darah dalam jumlah banyak. Asam lemak yang berlebihan akan memasuki siklus asam sitrat untuk menghasilkan asetil ko-A. Asetil ko-A akan diterima *Nicotinamide Adenine*

Dinucleotide (NADH) dalam jumlah berlebih yang menyebabkan produksi superoksida di mitokondria. Di dalam tubuh, ALB menunjukkan peningkatan peroksidasi lipid. Adanya peningkatan peroksidasi lipid mengakibatkan lipotoksisitas karena adanya ROS (Murray *et al.*, 2014.; Tangvarasittichai, 2015).

Apabila produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan yang ada, ROS akan mengarahkan sel menuju stres oksidatif, yang menyebabkan terjadinya cedera endotel. Ketika cedera endotel tidak ditangani dengan baik dapat menimbulkan disfungsi endotel dan peningkatan oksidasi LDL. Disfungsi endotel merupakan cedera endotel secara langsung melalui reaksi peroksidasi *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) membran endotel, sedangkan peningkatan oksidasi LDL merupakan cedera endotel tidak langsung dengan melalui reaktivitas *radikal hidroksil* yang menyebabkan peroksidasi LDL sehingga terbentuk oksidasi LDL yang toksik terhadap endotel. LDL akan diambil oleh reseptor makrofag, yang kemudian menginfiltrasi lapisan pembuluh darah di bawah endotel (Gundapaneni *et al.*, 2016). Apabila sel endotel mengalami kerusakan, infiltrasi LDL tersebut akan ditutup oleh kolesterol yang tidak teresterifikasi. Keadaan ini menyebabkan plak aterosklerosis berkembang, sehingga pembuluh darah menjadi tersumbat. Plak aterosklerosis inilah yang menurunkan aliran darah ke otot jantung dan apabila dibiarkan akan terjadi PJK (Tangvarasittichai, 2015). Lebih jelasnya terkait mekanisme hubungan antara diabetes, radikal bebas, dan aterosklerosis sampai terjadinya PJK dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Mekanisme hubungan antara diabetes, stres oksidatif dan aterosklerosis. GLUT: Glukosa Transporter, ALB: Asam Lemak Bebas, NADH: Nicotinamide Adenine Dinucleotid, ROS: Reactive Oxygen Species, AGEs: Advanced Glycosylation Endproducts, LDL: Low-Density Lipoprotein, DM: Diabetes Melitus, PJK: Penyakit Jantung Koroner. (AHA, 2007; Tangvarasittichai, 2015)

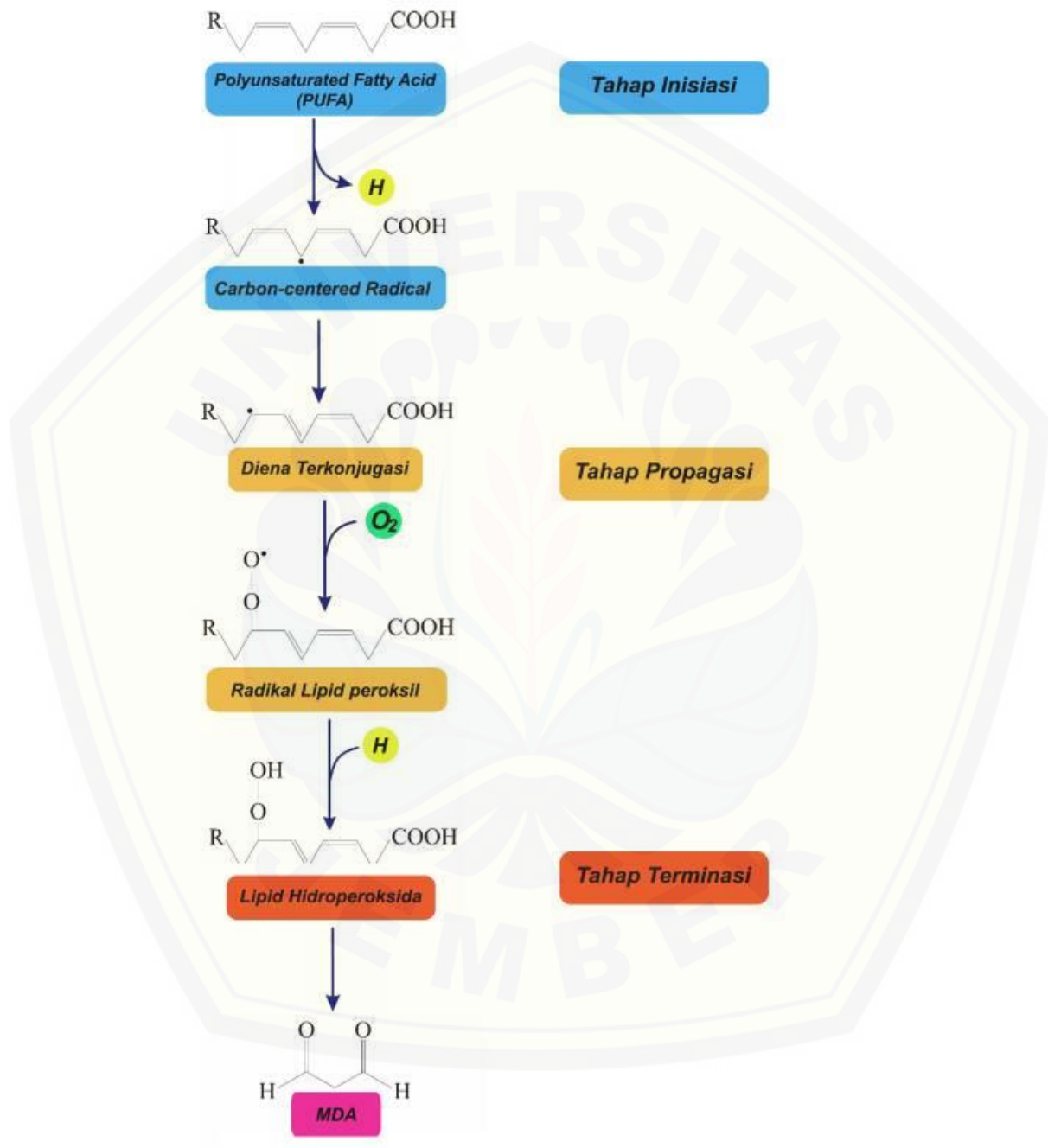
2.2 Tinjauan tentang Malondialdehid

Komplikasi DM menghasilkan gangguan pada profil lipid tubuh yang membuat sel lebih rentan terhadap peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid di dalam tubuh membentuk suatu produk akhir berupa MDA. Semakin tinggi kadar MDA di dalam tubuh maka menunjukkan semakin tinggi pula reaksi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh di dalam tubuh. Selain itu, MDA dapat berikatan dengan kolagen yang menyebabkan kekakuan jaringan kardiovaskular (Rio *et al.*, 2005; Donne *et al.*, 2006).

Mekanisme terbentuknya MDA dalam bentuk sederhananya diawali dari adanya radikal bebas hidroksi seperti ROS yang bereaksi dengan asam lemak ganda dari membran sel sehingga terjadi reaksi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa toksik serta merusak membran sel, dan membentuk produk akhir dari peroksidasi lipid yaitu MDA (Maria & Priscilla, 2003).

MDA diproduksi selama proses autooksidasi PUFA oleh suatu radikal bebas dengan beberapa tahap, diawali oleh tahap inisiasi yaitu tahap pembentukan radikal bebas. Pada tahap ini, radikal bebas hidroksil menyerang PUFA mampu melepaskan satu atom hidrogen (H) dari gugus metil (-CH₂-) dan membentuk suatu radikal yang disebut *carbon-centered radical*. Selanjutnya, tahap propagasi yaitu tahap pemanjangan rantai radikal. Pada tahap ini, radikal mengalami penataulangan molekul menjadi diena terkonjugasi yang akan bereaksi dengan molekul oksigen (O₂) membentuk radikal lipid peroksil. Dilanjutkan tahap terminasi yaitu tahap bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain. Pada tahap ini, 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, 4-hidroksinonenal (HNE) dan 2-alkana (Burcham, 1998; Tangvarasittichai, 2015). MDA merupakan aldehid terbesar sekitar 82% yang berasal dari PUFA teroksidasi, dan dapat mencapai 80% jika berasal dari LDL yang teroksidasi. Bila dibandingkan dengan HNE, kadar MDA dalam cairan biologis dapat mencapai 10 kali kadar HNE. Oleh karena itu, MDA merupakan indeks peroksidasi lipid yang paling banyak

dipelajari (Winarsi, 2007). Tahapan mekanisme pembentukan peroksidasi lipid dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Tahapan mekanisme pembentukan peroksidasi lipid (Burcham, 1998; Tangvarasittichai, 2015)

Pengukuran kadar MDA dilakukan dengan metode *Thiobarbituric Acid-reactive Substance* (TBARS). Dasar pengukuran menggunakan metode TBARS adalah pengukuran kadar MDA yang paling sering dan relatif mudah dikerjakan. Reaksi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA menghasilkan produk akhir yang stabil berupa MDA-TBA *adduct*. Reaksi ini berjalan pada pH 2-3 dan akan memberikan warna pink-kromogen yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik pada panjang gelombang (λ) 532–535 nm. Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri dengan spektrofotometer merupakan pengukuran kadar MDA yang paling sering dilakukan. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, jaringan maupun urin (Lykkesfeldt, 2001; Tangvarasittichai, 2015).

Pencegahan peningkatan kadar MDA dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan seperti vitamin A, C, E, albumin, flavonoid dan gingerol. Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas dengan mendonorkan atom H sehingga reaksi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh berkurang dan mencegah peningkatan kadar MDA. Secara biologis, antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat (Maria & Priscilla, 2003).

Reaktivitas radikal bebas oleh antioksidan dapat dihambat melalui 3 cara berikut: (1) Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru. (2) Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai). (3) Memperbaiki (*repair*) kerusakan oleh radikal. Semakin tinggi reaktivitas antara antioksidan dan radikal bebas di dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.3 Tinjauan tentang Obat Antidiabetes

Pada penderita DM tipe 1, insulin sangat dibutuhkan dari luar dikarenakan sel beta pankreas mengalami kerusakan sehingga tidak mampu memproduksi insulin untuk memenuhi kebutuhan dalam mengatur glukosa darah dalam tubuh.

Insulin dari luar juga dibutuhkan bagi penderita DM tipe 2 yang tubuhnya kekurangan insulin sedangkan sel beta pankreas hanya mampu memproduksi sedikit insulin (IDF, 2015)

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu:

- a. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin).
- b. Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitivitas sel terhadap insulin), golongan biguanida dan tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.
- c. Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor α -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (*post-meal hyperglycemia*). Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Penggolongan obat hipoglikemik oral

Golongan	Contoh senyawa	Mekanisme Kerja
Sulfonilurea	1) Gliburida/Glibenklamid 2) Glipizida 3) Glikazida 4) Glimepirida 5) Glikuidon	merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas,
Turunan Fenilalanin	Nateglinide	meningkatkan kecepatan sintesis insulin
Biguanida	Metformin	meningkatkan sensitivitas insulin di hati dan jaringan otot perifer
Inhibitor α – glukosidase	1) Acarbose 2) Miglitol	mencegah pemecahan sukrosa dan kompleks karbohidrat lainnya pada usus kecil

Sumber: Wells *et al.*, 2015

2.4 Tinjauan tentang Metformin

Metformin merupakan obat yang termasuk dalam golongan biguanida. Mekanisme kerja metformin adalah meningkatkan sensitivitas jaringan target terhadap insulin. Metformin merupakan obat yang diadministrasikan secara oral

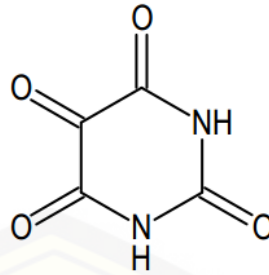
dengan bioavailabilitas mencapai 50-60%. Dosis maksimal metformin oral untuk pasien DM adalah sekitar 2 g/hari (Foretz *et al.*, 2014).

Metformin secara luas sudah dikenal memiliki efek farmakologi antihiperglikemia. Metformin memiliki efikasi antihiperglikemik yang sama dengan sulfonilurea pada pasien DM tipe 2 tetapi tidak meningkatkan berat badan (BB), oleh sebab itu metformin digunakan sebagai obat *first line* terapi pasien DM tipe 2 (Foretz *et al.*, 2014). Metformin merupakan salah satu jenis obat oral antidiabetes yang bukan hanya berfungsi untuk mengendalikan glikemik, tetapi juga dapat memperbaiki disfungsi endotel, resistensi insulin, profil lipid dan redistribusi lemak. Metformin juga terbukti memiliki efek protektif terhadap komplikasi makrovaskuler (Rojas & Gomes, 2013). Selain efek tersebut, metformin juga dapat memberikan efek antioksidatif melalui beberapa mekanisme, antara lain meningkatkan aktivitas antioksidan endogen, menurunkan produk akhir peroksidasi lipid, dan menghambat pembentukan AGEs (Ali, 2015).

Efek samping yang dapat ditimbulkan akibat metformin adalah rasa tidak nyaman di daerah abdomen, diare, dan anoreksia, tetapi dapat diminimalisir dengan cara titrasi dosis secara perlahan atau konsumsi bersamaan makanan (Wells *et al.*, 2015).

2.5 Tinjauan tentang Aloksan

Keadaan diabetes atau hiperglikemia pada hewan coba dapat ditimbulkan melalui pemberian zat diabetogen, misalnya aloksan. Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Rumus kimia aloksan adalah $C_4H_2N_2O_4$ untuk bentuk strukturnya dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Nugroho, 2006). Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan senyawa hidrofilik (Lenzen, 2008). Aloksan memiliki efek diabetogenik ketika diberikan secara intraperitoneal atau subkutan dan intravena. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kgBB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya. Hewan coba yang dipuaskan akan lebih rentan terhadap aloksan (Szkudelski, 2001; Nugroho, 2006).



Gambar 2.3 Struktur aloksan (Nugroho, 2006)

Aloksan yang diinduksikan ke dalam tubuh hewan coba akan dikenali sebagai glukosa oleh glukosa transporter GLUT 2 yang ada di dalam sel beta pankreas. Aloksan dibawa menuju sitosol dan akan mengalami reaksi redoks yang menghasilkan ROS. ROS yang terbentuk menyebabkan depolarisasi membran sel beta dan peningkatan Ca^{2+} . Depolarisasi membran sel beta pankreas dan peningkatan Ca^{2+} mengakibatkan meningkatnya permeabilitas membran sel, sehingga mempercepat destruksi sel beta pankreas yang akan berdampak pada tidak diproduksinya atau menurunnya produksi insulin (Rohilla & Ali, 2012).

2.6 Tinjauan tentang Teh

2.6.1 Klasifikasi Tanaman

Teh saat ini dibudidayakan di lebih dari 30 negara di seluruh dunia dan menjadi konsumsi minuman kedua setelah air, termasuk di Indonesia. Tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) yang terdapat di Indonesia adalah varietas *Assamica* yang berasal dari India sedangkan tanaman teh yang tumbuh di Jepang dan Cina merupakan varietas *sinensis*. Teh varietas *assamica* memiliki kelebihan kandungan katekin yang lebih besar sehingga sangat potensial untuk dikembangkan menjadi produk farmasi yang bermanfaat bagi kesehatan (Hartoyo, 2003). Tanaman teh (*Camellia sinensis* L.) dapat dilihat pada Gambar 2.4



Gambar 2.4 Tanaman teh (LIPI, 2009)

Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2016), taksonomi dari tanaman teh adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheophyta
Sub Divisio	: Spermatophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Ericales
Famili	: Theaceae
Genus	: <i>Camellia</i> L.
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntzea
Varietas	: <i>Assamica</i> dan <i>Sinensis</i>

Camellia sinensis L. adalah tanaman yang memiliki tinggi mencapai 10-15 meter di alam bebas dan ketika dibudidayakan tingginya mencapai 0,6-1,5 meter. Pada tanaman ini dilakukan pemangkasan terus untuk dipanen daunnya. Tanaman teh berbentuk kayu tegak dengan percabangan banyak, ujung ranting berambut dan berwarna cokelat kehijauan. Daun tunggal, kaku, bentuk bundar telur dengan ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi, permukaan daun mengilap berwarna hijau tua, sedangkan yang muda berwarna hijau muda. Bunga tunggal terdapat di ketiak daun, warna putih kekuningan, berbau wangi. Buah kotak, keras, warna cokelat kehitaman bila sudah tua. Perbedaan umur daun mempengaruhi kualitas dari tanaman teh (Mahmood *et al.*, 2010).

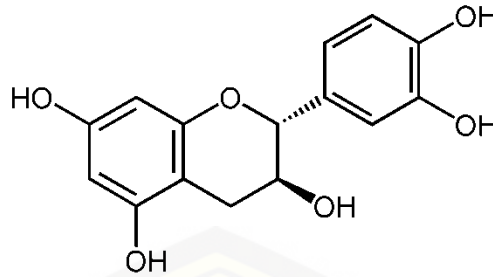
Secara umum berdasarkan proses pengolahannya teh dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu teh hijau, teh oolong, dan teh hitam. Teh hijau dibuat dengan cara

menginaktivasi enzim oksidase atau fenolase yang ada pada pucuk daun teh segar sehingga oksidasi enzimatis terhadap katekin dapat dicegah. Teh oolong dihasilkan melalui proses pemanasan yang dilakukan segera setelah proses penggulungan daun, dengan tujuan untuk menghentikan proses fermentasi. Sementara teh hitam dibuat dengan cara memanfaatkan terjadinya oksidasi enzimatis terhadap kandungan katekin teh (Hartoyo, 2003).

2.6.2 Komposisi dan Peran Teh Hijau

Teh terbuat dari daun tanaman *Camellia sinensis* L. Teh dikonsumsi di seluruh dunia dengan konsumsi per kapita mencapai ± 120 mL/hari. Teh hitam dikonsumsi di Eropa, Amerika Utara, dan Afrika Utara. Teh hijau dikonsumsi di Asia. Teh oolong banyak dikonsumsi di Cina dan Taiwan. Daun teh hijau setelah dipetik kemudian diuapkan untuk menginaktivasi oksidase polifenol, baru kemudian dikeringkan. Sekitar 20-22% teh yang dikonsumsi di dunia adalah teh hijau (McKay & Blumberg, 2002).

Teh mengandung polifenolik termasuk flavonoid. Flavonoid utama yang terkandung dalam teh hijau adalah katekin seperti epikatekin (EC), epikatekin galat (ECG), epigalokatekin (EGC), dan epigalokatekin galat (EGCG). Katekin adalah senyawa paling penting dalam daun teh. Perubahan aktivitas katekin selalu dihubungkan dengan sifat seduhan teh, yaitu rasa, warna, dan aroma. Kandungan katekin pada daun segar berkisar antara 13,5-30% dari seluruh berat kering daun. Kandungan katekin teh varietas *assamica* lebih besar daripada teh varietas *sinensis*. Katekin adalah senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan karena gugus fenol yang dimilikinya. Struktur katekin memiliki dua gugus fenol dihidropiran (cincin C), dikarenakan memiliki lebih dari satu gugus fenol, maka senyawa katekin sering disebut senyawa polifenol (Balittri, 2013). Katekin teh memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C dan E (25 sampai 100 kali lebih kuat daripada vitamin C) (Chen *et al.*, 2002; Balittri, 2013). Struktur katekin dapat dilihat pada Gambar 2.5



Gambar 2.5 Struktur katekin (Balittri, 2013)

Katekin adalah antioksidan yang baik dan diserap masuk dengan baik di pencernaan. Pencernaan berperan sangat penting dalam metabolisme dan konjugasi dengan polifenol atau flavonoid sebelum sampai ke hati. Polifenol dimetabolisme di dalam usus halus dan hati, kemudian diangkut kembali ke dalam lumen usus, mencapai usus besar selanjutnya dimetabolisme oleh mikroflora usus menjadi asam fenolat. Asam fenolat ini diserap dalam usus besar, ditemukan dalam plasma dan seringkali terkonjugasi lebih lanjut dan dimetabolisme di hati (Chen *et al.*, 2002). Kandungan komponen senyawa katekin dalam daun teh segar disajikan dalam Tabel 2.2

Tabel 2.2 Kandungan komponen senyawa katekin dalam daun teh segar

Katekin	Kandungan (% berat kering)
Epigalokatekin	4-7
Galokatekin	1-2
Epikatekin	1- 3
Katekin	0,5- 1
Epigalokatekin galat (EGCG)	5-14
Epikatekin galat	2-4
Total	13,5-31

Sumber: Balittri (2013)

Konsumsi teh memiliki hubungan dengan risiko rendahnya kematian akibat penyakit jantung koroner dan stroke. Efek protektif teh terhadap penyakit kardiovaskuler adalah melalui mekanisme penghambatan oksidasi LDL oleh polifenol teh. Oksidasi LDL berperan dalam proses aterosklerosis. Aktivitas hipokolesterolemik teh berfungsi juga sebagai perlindungan terhadap penyakit

jantung. Berdasarkan penelitian Hartoyo & Astuti (2002), menunjukkan bahwa tikus yang diberi ekstrak teh hijau bersamaan dengan diet tinggi lemak dan kolesterol dapat mencegah peningkatan lipid serum dan hati, mengurangi kolesterol total serum, serta menurunkan kadar MDA serum. Polifenol yang terkandung di dalam teh hijau dapat menurunkan peroksidasi lipid dan mengurangi hiperlipidemia sehingga menghambat proses aterosklerosis (Tandon *et al.*, 2005). Banyak kajian *in vitro* dan *in vivo* yang menunjukkan bahwa teh memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan senyawa aktifnya adalah polifenol, terutama katekin.

2.6.3 Penelitian tentang Teh Hijau

Menurut Crespy & Williamson (2004) ekstrak teh hijau mampu mereduksi lemak dan kelainan metabolisme glukosa pada penderita DM tipe 2, menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler dan juga dapat mencegah karsinogenik pada lambung. Berdasarkan penelitian Sukina (2013) kandungan katekin daun teh hijau (*Camelia sinensis* L.) dosis 22,5 mg/kgBB/hari selama 4 minggu dapat menurunkan kadar MDA dan superoksida dismutase. Ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 200 mg /kgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan kapasitas antioksidan pada tikus yang diinduksi streptozocin (Haidari *et al.*, 2013). Penelitian Yusmiati (2012) telah membuktikan bahwa mengonsumsi ekstrak teh hijau dosis 150 mg/kgBB maupun 300 mg/kgBB dapat memperbaiki keadaan stres oksidatif, meningkatkan fungsi endotel serta menurunkan risiko aterosklerosis. Selain itu, penelitian Holiday & Christianty (2015) menunjukkan bahwa infus teh hijau dengan dosis 600 mg/kgBB/hari selama 14 hari mampu menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi aloksan.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *True Experimental Laboratories* yang bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul karena adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tertentu yang nantinya akan diberikan kelompok kontrol sebagai pembanding (Swarjana, 2012).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang berlangsung mulai bulan Januari hingga Juni 2017.

3.3 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah hewan coba jantan sebanyak 24 ekor masing-masing 4 ekor hewan coba tiap kelompok dengan berat badan 20-35 gram dan berumur 2-3 bulan (Malole & Pramono, 1989). Penentuan jumlah sampel didasarkan pada perhitungan menggunakan rumus Federer dikutip dari (Ridwan, 2013) yaitu:

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

Keterangan :

n : jumlah sampel

t : jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

jika, t = 6 maka, $\{(6-1)(n-1)\} \geq 15$

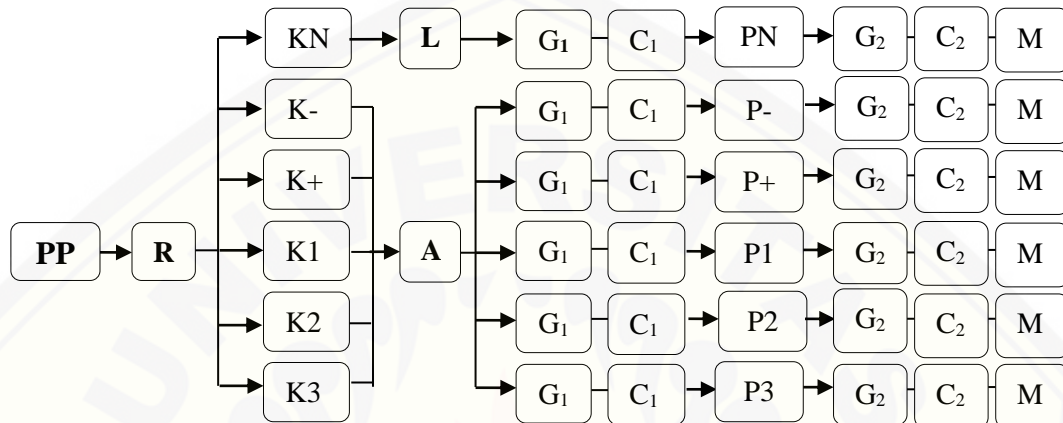
$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, pada setiap kelompok perlakuan terdapat minimal 4 ekor hewan coba.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan *True Experimental Laboratories* dengan rancangan penelitian *Pre and Post Test* untuk parameter kolesterol total dan *Post Test* untuk parameter MDA jantung. Skema rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- PP : Populasi hewan coba awal
- R : Randomisasi hewan coba
- K : Kelompok
- N : Kontrol normal dengan pemberian CMC-Na 1% per oral
- : Kontrol negatif dengan pemberian CMC-Na 1% per oral
- + : Kontrol positif dengan pemberian metformin 110,5 mg/kgBB per oral
- 1 : Pemberian suspensi ekstrak teh hijau dosis 600 mg/kgBB per oral
- 2 : Pemberian suspensi ekstrak teh hijau dosis 900 mg/kgBB per oral
- 3 : Pemberian suspensi ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB per oral
- L : Induksi NaCl 0,9% secara intraperitoneal
- A : Induksi aloksan dosis 210 mg/kgBB secara intraperitoneal
- G₁ : Pengukuran kadar glukosa darah setelah induksi aloksan dan NaCl
- C₁ : Pengukuran kadar kolesterol total setelah induksi aloksan dan NaCl
- P : Perlakuan

- G₂ : Pengukuran kadar glukosa darah setelah perlakuan
C₂ : Pengukuran kadar kolesterol total setelah perlakuan
M : Pengukuran kadar MDA

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat Uji

Alat yang digunakan adalah *freeze drier* (ZiRBUS VaCo 5-II-D), kandang hewan coba, spektrofotometer UV-Vis (Labomed, Inc UVD-2950), fotometer (*Biolyzer 100*), timbangan hewan (Ohaus), timbangan analitik (Ohaus), sentrifuge (Hettich, EBA 20), *hotplate*, vortex, mortir, stamper, panci infus, mikropipet (Socorex Swiss), alat-alat gelas, spuit injeksi, sonde, vial, *microtube*, kuvet, *microhaematocrit*, dan alat bedah (pisau bedah, gunting papan bedah, pinset).

3.5.2 Bahan Uji

Bahan yang digunakan adalah teh hijau (PT Perkebunan Nusantara XII), aloksan monohidrat (TCI), tablet metformin (PT. Kimia Farma), CMC-Na 1%, NaCl 0,9%, kloroform, aquadest, 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) (Sigma-Aldrich, No. T9889), TCA (Sigma-Aldrich, No. 33731), TBA (Sigma-Aldrich, No. T5500), HCl, *glucotest* (Fluitest Glu) dan NaOH (PT Brataco).

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak teh hijau, yaitu 600, 900, dan 1200 mg/kgBB yang diberikan per oral pada kelompok perlakuan.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung.

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah jenis hewan uji yakni mencit jantan galur Balb/C, berat badan mencit 20-35 gram, umur mencit 2-3 bulan, pemeliharaan mencit meliputi pemberian pakan, minum, serta frekuensi pemberian perlakuan yang seragam, dan prosedur pengujian penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung.

3.7 Definisi Operasional

3.7.1 Hewan uji dianggap diabetes adalah hewan uji dengan kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL.

3.7.2 MDA adalah salah satu biomarker kerusakan oksidatif yang akan diukur kadarnya menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS) membentuk MDA-TBA berwarna merah muda.

3.7.3 Ekstrak teh hijau dikatakan memiliki pengaruh sebagai antikolesterol dan antioksidan adalah ketika dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahapan Persiapan

a. Pembuatan ekstrak teh hijau

Sebanyak 100 gram serbuk teh hijau diekstraksi dengan cara infusa menggunakan pelarut aquadest sebanyak 1000 mL lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit sambil diaduk. Setelah 15 menit filtrat disaring menggunakan vakum dan dibuat ekstrak kering menggunakan *freeze drier* selama 39 jam dengan suhu -88°C. Ekstrak kering disimpan dalam wadah tertutup rapat dan disimpan dalam lemari es.

b. Pembuatan larutan aloksan dosis 210 mg/kgBB

Sebanyak 105 mg aloksan monohidrat dilarutkan ke dalam 5 mL NaCl 0,9% dalam *beaker glass*. Larutan aloksan diinjeksikan secara intraperitoneal pada

mencit dengan dosis 210 mg/kgBB. Perhitungan pembuatan larutan aloksan dapat dirujuk pada Lampiran 1.

c. Pembuatan suspensi CMC-Na 1%

Sebanyak 1 gram CMC-Na ditaburkan di atas 20 mL air panas (20 kali berat CMC-Na) hingga mengembang. Diaduk hingga homogen dan terbentuk masa kental kemudian ditambah air hingga volume 100 mL.

d. Pembuatan suspensi metformin dosis 110,5 mg/kgBB (kontrol positif)

Tablet metformin dengan berat 908,1 mg dengan kandungan 850 mg. Metformin digerus dan ditimbang sebanyak 118,1 mg. Selanjutnya disuspensikan ke dalam muchilago CMC-Na 1% sampai 10 mL. Diberikan pada mencit kontrol positif satu kali sehari secara per oral. Perhitungan pembuatan suspensi metformin dapat dirujuk pada Lampiran 2.

e. Pembuatan suspensi ekstrak teh hijau dosis 600, 900, dan 1200 mg/kgBB

Ekstrak teh hijau masing-masing sebanyak 600, 900, dan 1200 mg disuspensikan ke dalam CMC-Na 1% sampai 10 mL diaduk sampai homogen. Diberikan pada mencit kelompok perlakuan dosis 600, 900, dan 1200 mg/kgBB satu kali sehari secara per oral sesuai dengan dosis masing-masing. Perhitungan pembuatan suspensi ekstrak teh hijau dapat dirujuk pada Lampiran 3.

3.8.2 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, hewan coba diadaptasikan dalam kondisi laboratorium selama satu minggu dan diberi makan *ad libitum* pada semua kandang. Hewan uji yang digunakan adalah hewan coba yang sehat dan tidak ada perubahan berat badan yang melebihi 10% selama adaptasi serta secara visual menunjukkan perilaku yang normal (Ridwan, 2013).

3.8.3 Induksi Aloksan

Setelah pengukuran kadar glukosa darah, selanjutnya hewan coba diinduksi aloksan dengan dosis 210 mg/kgBB dalam pelarut NaCl 0,9% secara intraperitoneal (H0). Untuk kelompok kontrol normal, hewan coba diinduksi dengan larutan NaCl 0,9% secara intraperitoneal. Pada hari ke-3, kadar glukosa

hewan coba diukur sebagai glukosa darah *pre-test*. Hewan coba yang dengan kadar glukosa darah puasa ≥ 200 mg/dL adalah hewan yang digunakan untuk penelitian.

3.8.4 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji

Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit, diantaranya 3 kelompok kontrol yaitu kelompok kontrol normal, kontrol positif dan kontrol negatif, serta 3 kelompok perlakuan dosis 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB dan 1200 mg/kgBB. Perlakuan pada setiap kelompok mencit dilakukan selama 14 hari menggunakan sonde, dan bobot mencit ditimbang setiap hari selama perlakuan untuk menentukan volume sediaan yang akan diberikan.

3.8.5 Pengukuran Kadar Kolesterol Total

Pengukuran kadar kolesterol total akhir pada hewan coba dilakukan 15 hari setelah perlakuan sebagai data *post test*. Preparasinya dengan cara mengambil darah dari jantung mencit ditampung ke dalam *microtube* kemudian disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Diambil beningannya dan diukur menggunakan fotometer (*Biolzyer100*).

Hasil pengukuran kadar kolesterol total yang terbaca pada fotometer (*Biolzyer100*) dicatat sebagai data. Perhitungan penurunan kadar kolesterol total dikutip dari (Jawi & Budiasa, 2011) yaitu:

$$\% \text{ penurunan kadar kolesterol total} = \frac{(\text{kadar kolesterol total hari ke 1}) - (\text{kadar kolesterol total hari ke 15})}{(\text{kadar kolesterol total hari ke 1})} \times 100\%$$

3.8.6 Pengukuran Kadar MDA

a. Penentuan kurva baku MDA

Pembuatan larutan stok 1 dengan cara memipet 1,1,3,3- tetraetoksipropene (TEP) sebanyak 5 μ L kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL, dihomogenkan. Selanjutnya dari larutan stok 1 dibuat larutan stok II. Pembuatan

kurva baku dilakukan dengan mengambil larutan stok II kemudian dibuat 10 seri konsentrasi berbeda, yaitu 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35, dan 39 μM . Selanjutnya 50 μL dari masing –masing konsentrasi ditambahkan 1 mL aquadest, 100 μL TCA 20%, 250 μL HCl 1 N dan 100 μL Na-TBA 1%. Setiap penambahan 2 reagen divortex, tabung yang berisi supernatan dan reagen ditutup dengan aluminium foil, kemudian dipanaskan di atas hotplate pada suhu 100°C selama 30 menit. Selanjutnya campuran tersebut didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Herawati *et al.*, 2012; Dewi *et al.*, 2013; Rahayu, 2015). Penentuan kurva baku MDA dapat dirujuk pada Lampiran 4.

b. **Prosedur Pengukuran Kadar MDA**

Mencit sebelum diambil jantungnya dikorbankan terlebih dahulu. Kemudian jantung sebanyak 100 mg digerus di dalam mortir dan ditambahkan 1 mL NaCl 0,9%. Homogenat kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 10 menit dan diambil supernatannya. Supernatan sebanyak 50 μL ditambahkan dengan 1000 μL aquadest, 100 μL TCA 20%, 250 μL HCl 1N dan 100 μL Na-TBA 1%, setiap penambahan 2 reagen dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya dipanaskan di atas *hotplate* suhu 100°C selama 30 menit dan didiamkan di suhu ruangan. Campuran tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit dan dipindahkan hasil supernatannya ke dalam kuvet. Sampel kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Herawati *et al.*, 2012; Dewi *et al.*, 2013; Rahayu, 2015). Perhitungan pembuatan reagen reagen uji dapat dirujuk pada Lampiran 5.

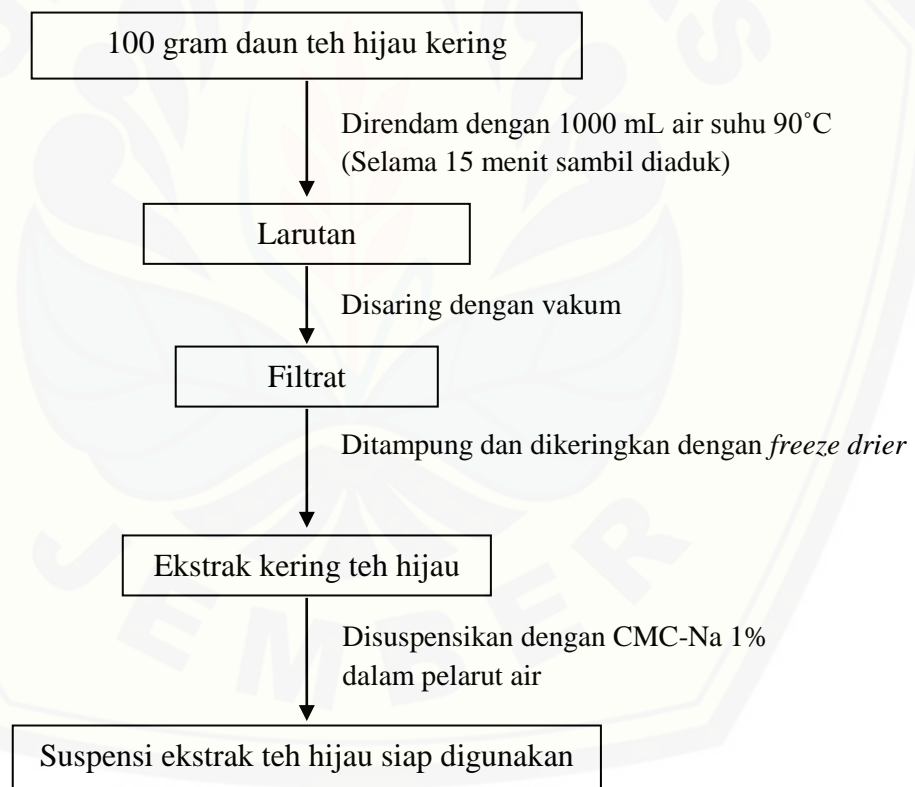
3.9 Analisis Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah persentase penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung. Data yang diperoleh dianalisis normalitasnya secara statistik dengan uji *Shapiro-Wilk*, sedangkan untuk mengetahui varian data dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan uji One-Way ANOVA untuk melihat perbedaan kadar yang bermakna pada dua kelompok. Apabila ada

perbedaan yang bermakna pada dua kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BLT) atau uji *Least Significant Differences* (LSD) untuk menentukan kelompok mana yang memberikan nilai yang berbeda secara signifikan. Jika data tidak dapat dipenuhi menggunakan One-Way ANOVA, maka data dianalisis menggunakan uji non parametrik yaitu dengan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

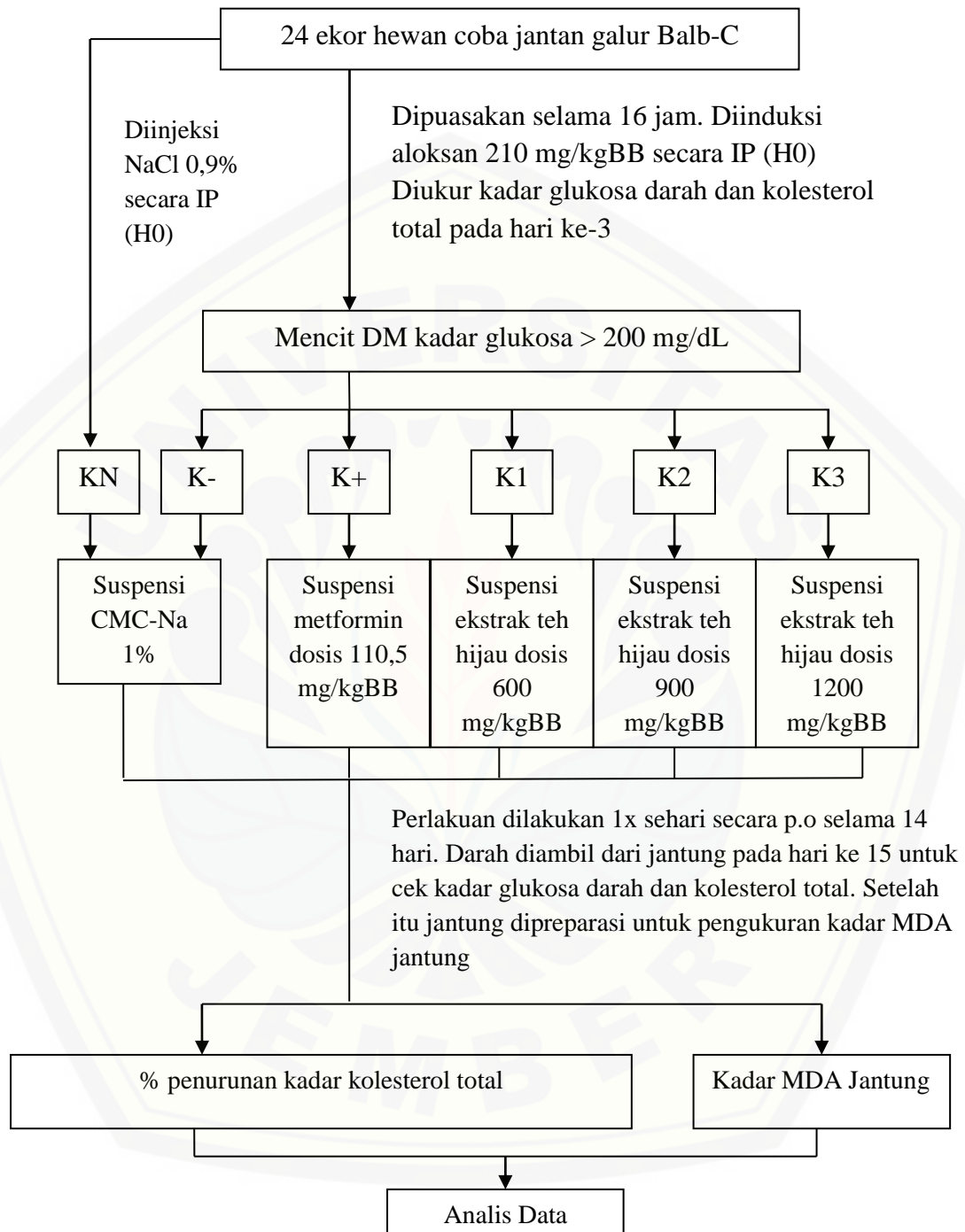
3.10 Skema Rangkaian Kerja

3.10.1 Pembuatan Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) dan Sediaan Suspensi Ekstrak Teh Hijau



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak teh hijau

3.10.2 Perlakuan pada Hewan coba



Gambar 3.3 Skema alur penelitian ekstrak teh hijau

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak teh hijau dapat menurunkan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan.
2. Ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif dibandingkan dosis 600 dan 900 mg/kgBB di dalam menurunkan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang diberikan oleh peneliti adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas ekstrak teh hijau untuk mengetahui batas aman ketika digunakan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa ekstrak teh hijau yang paling berpengaruh dalam aktivitas penurunan kadar kolesterol total dan kadar MDA jantung.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan bentuk sediaan farmasetik ekstrak teh hijau, agar mudah digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, L. B. 2015. *Hyperlipidemia chapter 10*. Nutrition Services, Vol. 10: 109-124.
- Adjie D., 2008. Hubungan konsentrasi malondialdehida, glukosa dan total kolesterol pada tikus putih yang diinjeksi dengan streptozotocin. *Journal Sains*. Vol.26(2): 73-77.
- Alam M. N., Bristi N. J., & Rafiquzzaman. 2012. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Vol.20: 1-10.
- 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. Standards of medical care in diabetes-2017. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education*. Supplement 1.Vol. 40: 51-5135.
- American Heart Association (AHA). 2007. Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation*.Vol. 115: 3213-3223.
- American Heart Association (AHA). 2017. Heart disease and stroke statistics 2017 update. *Clinical Statement*. Vol. 135: 191-203.
- Asmat U., Abad K., & Ismail K. 2016. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*.Vol. 24: 547-553.
- Balcombe, J.P. 2006. Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Physicians Committee for Responsible Medicine*. Vol. 40(2) : 217–235.
- Balitri, J.T. 2013. Kandungan senyawa kimia pada daun teh (*Camellia sinensis*), Vol. 19(3): 12-16.
- Beckman, J. A , Paneni, F., Cosentino, F, & Mark A. 2013. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part II. *European Heart Journal*, Vol. 34: 2444–2456.
- Burcham, P. C. 1998. Genetic lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis*. Vol.13(3): 287-305.
- Chen L, Yang X, Jiao H, & Zhao B. 2002. Tea catechins protect against lead-induced ROS formation mitochondrial dysfunction and calcium dysregulation in pc12 Cells. *Journal Chemical Received Toxicol*. Vol.16: 1155–61.

- Crespy, V., & Williamson, G. 2004. A review of the health effects of green tea catechins in vivo animal models. *Journal of Nutrition*. Vol.134: 3431S–3440S.
- Dewi, D. R., Aulanni'am & A. Roosdiana. 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*). *Kimia Student Journal*. Vol. 2(1): 351-357.
- Depkes RI. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes melitus*: 1-85.
- DIH. 2008. *Drug information handbook: a comprehensive resource for all clinicians and healthcare professionals*. USA: Lexicomp.
- Donne, I.D., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini D., & Milzani A. 2006. Biomarker of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*, Vol.52 (4): 601-623.
- Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Review*. Vol. 82: 47-95.
- Foretz, M., B. Guigas, L. Bertrand, M. Pollak, & B. Viollet. 2014. Metformin: from mechanism of action to therapies. *Cell Metabolism*. 20(6): 953-966.
- Fowler, M.J. 2008. Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical Diabetes Journal*. Vol. 11 (2): 77-82.
- Grotto, D., L. S. Maria., J. Valentini., C. Paniz., G. S. Solange. & C. Garcia. 2009. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects formalondialdehyde quantification. *Quim. Nova*. Vol. 32(1): 169-174.
- Gundapaneni, Galimudi, Kondapalli, Gantala, Mudigonda, Padala, Shyamala, Sahu, & Hanumanth. 2016. Oxydative stress markers in coronary artery disease patients with diabetes mellitus. *Int J Diabetes Dev Ctries*. Vol. 4: 515-519.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2007. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Haidari, Omidian, Rafiei, Zarei & Shahi. 2013. Green tea (*Camellia sinensis*) supplementation to diabetic rats improves serum and hepatic oxidative stress markers. Vol. 12 (1): 109-114.
- Harbowy M.E, & Balentine D.A.1997. Tea Chemistry. *Crit Rev Plant Sci*. Vol.16: 415–448.
- Hariyadi, P. 2013. Freeze drying technology: for better quality and flavor of dried products. *Foodreview Indonesia*. Vol. vii(2): 52-57.

- Hartoyo A. 2003. *Teh dan Khasiatnya Bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Hartoyo A., & Astuti M., 2002. Aktivitas antioksidatif dan hipokolesterolemik ekstrak teh hijau dan teh wangi pada tikus yang diberi ransum kaya asam lemak tidak jenuh ganda. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* Vol XIII(1): 78-85.
- Herawati, A., Aulanni'am. & S. Prasetyawa. 2012. Peran terapi d-alfa tokoferol terhadap kadar glukosa darah dan kadar mda (malondialdehid) pada tikus diabetes melitus tipe 1 hasil induksi mlz-stz. *Veterinaria Medika*. Vol. 5(3):195-200.
- Holidah, D., & Christianty, F.M. 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 klinis. Jember: Jember University Press.
- International Diabetes Federation (IDF). 2015. *diabetes atlas seventh edition*: 1-142.
- Intergrated Taxonomic Information System. 2016. Taxonomi of tea *Camellia sinensis*. <http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/Sing>. [Diakses pada 1 Januari 2017].
- Izzreen, N.Q.M.N., & Fadzelly, M.A.B. 2013. Phytochemicals and antioxidant properties of different parts of camellia sinensis leaves from sabah tea plantation in Sabah, Malaysia. *International Food Research Journal*. Vol. 20(1): 307-312.
- Jang, H.D., Chang, K.S., Huang, Y.S., Hsu, C.L., Lee, S.H., & Su, M.S. 2007. Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food Chemistry*. Vol. 103: 749-756.
- Jawi, I. M. & Budiasa K., 2011. Ekstrak air umbi ubijalar ungu menurunkan total kolesterol serta meningkatkan total antioksidan darah kelinci. *Journal Veteriner*. Vol. 12(2): 120-125.
- Khoubnasabjafari, M., K. Ansarin. & A. Jouyban. 2015. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *BioImpacts*. Vol. 5(3): 123-127.
- Laurence, D. R. & Bacharach, A. L., 1964. *Evaluation of drug activities: pharmacometrics, 1st ed*. Academic Pess. London.
- Lenzen S. 2008. The mechanism of alloxan and streptozotocin induced diabetes. *Diabetologia*. Vol.51: 216-226.

- Leon, B. M & Maddox, T. M. 2015. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanism, treatment recommendations and future research. *world journal of diabetes*. Vol. 6(13): 1246-1258.
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 2009. *Pangan dan Kesehatan*. UPT Balai Informasi Teknologi LIPI.
- Lykkesfeldt, J. 2001. Determination of malondialdehyde as dithiobarbituric ction comparison with ultraviolet visible spectrophotometry. *Clinical Chemistry*, Vol. 47(9): 25-27.
- Mahmood, T., Akhtar, N., & Khan, B. A. 2010. The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of medicinal plants research*. Vol. 4(19): 2028-2033.
- Malole, M.B.M., & Pramono, C.S.U. 1989. *Pengantar Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- Maria, L & Priscilla M.C. 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Journal Toxicology*, Vol. 189: 41-45.
- McKay, D. L. & Blumberg, J. B. 2002. *The Role of Tea in Human Health: AnUpdate*. Journal of American College of Nutrition, Vol.21(1): 1-13.
- Morani, A.S., & Bodhankar, S.L. 2007. Neuroprotective effect of early treatment with pioglitazone and pyridoxine hydrochloride in alloxan induced diabetes in rats. *Pharmacologyonline*. Vol, 2 (41): 418-428.
- Murray, Bender, Botham, Kennelly, Rodwell, & Weil. 2014. *Biokimia edisi 29*. Jakarta: EGC.
- National Cholesterol Education Program (NCEP). 2002. *Detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III)*. National Institutes of Health No. 02-5215.
- Nugroho, A.E. 2006. Hewan percobaan diabetes melitus: patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas*, Vol. 7(4): 378-382.
- Paneni, Beckman, Creager, & Cosentino. 2013. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *European Heart Journal*, Vol. 34: 2436–2446.
- Rahayu, U. 2015. Efek terapi ekstrak kasar umbi binahong (*anredera cordifolia* (ten.) Steenis) terhadap kadar malondialdehid (mda) hati tikus putih (*rattus norvegicus*) hasil induksi aloksan. *Skripsi*. Malang. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Ridwan, E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Journal Indon Med Assoc*. Vol.63: 112-116.

- Ridwan, A., R. T. Astrian. & Barlian. A. 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*. Vol. 17(2): 78-82.
- Rio, D. D., A. J. Stewart. & N. Pellegrini. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease*. Vol.15: 316-328.
- Rohilla, A. & S. Ali. 2012. Alloxan induced diabetes: mechanism and effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol. 3(2): 819-823.
- Rojas, L.B.A & Gomes, M.B. 2013. Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes. *Journal Diabetology & Metabolic Syndrome*. Vol.5(6): 1-15.
- Sayuti, K. & Yenrina, R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press. Hal 7-14.
- Senanayake, N. 2013. *Green tea extract: chemistry, antioxidant properties and food applications – a reviews*. United States: DuPont Nutrition & Health, Danisco USA Inc.
- Setiawan, L. 2005. Stress oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes mellitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol.55 (1): 86-91.
- Sukina, B., Gwenny, I., Suhartati & Harianto, N., 2013. Katekin daun teh hijau (*Camelia Sinensis*) terhadap malondialdehyde dan super oxide dismutase. *Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. Vol.19: 92-97.
- Swarjana, I. K. 2012. *Metodologi penelitian kesehatan*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Journal Physiol Res*. Vol.50: 536-546.
- Tandon, V.R., Verma, S, Singh, J.B, & Mahajan, A. 2005. Antioxidants and cardiovascular health. *Journal K Science*, Vol.7(2): 61-64.
- Tang, Li, Liu, Huang, & Ho. 2013. Anti-diabetic activity of chemically profiled green tea and black tea extracts in a type 2 diabetes mice model via different mechanisms. *Journal of Functional Foods*. Vol.5: 1784-1793.
- Tangvarasittichai, S. 2015. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, Vol.6(3): 456-480.
- Tiwari, Pandey, Abidi, & Rizvi. 2013. Markers of oxidative stress during diabetes mellitus. *Journal of Biomarkers*. Vol. 2: 78-80.

- Vuong, Golding, Stathopoulos, Nguyen, & Roach. 2011. Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water. *Journal of Separation Science*. Vol. 34: 3099-3106.
- Wells, Barbara G., J. T. DiPiro, T. L. Schwinghammer & C. V. DiPiro. 2015. *Pharmacotherapy handbook ninth edition*. New York: McGraw-Hill Education.
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas, potensi dan aplikasinya dalam kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- World Health Organization (WHO). 2016. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en>. [Diakses pada 15 Juni 2017].
- Yusmiati, S. N. H., Arbal, A. M. B., Tjokroprawiro, A., & Putra S. T. 2012. Potensi antioksidan dalam ekstrak teh merah (*hibiscus sabdariffa*) dan teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap proses aterogenesis pada tikus dengan diet aterogenik. *JBP*, Vol. 14(3): 158-170.
- Zemunik, Peruzovi, Apkun, Zekan, Tomi, & Milkovi. 2003. Reproductive ability of pubertal male and female rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. Vol. 36(7): 871-877.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Perhitungan Larutan Aloksan Dosis 210 mg/kgBB

- Dosis aloksan yang digunakan 210 mg/kgBB

$$\text{Dosis} = \frac{210 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} = 4,2 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL}$$

- Volume maksimal sediaan untuk 1 mencit 20 gram = 0,2 mL

- Volume yang dibutuhkan :

$$= \Sigma \text{mencit} \times \text{volume pemberian tiap mencit}$$

$$= 20 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ mL}$$

$$= 4 \text{ mL untuk } 20 \text{ ekor mencit (kecuali kelompok normal)}$$

- Volume yang dibuat = 10 mL

$$= \frac{4,2 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL} = 210 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL NaCl } 0,9\%$$

- Konsentrasi aloksan yang digunakan :

$$\% \text{ b/v} = \frac{\text{gram}}{\text{mL}} \times 100\% = \frac{0,210 \text{ gram}}{10 \text{ mL}} \times 100\% = 2,1 \%$$

LAMPIRAN 2. Perhitungan Dosis Metformin 110,5 mg/kgBB

- Dosis terapi metformin pada manusia = 850 mg/hari
- Berat rata-rata satu tablet metformin = 908,1 mg
- Dosis konversi mencit 20 gram = $0,0026 \times 850 \text{ mg} = 2,21 \text{ mg}$

$$\begin{aligned} \text{Dosis kg/BB hewan coba} &= \frac{1000 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 2,21 \text{ mg} \\ &= 110,5 \text{ mg/kgBB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{➤ Mencit BB 20 gram} &= \frac{110 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 2,21 \text{ mg} \end{aligned}$$

- Volume yang dibutuhkan
 - = Σ mencit x volume pemberian tiap mencit x Σ waktu perlakuan
 - = 4 ekor x 0,2 mL x 7 hari
 - = 5,6 mL untuk 4 ekor mencit selama 7 hari perlakuan

- Volume yang dibuat = 10 mL

$$\text{Dosis pada hewan coba} = \frac{2,21 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL} = 110,5 \text{ mg}$$

- Jumlah metformin yang ditimbang untuk 10 mL:

$$\text{Jadi, } \frac{110,5 \text{ mg}}{850 \text{ mg}} \times 908,1 \text{ mg} = 118,053 \text{ mg dalam 10 mL CMC-Na 1\%}$$

Metformin ditimbang 118,053 mg tablet metformin dan dilarutkan ke dalam 10 mL CMC-Na 1%

LAMPIRAN 3. Perhitungan Dosis Ekstrak Teh Hijau

3.1 Kelompok Uji Ekstrak Teh Hijau (600 mg/kgBB)

- Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{600 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 12 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

- Volume pemberian mencit 20 gram = 0,2 mL
- Volume yang dibutuhkan
= Σ mencit x volume pemberian tiap mencit x Σ waktu perlakuan
= 4 ekor x 0,2 mL x 7 hari
= 5,6 mL untuk 4 ekor mencit selama 7 hari
- Volume yang dibuat = 10 mL
- Jumlah ekstrak teh hijau yang ditimbang untuk 10 mL :
= $\frac{12 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$
= 600 mg dalam 10 mL CMC-Na 1%

3.2 Kelompok Uji Ekstrak Teh Hijau (900 mg/kgBB)

- Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{900 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 18 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

- Volume pemberian mencit 20 gram = 0,2 mL
- Volume yang dibutuhkan
= Σ mencit x volume pemberian tiap mencit x Σ waktu perlakuan
= 4 ekor x 0,2 mL x 7 hari
= 5,6 mL untuk 4 ekor mencit selama 7 hari
- Volume yang dibuat = 10 mL
- Jumlah ekstrak teh hijau yang ditimbang untuk 10 mL :
= $\frac{18 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$
= 900 mg dalam 10 mL CMC-Na 1%

3.3 Kelompok Uji Ekstrak Teh Hijau (1200 mg/kgBB)

- Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{1200 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 24 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

- Volume pemberian mencit 20 gram = 0,2 mL
- Volume yang dibutuhkan
= Σ mencit x volume pemberian tiap mencit x Σ waktu perlakuan
= 4 ekor x 0,2 mL x 7 hari
= 5,6 mL untuk 4 ekor mencit selama 7 hari
- Volume yang dibuat = 10 mL
- Jumlah ekstrak teh hijau yang ditimbang untuk 10 mL :
= $\frac{24 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$
= 1200 mg dalam 10 mL CMC-Na 1%

LAMPIRAN 4. Perhitungan Konsentrasi Baku MDA

➤ Profil TEP

Kadar : $\geq 96\%$ Massa jenis (ρ): 0,919 g/mL

Mr : 220,31 g/mol

➤ Konsentrasi TEP:

$$\text{Molaritas} = \frac{\rho \times 1000 \times \text{kadar}}{\text{Mr}}$$

$$\text{Molaritas} = \frac{0,919 \text{ g/mL} \times 1000 \times \frac{96}{100}}{220,31 \text{ g/mol}}$$

$$\text{Molaritas} = 4,0045 \text{ M}$$

➤ Pembuatan baku STOK 1

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$4,0045 \text{ M} \times (5 \mu\text{L} \times 10^{-3}) \text{ mL} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,0200225 \text{ mol} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,00200225 \text{ M} = M_2$$

$$2002,25 \mu\text{M} = M_2$$

Dipipet 5 μL TEP dilarutkan dalam aquadest ad 10 mL

➤ Molaritas larutan STOK 2

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2002,25 \mu\text{M} \times 1000 \mu\text{L} = M_2 \times 10000 \mu\text{L}$$

$$2002250 \mu\text{mol} = M_2 \times 10000 \mu\text{L}$$

$$200,225 \mu\text{M} = M_2$$

Dipipet 1 mL baku stok 1 dilarutkan dalam aquadest ad 10 mL

➤ Pembuatan satu seri larutan uji linieritas

Konsentrasi 5 ,7 ,11 ,15 ,19 ,23, 27, 31, 35, dan 39 μM

- Standar 1:

$$\frac{0,250 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 5,005 \mu\text{M}$$

- Standar 2:

$$\frac{0,350 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 7,007 \mu\text{M}$$

- Standar 3:

$$\frac{0,550 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 11,011 \mu\text{M}$$

- Standar 4:

$$\frac{0,750 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 15,015 \mu\text{M}$$

- Standar 5:

$$\frac{0,950 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 19,019 \mu\text{M}$$

- Standar 6:

$$\frac{1,150 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 23,023 \mu\text{M}$$

- Standar 7:

$$\frac{1,350 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 27,027 \mu\text{M}$$

- Standar 8:

$$\frac{1,550 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 31,031 \mu\text{M}$$

- Standar 9:

$$\frac{1,750 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 35,035 \mu\text{M}$$

- Standar 10:

$$\frac{1,950 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 200,2 \mu\text{M} = 39,039 \mu\text{M}$$

LAMPIRAN 5. Perhitungan Pembuatan Reagen Uji

➤ Pembuatan TCA 20%:

Dibutuhkan 100 μ L tiap konsentrasi \rightarrow 100 μ L \times 11 konsentrasi = 1,1 mL.

$$20\% = \frac{20 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \rightarrow \frac{1 \text{ g}}{5 \text{ mL}}$$

Ditimbang 1 g TCA dilarutkan dalam 5 mL aquadest.

➤ Pembuatan HCl 1N:

Di laboratorium tersedia HCl 12N

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12 \text{ N} \times 5 \text{ mL} = 6 \text{ N} \times V_2$$

$$V_2 = 10 \text{ mL}$$

Dipipet 5 mL HCl 12 N, dilarutkan dalam 10 mL aquadest \rightarrow HCl 6N.

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$6 \text{ N} \times 2 \text{ mL} = 1 \text{ N} \times V_2$$

$$V_2 = 12 \text{ mL}$$

Dipipet 2 mL HCl 6 N, dilarutkan dalam 12 mL aquadest \rightarrow HCl 1N.

➤ Pembuatan Na-TBA 1% :

TBA larut dalam NaOH 1 M. Untuk membuat Na-TBA 1%, dibuat larutan NaOH 1 M sebagai pelarut.

$$\text{Molaritas} = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{volume (mL)}}$$

$$1 \text{ M} = \frac{\text{massa}}{40} \times \frac{1000}{10}$$

$$\text{massa} = 0,4 \text{ gram}$$

Ditimbang 0,4 g NaOH dilarutkan dalam 10 mL aquadest.

Setelah itu, dapat dibuat larutan Na-TBA 1% dengan pelarut 10 mL:

$$1\% = \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \rightarrow \frac{0,1 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

Ditimbang 0,1 g TBA dilarutkan dalam 10 mL NaOH 1 M.

LAMPIRAN 6. Perhitungan Rendemen Ekstrak

➤ Ekstrak Teh Hijau

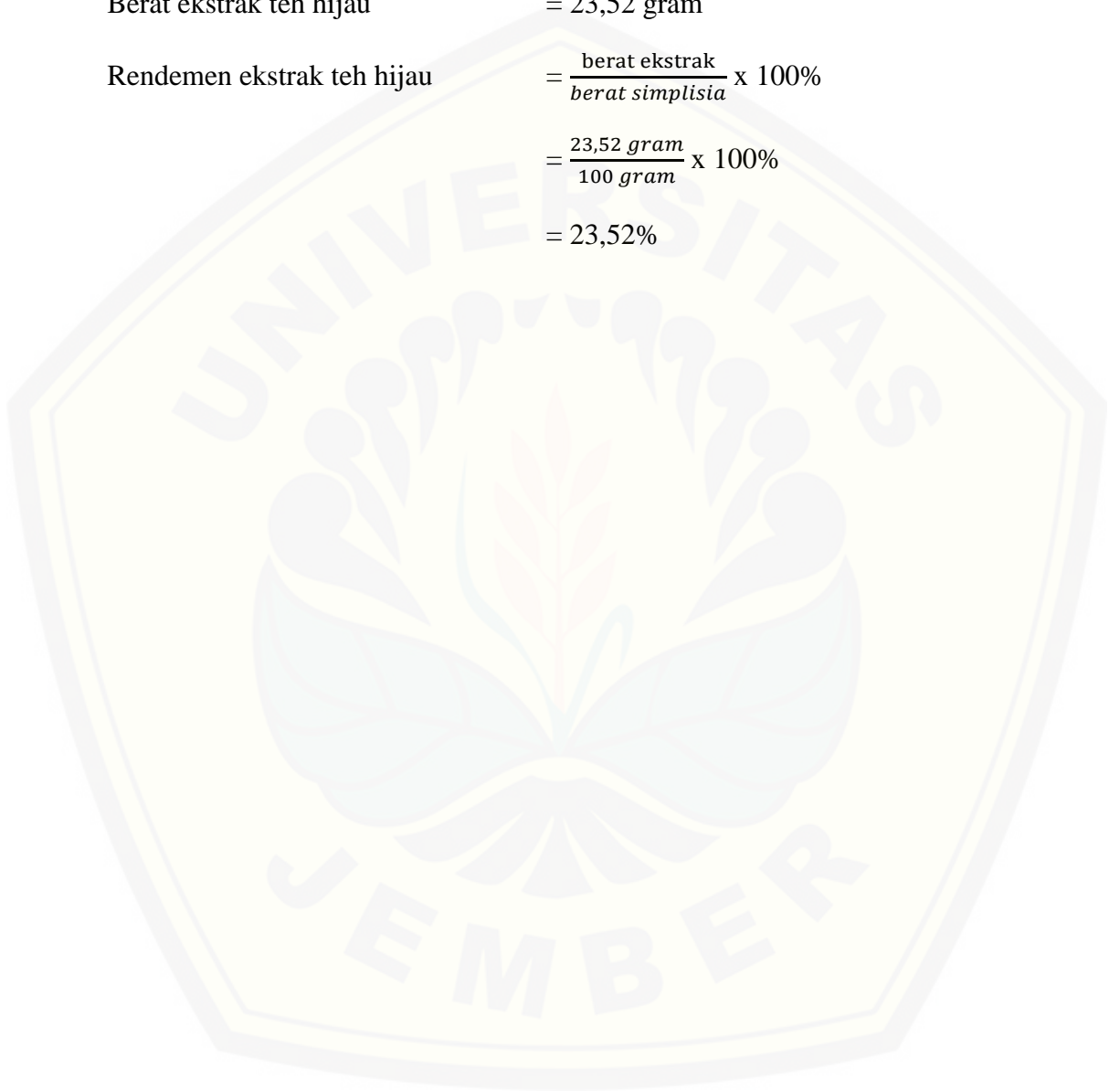
Berat simplisia te hijau = 100 gram

Berat ekstrak teh hijau = 23,52 gram

Rendemen ekstrak teh hijau = $\frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$

$$= \frac{23,52 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 23,52\%$$



LAMPIRAN 7. Kadar Glukosa Darah

Perlakuan	Kadar Glukosa Darah Hari ke-1 (mg/dL)	Kadar Glukosa Darah Hari ke-15 (mg/dL)
Kontrol Normal	131,19	72,57
CMC-Na	145,05	134,29
	124,00	163,56
	118,22	109,78
Kontrol (-)	840,57	790,61
CMC-Na	651,98	414,74
	691,09	415,79
	332,32	393,98
Kontrol (+)	375,12	133,94
Metformin	395,21	312,38
	400,92	305,50
	385,78	276,61
Ekstrak teh hijau dosis 600 mg/kgBB	447,15	363,96
	414,45	361,57
	400,46	388,26
	281,19	145,87
Ekstrak teh hijau dosis 900 mg/kgBB	360,29	212,39
	377,99	369,27
	277,98	199,54
	419,39	399,07
Ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB	400,48	194,04
	412,44	379,36
	410,05	181,19
	331,58	306,88

LAMPIRAN 8. Kadar Kolesterol Total

Perlakuan	Kadar Kolesterol Total Hari ke-1 (mg/dL)	Kadar Kolesterol Total Hari ke-15 (mg/dL)
Kontrol Normal	101,16	89,30
CMC-Na	105,79	98,68
	81,00	74,14
	81,00	73,52
Kontrol (-)	126,20	127,48
CMC-Na	103,20	108,60
	103,91	107,00
	99,58	103,82
Kontrol (+)	84,87	49,18
Metformin	98,89	58,91
	70,25	41,33
	63,46	40,55
Ekstrak teh hijau dosis 600 mg/kgBB	135,02	107,63
	101,27	85,23
	104,41	88,09
	104,41	85,15
Ekstrak teh hijau dosis 900 mg/kgBB	101,27	71,76
	96,97	73,97
	120,45	94,66
	115,44	78,68
Ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB	47,97	28,15
	88,56	49,18
	73,06	46,03
	121,77	61,68

LAMPIRAN 9. Hasil Analisis Data Penurunan Kadar Kolesterol Total

9.1. Uji Normalitas

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kolesterol Total	Kontrol Negatif	.187	4	.	.972	4	.856
	Kontrol Positif	.324	4	.	.848	4	.218
	Kontrol Normal	.214	4	.	.981	4	.907
	Dosis 600 mg/kgBB	.279	4	.	.886	4	.365
	Dosis 900 mg/kgBB	.221	4	.	.942	4	.667
	Dosis 1200 mg/kgBB	.141	4	.	.999	4	.997

a. Lilliefors Significance Correction

Makna: Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel terdistribusi normal.

9.2. Uji Homogenitas

Kolesterol Total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.437	5	18	.075

Makna : Nilai sig. > 0,05 yang berarti data memiliki varian yang sama atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan (*homogen*).

9.3. Uji One-Way ANOVA

Kolesterol Total

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6462.603	5	1292.521	111.322	.000
Within Groups	208.992	18	11.611		
Total	6671.595	23			

Makna : Nilai sig. < 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar kolesterol total secara signifikan

9.4. Uji *Least Significant Different* (LSD)

Multiple Comparisons

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	-43.307000*	2.409427	.000	-48.36902	-38.24498
	Kontrol Normal	-12.418750*	2.409427	.000	-17.48077	-7.35673
	Dosis 600 mg/kgBB	-20.920750*	2.409427	.000	-25.98277	-15.85873
	Dosis 900 mg/kgBB	-29.897750*	2.409427	.000	-34.95977	-24.83573
	Dosis 1200 mg/kgBB	-46.401750*	2.409427	.000	-51.46377	-41.33973
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	43.307000*	2.409427	.000	38.24498	48.36902
	Kontrol Normal	30.888250*	2.409427	.000	25.82623	35.95027
	Dosis 600 mg/kgBB	22.386250*	2.409427	.000	17.32423	27.44827
	Dosis 900 mg/kgBB	13.409250*	2.409427	.000	8.34723	18.47127
	Dosis 1200 mg/kgBB	-3.094750	2.409427	.215	-8.15677	1.96727
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	12.418750*	2.409427	.000	7.35673	17.48077
	Kontrol Positif	-30.888250*	2.409427	.000	-35.95027	-25.82623
	Dosis 600 mg/kgBB	-8.502000*	2.409427	.002	-13.56402	-3.43998
	Dosis 900 mg/kgBB	-17.479000*	2.409427	.000	-22.54102	-12.41698
	Dosis 1200 mg/kgBB	-33.983000*	2.409427	.000	-39.04502	-28.92098
Dosis 600 mg/kgBB	Kontrol Negatif	20.920750*	2.409427	.000	15.85873	25.98277
	Kontrol Positif	-22.386250*	2.409427	.000	-27.44827	-17.32423
	Kontrol Normal	8.502000*	2.409427	.002	3.43998	13.56402
	Dosis 900 mg/kgBB	-8.977000*	2.409427	.002	-14.03902	-3.91498
	Dosis 1200 mg/kgBB	-25.481000*	2.409427	.000	-30.54302	-20.41898
Dosis 900 mg/kgBB	Kontrol Negatif	29.897750*	2.409427	.000	24.83573	34.95977
	Kontrol Positif	-13.409250*	2.409427	.000	-18.47127	-8.34723
	Kontrol Normal	17.479000*	2.409427	.000	12.41698	22.54102
	Dosis 600 mg/kgBB	8.977000*	2.409427	.002	3.91498	14.03902
	Dosis 1200 mg/kgBB	-16.504000*	2.409427	.000	-21.56602	-11.44198

Dosis 1200 mg/Kgbb	Kontrol Negatif	46.401750*	2.409427	.000	41.33973	51.46377
	Kontrol Positif	3.094750	2.409427	.215	-1.96727	8.15677
	Kontrol Normal	33.983000*	2.409427	.000	28.92098	39.04502
	Dosis 600 mg/kgBB	25.481000*	2.409427	.000	20.41898	30.54302
	Dosis 900 mg/kgBB	16.504000*	2.409427	.000	11.44198	21.56602

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



LAMPIRAN 10. Kadar MDA Jantung

Perlakuan	Kadar MDA (μM)	Rata-rata \pm SD
Normal CMC-Na	5,220	5,08 \pm 0,20
	5,107	
	5,051	
	4,938	
Kontrol (-) CMC-Na	12,508	12,30 \pm 0,85
	12,339	
	11,604	
	12,734	
Kontrol (+) Metformin	5,672	5,72 \pm 0,22
	5,841	
	5,785	
	5,560	
Ekstrak teh hijau dosis 600 mg/kgBB	11,492	11,51 \pm 0,17
	11,548	
	11,378	
	11,604	
Ekstrak teh hijau dosis 900 mg/kgBB	9,514	9,46 \pm 1,01
	9,232	
	9,684	
	9,401	
Ekstrak teh hijau dosis 1200 mg/kgBB	4,655	4.64 \pm 0.47
	4,768	
	4,260	
	4,881	

LAMPIRAN 11. Hasil Analisis Data Kadar MDA Jantung

11.1. Uji Normalitas

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol Negatif	.285	4	.	.903	4	.444
Kontrol Positif	.214	4	.	.963	4	.796
MDA Jantung	.156	4	.	.998	4	.995
Dosis 600 mg/kgBB	.194	4	.	.970	4	.841
Dosis 900 mg/kgBB	.134	4	.	1.000	4	1.000
Dosis 1200 mg/kgBB	.271	4	.	.906	4	.463

b. Lilliefors Significance Correction

Makna: Nilai sig. > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel terdistribusi normal.

11.2. Uji Homogenitas

MDA Jantung

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.076	5	18	.116

Makna : Nilai sig. > 0,05 yang berarti data memiliki varian yang sama atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan (*homogen*).

11.3. Uji One-Way ANOVA

MDA Jantung	ANOVA				
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	231.319	5	46.264	717.237	.000
Within Groups	1.161	18	.065		
Total	232.480	23			

Makna : Nilai sig. < 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA jantung secara signifikan

11.4. Uji *Least Significant Different* (LSD)

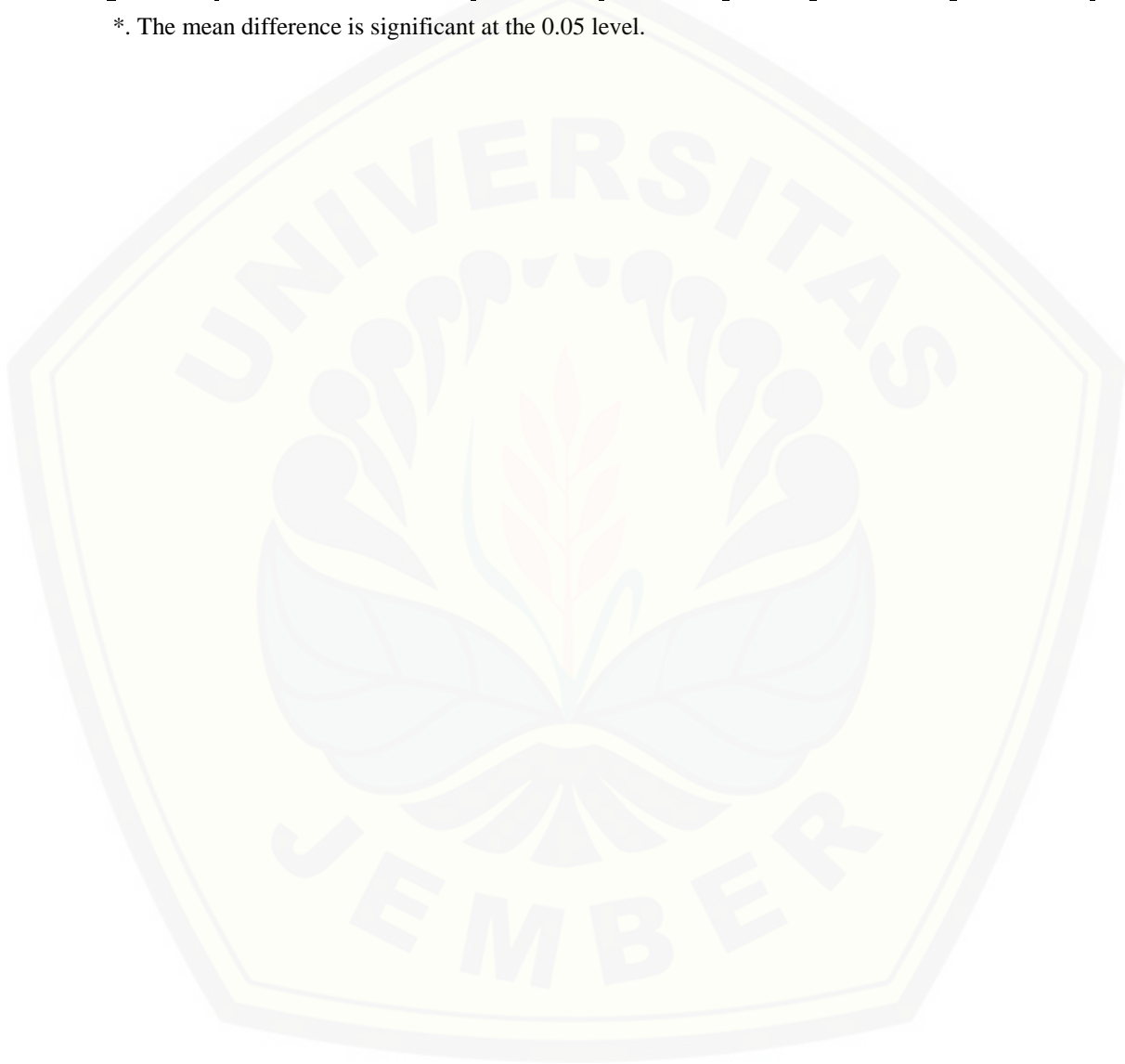
Multiple Comparisons

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	6.581750*	.179587	.000	6.20445	6.95905
	Kontrol Normal	7.217250*	.179587	.000	6.83995	7.59455
	Dosis 600 mg/kgBB	.790750*	.179587	.000	.41345	1.16805
	Dosis 900 mg/kgBB	2.838500*	.179587	.000	2.46120	3.21580
	Dosis 1200 mg/kgBB	7.655250*	.179587	.000	7.27795	8.03255
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-6.581750*	.179587	.000	-6.95905	-6.20445
	Kontrol Normal	.635500*	.179587	.002	.25820	1.01280
	Dosis 600 mg/kgBB	-5.791000*	.179587	.000	-6.16830	-5.41370
	Dosis 900 mg/kgBB	-3.743250*	.179587	.000	-4.12055	-3.36595
	Dosis 1200 mg/kgBB	1.073500*	.179587	.000	.69620	1.45080
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-7.217250*	.179587	.000	-7.59455	-6.83995
	Kontrol Positif	-.635500*	.179587	.002	-1.01280	-.25820
	Dosis 600 mg/kgBB	-6.426500*	.179587	.000	-6.80380	-6.04920
	Dosis 900 mg/kgBB	-4.378750*	.179587	.000	-4.75605	-4.00145
	Dosis 1200 mg/kgBB	.438000*	.179587	.025	.06070	.81530
Dosis 600 mg/kgBB	Kontrol Negatif	-.790750*	.179587	.000	-1.16805	-.41345
	Kontrol Positif	5.791000*	.179587	.000	5.41370	6.16830
	Kontrol Normal	6.426500*	.179587	.000	6.04920	6.80380
	Dosis 900 mg/kgBB	2.047750*	.179587	.000	1.67045	2.42505
	Dosis 1200 mg/kgBB	6.864500*	.179587	.000	6.48720	7.24180
Dosis 900 mg/kgBB	Kontrol Negatif	-2.838500*	.179587	.000	-3.21580	-2.46120
	Kontrol Positif	3.743250*	.179587	.000	3.36595	4.12055
	Kontrol Normal	4.378750*	.179587	.000	4.00145	4.75605
	Dosis 600 mg/kgBB	-2.047750*	.179587	.000	-2.42505	-1.67045
	Dosis 1200 mg/kgBB	4.816750*	.179587	.000	4.43945	5.19405

Dosis 1200 mg/Kgbb	Kontrol Negatif	-7.655250*	.179587	.000	-8.03255	-7.27795
	Kontrol Positif	-1.073500*	.179587	.000	-1.45080	-.69620
	Kontrol Normal	-.438000*	.179587	.025	-.81530	-.06070
	Dosis 600 mg/kgBB	-6.864500*	.179587	.000	-7.24180	-6.48720
	Dosis 900 mg/kgBB	-4.816750*	.179587	.000	-5.19405	-4.43945

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



LAMPIRAN 12. Dokumentasi



Proses ekstraksi teh hijau



Ekstrak kering teh hijau



Penimbangan mencit



Pengelompokan mencit



Proses induksi aloksan secara intraperitoneal



Pemberian perlakuan



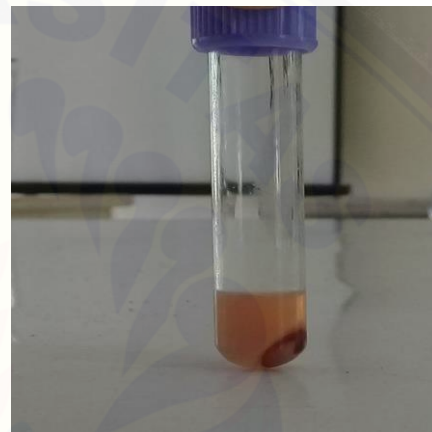
Proses pengambilan darah



Pengambilan jantung mencit



Penimbangan jantung mencit



Hasil pemisahan supernatan jantung mencit



Pengukuran kadar glukosa darah dan kolesterol total



Pengukuran kadar MDA jantung