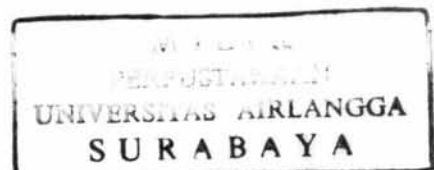


KK  
KKA  
THD. 31/11  
Hus  
e

## TESIS

# EFEK KAFEIN ORAL TERHADAP PENINGKATAN KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS PUTIH JANTAN ( *RATTUS NORVEGICUS GALUR WISTAR* )

## PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



**Stefanus Djoni Husodo**  
**NIM. 090515540 M**

**PROGRAM PASCASARJANA**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**SURABAYA**  
**2008**

**EFEK KAFEIN ORAL TERHADAP PENINGKATAN KADAR  
GLUKOSA DARAH TIKUS PUTIH JANTAN  
( *RATTUS NORVEGICUS GALUR WISTAR* )**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

**TESIS**

**Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**Oleh :  
Stefanus Djoni Husodo  
NIM. 090515540 M**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2008**

TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL : 14 Februari 2008

Oleh

Pembimbing Ketua



Choesnan Effendi dr, AIF  
NIP. 130.422.850

Pembimbing



Prof Dr Paulus Liben dr, MS.  
NIP. 130.531.788

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Prof Retno Handajani, dr, MS, PhD  
NIP. 130 541 984

Diuji pada

Tanggal : 14 Februari 2008

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : . Tjitra Wardani, dr, MS

Anggota : 1. Choesnan Effendi, dr, AIF  
2. Prof Dr Paulus Liben, dr, MS  
3. M. Cholil Munif, dr, AIF  
4. Dr Elyana Asnar STP, dr, MS  
5. Harlina Soetjipto, dr, MS

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat-Nya, sehingga penelitian ini dapat selesai pada waktunya.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Choesnan Effendi dr, AIF selaku pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran selalu memberikan bimbingan, kritik-saran serta dorongan dan motivasi sejak penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Terima kasih yang tak ternilai dan penghargaan serta penghormatan setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Prof Dr Paulus Liben dr, MS selaku pembimbing yang selalu bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan sejak penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Dalam kesempatan ini pula, perkenankan saya mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu saya yakni :

1. Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan Nasional melalui program BBPS yang telah membantu financial selama menempuh pendidikan di Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga
2. Rektor Universitas Hang Tuah, Prof Dr Spto J. Purwowidagdo, Msc yang telah memberikan beasiswa selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya
3. Rektor Universitas Airlangga, Prof Dr H Fasichul, Apt dan mantan Rektor Universitas Airlangga Prof Dr Med Puruhito, dr, SpBTKV yang telah

memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

4. Direktur dan mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya Prof Dr Hj Sri Hajati, SH, MS dan Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP(K), yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
5. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah, Sartono dr, SpPD yang telah memberikan ijin dan dorongan untuk mengikuti pendidikan di Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
6. Dekan dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Prof Dr H Muhammad Amin, dr, SpP(K) dan Prof Dr HMS Wijadi, dr, SpTHT yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa Ilmu Kedokteran Dasar Minat Studi Ilmu Faal di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
7. Prof Retno Handajani, dr, MS, PhD selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang banyak membantu dalam perijinan.
8. Choesnan Effendi, dr, AIF selaku Ketua Minat Ilmu Faal Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang telah banyak memberikan bantuan dan bimbingan selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga
9. Ketua dan mantan Ketua Departemen Ilmu Faal Universitas Airlangga Surabaya, Harlina Soetjipto, dr, MS dan Prof Dr Harjanto JM, dr, AIF yang

banyak memberikan bantuan dan bimbingan selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

10. Prof Dr Harjanto JM, dr, AIF, Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister (TKPSM) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah banyak membantu dalam perijinan.
11. Prof Soetjipto, dr, MS, PhD selaku mantan Ketua Departemen Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin dan penggunaan fasilitas Laboratorium Biokimia selama penelitian.
12. Dr Eduardus Bimo AH, drh, MS selaku penanggungjawab pengelolaan kandang percobaan Departemen Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, membantu menyediakan fasilitas penelitian dan pengujian *animal ethic* penelitian.
13. M Cholil Munif, dr, AIF, staf pengajar Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu dalam pengolahan data hasil penelitian dan memberikan bimbingan serta masukan selama penyusunan proposal dan tesis.
14. Panitia penguji proposal dan tesis : Tjitra Wardani, dr, MS; Choesnan Effendi, dr, AIF; Prof Dr Paulus Liben dr, MS; Muhammad Cholil Munif, dr, AIF; Dr Elyana Asnar STP, dr, MS; Harlina Soetjipto, dr, MS, yang telah memberikan masukan dan saran untuk perbaikan tesis saya.
15. Seluruh dosen pengajar Progran Studi Ilmu Kedokteran Dasar minat Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu selama menempuh pendidikan.

16. Seluruh staf pengajar dan karyawan Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan.
17. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan.
18. Ayahanda Sudarnadi almarhum yang telah membesarkan dan mendidik saya hingga seperti sekarang ini.
19. Ibunda Mariatun dan mertua saya Tuminah, istri tercinta Desi Adriarni dan kedua buah hati tersayang, Wesaka Deoni Anggara dan Sunu Satya Bakti atas segala kesempatan, pengertian, doa dan dukungan selama menempuh pendidikan di Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga
20. Semua teman-temanku, Indri, Purwo, Hawin, Bambang dan teman-teman IKD yang lain, yang banyak membantuku selama menempuh pendidikan di Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga
21. Kepada bapak Herry Soemantoro dan bapak Choirul yang telah banyak membantu dalam penyediaan dan pemeliharaan hewan coba dan pengambilan darah.
22. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian penelitian dan penyusunan tesis ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Dengan segenap kerendahan hati penulisan mohon maaf atas segala kekurangan.

Surabaya, 14 Februari 2008



**RINGKASAN****Efek Kafein Oral Terhadap Peningkatan Kadar Glukosa Darah  
Tikus Putih Jantan  
(*Rattus Norvegicus Galur Wistar*)**

Stefanus Djoni Husodo

Kafein banyak dikonsumsi secara luas di dunia. Efek farmakologi yang utama adalah meningkatkan sekresi katekolamin dan bersifat sebagai antagonis reseptor adenosin. Kafein juga memiliki kecenderungan untuk meningkatkan sekresi kalsium intraselular melalui reseptor ryanodin dan menghambat fosfodiesterase.

Kafein dosis rendah meningkatkan kadar glukosa darah yang diperoleh dari proses glikogenolisis hepar akibat rangsangan epinefrin. Kafein dosis rendah hanya memiliki efek sebagai antagonis reseptor adenosine. Kafein menghambat masuknya glukosa darah ke dalam otot dan menekan aktifitas glikogen sintase. Pengambilan glukosa darah yang berkurang ini akan meningkatkan kadar glukosa darah. Kafein dosis besar tidak hanya menstimulasi reseptor adenosin tetapi juga menstimulasi reseptor ryanodin dan menghambat fosfodiesterase sehingga akan meningkatkan metabolisme. Metabolisme yang tinggi dalam sel otot akan menurunkan jumlah total ATP sehingga menstimulasi peningkatan pengambilan glukosa dalam darah. Pengambilan glukosa dalam otot dibantu oleh peningkatan sekresi insulin dalam darah. Efek akhir kafein dosis tinggi menstimulasi sekresi epinefrin sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah tetapi segera diikuti peningkatan pengambilan glukosa darah oleh otot. Pada awal akan terjadi peningkatan kadar glukosa dan kembali normal setelah terjadi pengambilan glukosa oleh otot.

Pada penelitian ini untuk membuktikan perbedaan antara pemberian kafein dosis rendah dan pemberian kafein dosis tinggi terhadap peningkatan kadar glukosa darah

Pada penelitian ini digunakan *Randomized Pretest-Posttest Control Group Design*, sebagai hewan coba dipilih tikus jantan putih strain Wistar yang berumur sekitar 50-60 hari, dibagi dalam tiga kelompok, Masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus.

Pada kelompok perlakuan kafein dosis rendah diberikan 10 mg/ kg berat badan tikus secara oral dan kelompok perlakuan kafein dosis tinggi diberikan 20 mg/kg berat badan tikus secara oral. Pada kelompok kontrol diberi 2,5 ml air kemasan secara oral. Satuan unit analisis glukosa darah diambil langsung dari ekor tikus dengan satuan mg/dL. Data kadar glukosa darah diambil pada menit ke 0 sebelum perlakuan dan menit ke 120 setelah perlakuan. Perlakuan ini dilaksanakan selama 3 hari.

Penghitungan data menurut rata-rata beda selama tiga hari berturut – turut didapatkan, kelompok kontrol –  $5,44 \pm 15,72$  mg/dL,  $3,67 \pm 1,76$  mg/dL dan  $-0,33 \pm 17,61$  mg/dL. Kelompok Group kafein dosis rendah  $25,11 \pm 1,09$  mg/dL,  $18,11 \pm 21,60$  mg/dL dan  $5,78 \pm 1,63$  mg/dL. Kelompok kafein dosis tinggi  $-3,67 \pm 19,59$  mg/dL,  $3,67 \pm 22,55$  mg/dL dan  $2,67 \pm 12,94$  mg/dL.

Data tes anova satu arah hari pertama beda kadar glukosa darah antara kontrol dengan pemberian kafein dosis rendah (10 mg/kg berat badan) memperlihatkan berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) tetapi pada kelompok kontrol dan pemberian kafein dosis tinggi (20 mg/kg berat badan) memperlihatkan tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ). Data test anova satu arah kadar glukosa darah pada hari ketiga antara kontrol, kafein dosis rendah, kafein dosis tinggi tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ). Data test anova kadar glukosa darah pada hari ketiga antara kafein dosis rendah dan kafein dosis tinggi tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ).

Kesimpulan kafein dosis rendah (10 mg/kg berat badan) hari pertama terbukti meningkatkan kadar glukosa darah tetapi kafein dosis tinggi (20 mg/kg berat badan) pada hari pertama tidak terbukti meningkatkan kadar glukosa darah. Kafein dosis rendah (10 mg/kg berat badan) dan kafein dosis tinggi (20 mg/kg berat badan) hari ketiga tidak terbukti meningkatkan kadar glukosa darah. Penelitian ini dilakukan selama tiga hari percobaan dan hanya terbatas pada pemeriksaan kadar glukosa darah sehingga masih perlu pendalaman lebih lanjut secara molekuler dan imunohistologi.

## SUMMARY

### **The Effect of Oral Caffeine to Increases Blood Glucose Level in Male White Rats (Rattus Norvergicus Wistar Strain)**

Stefanus Djoni Husodo

Caffeine is the most widely consumed behavioral in the world. Its pharmacological effects are predominantly due to adenosine receptor antagonism, including release of catecholamines. This tends to rule out the direct release of intracellular calcium via an action on ryanodine receptors and inhibition of cyclic nucleotide .

Low dose caffeine increases blood glucose level as the result of glycogenolysis in the liver. Because low dose caffeine has only effect as antagonist adenosine receptor and caffeine pattern to retard muscle glucose uptake and depress activities glicogen sintase via adenosin receptor on muscle, low glucose uptake will affect glucose in high blood sugar level. In high dose, caffeine also stimulates adenosine receptor, ryanodin receptor and retard phosphodiesterase. These will cause high metabolic level. High metabolism at muscle cell will decrease total ATP available, that in turn will stimulate uptake more glucose. This glucose uptake is helped by insulin. Insulin secretion is stimulated by high dose caffeine. High dose caffeine is also stimulate epinephrine secretion that will increase glucose level. But, this increase will be followed by increase glucose uptake in muscle. Thus, the glocose levels will be increased at first, and will be normal after glucose uptake in the muscle.

The objective of this study was to prove the difference between low dose and high dose caffeine administration to increases blood glucose level.

This study used Randomized Pretest-Posttest Control Group Design. The experimental animals were male Wistar strain rats aged 50-60 days, divided into 3 groups, each comprised 9 rats. While treatment groups received caffeine with the dose of 10 mg/kg body weight orally for low dose and 20 mg/kg body weight orally for high dose. While control groups received 2.5 ml package water orally. The analysis unit was blood taken directly from tail and subjected

to blood glucose level examination with unit mg/dL. Blood glucose level were taken at 0 minutes before treatment and 120 minutes after treatment, treatment during 3 days.

Results of blood glucose levels obtained in 3 days: the control was –  $5.44 \pm 15.72$  mg/dL in day 1;  $3.67 \pm 17.76$  mg/dL in day 2 and  $-0.33 \pm 17.61$  mg/dL in day 3. Group with low dose caffeine orally had glucose level  $25.11 \pm 10.09$  mg/dL in day 1;  $18.11 \pm 21.60$  mg/dL in day 2 and  $5.78 \pm 11.63$  mg/dL in day 3. Group with high dose caffeine orally had  $-3.67 \pm 19.59$  mg/dL in day 1;  $3.67 \pm 22.55$  mg/dL in day 2 and  $2.67 \pm 12.94$  mg/dL in day 3.

The results of anova test shows that there are significant difference of glucose levels between control and treatment first group at day 1 (oral caffeine exposure 10 mg/kg body weight) ( $p < 0.05$ ) but there are no significant difference of glucose level between control and treatment second group in day 1 (oral caffeine exposure 20 mg/kg body weight) ( $p > 0.05$ ). There are no significant difference of glucose level between treatment groups (oral caffeine exposure 10 mg /kg body weight and 20 mg/kg body weight) in day 1 ( $p > 0.05$ ). There are no significant difference of glucose level between control and treatment group in day 3 (oral caffeine exposure 10 mg /kg body weight and 20 mg/kg body weight) ( $p > 0.05$ ). There are no significant difference of glucose level between treatment groups in day 3 (oral caffeine exposure 10 mg /kg body weight and 20 mg/kg body weight) ( $p > 0.05$ ).

The conclusion of this study is that low dose (10 mg /kg body weight) caffeine in first day significantly increase blood sugar level, while high dose caffeine ((20 mg /kg body weight) in first day administration does not significantly increase blood sugar level.

**The Effect of Oral Caffeine to Increases Blood Glucose Level in Male White Rats  
(Rattus Norvergicus Wistar Strain)**

**ABSTRACT**

Caffeine is the most widely consumed behavioral in the world. Its pharmacological effects are predominantly due to adenosine receptor antagonism, including release of catecholamines. Caffeine tends to follow the rule, that is the direct release of intracellular calcium via an action on ryanodine receptors and inhibit cyclic nucleotide phosphodiesterase.

Caffeine exposure impairs blood glucose level due to reduction of glucose up take. The effects of caffeine exposure impairing blood glucose level are still unclear yet and still debated up to now. This study aims to examine the effect of oral caffeine to increases of blood glucose level.

27 rats are chosen and grouped into control group and treatment group. Control group accepts placebo and treatment group accepts oral caffeine 10 mg/kg body weight and oral caffeine 20 mg/kg body weight. Blood glucose levels are examine at 0 minutes before treatment and 120 minutes after treatment. The treatment last 3 days.

There are significant difference of glucose levels between control and treatment group at day 1 (oral caffeine exposure 10 mg/kg body weight) ( $p < 0.05$ ) but there are no significant difference of glucose level between control and treatment group in day 1 (oral caffeine exposure 20 mg/kg body weight) ( $p > 0.05$ ). There are no significant difference of glucose level between treatment groups (oral caffeine exposure 10 mg /kg body weight and 20 mg/kg body weight) in day 1 ( $p > 0.05$ ). There are no significant difference of glucose level between control and treatment group in day 3 (oral caffeine exposure 10 mg /kg body weight and 20 mg/kg body weight) ( $p > 0.05$ ). There are no significant difference of glucose level between treatment groups in day 3 (oral caffeine exposure 10 mg /kg body weight and 20 mg/kg body weight) ( $p > 0.05$ ).

From this study, it can be concluded that caffeine influences the blood glucose level. The influence depends on given caffeine dose. These findings are restricted for 3 days examination and only the blood glucose levels were checked. It is needed to be verified by molecular and immunohistological examination.

Keywords: caffeine, blood glucose level

## DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia Penguji.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Ringkasan.....	ix
<i>Summary</i> .....	xi
<i>Abstract</i> .....	xiii
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR GAMBAR .....	xx
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxii
DAFTAR SINGKATAN .....	xxiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
Tujuan umum.....	4
Tujuan khusus.....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Kafein.....	6
2.1.1 Tinjauan umum.....	6
2.1.2 Farmakokinetik.....	7
2.1.3 Intoksikasi.....	9

2.1.4	Sediaan dan dosis.....	9
2.1.5	Farmakodinamik.....	10
2.1.5.1	Efek kafein pada sistem saraf.....	10
2.1.5.2	Efek kafein pada insulin.....	12
2.1.5.3	Efek kafein pada otot rangka.....	14
2.2	Metabolisme Glukosa.....	15
2.3	Metabolisme Glikogen.....	17
2.4	Metabolisme Lemak.....	19
2.5	Transpor Glukosa ke dalam Sel Otot Rangka.....	20
2.6	Stimulus Insulin.....	21
2.6.1	Stimulus insulin pada <i>uptake</i> glukosa di sel otot rangka.....	21
2.6.2	Stimulus non-insulin pada <i>uptake</i> glukosa di sel otot rangka...	22
2.7	<i>Glucose Transporter-4</i> (GLUT-4).....	22
2.8	Glukosa Darah.....	23
2.8.1	Homeostasis glukosa darah.....	23
2.8.2	Peran hormon dalam homeostasis glukosa darah.....	25
2.8.2.1	Insulin.....	25
2.8.2.2	Glukagon.....	27
2.8.2.3	Katekolamin.....	27
2.8.2.4	Growth hormone.....	28
2.8.2.5	Glukokortikoid.....	28
2.9	Kafein dan Glukosa Darah.....	29
2.9.1	Pengaruh kafein pada sekresi glukosa hepar.....	29
2.9.2	Pengaruh kafein pada sensitivitas insulin.....	30
2.9.3	Pengaruh kafein pada <i>uptake</i> glukosa otot.....	33
2.10	Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah.....	35
2.11	Hewan Coba Tikus.....	37
<b>BAB 3</b>	<b>KERANGKA KONSEPTUAL dan HIPOTESIS PENELITIAN.....</b>	<b>40</b>
3.1	Kerangka Konseptual Hari Pertama.....	40
3.2	Kerangka Konseptual Hari Ketiga.....	43
3.3	Hipotesis Penelitian.....	44

BAB 4	METODE PENELITIAN.....	46
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	46
4.2	Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel.....	47
4.3	Variabel Penelitian.....	48
4.3.1	Klasifikasi variabel.....	48
4.3.2	Definisi operasional variabel.....	48
4.4	Bahan Penelitian.....	51
4.4.1	Hewan coba.....	51
4.4.2	Makanan dan minum hewan coba.....	51
4.4.3	Bahan perlakuan.....	52
4.4.4	Bahan pemeriksaan.....	52
4.5	Instrumen Penelitian.....	52
4.5.1	Alat untuk perlakuan tikus putih.....	52
4.5.2	Alat pemeriksaan kadar glukosa darah.....	53
4.5.3	Cara pembuatan larutan kafein.....	53
4.6	Prosedur Penelitian.....	54
4.6.1	Lokasi dan waktu penelitian.....	54
4.6.2	Persyaratan etik penelitian.....	54
4.6.3	Pemeliharaan dan pembagian kelompok hewan percobaan....	55
4.6.4	Cara perlakuan hewan percobaan.....	56
4.7	Pengumpulan Data.....	56
4.8	Rancangan Analisis Data.....	56
4.9	Bagan.....	58
BAB 5	HASIL PENELITIAN.....	59
5.1	Peningkatan Kadar Glukosa Darah pada Hari Pertama .....	59
5.1.1	Hasil analisis deskriptif.....	59
5.1.2	Hasil uji normalitas distribusi.....	63
5.1.3	Hasil uji anova satu arah variabel moderator dan kadar glukosa darah awal.....	64
5.2	Peningkatan Kadar Glukosa Darah Pada Hari Ketiga.....	66
5.2.1	Hasil analisa deskriptif.....	66



5.2.2 Hasil uji normalitas distribusi .....	69
5.2.3 Hasil uji anova.....	70
5.3 Peningkatan Kadar Glukosa Darah Selama Tiga Hari.....	70
5.3.1 Hasil uji anova dua arah pada kelompok kontrol.....	70
5.3.2 Hasil uji anova dua arah pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.....	72
5.3.3 Hasil uji anova dua arah pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan.....	74
BAB 6 PEMBAHASAN PENELITIAN.....	76
6.1 Analisis Variabel Moderator.....	76
6.2 Analisis Kadar Glukosa Darah Hari Pertama.....	78
6.3 Analisis Kadar Glukosa Darah Hari Ketiga.....	84
BAB PENUTUP.....	87
7.1 Kesimpulan.....	87
7.2 Saran.....	87
Daftar Pustaka.....	89
Lampiran 1.....	95
Lampiran 2.....	

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 5.1 : Data awal berat badan, kadar glukosa darah, dan beda pada setiap kelompok hari pertama.....	59
Tabel 5.2 : Statistik deskriptif berat badan, kadar glukosa darah menurut kelompok perlakuan hari pertama.....	61
Tabel 5.3 : Hasil uji normalitas distribusi menurut Kolmogorof Smirnov hari pertama.....	63
Tabel 5.4 : Nilai uji anova satu arah antara berat badan dan kadar glukosa darah menit 0 (pretest) dengan setiap kelompok hari pertama.....	64
Tabel 5.5 : Nilai uji rerata beda kadar glukosa darah hari pertama pada setiap kelompok.....	64
Tabel 5.6 : Nilai uji komparasi ganda rerata beda kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan pada hari pertama.....	65
Tabel 5.7 : Nilai uji rerata beda kadar glukosa darah awal dan sesudah perlakuan pada hari pertama tiap kelompok.....	65
Tabel 5.8 : Data awal kadar glukosa, dan beda pada setiap kelompok hari ketiga.....	66
Tabel 5.9 : Nilai rerata beda kadar glukosa darah dan standart deviasi variabel tergantung pada tiap kelompok hari ketiga.....	67
Tabel 5.10 : Hasil uji normalitas distribusi menurut kolmogorof smirnov hari ketiga.....	69
Tabel 5.11 : Hasil uji anova rerata beda kadar glukosa darah hari ketiga antar kelompok .....	70
Tabel 5.12 : Nilai rerata beda dan standart deviasi harian pada kelompok kontrol.....	70
Tabel 5.13 : Hasil uji anova sama subyek rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kontrol.....	71
Tabel 5.14 : Nilai rerata beda dan standart deviasi harian pada	

kelompok kontrol.....	72
Tabel 5.15 : Hasil uji anova sama subyek rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.....	73
Tabel 5.16 : Hasil uji komparasi ganda rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.....	73
Tabel 5.17 : Hasil uji beda kadar glukosa darah menit 0 dan 120 selama tiga hari kelompok kafein 10 mg/kg berat badan..	73
Tabel 5.18 : Nilai rerata beda dan standart deviasi harian pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan .....	74
Tabel 5.19 : Hasil uji anova sama subyek rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan.....	75

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Struktur kafein.....	7
Gambar 2.2. : Metabolisme kafein .....	8
Gambar 2.3 : Skema sekresi insulin .....	14
Gambar 2.4 : Rangkaian siklus Cori .....	16
Gambar 2.5 : Koordinasi glikogenolisis dan glikogenesis dirangsang protein kinase yang tergantung cAMP .....	18
Gambar 2.6 : Induksi glukosa dan peran GLUT 4 di otot rangka.....	21
Gambar 2.7 : Pengendalian kadar glukosa darah oleh hormon.....	26
Gambar 2.8 : Skema hambatan asam lemak pada metabolisme glukosa .....	32
Gambar 2.9 : Skema hambatan asam lemak terhadap respon insulin pada <i>uptake</i> glukosa.....	33
Gambar 5.1 : Diagram batang rata-rata berat badan tikus pada hari pertama menurut kelompok perlakuan.....	61
Gambar 5.2 : Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah menit 0 pada hari pertama menurut kelompok perlakuan.....	62
Gambar 5.3 : Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah menit 120 pada hari pertama menurut kelompok perlakuan....	62
Gambar 5.4 : Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah pada hari pertama menurut kelompok perlakuan.....	63
Gambar 5.5 : Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah menit 0 pada hari ketiga menurut kelompok perlakuan.....	68
Gambar 5.6 : Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah menit 120 pada hari ketiga menurut kelompok perlakuan.....	68

Gambar 5.7 : Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah pada hari ketiga menurut kelompok perlakuan.....	69
Gambar 5.8 : Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah harian pada kelompok kontrol.....	71
Gambar 5.9 : Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah harian pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.....	72
Gambar 5.10: Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah harian pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan.....	74

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Data Awal Dan Uji Statistik.....	93
Lampiran 2	Persetujuan Etik Penelitian .....	

## DAFTAR SINGKATAN

AMPK	: <i>Adenosine monophosphate (AMP)-dependent protein kinase</i>
C	: <i>Creatine</i>
CaM	: <i>Calmodulin</i>
CaMK	: <i>Ca<sup>2+</sup>-CaM dependent protein kinase.</i>
cAMP	: <i>cyclic adenosine monophosphate</i>
CP	: <i>Creatine phosphate</i>
CPK	: <i>Creatine phosphokinase</i>
dL	: <i>desi liter</i>
G6P	: <i>Glucose-6-phosphate</i>
GLUT	: <i>Glucose transporter</i>
gm	: <i>gram</i>
Gs	: <i>Guanin nukleotide-binding protein</i>
HK	: <i>Hexokinase</i>
HLPa	: <i>Human liver glycogen fosforilase a</i>
IGF	: <i>Insulin-like growth factor</i>
IRS	: <i>Insulin receptor substrate</i>
LSD	: <i>least significant difference</i>
NOS	: <i>Nitric oxide synthase</i>
PDE	: <i>Phosphodiesterase</i>
PDH	: <i>Pyruvate dehydrogenase;</i>
PFK	: <i>Phosphofructokinase</i>
PI 3-kinase	: <i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
PKA	: <i>Protein kinase A</i>
PKB	: <i>Protein kinase B</i>
PKC	: <i>Protein kinase C</i>

STEFANUS DJONI HUSODO  
2008010001

# **BAB 1**

# **PENDAHULUAN**



**BAB 1****PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Saat ini, kafein tidak dapat dipisahkan dari kehidupan manusia baik pria maupun wanita, lebih dari 80% populasi di dunia menggunakan kafein setiap hari. (James, 2004). Konsumsi kafein pada orang dewasa berbeda tiap negara dan kultur yang ada, rata-rata konsumsi kafein 80 -400 mg per hari (Varani, 2000, Robinson, 2004). Paparan kafein ini berlangsung lama bahkan sebelum kelahiran karena tanpa sadar banyak wanita hamil mengkonsumsi makanan dan minuman yang mengandung kafein, sedangkan diketahui kafein dapat menembus placenta, paparan kafein ini terus berlanjut hingga dewasa (James, 2004).

Kafein mempunyai efek stimulasi energi tetapi kafein juga berdampak pada kesehatan misalnya diabetes melitus. Penderita diabetes melitus diperkirakan tahun 2025 mencapai 300 milyar (Robinson, 2004). Sejak 1967 dilaporkan bahwa minum 2 cangkir kopi instan secara nyata dapat mengganggu toleransi glukosa pada penderita diabetes melitus, maka banyak penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek farmakologi kafein pada tubuh manusia terutama efek kafein pada perubahan kadar glukosa darah manusia. Penelitian saat ini menunjukkan bahwa pemberian kafein akut dapat menurunkan sensitivitas insulin pada orang dewasa muda non diabetes (Keijzers, 2002; Lane, 2004). Penelitian Doyle (2003) menyimpulkan pemberian kafein dapat meningkatkan sekresi insulin sehingga *uptake* glukosa meningkat tetapi Keijzers (2002) berpendapat peningkatan epinefrin akibat kafein menurunkan kemampuan insulin.

Insulin berperan dalam penggunaan glukosa dan menghambat produksi glukosa hepar. Penurunan peran insulin pada regulasi darah akan meningkatkan kadar glukosa darah. Penelitian Lane (2004) menyimpulkan efek kafein pada glukosa darah hanya berpengaruh setelah makan. Berdasarkan data di atas, apakah kafein dapat meningkatkan kadar glukosa darah hingga kini masih menjadi perdebatan.

Kafein peroral akan diabsorpsi dari traktus gastrointestinal masuk dalam darah, konsentrasi puncak kadar glukosa tercapai sekitar 40-60 menit (Peters, 1967). Kafein mampu meningkatkan sistem neuroendrokrin dengan aktivasi *sympathetic adrenal-medullary and pituitary adrenal-cortical axes* (Lane, 1994). Pemberian kafein 9 mg/kg berat badan peroral setelah 90 menit mampu meningkatkan epinefrin (Greer, 2000). Pemberian kafein 3 mg/kg berat badan secara intra vena dilanjutkan dengan infus 0,6 mg/kg/jam, setelah 2 jam ditemukan terjadi peningkatan epinefrin dan penurunan sensitivitas insulin (Keijzers, 2002). Kafein dapat secara langsung meningkatkan asam lemak bebas tanpa bantuan epinefrin. Asam lemak akan berkompetisi dengan glukosa dalam hal penggunaan energi (Greer, 2000; Shulman, 2000). Efek kafein pada metabolisme tergantung dosis yang diberikan. Asumsi umum 2-3 cangkir kopi setara dengan dosis pemberian kafein 250 mg kafein pada manusia dengan berat badan 70 kg (sekitar 3,5 mg /kg berat badan manusia) hal ini sebanding dengan pemberian kafein 10 mg/kg berat badan pada tikus (Fredholm, 1999). Dosis toksik minimal pada manusia sekitar 2-5 mg/ kg berat badan sedangkan untuk mencit dan tikus 25-50 mg/kg berat badan per hari (Peters, 1967). Penelitian Fredholm (1999) menyimpulkan bahwa satu cangkir kopi diketahui berperan sebagai antagonis reseptor adenosin, pada dosis lebih besar kafein mampu menghambat

fosfodiesterase sehingga terjadi peningkatan aktivitas c AMP dan memobilisasi  $Ca^{2+}$  intra sel lewat reseptor rianodin (Fredholm, 1999). Penelitian kafein pada tikus, terjadi proses habituasi terhadap kafein pada hari ketiga (Peters, 1967) ditandai dengan meningkatnya jumlah reseptor adenosin yang akan mengurangi efek kafein pada metabolisme (Peters, 1967; Fredholm, 1999; Keijzers, 2002).

Pengendalian kadar glukosa darah merupakan komponen penting untuk menunjang proses homeostasis tubuh. Secara teori agar dapat masuk ke dalam sel, glukosa memerlukan suatu pembawa yang dinamakan GLUT (*glucose transporter*), di otot rangka pembawa yang dominan adalah GLUT-4. GLUT 4 meningkat selama ada stimulasi insulin dengan cara meningkatkan translokasi vesikel GLUT 4 (Ganong, 2001). Selama pemberian kafein diketahui terjadi peningkatan translokasi GLUT-4 sel otot rangka yang akan berpengaruh pada *up take* glukosa darah. Kafein berperan dalam rangkaian metabolisme dalam sel otot rangka. Peran kafein ini tergantung dari dosis kafein yang diberikan. Metabolisme yang tinggi akibat pemberian kafein berpengaruh pada ketersediaan glukosa dalam sel sebagai sumber energi. Penurunan glukosa dalam sel otot rangka akan meningkatkan *up take* glukosa darah (Islam, 1995; Doyle, 2003; Rose, 2005).

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang efek kafein oral terhadap peningkatan kadar glukosa. Konsep solusi yang ditawarkan yaitu melakukan penelitian dengan memakai model tikus putih jantan untuk membuktikan peningkatan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan. Penelitian ini diberikan secara oral karena diharapkan sesuai dengan rute normal para pengguna kafein. Dosis kafein yang akan diberikan selama tiga hari secara oral

adalah 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan dan 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini ialah

- 1 Apakah pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali meningkatkan kadar glukosa darah ?.
- 2 Apakah pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali meningkatkan kadar glukosa darah ?.
- 3 Apakah pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali lebih meningkatkan kadar glukosa darah dibandingkan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali ?.
- 4 Apakah pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral dan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral pada hari ketiga meningkatkan kadar glukosa darah ?.

## Tujuan Penelitian

### Tujuan umum

Menjelaskan peningkatan kadar glukosa darah tikus putih jantan setelah pemberian kafein peroral.

### Tujuan khusus

- a. Membuktikan pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali meningkatkan kadar glukosa darah.

- b. Membuktikan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali meningkatkan kadar glukosa darah.
- c. Membuktikan pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali lebih meningkatkan kadar glukosa darah dibandingkan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali.
- d. Membuktikan pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral dan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral pada hari ketiga meningkatkan kadar glukosa darah.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

- 1. Memberikan informasi tambahan tentang peran kafein pada peningkatan kadar glukosa darah tergantung dari dosis kafein yang diberikan dan lama pemberian kafein.
- 2. Bahan masukan dan bahan pertimbangan untuk orang-orang yang sering mengkonsumsi kafein karena efek samping penggunaan kafein bukan hanya pada susunan saraf pusat, sistem kardiovaskuler, tetapi juga pada kadar glukosa darah.

## **BAB 2**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

Penelusuran literatur difokuskan pada peran kafein terhadap metabolisme glukosa. Faktor-faktor yang berperan yaitu antara lain faktor-faktor pada otot rangka, hepar, sel lemak dan pengaruh hormon-hormon yang terlibat dalam metabolisme glukosa.

#### 2.1 Kafein

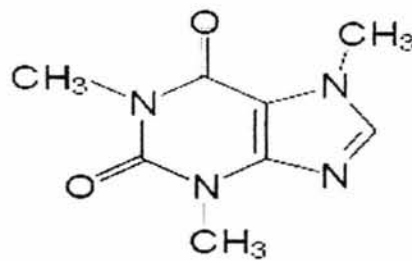
##### 2.1.1 Tinjauan umum

Penggunaan kafein sangat luas pada populasi, lebih dari 80% populasi di dunia menggunakan kafein setiap hari. Paparan kafein ini berlangsung lama bahkan sebelum kelahiran karena tanpa sadar banyak wanita hamil mengkonsumsi makanan dan minuman yang mengandung kafein, sedangkan diketahui kafein dapat menembus placenta, paparan kafein ini terus berlanjut hingga dewasa (James, 2004).

Bahan makanan dan minuman kadang ditambah kafein misalnya satu botol minuman Cola berisi 35 – 55 mg kafein (Ganiswara, 1995; Robinson, 2004). Satu cangkir kopi rata-rata berisi 100 – 150 mg kafein, kopi lebih banyak mengandung kafein dibandingkan dengan teh yaitu kurang lebih 60 – 70%, satu cangkir teh rata-rata berisi 30 – 40 mg kafein dan satu cangkir coklat rata-rata berisi 15 – 18 mg kafein. Konsumsi kafein sekitar 3-9 mg/ kg berat badan (setara dengan 2- 6 cangkir kopi) (Plitt, 2005). Konsumsi kafein pada orang dewasa berbeda tiap

negara dan kultur yang ada, rata-rata konsumsi kafein 80 -400 mg per hari (Varani, 2000; Robinson, 2004).

Derivat xantin terdiri dari kafein (1,3,7 *trimethylxanthine*), teofilin (1,3 *trimethylxanthine* ) dan teobromin (3,7 *trimethylxanthine*). Kafein adalah suatu alkaloida yang strukturnya merupakan 1,3,7 *trimethylxanthine*. Kafein murni merupakan suatu serbuk kristal yang lembut, berwarna putih, tidak berbau, agak pahit. Berat molekul 194,19, titik didih 178 °C, pH 6,9 (1% larutan). Kafein larut dalam larutan kloroform, etil asetat, pirimidin, pirol, tetrahidrofuran, larut sedang dalam alkohol, aseton, sedikit larut dalam eter, benzen, kelarutan dalam air sekitar 2,17 % (Mumin, 2006 ).



caffeine  
C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

Gambar 2.1 Struktur kafein (Mumin, 2006).

### 2.1.2 Farmakokinetik

Pada manusia kafein cepat diabsorpsi setelah pemberian oral, pada keadaan perut kosong, kafein dapat menghasilkan kadar puncak plasma dalam waktu 30 menit hingga 1 jam. Kafein diistribusi ke seluruh tubuh bahkan dapat melewati plasenta serta masuk ke dalam air susu ibu karena kafein bersifat hidrofobi, mudah larut lemak sehingga mampu menembus sawar darah otak dan membran sel. Bayi baru lahir dengan ibu mengkonsumsi kafein didapatkan kadar

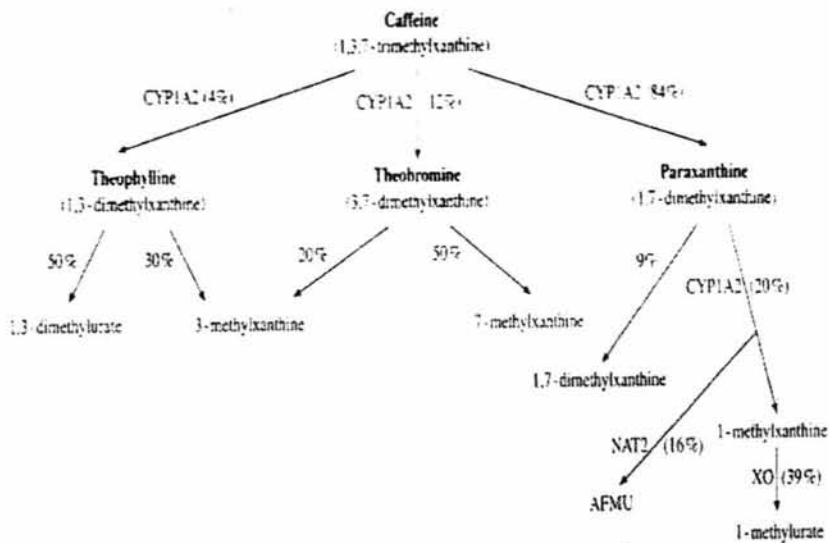


kafein dalam darah ibu sama dengan cairan serebrospinal bayi (Peters, 1967; Fredhlo, 1999; James, 2004).

Pemberian kafein kurang dari 10 mg/kg berat badan akan menghasilkan waktu paruh kafein 2.5- 4.5 jam pada manusia dan pada tikus waktu paruh sekitar 0.7 – 1.2 jam (Fredhlo, 1999). Proses habituasi pada tikus diperkirakan mulai terjadi hari kedua dan ketiga (Peters, 1967).

Metabolisme kafein terjadi di liver dengan bantuan sitokrom *P*-450 isoform 1A2 (CYP1A2) sebagian besar diekskresi bersama urin dalam bentuk asam metilurat dan metilxantin. Sekitar 10% kafein akan di ekskresi lewat urin, ditemukan di urin dalam bentuk utuh (Varani, 2000).

Kafein dimetabolisme di liver menjadi bentuk dimetil dan monometilxantin; dimetil dan asam urat monometil; trimetil- dan dimetil alantoin dan derivat urasil ( Fredhlo, 1999).



Gambar 2.2. Metabolisme kafein ([www.benbest.com/health/C\\_Metab.jpg](http://www.benbest.com/health/C_Metab.jpg)).

### 2.1.3 Intoksikasi

Pada manusia, kematian akibat keracunan kafein jarang terjadi. Gejala yang biasanya paling mencolok pada penggunaan kafein dosis berlebihan ialah muntah dan kejang. Dosis letal akut kafein pada orang dewasa antara 5 – 10 gram per hari, namun reaksi yang tidak diinginkan telah terlihat pada penggunaan kafein 0,5 – 1,5 gram (kadar kafein plasma di atas 30 µg/ml). Gejala permulaan berupa sukar tidur, gelisah, halusinasi dan eksitasi yang dapat berkembang menjadi *delirium* ringan. Gangguan sensoris berupa *tinitus* dan kilatan cahaya yang sering dijumpai. Otot rangka menjadi tegang, gemetar dan kejang, sering pula ditemukan takikardi dan ekstrasistol, sedangkan pernafasan menjadi lebih cepat (Peters, 1967, Ganiswara, 1995; Goodman, 2001).

### 2.1.4 Sediaan dan dosis

Kafein merupakan kristal putih yang larut dalam air dengan 1:46. Kafein – Na Benzoat dan kafein sitrat berupa senyawa putih, agak pahit, larut dalam air. Kafein – Na benzoat tersedia dalam ampul 2 ml mengandung 500 mg untuk suntikan IM sedangkan kafein sitrat terdapat dalam bentuk tablet 60 mg, 120 mg dan 200 mg untuk pemakaian oral ( Ganiswara, 1995).

Dosis kafein yang relatif aman untuk orang dewasa per hari sampai 600 mg atau sama dengan 5 – 6 cangkir kopi (Pinger, 1998). Dosis toksik minimal manusia 2- 5 mg/kg per hari, untuk mencit dan tikus 25-50 mg/kg per hari. Estimasi dosis maksimal pada tikus tanpa menimbulkan kematian dalam 100 hari yaitu 110 mg/kg per hari setara dengan minum kopi 60 hingga 100 cangkir per hari, sedangkan dosis sub letal oral adalah 185 mg/kg per hari. LD<sub>50</sub> kafein

intravena untuk mencit  $101 \pm 7$  mg/kg per hari dan untuk tikus  $105 \pm 2$  mg/kg per hari. LD<sub>50</sub> kafein intraperitoneal untuk tikus 240 mg/kg per hari. LD<sub>50</sub> kafein oral untuk manusia 150-200 mg/kg per hari dan untuk tikus 192 hingga 264 mg/kg per hari, kematian akan timbul 30 jam setelah pemberian. LD<sub>50</sub> kafein subkutan untuk tikus 170-207 mg/kg per hari, kematian akan timbul 2-3 jam setelah pemberian (Peters, 1967).

Asumsi umum 2-3 cangkir kopi setara dengan dosis pemberian kafein 250 mg pada manusia dengan berat badan 70 kg ( 3,5 mg /kg berat badan manusia). Pada tikus dosis 10 mg/kg berat badan tikus sebanding dengan 3,5 mg /kg berat badan manusia (Fredhlom, 1999).

## 2.1.5 Farmakodinamik

### 2.1.5.1 Efek kafein pada sistem saraf

Kafein dapat berefek sentral karena diperkirakan dapat menembus sawar darah otak (Keijzers, 2002). Kafein meningkatkan sistem neuroendrokrin dengan aktivasi *sympathetic adrenal-medullary and pituitary adrenal-cortical axes* (Lane, 1994). Setelah 90 menit pemberian kafein akan terjadi peningkatan epinefrin (Greer, 2000). Konsentrasi epinefrin naik sebesar 2 kali ketika konsentrasi kafein dalam darah 45  $\mu\text{mol/L}$  (Pencek, 2004).

Kafein juga dapat mengganggu sistem syaraf pusat melalui hambatan pada aktivitas fosfodiesterase (PDE), hambatan pada reseptor GABA, mobilisasi kalsium intraselular dan penghambatan pada reseptor adenosin. Saat ini yang paling mendukung teori diatas adalah efek penghambatan pada reseptor adenosin. Kafein adalah derivat methylxanthin yang berpotensi sebagai antagonis reseptor

terhadap adenosin. Kafein adalah non selektif antagonis reseptor adenosin (Davis, 2003). Peran kafein pada saraf pusat menghambat efek adenosin pada eksitabilitas neuron, pengeluaran neurotransmitter dan aktivitas spontan (Davis, 2003).

Kafein pada dosis rendah (2-10 mg/kg per hari berat badan) menyebabkan rangsangan korteks ringan dengan meningkatkan kewaspadaan dan penundaan kelelahan (Katzung, 1995). Orang yang minum kafein merasakan tidak begitu mengantuk, tidak begitu lelah, daya pikirnya lebih cepat dan lebih jernih tetapi kemampuannya berkurang dalam pekerjaan yang memerlukan koordinasi otot halus (kerapihan), ketepatan waktu atau ketepatan berhitung. Efek diatas timbul pada pemberian kafein 85-250 mg (1 – 3 cangkir kopi). Bila dosis pemberian kafein ditinggikan (15 mg/ kg berat badan) akan menyebabkan gugup, gelisah, insomnia, tremor, hiperestesia, kejang fokal atau kejang umum. Kejang akibat kafein ternyata lebih lemah dibandingkan akibat teofilin (Ganiswara, 1995; Goodman, 2001).

Metilxantin dosis rendah dapat merangsang SSP yang sedang mengalami depresi. Dosis 0,5 mg/kg berat badan per hari kafein berfungsi merangsang nafas pada individu yang mendapat morfin 10 mg (Ganiswara, 1995).

Kekuatan relatif kafein sebagai perangsang SSP rupanya bervariasi, tergantung dari spesies dan parameter percobaan yang dikerjakan (Ganiswara, 1995).

#### 2.1.5.2 Efek kafein pada insulin

Sejak ditemukan bahwa penghambatan K- ATP *channel* dapat merangsang sekresi insulin maka diduga pula kafein dapat menimbulkan efek yang sama

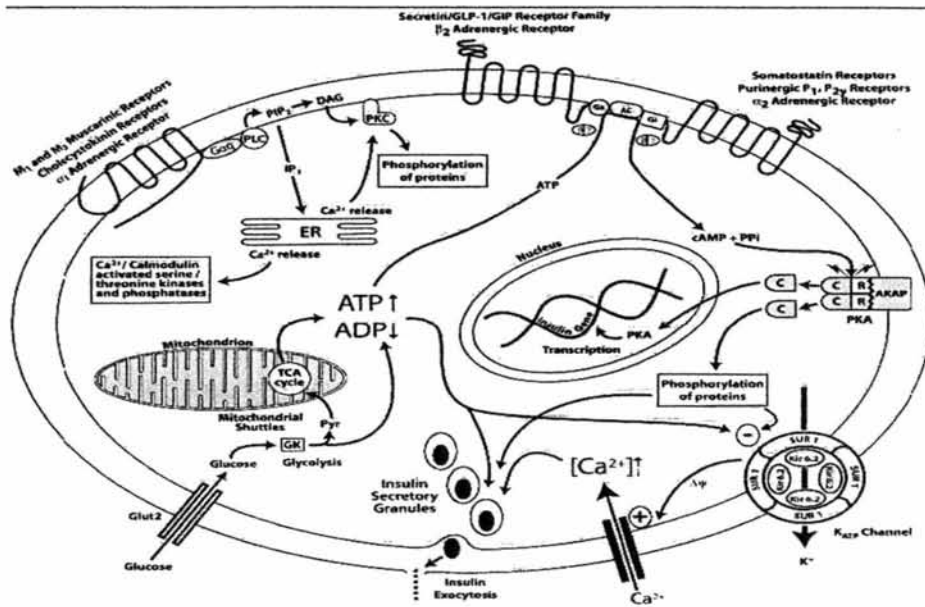
dalam menghambat K-ATP *channel* lewat reseptor purinergik sel  $\beta$  pankreas (Doyle, 2003). Penelitian Lane (2004) menemukan terjadi peningkatan insulin sekitar 48% lebih tinggi dibanding plasebo, muncul 1 hingga 2 jam setelah pemberian kafein.

Konsentrasi kalsium bebas dalam sitoplasma sebagai kunci untuk stimulasi sekresi sel  $\beta$  pankreas. Dalam sel ini masuknya glukosa melewati GLUT 2, glukosa akan dimetabolisme dengan bantuan enzim glukokinase sehingga terjadi peningkatan ATP. Perubahan ratio ATP/ADP akan meningkatkan penutupan kanal  $K^+$  yang sensitif ATP sehingga terjadi depolarisasi pada sel. Depolarisasi yang terjadi mengaktifkan pembukaan *voltage gated L type  $Ca^{2+}$  channel* (*The larger conductance channel or L-type channel is dihydropyridine-sensitive*) diikuti masuknya ion  $Ca^{2+}$  ke dalam sel sehingga konsentrasi  $Ca^{2+}$  bebas dalam sitoplasma meningkat. Mekanisme ini merupakan mekanisme yang dominan untuk peningkatan  $Ca^{2+}$  intraselular dibandingkan dengan mobilisasi  $Ca^{2+}$  dari depo intraselular. Mekanisme lain peningkatan  $Ca^{2+}$  intraselular adalah stimulasi reseptor untuk mengaktifkan sistem fosfolipase C, hal ini menginduksi inositol 1,4,5 trifosfat bergabung dengan reseptornya (IP3R) di permukaan membran retikulum sarkoplasma, kemudian memicu pengeluaran depo  $Ca^{2+}$  intraselular dan meningkatkan masuknya  $Ca^{2+}$  melewati membran sel. Pengeluaran  $Ca^{2+}$  intraselular yang lain melalui reseptor rianodin, yang ada di sel otot rangka (RyR1) dan sel otot jantung (RyR2). Reseptor rianodin terbanyak berada di otot rangka. Pada sel otot rangka reseptor rianodin (RyR1) bekerja bersama reseptor inositol 1,4,5 trifosfat (IP3). Peningkatan  $Ca^{2+}$  intraselular akan merangsang reseptor rianodin untuk mengeluarkan  $Ca^{2+}$  dari retikulum endoplasma (*Calcium-induced*

$\text{Ca}^{2+}$  release ). Peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  intraselular akan mempercepat vesikel yang membawa insulin melakukan eksositosis. Kafein diketahui dapat menginduksi reseptor rianodin sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadi pengeluaran  $\text{Ca}^{2+}$  dari depo  $\text{Ca}^{2+}$  intra selular. Efek kafein pada reseptor rianodin bervariasi tergantung konsentrasi kafein dalam darah (Islam, 1995; Doyle, 2003).

Kafein secara nyata dapat meningkatkan sekresi insulin dari sel  $\beta$  pankreas. Kafein berperan sebagai antagonis reseptor adenosin (reseptor purinerjik). Derivat xantin bersama-sama memakai cincin purin. Reseptor purinerjik terkait dengan adenilil siklase dan  $G_{si}$  (inhibitor) sehingga terjadi peningkatan cAMP dan cAMP akan menstimulasi PKA. Penutupan *K-ATP channel* ini melalui jalur PKA, hal ini yang mungkin sebagai dasar efek penghambatan kafein pada *K ATP channel* (Doyle, 2003). Kafein diketahui pula sebagai penghambat fosfodiesterase sehingga terjadi peningkatan cAMP, cAMP memfosforilasi pintu kanal  $\text{Ca}^{2+}$  tipe L. Pintu ini akan terbuka,  $\text{Ca}^{2+}$  ekstraselular akan masuk. Peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  intraselular akan mempercepat vesikel yang membawa insulin melakukan eksositosis (Doyle, 2003).

Dari penjelasan ini kafein dapat menstimulasi sekresi insulin tidak tergantung dari masuknya glukosa ke dalam sel (Islam, 1995) tetapi dengan mekanisme translokasi kalsium intra selular, hambatan pada fosfodiesterase dan ikatan pada reseptor A1 adenosin (*purinerjik P1*) sel  $\beta$  pankreas (Doyle, 2003).



Gambar 2.3 Skema sekresi insulin (Doyle, 2003).

2.1.5.3 Efek kafein pada otot rangka

Pada manusia, kemampuan kafein untuk meningkatkan kapasitas kerja otot dari atlet telah lama diketahui. Para pemain ski yang minum kafein sebanyak 6 mg/kg per hari berat badan meningkat kinerja fisiknya, khususnya di dataran tinggi (Ganiswara, 1995; Goodman, 2001). Pada kadar terapi ternyata kafein dapat memperbaiki kontraktilitas dan mengurangi kelelahan otot diaphragma pada orang normal maupun pada penderita penyakit paru obstruksi menahun (Ganiswara, 1995; Goodman, 2001).

Kafein bersifat agonis terhadap rianodin reseptor di otot rangka (RyR1). Stimulasi rianodin reseptor otot rangka akan meningkatkan pengeluaran kalsium intramioselular dari retikulum sarkoplasma. Peningkatan kalsium akan merangsang kontraksi otot, produksi panas, glikolisis, penggunaan ATP dan oksidasi piruvat (Acheson, 2004).

Kafein dapat meningkatkan asam lemak bebas yang diproduksi dari sel lemak dan menghambat metabolisme glikogen saat otot rangka aktif sehingga glikogen otot dapat dihemat (Laurent, 2000), berbeda dengan studi Greer (2000) pemberian adenosin menghambat metabolisme glikogen (glikogenolisis) saat otot berkontraksi sehingga pemberian kafein akan berpotensi sebaliknya (Greer, 2000).

Penggunaan glikogen otot tergantung tipe serat otot dan intensitas fisik. Reseptor adenosin A1 terdapat di otot rangka tipe lambat. Otot rangka tipe lambat ini dua sampai tiga kali lebih sensitif terhadap kafein dari pada otot rangka tipe cepat sehingga pemberian kafein, lima belas menit kemudian mampu meningkatkan c AMP otot rangka aktif melalui hambatan reseptor A1 (Greer, 2000) Pada olahraga selama 2 jam konsentrasi katekolamin sangat tinggi sehingga meningkatkan glikogenolisis otot rangka dan mengurangi manfaat kafein untuk penghematan glikogen otot (Laurent, 2000). Epinefrin bersifat kontra produktif untuk ketahanan karena bersifat stimulator terhadap pemecahan glikogen dan menghasilkan peningkatan laktat dalam otot dan darah (Davis, 2003).

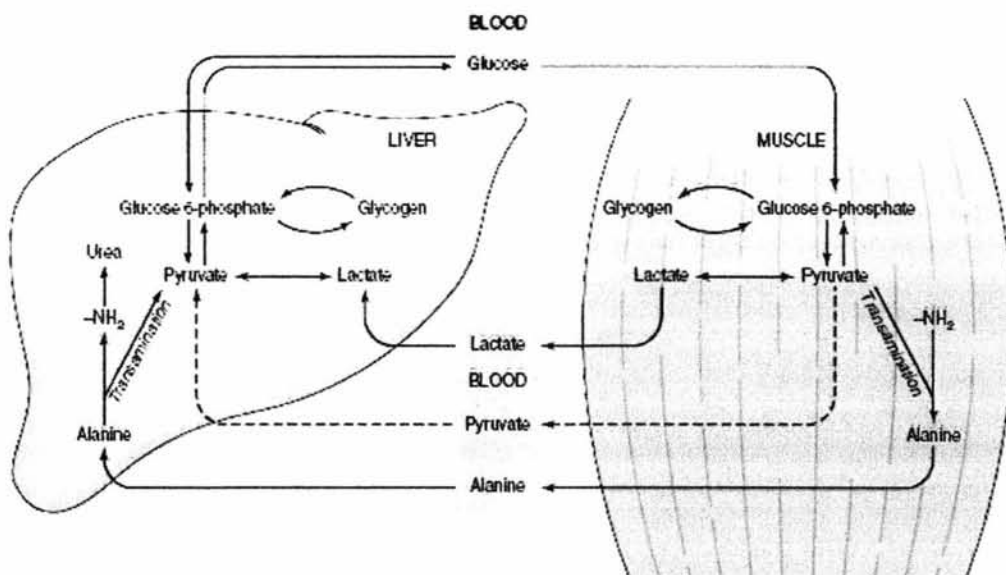
## **2.2 Metabolisme Glukosa**

Karbohidrat diurai dalam bentuk glukosa, fruktosa dan galaktosa. Secara biomedis, glukosa adalah monosakarida yang paling penting sebagai sumber energi utama untuk jaringan tubuh. Kadar glukosa darah saat puasa di darah vena perifer berkisar 70-110 mg/dl (3,9-6,1 mmol/L). Di darah arteri, kadar glukosa darah adalah 15-30 mg/dL lebih tinggi daripada darah vena yaitu 85-140 mg/dL (Mayes, 2000; Ganong, 2001).



Glukosa difosforilasi menjadi glukosa 6-fosfat, ketika masuk ke dalam sel. Glukosa 6 fosfat ini kemudian akan dipolimerisasi menjadi glikogen atau dikatabolisme. Proses pembentukan glikogen disebut glikogenesis, dan pemecahan glikogen disebut glikogenolisis (Ganong, 2001).

Sel otot rangka menyimpan glikogen, digunakan sebagai sumber tenaga otot rangka sendiri, dan tidak ikut secara langsung dalam kontribusi regulasi glukosa darah. Otot rangka tidak memiliki enzim glukosa 6 fosfatase yang akan membalik reaksi glukosa 6 fosfat menjadi glukosa sehingga sintesa lebih banyak ke arah piruvat dan laktat, ketika glikolisis anaerob terjadi di otot, maka asam laktat yang terbentuk akan ikut aliran darah dan masuk hepar. Asam laktat di hepar akan dikonversi menjadi glukosa atau dikonversi menjadi glikogen. Glukosa dari hepar dapat di kembalikan ke darah sebagai glukosa yang akan digunakan sebagai sumber energi dalam sel. Proses ini disebut *Cori cycle* (Fox, 1993).



Gambar 2.4 Rangkaian siklus Cori (Mayes, 2000).

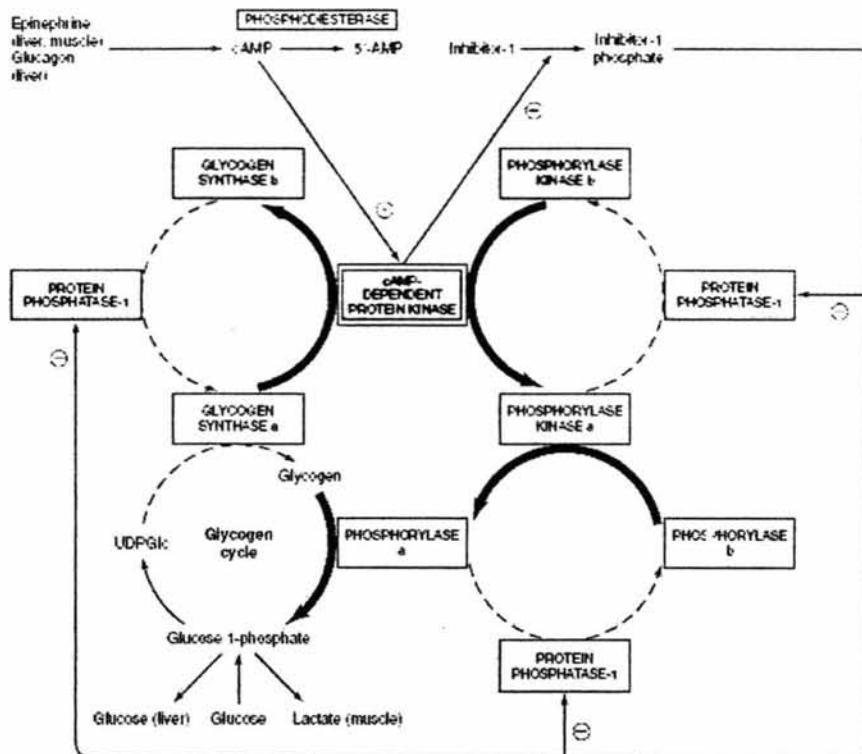
Glikolisis adalah jalur utama utilisasi glukosa. Glukosa masuk jalur glikolisis dengan mengalami fosforilasi menjadi glukosa 6 fosfat oleh enzim heksokinase, atau glukokinase (Mayes, 2000). Heksokinase berfungsi untuk memastikan suplai glukosa untuk jaringan, bahkan pada keadaan kadar glukosa darah rendah, dengan memfosforilasi glukosa yang masuk ke sel, sehingga mempertahankan gradien kadar glukosa yang besar antara darah dan intraselular. Heksokinase dan glukokinase menyebabkan glukosa berpindah dari darah ke sel pada keadaan *postprandial* dan bekerja optimal pada kadar glukosa darah 5 mmol/L atau sekitar 88 mg/dL (Mayes, 2000).

### 2.3 Metabolisme Glikogen

Glikogen merupakan simpanan karbohidrat yang utama, disimpan di hepar (6%) dan otot (1%), tetapi karena massa otot lebih besar maka glikogen otot mencapai 3-4 kali lebih banyak daripada di hepar. Glikogen penting sebagai bahan yang siap pakai untuk glikogenolisis di otot, sedangkan di hepar berperan untuk mempertahankan glukosa darah terutama waktu antara makan. Hepar kehilangan glikogen setelah puasa 12-18 jam (Mayes, 2000). Glikogen otot dan glikogen hepar mempunyai peran yang berbeda. Glikogen otot berperan sebagai sumber energi bagi otot, sedangkan glikogen hepar berperan sebagai pemasok glukosa untuk mempertahankan kadar glukosa darah (Guyton, 2000). Metabolisme glikogen dihepar dikontrol oleh enzim glikogen fosforilase dan glikogen sintase. Enzim ini tergantung pada kadar cAMP, cAMP akan merangsang glikogen fosforilase dan menghambat glikogen sintase. Insulin bekerja sebaliknya dengan merangsang glikogen sintase dan menghambat

glikogenolisis dengan meningkatkan konsentrasi glukosa 6 fosfat. Kadar epinefrin, norepinefrin dan glukagon dapat meningkatkan cAMP sebaliknya insulin akan menghambat cAMP dengan cara meningkatkan aktivitas fosfodiesterase (Mayes, 2000; Guyton, 2000).

Otot rangka memiliki 2 bentuk fosforilase yaitu fosforilase a sebagai bentuk yang aktif dan fosforilase b dalam keadaan tidak aktif, menjadi aktif bila kadar 5'AMP meningkat misalnya saat olahraga (Mayes, 2000). Proses glikogenolisis di otot rangka akan meningkat sekitar seratus kali setelah terjadi kontraksi otot yang dirangsang oleh naiknya  $Ca^{2+}$  intrasel. Glikogenolisis di hepar tidak tergantung pada cAMP tetapi dapat juga melalui mobilisasi  $Ca^{2+}$  intrasel. Hal ini dirangsang oleh vasopresin, oksitosin dan angiotensin II. (Mayes, 2000).



Gambar 2.5 Koordinasi glikogenolisis dan glikogenesis dirangsang protein kinase yang tergantung cAMP (Mayes, 2000).

## 2.4 Metabolisme lemak

Simpanan lemak pada pria sekitar 15% berat badan, pada wanita sekitar 21%. Simpanan ini sangat dinamis dalam pemecahan dan resintesis terus menerus. Sel lemak akan memetabolisme glukosa menjadi asam lemak dan lemak netral disintesis. Lemak netral ini akan dipecah lagi dan asam lemak dilepaskan kembali ke dalam sirkulasi. Asam lemak bebas disediakan bagi sel-sel lemak dan jaringan lain oleh kilomikron dan VLDL. Asam lemak bebas juga disintesa di depot lemak tempat bahan ini disimpan. Asam lemak bebas bersirkulasi terikat dengan albumin pasok asam lemak ke jaringan diatur oleh lipoprotein lipase yang terdapat di permukaan endotelium kapiler. Lipoprotein ini menghidrolisa trigliserida dalam kilomikron dan VLDL menjadi asam lemak bebas dan gliserol yang akan disusun kembali menjadi trigliserida dalam sel lemak. Lipase peka hormon (*hormone sensitive lipase/ HSL*) intrasel di jaringan lemak akan memecah trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol yang akan dilepas kembali ke dalam sirkulasi. Aktifasi lipase peka hormon diinduksi oleh cAMP melalui protein kinase A. Sel lemak memiliki reseptor adrenergik tipe  $\beta$  sehingga peka terhadap peningkatan epinefrin dan norepinefrin. Selain itu glukagon, ACTH, TSH, LH, serotonin dan vasopresin juga berperan dalam proses lipolisis sedangkan insulin dan prostaglandin E menurunkan aktivitas lipase peka hormon. Pada keadaan puasa dan stres terjadi peningkatan lipase peka hormon sebaliknya pemberian makanan akan menurunkan aktivitas lipase peka hormon (Ganong, 2001).

## 2.5 Transpor Glukosa Ke Dalam Sel Otot Rangka

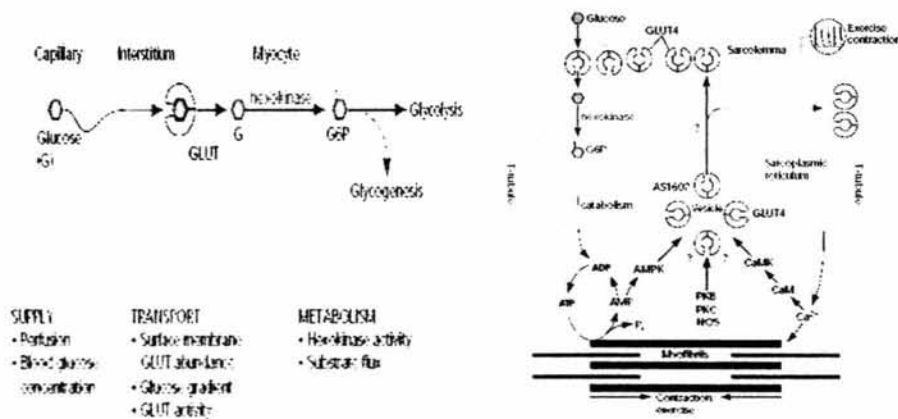
Masuknya glukosa ke dalam sel dengan cara difusi fasilitatif yaitu dengan bantuan protein pembawa (*carier*). *Carier* ini dikenal dengan sebutan *glucose transporter* (GLUT). Mekanisme transpor glukosa ke dalam sel yang lain adalah *secodary active transport* yang hanya terjadi di sel epitel usus dan tubulus ginjal (Guyton, 2000; Ganong, 2001 ).

Pada sel otot rangka terdapat GLUT-1 dan GLUT-4 tetapi yang paling dominan dalam transpor glukosa adalah GLUT-4 yang letaknya banyak di dalam sel dan dalam jumlah kecil di T tubular. GLUT-1 hanya dominan di sarkolema dalam keadaan basal dan jumlahnya 20 kali lebih sedikit daripada GLUT-4 (Ganong, 2001).

Transpor glukosa ke dalam sel otot rangka juga dipengaruhi beberapa faktor antara lain insulin dan olahraga. Pada otot rangka, jaringan lemak, dan beberapa jaringan yang lain, insulin memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel dengan peningkatan jumlah *glucose transporter* di dalam membran sel (Ganong, 2001).

Pengambilan glukosa oleh otot ditentukan tiga komponen utama yaitu suplai glukosa, transportasi glukosa dan metabolisme glukosa. Penyediaan glukosa ditentukan oleh konsentrasi glukosa dan aliran darah pada otot. Saat olahraga intensif terjadi peningkatan aliran darah otot sebesar 20 kali dibandingkan saat istirahat, dengan meningkatnya perfusi otot maka penyediaan glukosa untuk otot semakin besar. Pada olahraga dengan intensitas panjang, konsentrasi glukosa akan menurun diikuti penurunan pengambilan glukosa otot. Saat olahraga, terjadi peningkatan transporter glukosa yaitu GLUT 4 di otot rangka untuk

mempermudah masuknya glukosa ke dalam miosit. Peningkatan GLUT 4 diinduksi oleh kontraksi otot dan insulin. Walaupun terjadi penurunan insulin saat olahraga namun kepekaan otot lebih tinggi terhadap stimulus insulin yang merangsang GLUT 4, hal ini menunjukkan jalur yang berbeda dengan kontraksi otot untuk merangsang GLUT 4. Masuknya glukosa dalam miosit akan mengaktifkan enzim heksokinase yang akan merubah glukosa menjadi glukosa 6-fosfat. Enzim heksokinase dapat dihambat oleh akumulasi glukosa 6 fosfat sehingga enzim ini sebagai regulator ketika ambilan glukosa berlebihan (Rose, 2005).



Gambar 2.6 Induksi glukosa dan peran GLUT 4 di otot rangka (Rose, 2005).

## 2.6 Stimulus Insulin

### 2.6.1 Stimulus insulin pada uptake glukosa di sel otot rangka

Insulin menstimulasi gerakan intrasel GLUT-4, dengan terikatnya insulin pada reseptor insulin. Ikatan ini menyebabkan autofosforilasi ikatan tersebut dan kemudian mengaktifasi fosforilasi tirosin kinase pada bagian reseptor intrasel. Berikutnya aktivasi fosfoinositol-3 kinase (PI3K) diperlukan untuk stimulasi transpor glukosa oleh insulin dan cukup untuk menginduksi paling tidak

translokasi parsial GLUT-4 ke plasma membran, fosfoinositol-3 kinase ini diduga berperan sentral pada transpor glukosa yang distimulus insulin (Doyle, 2003 ).

Translokasi intraselular GLUT-4 ke membran plasma distimulasi oleh protein kinase B yang aktif atau isoform protein kinase C pada sel kultur. Ini memberi perkiraan bahwa protein kinase-protein kinase ini baik sendiri atau keduanya mungkin terlibat proses *in vivo* di signal insulin untuk translokasi GLUT-4. Pengeblokan kerja protein C menyebabkan menurunnya stimulasi insulin dalam menggerakkan GLUT-4, sedangkan kerja protein kinase B yang diblok hasilnya masih dipertentangkan (Youngren, 2003).

#### 2.6.2 Stimulus non-insulin pada *uptake* glukosa di sel otot rangka

Meskipun insulin merupakan stimulus yang utama untuk transpor glukosa ke dalam sel otot rangka, tetapi ada beberapa stimulus yang lain yang bisa menyebabkan *uptake* glukosa dan translokasi GLUT-4 ke membran sel, antara lain yaitu olahraga, *nitric oxide*, bradykinin, *insulin-like growth factor* (IGF), *C peptide*, leptin, dan hormon tiroid (Doyle, 2003).

### 2.7 *Glucose Transporter-4* (GLUT-4)

Molekul GLUT-4 terdapat di vesikel dalam sitoplasma sel yang peka akan insulin. Ketika reseptor insulin pada sel teraktivasi, vesikel bergerak cepat dan bergabung ke membran sel. Aktivasi reseptor insulin menggerakkan vesikel ke membran sel oleh aktivitas fosfoinositol 3-kinase. Ketika aktivitas insulin selesai, maka akan kembali dari membran sel ke sitoplasma dengan endositosis ( Ganong, 2001).

Pada sel otot rangka yang normal, GLUT-4 mempunyai siklus antara membran plasma dan bentuk simpanan di intrasel. Dengan adanya insulin atau stimulus yang lain, keseimbangan dari siklus ini dirubah kearah translokasi GLUT-4 dari bentuk simpanan di intrasel ke membran plasma, sehingga terjadi peningkatan kecepatan transpor glukosa ke dalam sel (Shepherd, 1999).

Jaringan peka insulin mempunyai banyak vesikel GLUT-4 yang akan bergerak menuju sel membran sebagai akibat peningkatan *5'-AMP-activated kinase* (AMPK). AMPK ini diperkirakan bertanggung jawab pada gerakan vesikel GLUT-4 ke membran sel, sehingga didapatkan GLUT-4 di membran lebih banyak (Ganong, 2001).

## **2.8 Glukosa Darah**

### **2.8.1 Homeostasis glukosa darah**

Hepar penting dalam mempertahankan kadar glukosa darah. Kelebihan glukosa dalam darah akan disimpan dalam hepar dalam bentuk glikogen (glikogenesis), dan apabila glukosa darah kadarnya menurun misalnya pada keadaan diantara waktu makan maka glikogen hepar akan diubah kembali menjadi glukosa untuk dilepaskan ke sirkulasi (Mayes, 2000).

Saat kadar glukosa darah di bawah normal, di hepar akan terjadi glukoneogenesis. Glukosa yang dihasilkan ini berasal dari asam amino dan gliserol, sehingga kadar glukosa darah dapat dipertahankan relatif normal, karena mempertahankan kadar glukosa darah penting untuk jaringan seperti otak dan eritrosit (Guyton, 2000). Otot rangka menggunakan glukosa sebagai sumber



energi selama beberapa jam setelah makan, sebagian disimpan dalam bentuk glikogen (Mayes, 2000). *American Diabetes Assosiation* (2001) menyebutkan bahwa *postprandial* artinya setelah makan, kadar glukosa darah mulai meningkat pada 10 menit setelah makan sebagai hasil absorpsi karbohidrat. Puncak kadar glukosa darah adalah 60 menit setelah makan dan kembali pada keadaan *preprandial* (sebelum makan) dalam 2-3 jam. Meskipun konsentrasi glukosa kembali pada keadaan *preprandial*, absorpsi karbohidrat masih berlanjut paling tidak 5-6 jam setelah makan.

Pada keadaan *postprandial*, glukosa yang diabsorpsi dalam darah menyebabkan insulin disekresi dan insulin ini menyebabkan meningkatnya kecepatan *uptake* glukosa hampir seluruh sel, terutama sel otot rangka, sel lemak, dan sel hepar. Pada keadaan beberapa jam *postprandial* terjadi kadar glukosa dalam darah yang tinggi, apabila pada keadaan ini otot tidak digunakan untuk olahraga maka glukosa disimpan sebagai glikogen (Guyton, 2000).

Dalam beberapa detik setelah insulin terikat reseptor, *uptake* glukosa meningkat 80% karena adanya peningkatan translokasi GLUT, jika insulin sudah tidak ada maka vesikel tersebut akan menjauh atau terpisah dari membran sel dalam 3-5 menit kembali ke dalam sel (Fox, 1999 ; Guyton, 2000).

Pada keadaan *postprandial*, insulin dilepas pada 2 fase yaitu 1) singkat, pelepasan yang sedikit pada saat makan untuk menurunkan peningkatan glukosa darah *postprandial*, 2) insulin di lepas langsung dengan jumlah proporsional dengan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah, sehingga terjadi glikogenesis antara lain di hati, dan di otot terjadi *uptake* glukosa untuk ditumpuk sebagai glikogen (Ganong, 2001).

Insulin menyebabkan glukosa diabsorpsi pada keadaan *postprandial* untuk disimpan segera di hepar sedangkan diantara waktu makan, yaitu makanan tidak ada dan kadar glukosa darah menjadi rendah, sekresi insulin akan menurun dengan cepat dan glikogen hepar akan diubah menjadi glukosa dikeluarkan ke aliran darah untuk mencegah glukosa darah turun terlalu rendah. Inhibisi sekresi insulin mulai terjadi pada kadar glukosa darah 4,6 mmol/L atau 87,5 mg/dL (Fox, 1999; Guyton, 2000; Ganong, 2001). Peningkatan kadar glukosa darah menghambat sekresi glukagon, sebaliknya keadaan kadar glukosa darah yang rendah merangsang sekresi glukagon. Glukagon mulai disekresi pada kadar glukosa darah 3,8 mmol/L atau 67,5 mg/dL (Guyton, 2000; Ganong, 2001).

#### 2.8.2 Peran hormon dalam homeostasis glukosa darah

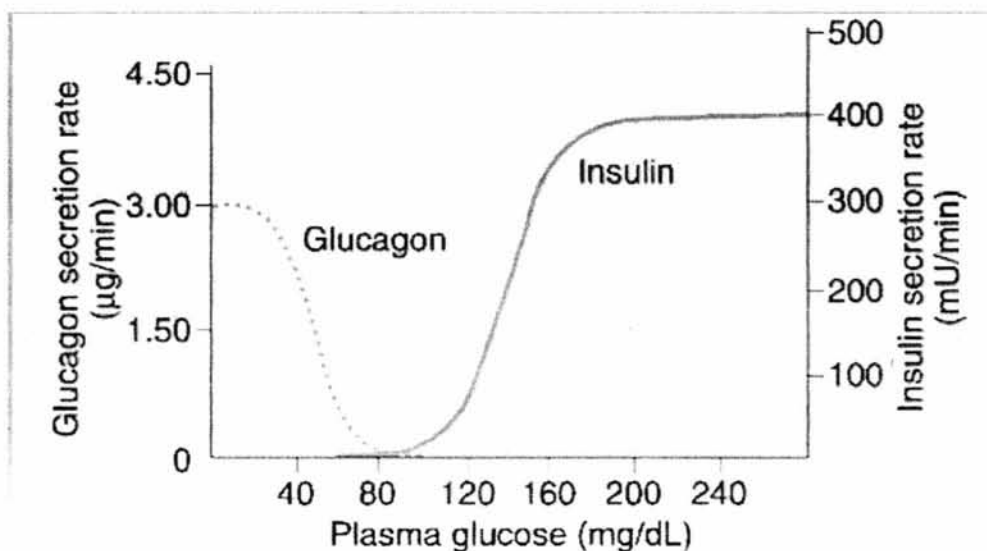
Hormon yang bekerja dalam meningkatkan kadar glukosa darah antara lain glukagon, epinefrin, norepinefrin, dan kortisol. Sedangkan yang menurunkan kadar glukosa darah adalah insulin (Guyton, 2000; Ganong, 2001).

##### 2.8.2.1 Insulin

Insulin disekresi oleh sel beta pancreas. Waktu paruh insulin manusia di sirkulasi sekitar 5 menit. Insulin didegradasi oleh enzim protease didalam endosom, proses ini dikenal dengan istilah proses endositosis. Kelebihan energi dari karbohidrat, dengan bantuan insulin disimpan dalam bentuk glikogen terutama di otot rangka dan hepar, atau dikonversi menjadi lemak (Guyton, 2000).

Transpor glukosa ke dalam sel meningkat 10 kali atau lebih dengan adanya insulin dibandingkan dengan tidak ada insulin. Efek sekresi insulin terhadap glukosa adalah bifasik yaitu meningkat cepat pada kadar glukosa sekitar 120

mg/dL dengan durasi pendek kemudian sekresi melambat pada kadar glukosa darah sekitar 200 mg/dL dengan durasi panjang (Guyton, 2000; Ganong, 2001).



Gambar 2.7 Pengendalian kadar glukosa darah oleh hormon (Ganong, 2001).

Saat metabolisme glukosa di hepar, insulin mendukung masuknya glukosa ke dalam sel hepar dan mendukung konversi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat sehingga gradien kadar glukosa darah dan hepar besar maka glukosa banyak yang masuk ke sel hepar (Mayes, 2000).

Pengaruh insulin pada otot rangka yaitu membran sel otot rangka menjadi lebih permeabel terhadap glukosa jika sel otot rangka tersebut distimulasi oleh insulin. Olahraga meningkatkan masuknya glukosa ke dalam sel karena kontraksi otot tersebut menyebabkan membran sel menjadi lebih permeabel terhadap glukosa, terlepas dari pengaruh insulin (Guyton, 2000 ; Ganong, 2001).

### 2.8.2.2 Glukagon

Glukagon disekresi oleh sel alfa pankreas, mempunyai efek utama pada metabolisme glukosa yaitu memecah glikogen hepar (glikogenolisis) dan meningkatkan glukoneogenesis (Guyton, 2000).

Pada hepar, glukagon bekerja mengaktifasi adenilil siklase dan meningkatkan cAMP intraselular, melalui protein kinase A mengaktifkan fosforilase sehingga meningkatkan glikogenolisis. Pada reseptor yang berbeda di hepar, mengaktifkan fosforilase C sehingga kalsium sitoplasma meningkat yang juga menstimulasi glikogenolisis. Glukagon tidak menyebabkan glikogenolisis otot (Ganong, 2001).

Sekresi glukagon meningkat ketika ada stimulasi saraf simpatis di pankreas melalui pengaktifan cAMP yang akan mengarah pada terjadinya glikolisis (Guyton, 2000; Ganong, 2001).

### 2.8.2.3 Katekolamin

Katekolamin antara lain terdiri dari epinefrin dan norepinefrin. Epinefrin dihasilkan dari sel kromafin medula kelenjar adrenal yang diinervasi saraf preganglionik simpatis sebagai efek stres dan norepinefrin lebih banyak disekresi oleh ujung saraf simpatis (Guyton, 2000). Sekresi norepinefrin di ujung saraf simpatis dan *postsynaptic a-adrenergic* dapat dihambat oleh adenosin. Adenosin adalah hasil dari pemecahan ATP jaringan (Smith, 1991) Epinefrin dan norepinefrin mempunyai efek metabolisme seperti pelepasan glukosa dari hepar, meningkatkan konsentrasi glukosa darah, meningkatkan glikogenolisis di hepar dan otot (Guyton, 2000).

Epinefrin terlibat dalam stimulasi sel alfa pankreas untuk mensekresi glukagon, stimulasi pada sel hepar langsung untuk mengaktifkan adenilil siklase yang menghasilkan peningkatan cAMP atau meningkatkan aktivasi fosforilase sehingga terjadi glikogenolisis Epinefrin meningkatkan produksi glukosa hepar dan menghambat sekresi insulin dan menghambat *uptake* glukosa jaringan yang diinduksi oleh insulin. Norepinefrin tidak terlalu banyak berkontribusi pada produksi glukosa hepar Epinefrin dengan konsentrasi tinggi memberikan efek peningkatan produksi glukosa ( Guyton, 2000).

Pengaktifan fosforilase oleh katekolamin melalui reseptor adrenergik  $\beta$  meningkatkan cAMP dan reseptor adrenergik  $\alpha$  meningkatkan  $Ca^{2+}$  intrasel akan meningkatkan protein kinase A. Protein kinase A berperan menghambat metabolisme glukosa 6 fosfat ke arah piruvat. Akumulasi ini akan merangsang pembentukan glukosa oleh hepar yang akan dipelas ke sirkulasi (Ganong, 2001).

#### 2.8.2.4 *Growth hormone*

*Growth hormone* ikut berperan pada metabolisme karbohidrat antara lain menurunkan *uptake* glukosa pada jaringan misalnya sel otot rangka dan sel lemak dan meningkatkan sekresi insulin. *Growth hormone* ini menginduksi terjadinya resistensi insulin dengan mekanisme yang belum jelas sehingga kerja insulin melemah dalam menstimulasi *uptake* dan utilisasi glukosa pada sel otot rangka dan sel lemak (Guyton, 2000).

#### 2.8.2.5 Glukokortikoid

Kira-kira 95% dari aktivitas glukokortikoid yang disekresi kelenjar adrenal adalah kortisol atau hidrokortison. Kortikosteron walaupun sedikit disekresi

kelenjar adrenal tetap bermakna (Guyton, 2000). Kortisol berperan meningkatkan glukoneogenesis di hepar 6-10 kali. Pengaruh kortisol ini melalui dua cara yaitu meningkatkan semua enzim yang mengkonversi asam amino menjadi glukosa dengan mengaktifkan transkripsi DNA pada nukleus sel hepar untuk membentuk mRNA untuk menyusun banyak enzim, menyebabkan mobilisasi asam amino ekstra hepatic terutama dari otot sehingga dapat digunakan untuk sintesa glukosa di hepar. Kortisol dapat juga menyebabkan menurunkan penggunaan glukosa, namun mekanisme yang mendasari belum jelas (Guyton, 2000 Ganong, 2001).

Kedua pengaruh kortisol terhadap metabolisme glukosa diatas yaitu meningkatnya glukoneogenesis dan menurunnya penggunaan glukosa oleh sel maka didapatkan hasil peningkatan kadar glukosa darah, bahkan mencapai 50% diatas kadar normal (Guyton, 2000 ; Ganong, 2001).

## **2.9 Kafein Dan Glukosa Darah**

### **2.9.1 Pengaruh kafein pada sekresi glukosa hepar**

Liver adalah regulator glukosa plasma yang utama. Liver memproduksi glukosa dengan dua jalan yaitu sintesa de novo lewat glukoneogenesis dan glikogenolisis lewat pemecahan glikogen oleh fosforilase a. Glikogen diubah menjadi glukosa 1 fosfat dengan enzim fosforilase a. Enzim *Human liver glycogen fosforilase a* ( HLPa) berfungsi sebagai regulator level glukosa darah (Martin, 1998). AMP meningkatkan enzim fosforilase a, sedangkan Glukosa, ADP dan ATP, fruktosa 1-fosfat, UDP-glukosa menghambat enzim ini ( Fang, 1997). Glukosa berikatan pada sisi aktif enzim ini, kafein dan analog yang lain dapat berikatan dengan tempat *purine inhibitory* milik fosforilase a yang

dinamakan *I site* sehingga menghentikan aktivitas fosforilase a dengan terhentinya enzim ini maka menghalangi pemecahan glikogen (Martin, 1998).

Beberapa studi menunjukkan bahwa lokasi ikatan glukosa dan *I-Site* pada *glycogen phosphorylase* dapat saling berhubungan. Studi struktural pada kompleks fosforilase otot dengan analog glukosa dan penghambat nukleotida purine menunjukkan bahwa tempat ikatan dengan glukosa lebih stabil ketika *I-Site* juga ditempati (Martin, 1998)

### 2.9.2 Pengaruh kafein pada sensitivitas insulin

Efek kafein pada metabolisme tidak selalu melalui mekanisme katekolamin tetapi bisa lewat mekanisme hambatan pada reseptor adenosin di otot rangka dan jaringan lemak. Hal ini mengindikasikan bahwa adenosin sebagai regulator yang penting dalam metabolisme (Greer, 2000).

Adenosin dan agonis adenosin meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan lemak dan otot jantung sedangkan pada otot rangka menurunkan sensitivitas insulin. Adenosin dan adenosin agonis dapat meningkatkan metabolisme glukosa di jaringan lemak tetapi menurunkan metabolisme glukosa di otot rangka ( Keijzers, 2002). Efek kafein sebagai antagonis reseptor adenosin pada *uptake* glukosa, antara lain dapat mengurangi *uptake* glukosa di jaringan lemak tetapi pada otot rangka tidak terpengaruh sehingga diasumsikan kafein dapat mengurangi sensitivitas insulin pada jaringan lemak ( Keijzers, 2002).

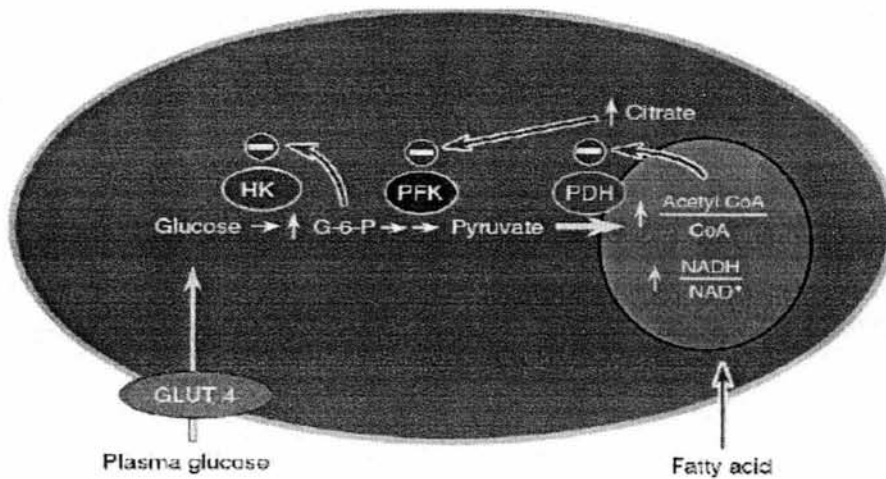
Penurunan dan peningkatan sensitivitas insulin akan mempengaruhi pengambilan glukosa oleh jaringan perifer tergantung dari jumlah total semua efek kombinasi dan tergantung dari jumlah otot , jaringan lemak dan derajat

sensitifitas insulin dan aliran darah otot. Hal ini menjelaskan mengapa hasil blokade reseptor adenosin karena efek kafein berbeda pada orang gemuk dan kurus ( Keijzers, 2002).

Kemungkinan yang berperan dalam penurunan sensitifitas insulin akibat pemakaian kafein antara lain kafein dapat meningkatkan plasma epinefrin sebesar 5 kali. Peningkatan epinefrin menurunkan sensitifitas jaringan yang peka insulin 15-50%. Kafein dapat menstimulasi produksi asam lemak bebas melalui lipolisis akibat peningkatan epinefrin dan hambatan penekanan lipolisis akibat adenosin. Peningkatan asam lemak bebas menurunkan ambilan glukosa hepar dan perifer ( Keijzers, 2002). Namun pada penelitian lain kafein 25 mg/kg per hari secara infus tidak berpengaruh pada otot dan glikogen liver dan sedikit efeknya pada glukosa plasma, asam lemak bebas, insulin dan glukagon (Davis, 2003).

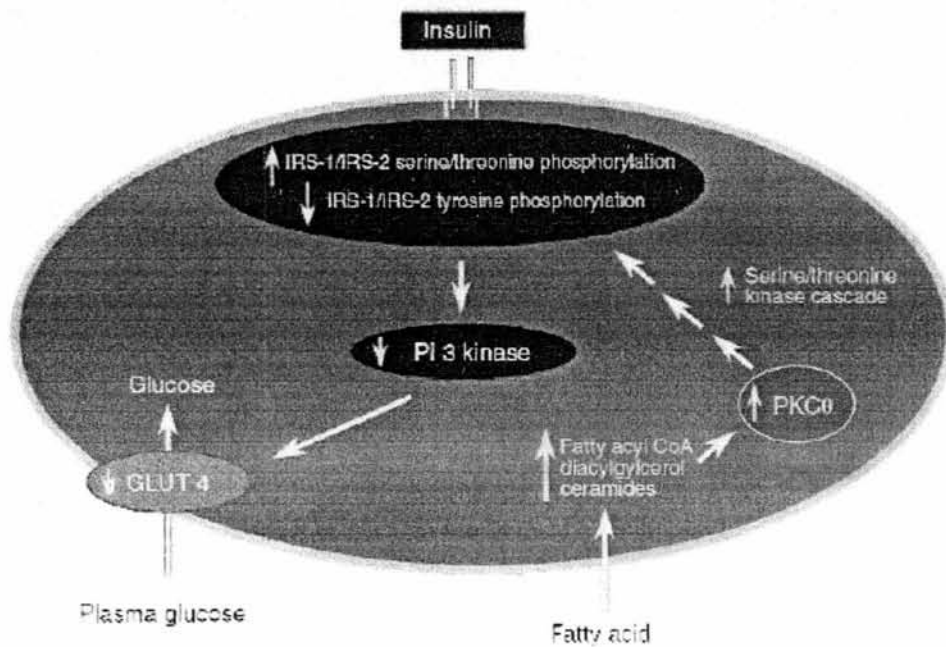
Transport glukosa ke dalam sel juga dipengaruhi oleh kadar asam lemak dalam sel. Peningkatan oksidasi asam lemak meningkatkan ratio asetil Ko-A/Ko-A dan NADH/NAD di mitokondria, menginaktivasi piruvat dehidrogenase (PDH), menyebabkan konsentrasi sitrat intraselular meningkat, memicu penghambatan fosfofruktokinase (PFK) sebagai enzim kunci pengontrol glikolisis. Akumulasi glukosa 6 fosfat menghambat aktivitas heksokinase sehingga terjadi peningkatan konsentrasi glukosa intraselular dan menurunkan *uptake* glukosa (Shulman, 2000).





Gambar 2.8 Skema hambatan asam lemak pada metabolisme glukosa (Shulman, 2000).

Asam lemak bebas dapat mengganggu tahap awal aktivitas GLUT-4 yang distimulasi insulin. Peningkatan metabolit asam lemak yaitu diasil gliserol, lemak asil CoA dan seramida akan mengaktifkan serin/treonin kinase yang diinisiasi protein kinase C memfosforilasi substrat reseptor insulin (IRS-1 dan IRS-2) sehingga aktivitas IP 3 kinase menurun. Dengan demikian terjadi penurunan efek sinyal insulin terhadap aktivitas GLUT-4 (Shulman, 2000).



Gambar 2.9 Skema hambatan asam lemak terhadap efek insulin pada *uptake* glukosa (Shulman, 2000).

### 2.9.3 Pengaruh kafein pada *uptake* glukosa otot

Kafein bersifat agonis terhadap rianodin reseptor di otot rangka. Stimulasi rianodin reseptor akan meningkatkan pengeluaran kalsium intramioselular. Peningkatan kalsium akan merangsang kontraksi otot, produksi panas, glikolisis, penggunaan ATP dan oksidasi piruvat (Acheson, 2004). Pada percobaan *in vivo* dengan kafein didapatkan peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  intraselular dari retikulum sarkoplama hal ini akan merangsang peningkatan ambilan glukosa otot secara tidak langsung (Rose, 2005). Thong berpendapat sebaliknya kafein menghambat *uptake* glukosa otot karena tingginya asam lemak bebas yang muncul akibat kafein atau lewat hambatan enzim heksokinase yang membantu sintesis glukosa 6 fosfat (Thong, 2002).

Otot rangka adalah tempat utama untuk penyimpanan glukosa selain hepar dan berfungsi sebagai penjaga keseimbangan kadar glukosa. Insulin dan olahraga adalah stimulan yang poten untuk transport glukosa dan metabolisme glikogen. Insulin menyebabkan translokasi GLUT -4 dan aktivasi Glikogen sintase melalui jalur aktivasi *Insulin Receptor Substrate (IRS)*/ sinyal transduksi phosphatidylinositol (PI)-3 kinase (Thong, 2002) tetapi pada percobaan lain pemberian kafein oral 5 mg/kg per hari setara 2-3 cangkir (1 cangkir =8 oz) walaupun diketahui terjadi peningkatan insulin, pengambilan glukosa tetap menurun walaupun telah berolahraga selama 3 bulan (Lee, 2005).

Kafein dapat menghambat ambilan glukosa otot dan menekan aktivitas glikogen sintase lewat hambatan reseptor adenosin di otot (Kelly, 2003). Pemberian kafein 5 mg/kg per hari berat badan menghasilkan konsentrasi dalam plasma 45 $\mu$ mol/L mampu menekan adenosin reseptor di otot Setelah 1 jam pemberian kafein segera terjadi peningkatan asam lemak bebas. Peningkatan asam lemak bebas akan menghambat ambilan glukosa otot rangka yang distimulasi insulin (Thong, 2002).

Kafein dianggap sebagai antagonis terhadap insulin karena kafein dapat meningkatkan plasma epinefrin dan cAMP intramuskulus. Kafein dosis 3.5 mg/kg per hari dapat meningkatkan epinefrin dan kortisol (Lane, 1990). Kafein dapat menyebabkan pengeluaran katekolamin terutama epinefrin. Epinefrin diketahui sebagai antagonis terhadap aktivitas insulin sehingga terjadi hambatan pada *uptake* glukosa perifer (Keijzers, 2002). Peningkatan epinefrin menghambat transport glukosa ke dalam otot rangka dan menghambat sintesis glikogen yang di stimulasi insulin. Diduga epinefrin meningkatkan stimulasi Gs  $\alpha$  yang sensitive

terhadap sinyal insulin sehingga terjadi penurunan sensitivitas insulin. Bukti yang ada sensitivitas insulin untuk pengambilan glukosa pada otot rangka meningkat setelah *guanin nukleotide-binding protein* (Gs)  $\alpha$  dirusak. Epinefrin juga menghalangi aktivasi insulin pada glikogen sintase. Kafein secara sekunder akan menghalangi ambilan glukosa dan aktivitas glikogen sintase melalui peningkatan epinefrin. Hambatan glikogen sintase akibat kafein berbeda jalur dengan insulin. Insulin melewati jalur hambatan aktivitas GSK-3 $\alpha$ , reseptor tirosin kinase mengaktifkan serine/threonine kinase protein kinase B sering disebut AKT, AKT ini akan menginaktifkan glikogen sintase 3. Efek kafein terhadap pengurangan sensitivitas insulin di otot rangka dapat dikurangi dengan olahraga karena kontraksi otot akan bekerja sinergis dengan insulin untuk meningkatkan GLUT 4 (Thong, 2002), sama dengan pendapat Petrie (2004), bahwa kafein dapat meningkatkan efek insulin untuk absorpsi glukosa.

## 2.10 Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Bahan yang dipakai untuk pemeriksaan kadar glukosa darah berupa darah lengkap, serum atau plasma. Pada pemeriksaan dengan darah lengkap, konsentrasi eritrosit tinggi sedangkan pada pemeriksaan dengan serum memiliki cairan yang tinggi sehingga lebih banyak glukosa terlarut daripada dalam darah lengkap. Nilai-nilai yang diperoleh dengan menggunakan darah lengkap dikalikan dengan 1,15 untuk menghasilkan kadar glukosa serum atau plasma. Harus pula diperhatikan asal pengambilan bahan. Darah kapiler memberi nilai 7% lebih tinggi dari darah vena pada keadaan puasa, sedangkan 2 jam setelah makan perbedaan ini mencapai  $\pm$  8%. Sampel darah sebaiknya segera diperiksa karena proses

glikolisis terus berjalan. Pada suhu *refrigerator*, glukosa relatif stabil untuk beberapa jam dalam sampel darah. Pada temperatur ruang (25°C), terjadi kehilangan glukosa sekitar 1-2 % per jam. Beberapa antikoagulan misal *Fluoride top (gray-top)* dapat menghambat proses glikolisis pada suhu kamar. Nilai satuan untuk pemeriksaan kadar glukosa darah adalah mg/ dL atau mmol, untuk menjadikan mmol dari mg/dL hasil dibagi dengan 18 atau kalikan dengan 0,055. Cara yang dianjurkan adalah cara enzimatik, dan yang banyak digunakan dalam laboratorium adalah cara glukosa oksidase (Sacher, 2004). Secara umum metode penentuan kadar glukosa darah ada beberapa cara yaitu:

#### 1. Metode Kondensasi Gugus Amin

Metode ini pada prinsipnya : aldosa dikondensasi dengan ortotoluidin dalam suasana asam , setelah dipanaskan akan menghasilkan larutan berwarna hijau. Kadar glukosa ditentukan sesuai dengan intensitas warna yang terjadi. Pengukuran intensitas warna ini dengan menggunakan alat spektrofotometri.

#### 2. Metode Enzimatik

Glukosa ditentukan dengan penambahan enzim glukosa oksidase atau heksokinase. Glukosa akan mengalami oksidasi dengan bantuan enzim menjadi asam glukoronat disertai dengan pembentukan  $H_2O_2$  dengan bantuan enzim peroksidase,  $H_2O_2$  akan membebaskan  $O_2$ .  $O_2$  yang terbentuk akan mengoksidasi akseptor kromogen yang sesuai serta menghasilkan intensitas warna tertentu. Kadar glukosa diketahui dengan mengukur intensitas warna yang terjadi dengan alat *automated chemistry analyzer*. Saat ini banyak digunakan alat pengukur kadar glukosa pribadi yang sangat dipengaruhi oleh keadaan kadar hematokrit, kadar

hematokrit yang tinggi menurunkan hasil pengukuran untuk itu harus dilakukan kalibrasi alat dengan pengukuran glukosa laboratorium (Sacher, 2004).

### 3. Metode Reduksi

Kadar glukosa darah ditentukan dengan cara reduksi dengan menggunakan bahan oksidator. Glukosa dalam suasana basa dipanaskan akan menghasilkan ferrosianida. Kelebihan garam feri dititrasi secara iodometri. sehingga menghasilkan warna tertentu dengan metode reduksi kadar glukosa dapat lebih tinggi 5 -15 mg/dL dibandingkan dengan metode enzimatik (Sacher, 2004).

#### 2.11 Hewan Coba Tikus

Tikus merupakan hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian laboratorium selain mencit. Jenis tikus yang sering dipakai adalah *Rattus Norvegicus strain Wistar*. Ukuran tubuh tikus ini lebih besar daripada mencit, membuat tikus lebih disukai untuk penelitian. Berbeda dengan hewan coba lainnya tikus tidak pernah muntah. Pada umur 2-3 bulan (usia pubertas), berat badannya dapat mencapai sekitar 150-250 gram. Pada umur dewasa berat badan sekitar 250-500. Tikus tergolong hewan yang mudah dipegang dibandingkan mencit dan tikus kurang fotopobi. Lama hidup sekitar 2,5-3 tahun, kebutuhan air sekitar 8 – 11 ml/100 gram berat badan, kebutuhan makanan sekitar 5 gram/ 100 gram berat badan, pubertas sekitar 50-60 hari, lama bunting 21- 23 hari, glukosa darah tikus 50-135 mg/ dL, kolesterol 10-54 mg/dL, volume kencing sekitar 50-350 ml/kg berat badan/hari ( Farris, 1962; Kusumawati, 2004).

Pada umumnya tikus selalu menggigit jika dipegang, sehingga perlu hati-hati dalam memegang. Hewan ini harus ditangkap pada ekornya kemudian

ditempatkan pada bahan kasar sebagai pegangan kuku kaki tikus, dibiarkan istirahat sejenak, setelah tenang tikus tengkuk dipegang dengan ibu jari dan telunjuk. Pegang ekor dengan jari tangan lain untuk melepas dari cengkeraman kaki pada alas. Walaupun ekornya cukup panjang hendaknya jangan dipegang pada ujungnya tetapi pada setengah bagian dari pangkal ekor tikus ( Farris, 1962; Kusumawati, 2004).

Pemberian bahan penelitian, baik padat maupun cair merupakan teknik penting dalam protocol penelitian. Intubasi lambung dapat memastikan semua materi telah masuk kedalam tubuh. Alat yang dipakai dapat berupa kateter lemas atau sonde. Pemasangan sonde lambung ke dalam oesophagus paling tepat saat hewan coba dalam gerakan menelan dan dengan bantuan alat untuk menekan lidah agar hewan tidak mengigit sonde. Alternative lain dengan memakai jarum yang dimodifikasi, panjangnya sekitar 10 cm ujungnya ditambah bentukan bundar sebagai pengaman saat masuk mulut. Volume maksimal yang dapat diberikan secara oral untuk tikus sekitar 5 ml per 100 gram berat badan tikus.( Farris, 1962; Kusumawati, 2004.)

Pengambilan darah volume besar dapat diperoleh lewat intra kardial, dengan memakai anestesi. Jarum ditusukkan melalui dinding abdomen bagian ventral sedikit di sebelah lateral processus xiphoideus, untuk hewan dewasa jarum ditusukkan melalui dinding thoraks sedikit lateral daerah palpitasi maksimum jantung. Pengambilan darah dari sinus orbitalis dengan cara hewan dipegang dengan ibu jari, jari lain menekan vena jugularis dibagian kaudal mandibula untuk membendung aliran darah balik. Tarik bagian dorsal kelopak mata ke belakang sehingga nampak sedikit exophthalmus. Penitrasikan ujung kapiler kaca pada

conjunctiva orbitalis hingga terjadi rupture sinus orbitalis biarkan aliran darah memasuki tabung. Aliran darah akan berhenti bila tabung dilepaskan dan tekanan pada vena jugularis dilepaskan. Pengambilan darah lewat ekor mudah dikerjakan dengan mengamputasi ekor namun kerugiannya adalah terjadi bekuan darah sebelum volume yang dikehendaki tercapai beberapa ahli menyarankan untuk menghangatkan ekor terlebih dahulu agar aliran darah meningkat atau dengan menambahkan heparin atau sitrat untuk memperlambat bekuan darah (Farris, 1962 ; Kusumawati, 2004).



**BAB 3**

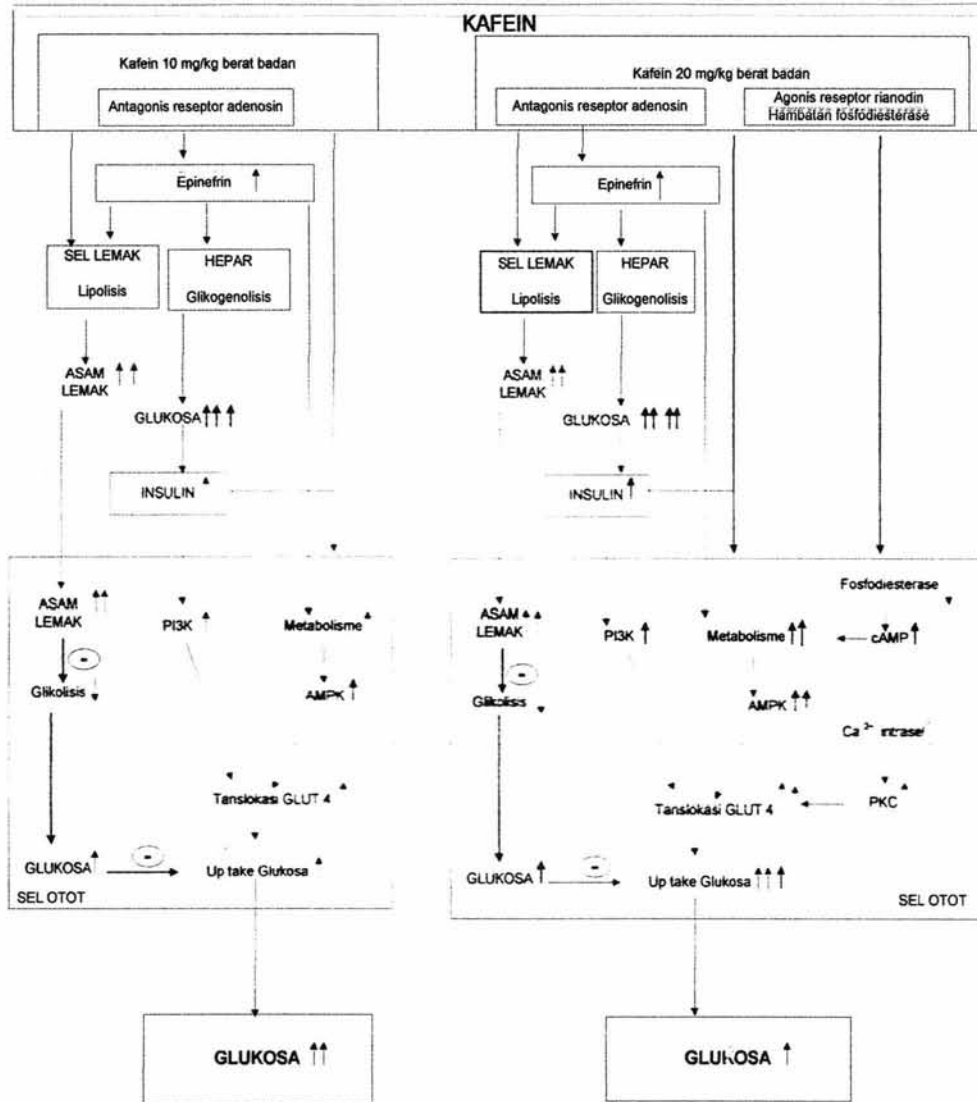
**KERANGKA KONSEPTUAL DAN**

**HIPOTESIS PENELITIAN**

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Hari Pertama



Keterangan gambar

- : Merangsang/meningkatkan.      ↑ : Naik
- ⊖ : Menghambat.                              ↓ : Turun

Kafein berperan dalam perubahan kadar glukosa darah. Pertama, Kafein meningkatkan sistem neuroendrokrin dengan aktivasi *sympathetic adrenal-medullary and pituitary adrenal-cortical axes* (Lane, 1994). Peningkatan kadar epinefrin melalui sistem saraf simpatis akan memicu reseptor adrenergik dipermukaan membran sel dan adenilil siklase untuk mengaktifkan protein G, protein ini berperan dalam aktivitas cAMP. Kedua, kafein bersifat antagonis terhadap reseptor adenosin sehingga akan meningkatkan aktivitas protein G yang terkait dengan adenilil siklase. Ketiga, kafein menghambat fosfodiesterase sehingga konsentrasi cAMP dipertahankan tinggi karena proses degradasi oleh fosfodiesterase berkurang. Keempat, kafein berperan sebagai agonis reseptor rianodin sehingga berperan dalam meningkatkan  $Ca^{2+}$  intrasel (Keijzers, 2002).

Peningkatan c AMP di sel hepar akan merangsang proses glikogenolisis, dengan timbulnya glikogenolisis maka kadar glukosa dalam darah meningkat. Peningkatan c AMP di sel lemak akan merangsang proses lipolisis. Peningkatan asam lemak bebas dalam sel akan menghambat pemakaian glukosa sebagai sumber energi sehingga kadar glukosa darah meningkat (Keijzers, 2002).

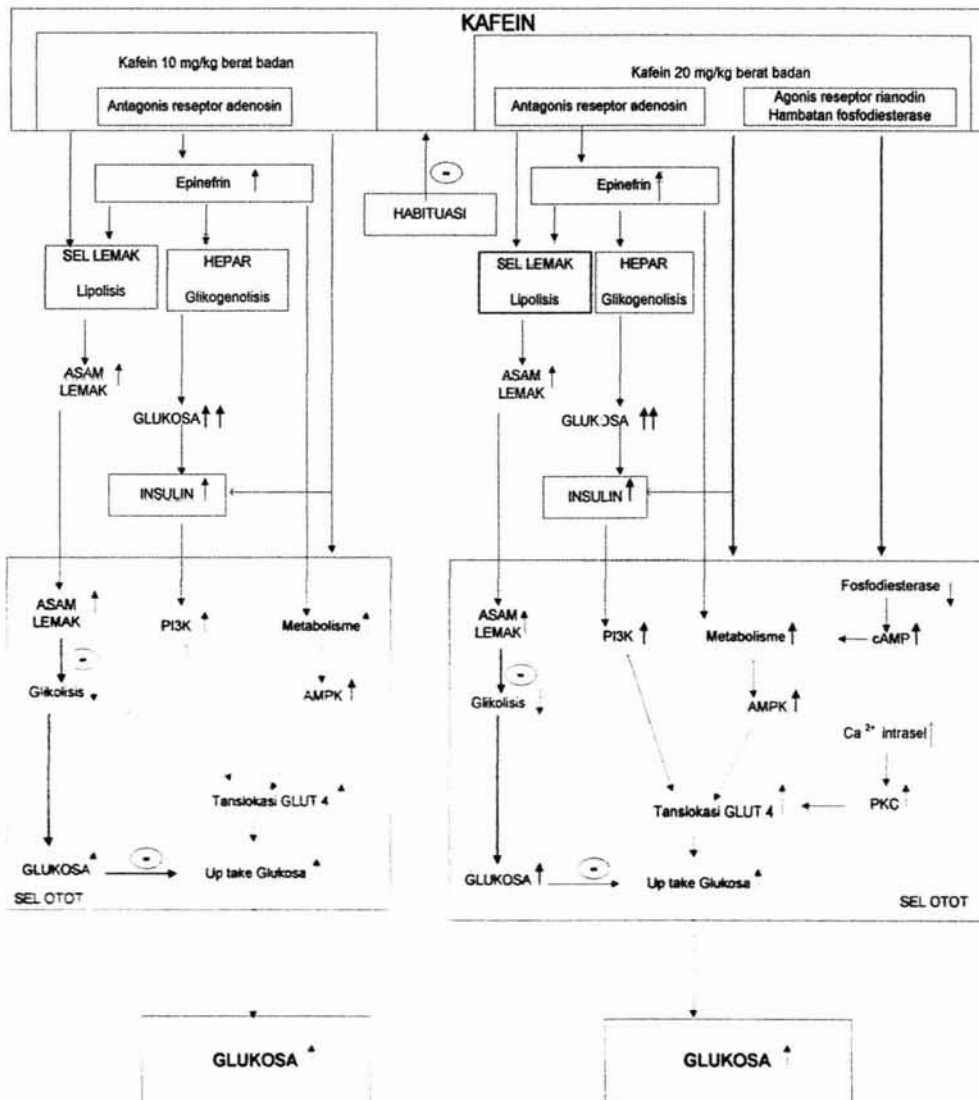
*Uptake* glukosa pada sel otot didukung beberapa faktor antara lain oleh faktor insulin setelah terikat reseptor insulin akan mengalami serangkaian proses aktivasi *phosphoinositide-3 kinase* (PI3 kinase) hingga mendorong vesikel berisi GLUT 4 ke permukaan membran sel ( Shulman, 2000 ). Metabolisme yang tinggi dalam otot akan menurunkan rasio ATP/ADP, menyebabkan aktivasi *5'AMP-activated protein kinase* (AMPK) sehingga memudahkan translokasi

vesikel GLUT 4. Peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel juga akan memudahkan translokasi GLUT 4 melalui jalur protein kinase C (PKC) (Rose, 2005).

Pada pemberian kafein dosis kecil (10 mg/kg berat badan tikus) hanya berpengaruh pada reseptor adenosin, sehingga respon terhadap *uptake* glukosa kecil dibandingkan dengan kafein besar. *Uptake* glukosa yang rendah akan berdampak glukosa dalam darah tetap tinggi. Pada penggunaan kafein dosis besar (20 mg/kg berat badan tikus) selain merangsang reseptor adenosin juga mampu merangsang reseptor rianodin dan menghambat fosfodiesterase (Fredhlo, 1999) sehingga efek pada metabolisme lebih besar. Metabolisme yang tinggi di sel otot rangka metabolisme akan mengurangi jumlah ATP yang tersedia sehingga merangsang *uptake* glukosa lebih besar. *Uptake* glukosa ini dibantu oleh peningkatan insulin lebih banyak akibat rangsangan kafein dosis besar Hal ini memungkinkan kadar glukosa yang semula naik akibat rangsangan epinefrin pada hepar menjadi normal kembali setelah *uptake* sel otot diaktifkan (Doyle, 2003 ).

Efek akhir kafein pada kadar glukosa darah adalah gabungan dari kejadian di atas sehingga didapatkan kadar glukosa darah lebih tinggi pada pemberian kafein 10 mg/kg berat badan dibandingkan dengan pemberian kafein kafein 20 mg/kg berat badan.

3.2 Kerangka Konseptual Hari Ketiga



Keterangan gambar

- : Merangsang/meningkatkan.
- : Menghambat.
- ↑ : Naik
- ↓ : Turun

Pemberian kafein dalam waktu lama akan menimbulkan habituasi, proses ini timbul dengan meningkatnya jumlah reseptor adenosin dalam sel dengan akibat respon kafein terhadap sel juga menurun (Peters, 1967; Fredhlom, 1999; Keijzers, 2002). Menurut Peters (1967) habituasi pemberian kafein pada tikus terjadi sekitar hari ketiga. Habituasi terhadap kafein akan menurunkan sekresi epinefrin. Penurunan epinefrin akan berpengaruh pada sel target. Pada sel lemak lipolisis tetap berlangsung tetapi produk asam lemak berkurang. Pada hepar terjadi penurunan glikogenolisis sehingga kadar glukosa yang dihasilkan juga berkurang dibandingkan dengan hari pertama. Pada sel otot, penurunan epinefrin ini akan menurunkan metabolisme dalam sel, hal ini akan mengurangi *uptake* glukosa sehingga glukosa dalam darah akan tetap tinggi. ( Peters, 1967; Fredhlom, 1999; Keijzers, 2002).

Efek akhir kafein pada kadar glukosa darah hari ketiga adalah gabungan dari kejadian di atas sehingga pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus dibandingkan dengan pemberian kafein kafein 20 mg/kg berat badan tikus diperoleh hasil kadar glukosa darah yang sama.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka konseptual penelitian, maka hipotesis dalam penelitian ini ialah :

- a. Pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali meningkatkan kadar glukosa darah.
- b. Pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali meningkatkan kadar glukosa darah.

3. Pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali lebih meningkatkan kadar glukosa darah dibandingkan kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali.
4. Pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral dan kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral pada hari ketiga meningkatkan kadar glukosa darah.

# **BAB 4**

# **METODE PENELITIAN**



## BAB 4

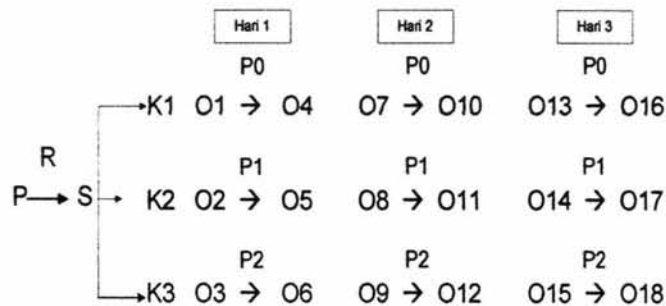
### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan penelitian *Randomized Pretest-Posttest Control Group Design* (Zainuddin, 2000).

Rancangan penelitian ini disusun sebagai langkah untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pengaruh antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol setelah pemberian kafein pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus strain Wistar*).

Secara sistematis, rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut (Zainuddin, 2000).



#### Keterangan

P	: Populasi	O1,O2,O3	: Data hari pertama menit ke 0
R	: Randomisasi	O4,O5,O6	: Data hari pertama menit ke 120
S	: Sampel	O7,O8,O9	: Data hari kedua menit ke 0
K1	: Kelompok kontrol	O10,O11,O12	: Data hari kedua menit ke 120
K2	: Kelompok kafein per oral dosis kecil	O13,O14,O15	: Data hari ketiga menit ke 0
K3	: Kelompok kafein per oral dosis besar	O16,O17,O18	: Data hari ketiga menit ke 120
P0	: Perlakuan kontrol		
P1	: Perlakuan kafein per oral dosis kecil		
P2	: Perlakuan kafein per oral dosis besar		

#### 4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Populasi penelitian adalah seluruh tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) jantan yang diperoleh dari laboratorium Biokimia FK Unair. Sampel penelitian 27 ekor tikus putih jantan yang berumur sekitar 50 – 60 hari dan mempunyai berat sekitar 150 - 250 gram (Farris, 1962; Kusumawati, 2004). Besar sampel yang ditetapkan menurut rumus sebagai berikut

$$\bar{n} = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot Q_d^2}{\delta^2}$$

Untuk grup yang berpasangan (*matching*)  $Q_d^2/\delta^2 = 1$ , sehingga hasilnya adalah

$$n = (Z\alpha + Z\beta)^2 \quad (\text{Pudjirahardjo, 1983})$$

Keterangan :

n = besar sampel

$Q_d$  = simpangan baku.

$\delta$  = beda mean antar kelompok

$Z\alpha$  = deviasi standar satu arah  $\alpha$  0,05 = 1,65

$Z\beta$  = deviasi standar satu arah  $\beta$  0,2 = 0,84

Maka :

$$\begin{aligned} n &= (1,65 + 0,84)^2 \\ &= (2,49)^2 \\ &= 6,2 \rightarrow \text{dibulatkan } 7 \end{aligned}$$

Dari rumus tersebut diperoleh besar sampel untuk tiap kelompok minimal 7 ekor karena selama perlakuan terdapat kemungkinan mati (f) sekitar 20% (Peters, 1967), maka ditambahkan 2 ekor tikus putih jantan sehingga besar sampel keseluruhan adalah 9 ekor tikus putih jantan per kelompok.

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara random karena populasi pada penelitian ini dianggap homogen maka cara random yang digunakan adalah *simple random sampling* (Zainuddin, 2000).

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Klasifikasi variabel

##### a. Variabel bebas

Kafein, dosis kecil (10 mg/kg berat badan tikus) dan dosis besar (20 mg/kg berat badan tikus).

##### b. Variabel tergantung

Kadar glukosa darah.

##### c. Variabel kendali

1. Jenis hewan coba, umur, jenis kelamin dan berat badan hewan coba
2. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba.
3. Waktu perlakuan.
4. Pengambilan sampel.

#### 4.3.2 Definisi operasional variabel

Variabel-variabel yang digunakan pada penelitian ini didefinisikan sebagai berikut :

##### a. Kafein

1. Bahan kafein yang dipakai adalah serbuk kafein *anhydrous* murni.

2. Kafein dosis kecil yang dimaksud adalah pemberian kafein 10 mg/kg berat badan/2,5 ml/hari peroral satu kali. Patokan yang diambil adalah asumsi umum 2-3 cangkir kopi setara dengan dosis pemberian kafein 250 mg pada manusia dengan berat badan 70 kg ( 3,5 mg /kg berat badan manusia). Pada tikus dosis 10 mg/kg berat badan tikus sebanding dengan 3,5 mg /kg berat badan manusia (Fredhlom, 1999).
  3. Kafein dosis besar yang dimaksud adalah pemberian kafein 20 mg/kg berat badan/ 2,5 ml/hari peroral satu kali. Patokan yang diambil adalah dosis toksik minimal manusia 5 mg/kg per hari setara dengan tikus 25-50 mg/kg per hari ( Peters, 1967). Pada penelitian ini digunakan dosis kurang dari 25 mg/kg/hari untuk menghindari resiko toksik pada hewan coba.
  4. Lama pemberian kafein 3 hari berturut-turut karena pada penelitian sebelumnya terjadi habituasi penggunaan kafein pada tikus pada hari ketiga (Peters, 1967).
  5. Larutan kafein diencerkan hingga mencapai 2,5 ml dengan Aqua untuk membuat keadaan yang sama pada semua kelompok.
  6. Pemberian kafein peroral dipilih untuk membuat keadaan seperti rute pemakaian kafein sehari-hari pada manusia.
  7. Pemberian larutan kafein diberikan satu kali peroral untuk mengurangi stres pada hewan coba.
- b. Kadar glukosa darah

Kadar glukosa darah yang dimaksud adalah kadar glukosa darah yang diambil sebelum perlakuan dan pada 120 menit setelah perlakuan.

Pengukuran kadar glukosa darah dengan glukometer, memakai satuan mg/dL.

c. Jenis hewan coba, umur dan jenis kelamin

Jenis hewan coba yaitu tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus strain Wistar*) jantan, umur tikus putih jantan sekitar 50 – 60 hari dengan berat badan sekitar 150-250 gram (Farris, 1962; Kusumawati, 2004).

d. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di tempat yang sama (Laboratorium Biokomia FK Unair) dan kondisi kandang sama serta makanan standar dan minum air PAM.

e. Waktu perlakuan

Waktu perlakuan dimulai pada waktu yang sama setiap harinya yaitu pada pukul 08.00 WIB selama tiga hari berturut-turut.

f. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel darah diambil dari setetes darah sayatan ujung ekor tikus putih jantan. Sayatan ujung ekor tikus seminimal mungkin untuk menghindari terjadinya rasa nyeri yang berlebihan. Rasa nyeri dianggap sebagai stress akan merangsang aktifitas simpatis endogen pada ujung-ujung saraf simpatis yang memproduksi norepinefrin, merangsang sel kromafin medula kelenjar adrenal untuk sekresi epinefrin yang dilepaskan ke aliran darah dan merangsang korteks adrenal yang memproduksi kortisol sehingga dapat berdampak pada peningkatan kadar glukosa darah (Guyton, 2000).

Waktu pengambilan sampel segera setelah ekor tikus disayat untuk mewakili menit ke 0 (*pretest*) dan menit ke 120 (*posttest*) setelah pemberian perlakuan untuk semua kelompok selama tiga hari. Waktu pengambilan sampel kadar glukosa darah ditetapkan dua jam setelah pemberian kafein peroral berdasarkan penelitian Lane (2004), kafein meningkatkan kadar glukosa setelah 1 hingga 2 jam sebesar 21% dari kadar awal.

g. Berat badan tikus putih jantan.

Berat badan pada tikus putih jantan umur 50-60 hari yaitu sekitar 150-250 gram (Kusumawati, 2004) yang diukur dengan timbangan torbal (*Torsion Balance*), dalam satuan gram dengan ketelitian satu angka dibelakang koma.

#### 4.4 Bahan Penelitian

##### 4.4.1 Hewan coba

Hewan coba diperoleh dari penangkaran tikus putih di laboratorium Biokimia FK Unair, umur sekitar 3 bulan, berat badan sekitar 150-250 gram, jenis kelamin jantan.

##### 4.4.2 Makanan dan minum hewan coba

Pakan yang diberikan adalah makanan ternak *ad libitum* jenis Hi-Pro-Vite 524-2 (PT Japfa Comfeed Indonesia, Sidoarjo) berbentuk pelet dari bahan jagung, dedak, tepung ikan, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung daging dan tulang, pecahan gandum, bungkil kacang tanah, kanola,

tepung daun, vitamin, kalsium, fosfat dan *trace mineral*. Analisis: Kadar air 13%, protein 18-19%, lemak 3%, serat 6%, abu 12%, kalsium 3,7%, fosfor 0,6%. Air untuk minum harian dari Perusahaan Air Minum (PAM) ditempatkan dalam botol yang dilengkapi selang kecil.

#### 4.4.3 Bahan perlakuan

Bahan yang digunakan pada hewan coba adalah :

- a. Serbuk kafein *anhydrous* murni, *CAT No. 150114, LOT No. 2909F, MP Biomedical Inc.*
- b. Aqua
- c. Alkohol 70%
- d. *Povidone iodine* cair

#### 4.4.4 Bahan pemeriksaan

Sampel darah diperoleh dari setetes darah ekor tikus.

### 4.5 Instrumen Penelitian

#### 4.5.1 Alat untuk perlakuan tikus putih jantan

- a. Kandang tempat pemeliharaan
- b. Botol untuk tempat minum.
- c. Tempat makanan.
- d. Sonde (*feeding tube* no.8), untuk pemberian larutan kafein peroral dan Aqua.
- e. Pisau steril untuk menyayat ujung ekor tikus.

- f. Spuit 3 ml.
- g. Botol untuk tempat campuran kafein dan Aqua.
- h. Timbangan torsion balance untuk mengukur berat badan tikus.
- i. Timbangan elektrik merk *Scout pro* SPS202F SN 7123332588 *max.* 200 gram ketelitian 0,01 gram, *Ohaus Corporation, Pinebrook, NJ USA*, untuk menimbang serbuk kafein.
- j. Kapas steril
- k. *Waterbath*

#### 4.5.2 Alat pemeriksaan kadar glukosa darah

- a. Glukometer merk *Easy Touch* model ET-1 SN: G77A002753, *Bioptik Technology Inc.* Range pengukuran 20 – 600 mg/dL, volume sampel sekitar 0,4 ml.
- b. *Blood glucose test strips* merk *Easy Touch* Code 2109, Lot. no. GS070717A.

#### 4.5.3 Cara Pembuatan larutan kafein

Kafein dilarutkan dalam Aqua, sebagai patokan pemberian Aqua pada tikus maksimal adalah 5 ml / 100 gram berat tikus (Kusumawati, 2004). Penelitian ini menggunakan 2,5 ml sebagai patokan untuk tiap ekor tikus. Cara pembuatan larutan kafein yaitu kafein 90 mg dilarutkan dalam 45 ml Aqua, diaduk hingga kafein larut sempurna dengan sedikit pemanasan dalam *waterbath*. Larutan kafein tersebut dalam 1 ml mengandung 2 mg kafein. Contoh pada kelompok 2 menggunakan



patokan pemberian kafein 10 mg/kg berat tikus per hari misalnya diperoleh berat badan tikus 200 gram maka diberikan 2 mg kafein. Larutan kafein yang sudah disiapkan diambil 1 ml kemudian ditambahkan Aqua hingga mencapai 2,5 ml.

#### **4.6 Prosedur Penelitian**

##### **4.6.1 Lokasi dan waktu penelitian**

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia FK Unair untuk pemeliharaan, perlakuan hewan coba dan pengambilan sampel darah. Waktu penelitian diawali bulan Oktober 2007 selesai bulan Nopember 2007.

##### **4.6.2 Persyaratan etik penelitian**

Implikasi etik pada tikus putih jantan sebagai hewan coba mengikuti *animals ethic* dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hal yang perlu dilaksanakan sesuai dengan etik antara lain perawatan hewan coba dalam kandang, pemberian makan minum, aliran udara ke dalam ruang kandang, perlakuan saat penelitian, pengambilan unit analisis penelitian dan pemusnahannya. Etik penelitian pada hewan coba yaitu penggunaan hewan laboratorium hanya diijinkan bila perlu dan hanya dengan perlakuan yang baik.

#### 4.6.3 Pemeliharaan dan pembagian kelompok hewan coba

##### a. Pemeliharaan hewan coba

Hewan coba ditimbang awal sebelum diberikan perlakuan, dan dilakukan seleksi kesehatan ditandai dengan gerakan aktif hewan coba, bulu tidak kusam, merespon rangsangan di sekeliling lingkungan kemudian diaklimatisasi selama 1 minggu dalam kondisi laboratorium, di laboratorium Biokimia FK Unair. Tikus putih jantan dipelihara pada kandang yang ditutup kawat kasa dan dilengkapi dengan tempat makan-minum serta beralaskan sekam. Kebersihan kandang dijaga dengan mengganti sekam tiap 2 hari. Kesehatan fisik hewan coba diperiksa ulang setelah aklimatisasi satu minggu dengan kriteria sama seperti diatas, jika terjadi penurunan lebih dari 10 % berat badan awal maka tikus terpaksa tidak diikutkan dalam sampel.

##### b. Pembagian kelompok hewan coba

Pembagian kelompok hewan coba dilakukan secara acak menjadi 3 kelompok yaitu : kelompok kontrol dengan pemberian Aqua 2,5 ml peroral perhari satu kali, kelompok dengan pemberian kafein 10 mg/kg berat badan /hr peroral perhari satu kali dan kelompok dengan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan /hr peroral perhari satu kali. Masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus putih jantan umur 50 – 60 hari dengan berat sekitar 150 - 250 gram.

#### 4.6.4 Cara perlakuan hewan coba

Semua hewan coba tanpa dipuasakan diambil satu persatu untuk dilakukan penimbangan berat badan tikus pada semua kelompok sebelum diberikan perlakuan. Menghitung dosis kafein sesuai berat badan tikus untuk diberikan pada kelompok 2 dan 3. Aqua dan kafein diberikan per oral lewat sonde (*feeding tube*) no. 8.

Kadar glukosa darah diambil dengan teknik glukosa sewaktu/ acak yaitu kadar glukosa darah tanpa puasa. Kadar glukosa darah diambil dari sayatan ujung ekor tikus putih jantan. Cara pengambilan sampel darah yaitu ekor tikus disterilkan dengan alkohol, ekor disayat, darah diteteskan pada alat pemeriksaan glukosa darah. Perdarahan yang terjadi dirawat. Bekas sayatan dirawat dengan antiseptik *povidone iodine* (Farris, 1962 ). Sayatan ekor secukupnya pada menit ke 0 dan menit ke 120 setelah perlakuan, prosedur ini dilakukan pada semua kelompok tiga hari berturut-turut.

#### 4.7 Pengumpulan Data

Pengambilan sampel darah sesaat setelah ekor tikus disayat dan setelah 120 menit pemberian kafein, dilakukan tiga hari berturut-turut.

#### 4.8 Rancangan Analisis Data

Data penelitian diolah dengan SPSS 10 dengan tingkat signifikansi 5%.

Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan :

1. Uji Deskriptif untuk mengetahui gambaran karakteristik variabel

2. Uji Normalitas Distribusi.
3. Uji ANOVA data glukosa awal dan variabel berat badan.
4. Uji ANOVA satu arah untuk membuktikan perbedaan kelompok perlakuan.
5. Uji ANOVA sama subyek untuk masing-masing kelompok antar waktu.

#### 4.9 Bagan Penelitian



**BAB 5**  
**HASIL PENELITIAN**

**BAB 5****HASIL PENELITIAN**

Hasil penelitian tentang perubahan kadar glukosa darah terbagi menjadi tiga bagian yaitu peningkatan kadar glukosa darah pada hari pertama, peningkatan kadar glukosa darah pada hari ketiga, peningkatan kadar glukosa darah selama tiga hari. Data-data kadar glukosa tersebut diambil menurut rerata beda yaitu rerata kadar glukosa darah sebelum perlakuan dan setelah perlakuan.

**5.1 Peningkatan Kadar Glukosa Darah pada Hari Pertama****5.1.1 Hasil analisis deskriptif**

Data awal penelitian ini dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut

Tabel 5.1 Data awal berat badan, kadar glukosa darah, dan beda pada setiap kelompok hari pertama.

	Berat badan (gram)	Kadar glukosa darah		
		Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dl)
Kelompok Kontrol	230	103	88	-15
	232	138	97	-41
	162	85	97	12
	174	101	95	-6
	200	76	72	-4
	222	72	83	11
	214	99	99	0
	197	106	102	-4
	170	88	86	-2

	Berat badan (gram)	Kadar glukosa darah		
		Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dl)
Kelompok Kafein 10 mg/kg	197	93	118	25
	230	102	108	6
	197	90	113	23
	210	111	134	23
	202	86	111	25
	220	124	166	42
	220	93	115	22
	215	85	122	37
	213	83	106	23

	Berat badan (gram)	Kadar glukosa darah		
		Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dl)
Kelompok Kafein 20 mg/kg	207	114	106	-8
	200	101	92	-9
	152	103	93	-10
	187	85	122	37
	189	94	88	-6
	210	101	102	1
	200	103	113	10
	215	128	92	-36
	210	98	86	-12

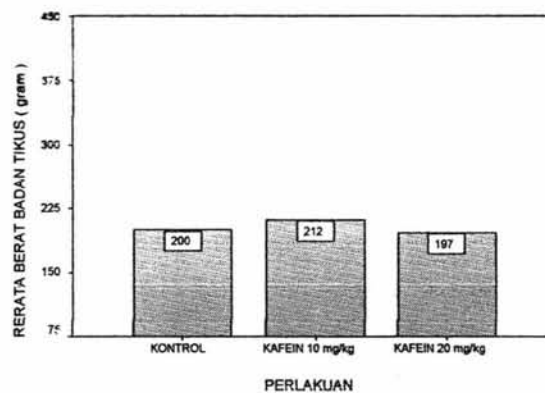


Tabel 5.2 Statistik deskriptif berat badan, kadar glukosa darah menurut kelompok perlakuan hari pertama.

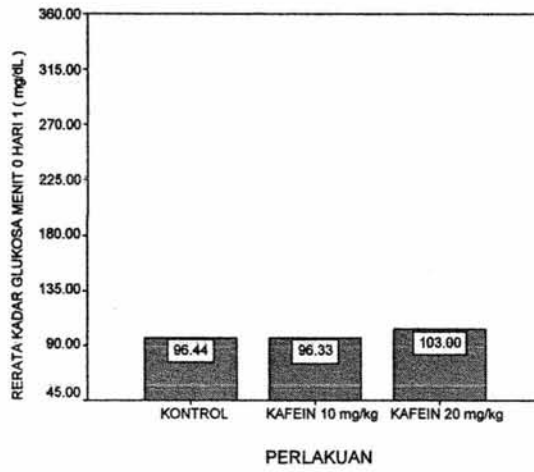
Perlakuan		Berat badan tikus (gram)	Kadar glukosa darah (mg/dL)		
			Menit 0 hari 1	Menit 120 hari 1	Rerata beda*
K1	Rata-rata	200,11	96,44	91,00	-5,44
	Std. Deviasi	26,54	19,70	9,57	15,72
	N	9	9	9	9
K2	Rata-rata	211,56	96,33	121,44	25,11
	Std. Deviasi	11,26	13,64	18,70	10,09
	N	9	9	9	9
K3	Rata-rata	196,67	103,00	99,33	-3,67
	Std. Deviasi	19,26	12,17	12,28	19,59
	N	9	9	9	9

## Keterangan

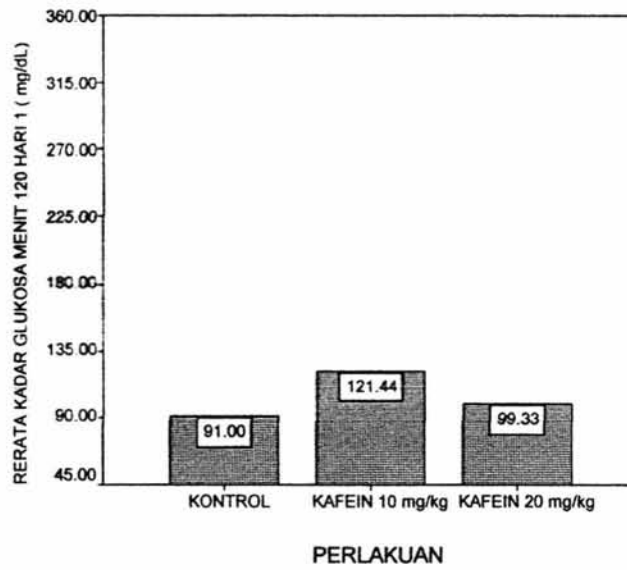
1. K1 = Pemberian air kemasan 2,5 ml per oral satu kali/ hari
2. K2 = Pemberian kafein 10 mg/ kgBB/ 2,5 ml/ hr peroral satu kali
3. K3 = Pemberian kafein 20 mg/ kgBB/ 2,5 ml/ hr peroral satu kali
4. *Superscript* / rerata beda adalah selisih kadar glukosa darah menit 120 (posttest) dengan menit 0 (pretest).
5. Satuan berat badan adalah gram, kadar glukosa darah milligram/ desi liter (mg/dL).



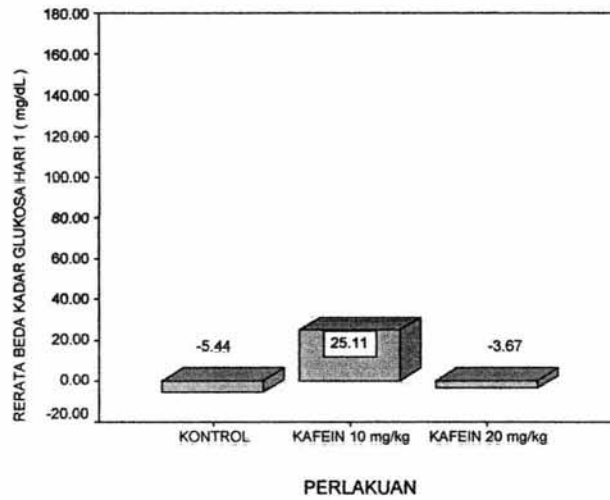
Gambar 5.1 Diagram batang rata-rata berat badan tikus pada hari pertama menurut kelompok perlakuan.



Gambar 5.2 Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah menit 0 pada hari pertama menurut kelompok perlakuan.



Gambar 5.3 Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah menit 120 pada hari pertama menurut kelompok perlakuan.



Gambar 5.4 Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah pada hari pertama menurut kelompok perlakuan.

Hasil analisis deskriptif variabel tergantung dapat dilihat pada tabel 5.2. Data analisis deskriptif selengkapnya terdapat dalam lampiran 1.

### 5.1.2 Hasil uji normalitas distribusi

Tabel 5.3 Hasil uji normalitas distribusi menurut Kolmogorof-Smirnov hari pertama.

Kelompok	Statistik	Rerata beda kadar glukosa darah (mg/dl)	Berat badan (Gram)
K1	KS Z	0,79	0,51
	Probabilitas	0,56	0,96
K2	KS Z	0,85	0,41
	Probabilitas	0,47	0,99
K3	KS Z	0,67	0,71
	Probabilitas	0,76	0,70

Hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov test* menunjukkan data seluruh kelompok berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Hasil uji normalitas distribusi selengkapnya pada lampiran 1.

## 5.1.3 Hasil uji anova satu arah variabel moderator dan kadar glukosa darah awal

Tabel 5.4 Nilai uji anova satu arah antara berat badan dan kadar glukosa darah menit 0 (pretest) dengan setiap kelompok hari pertama.

Kelompok		Variabel	
		Berat badan (gram)	Kadar glukosa darah menit ke 0 (mg/dl)
K1	Rerata	200,11	96,44
	SD	26,54	19,70
K2	Rerata	211,56	96,33
	SD	11,26	13,64
K3	Rerata	196,67	103
	SD	19,26	12,17
<i>One way anova</i>		F= 1,365 p= 0,275	F= 0,545 p= 0,587

Hasil analisis menunjukkan variabel berat badan dengan kelompok didapatkan F= 1,365 dan p=0,275 ( $p > 0,05$ ), variabel kadar glukosa darah menit ke 0 hari pertama dengan kelompok didapatkan F= 0,545 dan p=0,587 ( $p > 0,05$ ).

Tabel 5.5 Nilai uji rerata beda kadar glukosa darah hari pertama pada setiap Kelompok.

Kelompok	Kadar glukosa darah hari pertama (mg/dL)		<i>one way Anova</i>
	Rerata beda	SD	
K1	-5,44	15,72	F= 10,841 p =0,000
K2	25,11	10,09	
K3	=3,67	19,59	

Uji anova satu arah rerata beda kadar glukosa hari pertama antar kelompok didapatkan F= 10,841 dan p=0,000 ( $p < 0,05$ ). Hasil uji anova satu arah selengkapnya pada lampiran 1.

Tabel 5.6 Nilai uji komparasi ganda rerata beda kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan pada hari pertama.

Perlakuan	Perlakuan	Beda rata-rata (mg/dL)	p
Kontrol	Kafein 10 mg/kg bb	-30,556	0,000*
	Kafein 20 mg/kg bb	-1,778	0,811
Kafein 10 mg/kg bb	Kafein 20 mg/kg bb	28,778	0,001*

Keterangan: *Superscript* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Uji dilanjutkan dengan uji komparasi ganda dengan Beda Nyata Terkecil (BNT) atau *Least Significant Difference* (LSD) untuk mendapatkan kelompok yang berbeda, didapatkan bahwa antara kelompok kontrol dengan kelompok kafein 10 mg/kg berat badan  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ), antara kelompok kafein 10 mg/kg berat badan dengan kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ). Pada kelompok kontrol dan kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $p=0,811$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji komparasi ganda dengan LSD selengkapnya pada lampiran 1.

Tabel 5.7 Nilai uji rerata beda kadar glukosa darah awal dan sesudah perlakuan pada hari pertama tiap kelompok.

	MENIT 0	MENIT 120	Rata-rata	SD	t	p
K1	96,44	91,00	-5,44	15,72	1,04	0,329
K2	96,33	121,44	25,11	10,09	7,46	0,000*
K3	103,00	99,33	-3,67	19,59	0,56	0,590

Keterangan: *Superscript* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Data kelompok pada hari pertama dilakukan uji beda sebelum dan sesudah perlakuan, diperoleh hasil data kadar glukosa darah awal dan sesudah perlakuan kontrol  $p=0,329$  ( $p>0,05$ ), kafein 10 mg/kg berat badan dengan  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ), dan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan  $p=0,590$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji t data berpasangan selengkapnya pada lampiran 1

## 5.2 Peningkatan Kadar Glukosa Darah Pada Hari Ketiga

### 5.2.1 Hasil analisis deskriptif

Tabel 5.8 Data awal kadar glukosa, dan beda pada setiap kelompok hari ketiga.

	Kadar glukosa darah (mg/dL)		
	Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dL)
	Kelompok Kontrol	91	86
118		90	-28
116		134	18
103		117	14
107		102	-5
99		110	11
116		95	-21
110		101	-9
98		120	22

	Kadar glukosa darah (mg/dL)		
	Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dL)
	Kelompok Kafein 10 mg/kg	106	110
112		127	15
117		144	27
97		94	-3
108		127	19
104		98	-6
130		128	-2
101		100	-1
113		112	-1

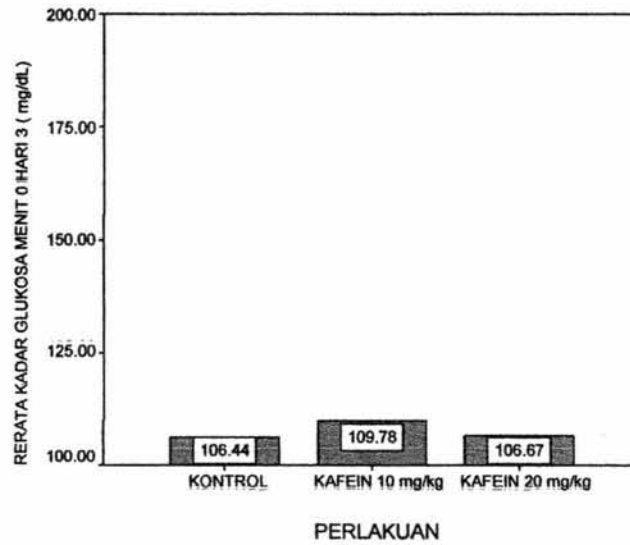
	Kadar glukosa darah (mg/dL)		
	Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dL)
	Kelompok Kafein 20mg/kg	106	113
	106	124	18
	105	99	-6
	114	118	4
	107	98	-9
	98	107	9
	118	100	-18
	112	109	-3
	94	116	22

Tabel 5.9 Nilai rerata beda kadar glukosa darah dan standart deviasi variabel tergantung pada tiap kelompok hari ketiga.

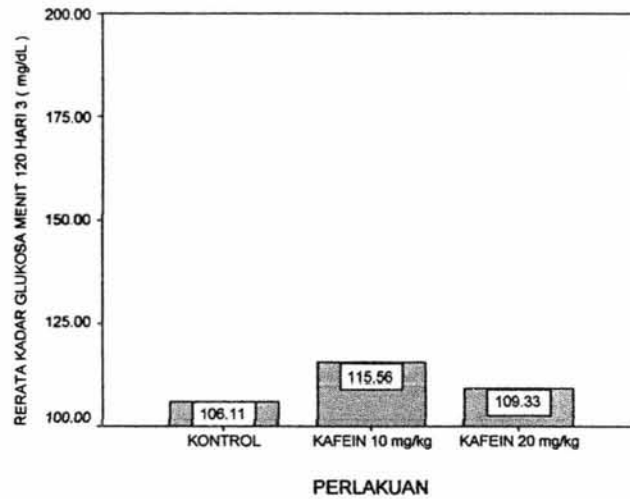
Perlakuan		Kadar glukosa darah (mg/dl)		
		Menit 0 hari 3	Menit 120 hari 3	Beda
Kontrol	Rata-rata	106,44	106,11	-0,33
	Standart deviasi	9,40	15,55	17,61
	N	9	9	9
Kafein 10 mg/kg	Rata-rata	109,78	115,56	5,78
	Standart deviasi	9,80	16,90	11,63
	N	9	9	9
Kafein 20 mg/kg	Rata-rata	106,67	109,33	2,67
	Standart deviasi	7,50	9,19	12,94
	N	9	9	9

Keterangan

- 1 K1 = Pemberian air kemasan 2,5 ml per oral satu kali/ hari
- 2 K2 = Pemberian kafein 10 mg/ kgBB/ 2,5 ml/ hr peroral satu kali
- 3 K3 = Pemberian kafein 20 mg/ kgBB/ 2,5 ml/ hr peroral satu kali
- 4 *Superscript* Beda adalah selisih kadar glukosa darah menit 120 (posttest) dengan menit 0 (pretest).
- 5 Satuan: kadar glukosa darah milligram/ desi liter (mg/dL).

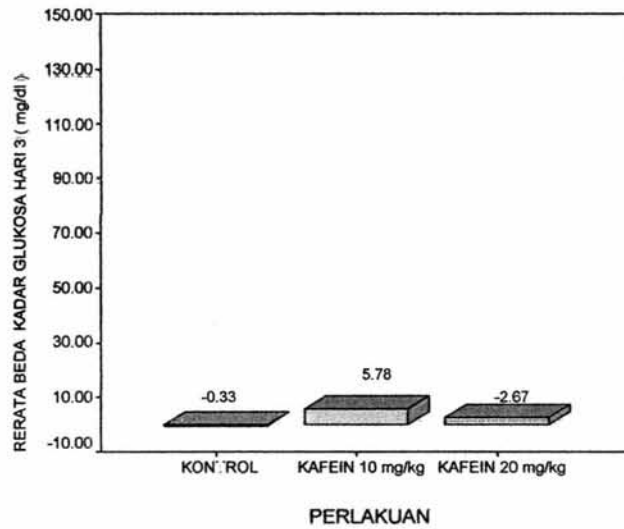


Gambar 5.5 Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah menit 0 pada hari ketiga menurut kelompok perlakuan



Gambar 5.6 Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah menit 120 pada hari ketiga menurut kelompok perlakuan.





Gambar 5.7 Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah pada hari ketiga menurut kelompok perlakuan

Pada statistik deskriptif hasil rerata beda kadar glukosa darah hari ketiga pada kelompok kontrol didapatkan  $-0,33 \pm 17,61$  mg/dL, pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan  $5,78 \pm 11,63$  mg/dL dan pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $2,67 \pm 12,94$  mg/dL.

### 5.2.2 Hasil uji normalitas distribusi

Tabel 5.10 Hasil uji normalitas distribusi menurut kolmogorof-smirnov hari Ketiga.

Kelompok	Statistik	Rerata Beda Kadar Glukosa Darah
K1	KS Z	0,554
	Probabilitas	0,919
K2	KS Z	0,827
	Probabilitas	0,501
K3	KS Z	0,341
	Probabilitas	1,000

Hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov test* menunjukkan data seluruh kelompok tentang rerata beda kadar glukosa darah  $p > 0,05$ . Hasil uji normalitas distribusi selengkapnya pada lampiran 1

### 5.2.3 Hasil uji anova

Tabel 5.11 Hasil uji anova rerata beda kadar glukosa darah hari ketiga antar Kelompok.

Kelompok	Kadar glukosa darah hari ketiga (mg/dL)		<i>One way anova</i>
	Rerata beda	SD	
K1	-0,33	17,61	F= 0,411 p= 0,667
K2	5,78	11,63	
K3	2,67	12,94	

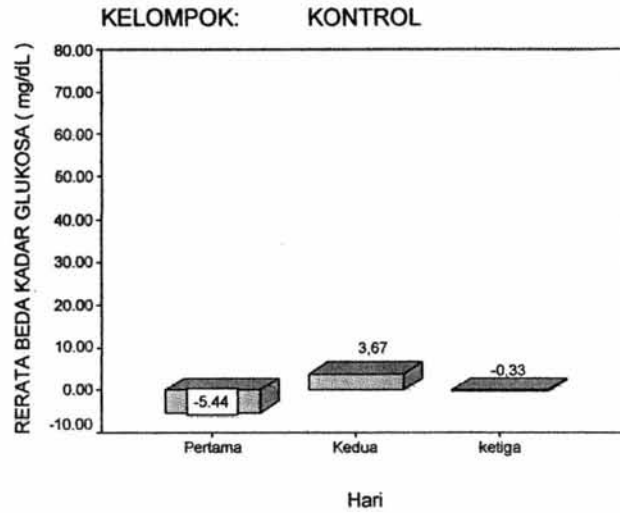
Data selanjutnya dilakukan uji anova satu arah pada rerata beda kadar glukosa hari ketiga antar kelompok, didapatkan hasil  $p=0,667$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji anova selengkapnya pada lampiran 1.

## 5.3 Peningkatan Kadar Glukosa Darah Selama Tiga Hari

### 5.3.1 Hasil uji anova dua arah pada kelompok kontrol

Tabel 5.12 Nilai rerata beda dan standart deviasi harian pada kelompok kontrol.

Kelompok		Variabel kadar glukosa darah		
		Hari 1 (mg /dL)	Hari 2 (mg /dL)	Hari 3 (mg/dL)
K <sub>0</sub> (kontrol)	Rerata beda	-5,44	3,67	-0,33
	SD	15,72	17,76	17,61



Gambar 5.8 Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah harian pada kelompok kontrol.

Pada statistik deskriptif rerata beda kadar glukosa darah kelompok kontrol didapatkan hasil pada hari pertama  $-5,44 \pm 15,72$  mg/dL, hari kedua  $3,67 \pm 17,76$  dan pada hari ketiga  $-0,33 \pm 17,61$  mg/dL.

Tabel 5.13 Hasil uji anova sama subyek rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kontrol.

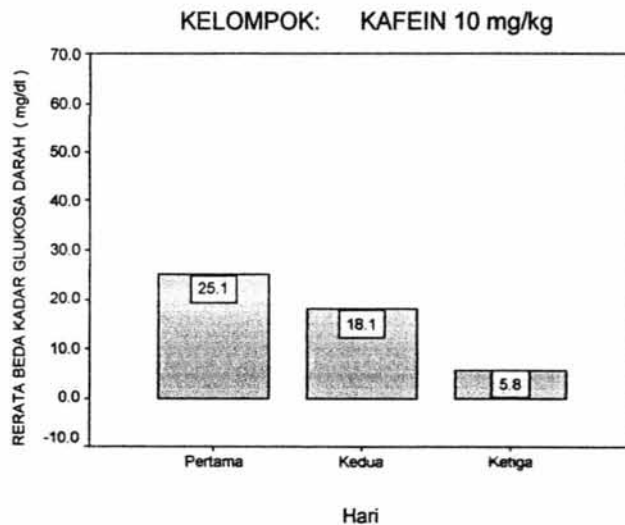
Kelompok		Variabel kadar glukosa darah			Two way anova
		Hari 1 (mg /dL)	Hari 2 (mg /dL)	Hari 3 (mg/dL)	
K <sub>0</sub> (kontrol)	Rerata beda	-5,44	3,67	-0,33	F= 0,658 p= 0,531
	SD	15,72	17,76	17,61	

Uji anova sama subyek antar hari perlakuan didapatkan hasil  $p= 0,531$  ( $p>0,05$ ).

## 5.3.2 Hasil uji anova dua arah pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan

Tabel 5.14 Nilai rerata beda dan standart deviasi harian pada kelompok kontrol.

Kelompok		Variabel kadar glukosa darah		
		Hari 1 (mg /dL)	Hari 2 (mg /dL)	Hari 3 (mg/dL)
K <sub>1</sub> (kafein 10 mg/kg bb)	Rerata beda	25,11	18,11	5,78
	SD	10,09	21,60	11,63



Gambar 5.9 Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah harian pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.

Data statistik deskriptif pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan didapatkan hasil pada hari pertama  $25,11 \pm 10,09$ , hari kedua  $18,11 \pm 21,60$  dan hari ketiga  $5,78 \pm 11,63$

Tabel 5.15 Hasil uji anova sama subyek rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.

Kelompok		Variabel kadar glukosa darah			Two way anova
		Hari 1 (mg /dL)	Hari 2 (mg /dL)	Hari 3 (mg/dL)	
K <sub>I</sub> (kafein 10 mg/kg bb)	Rerata beda	25,11	18,11	5,78	F= 3,75 P= 0,046
	SD	10,09	21,60	11,63	

Uji anova sama subyek antar hari perlakuan didapatkan hasil  $p = 0,046$  ( $p < 0,05$ ).

Tabel 5.16 Hasil uji komparasi ganda rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.

Kafein 10 mg/kg bb	Kafein 10 mg/kg bb	p
Hari 1	Hari 2	0,471
	Hari 3	0,014*
Hari 2	Hari 3	0,051

Keterangan: *Superscript* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna

Data selanjutnya dilakukan uji komparasi ganda, didapatkan bahwa kelompok hari pertama dan hari ketiga dengan  $p = 0,014$  ( $p < 0,05$ ), pada kelompok hari pertama dan kedua  $p = 0,471$  ( $p > 0,05$ ) dan pada kelompok hari kedua dan ketiga dengan  $p = 0,051$  ( $p > 0,05$ ).

Tabel 5.17 Hasil uji beda kadar glukosa darah menit 0 dan 120 selama tiga hari kelompok kafein 10 mg/kg berat badan.

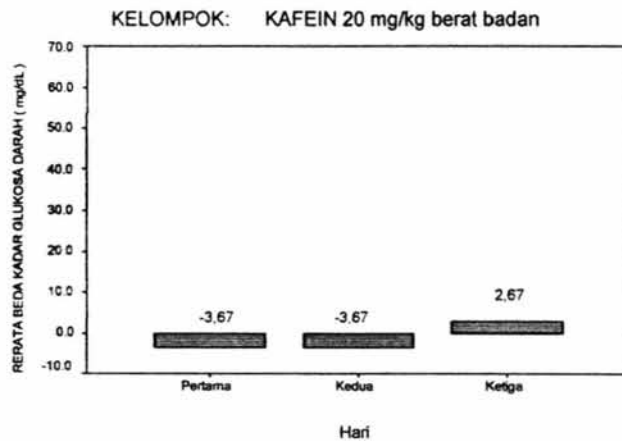
HARI	Beda Menit 0 dan 120 (mg/ dL)	Standart deviasi	t	p
1	25.11	10.09	-7.464	0.000
2	18.11	21.60	-2.516	0.036
3	5.78	11.63	-1.491	0.174

Hasil uji beda harian kelompok kafein 10 mg/kg berat badan hari pertama  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ), hari kedua  $p=0,036$  ( $p<0,05$ ) dan hari ketiga  $p=0,174$  ( $p>0,05$ ).

### 5.3.3 Hasil uji anova dua arah pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan

Tabel 5.18 Nilai rerata beda dan standart deviasi harian pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan.

Kelompok		Variabel kadar glukosa darah		
		Hari 1 (mg /dL)	Hari 2 (mg /dL)	Hari 3 (mg/dL)
K <sub>2</sub> (kafein 20 mg/kg bb)	Rerata beda	-3,67	-3,67	2,67
	SD	19,59	22,55	12,94



Gambar 5.10 Diagram batang rerata beda kadar glukosa darah harian pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan

Data statistik deskriptif pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan didapatkan hasil pada hari pertama  $-3,67 \pm 19,59$ , hari kedua  $-3,67 \pm 22,55$  dan hari ketiga  $2,67 \pm 12,94$ .

Tabel 5.19 Hasil uji anova sama subyek rerata beda kadar glukosa darah antar hari pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan.

Kelompok		Variabel kadar glukosa darah			<i>Two way anova</i>
		Hari 1 (mg /dL)	Hari 2 (mg /dL)	Hari 3 (mg/dL)	
K <sub>2</sub> (kafein 20 mg/kg bb)	Rerata beda	-3,67	-3,67	2,67	F= 0,293 p= 0,75
	SD	19,59	22,55	12,94	

Uji anova sama subyek antar hari perlakuan didapatkan hasil  $p=0,75$  ( $p>0,05$ ).

**BAB 6**  
**PEMBAHASAN PENELITIAN**



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan peran kafein terhadap perubahan kadar glukosa darah pada tikus putih (*Rattus Novergicus* galur *Wistar jantan*). Rancangan penelitian menggunakan *The Randomized Pretest-Posttest Control Group Design*. Metode penelitian ini merupakan salah satu penelitian eksperimental yang dipilih untuk mengendalikan variabel luar sehingga perubahan yang terjadi akibat efek perlakuan sepenuhnya karena pengaruh perlakuan. Data *pretest* digunakan untuk mendapatkan data awal variabel tergantung untuk dibandingkan dengan data *posttest*. Data variabel tergantung yang dimaksud adalah rerata beda kadar glukosa pada tikus putih.

#### 6.1 Analisis Variabel Moderator

Gambaran perubahan variabel tergantung dikumpulkan untuk dilakukan analisis deskriptif pada seluruh kelompok. Uji normalitas data dilakukan untuk melihat gambaran normalitas distribusi data variabel tergantung pada seluruh kelompok perlakuan karena uji normalitas dilakukan sebagai syarat untuk analisis selanjutnya. Hasil uji normalitas pada variabel tergantung untuk seluruh kelompok perlakuan menunjukkan gambaran berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

Pengukuran variabel berat badan tikus putih diperlukan untuk mengontrol pengaruh berat badan tikus putih pada percobaan, maka perlu dilakukan uji homogenitas berat badan tikus putih pada awal percobaan pada semua kelompok. Data deskriptif berat badan tikus pada kelompok kontrol  $200,11 \pm 26,54$  gram,

pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan  $211,56 \pm 11,66$  gram dan pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $196,67 \pm 19,26$  gram. Data berat badan tikus putih diperoleh rata-rata yaitu  $202,78 \pm 20,29$  gram, data ini sesuai dengan perkiraan umur tikus yang sama menurut Kusumawati (2004), pada umur 2-3 bulan berat badan tikus putih dapat mencapai sekitar 150-250 gram. Hal ini menunjukkan bahwa tikus yang dipakai dalam keadaan sehat. Hasil uji anova menunjukkan berat badan tikus tidak ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok percobaan ( $p=0,275$ ). Dengan demikian berat badan tikus putih pada awal percobaan dianggap homogen sehingga tidak akan mempengaruhi hasil pengukuran kadar glukosa darah dalam penelitian ini. Pada percobaan ini tidak didapatkan tikus dengan berat lebih maupun kurang. Kaitan percobaan ini dengan berat badan karena *uptake* glukosa darah adalah semua efek kombinasi yang tergantung jumlah relatif otot rangka dan jaringan lemak serta sensitivitas insulin. Studi menguatkan dugaan tentang kemampuan adenosin dan agonis adenosin untuk meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan lemak tetapi menurunkan sensitivitas insulin di jaringan otot rangka. Blokade reseptor adenosin akan meningkatkan *uptake* glukosa darah dan sensitivitas insulin pada hewan gemuk tetapi menurun pada hewan kurus ( Keijzers, 2002).

Pengukuran variabel kadar glukosa darah tikus putih pada awal percobaan diperlukan untuk mengontrol titik awal kadar glukosa darah tikus putih pada percobaan, maka perlu dilakukan uji homogenitas kadar glukosa tikus putih pada awal percobaan pada semua kelompok. Pada statistik deskriptif hasil kadar glukosa darah menit ke 0 hari pertama pada kelompok kontrol didapatkan  $96,44 \pm 19,70$  mg/dL, pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan  $96,33 \pm 13,64$  mg/dL

dan pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $103 \pm 12,17$  mg/dL. Data awal rata-rata kadar glukosa pada tikus putih percobaan adalah  $98,59 \pm 15,24$  mg/dL. Hasil uji anova menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p=0,587$ ) sehingga kadar glukosa darah tikus putih pada awal percobaan dianggap homogen pada seluruh kelompok. Data awal rata-rata kadar glukosa pada tikus putih percobaan adalah  $98,59 \pm 15,24$  mg/dL, rentang kadar glukosa darah pada tikus adalah 50-135 mg/ dL, sehingga kadar glukosa darah pada tikus percobaan dianggap normal (Kusumawati, 2004).

Kadar glukosa darah normal pada percobaan ini diperlukan untuk menghindari bias pada percobaan. Kadar glukosa darah yang meningkat akan merangsang sekresi insulin sebagai respon masuknya glukosa darah ke dalam sel beta pankreas sehingga terjadi efek sekresi insulin yang akan menurunkan kadar glukosa darah. Pada kadar glukosa darah rendah sebaliknya akan terjadi inhibisi sekresi insulin. Inhibisi sekresi insulin mulai terjadi pada kadar glukosa darah 4,6 mmol/L atau 87,5 mg/dL dan pada kadar 80 mg/dL insulin tidak disekresi lagi (Ganong, 2001). Pada keadaan kadar glukosa darah rendah timbul rangsangan sekresi glukagon. Glukagon mulai disekresi pada kadar glukosa darah 3,8 mmol/L atau 67,5 mg/dL ( Guyton, 2000 ; Ganong, 2001).

## 6.2 Analisis Kadar Glukosa Darah Hari Pertama

Pada statistik deskriptif hasil rerata beda kadar glukosa darah hari pertama pada kelompok kontrol didapatkan  $-5,44 \pm 15,72$  mg/dL, pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan  $25,11 \pm 10,09$  mg/dL dan pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $-3,67 \pm 19,59$  mg/dL. Data pada ketiga kelompok dilakukan uji

normalitas distribusi *Kolmogorov-Smirnov test* dan didapatkan hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov test* menunjukkan data seluruh kelompok berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Uji homogenitas untuk meyakinkan bahwa faktor-faktor yang dijadikan variabel moderator tidak akan mempengaruhi hasil analisis, maka secara statistik harus diuji melalui uji homogenitas. Variabel moderator yang diuji homogenitasnya meliputi berat badan dan kadar glukosa darah pada menit ke 0 hari pertama dari masing-masing kelompok. Hasil analisis menunjukkan variabel berat badan antar kelompok dengan  $F= 1,365$  dan  $p=0,275$  ( $p > 0,05$ ) berarti tidak ada perbedaan bermakna berat badan antar kelompok, demikian juga variabel kadar glukosa darah menit ke 0 hari pertama antar kelompok dengan  $F= 0,545$  dan  $p=0,587$  ( $p > 0,05$ ) berarti tidak ada perbedaan bermakna kadar glukosa darah pada menit ke 0 hari pertama antar kelompok. Uji anova satu arah rerata beda kadar glukosa hari pertama antar kelompok didapatkan  $F= 10,841$   $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan bermakna minimal pada sepasang kelompok. Uji dilanjutkan dengan uji komparasi ganda untuk mendapatkan sepasang kelompok yang berbeda. Rerata beda kadar glukosa darah pada hari pertama berbeda bermakna  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) antara kelompok kontrol dengan kelompok kafein 10 mg/kg berat badan dan berbeda bermakna  $p= 0,001$  ( $p<0,05$ ) antara kelompok kafein 10 mg/kg berat badan dengan kelompok kafein 20 mg/kg berat badan, tetapi tidak berbeda bermakna  $p=0,811$  ( $p>0,05$ ) pada kelompok kontrol dan kelompok kafein 20 mg/kg berat badan. Data kelompok kafein 10 mg/kg berat badan pada hari pertama dilakukan uji beda sebelum dan sesudah perlakuan, diperoleh hasil terdapat beda bermakna antar data kadar glukosa darah awal dan sesudah

perlakuan dengan  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ) sehingga terbukti ada peningkatan kadar glukosa darah, sedangkan data kontrol  $p=0,329$  ( $p>0,05$ ) dan kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $p=0,590$  ( $p>0,05$ ) tidak terdapat peningkatan kadar glukosa darah.

Data rerata beda kadar glukosa darah pada hari pertama menunjukkan terdapat perbedaan peningkatan kadar glukosa darah yang bermakna antara pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih dengan kontrol ( $p= 0,000$ ) dan pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih dengan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih ( $p= 0,001$ ). Pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih peroral sekali pada hari pertama terbukti meningkatkan kadar glukosa darah ( $p=0,004$ ) dan peningkatan dosis kafein menjadi 20 mg/kg berat badan tikus putih pada hari pertama ternyata tidak terbukti meningkatkan kadar glukosa darah ( $p=0,801$ ).

Kemungkinan perbedaan tersebut didasari fakta bahwa kafein mempengaruhi metabolisme tubuh antara lain dengan efek antagonis terhadap reseptor adenosin, menghambat fosfodiesterase, meningkatkan pengeluaran kalsium intrasel lewat reseptor rianodin ( Greer, 2000; Fredlhom, 1999). Reseptor adenosin akan terpengaruh kafein pada konsentrasi kafein dalam darah 35–45 $\mu$ M (Thong, 2002). Hambatan fosfodieseterase terjadi bila kadar kafein dalam darah 20 kali dari kadar kafein yang menghambat adenosin. Mobilisasi kalsium intraselular akan terjadi bila kadar kafein dalam darah 100 kali dari kadar kafein yang menghambat adenosin (Fredlhom, 1999).

Kafein dosis rendah pada percobaan ini meningkatkan kadar glukosa darah yang diperoleh dari proses glikogenolisis hepar karena kafein dosis rendah

mempunyai efek sebagai antagonis reseptor adenosin (Fredlhom, 1999), peran kafein sebagai penghambat *uptake* glukosa otot dan menekan aktifitas glikogen sintase lewat hambatan reseptor adenosin di otot (Kelly, 2003). Kafein adalah derivat methylxanthin yang berpotensi sebagai antagonis reseptor adenosin. Kafein dan adenosin memiliki kemiripan struktur molekul, sehingga kafein berpotensi untuk menempati reseptor adenosin ( Keijzers, 2002). Adenosin diketahui dapat mengurangi respon stimulasi simpatis pada tiga tempat yaitu ganglion simpatis, saraf terminal *postganglionic adrenergic* dan sel-sel efektor yang diinervasi saraf simpatis. Efek kafein sebagai antagonis reseptor adenosin adalah meningkatkan norepinefrin (Smith, 1991). Kafein dapat menyebabkan pengeluaran katekolamin terutama epinefrin sebagai respon efek kafein pada medula adrenal ( Keijzers, 2002). Efek kafein terhadap peningkatan epinefrin terjadi pada dosis 3.5 mg/kg berat badan manusia (Lane, 1990). Peningkatan epinefrin terjadi setelah 90 menit pemberian kafein (Greer, 2000), diperkirakan terjadi peningkatan epinefrin sebesar 5 kali dari awal ( Keijzers, 2002). Epinefrin diketahui dapat meningkatkan produksi glukosa dari hepar. Epinefrin meningkatkan produksi glukosa hepar sekitar 60% dengan menstimulasi glikogenolisis dan meningkatkan glukoneogenesis di hepar setelah 30-60 menit paparan epinefrin ( Vicini, 2002).

Peningkatan glukosa darah akibat pemberian kafein, selain dari hepar juga disebabkan kompetisi tingkat substrat glukosa dengan asam lemak karena kafein dapat menstimulasi produksi asam lemak bebas secara langsung pada sel lemak melalui reseptor adenosin atau tidak langsung akibat efek peningkatan epinefrin (Greer, 2000). Kadar asam lemak bebas meningkat setelah 60 menit pemberian

kafein 5 mg/kg pada manusia tetapi menurun pada menit ke 120 setelah pemberian 75 mg dekstrosa (Robinson, 2004). Peningkatan asam lemak bebas menurunkan ambilan glukosa hepar dan otot sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah ( Keijzers, 2002). Proses kompetisi penggunaan energi terjadi antara asam lemak bebas dan glukosa. Peningkatan oksidasi asam lemak akan meningkatkan ratio asetil Ko-A/Ko-A dan NADH/NAD di mitokondria, menginaktivasi piruvat dehidrogenase (PDH), menyebabkan konsentrasi sitrat intraselular meningkat, memicu penghambatan fosfofruktokinase (PFK) sebagai enzim kunci pengontrol glikolisis. Akumulasi glukosa 6 fosfat menghambat aktivitas heksokinase sehingga terjadi peningkatan konsentrasi glukosa intraselular dan menurunkan *uptake* glukosa (Shulman, 2000).

Asam lemak bebas dapat mengganggu tahap awal aktivitas GLUT-4 yang distimulasi insulin. Peningkatan metabolit asam lemak yaitu diasil gliserol, lemak asil CoA dan seramida akan mengaktifkan serin/treonin kinase yang diinisiasi protein kinase C memfosforilasi substrat reseptor insulin (IRS-1 dan IRS-2) sehingga aktifitas IP 3 kinase menurun. Dengan demikian terjadi penurunan respon sinyal insulin terhadap aktifitas GLUT-4 (Shulman, 2000).

Epinefrin diketahui sebagai antagonis terhadap aktifitas insulin sehingga terjadi hambatan pada *uptake* glukosa perifer. Peningkatan epinefrin menurunkan sensitivitas jaringan yang peka insulin 15-50% ( Keijzers, 2002 ). Kafein sendiri tidak meningkatkan insulin, tetapi kafein 5 mg/kg berat badan pada manusia meningkatkan sekitar 25% kadar insulin dalam darah setelah 90 hingga 150 menit setelah ditambah pemberian 75 mg dekstrosa (Robinson, 2004). Hal ini berlawanan dengan pendapat Doyle (2003), kafein dapat merangsang langsung sel

beta pankreas melewati reseptor adenosin ( Doyle, 2003). Kafein meningkatkan resistensi insulin di perifer. Dugaan ini timbul akibat ratio pro insulin dan insulin tidak berubah tetapi kadar insulin dalam darah tinggi (Robinson, 2004).

Pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih tidak bermakna pada kadar glukosa darah tikus putih ( $p=0,590$ ) sama dengan Davis (2003), pemberian kafein 25 mg/kg berat badan intravena tidak bermakna pada peningkatan kadar glukosa darah. Kemungkinan kafein dosis tinggi akan menstimulasi sekresi insulin yang dirangsang oleh peningkatan glukosa darah akibat sekresi epinefrin di hepar atau secara langsung melalui efek antagonis reseptor adenosin atau hambatan pada fosfoditerase di sel  $\beta$  pankreas yang akan meningkatkan cAMP di sel  $\beta$  pankreas, merangsang reseptor rianodin di sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadi peningkatan  $Ca^{2+}$  yang merangsang eksositosis vesikel berisi insulin. (Islam, 1995; Doyle, 2003).

GLUT 4 di otot rangka akan meningkat secara tidak langsung akibat efek kafein di otot rangka. Hambatan fosfodiesterase akibat kafein meningkatkan cAMP, akibat tingginya metabolisme dalam sel maka terjadi penurunan jumlah ATP, penurunan ATP akan menurunkan hambatan AMPK yang menginduksi vesikel GLUT 4 sehingga kadar AMPK dalam sel mampu menginduksi vesikel GLUT 4. Pemberian kafein dosis besar meningkatkan  $Ca^{2+}$  intrasel melalui reseptor rianodin menginduksi sekresi vesikel GLUT 4 (Islam, 1995; Fredlhom, 1999; Doyle, 2003). Rangkaian peningkatan insulin dan GLUT 4 ini akan berpengaruh pada uptake glukosa darah sehingga kembali pada keadaan normal.



### 6.3 Analisis Kadar Glukosa Darah Hari Ketiga

Pada statistik deskriptif hasil rerata beda kadar glukosa darah hari ketiga pada kelompok kontrol didapatkan  $-0,33 \pm 17,61$  mg/dL, pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan  $5,78 \pm 11,63$  mg/dL dan pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan  $2,67 \pm 12,94$  mg/dL. Data pada ketiga kelompok pada hari ketiga dilakukan uji normalitas distribusi *Kolmogorov-Smirnov test* dan didapatkan Hasil uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov test* menunjukkan data seluruh kelompok tentang rerata beda kadar glukosa darah berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Data selanjutnya dilakukan uji anova satu arah pada rerata beda kadar glukosa hari ketiga antar kelompok, didapatkan hasil  $F = 0,411$  dan  $p = 0,667$  ( $p > 0,05$ ) yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna rerata beda kadar glukosa hari ketiga antar kelompok

Pada statistik deskriptif rerata beda kadar glukosa darah kelompok kontrol didapatkan hasil pada hari pertama  $5,44 \pm 15,72$  mg/dL, hari kedua  $3,67 \pm 17,76$  dan pada hari ketiga  $-0,33 \pm 17,61$  mg/dL, setelah dilakukan uji anova sama subyek antar hari perlakuan didapatkan hasil  $F = 0,658$  dan  $p = 0,531$  ( $p > 0,05$ ) berarti tidak terdapat perbedaan bermakna rerata beda kadar glukosa darah antar hari perlakuan pada kelompok kontrol.

Data statistik deskriptif pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan didapatkan hasil pada hari pertama  $25,11 \pm 10,09$ , hari kedua  $18,11 \pm 21,60$  dan hari ketiga  $5,78 \pm 11,63$  Hasil uji anova sama subyek antar hari perlakuan didapatkan hasil  $F = 3,75$   $p = 0,046$  ( $p < 0,05$ ) berarti terdapat perbedaan bermakna minimal pada sepasang kelompok hari. Data selanjutnya dilakukan uji komparasi ganda, didapatkan bahwa kelompok hari pertama dan hari ketiga berbeda

bermakna dengan  $p=0,014$  ( $p<0,05$ ), pada kelompok hari pertama dan kedua tidak berbeda bermakna  $p=0,471$  ( $p>0,05$ ) dan pada kelompok hari kedua dan ketiga juga tidak berbeda bermakna dengan  $p=0,051$  ( $p>0,05$ ). Hasil uji beda harian kelompok kafein 10 mg/kg berat badan hari pertama didapatkan perbedaan bermakna sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan  $p=0,000$  ( $p<0,05$ ), hari kedua didapatkan perbedaan bermakna sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan  $p=0,036$  ( $p<0,05$ ) dan hari ketiga tidak didapatkan perbedaan bermakna sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan  $p=0,174$  ( $p>0,05$ ).

Data statistik deskriptif pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan didapatkan hasil pada hari pertama  $-3,67 \pm 19,59$ , hari kedua  $3,67 \pm 22,55$  dan hari ketiga  $2,67 \pm 12,94$ . setelah dilakukan uji anova sama subyek antar hari perlakuan didapatkan hasil  $F=0,293$   $p=0,75$  ( $p>0,05$ ) menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna rerata beda kadar glukosa darah antar hari perlakuan pada kelompok kafein 20 mg/kg berat badan.

Kadar glukosa darah pada hari ketiga pada semua kelompok tidak berbeda bermakna. Pada kelompok kafein 10 mg/kg berat badan pada hari pertama berbeda bermakna dengan hari ketiga dengan nilai lebih kecil dari hari pertama. Kelompok ini yang semula mengalami peningkatan kadar glukosa secara bermakna pada hari pertama dan kedua ternyata pada hari ketiga dianggap tidak bermakna hal ini kemungkinan akibat proses habituasi. Habituasi pada tikus diperkirakan terjadi akibat peningkatan jumlah reseptor adenosin. Jumlah reseptor adenosin meningkat seiring dengan lama pemakaian kafein (Fredlhom, 1999; Keijzers, 2002). Peningkatan jumlah reseptor adenosin akan mengurangi efek kafein pada saraf simpatis sehingga terjadi penurunan kadar epinefrin. Penurunan

kadar epinefrin ini akan mengurangi produksi glukosa hepar dan penurunan hambatan terhadap insulin (Keijzers, 2002). Kafein meningkatkan asam lemak bebas dalam darah sekitar 2 kali lipat dan meningkatkan oksidasi lemak sekitar 44%, efek ini dapat melalui respon kafein pada epinefrin maupun langsung pada sel lemak melalui reseptor adenosin sel lemak. Peningkatan jumlah reseptor adenosin pada sel lemak akan mengurangi efek kafein sehingga lipolisis tidak sebesar awal pemberian kafein (Acheson, 2004) sehingga terlihat efek habituasi ini adalah peningkatan kadar glukosa darah pada hari ketiga pada kelompok perlakuan tidak berbeda bermakna  $p=0,667$  ( $p>0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol.

# **BAB 7**

# **PENUTUP**

## **BAB 7**

### **PENUTUP**

#### **7.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari pembahasan yang telah diuraikan sebelumnya adalah sebagai berikut

1. Pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali meningkatkan kadar glukosa darah.
2. Pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali tidak meningkatkan kadar glukosa darah.
3. Pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali lebih meningkatkan kadar glukosa darah dibandingkan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral satu kali.
4. Pemberian kafein 10 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral dan pemberian kafein 20 mg/kg berat badan tikus putih jantan peroral pada hari ketiga tidak meningkatkan kadar glukosa darah.

#### **7.2 Saran**

Hasil penelitian ini dapat memberikan tambahan informasi ilmiah mengenai efek kafein terhadap peningkatan kadar glukosa darah. Efek kafein terhadap peningkatan kadar glukosa darah sangat bervariasi tergantung dari dosis, rute dan waktu pemberian, cara pengambilan sampel, jenis hewan coba atau manusia. Penelitian ini masih perlu pendalaman lebih lanjut untuk memperluas penjelasan teoritik dan penerapannya antara lain:

1. Penelitian serupa yang menyertakan kadar kafein dalam darah dan perubahan pada organ target yang berhubungan dengan metabolisme glukosa.
2. Penelitian serupa yang menyertakan pengukuran terhadap hormon yang terlibat dalam metabolisme glukosa untuk memastikan mekanisme yang terjadi pada penelitian ini.
3. Penelitian serupa yang mengukur kadar glukosa darah dengan interval yang bervariasi sehingga besarnya perubahan kadar glukosa darah bisa dipantau lebih tepat.
4. Penelitian serupa dengan pendalaman lebih lanjut secara molekuler dan imunohistologi.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## Daftar Pustaka

- Acheson KJ, Gérard G, Isabelle M, Lucy, 2004. Metabolic Effects Of Caffeine In Humans: Lipid Oxidation Or Futile Cycling? *Am. J. Clin. Nutr.*, 79:40–6.
- Davis JM, Zuowei Z, Howard SS, Kristen AM, Buggy, 2003. Central Nervous System Effects Of Caffeine And Adenosine On Fatigue, *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 284:399-404.
- Doyle ME, Egan JM 2003. Pharmacological Agents That Directly Modulate Insulin Secretion, *Pharmacol. Rev.*, 55:105–131.
- Fang NE, Nuttall FQ, 1997. The Effect of Caffeine and Caffeine Analogs on Rat Liver Phosphorylase a Activity<sup>1</sup>, *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, 280:3:1312–1318.
- Thong FS, Derave W, Kiens B, Graham TE, Urso B, 2002. Caffeine-induced impairment of insulin action but not insulin signaling in human skeletal muscle is reduced by exercise. *Diabetes*, 51: 583–590.
- Farris EJ, Griffith JQ, 1962. *The Rat in Laboratory Investigation*, second edition, New York: Hafner Publishing Co., pp. 278-294, 328, 343, 406-411, 414,417-419.
- Fox E, Bowers RW, Foss ML, 1993. *The Physiological Basis for Exercise and Sport*, 5<sup>th</sup> edition. Wisconsin: Brown and Benchmark, pp. 514-515.
- Fox SI, 1999. *Human Physiology*. 6<sup>th</sup> edition. Boston: The Mc Graw-Hill Companies, pp. 107-108,139,327,331, 616-620.
- Fredholm BB, Battig K, Holmen J, Nehlig A, Zvartau EE, 1999. *Actions Of Caffeine In The Brain With Special Reference To Factors That Contribute*



- To Its Widespread Use, *Pharmacological Reviews*, Vol. 51, No. 1, 51:83–133.
- Ganiswara, Sulistia, Setiabudi R, Frans D. Suyatno, Purwastyastuti, Nafrialdi, 1995. *Farmakologi Dan Terapi*, ed. 4. 226-233.
- Ganong WF, 2001. *Review of Medical Physiology*, 20<sup>th</sup> Edition. New York: Lange Medical Books/ McGraw-Hill: pp 278,280-281,333-336,340.
- Greer F, Friars D, Graham T.E, 2000. Comparison of caffeine and theophiline ingestion,,: exercise metabolism and endurance, *J. Appl. Physiol.*, 89: 1837-1844.
- Guyton AC, Hall JE, 2000. *Textbook of Medical Physiology*, 10<sup>th</sup> edition. Philadelphia: WB Saunders Company, pp. 11-12,43-55,73-79, 772-774, 798-799, 850, 862, 884-887, 962.
- Goodman LS, Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. 2001. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10<sup>th</sup> ed. United States of America: McGraw-Hill Medical Publishing Division, pp. 559. 619-630, 996.
- Islam S, Larsson O, Nilsson T, 1995. Effect Of Caffeine On Cytoplasmic Free  $Ca^{2+}$  Concentration In Pancreatic B Cell Are Mediated By Interaction With ATP Sensitive  $K^+$  Channel And L Type Voltage Gate  $Ca^{2+}$  Channel But Not The Ryanodine Receptor.*Biochem.J.*, 306,679-686.
- James, Jack E., 2004. Critical Review of Dietary Caffeine and Blood Pressure: A Relationship That Should Be Taken More Seriously, *Psychosomatic Medicine*, 6:63–71.

- Kasvinsky PJ, Shechosky S, Fletterick RJ, Madsen NB, 1978. Synergistic Regulation Of Phosphorylase A By Glucose And Caffeine , J. Biol. Chem., 53,9097-9101.
- Keijzers GB , Bastiaan DG, Tack CJ, Smith P, 2002. Caffeine Can Decrease Insulin Sensitivity In Humans, Diabetes Care, 25: 364-369.
- Kelly LJ, Michael NC, Morgan LM 2003. Coffee Acutely Modifies Gastrointestinal Hormone Secretion And Glucose Tolerance In Humans: Glycemic Effects Of Chlorogenic Acid And Caffeine. Am. J. Clin. Nutr., 78:728-33.
- Kusumawati D, 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba, Gajah Mada University Press, I, Agustus, hal. 8-9, 35-37,67-68,82-110.
- Lane JD, 1994. Neuroendocrine Responses to Caffeine in the Work Environment Psychosomatic Medicine, 546:267-270.
- Lane JD, Adcock RA, Redford BW, Kuhn CM, 1990. Caffeine Effects On Cardiovascular And Neuroendocrine Responses To Acute Psychosocial Stress And Their Relationship To Level Of Habitual Caffeine Consumption Psychosomatic Medicine, 52:320-336.
- Lane JD, Barkauskas CE, Feinglos MN, Richard SS, 2004. Caffeine Impairs Glucose Metabolism In Type 2 Diabetes, Diabetes Care, 27, 8, 2047-2048.
- Laurent D, Kevin ES, William KP, Carole F, Suzanne MV, Martin K, 2000. Effects of Caffeine on Muscle Glycogen Utilization and the Neuroendocrine Axis during Exercise., J. Clin. Endocrinol Metab., 85: 2170-2175.

- Lee S, Hudson R, Kilpatrick K, Graham TE, Ross R, 2005. Caffeine Ingestion Is Associated With Reductions In Glucose Uptake Independent Of Obesity And Type 2 Diabetes Before And After Exercise Training, *Diabetes Care*, 28:566–572.
- Martin WH, Dennis JH, Sandra JA, Ingrid AS, Mcpherson RK, Dennis ED, 1998. Discovery of a human liver glycogen phosphorylase inhibitor that lowers blood glucose in vivo *Medical Sciences Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 95, pp. 1776–1781.
- Mayes PA, 2000. *Harper's Biochemistry*, 25<sup>th</sup> edition. Edited by: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. New York: McGraw-Hill, pp. 149-159, 173, 177.
- Mumin M A, Kazi F A, Abedin Z, Hossain Z, 2006. Determination And Characterization Of Caffeine In Tea, Coffee And Soft Drinks By Solid Phase Extraction And High Performance Liquid Chromatography (SPE – HPLC) *Malaysian Journal of Chemistry*, Vol. 8, No. 1, 045 – 051.
- Pencek R, 2004. Portal Vein Caffeine Infusion Enhances Net Hepatic Glucose Uptake during a Glucose Load in Conscious Dogs, *J. Nutr.*, 134: 3042–3046.
- Peters JM, 1967. Factors Affecting Caffeine Toxicity: A Review of the Literature *J. Clin. Pharmacol.*, 7: 131-141.
- Petrie HJ, Chown SE, Belfie LM, Duncan AM, McLaren DH, 2004. Caffeine ingestion increases the insulin response to an oral-glucose-tolerance test in obese men before and after weight loss. *Am. J. Clin. Nutr.*, 80: 22–28.

- Pudjirahardjo WJ., Poernomo H, Machfoed MH, 1993. *Metode Penelitian dan Statistik Terapan*, Surabaya: Airlangga University Press, hal. 57-58.
- Rekling JC, Funk GD, Bayliss DA, Dong XW, Feldman JL, 2000. Synaptic Control of Motoneuronal Excitability. *Physiol. Rev.*, 80: 767–852.
- Robinson LE, Sonali S, Battram D, Sathasivam P, Graham TE. Caffeine Ingestion Before An Oral Glucose Tolerance Test Impairs Blood Glucose Management In Men With Type 2 Diabetes, *J. Nutr.*, 134: 2528–2533.
- Rose AJ, Richter EA, 2005. Skeletal Muscle Glucose Up take During Exercise: How is it *Physiology rev.*, 20:260-270.
- Sacher RA, McPherson RA, 2000. *Widmann's Clinical Interpretation of Laboratory test*, 11 th, FA Davis Company, Philadelphia, Pennsylvania ,USA., p.67-90.
- Shepherd PR., Kahn BB., 1999. Glucose Transporters and Insulin Action. *The New England Journal of Medicine*, 341 (4), p. 248-255.
- Shulman, GI., 2000. Cellular mechanisms of insulin resistance *The Journal of Clinical Investigation*, 106 (2): 171-176.
- Smits P, Lenders JW, Willemsen JJ, Thien T, 1991. Adenosine attenuates the response to sympathetic stimuli in humans, *Hypertension*, 18;216-223.
- Soeren VMH, Graham TE, 1998. Effect of caffeine on metabolism, exercise endurance, and catecholamine responses after withdrawal, *J. Appl. Physiol.*, 85(4): 1493–1501.

- Varani K, Portaluppi F, Gessi S, Merighi S, Ongini E, 2000. Dose and Time Effects of Caffeine Intake on Human Platelet Adenosine A2A Receptors Functional and Biochemical Aspects , *Circulation*, 102:285-289.
- Vicini P, Angelo A, Mary ES, Alessandra G, Claudio C, 2002. Epinephrine effects on insulin-glucose dynamics: the labeled IVGTT two-compartment minimal model approach, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 283:78–84.
- Youngren J, 2003. Exercise and the Regulation of Blood Glucose. On line di : <http://www.endotext.com/diabetes/diabetes14/diabetes14.html>.
- Zainuddin M., 2000. *Metodologi Penelitian*, Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, hal. 38-57.

# LAMPIRAN

**LAMPIRAN 1 : Data awal dan Uji Statistik**

Data awal berat badan, kadar glukosa darah, dan beda pada setiap kelompok hari pertama.

	Berat badan (gram)	Kadar glukosa darah		
		Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dl)
Kelompok Kontrol	230	103	88	+15
	232	138	97	-41
	162	85	97	12
	174	101	95	-6
	200	76	72	-4
	222	72	83	11
	214	99	99	0
	197	106	102	-4
	170	88	86	-2

	Berat badan (gram)	Kadar glukosa darah		
		Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dl)
Kelompok Kafein 10 mg/kg	197	93	118	25
	230	102	108	6
	197	90	113	23
	210	111	134	23
	202	86	111	25
	220	124	166	42
	220	93	115	22
	215	85	122	37
	213	83	106	23

	Berat badan (gram)	Kadar glukosa darah		
		Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dl)
Kelompok Kafein 20 mg/kg	207	114	106	-8
	200	101	92	-9
	152	103	93	-10
	187	85	122	37
	189	94	88	-6
	210	101	102	1
	200	103	113	10
	215	128	92	-36
	210	98	86	-12

**Data awal kadar glukosa, dan beda pada setiap kelompok hari ketiga**

	Kadar glukosa darah (mg/dL)		
	Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dL)
Kelompok Kontrol	91	86	-5
	118	90	-28
	116	134	18
	103	117	14
	107	102	-5
	99	110	11
	116	95	-21
	110	101	-9
	98	120	22

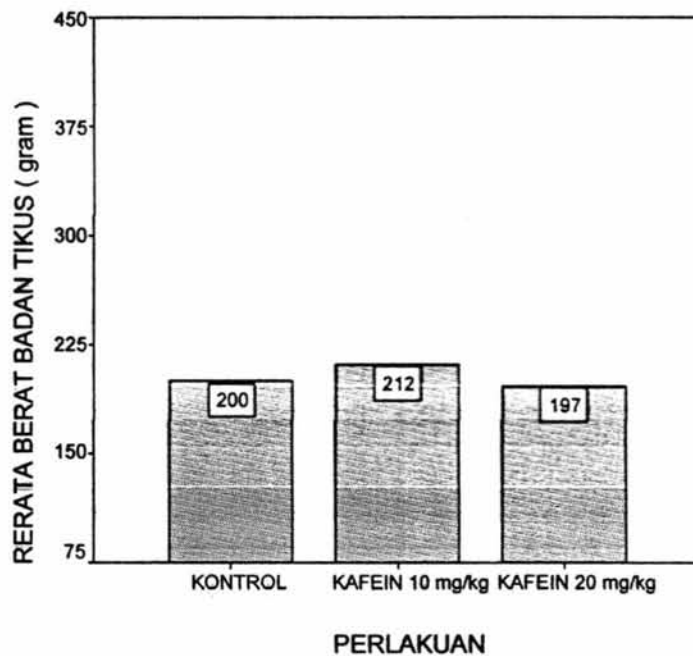


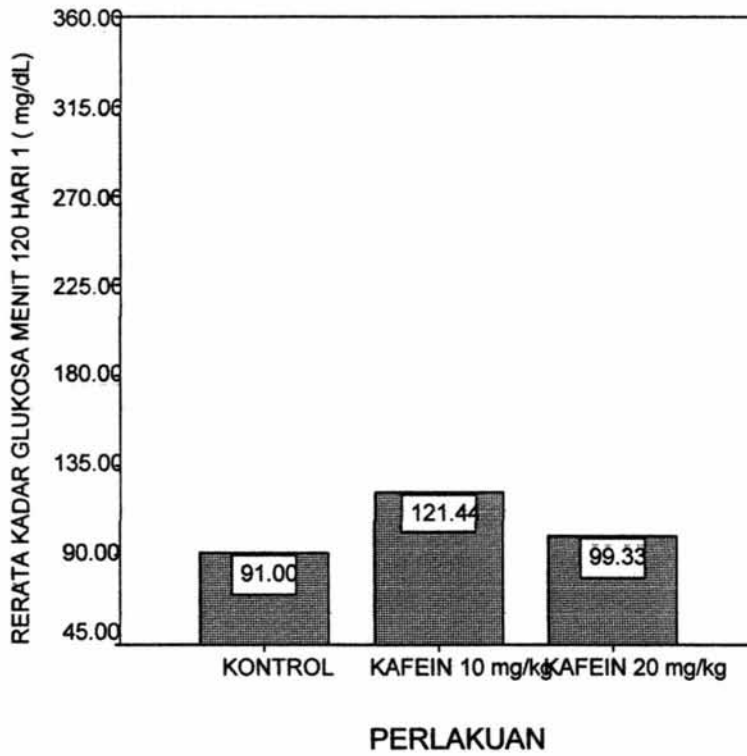
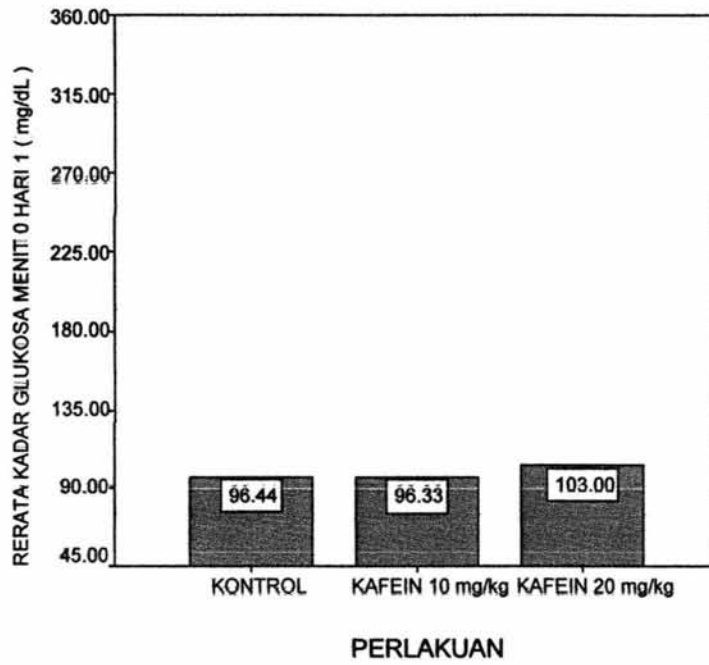
	Kadar glukosa darah (mg/dL)		
	Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dL)
	Kelompok Kafein 10 mg/kg	106	110
112		127	15
117		144	27
97		94	-3
108		127	19
104		98	-6
130		128	-2
101		100	-1
113		112	-1

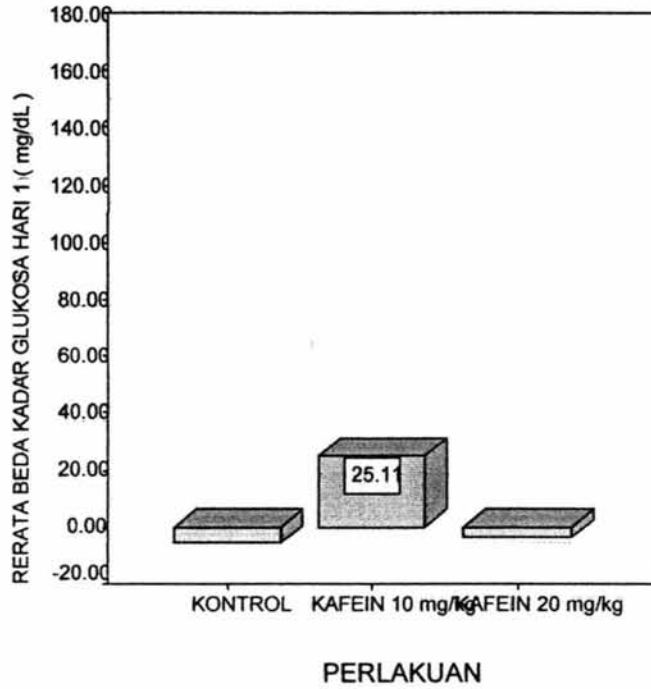
	Kadar glukosa darah (mg/dL)		
	Menit 0 (mg/dL)	Menit 120 (mg/dL)	Beda (mg/dL)
	Kelompok Kafein 20mg/kg	106	113
106		124	18
105		99	-6
114		118	4
107		98	-9
98		107	9
118		100	-18
112		109	-3
94		116	22

### Rata-rata Kelompok Perlakuan Hari Pertama

PERLAKUAN		BERAT BADAN TIKUS	MENIT 0 HARI 1	MENIT 120 HARI 1	RERATA BEDA*
K1	Rata-rata	200.11	96.44	91.00	-5.44
	Std. Deviasi	26.54	19.70	9.57	15.72
	N	9	9	9	9
K2	Rata-rata	211.56	96.33	121.44	25.11
	Std. Deviasi	11.26	13.64	18.70	10.09
	N	9	9	9	9
K3	Rata-rata	196.67	103.00	99.33	-3.67
	Std. Deviasi	19.26	12.17	12.28	19.59
	N	9	9	9	9





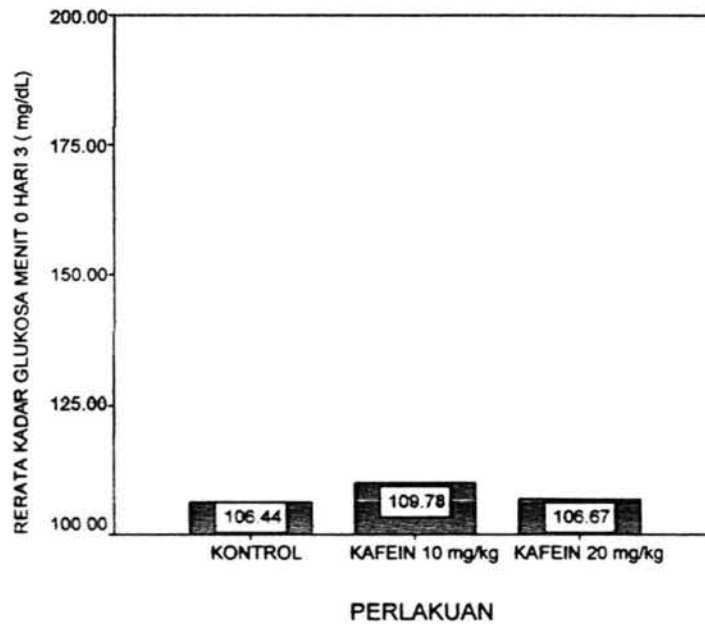


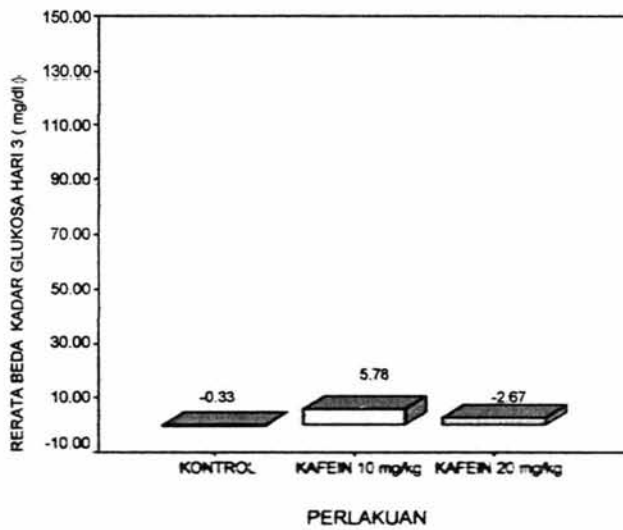
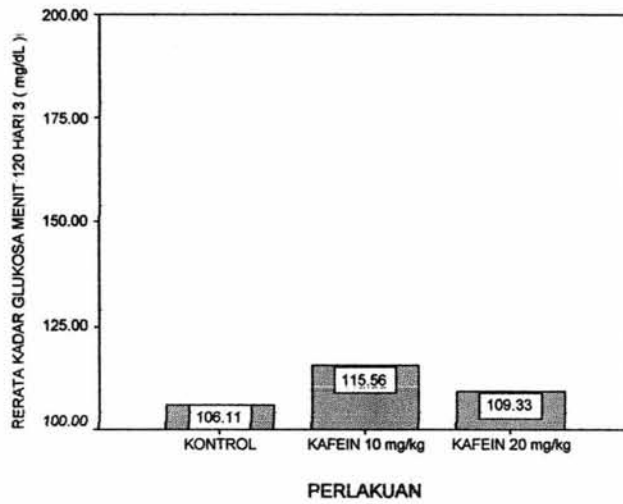
**Report**

PERLAKUAN		MENIT 0 HARI 2	MENIT 120 HARI 2	RERATA BEDA
KONTROL	Mean	103.67	107.33	3.67
	Std. Deviasi	9.70	18.49	17.76
	N	9	9	9
KAFEIN 10 mg	Mean	100.67	118.78	18.11
	Std. Deviasi	12.94	30.06	21.60
	N	9	9	9
KAFEIN 20 mg	Mean	103.67	100.00	-3.67
	Std. Deviasi	12.07	14.59	22.55
	N	9	9	9

**Report**

PERLAKUAN		MENIT 0 HARI 3	MENIT 120 HARI 3	RERATA BEDA
KONTROL	Mean	106.44	106.11	-.33
	Std. Deviation	9.40	15.55	17.61
	N	9	9	9
KAFEIN 10 mg/kg	Mean	109.78	115.56	5.78
	Std. Deviation	9.80	16.90	11.63
	N	9	9	9
KAFEIN 20 mg/kg	Mean	106.67	109.33	2.67
	Std. Deviation	7.50	9.19	12.94
	N	9	9	9





**NPar Tests ( Normalitas Distribusi Hari Pertama )  
PERLAKUAN = KONTROL**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		BERAT BADAN TIKUS	MENIT 0 HARI 1	MENIT 120 HARI 1	RERATA BEDA
N		9	9	9	9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	200.11	96.44	91.00	-5.44
	Std. Deviation	26.54	19.70	9.57	15.72
Most Extreme Differences	Absolute	.171	.203	.218	.264
	Positive	.171	.203	.125	.142
	Negative	-.144	-.107	-.218	-.264
Kolmogorov-Smirnov Z		.512	.608	.653	.791
Asymp. Sig. (2-tailed)		.955	.853	.787	.559

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. PERLAKUAN = KONTROL

**PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

	BERAT BADAN TIKUS	MENIT 0 HARI 1	MENIT 120 HARI 1	RERATA BEDA
N	9	9	9	9
Normal Parameters				
Mean	211.56	96.33	121.44	25.11
Std. Deviation	11.26	13.64	18.70	10.09
Most Extreme Differences				
Absolute	.135	.263	.266	.282
Positive	.135	.263	.266	.282
Negative	-.112	-.164	-.204	-.268
Kolmogorov-Smirnov Z	.406	.790	.798	.847
Asymp. Sig. (2-tailed)	.997	.561	.548	.471

- a. Test distribution is Normal.  
 b. Calculated from data.  
 c. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

	BERAT BADAN TIKUS	MENIT 0 HARI 1	MENIT 120 HARI 1	RERATA BEDA
N	9	9	9	9
Normal Parameters				
Mean	196.67	103.00	99.33	-3.67
Std. Deviation	19.26	12.17	12.28	19.59
Most Extreme Differences				
Absolute	.235	.278	.253	.224
Positive	.171	.278	.253	.214
Negative	-.235	-.119	-.139	-.224
Kolmogorov-Smirnov Z	.706	.833	.758	.672
Asymp. Sig. (2-tailed)	.701	.491	.614	.756

- a. Test distribution is Normal.  
 b. Calculated from data.  
 c. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**NPar Tests (Normalitas Distribusi Hari Kedua)  
PERLAKUAN = KONTROL**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MENIT 0 HARI 2	MENIT 120 HARI 2	GAIN HARI 2
N		9	9	9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	103.67	107.33	3.67
	Std. Deviation	9.70	18.49	17.76
Most Extreme Differences	Absolute	.305	.169	.159
	Positive	.305	.169	.159
	Negative	-.168	-.150	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.916	.507	.478
Asymp. Sig. (2-tailed)		.372	.959	.977

- a. Test distribution is Normal.  
b. Calculated from data.  
c. PERLAKUAN = KONTROL

**PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MENIT 0 HARI 2	MENIT 120 HARI 2	GAIN HARI 2
N		9	9	9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	100.67	118.78	18.11
	Std. Deviation	12.94	30.06	21.60
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.183	.224
	Positive	.156	.183	.224
	Negative	-.116	-.138	-.132
Kolmogorov-Smirnov Z		.469	.549	.672
Asymp. Sig. (2-tailed)		.980	.924	.757

- a. Test distribution is Normal.  
b. Calculated from data.  
c. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg



**PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test<sup>f</sup>**

		MENIT 0 HARI 2	MENIT 120 HARI 2	GAIN HARI 2
N		9	9	9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	103.67	100.00	-3.67
	Std. Deviation	12.07	14.59	22.55
Most Extreme Differences	Absolute	.159	.194	.216
	Positive	.143	.128	.216
	Negative	-.159	-.194	-.160
Kolmogorov-Smirnov Z		.478	.582	.648
Asymp. Sig. (2-tailed)		.976	.887	.795

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**NPar Tests ( Normalitas Distribusi Hari Ketiga )****PERLAKUAN = KONTROL****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test<sup>c</sup>**

		MENIT 0 HARI 3	MENIT 120 HARI 3	GAIN HARI 3
N		9	9	9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	106.44	106.11	-.33
	Std. Deviation	9.40	15.55	17.61
Most Extreme Differences	Absolute	.179	.160	.185
	Positive	.119	.160	.160
	Negative	-.179	-.098	-.185
Kolmogorov-Smirnov Z		.536	.479	.554
Asymp. Sig. (2-tailed)		.936	.976	.919

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. PERLAKUAN = KONTROL

**PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test <sup>c</sup>**

		MENIT 0 HARI 3	MENIT 120 HARI 3	GAIN HARI 3
N		9	9	9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	109.78	115.56	5.78
	Std. Deviation	9.80	16.90	11.63
Most Extreme Differences	Absolute	.149	.195	.276
	Positive	.149	.155	.276
	Negative	-.096	-.195	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.447	.586	.827
Asymp. Sig. (2-tailed)		.988	.882	.501

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test <sup>c</sup>**

		MENIT 0 HARI 3	MENIT 120 HARI 3	GAIN HARI 3
N		9	9	9
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	106.67	109.33	2.67
	Std. Deviation	7.50	9.19	12.94
Most Extreme Differences	Absolute	.190	.178	.114
	Positive	.149	.178	.114
	Negative	-.190	-.109	-.104
Kolmogorov-Smirnov Z		.570	.535	.341
Asymp. Sig. (2-tailed)		.902	.937	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Test of Homogeneity of Variances**

Rerata beda Hari 1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.810	2	24	.456

**Test of Homogeneity of Variances**

Rerata Berda Hari 2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.365	2	24	.698

**Test of Homogeneity of Variances**

Rerata Beda Hari 3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.430	2	24	.259

**Oneway Hari Pertama****Descriptives**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
BERAT BADAN TIKU KONTROL	9	200.11	26.54	8.85
KAFEIN 10 mg/kg	9	211.56	11.26	3.75
KAFEIN 20 mg/kg	9	196.67	19.26	6.42
Total	27	202.78	20.29	3.91
MENIT 0 HARI 1 KONTROL	9	96.44	18.70	6.57
KAFEIN 10 mg/kg	9	96.33	13.64	4.55
KAFEIN 20 mg/kg	9	103.00	12.17	4.06
Total	27	98.59	15.24	2.93

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BERAT BADAN TIKUS	3.021	2	24	.068
MENIT 0 HARI 1	.963	2	24	.396

## ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BERAT BADAN TIKU:	Between Groups	1093.556	2	546.778	1.365	.275
	Within Groups	9615.111	24	400.630		
	Total	10708.667	26			
MENIT 0 HARI 1	Between Groups	262.296	2	131.148	.545	.587
	Within Groups	5778.222	24	240.759		
	Total	6040.519	26			

**T-Test Rata-rata Kadar glukosa Harian  
PERLAKUAN = KONTROL**

Paired Samples Statistics<sup>a</sup>

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MENIT 0 HARI 1	96.44	9	19.70	6.57
	MENIT 120 HARI 1	91.00	9	9.57	3.19
Pair 2	MENIT 0 HARI 2	103.67	9	9.70	3.23
	MENIT 120 HARI 2	107.33	9	18.49	6.16
Pair 3	MENIT 0 HARI 3	106.44	9	9.40	3.13
	MENIT 120 HARI 3	106.11	9	15.55	5.18

a. PERLAKUAN = KONTROL

Paired Samples Correlations<sup>a</sup>

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 & MENIT 120 HARI 1	9	.617	.076
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 & MENIT 120 HARI 2	9	.336	.376
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 & MENIT 120 HARI 3	9	.069	.860

a. PERLAKUAN = KONTROL

Paired Samples Test<sup>a</sup>

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 - MENIT 120 HARI 1	5.44	15.72	5.24	1.039	8	.329
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 - MENIT 120 HARI 2	-3.67	17.76	5.92	-.620	8	.553
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 - MENIT 120 HARI 3	.33	17.61	5.87	.057	8	.956

a. PERLAKUAN = KONTROL

## PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

Paired Samples Statistics<sup>a</sup>

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 MENIT 120 HARI 1	96.33	9	13.64	4.55
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 MENIT 120 HARI 2	100.67	9	12.94	4.31
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 MENIT 120 HARI 3	109.78	9	9.80	3.27
		115.56	9	16.90	5.63

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

Paired Samples Correlations<sup>a</sup>

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 & MENIT 120 HARI 1	9	.850	.004
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 & MENIT 120 HARI 2	9	.777	.014
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 & MENIT 120 HARI 3	9	.744	.022

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Paired Samples Test<sup>a</sup>**

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 - MENIT 120 HARI 1	-25.11	10.09	3.36	-7.464	8	.000
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 - MENIT 120 HARI 2	-18.11	21.60	7.20	-2.516	8	.036
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 - MENIT 120 HARI 3	-5.78	11.63	3.88	-1.491	8	.174

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg****Paired Samples Statistics<sup>a</sup>**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 MENIT 120 HARI 1	103.00 99.33	9 9	12.17 12.28	4.06 4.09
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 MENIT 120 HARI 2	103.67 100.00	9 9	12.07 14.59	4.02 4.86
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 MENIT 120 HARI 3	106.67 109.33	9 9	7.50 9.19	2.50 3.06

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Paired Samples Correlations<sup>a</sup>**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 & MENIT 120 HARI 1	9	-.285	.458
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 & MENIT 120 HARI 2	9	-.425	.254
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 & MENIT 120 HARI 3	9	-.194	.617

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Paired Samples Test**

		Paired Differences			t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean			
Pair 1	MENIT 0 HARI 1 - MENIT 120 HARI	3.67	19.59	6.53	.562	8	.590
Pair 2	MENIT 0 HARI 2 - MENIT 120 HARI	3.67	22.55	7.52	.488	8	.639
Pair 3	MENIT 0 HARI 3 - MENIT 120 HARI	-2.67	12.94	4.31	-.618	8	.554

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**General Linear Model (Rerata beda Kadar Glukosa Harian Antar Perlakuan )****Within-Subjects Factors**

Measure: MEASURE\_1

KADAR GLUKOSA	Dependent Variable
1	Rerata Beda Hari 1
2	Rerata Beda Hari 2
3	Rerata Beda Hari 3

**Between-Subjects Factors**

PERLAKUAN	Value Label	N
1	KONTROL	9
2	KAFEIN 10 mg/kg	9
3	KAFEIN 20 mg/kg	9

## Descriptive Statistics

	PERLAKUAN	Mean	Std. Deviation	N
Rerata Bada Hari 1	KONTROL	-5.44	15.72	9
	KAFEIN 10 mg/kg	25.11	10.09	9
	KAFEIN 20 mg/kg	-3.67	19.59	9
	Total	5.33	20.71	27
Rerata Bada Hari 2	KONTROL	3.67	17.76	9
	KAFEIN 10 mg/kg	18.11	21.60	9
	KAFEIN 20 mg/kg	-3.67	22.55	9
	Total	6.04	21.95	27
Rerata Bada Hari 2	KONTROL	-.33	17.61	9
	KAFEIN 10 mg/kg	5.78	11.63	9
	KAFEIN 20 mg/kg	2.67	12.94	9
	Total	2.70	13.96	27

Multivariate Tests<sup>c</sup>

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	
KADAR GLUKOSA	Pillai's Trace	.116	1.438 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.259
	Wilks' Lambda	.884	1.438 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.259
	Hotelling's Trace	.131	1.438 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.259
	Roy's Largest Root	.131	1.438 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.259
KADAR GLUKOSA *BERAT	Pillai's Trace	.122	1.526 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.240
	Wilks' Lambda	.878	1.526 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.240
	Hotelling's Trace	.139	1.526 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.240
	Roy's Largest Root	.139	1.526 <sup>a</sup>	2.000	22.000	.240
KADAR GLUKOSA * KELOMPOK	Pillai's Trace	.300	2.026	4.000	46.000	.106
	Wilks' Lambda	.707	2.083 <sup>a</sup>	4.000	44.000	.099
	Hotelling's Trace	.406	2.129	4.000	42.000	.094
	Roy's Largest Root	.381	4.387 <sup>b</sup>	2.000	23.000	.024

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c.

Design: Intercept+BERAT+KELOMPOK

Within Subjects Design: KADAR GLUKOSA

## Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KOPI	1182.100	2	591.050	2.004	.146
KOPI * BERAT	1244.736	2	622.368	2.110	.133
KOPI * KELOMPOK	2025.429	4	506.357	1.716	.163
Error(KOPI)	13569.856	46	294.997		



**Tests of Within-Subjects Contrasts**

Measure: MEASURE\_1

Source	KOPI	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KOPI	Linear	4.835	1	4.835	.024	.877
	Quadratic	1177.265	1	1177.265	3.001	.097
KOPI * BERAT	Linear	1.714	1	1.714	.009	.927
	Quadratic	1243.022	1	1243.022	3.169	.088
KOPI * KELOMPOK	Linear	1734.305	2	867.153	4.386	.024
	Quadratic	291.124	2	145.562	.371	.694
Error(KOPI)	Linear	4547.730	23	197.727		
	Quadratic	9022.126	23	392.266		

**Tests of Between-Subjects Effects**

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	585.178	1	585.178	2.299	.143
BERAT	414.761	1	414.761	1.630	.215
KELOMPOK	5897.637	2	2948.818	11.585	.000
Error	5854.202	23	254.531		

**Estimated Marginal Means****1. PERLAKUAN****Estimates**

Measure: MEASURE\_1

PERLAKUAN	Mean	Std. Error
KONTROL	-1.023 <sup>a</sup>	3.081
KAFEIN 10 mg/kg	17.386 <sup>a</sup>	3.179
KAFEIN 20 mg/kg	-2.288 <sup>a</sup>	3.124

a. Evaluated at covariates appeared in the model: BERAT BADAN TIKUS = 202.78.

## Pairwise Comparisons

Measure: MEASURE\_1

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>
KONTROL	KAFEIN 10 mg/kg	-18.409	4.473	.000
	KAFEIN 20 mg/kg	1.265	4.354	.774
KAFEIN 10 mg/kg	KAFEIN 20 mg/kg	19.674	4.562	.000

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

## Univariate Tests

Measure: MEASURE\_1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Contrast	1965.879	2	982.939	11.585	.000
Error	1951.401	23	84.844		

The F tests the effect of PERLAKUAN. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

## General Linear Model

## Between-Subjects Factors

PERLAKUAN	Value Label	N
1	KONTROL	9
2	KAFEIN 10 mg/kg	9
3	KAFEIN 20 mg/kg	9

## Descriptive Statistics

	PERLAKUAN	Mean	Std. Deviation	N
Rerata Beda Hari 1	KONTROL	-5.44	15.72	9
	KAFEIN 10 mg/kg	25.11	10.09	9
	KAFEIN 20 mg/kg	-3.67	19.59	9
	Total	5.33	20.71	27
Rerata Beda Hari 2	KONTROL	3.67	17.76	9
	KAFEIN 10 mg/kg	18.11	21.60	9
	KAFEIN 20 mg/kg	-3.67	22.55	9
	Total	6.04	21.95	27
Rerata Beda Hari 3	KONTROL	-.33	17.61	9
	KAFEIN 10 mg/kg	5.78	11.63	9
	KAFEIN 20 mg/kg	2.67	12.94	9
	Total	2.70	13.96	27

Multivariate Tests<sup>c</sup>

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.234	2.246 <sup>a</sup>	3.000	22.000	.111
	Wilks' Lambda	.766	2.246 <sup>a</sup>	3.000	22.000	.111
	Hotelling's Trace	.306	2.246 <sup>a</sup>	3.000	22.000	.111
	Roy's Largest Root	.306	2.246 <sup>a</sup>	3.000	22.000	.111
KELOMPOK	Pillai's Trace	.594	3.242	6.000	46.000	.010
	Wilks' Lambda	.421	3.963 <sup>a</sup>	6.000	44.000	.003
	Hotelling's Trace	1.335	4.674	6.000	42.000	.001
	Roy's Largest Root	1.307	10.019 <sup>b</sup>	3.000	23.000	.000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept+KELOMPOK

## Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	RERATA BEDA HARI 1	5294.889 <sup>a</sup>	2	2647.444	10.841	.000
	RERATA BEDA HARI 2	2210.074 <sup>b</sup>	2	1105.037	2.570	.097
	RERATA BEDA HARI 3	168.074 <sup>c</sup>	2	84.037	.411	.667
Intercept	RERATA BEDA HARI 1	768.000	1	768.000	3.145	.089
	RERATA BEDA HARI 2	984.037	1	984.037	2.288	.143
	RERATA BEDA HARI 3	197.370	1	197.370	.966	.335
KELOMPOK	RERATA BEDA HARI 1	5294.889	2	2647.444	10.841	.000
	RERATA BEDA HARI 2	2210.074	2	1105.037	2.570	.097
	RERATA BEDA HARI 3	168.074	2	84.037	.411	.667
Error	RERATA BEDA HARI 1	5861.111	24	244.213		
	RERATA BEDA HARI 2	10320.889	24	430.037		
	RERATA BEDA HARI 3	4901.556	24	204.231		
Total	RERATA BEDA HARI 1	11924.000	27			
	RERATA BEDA HARI 2	13515.000	27			
	RERATA BEDA HARI 3	5267.000	27			
Corrected Total	RERATA BEDA HARI 1	11156.000	26			
	RERATA BEDA HARI 2	12530.963	26			
	RERATA BEDA HARI 3	5069.630	26			

a. R Squared = .475 (Adjusted R Squared = .431)

b. R Squared = .176 (Adjusted R Squared = .108)

c. R Squared = .033 (Adjusted R Squared = -.047)

**Estimated Marginal Means**  
**RERATA BEDA KADAR GLUKOSA DARAH ANTAR PERLAKUAN**  
**SELAMA 3 HARI**

**Estimates**

Dependent Variable	PERLAKUAN	Mean	Std. Error
RERATA BEDA HARI 1	KONTROL	-5.444	5.209
	KAFEIN 10 mg/kg	25.111	5.209
	KAFEIN 20 mg/kg	-3.667	5.209
RERATA BEDA HARI 2	KONTROL	3.667	6.912
	KAFEIN 10 mg/kg	18.111	6.912
	KAFEIN 20 mg/kg	-3.667	6.912
RERATA BEDA HARI 3	KONTROL	-.333	4.764
	KAFEIN 10 mg/kg	5.778	4.764
	KAFEIN 20 mg/kg	2.667	4.764

**Pairwise Comparisons**

Dependent Variable	(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>
RERATA BEDA HARI 1	KONTROL	KAFEIN 10 mg/kg	-30.556	7.367	.000
		KAFEIN 20 mg/kg	-1.778	7.367	.811
	KAFEIN 10 mg/kg	KAFEIN 20 mg/kg	28.778	7.367	.001
RERATA BEDA HARI 2	KONTROL	KAFEIN 10 mg/kg	-14.444	9.776	.153
		KAFEIN 20 mg/kg	7.333	9.776	.460
	KAFEIN 10 mg/kg	KAFEIN 20 mg/kg	21.778	9.776	.036
RERATA BEDA HARI 3	KONTROL	KAFEIN 10 mg/kg	-6.111	6.737	.373
		KAFEIN 20 mg/kg	-3.000	6.737	.660
	KAFEIN 10 mg/kg	KAFEIN 20 mg/kg	3.111	6.737	.648

Based on estimated marginal means

- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

**Multivariate Tests**

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	.594	3.242	6.000	46.000	.010
Wilks' lambda	.421	3.963 <sup>a</sup>	6.000	44.000	.003
Hotelling's trace	1.335	4.674	6.000	42.000	.001
Roy's largest root	1.307	10.019 <sup>b</sup>	3.000	23.000	.000

Each F tests the multivariate effect of PERLAKUAN. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

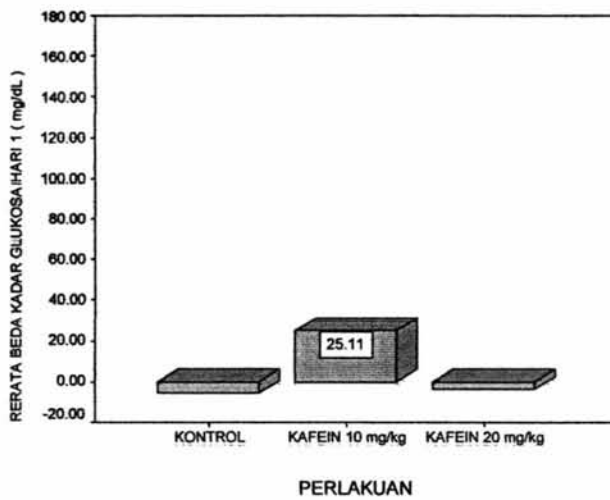
- a. Exact statistic
- b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

**Univariate Tests**

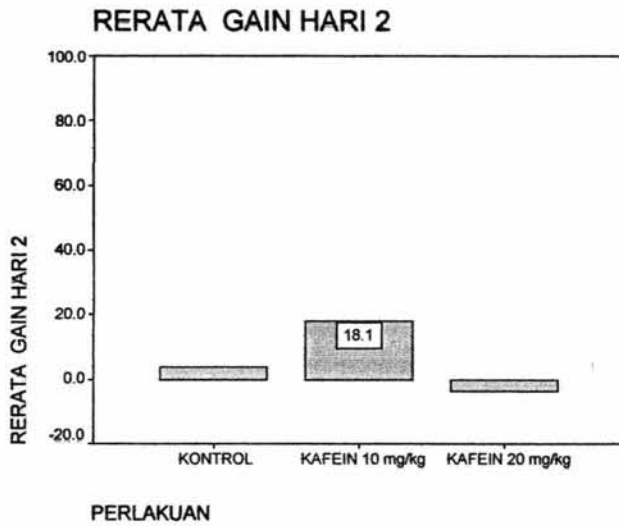
Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
RERATA BEDA HARI 1	Contrast	5294.889	2	2647.444	10.841	.000
	Error	5861.111	24	244.213		
RERATA BEDA HARI 3	Contrast	2210.074	2	1105.037	2.570	.097
	Error	10320.889	24	430.037		
RERATA BEDA HARI 3	Contrast	168.074	2	84.037	.411	.667
	Error	4901.556	24	204.231		

The F tests the effect of PERLAKUAN. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

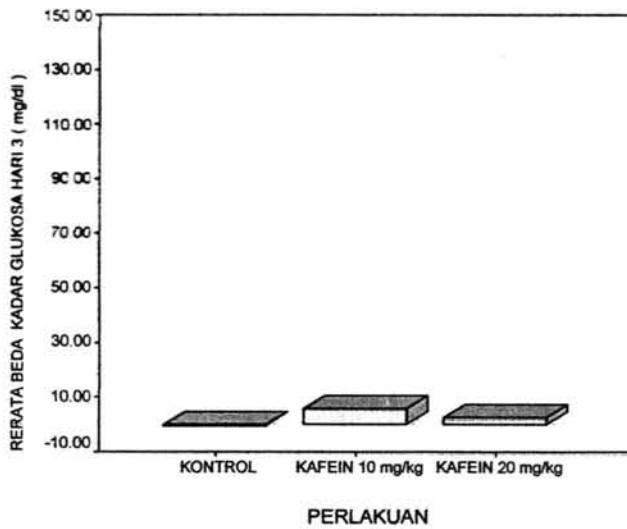
**Profile Plots**  
**RERATA BEDA HARI 1**



**RERATA BEDA HARI 2**



**RERATA BEDA HARI 3**



**SATU KELOMPOK SELAMA TIGA HARI**  
**General Linear Model**

**Within-Subjects Factors**

Measure: MEASURE\_1

PERLAKU AN	Dependent Variable
1	RERATA BEDA HARI 1
2	RERATA BEDA HARI 2
3	RERATA BEDA HARI 3

**PERLAKUAN = KONTROL**

**Descriptive Statistics<sup>a</sup>**

	Mean	Std. Deviation	N
RERATA BEDA HARI 1	-5.44	15.72	9
RERATA BEDA HARI 2	3.67	17.76	9
RERATA BEDA HARI 3	-.33	17.61	9

a. PERLAKUAN = KONTROL

**Multivariate Tests<sup>b,c</sup>**

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
HARI Pillai's Trace	.199	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459
Wilks' Lambda	.801	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459
Hotelling's Trace	.249	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459
Roy's Largest Root	.249	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept  
Within Subjects Design: KOPI

c. PERLAKUAN = KONTROL

**Tests of Within-Subjects Effects**

Measure: MEASURE\_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
HARI	Sphericity Assumed	375.407	2	187.704	.658	.531
	Greenhouse-Geiss	375.407	1.376	272.871	.658	.482
	Huynh-Feldt	375.407	1.567	239.531	.658	.499
	Lower-bound	375.407	1.000	375.407	.658	.441
Error(HARI)	Sphericity Assumed	4563.926	16	285.245		
	Greenhouse-Geiss	4563.926	11.006	414.671		
	Huynh-Feldt	4563.926	12.538	364.005		
	Lower-bound	4563.926	8.000	570.491		

a. PERLAKUAN = KONTROL

**Tests of Within-Subjects Contrasts**

Measure: MEASURE\_1

Source	KOPI	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KOPI	Linear	117.556	1	117.556	1.243	.297
	Quadratic	257.852	1	257.852	.542	.483
Error(KOPI)	Linear	756.444	8	94.556		
	Quadratic	3807.481	8	475.935		

a. PERLAKUAN = KONTROL

**Tests of Between-Subjects Effects<sup>a</sup>**

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	13.370	1	13.370	.044	.839
Error	2414.296	8	301.787		

a. PERLAKUAN = KONTROL

**Estimated Marginal Means****Rata-rata beda kadar glukosa harian kelompok kontrol****Estimates<sup>a</sup>**

Measure: MEASURE\_1

HARI	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	-5.444	5.239	-17.526	6.637
2	3.667	5.918	-9.981	17.315
3	-.333	5.869	-13.867	13.200

a. PERLAKUAN = KONTROL



**Pairwise Comparisons<sup>b</sup>**

Measure: MEASURE\_1

(I) HARI	(J) HARI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>	95% Confidence Interval for Difference <sup>a</sup>	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-9.111	8.947	.338	-29.742	11.520
	3	-5.111	4.584	.297	-15.682	5.459
2	1	9.111	8.947	.338	-11.520	29.742
	3	4.000	9.440	.683	-17.768	25.768
3	1	5.111	4.584	.297	-5.459	15.682
	2	-4.000	9.440	.683	-25.768	17.768

Based on estimated marginal means

- a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).
- b. PERLAKUAN = KONTROL

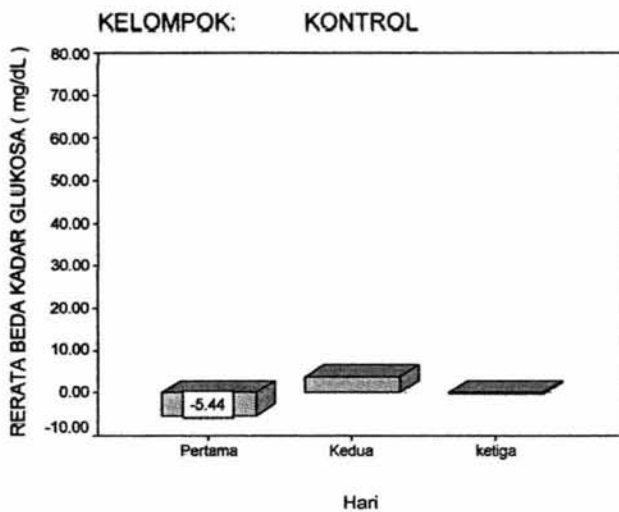
**Multivariate Tests<sup>b</sup>**

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	.199	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459
Wilks' lambda	.801	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459
Hotelling's trace	.249	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459
Roy's largest root	.249	.871 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.459

Each F tests the multivariate effect of KOPI. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

- a. Exact statistic
- b. PERLAKUAN = KONTROL

**Profile Plots**



**PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg****Descriptive Statistics<sup>a</sup>**

	Mean	Std. Deviation	N
GAIN HARI 1	25.11	10.09	9
GAIN HARI 2	18.11	21.60	9
GAIN HARI 3	5.78	11.63	9

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Multivariate Tests<sup>b,c</sup>**

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
GAIN Pillai's Trace	.717	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012
Wilks' Lambda	.283	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012
Hotelling's Trace	2.532	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012
Roy's Largest Root	2.532	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: KOPI

c. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Tests of Within-Subjects Effects**

Measure: MEASURE\_1

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GAIN Sphericity Assumed	1724.667	2	862.333	3.750	.046
Greenhouse-Geisser	1724.667	1.360	1268.012	3.750	.070
Huynh-Feldt	1724.667	1.542	1118.184	3.750	.062
Lower-bound	1724.667	1.000	1724.667	3.750	.089
Error(KOPI) Sphericity Assumed	3679.333	16	229.958		
Greenhouse-Geisser	3679.333	10.881	338.141		
Huynh-Feldt	3679.333	12.339	298.186		
Lower-bound	3679.333	8.000	459.917		

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Tests of Within-Subjects Contrasts**

Measure: MEASURE\_1

Source	GAIN	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GAIN	Linear	1682.000	1	1682.000	9.660	.014
	Quadratic	42.667	1	42.667	.149	.709
Error(KOPI)	Linear	1393.000	8	174.125		
	Quadratic	2286.333	8	285.792		

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Tests of Between-Subjects Effects<sup>a</sup>**

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	7203.000	1	7203.000	29.581	.001
Error	1948.000	8	243.500		

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Estimated Marginal Means SATU KELOMPOK ANTAR HARI**  
**Rata-rata beda kadar glukosa darah harian kelompok kafein 10 mg/**

**Estimates<sup>a</sup>**

Measure: MEASURE\_1

HARI	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	25.111	3.364	17.353	32.869
2	18.111	7.198	1.511	34.711
3	5.778	3.876	-3.160	14.715

a. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Pairwise Comparisons<sup>b</sup>**

Measure: MEASURE\_1

(I)HARI	(J) HARI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>	95% Confidence Interval for Difference <sup>a</sup>	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	7.000	9.257	.471	-14.347	28.347
	3	19.333*	6.220	.014	4.989	33.678
2	1	-7.000	9.257	.471	-28.347	14.347
	3	12.333	5.377	.051	-6.702E-02	24.734
3	1	-19.333*	6.220	.014	-33.678	-4.989
	2	-12.333	5.377	.051	-24.734	6.702E-02

Based on estimated marginal means

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Multivariate Tests<sup>b</sup>**

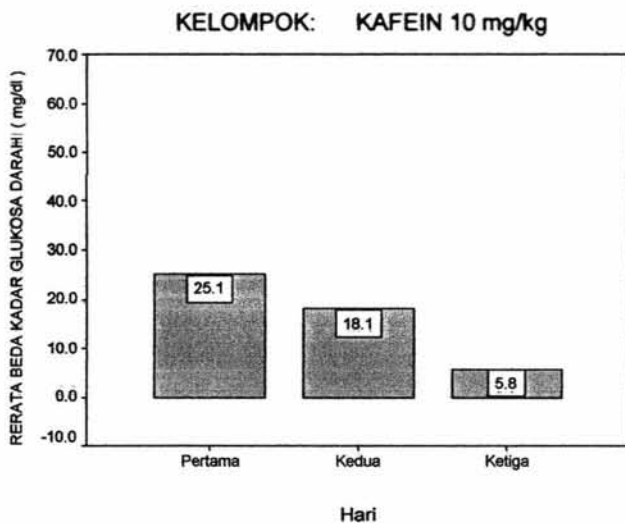
	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	.717	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012
Wilks' lambda	.283	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012
Hotelling's trace	2.532	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012
Roy's largest root	2.532	8.861 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.012

Each F tests the multivariate effect of KOPI. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

a. Exact statistic

b. PERLAKUAN = KAFEIN 10 mg/kg

**Profile Plots**



**PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg****Descriptive Statistics<sup>a</sup>**

	Mean	Std. Deviation	N
GAIN HARI 1	-3.67	19.59	9
GAIN HARI 2	-3.67	22.55	9
GAIN HARI 3	2.67	12.94	9

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Multivariate Tests<sup>c</sup>**

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
GAIN Pillai's Trace	.081	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745
Wilks' Lambda	.919	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745
Hotelling's Trace	.088	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745
Roy's Largest Root	.088	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745

a. Exact statistic

b.

Design: Intercept

Within Subjects Design: KOPI

c. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Tests of Within-Subjects Effects**

Measure: MEASURE\_1

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
GAIN	Sphericity Assumed	240.667	2	120.333	.293	.750
	Greenhouse-Geisser	240.667	1.863	129.173	.293	.735
	Huynh-Feldt	240.667	2.000	120.333	.293	.750
	Lower-bound	240.667	1.000	240.667	.293	.603
Error(GAIN)	Sphericity Assumed	6571.333	16	410.708		
	Greenhouse-Geisser	6571.333	14.905	440.879		
	Huynh-Feldt	6571.333	16.000	410.708		
	Lower-bound	6571.333	8.000	821.417		

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Tests of Within-Subjects Contrasts<sup>a</sup>**

Measure: MEASURE\_1

Source	GAIN	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
GAIN	Linear	180.500	1	180.500	.602	.460
	Quadratic	60.167	1	60.167	.115	.743
Error(KOPI)	Linear	2400.000	8	300.000		
	Quadratic	4171.333	8	521.417		

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Tests of Between-Subjects Effects<sup>a</sup>**

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	65.333	1	65.333	.274	.615
Error	1906.667	8	238.333		

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Estimated Marginal Means****Rata-rata beda kadar glukosa harian kelompok kafein 20 mg/kg****Estimates<sup>a</sup>**

Measure: MEASURE\_1

HARI	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	-3.667	6.530	-18.725	11.391
2	-3.667	7.617	-21.000	13.667
3	2.667	4.314	-7.282	12.615

a. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Pairwise Comparisons<sup>b</sup>**

Measure: MEASURE\_1

(I) HARI	(J) HARI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>	95% Confidence Interval for Difference <sup>a</sup>	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.000	10.066	1.000	-23.213	23.213
	3	-6.333	8.165	.460	-25.162	12.495
2	1	.000	10.066	1.000	-23.213	23.213
	3	-6.333	10.286	.555	-30.053	17.387
3	1	6.333	8.165	.460	-12.495	25.162
	2	6.333	10.286	.555	-17.387	30.053

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

b. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

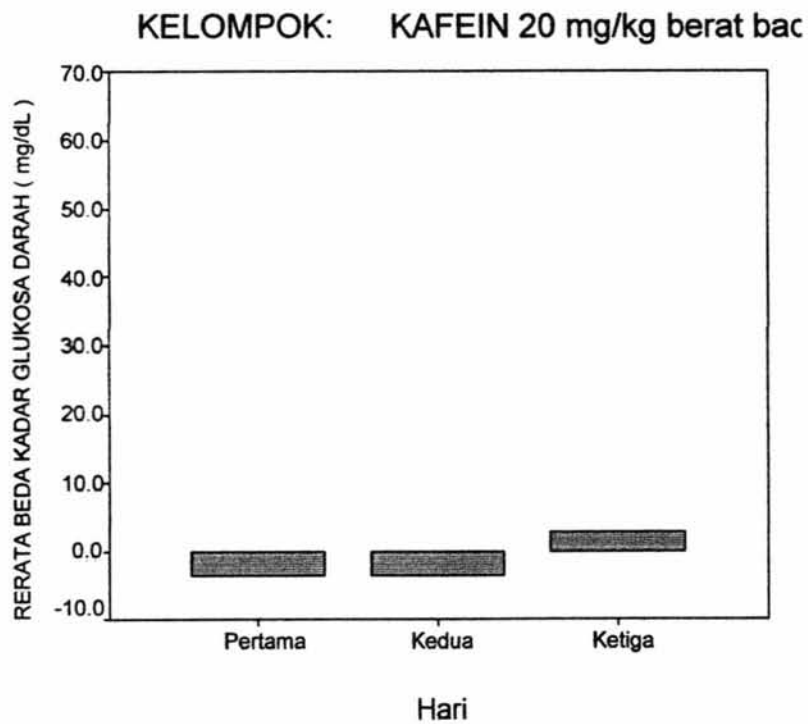
**Multivariate Tests<sup>b</sup>**

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	.081	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745
Wilks' lambda	.919	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745
Hotelling's trace	.088	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745
Roy's largest root	.088	.307 <sup>a</sup>	2.000	7.000	.745

Each F tests the multivariate effect of KOPI. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

- a. Exact statistic
- b. PERLAKUAN = KAFEIN 20 mg/kg

**Profile Plots**





**KOMISI ETIK PENELITIAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELOMPOK ETIK  
“ETHICAL CLEARANCE”**

No : 023-KE

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,  
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCINGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

**PENELITIAN BERJUDUL** : Peran Kafein Oral Terhadap Peningkatan Kadar  
Glukosa Tikus Putih Jantan

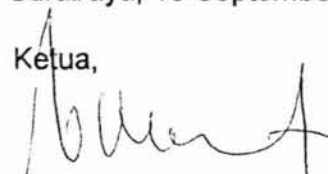
**PENELITI UTAMA** : dr. Stefanus Djoni Husodo

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT  
PENELITIAN** : PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Surabaya, 19 September 2007

Ketua,

  
Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh.  
NIP. 131 653 434

Mengetahui,  
Dekan FKH-Unair,

  
Prof. Romziah Sidik, Ph.D., drh.  
NIP. 130 687 305