

SKRIPSI

PENGARUH TEH HITAM (*Black tea*) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) PENDERITA HIPERGLIKEMIA



Oleh :

NIAN NURVITA DEWI

NIM. 060610165

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

**PENGARUH TEH HITAM (*Black Tea*) TERHADAP KADAR
GLUKOSA DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
PEDERITA HIPERGLIKEMIA**

Seminar Hasil Penelitian
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

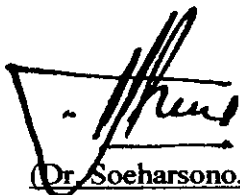
Oleh :

Nian Nurvita Dewi

NIM. 060610165

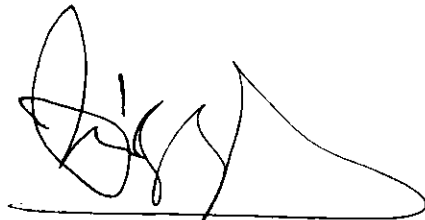
Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Dr. Soeharsono, Msi., Drh.)

Pembimbing Pertama



(Dr. NGK Made Rai Widjaja, MS., Drh)

Pembimbing Kedua

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul:

**PENGARUH TEH HITAM (*Black Tea*) TERHADAP KADAR
GLUKOSA DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
PEDERITA HIPERGLIKEMIA**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Agustus 2010

Nian Nurvita Dewi

NIM 060610165

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 2 September 2010

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes., drh
Sekretaris : Dr. Dewa Ketut Meles, M.S., drh
Anggota : R. Budi Utomo, M.Si., drh
Pembimbing I : Dr. Soeharsono, M.Si., drh
Pembimbing II : Dr. NGK Made Rai Widjaja, M.S., drh

Surabaya, 27 Agustus 2010

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph. D., Drh

NIP. 130 687 305

**INFLUENCE OF INFUSUM BLACK TEA FOR BLOOD GLUCOSE
LEVELS OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) PATIENT
HYPERGLICEMIA**

Nian Nurvita Dewi

ABSTRACT

Hyperglycemia defines as fasting plasma glucose levels higher than 110 mg/100 ml. Hyperglycemia usually occurs due to low insulin production. Low of production insulin can occur because of damage pancreatic β cells. Damage pancreatic β cells can be caused by one of oxidative stress conditions. Hyperglycemia condition itself may cause oxidative stress conditions in which a product (AGE). Plants of tea which ones processing is black tea can used for antihyperglycemia. This study aims to prove influence infusum black tea in lowering blood glucose levels of white rats (*Rattus norvegicus*) who suffer hyperglycemia. Infusum black tea given in four doses treatment : 0 mg/kg BB, 114.52 mg/kgBB, 252 mg/kgBB, and 314,87 mg/kgBB. Results of this study indicated that administration infusum black tea can reduce levels of sugar white rats who suffer hyperglycemia. Given infusum black tea at a doses of 114.52 mg/kgBB and 252 mg/kgBB doses, giving the effect of lowering blood glucose levels in patient hyperglycemia better than dose 314,87 mg/kgBB were observed at 2nd time and 4th time.

Key words : black tea; hyperglycemia; antioxidants; free radicals; oxidative stress

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul :

PENGARUH TEH HITAM (*Black tea*) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) PENDERITA HIPERGLIKEMIA

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh., atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Soeharsono, M.Si., drh., selaku dosen pembimbing pertama dan Dr. NGK Made Rai Widjaja, M.S., drh., selaku pembimbing kedua, atas saran dan bimbingannya sampai selesainya skripsi ini.

Dr. Dewa Ketut Meles, M.S., drh., selaku dosen pembimbing penelitian dan dosen penguji atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti penelitian dan bimbingannya dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Dr. E. Bimo Aksono, M.Kes., drh., dan R. Budi Utomo, M.Si., drh., selaku dosen penguji, atas saran dan bimbingan yang telah diberikan sampai selesainya penulisan skripsi ini.

Bapak Yanto dan Bapak Pardi selaku penanggungjawab kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan mengelola hewan coba.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan kepada ayahhanda, Warno, M.M., ibunda tercinta, Nuryantini, S.Pd., adik kandung saya, Ida Arif Dwi Nurvianto dan orang dekat saya, Pangky Yulianto, atas segala dukungan dan doa yang tidak pernah berhenti.

Teman-teman semua diantaranya Elsita Ria P, Nanda Bella, Novelia Indriani, da semua pihak yang mungkin belum penulis sebutkan.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih memerlukan banyak penyempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, Agustus 2010

Penulis

vii

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PERNYATAAN	ii
LEMBAR IDENTITAS	iii
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Landasan Teori	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Hasil Penelitian	5
1.6 Hipotesis Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Diabetes Mellitus</i> (DM).....	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Etiologi	7
2.1.3 Klasifikasi	8
2.1.4 Gejala Klinis.....	9
2.1.5 Pengobatan	11
2.2 Pankreas	11
2.3 Aloksan	13
2.4 Tinjauan Tanaman Teh	14
2.4.1 Klasifikasi Tanaman Teh	14
2.4.2 Morfologi Tanaman Teh.....	15
2.4.3 Kegunaan Tanaman Teh	15
2.4.4 Kandungan Tanaman Teh.....	16
2.4.5 Teh Hitam (<i>Black tea</i>)	17
BAB 3. MATERI DAN METODE	20
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2 Materi Penelitian	20
3.2.1 Bahan Penelitian	20
3.2.2 Alat Penelitian	21
3.3 Metode Penelitian	21
3.3.1 Variabel Penelitian	21
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian.....	22

3.3.3.1 Tahap Persiapan	22
3.3.3.1.1 Persiapan Hewan Coba	22
3.3.3.1.2 Pembuatan Infusum Teh Hitam	23
3.3.3.1.3 Induksi Hiperglikemia dengan Aloksan	23
3.3.3.1.4 Eksplorasi Dosis Perlakuan	24
3.3.3.2 Tahap Perlakuan	25
3.3.3.2.1 Pemberian Infusum Teh Hitam	25
3.4 Pengamatan Penelitian	25
3.5 Rancangan Percobaan	26
3.6 Analisis Data	26
3.7 Kerangka Penelitian	27
 BAB 4. HASIL PENELITIAN	 28
 BAB 5. PEMBAHASAN	 32
 BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	 39
6.1 Kesimpulan	39
6.2 Saran	39
 RINGKASAN	 40
 DAFTAR PUSTAKA	 42
 LAMPIRAN	 49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Kadar glukosa darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 2 dengan jam ke 0	30
4.2 Kadar glukosa darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 2 dengan jam ke 0	31
4.3 Kadar glukosa darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 2 dengan jam ke 0	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Strukur Kimia Aloksan	13
2.2 Tanaman Teh (<i>Camelia Sinensis</i>)	15
2.3 Proses pengolahan teh serta kandungan polifenol sesuai proses pengolahannya	18
3.1 Kerangka Penelitian	27
4.1 Grafik perbedaan kadar glukosa darah tikus putih diinduksi aloksan dan tidak diinduksi aloksan.....	28
4.2 Grafik perbandingan kadar glukosa darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) hiperglikemia di tiap pengamatan	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan prosedur pengukuran kadar glukosa darah	49
2. Tabel konversi perhitunga dosis untuk berbagai jenis hewan dan manusia.....	50
3. Tabel kadar glukosa darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	51
4. Case processing summary, T-Test, dan Independent sample test pemberian aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus putih...	
5. General linier model, case processing summary, uji ANOVA, dan uji BNJ pemberian teh hitam terhadap kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia.....	54

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

AGE	: Advance Glycation End Product
AL/ AQ	: Diberi aloksan dan aquadest
AL/ TH 114,52	: Diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 114,52 mg/kg
AL/ TH 252	: Diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 252 mg/kg BB
AL/ TH 314,87	: Diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 314,87 mg/kg
AP-1	: Activator Protein-1
ANOVA	: Analisis of Variance
ATP	: Adenosin Tri Phosphate
BB	: Berat badan
BNJ	: Beda Nyata Jujur
BPOM	: Balai Pengawasan Obat dan Makanan
Ca	: Calcium
cc	: Cubic centimeter
dl	: Desiliter
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
EGCG	: Epigallocatekin Gallat
F	: Fosfor
Fe	: Ferrum
Fe ²⁺	: Ferrous
Fe ³⁺	: Ferric
g	: Gram
H	: Hidrogen
H ⁺	: Ion Hidrogen
H ₂ O	: Hidrogen Oksida (air)
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
IDDM	: Insulin-Dependent Diabetes Melitus
IP	: Intraperitoneal
IV	: Intravena
Kg	: Kilogram
L	: Liter
Log	: Logaritma
m	: Meter
mg	: Mili gram
ml	: Mili liter
n	: Ulangan
Na	: Natrium
NF-κB	: Nucleus factor kappa B
NIDDM	: Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus
O ₂	: Oksigen
O ₂ ⁻	: Gugus peroksil
OH ⁻	: Radikal Hidroksil
PDAM	: Perusahaan Daerah Air Minum
PT	: Perseroan Terbatas
RAL	: Rancangan Acak Lengkap

Tbk	: Terbuka
-	: Negatif
%	: Persen
+	: Positif
α	: Alpha
β	: Beta
δ	: Delta
μ	: Mikro

BAB 1

PENDAHULUAN

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia menempati urutan keempat terbesar dalam jumlah penderita *diabetes mellitus* di dunia (WHO, 1999). Pada tahun 2000 terdapat sekitar 5,6 juta penduduk Indonesia yang mengidap *diabetes mellitus*. Dari data Departemen Kesehatan, jumlah pasien *diabetes mellitus* rawat inap maupun rawat jalan di rumah sakit menempati urutan pertama dari seluruh penyakit endokrin. Sementara itu, dari berbagai penelitian epidemiologis di Indonesia didapatkan prevalensi *diabetes mellitus* sebesar 1,5-2,3 % pada penduduk usia lebih dari 15 tahun (Sutanegara dkk., 2000).

Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan gejala hiperglikemia sebagai akibat gangguan sekresi insulin dan atau meningkatnya resistensi sel terhadap insulin. Hiperglikemia kronis dan gangguan metabolik lainnya pada *diabetes mellitus* dapat mengarah kepada kerusakan jaringan dalam jangka panjang maupun gangguan fungsi organ yang meliputi mata, ginjal, saraf, dan sistem peredaran darah (Larry *et al.*, 2009).

Obat antidiabetes oral kebanyakan memberikan efek samping yang tidak diinginkan antara lain, diare, mual, sakit perut, vertigo, ataksia, leukopenia dan tidak boleh diberikan pada penderita dengan penyakit hati berat, penyakit ginjal serta penyakit jantung. Oleh karena itu perlu dikembangkan sistem pengobatan tradisional untuk diabetes mellitus yang relatif aman (Handoko dan Suharto, 1995; Suharmiati, 2003).

Tanaman teh (*Camellia sinensis*) dibudidayakan secara luas di lebih dari 30 negara. Negara-negara yang tercatat sebagai produsen teh terbesar di dunia diantaranya China, India, Srilanka, Jepang, Kenya, Bangladesh dan Indonesia (Kumar *et al.*, 2005). Sejumlah penelitian membuktikan bahwa teh berkhasiat sebagai antioksidan (An *et al.*, 2004; Ikeda *et al.*, 2003; Su *et al.*, 2003; Yanagimoto *et al.*, 2003; Yokozawa *et al.*, 2003). Sifat antioksidan tersebut disebabkan oleh kandungan polifenol dalam teh (Chen *et al.*, 2005; Suzuki *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2003; William *et al.*, 2003). Komponen polifenol yang paling banyak dalam teh adalah katekin. Katekin merupakan antioksidan yang kuat dan lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C, E, dan betakaroten. Pada proses pembuatan teh hitam, katekin dioksidasi menjadi *theaflavin* dan *thearubigin* oleh enzim polifenol oksidase. Melalui proses tersebut mengakibatkan daun teh hancur dan mata rantai molekul antioksidan serta berbagai zat aktif didalamnya jadi terpotong dan menjadi lebih efektif. Senyawa *theaflavin* dalam teh hitam jumlahnya paling dominan, dimana *theaflavin* mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding katekin. *Theaflavin* mempunyai manfaat untuk mencegah berbagai macam penyakit, antara lain *diabetes mellitus*, kardiovaskuler, hati, dan kanker (Leung *et al.*, 2001; Weisburge and Lung, 2002). Aktivitas antioksidan yang dimiliki teh hitam adalah kemampuannya dalam menghambat pembentukan radikal bebas dan menangkap radikal bebas. *Theaflavin* dalam teh hitam dapat mendorong aktifitas faktor transkripsi dan menghambat enzim seperti xantin oksidase dan nitrit oxide sintetase (Luczaj dan Skrzydlewska, 2004).

Saat ini dikenal tiga macam teh, yaitu : teh hijau, teh oolong dan teh hitam, ketiganya berasal dari daun tanaman *Camellia sinensis* yang mengalami

pemrosesan berbeda. Teh hijau dibuat dengan pemanasan daun teh segera setelah dipetik, sedangkan teh hitam dan teh oolong dibuat dengan mengeringkan daun teh sampai kandungan minyaknya berkurang. Selanjutnya daun teh kering digiling dan dihancurkan untuk memulai fermentasi. Untuk teh oolong, daun teh kering yang telah dihancurkan kemudian segera dibakar untuk menghentikan oksidasi, sedangkan untuk teh hitam dibiarkan lebih lama berfermentasi untuk menimbulkan oksidasi (Katiyar *et al.*, 2001; Parkinson, 2009). Komposisi daun teh terdiri dari polifenol 30-35%, karbohidrat 25%, kafein 3,5%, protein 15%, asam amino 4%, lignin 6,5%, asam organik 1,5%, lipid 2%, abu 5% dan klorofil 0,5% (Liang *et al.*, 2003).

Dari proses pembuatannya, teh hijau tidak mengalami fermentasi, daun teh muda tidak dibiarkan teroksidasi, sehingga polifenol yang terdapat di dalam daun teh tidak teroksidasi dan masih utuh. Teh oolong mengalami fermentasi parsial sedangkan teh hitam mengalami fermentasi seluruhnya. Perbedaan pemrosesan ini membuat polifenol yang dikandung dalam teh tersebut berbeda (Dvorakova *et al.*, 1999; Katiyar *et al.*, 2001).

Secara eksperimental, kondisi hiperglikemia pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) akibat induksi aloksan dapat menyebabkan kerusakan sel β pankreas karena radikal bebas dan dapat dianalogikan sebagai kondisi *diabetes mellitus* (Rho *et al.*, 2000).

Saat ini telah ada penelitian tentang minuman fungsional berbahan dasar teh hitam, kayu manis, dan *gum arab* untuk penderita *diabetes mellitus* (Abbas dan Ai, 2006). Akan tetapi sampai saat ini belum ada penelitian mengenai khasiat teh hitam itu sendiri untuk penderita *diabetes mellitus*. Teh hitam mengandung

antioksidan yang sangat baik untuk kesehatan dan juga baik untuk penderita *diabetes mellitus*, selain itu murah dan mudah diperoleh.

Berdasarkan latar belakang diatas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh teh hitam (*Camelia sinensis*) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) penderita hiperglikemia.

1. 2 Rumusan Masalah

Seberapa besar pengaruh teh hitam terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) penderita hiperglikemia?

1. 3 Landasan Teori

Penyakit *diabetes mellitus* ada 2 tipe, yaitu *diabetes mellitus* tipe I dan tipe II. *Diabetes mellitus* tipe I, penyembuhannya tergantung insulin karena sel β pankreas telah mati atau rusak dan tidak berfungsi dan umumnya disebabkan faktor keturunan. *Diabetes mellitus* tipe II adalah ketidakmampuan tubuh menghasilkan insulin yang bersifat relatif, dimana penyembuhannya tidak harus tergantung dari insulin karena sel β pankreas hanya rusak dan masih ada yang mampu memproduksi insulin, tetapi jumlahnya tidak mencukupi untuk memproses pemasukan glukosa darah ke dalam sel (Rubins *et al.*, 2002).

Teh hitam (*Black tea*) yang selama ini dikonsumsi masyarakat mengandung senyawa yang mampu bertindak sebagai antioksidan utamanya senyawa *theaflavin*. Senyawa *theaflavin* dalam teh hitam jumlahnya paling dominan. *Theaflavin* mempunyai manfaat mencegah berbagai macam penyakit, antara lain *diabetes mellitus*, kardiovaskuler, hati, dan kanker (Leung *et al.*, 2001;

Weisburge *et al.*, 2002). Sebagai antidiabetes, teh hitam mengandung antioksidan yang mampu menghambat pembentukan radikal bebas dan menangkap radikal bebas. *Theaflavin* dalam teh hitam dapat mendorong aktifitas faktor transkripsi, dan menghambat enzim prooksidatif seperti xantin oksidase dan nitrit oxide sintetase (Luczaj dan Skrzydlewska, 2004).

Berdasarkan uraian di atas, dapat diasumsikan bahwa teh hitam dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih yang dikondisikan hiperglikemia dengan aloksan melalui kemampuan teh hitam sebagai antioksidan yang menghambat kerusakan sel β pankreas dan meregenerasi sel β pankreas yang mengalami kerusakan.

1. 4 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh teh hitam terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) penderita hiperglikemia, melalui pengukuran kadar glukosa darah dengan menggunakan alat *on call plus glucose meter*.

1. 5 Manfaat Hasil Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah memberikan informasi tentang khasiat teh hitam (*Camelia sinensis*) sebagai penurun kadar glukosa darah pada *diabetes mellitus*, yang nantinya dapat diarahkan pemanfaatannya untuk kesehatan manusia dan hewan. Selain itu dapat digunakan untuk pengembangan penelitian selanjutnya bagi khasiat teh hitam lainnya.

1. 6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian yang diajukan adalah :

Teh hitam dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) penderita hiperglikemia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. *Diabetes Mellitus* (DM)

2. 1. 1. Definisi

Diabetes mellitus adalah gangguan kompleks yang terjadi pada sel endokrin yang ditandai adanya defisiensi insulin, baik bersifat absolut maupun relatif yang kemudian secara cepat menghasilkan kondisi hiperglikemia serta beberapa gangguan metabolisme tubuh lain (Manyam, 2004).

2. 1. 2. Etiologi

Penyakit *diabetes mellitus* terjadi akibat kematian atau kerusakan sel β pankreas. Apabila tidak segera ditanggulangi maka sel β pankreas tersebut tidak akan berfungsi lagi. Ketika kerusakan sel β telah mencapai $\pm 80\%$ barulah terlihat gejala penyakit. Menurunnya produksi insulin oleh sel β disebabkan oleh faktor dari luar tubuh maupun dari dalam tubuh. Penurunan produksi insulin berakibat menurunnya sintesis glikogen hati dan penggunaan glukosa sel serta meningkatkan pemecahan jaringan lemak. Terganggunya produksi insulin mengakibatkan berkurangnya pemasukan glukosa darah kedalam otot polos pembuluh darah perifer. Apabila hal ini terjadi berkepanjangan maka sel β mengalami degeneratif, perkembangan dan pertumbuhan terganggu, dan apabila terjadi luka maka luka tersebut sulit disembuhkan. Hal ini disebabkan terjadinya angiopati dan neuropati, gangguan anatomis dan fisiologis pada pembuluh darah dan syaraf perifer. Untuk mengaktifkan kembali sel β dalam memproduksi insulin dan reseptor membran sel dalam mengikat insulin diperlukan penanganan khusus,

kesabaran, ketekunan, disiplin dan kemauan yang mendalam terhadap cara penanggulangan penyakit *diabetes mellitus* baik pencegahan maupun pengobatan (Michele *et al.*, 2004).

Diabetes melitus paling banyak disebabkan oleh perubahan fungsi dari sel B yang diduga diakibatkan kemunduran pertumbuhan sel. Akibat gangguan pada sel B, kadar glukosa dalam darah menjadi naik (hiperglikemia). Hal ini disebabkan ketidakseimbangan antara glukosa yang harus diproses dengan banyaknya insulin yang tersedia sehingga terjadi abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Rubins *et al.*, 2002).

2. 1. 3. Klasifikasi

Penyakit *diabetes mellitus* diklasifikasikan menjadi dua kelompok besar, yaitu : IDDM (Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) atau disebut juga dengan *diabetes mellitus* tipe I dan NIDDM (Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) atau disebut juga *diabetes mellitus* tipe II (Manyam, 2004).

Diabetes mellitus tipe I, penyembuhannya tergantung insulin karena sel B pankreas telah mati atau rusak dan tidak berfungsi dan umumnya disebabkan faktor keturunan. *Diabetes mellitus* tipe II adalah ketidakmampuan tubuh menghasilkan insulin yang bersifat relatif, dimana penyembuhannya tidak harus tergantung dari insulin karena sel B pankreas hanya rusak dan masih ada yang mampu memproduksi insulin, tetapi jumlahnya tidak mencukupi untuk memproses pemasukan glukosa darah ke dalam sel dan jaringan (Rubins *et al.*, 2002).

2. 1. 4. Gejala Klinis

Karbohidrat terdapat dalam berbagai bentuk, termasuk gula sederhana atau monosakarida, dan unit-unit kimia yang kompleks, seperti disakarida dan polisakarida. Karbohidrat yang sudah ditelan akan dicerna menjadi monosakarida. Monosakarida utama yang berperan sebagai sumber energi sel-sel tubuh adalah glukosa. Glukosa hasil pemecahan karbohidrat ini selanjutnya memasuki sirkulasi darah (Prabowo, 1997; Schteingart, 2003).

Pengaturan fisiologis kadar glukosa darah sebagian besar tergantung pada hati yang berfungsi: (1) Mengekstraksi glukosa, (2) Mensintesis glikogen, dan (3) Melakukan glikogenolisis. Jaringan perifer seperti otot dan adiposa juga ikut berperan dalam mempertahankan kadar glukosa darah. Jumlah glukosa yang diambil dan dilepaskan oleh hati dan yang digunakan oleh jaringan perifer bergantung pada keseimbangan fisiologis beberapa hormon yaitu (1) Menurunkan kadar glukosa darah (insulin), atau (2) Meningkatkan kadar glukosa darah (glukagon, epinefrin, glukokortikoid, *growth hormone*). Selain itu masih ada pengaruh dari tiroid, kerja fisik, dan faktor imunologik serta faktor keturunan (Schteingart, 2003).

Kadar glukosa plasma puasa normal pada manusia adalah 80 – 110 mg/100 ml. Hiperglikemia didefinisikan sebagai kadar glukosa plasma puasa yang lebih tinggi dari 110 mg/100 ml, sedangkan hipoglikemia bila kadarnya lebih rendah dari 80 mg/100 ml (Schteingart, 2003). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki kadar glukosa darah normal berkisar antara 50 – 135 mg/ 100 ml (Soemardji, 2004).

Hiperglikemia biasanya disebabkan oleh rendahnya tingkat insulin atau adanya resistensi terhadap insulin pada tingkat sel, tergantung pada jenis dan keadaan penyakit. Kadar insulin yang rendah dan atau adanya resistensi insulin, akan menghambat, bahkan mencegah proses konversi glukosa menjadi glikogen. Kadar glukosa harus terus dijaga pada kadar normal oleh mekanisme kontrol internal tubuh dimana insulin memegang peranan penting dalam mekanisme ini. Ketika mekanisme ini gagal, maka kadar glukosa darah akan meningkat dan berakibat timbulnya gejala hiperglikemia (Jenkins *et al*, 2002).

Diabetes mellitus tipe I berhubungan dengan efek langsung dari kadar glukosa darah yang tinggi. Jika kadar glukosa darah meningkat sampai di atas 160-180 mg/dl, maka glukosa akan sampai ke air kemih. Jika kadarnya lebih tinggi lagi, ginjal akan membuang air tambahan untuk mengencerkan sejumlah besar glukosa yang hilang. Karena ginjal menghasilkan air kemih berlebihan, maka penderita sering berkemih dalam jumlah banyak (poliuria). Akibat poliuria maka penderita merasa haus yang berlebihan sehingga banyak minum (polidipsia). Sejumlah besar kalori hilang ke dalam air kemih, penderita mengalami penurunan berat badan. Untuk mengkompensasikan hal ini penderita seringkali merasakan lapar yang luar biasa sehingga banyak makan (polifagia). Pada penderita *diabetes mellitus* tipe I fase berat, gejalanya timbul secara tiba-tiba dan bisa berkembang dengan cepat ke dalam suatu keadaan yang disebut ketoasidosis. Kadar glukosa darah tinggi tetapi sebagian besar sel β tidak dapat menggunakan glukosa, maka sel β pankreas mengambil energi dari sumber lain. Sel lemak dipecah dan menghasilkan keton, yang merupakan senyawa kimia beracun yang bisa menyebabkan darah menjadi asam (ketoasidosis). Tanpa pengobatan segera,

ketoasidosis bisa berkembang menjadi koma bahkan kematian (Alberti dan Zimmet, 1998).

Diabetes mellitus tipe II mungkin sama sekali tidak memperlihatkan gejala apapun, dan diagnosis hanya dibuat berdasarkan pemeriksaan darah di laboratorium dan melakukan tes toleransi glukosa. Pada keadaan hiperglikemia yang lebih berat (lebih dari 180 mg/dl, biasanya terjadi akibat stres; misalnya infeksi atau obat-obatan), maka penderita akan mengalami dehidrasi berat yang bisa menyebabkan kebingungan mental, pusing, dan kejang. Biasanya mereka tidak mengalami ketoasidosis karena pasien ini tidak mengalami defisiensi insulin absolut namun hanya relatif. Sejumlah insulin tetap disekresi dan masih cukup menghambat ketoasidosis (Satterfield, 2003).

2. 1. 5. Pengobatan

Terapi insulin biasa digunakan sebagai tindakan penanganan pada pasien *diabetes mellitus* tipe I untuk mengontrol metabolisme dan umumnya penderita peka terhadap insulin. Sedangkan pada *diabetes mellitus* tipe II, dapat dilakukan dengan memperbaiki sensitifitas insulin, meningkatkan status glukosa di jaringan perifer, memperbaiki profil lipid, memperbaiki status koagulasi, tekanan darah serta mengendalikan kelainan metabolik, sehingga kerusakan yang berkaitan dengan hiperglikemia, hiperinsulinemia dan dislipidemia dapat dicegah (Ong *et al.*, 2006).

2. 2 Pankreas

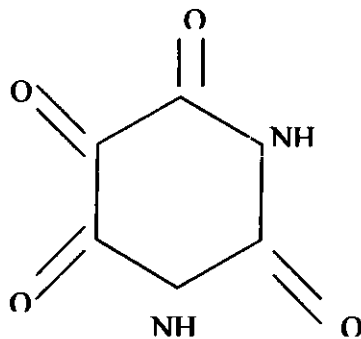
Pankreas adalah salah satu kelenjar mayor dalam pencernaan yang memproduksi enzim-enzim penting bagi proses pencernaan (Nielsen, 1997).

Pankreas terletak retroperineal di dalam rongga abdomen dimana bagian kaputnya terletak pada bagian cekung duodenum dan bagian kaudanya menyentuh limfa. Pankreas dibentuk dari dua sel dasar yang mempunyai fungsi berbeda. Pertama, sel-sel eksokrin yang berfungsi mensintesis dan mensekresi enzim-enzim pencernaan seperti *pancreozym*, amylase, lipase, dan trypsin. Kedua, sel-sel endokrin yang berfungsi memproduksi hormon-hormon yang berpengaruh terhadap metabolisme glukosa. Sel-sel endokrin pankreas mengelompok membentuk bentukan seperti pulau dalam pankreas atau lebih dikenal dengan nama pulau Langerhans, bercampur dengan parenkim pankreas yang bersifat eksokrin. Bentuknya bervariasi, umumnya bulat atau lonjong. Sel-sel pulau tersebut tersusun dalam betuk bingkai, saling beranastomose secara tidak teratur dan terdiri dari lima sel yang berbeda yakni : sel α , sel β , sel C, sel D (δ) dan sel F (Leung *et al.*, 2000).

Sel α yang mengisi 5 – 30% bagian dari pulau langerhans bertugas mensekresi glukagon. Glukagon berfungsi dalam menstimulasi pemecahan glikogen dan mensintesis glukosa dalam hati yang menyebabkan peningkatan glukosa dalam darah. Sel β yang merupakan komponen terbesar dalam pulau pankreas yaitu 60 – 80% bertugas mensekresi insulin. Insulin berfungsi menstimulasi pembentukan dan penyimpanan glikogen dalam hati dan otot serta bertanggung jawab terhadap perubahan glukosa menjadi lemak yang nantinya akan disimpan dalam jaringan adiposa. Berkurangnya sekresi insulin menyebabkan gangguan metabolisme glukosa yang ditandai dengan hiperglikemia dan glikosuria (Lo *et al.*, 1997).

2. 3. Aloksan

Aloksan pertama kali ditemukan oleh Brugnatelli pada tahun 1818. Pada tahun 1928 Wohler dan Liebig menggunakan nama aloksan dan menemukan bahwa aloksan dapat digunakan sebagai bahan eksperimental *diabetes mellitus*. Aloksan digunakan sebagai eksperimental *diabetes mellitus* dapat melalui parenteral (IV, IP, atau SC). Efek diabetogenik akan tampak setelah hari kedua dan dapat bertahan sampai dua minggu pertama dan setelah itu kadar glukosa darah kembali ke kadar normalnya (Szkudelski,2001).



Gambar 2. 1 Struktur kimia aloksan (2,4,5,6 tetraoksipirimidin) (Szkudelski, 2001)

Aloksan adalah asam urat yang dapat menghasilkan radikal bebas yang mampu merusak membran dan DNA sel β pankreas sehingga menyebabkan sel β mengalami kerusakan dan mati. Pada saat sel β mengalami kerusakan, sel β tidak dapat memproduksi insulin yang cukup sehingga dapat menjadi pemicu kondisi hiperglikemia. Hewan yang mengalami hiperglikemia karena aloksan, tidak sama sekali kehilangan insulin, karena pemberian aloksan tidak merusak sel β pankreas secara langsung dan keseluruhan (Gorus *et al.*, 1982).

Penelitian tentang mekanisme kerja aloksan yang dilakukan secara *invitro* menunjukkan bahwa aloksan menghambat aktivitas Calmodulin, yang berperan

dalam transport ion Ca sel. Kalsium (Ca) sangat diperlukan untuk memulai sejumlah proses seluler yang meliputi kontraksi sel, sekresi *neurotransmitter* dan hormon serta sel syaraf. Calmodulin merupakan protein pengikat ion Ca yang berperan sebagai aktivator agar sejumlah tertentu ion Ca berada dalam sel. Akibat hambatan aktivitas Calmodulin ini, sekresi insulin juga terhambat (Rho et al, 2000).

Perusakan sel β pankreas secara selektif oleh aloksan belum banyak diketahui. Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara *invitro* menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion Ca dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion Ca dari mitokondria mengakibatkan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Gorus et al., 1982).

2. 4. Tinjauan Tanaman Teh

2.4.1 Klasifikasi Tanaman Teh

Menurut Tjitrosoepomo (1989), tanaman teh (*Camellia sinensis*) diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Dialypetalae
Ordo	: Guttiferales
Famili	: Camelliaceae
Genus	: Camellia

Spesies : *Camellia sinensis*

Varietas : Assamica

2.4.2 Morfologi Tanaman Teh

Teh merupakan tanaman perdu yang dimanfaatkan daunnya. Tanaman ini memiliki akar tunggang yang kuat. Bunganya berwarna kuning putih berdiameter 2,5-4 cm. Daun teh mempunyai panjang 4-15 cm dan lebar 2-5 cm (gambar 2.2). Daun yang berwarna hijau muda dan mempunyai rambut-rambut pendek putih di bagian bawah daun (pucuk dan 2-3 daun pertama) adalah yang dipanen kemudian diolah. Daun dengan umur yang berbeda menghasilkan kualitas teh yang berbeda, karena komposisi kimianya yang berbeda. Pemetikan dilakukan dengan tangan dan diulang setiap dua minggu (Ming, 1992).



Gambar 2.2 Kebun teh (*Camellia sinensis*) di Lawang (Budiono, 2010).

2.4.3 Kegunaan Tanaman Teh

Pada dasarnya teh dibagi dalam tiga jenis, akan tetapi yang umum dikenal oleh masyarakat adalah teh hijau, teh hitam dan teh oolong. Teh hijau mengandung polifenol dengan konsentrasi yang tinggi, salah satunya yaitu

epigallocatekin gallat (EGCG). Polifenol dari teh menunjukkan kemampuan untuk menghambat fungsi dari proteosom, dengan demikian dapat mencegah terjadinya inflamasi (Pajonk *et al.*, 2006). Epigallocatekin gallat (EGCG) yang terkandung dalam teh, utamanya pada teh hijau memiliki kemampuan untuk menghambat urokinase serta menghambat enzim-enzim yang penting pada pertumbuhan tumor (Halder and Amar, 1998).

Epigallocatekin gallat (EGCG) merupakan zat aktif yang terkandung dalam teh (dalam hal ini yaitu teh hijau) dapat memperkecil kerusakan retina akibat ischaemia/reperfusion dan juga dapat sebagai antibakterial. Teh hijau juga sangat efektif dalam menurunkan regulasi dari TNF α yang menyebabkan proses alergi terutama kerato konjungtivitis (Attarzadeh *et al.*, 2008).

Teh hijau dan teh hitam mempunyai kemampuan untuk mengeliminasi oksigen reaktif seperti singlet oksigen, superoksid, radikal hidroksil, serta mencegah *cross-link* oksidatif dari protein dan kerusakan DNA (Attarzadeh *et al.*, 2008). Epigallocatekin-3-gallat dari teh hijau serta *theaflavin-3,3*-gallat dari teh hitam merupakan dua komponen yang paling efektif sebagai antikanker melalui penghambatan signal transduksi *pathway activator* protein-1 (AP-1) serta nukleus factor kappa B (NF- κ B) (Bode and Zigang, 2002)

2.4.4 Kandungan Tanaman Teh

Komposisi daun teh terdiri dari polifenol 30-35%, karbohidrat 25%, kafein 3,5%, protein 15%, asam amino 4%, lignin 6,5%, asam organik 1,5%, lipid 2%, abu 5% dan klorofil 0,5% (Liang *et al.*, 2003).

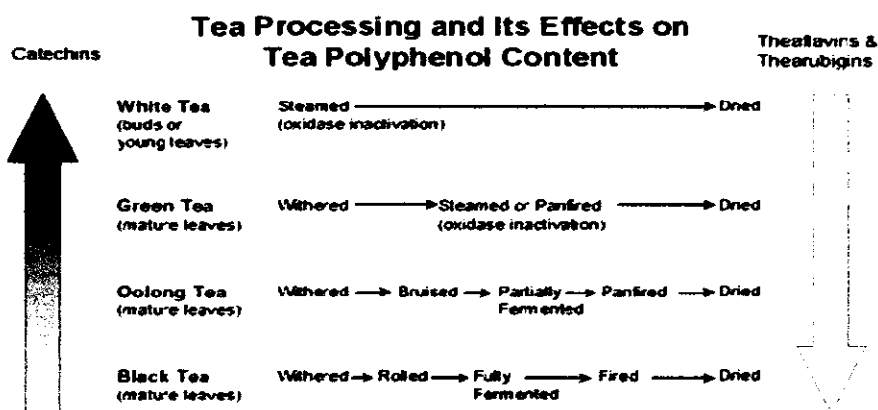
Tanaman teh mengandung zat kimia yang berfungsi sebagai antioksidan alami yaitu polifenol. Komponen polifenol yang paling banyak dalam teh adalah katekin. Teh juga mengandung *theobromin*, *theofilin*, glikosida flavonoid, bisflavonoid, asam gallat, asam klorogenat, gula, pektin, polisakarida, asam oksalat, asam malonat, asam suksinat, asam malat, asam akonitat, asam sitrat, kalium, mineral lain, asam amino lain dan aroma (Graham, 1992; Hicks *et al.*, 1996; Rechner *et al.*, 2002).

2.4.5 Teh Hitam (*Black tea*)

Teh merupakan minuman yang paling populer di seluruh dunia. Rata-rata 2,5 juta ton teh tiap hari diproduksi, dan sekitar 80% dari jumlah tersebut merupakan teh hitam. Teh hitam merupakan salah satu jenis teh dengan oksidasi lebih, dari pada jenis yang lain seperti teh hijau, ataupun teh oolong. Pada dasarnya semua jenis teh terbuat dari tanaman yang sama yaitu *Camellia sinensis* akan tetapi teh hitam ini memiliki cita rasa yang lebih kuat dan mengandung kafein lebih banyak daripada jenis teh lain (Sanderson and Graham, 1997).

Berdasarkan penanganan pasca panen, teh dibagi menjadi 3 macam yaitu: teh hijau, teh oolong dan teh hitam. Teh hijau diperoleh tanpa proses fermentasi, daun teh diperlakukan dengan pemanasan sehingga terjadi inaktivasi enzim. Pemanasan ini dilakukan dengan dua cara yaitu dengan udara kering dan pemanasan basah dengan uap panas (steam). Pada pemanasan dengan suhu 85°C selama 3 menit, aktivitas enzim polifenol oksidase tinggal 5,49%. Pemanggangan (*pan firing*) secara tradisional dilakukan pada suhu 100-200 °C sedangkan pemanggangan dengan mesin suhunya berkisar 200-300 °C. Pemanggangan daun

teh akan memberikan aroma dan *flavor* yang lebih kuat dibandingkan dengan pemberian uap panas. Keuntungan dengan cara pemberian uap panas adalah warna teh dan seduhannya akan lebih hijau terang. Teh oolong adalah teh yang diproses secara semi fermentasi dan dibuat menggunakan bahan baku khusus, yaitu varietas tertentu yang memberikan aroma khusus. Daun teh dilayukan lebih dahulu, kemudian dipanaskan pada suhu 160-240 °C selama 3-7 menit untuk inaktivasi enzim, selanjutnya digulung dan dikeringkan. Teh hitam diperoleh melalui proses fermentasi tidak menggunakan mikroba sebagai sumber enzim, melainkan oleh enzim polifenol oksidase yang terdapat di dalam daun teh tersebut. Pada proses ini, katekin mengalami oksidasi menghasilkan *theaflavin* dan *thearubigin*. Cara pengolahan teh hitam adalah daun teh segar dilayukan terlebih dahulu pada palung pelayu, kemudian digiling sehingga sel daun akan rusak. Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 2-4 jam pada suhu sekitar 22-28 °C dan kelembaban sekitar 90%. Lamanya fermentasi menentukan kualitas hasil akhir dari teh tersebut. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan pengeringan sampai kadar air teh mencapai 4-6%. (Rechner *et al.*, 2002).



Gambar 2.3. Proses pengolahan teh serta kandungan polifenol sesuai proses pengolahannya (Parkinson, 2009)

Teh hitam mengandung senyawa yang mampu bertindak sebagai antioksidan utamanya senyawa *theaflavin*. Senyawa *theaflavin* dalam teh hitam jumlahnya paling dominan dibanding jenis olahan teh lain. *Theaflavin* bermanfaat untuk mencegah berbagai macam penyakit, antara lain *diabetes mellitus*, kardiovaskuler, hati, dan kanker (Leung *et al.*, 2001; Weisburge and Lung., 2002). Sebagai antidiabetes, teh hitam mengandung antioksidan yang mampu menghambat pembentukan radikal bebas dan menangkap radikal bebas. *Theaflavin* dalam teh hitam dapat mendorong aktifitas faktor transkripsi, dan menghambat enzim prooksidatif seperti xantin oksidase dan nitrit oxide sintetase, sehingga dapat mencegah kerusakan sel β pankreas dan meregenerasi sel β pankreas yang mengalami kerusakan (Luczaj dan Skrzydlewska, 2004).

BAB 3

MATERI DAN METODE

BAB 3. MATERI DAN METODE

3. 1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli 2009 yang dilakukan di dua lokasi yaitu kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk pemeliharaan dan adaptasi tikus dan laboratorium patologi klinik veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk melakukan pengambilan darah tikus putih, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan glukosa darah tikus putih.

3. 2 Materi Penelitian

3. 2. 1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air PDAM untuk air minum tikus putih (*Rattus norvegicus*), sekam untuk alas kandang, alkohol 70% dan aquadest untuk sterilisasi, teh hitam atau *Black tea* (Ou Tea[®]) produksi PT Sumber Budimulia Adiputra dengan BPOM TR 063 264 561 dengan kemasan 45 gram yang dibuat infusum untuk perlakuan, aloksan monohidrat ($C_4H_2N_2O_4H_2O$) produksi SIGMA disimpan pada suhu 4°C untuk induksi hiperglikemia, dan pakan ayam crumble Broiler 1 produksi PT. Japfa Comfeed Indonesia Tbk.

Tikus penelitian berjumlah 16 ekor berumur dua bulan tanpa membedakan jenis kelamin, yang dibeli dari peternak tikus putih di Sidoarjo. Berat badan tikus

putih berkisar antara 110 gram sampai dengan 200 gram dalam keadaan sehat. Tikus putih diadaptasikan terlebih dahulu selama dua minggu di kandang percobaan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

3. 2. 2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat buah kandang tikus dari plastik polipropilen berukuran 40 cm x 60 cm dengan tutup dari kawat kasa, alat penimbang berat badan, alat timbang elektrik merek Adventurer NS 1225271875, tempat pakan, botol air minum, alat pengukur kadar gula darah (*glucose meter kit* merek On Call® Plus, produksi Acon Laboratories, San Diego, California, Amerika Serikat), alat suntik volume 1 ml dan 5 ml, *needle* ukuran 23 G, sonde lambung, sarung tangan, masker, *aluminium foil*, kertas saring, saringan teh, saringan press, sendok pengaduk dan spatula, gelas ukur, *beker glass*, labu *erlenmeyer*, kapas, *tissue*, alat tulis, kertas label, dan alat dokumentasi.

3. 3 Metode Penelitian

3. 3. 1 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Infusum teh hitam yaitu merupakan sediaan yang dibuat dengan cara menarik sari zat berkhasiat dengan air pada suhu 90° C selama 15 menit

Variabel tergantung : Kadar glukosa darah yaitu kadar glukosa darah tikus putih yang diambil dari *vena coccygealis*.

Pengukuran kadar glukosa dilakukan dengan menggunakan alat *glucose meter kit* merek On Call® Plus.

Kadar glukosa darah relatif adalah kadar glukosa yang diperoleh dengan cara menghitung penurunannya

Variabel terkendali: Jenis kelamin tikus (jantan dan betina), pakan tikus (pakan ayam crumble Broiler 1 produksi PT. Japfa Comfeed Indosnesia Tbk) dan umur tikus (berumur 2 bulan).

3. 3. 2 Pelaksanaan Penelitian

3. 3. 2. 1 Tahap Persiapan

3. 3. 2. 1. 1 Persiapan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *wistar* berjumlah 20 ekor, dimasukkan ke dalam lima buah kandang plastik berukuran 40 cm x 60 cm. Masing-masing kandang diisi empat tikus putih yang dipilih secara acak. Tikus putih diadaptasikan dalam kondisi yang relatif sama selama dua minggu. Selama penelitian berlangsung, tikus putih diberi pakan ayam crumble Broiler 1 dan minum secara *ad libitum*.

3.3.2.1.2 Pembuatan Infusum Teh Hitam

Infusum merupakan sediaan yang dibuat dengan cara menarik sari zat berkhasiat dengan air pada suhu 90° C selama 15 menit. Pembuatan infusum teh hitam dilakukan dengan cara menimbang teh hitam sebanyak 250 gram ditambahkan air sebanyak 1 liter dan direbus pada suhu 90° C selama 15 menit. Sediaan infusum tersebut disaring menggunakan saringan teh dan saringan press yang telah dilapisi kertas saring. Infusum teh hitam yang telah mengalami penyaringan kemudian dimasukkan ke dalam labu *erlenmeyer*, ditutup menggunakan *aluminium foil* selanjutnya disimpan di dalam *refrigerator*.

3.3.2.1.3 Induksi Hiperglikemia dengan Aloksan

Untuk membuktikan terjadi hiperglikemia pada tikus, digunakan 16 ekor tikus diberi aloksan dan 4 ekor tikus tanpa diberi aloksan, untuk menunjukkan kadar glukosa darah normal. Pada 16 ekor tikus yang diberi aloksan diperoleh kadar glukosa darah sebesar $222,75 \pm 57,03$ mg/dl, sedangkan tikus tanpa diberi aloksan diperoleh kadar glukosa darah sebesar $117,50 \pm 9,57$ mg/dl. Kadar glukosa darah tikus yang diberi aloksan dan tanpa diberi aloksan menunjukkan perbedaan signifikan, sehingga dapat disimpulkan pemberian aloksan dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah tikus dan terjadi hiperglikemia.

Aloksan diberikan pada tikus putih dengan tujuan untuk merusak pankreas tikus putih, sehingga terjadi kondisi hiperglikemia pada tikus penelitian. Pemberian aloksan yang dilarutkan dalam aquadest, dilakukan setelah tikus diadaptasikan selama dua minggu (Gorus dan Malaisse, 1982). Dosis aloksan

(*single dose*) yang diberikan yaitu 150 mg/kgBB secara intraperitoneal. Kemudian setelah 2-3 hari akan terjadi hiperglikemia (Ahmed *et al.*, 2005).

3. 3. 2. 1. 4 Eksplorasi Dosis Perlakuan

Dosis infusum teh hitam yang digunakan adalah dosis manusia 10 gram/50 kgBB atau 14 gram/70 kgBB. Dosis tersebut kemudian dikonversikan untuk tikus penelitian yang memiliki berat 200 gram (Kusumawati, 2002).

$$0,018 \times 14 \text{ gram} = 0,252 \text{ gram} = 252 \text{ mg}$$

Dosis 252 mg dibuat logaritma menghasilkan nilai 2,401. Nilai 2,401 terletak pada nilai diantara $^2\log 100$ dan $^3\log 1000$, jadi nilai 2,401 terletak diantara nilai 2 dan 3.

Dosis yang digunakan adalah :

$$\text{Dosis rendah (Al/ TH 114,52)} = \frac{\text{Log } 100}{\text{Log } 252} \times 252 \text{ mg} = 114,52 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis standar (Al/ TH 252)} = \frac{\text{Log } 252}{\text{Log } 252} \times 252 \text{ mg} = 252 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis tinggi (Al/ TH 314,87)} = \frac{\text{Log } 1000}{\text{Log } 252} \times 252 \text{ mg} = 314,87 \text{ mg}$$

3.3.3.2 Tahap Perlakuan

3.3.3.2.1 Pemberian Infusum Teh Hitam

Pemberian infusum teh hitam dilakukan satu kali, secara peroral menggunakan sonde lambung. Terdapat empat perlakuan AL/AQ; AL/ TH 114,52; AL/ TH 252; dan AL/ TH 314,87.

1. AL/ AQ : tikus putih diinduksi aloksan tanpa diberi teh hitam (hanya diberi aquadest).
2. AL/ TH 114,52 : tikus putih diinduksi aloksan dan diberi infusum teh hitam dengan dosis 114,52 mg/kgBB.
3. AL/ TH 252 : tikus putih diinduksi aloksan dan diberi infusum teh hitam dengan dosis 252mg/kgBB.
4. AL/ TH 314,87 : tikus putih diinduksi aloksan dan diberi infusum teh hitam dengan dosis 314,87 mg/kgBB.

3.4 Pengamatan Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah pada tikus penelitian setelah pemberian infusum teh hitam dengan dosis 114 mg/kgBB, 252 mg/kgBB, dan 314,87 mg/kgBB.

Pengukuran kadar glukosa darah tikus penelitian dilakukan sebelum perlakuan (0 jam), berturut-turut 2 jam, 4 jam, dan 6 jam setelah pemberian infusum teh hitam. Sebelum pengukuran dilakukan seluruh tikus dipuasakan dulu selama 12 jam (Wahed and Ghaled., 1967)

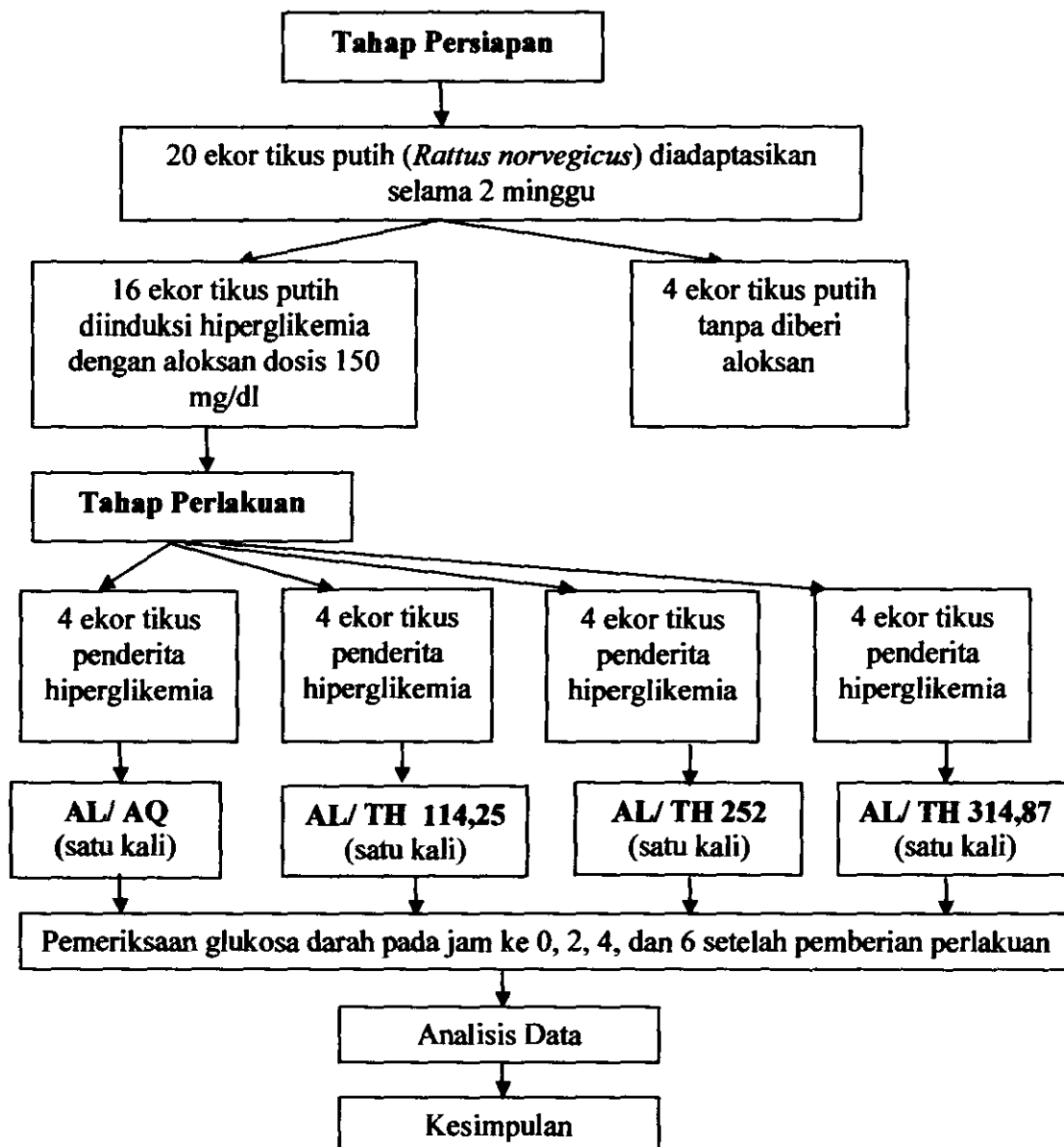
3.5 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan, sehingga didapatkan $4 \times 4 = 16$ satuan percobaan.

3.6 Analisis Data

Data kadar glukosa darah tikus disusun dalam tabel dan disajikan dalam bentuk rerata dan simpangan baku ($X \pm SD$) pada tiap pengamatan. Data tersebut dianalisis menggunakan *analysis of variant* (ANOVA) pada tingkat signifikansi 0,05. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ). Jika pada pengamatan jam ke 0 menunjukkan hasil signifikan, maka untuk data kadar glukosa darah pada masing-masing perlakuan dilakukan dengan cara mengurangkan. Data kadar glukosa tersebut disebut sebagai kadar glukosa darah relatif. (Stell dan Torry, 1989).

3.7 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

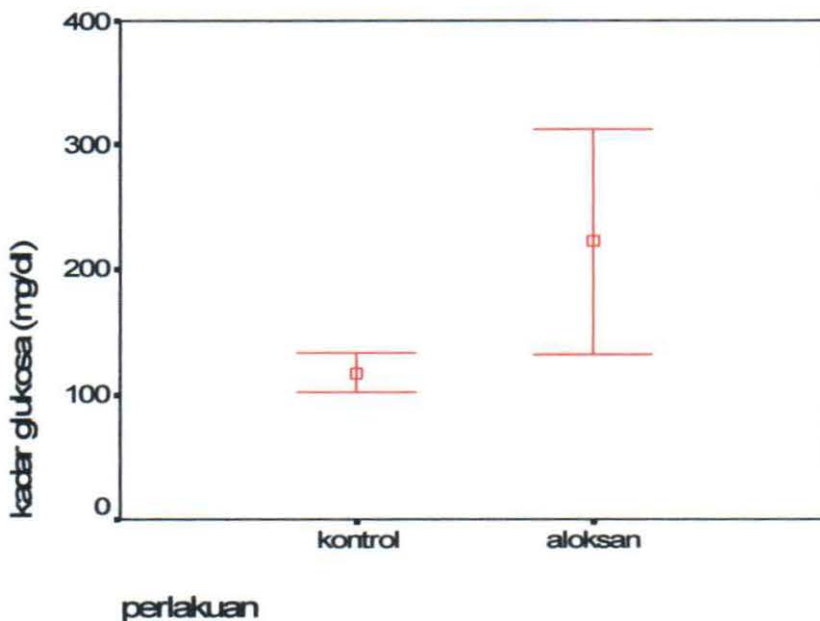
BAB 4

HASIL PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Pemberian Aloksan terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kadar glukosa darah tikus putih yang disebabkan pemberian aloksan lebih tinggi secara signifikan daripada tanpa pemberian aloksan ($p < 0,05$). Kadar glukosa darah tikus putih pada pemberian aloksan dan tanpa pemberian aloksan masing-masing adalah $117,50 \pm 9,57$ mg/dl dan $222,75 \pm 57,03$ mg/dl (Lampiran 4). Hasil pengaruh pemberian aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) disajikan pada gambar 4. 1.

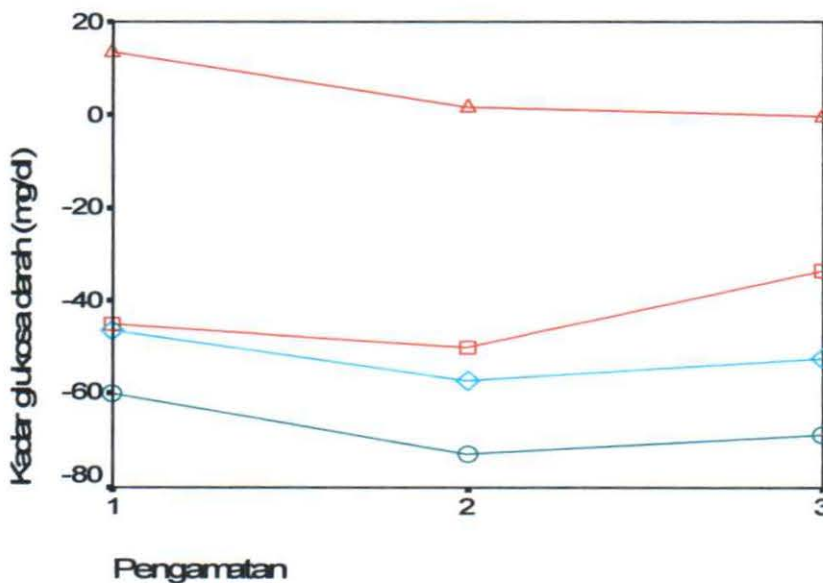


Gambar 4. 1 Grafik perbedaan kadar glukosa darah tikus putih diinduksi aloksan dan tidak diinduksi aloksan.

Diagram *error bar* sebelah kiri menunjukkan kadar glukosa darah tikus putih tidak diinduksi aloksan sedangkan gambar sebelah kanan menunjukkan kadar glukosa darah tikus putih diinduksi aloksan. Titik bulat menunjukkan nilai rata-rata masing-masing perlakuan dan dua tangan menunjukkan selang kepercayaan pada 95%.

4.2 Pemberian Teh Hitam (*Black tea*) terhadap Kadar Glukosa Darah Relatif Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Penderita Hiperglikemia

Pengaruh pemberian infusum teh hitam terhadap kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia, dapat dilihat dengan membandingkan kadar glukosa darah tikus putih pada tiap pengamatan yang disajikan pada gambar 4. 2 sehingga diketahui efektifitas dan lama kerja infusum teh hitam pada masing-masing perlakuan. Hasil selengkapnya mengenai kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada percobaan ini dapat dilihat pada Lampiran 5.



Gambar 4.2 Grafik perbandingan kadar glukosa darah relatif tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia di tiap pengamatan.

Kadar glukosa darah hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 2 dengan jam ke 0 (1), pengamatan antara jam ke 4 dengan jam ke 0 (2), pengamatan antara jam ke 6 dengan jam ke 0 (3). Perlakuan AL/ AQ (Δ), perlakuan AL/ TH 314,87 (□), perlakuan AL/ TH 214,52 (◇), dan perlakuan AL/ TH 252(○).

Kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 2 dengan jam ke 0 diperoleh hasil signifikan ($p < 0,05$) antara perlakuan AL/AQ dengan perlakuan AL/TH 114,52; AL/TH 252; dan AL/TH 314,87. Kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia yang mendapat perlakuan AL/ AQ (diberi

aloksan dan aquadest) adalah sebesar $13,50 \pm 13,00$ mg/dl. Perlakuan AL/ TH 114,52 (diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 114,52 mg/kg BB) sebesar $-46,00 \pm 18,91$ mg/dl. Perlakuan AL/ TH 252 (diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 252 mg/kg BB) sebesar $-60,00 \pm 38,31$ mg/dl dan perlakuan AL / TH 314,87 (diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 314,87 mg/kg BB) adalah sebesar $-45,00 \pm 4,76$ mg/dl. Rerata dan simpangan baku kadar glukosa darah tikus putih antara jam ke 2 dengan jam ke 0 disajikan dalam Tabel 4. 1.

Tabel 4. 1 Kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 2 dengan jam ke 0

PERLAKUAN	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)
AI/ AQ	$13,50 \pm 13,00^b$
AI/ TH 114,52	$-46,00 \pm 18,91^a$
AI/ TH 252	$-60,00 \pm 38,31^a$
AI/ TH 314,87	$-45,00 \pm 4,76^a$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Keterangan: tanda negatif (-) menunjukkan penurunan kadar glukosa darah, sedangkan tanda positif (tanpa tanda) menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah.

Kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 4 dengan jam ke 0 diperoleh hasil signifikan ($p < 0,05$) antara perlakuan AL/ AQ, AL/ TH 114,52, dan AL/ TH 252, namun tidak signifikan ($p > 0,05$) dengan perlakuan AL/ TH 314,87. Kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia yang mendapat perlakuan AL/ AQ adalah sebesar $1,75 \pm 2,36$ mg/dl. Perlakuan AL/ TH 114,52 sebesar $-57,25 \pm 23,85$ mg/dl. Perlakuan AL/ TH 2 sebesar $-73,00 \pm 48,23$ mg/dl dan perlakuan AL/ TH 314,87 adalah sebesar $-50,00 \pm 3,16$ mg/dl. Rerata dan simpangan baku kadar glukosa darah tikus putih antara jam ke 4 dengan jam ke 0 disajikan dalam Tabel 4. 2.

Tabel 4. 2 Kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 4 dengan jam ke 0

PERLAKUAN	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)
AI/ AQ	$1,75 \pm 2,36^b$
AI/ TH 114,52	$-57,25 \pm 23,85^a$
AI/ TH 252	$-73,00 \pm 48,23^a$
AI/ TH 314,87	$-50,00 \pm 3,16^{ab}$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 6 dengan jam ke 0 diperoleh hasil tidak signifikan ($p > 0,05$) antar perlakuan.

Tabel 4. 3 Kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemia pada pengamatan antara jam ke 6 dengan jam ke 0

PERLAKUAN	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)
AI/ AQ	$1,75 \pm 2,36^a$
AI/ TH 114,52	$-57,25 \pm 23,85^a$
AI/ TH 252	$-73,00 \pm 48,23^a$
AI/ TH 314,87	$-50,00 \pm 3,16^a$

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia yang mendapat perlakuan AL/ AQ adalah sebesar $1,75 \pm 2,36$ mg/dl. Perlakuan AL/ TH 114,52 sebesar $-57,25 \pm 23,85$ mg/dl. Perlakuan AL/ TH 252 sebesar $-73,00 \pm 48,23$ mg/dl dan perlakuan AL/ TH 314,87 adalah sebesar $-50,00 \pm 3,16$ mg/dl. Rerata dan simpangan baku kadar glukosa darah tikus putih antara jam ke 6 dengan jam ke 0 disajikan dalam Tabel 4.3.

BAB 5

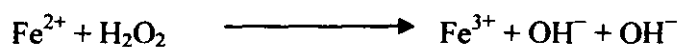
PEMBAHASAN

BAB 5. PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan aloksan sebagai induktor untuk mendapatkan kondisi hiperglikemia pada perlakuan AL/ AQ; AL/ TH 114,52; AL/ TH 252 dan AL/ TH 314,87. Pada pengamatan jam ke 0 (pengamatan pengaruh pemberian aloksan) didapatkan hasil peningkatan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) secara signifikan ($p < 0,05$). Menurut Szkudelski, 2001, aloksan merupakan bahan kimia yang biasa digunakan untuk membuat model hiperglikemia pada hewan coba. Aloksan akan cepat masuk ke dalam sel β pankreas dan mengalami reduksi, menjadi asam dialurat. Asam dialurat ini kemudian teroksidasi kembali menjadi aloksan. Proses ini menghasilkan siklus redoks yang menghasilkan senyawa radikal peroksida. Senyawa radikal peroksida ini dapat melepaskan ion Fe^{3+} dari senyawa ferritin dan mereduksinya menjadi ion Fe^{2+} . Senyawa radikal peroksida ini juga mampu berubah menjadi senyawa hidrogen peroksida melalui mekanisme dismutasi dengan ion hidrogen seperti terlihat pada skema berikut.



Adanya ion Fe^{2+} dan senyawa hidrogen peroksida ini akan membentuk senyawa radikal hidroksil (OH^\cdot) yang sangat reaktif melalui reaksi berikut (Szkudelski, 2001)



penting bagi kehidupan (Sies, 1993). Radikal hidroksil memegang peranan penting dalam perusakan sel β pankreas. Proses perusakan sel β pankreas terjadi karena radikal hidroksil ini mampu merusak susunan DNA sel yang pada akhirnya menimbulkan gangguan terhadap metabolisme sel. Terganggunya proses metabolisme sel mengakibatkan terganggunya produksi ATP, dan tanpa ATP yang cukup sel akan mengalami kematian (Imlay, 2003).

Senyawa reaktif hidroksil selain merusak DNA, juga dapat merusak membran sel melalui mekanisme *lipid peroxidation*. Mekanisme ini terdiri dari tiga tahap yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Proses inisiasi adalah proses radikal lemak terbentuk, dimana pemicu reaksi ini adalah senyawa reaktif hidroksil. Senyawa reaktif hidroksil ini bereaksi dengan atom H dari senyawa lemak tidak jenuh pada membran sel, membentuk radikal lemak dan senyawa H_2O . Tahap selanjutnya adalah proses propagasi, dimana radikal lemak bereaksi dengan oksigen, membentuk radikal lemak peroksil. Radikal lemak peroksil merupakan senyawa yang tidak stabil yang kemudian dapat bereaksi dengan senyawa lemak tidak jenuh lainnya, menghasilkan senyawa lemak peroksida dan radikal asam lemak baru (Marnett, 1999).

Radikal lemak yang terbentuk akan bereaksi kembali dengan cara yang sama. Tahap terminasi terjadi bila jumlah radikal lemak telah banyak, sehingga saling bereaksi. Pembentukan senyawa radikal lemak baru oleh reaksi antara radikal lemak dan senyawa lemak tidak jenuh secara terus menerus menjadikan reaksi ini dinamakan mekanisme siklus reaksi berantai (*cyclic chain reaction*). Hasil akhir reaksi ini adalah pembentukan senyawa lemak peroksida, dimana

kondisi ini akan memicu terjadinya efek mutagenik dan karsinogenik (Marnett, 1999).

Peningkatan besar-besaran radikal hidroksil yang sangat reaktif ditambah dengan kerusakan membran sel inilah yang mengakibatkan kerusakan cepat pada sel β pankreas, yang berakibat pada penurunan produksi insulin dan mengakibatkan kenaikan kadar glukosa darah (Szkudelski, 2001).

Kerusakan pada sel β pankreas menyebabkan turunnya produksi insulin sehingga memicu kejadian hiperglikemia. Kejadian hiperglikemia sendiri dapat menimbulkan keadaan stres oksidatif. Kondisi hiperglikemia menyebabkan tingginya kadar gula dalam darah, sehingga memicu kenaikan proses glukasi. Proses glukasi adalah terikatnya senyawa gula dengan senyawa lemak dan protein dimana tidak ada kontrol oleh enzim. Proses ini menghasilkan senyawa yang dinamakan *advance glycation end product* (AGE). Peningkatan senyawa AGE ini pada akhirnya dapat menimbulkan peningkatan senyawa radikal bebas berupa superoksida yang bersifat sangat reaktif sehingga terjadilah stress oksidatif. Senyawa superoksida ini akan bereaksi dengan cara yang sama yaitu mulai dari melepaskan ion Fe^{3+} dari ferritin dan mengoksidasinya menjadi Fe^{2+} , sampai pembentukan radikal hidroksil. Senyawa superoksida ini bila dalam jangka panjang terdapat di dalam pembuluh darah, akan dapat merusak sel-sel endotel dari pembuluh darah dan mengakibatkan artherosclerosis. Kerusakan pada pembuluh darah pada akhirnya akan berdampak sistemik pada berbagai sistem metabolisme tubuh (Bayraktutan, 2007).

Mekanisme kerja aloksan dalam merusak sel β pankreas menunjukkan bahwa aloksan merupakan agen oksidator kuat yang menghasilkan radikal bebas

dalam jumlah besar sehingga menimbulkan keadaan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas (prooksidan) dengan antioksidan (Gems dan Partridge, 2008). Sehingga keadaan ini dapat mengakibatkan rusaknya sel β pankreas yang mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah dan terjadi hiperglikemia.

Setelah didapatkan kondisi hiperglikemia, selanjutnya dilakukan pengamatan kadar glukosa darah antara jam ke 2 dengan jam ke 0, jam ke 4 dengan jam ke 0, dan jam ke 6 dengan jam ke 0 untuk membandingkan efek terapi yang diberikan. Pada pengamatan kadar glukosa darah antara jam ke 2 dengan jam ke 0 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah AL/ AQ (diberi aloksan dan aquadest) berbeda nyata dengan AL/ TH 114,52 (diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 114,52 mg/kg BB); AL/ TH 252 (diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 252 mg/kg BB) dan AL/ TH 314,87 (diberi aloksan dan teh hitam dengan dosis 314,87 mg/kg BB). Perbedaan tersebut terjadi karena AL/ AQ hanya diberi terapi aquadest sehingga kadar glukosa darahnya semakin meningkat, sedangkan AL/ 114,52; AL/ TH 252 dan AL/ TH 314,87 diberi terapi teh hitam dan terjadi penurunan kadar glukosa darah.

Pada pengamatan kadar glukosa darah antara jam ke 4 dengan jam ke 0 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah AL/ AQ berbeda nyata dengan AL/ TH 114,52 dan AL/ TH 252 namun tidak berbeda nyata dengan AL/ TH 314,87. Gambaran di atas menunjukkan bahwa pada pengamatan jam ke 4, kadar glukosa darah AL/ AQ mengalami penurunan, padahal sebelumnya mengalami peningkatan pada jam ke 2, sehingga mengakibatkan kadar glukosa darah AL/ AQ antara jam ke 4 dengan jam ke 0 selisihnya hanya sedikit dan keadaan tersebut

juga terjadi pada AL/ TH 314,87, karena pada jam ke 4 penurunan glukosa darah AL/ TH 314,87 hanya sedikit, sehingga AL/ AQ tidak berbeda nyata dengan AL/ TH 314,87. Sedangkan AL/ 114,52 dan AL/ TH 252 pada pengamatan jam ke 4 terjadi penurunan kadar glukosa darah yang lebih banyak dibandingkan dengan AL/ TH 314,52, sehingga kadar glukosa darah AL/ TH 114,52 dan AL/ TH 314,87 pada pengamatan antara jam ke 4 dengan jam ke 0 selisihnya lebih banyak dibandingkan AL/ AQ dan AL/ TH 314,87, sehingga AL/ AQ dan AL/ TH 314,52 berbeda nyata dengan AL/ TH 114,52 dan AL/ TH 252. Gambaran di atas menunjukkan bahwa dosis 114,52 mg/kgBB sudah bisa memberikan efek maksimal terhadap penurunan kadar glukosa darah, sedangkan dosis 314,87 mg/kgBB menunjukkan hasil yang signifikan.

Pada pengamatan kadar glukosa darah antara jam ke 6 dengan jam ke 0 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah AL/ AQ tidak berbeda nyata dengan AL/ TH 114,62; AL/ TH 252; dan AL/ TH 314,87. Kadar glukosa darah AL/ TH 114,52; AL/ TH 252; dan AL/ TH 314,87 pada pengamatan jam ke 6 mengalami peningkatan mendekati kadar glukosa darah pada pengamatan jam ke 0, sehingga kadar glukosa darah pada pengamatan antara jam ke 6 dengan jam ke 0 selisihnya semakin kecil. Gambaran di atas terjadi juga pada AL/ AQ yang mengalami penurunan kadar glukosa darah mendekati kadar glukosa darah pada pengamatan jam ke 0, sehingga AL/ AQ; AL/ TH 114,52; AL/ TH 252; dan AL/ TH 314,87 tidak berbeda nyata. Gambaran tersebut menunjukkan bahwa efek infusum teh hitam pada jam ke 6 setelah perlakuan semakin menurun, sehingga teh hitam terbukti tidak menimbulkan efek hipoglikemia.

Infusum teh hitam (*Black tea*) yang diberikan mengandung senyawa yang mampu bertindak sebagai antioksidan yaitu senyawa *theaflavin*. Aktivitas antioksidan *theaflavin* ini antara lain melalui kemampuan menghambat pembentukan radikal bebas dan menangkap radikal bebas. *Theaflavin* dalam teh hitam juga dapat mendorong aktifitas faktor transkripsi, dan menghambat enzim prooksidatif seperti xantin oksidase dan nitrit oxide sintetase (Luczaj dan Skrzydlewska, 2004).

Senyawa *theaflavin* dalam teh hitam jumlahnya paling dominan. Hasil penelitian membuktikan bahwa secara struktur *theaflavin* lebih potensial daripada katekin, karena mempunyai gugus hidroksi (OH) yang lebih banyak akibat dari proses pengolahannya. Semakin banyak gugus hidroksi suatu senyawa, maka kemampuannya sebagai antioksidan semakin baik. Gugus hidroksi ini dapat berfungsi sebagai antiradikal bebas atau antioksidan. Efektivitas *theaflavin* meningkat melalui proses esterifikasi dengan *gallate* dan *ester digallate*. *Theaflavin* mempunyai tetapan laju penangkapan radikal superoksida lebih tinggi dibandingkan dengan EGCG (Epigallo catechin gallate). Tetapan laju *theaflavin* adalah $1 \times 10^7/\text{MS}$, sedangkan tetapan laju EGCG adalah $1 \times 10^5/\text{MS}$. *Theaflavin* dapat meningkatkan antioksidan alami yang terdapat dalam tubuh seperti glutathione-S-transferase (GST), glutathione peroksidase (GPX), dismutase superoksida (SOD), dan catalase (CAT) yang disertai menurunnya tingkat oksidasi lipid (Chander *et al.*, 2005).

Hasil pemberian infusum teh hitam yang mengandung *theaflavin* sebagai senyawa antioksidan pada tikus putih adalah menghambat pembentukan radikal bebas dan menangkap radikal bebas yang menyebabkan kerusakan dan kematian

sel, sekaligus melindungi sel β pankreas yang masih sehat agar tidak mengalami kerusakan dan kematian. Menurunnya pembentukan radikal bebas, memberikan kesempatan bagi tubuh untuk melakukan regenerasi sel yang rusak atau mati melalui mekanisme pembentukan sel baru, sehingga jumlah sel β pankreas secara berangsur-angsur akan kembali normal (Luczaj and Skrzydlewska, 2004). Keadaan tersebut diatas akan berakibat pada peningkatan produksi insulin sehingga jumlah insulin akan cukup untuk menekan hiperglikemia ke keadaan normal.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Pemberian infusum teh hitam (*Black tea*) dosis 114,52 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) penderita hiperglikemia.

6.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah :

1. Infusum teh hitam (*Black tea*) dapat dipertimbangkan untuk digunakan sebagai obat alternatif dalam encegah dan mengobati penyakit hiperglikemia pada hewan maupun manusia
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui uji toksisitas dari pemberian infusum teh hitam (*Black tea*) pada berbagai kondisi.
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui gambaran histopatologis organ pankreas setelah pemberian aloksan dan teh hitam.

RINGKASAN

RINGKASAN

Hiperglikemia didefinisikan sebagai kadar glukosa plasma puasa yang lebih tinggi dari 110 mg/100 ml. Kadar glukosa plasma puasa normal pada manusia (dengan teknik autoanalisis) adalah 80 – 110 mg/100 ml (Schteingart, 1995), sedangkan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) kadar glukosa darah normal berkisar antara 50 – 135 mg/100 ml (Mitraka, 1981; Loeb dan Fred, 1989). Hiperglikemia biasanya terjadi karena rendahnya produksi hormon insulin. Rendahnya produksi insulin dapat terjadi karena adanya kerusakan pada sel β pankreas. Kerusakan sel β pankreas dapat disebabkan salah satunya oleh stress oksidatif (Capes *et al.*, 2001). Stress oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas (prooksidan) dengan antioksidan (Gems dan Partridge, 2008).

Tanaman teh (*Camellia sinensis*) yang salah satu olahannya adalah teh hitam (*Black tea*), merupakan obat tradisional yang sering digunakan sebagai obat antihiperglikemia. Penggunaan infusum teh hitam, secara khusus dimaksudkan untuk menurunkan kadar glukosa darah yang tinggi (Abbas dan Ai Muhamdatussadah, 2006).

Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh pemberian infusum teh hitam (*Black tea*) dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi hiperglikemia. Infusum teh hitam (*Black tea*) diberikan dalam empat dosis perlakuan yaitu 0 mg/kgBB, 114,52 mg/kgBB, 252 mg/kgBB, dan 314,87 mg/kgBB.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian infusum teh hitam (*Black tea*) dapat menurunkan kadar kadar glukosa darah tikus putih penderita hiperglikemia. Pemberian infusum teh hitam (*Black tea*) dengan dosis 114,52 mg/kgBB dan dosis 252mg/kgBB mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) penderita hiperglikemia, lebih bermakna dibandingkan dengan teh hitam dosis 314,87 mg/kgBB, pada pengamatan jam ke 2 dan jam ke 4.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Akmadi, dan Ai Muhmadatussaadah. 2006. Minuman Fungsional Berbahan Dasar Teh Hitam dan Kayu Manis untuk Penderita Diabetes. Balai Besar Pengembangan Teknologi Tepat Guna (LIPI). 3: 105-110.
- Ahmed, S.M., V. Swamy. P. Gopkumar and R. Dhanapal. 2005. Anti-Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn. Leaf Extract I Alloxan-Induced Diabetic Rats. <http://ijpt.iums.ac.ir>. [30 September 2009]
- Alberti, K. G. and Zimmet, P. Z. 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Med.*, 7, 539–553.
- An, B.J. Kwak, J H., Son, J.H., park, J.M., Lee, J.Y., Jo, C., and Byun, M.W. 2004. Biological and Anti-Microbial Activity of Irradiated Green Tea Polyphenols. *Food Chemistry* 88 (4): 549-555.
- Attarzadeh, A., M. Reza Khalili and M. Mosallaei. 2008. The Potential Therapeutic Effect of Green Tea in Treatment of Vernal keratoconjunctivitis. Iranian journal of Medical Hypothesis and ideas. Department of ophthalmology, Shiraz University of Medical Sciences. Poostchi Eye Research Center, Poostchi Street, Shiraz, Iran.
- Bayraktutan, U. 2007. Free Radicals, Diabetes and Endothelial Dysfunction. Department of Medicine. Institute of clinical science. The Queen's University of Belfast. Belfast.
- Bode, A.M and Zigang Dong. 2002. Signal Transduction Pathway: Targets for Green and Black tea Polyphenols. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 36, No. 1, January 2003, p. 66-77. The Hormel Institute, University of Minnesota, Austin, MN 55912, USA.
- Budiono. 2010. Kebun Teh Lawang Malang. <http://www.tehhitam-gunung.blogspot.com/>. (3 September 2010)
- Capes, S.E., D. Hunt, K. Malberg, P. Pathak, H.C. Gerstein. 2001. Strees Hyperglukemia and Prognosis of Stroke in Nondiabetic and Diabetic

- Patients: a Systematic Overview. Department of Medicine. McMaster University. Hamilton, Ontario, Canada. scapes@mcmaster.ca
- Chander, Ramesh, A.K.Khanna, Kanwal Raj and A.K. Fastagi. 2005. Antioxidant and Lipid Lowering Activities of Indian Black tea. *Indian Jurnal of Clinical Biochemistry*. 20 (1):153-159.
- Chen, H., Zhang, M., and Xie, B. 2005. Components and Antioxidant Activity of Polysaccharide Conjugate From Green Tea. *Food Chemistry* 90 (1-2): 17-21.
- Dvorakova K, Dorr RT, and Valcic S. 1999. Pharmacokinetics of the green tea derivative, EGCG, by the topical route of administration in mouse and human skin. *Cancer Chemoterapy Pharmacology*. 43:331-5.
- Gems, D., and L. Partridge. 2008. Stress-Response Hormesis and Aging: "That Which Does Not Kill Us Makes Us Stronger". Institute of Healthy Ageing and Department of Genetics, Environment and Evolution, University Collage, London WC1E 6BT, UK.
- Gorus, F.K., J.W. Malaisse, and D.G. Pipeleers. 1982. Selective Uptake of Alloxan by Pancreatic B-Cells. Departement of Metabolism and Endokrinology, Vrje Universiteit Brussels, B-1090 Brussels, Belgium and Laboratory of Experimental Medicine, Universite Libre de Bruxelles, B-1000 Brussles, Belgium.
- Graham H. N. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry; *Preventive Medicine* 21(3):334-50.
- Halder J., Amar N.B. 1998. Protective Role of Black Tea against Oxidative Damage of Human Red Blood Ceel. Enzyme Devision, Indian Instutute of Chemical Biology , 4, Raja S.C. Mullick Road, Jadavpur Calcutta-7000032. India.
- Handoko. T dan B. Suharto. 1995. Insulin, Glukagon dan Anti Diabetik Oral. dalam: Sulistia G.G. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hicks, M.B., Y-H. P. Hsieh, and L. N. Bell. 1996. *Tea preparation and its influence on methyloxanthine concentration*, *Food Research International* 29(3-4) 325-330.

- Ikeda, I., Kobayashi, M., Hamada, T., Tsuda, K., Gato, H., Imaizumi, K., Nozowa, A., Sugimono, A. and Kakuda, T. 2003. Heat Epimerized Tea Catechin Rich in Gallocatechin Gallate and Catechin Gallate are More Effective to Inhibit Cholesterol Absorption Than Tea Catechin Rich in Epigallocatechin gallate and Epicatechin Gallate. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7303-7307.
- Imlay, S.H. 2003. Pathways of Oxidative Damage. Department of Microbiology, University of Illinois, Urbana, Illinois 61801, US. jimlay@uiuc.edu
- Jenkins, D.J.A, C.W.C. Kendall, L.S.A. Augustin, S. Franceschi, M. Hamidi, A. Marchie, A.L. Jenkins, and M. Axelsen. 2002. Glycemic index: overview of implications in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 76(1): 266-273.
- Katiyar SK, Afaq F, and Perez A. 2001. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. *Carcinogenesis.* 22(2):87-94.
- Kumar, A.G. Nair, G.C., Reddy, A.V.R. and Garg, A.N. 2005. Availability of essential elements in India and US Tea Brands. *Food Chemistry.* 89 (3): 441-448.
- Kusumawati, D. 2002. Manajemen Hewan Coba. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Dalam : Gosh, M.N. 1971. *Fundamental of Experimental Pharmacology.* Scientific Book Agency. Calcuta.
- Larry Alexander, C.A. Blume, J. Cavallerano, B.D. Beste, J. Pederson, and L. L. Walls. 2009. *Optometric Clinical Practice Guideline Care Of The Patient With Diabetes Melitus.* American Optometric Association, 243 N. Lindbergh Blvd., St. Louis. U.S.A. MO 6314-7881.
- Leung PS, Chan WP, and Nobiling R. 2000. Regulated expression of pancreatic renin-angiotensin system in experimental pancreatitis. *Mol Cell Endocrinol.* 166:121-8. [20453048]
- Leung, L.K., Y. Su, R. Chen. Z. Zhang, Y. Huang and Z.Y. Chen. 2001. Theaflavin in Black Tea and Catechins in Green Tea are Equally Effective Antioxidants. *J Nutr.* 131: 2248-2251.
- Liang, Y.R., LIU, ZS., XU, Y.R. and HU, Y.L., 2003. A Study on chemical composition of two special green teas (*Camellia sinensis*). *J. Sci. Food Agric.* 53 (4): 541-548.

- Lo CY, Lam KY, Kung AWC, Lam KSL, Tung PHM, and Fan ST. 1997. Pancreatic insulinomas: a 15-year experience. *Arch Surg.* 132:926-30. [97412629]
- Loeb, W.F., and W.Q. Fred. 1989. *The Clinical Chemistry of Laboratory Animal.* Pergamon Press. New York. P. 19-23, 73-86.
- Luctaj, W., and E. Skrzydlewska. 2004. Antioksidan Properties of Black Tea in Alcohol Intoxication. *Food and Chemical Toxicology.* 42: 2045-2051.
- Manyam, B. V. 2004. Diabetes mellitus, Ayurveda, and Yoga. *J. Altern. Complement. Med.* 10: 223-225.
- Marnett, L.J. 1999. Lipid Peroxidation-DNA Damage by Malondialdehyde. A.B. Hancock Jr. Meorial Laboratory for Cancer Reserch Center in Molecular Toxicology, Vanderbilt Cancer Center, Department of Biochemistry, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville TN 37232, USA. Maernett@toxicology.mc.vanderbilt.edu
- Michele, G., M. Bove., and M. Grattarola. 2004. Insuline release at the molecuur level: Metabolic-Electropdysiological Modelling of the Pancreatic Beta Cells. Accepted for Publications on IEEE Trans, Biomed. Eng.7(2): 521-575.
- Ming, T. L. 1992. A revision of *Camellia* sect. *Thea*. *Acta Botanica Yunnanica.* Chinese. 14(2): 115-132.
- Mitruka, B.M. 1981. *Clinical Biochemical and Hematology.* Second edition. Maason Publishing. USA. Dikutip dari Skripsi Pengaruh Pemberian Infusa Ekstrak Tanaman Lidah Buaya Terhadap Kadar Gula Tikus Putih Penderita Hiperglikemia. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Nielsen, K.S. 1997. *Animal Physiology Adaptation and Environment.* 5th Edition. Cambridge University Press. Eng.
- Ong, K. L., Cheung, B. M., Man, Y. B., Wong, L. Y., Wat, N. M., Tan, K. C. and Lam, K. S. 2006. Treatment and control of diabetes mellitus in the United States National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2002. *J. Cardiometab. Syndr.* 1: 301-307.
- Paget, G and Barnes, JM. 1964. *Toxicity Test In Laurence, DR and Bacharah, AL., Evaluation Drug Activities: Pharmacometries, Vol. 1.* London: Academic Press, p. 161.

- Pajonk, F. 2006. Anja Riedisser, Michael Henke, William H. McBride, and Bend Fiebich. The Effects of Tea Extracts on Proinflammatory Signaling. *BMC Med.* 4:28.
- Parkinson, R. 2009. Black Tea or Green Tea, Which is Healthier?. www.nytimes.com/health [15 Mei 2009]
- Prabowo, H.P. 1997. Hubungan Peningkatan Kadar Glukosa Darah dengan Jumlah Sel Pulau Langerhans Kelenjar Pankreas. Studi Eksperimental pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Rechner A.R., E. Wagner, L. Van De Put, S. Wiseman, and C.A Rice Evan. 2002. Black Tea Represent a Mayor Source of Dietary Phenolica among Regular Tea Drinkers. *Free Radix Res.* Oct. 36(10):1112-1135.
- Rho, H., J.T Lee, H.R. Kim., and B.H. Pard. 2000. Protective Mechanism of Glucose Againts Alloxan-Induced β -cell Damage : Pivotal Role of ATP. *Eksperimental and Molecular Medicine.* 32(1) : 12-17.
- Rubins HB, Robins SJ, and Collins D et al. 2002. Diabetes, plasma insulin, and cardiovascular disease: Subgroup analysis from the Department of Veterinarian Affairs high-density lipoprotein intervention trial (VA-HIT). *Arch Intern Med.* 162: 2597–2604.
- Sanderson, G.W and Graham, H.N., 1997. on the formation of black tea aroma. *J. Sci. Food Agric.* 21: 576-585.
- Satterfield, D. W. 2003. Community-based lifestyle interventions to prevent type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 26: 2643–2652.
- Schteingart, D.E. 2003. Patofisiologi Knsep Klinis Proses-Proses Penyakit : Pankreas: Metabolisme glukosa dan diabetes mellitus. Volume 2. Penebit Buku Kedokteran ECG. Jakarta.
- Sies, H. 1993. Strategies of Antioxidant Defense. Institut fur Physiologische Chemie I, Heinrich-Heine-Universitat Dusseldorf, Germany.
- Soemardji, A.A. 2004. Penentuan kadar gula darah mencit secara cepat: untuk diterapkan dalam penapisan aktivitas antidiabetes *in vivo*. *Acta Pharmaceutical Indon.* 29(3): 115- 116.

- Stell, R.B.D. and Torry J.H. 1989. Prinsip & Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biomedik. diterjemahkan oleh Bambang Sumantri. Gramedia. Jakarta.
- Su, Y.L., Leung, L.K., Huang, Y., and Chen, Z.Y., 2003. Stability of Tea Theaflavin and Catechin. *Food Chemistry*. 83 (2): 189-195.
- Suharmiati. 2003. Pengujian bioaktivitas anti diabetes mellitus tumbuhan obat. <http://www.kalbe.co.id>. [6 Mei 2009]
- Suprihatini R. 2009. Application of quality function deployment in ortodox black tea industry in Indonesia. Indonesian Tea and Cinchona Research Institute. Bandung. 2(1): 28-34.
- Sutanegara, D., Darmono, and A.A.G Budhiarta. 2000. The Epidemiology and Management of Diabetes Mellitus in Indonesia. Denpasar; Indonesia Diabetes Association.
- Suzuki, M., Sano, M., Yoshida, R., Dewaga, M., Mitase, T and Yamamoto, M.M. 2003. Epimerization of Tea Catechin and O-Methylated Derivates of (-)-Epigallocatechin-3-0-gallate: Relationship Between Epimeriation and Chemical Structure. *J. Agric. Food Chem.* 51: 510-514.
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of alloxan and Streptozotocin action in β -cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546.
- Tjitrosoepomo G. 1989. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta). UGM Press. Yogyakarta. Cetakan 2: 1-477.
- Wahed, A and A. Ghaled. 1967. Influence of Alloxan on the Diabetogenic Effect in Rats. Departement of Histology and Department Pharmcology of Therapeutics. Faculty of Medicine. Cairo University: 422-426.
- Weisburge JH, and Fung-Lung C. 2002. Mechanisms of chronic disease causation by nutritional factors and tobacco products and prevention by tea polyphenols. *Food Chem. Toxicol.* 40:1145-1154.
- WHO Colsultation. 1999. Definition, Diagnosis and Clasification of Diabetes Mellitus and its Complicated. World Health Organization Departement of Non communicable Diseases Surveillance. Geneva.

- Williams, S.N., Pickwell, G.V. and Quattrochin, L.C. 2003. A Combination of Tea (*Camellia sinensis*) Catechins is Required for Optimal Inhibition of Induced CYP1A Expression by Green Tea Extract. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6627-6634.
- Xu, J., Yang, F., Chen., Hu, Y., and Hu, Q. 2003. Effect of Selenium on Increasing The Antioxidant Activity of Tea Leaves Harvested During The Early Spring Tea Producing Season. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1081-1084.
- Yanagimoto, K., Ochi, H., Lee, K.G., and Shibamoto, Y. 2003. Antioxidative Activities of Volatile Extract From Green Tea, Oolong Tea and Black Tea. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7396-7401.
- Yokozawa, T., Cho, E.J., and Nakagawa, T. 2003. Polyphenol in Rats With Arginine-Induced Renal Failure. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2421-2425.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Alat dan Prosedur pengukuran Kadar Glukosa Darah

Alat pengukur kadar glukosa darah yang digunakan dalam penelitian Pengaruh Teh Hitam (*Black tea*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Penderita Hiperglikemia, adalah *blood glukose meter kit* merek *On Call[®] Plus*, produksi Acon Laboratories, San Diego, California, Amerika Serikat.

Alat ini terbagi menjadi dua bagian yaitu kit meter digital dan strip tes kadar glukosa darah. Tiap strip tes mengandung bahan kimia aktif Glukosa Oksidase < 25 IU dan mediator < 30 µg.

Prosedur pengukuran kadar glukosa darah adalah sampel darah diambil pembuluh darah pada ekor tikus putih dengan menggunakan jarum (*needle*) ukuran 23 G. Darah yang didapatkan ditetaskan pada strip tes, lalu strip tes dimasukkan ke dalam alat kit, dan kadar glukosa darah yang diukur akan keluar pada layar *liquid crystal display* (LCD) pada kit dengan satuan mg/dl.

Lampiran 2

Konversi perhitungan dosis untuk berbagai jenis hewan dan manusia.

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 200 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	2,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 200 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Kusumawati, 2002)

Lampiran 3**Data Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Perlakuan	Pengamatan Jam Ke				Rata-Rata
	0	2	4	6	
Tanpa Alokasan	110	110	117	116	113.25
	130	130	130	130	130
	110	110	111	110	110.25
	120	120	120	120	120
Rata-Rata	117.50	117.50	119.50	119	
AL/ AQ	281	293	283	280	284.25
	262	294	262	262	270
	180	188	185	180	183.25
	168	170	168	168	168.50
Rata-Rata	222.75	236.25	224.50	222.50	
AL/ TH 114,52	178	108	90	103	119.75
	170	146	140	128	146
	183	140	130	148	150.25
	178	130	120	120	137
Rata-Rata	176.50	131	120	124.75	
AL/ TH 252	142	119	117	130	127
	295	236	215	234	245
	291	178	154	134	189.25
	180	135	130	135	145
Rata-Rata	227	167	154	158.25	
AL/ TH 314,87	163	117	117	125	130.50
	169	121	121	153	141
	170	132	121	134	139.25
	168	120	115	124	131.75
Rata-Rata	167.50	122.50	118.50	134	

Lampiran 4

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
kadar glukosa darah * Perlakuan	8	100.0%	0	.0%	8	100.0%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries

			kadar glukosa darah
Perlakuan	tanpa aloksan	1	110.00
		2	130.00
		3	110.00
		4	120.00
		Total	N 4
			Mean 117.5000
			Std. Deviation 9.57427
	Aloksan	1	281.00
		2	262.00
		3	180.00
		4	168.00
		Total	N 4
			Mean 222.7500
		Std. Deviation 57.03435	
Total		N 8	
		Mean 170.1250	
		Std. Deviation 67.81158	

a Limited to first 100 cases.

T-Test**Group Statistics**

	Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kadar glukosa darah	tanpa aloksan	4	117.5000	9.57427	4.78714
	aloksan	4	222.7500	57.03435	28.51717

Lampiran 5

General Linear Model

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

JAM	Dependent Variable
1	Jam 2-0
2	Jam 4-0
3	Jam 6-0

Keterangan :

Jam 2-0 : pengamatan antara jam ke 2 dengan jam ke 0

Jam 4-0 : pengamatan antara jam ke 4 dengan jam ke 0

Jam 6-0 : pengamatan antara jam ke 6 dengan jam ke 0

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Perlakuan	1 AI/ AQ	4
	2 AI/ TH 114,52	4
	3 AI/ TH 252	4
	4 AI/ TH 314,52	4

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Jam	Pillai's Trace	.651	10.250(a)	2.000	11.000	.003
	Wilks' Lambda	.349	10.250(a)	2.000	11.000	.003
	Hotelling's Trace	1.864	10.250(a)	2.000	11.000	.003
	Roy's Largest Root	1.864	10.250(a)	2.000	11.000	.003
Jam * Perlakuan	Pillai's Trace	.339	.816	6.000	24.000	.568
	Wilks' Lambda	.668	.818(a)	6.000	22.000	.568
	Hotelling's	.485	.808	6.000	20.000	.575

Trace Roy's Largest Root	.461	1.845(b)	3.000	12.000	.193
--------------------------	------	----------	-------	--------	------

a Exact statistic

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

c Design: Intercept+Perlakuan Within Subjects Design: Jam

Mauchly's Test of Sphericity(b)

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon(a)		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
Jam	.658	4.603	2	.100	.745	1.000	.500

Tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

a May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests of Within-Subjects Effects table.

b Design: Intercept+Perlakuan Within Subjects Design: Jam

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Jam	Sphericity Assumed	836.792	2	418.396	4.815	.017
	Greenhouse-Geisser	836.792	1.490	561.461	4.815	.029
	Huynh-Feldt	836.792	2.000	418.396	4.815	.017
	Lower-bound	836.792	1.000	836.792	4.815	.049
	Jam * Perlakuan	Sphericity Assumed	772.375	6	128.729	1.481
	Greenhouse-Geisser	772.375	4.471	172.746	1.481	.247
	Huynh-Feldt	772.375	6.000	128.729	1.481	.227
	Lower-bound	772.375	3.000	257.458	1.481	.269

Error(Jam)	Sphericity Assumed	2085.500	24	86.896		
	Greenhouse-Geisser	2085.500	17.885	116.609		
	Huynh-Feldt	2085.500	24.000	86.896		
	Lower-bound	2085.500	12.000	173.792		

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE_1

Source	Jam	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Jam	Linear	148.781	1	148.781	1.118	.311
	Quadratic	688.010	1	688.010	16.923	.001
Jam *	Linear	725.094	3	241.698	1.815	.198
	Quadratic	47.281	3	15.760	.388	.764
Error(Jam)	Linear	1597.625	12	133.135		
	Quadratic	487.875	12	40.656		

Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	74025.521	1	74025.521	34.528	.000
Perlakuan	35009.563	3	11669.854	5.443	.014
Error	25727.250	12	2143.938		

Estimated Marginal Means

Perlakuan * Jam

Measure: MEASURE_1

Perlakuan	Jam	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
A/ AQ	2-0	13.500	11.228	-10.965	37.965
	4-0	1.750	13.487	-27.636	31.136
	6-0	-.250	16.476	-36.147	35.647

AI/ TH	2-0	-46.250	11.228	-70.715	-21.785
114,52	4-0	-57.250	13.487	-86.636	-27.864
	6-0	-52.500	16.476	-88.397	-16.603
AI/ TH	2-0	-60.000	11.228	-84.465	-35.535
252	4-0	-73.000	13.487	-102.386	-43.614
	6-0	-68.750	16.476	-104.647	-32.853
AI/ TH	2-0	-45.000	11.228	-69.465	-20.535
314,52	4-0	-50.000	13.487	-79.386	-20.614
	6-0	-33.500	16.476	-69.397	2.397

Case Processing Summary(a)

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jam 2-0 * Perlakuan	16	51.6%	15	48.4%	31	100.0%
Jam 4-0 * Perlakuan	16	51.6%	15	48.4%	31	100.0%
Jam 6-0 * Perlakuan	16	51.6%	15	48.4%	31	100.0%

a Limited to first 100 cases.

Case Summaries(a)

				Jam 2-0	Jam 4-0	Jam 6-0
Perlakuan	AI/ AQ	1		12.00	2.00	-1.00
		2		32.00	.00	.00
		3		8.00	5.00	.00
		4		2.00	.00	.00
		Total	N	4	4	4
			Mean	13.5000	1.7500	-.2500
			Std. Deviation	13.00000	2.36291	.50000
	AI/ TH 114,52	1		-70.00	-88.00	-75.00
		2		-24.00	-30.00	-42.00
		3		-43.00	-53.00	-35.00
		4		-48.00	-58.00	-58.00
		Total	N	4	4	4

		Mean	-46.2500	-57.2500	-52.5000
		Std.		23.8519	
		Deviation	18.90987	7	17.82321
A/ TH	1		-23.00	-25.00	-12.00
252	2		-59.00	-80.00	-61.00
	3		-113.00	-137.00	-157.00
	4		-45.00	-50.00	-45.00
	Total	N	4	4	4
		Mean	-60.0000	-73.0000	-68.7500
		Std.		48.2286	
		Deviation	38.31449	2	62.27024
A/ TH	1		-46.00	-46.00	-38.00
314,87	2		-48.00	-52.00	-16.00
	3		-38.00	-49.00	-36.00
	4		-48.00	-53.00	-44.00
	Total	N	4	4	4
		Mean	-45.0000	-50.0000	-33.5000
		Std.		3.16228	
		Deviation	4.76095	12.15182	
Total	N		16	16	16
	Mean		-34.4375	-44.6250	-38.7500
	Std. Deviation		35.46072	37.6897	39.51793
				4	

a Limited to first 100 cases.

Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Jam 2-0	Between Groups	12810.188	3	4270.063	8.467	.003
	Within Groups	6051.750	12	504.313		
	Total	18861.938	15			
Jam 4-0	Between Groups	12576.250	3	4192.083	5.761	.011
	Within	8731.500	12	727.625		

Jam 6-0	Groups Total	21307.750	15			
	Between Groups	10395.500	3	3465.167	3.191	.063
	Within Groups	13029.500	12	1085.792		
	Total	23425.000	15			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Jam 2-0	AI/ AQ	AI/ TH 114,52	59.7500(*)	15.87943	.012	12.6055	106.8945
		AI/ TH 252	73.5000(*)	15.87943	.003	26.3555	120.6445
		AI/ TH 314,87	58.5000(*)	15.87943	.014	11.3555	105.6445
	AI/ TH 114,52	AI/ AQ	-59.7500(*)	15.87943	.012	-106.8945	-12.6055
		AI/ TH 252	13.7500	15.87943	.822	-33.3945	60.8945
		AI/ TH 314,87	-1.2500	15.87943	1.000	-48.3945	45.8945
	AI/ TH 252	AI/ AQ	-73.5000(*)	15.87943	.003	-120.6445	-26.3555
		AI/ TH 114,52	-13.7500	15.87943	.822	-60.8945	33.3945
		AI/ TH 314,87	-15.0000	15.87943	.782	-62.1445	32.1445
	AI/ TH 314,87	AI/ AQ	-58.5000(*)	15.87943	.014	-105.6445	-11.3555
		AI/ TH 114,52	1.2500	15.87943	1.000	-45.8945	48.3945

Jam 40	AI/ AQ	AI/ TH 252	15.0000	15.87943	.782	-32.1445	62.1445	
		AI/ TH 114,52	59.0000(*)	19.07387	.040	2.3716	115.6284	
	AI/ TH 114,52	AI/ TH 252	74.7500(*)	19.07387	.010	18.1216	131.3784	
		AI/ TH 314,87	51.7500	19.07387	.077	-4.8784	108.3784	
	AI/ TH 114,52	AI/ AQ	-59.0000(*)	19.07387	.040	-115.6284	-2.3716	
		AI/ TH 252	15.7500	19.07387	.841	-40.8784	72.3784	
	AI/ TH 252	AI/ TH 314,87	-7.2500	19.07387	.980	-63.8784	49.3784	
		AI/ AQ	-74.7500(*)	19.07387	.010	-131.3784	-18.1216	
	AI/ TH 314,87	AI/ TH 114,52	-15.7500	19.07387	.841	-72.3784	40.8784	
		AI/ TH 314,87	-23.0000	19.07387	.635	-79.6284	33.6284	
	AI/ TH 314,87	AI/ AQ	-51.7500	19.07387	.077	-108.3784	4.8784	
		AI/ TH 114,52	7.2500	19.07387	.980	-49.3784	63.8784	
	Jam 60	AI/ AQ	AI/ TH 252	23.0000	19.07387	.635	-33.6284	79.6284
			AI/ TH 114,52	52.2500	23.30013	.167	-16.9258	121.4258
AI/ TH 114,52		AI/ TH 252	68.5000	23.30013	.053	-.6758	137.6758	
		AI/ TH 314,87	33.2500	23.30013	.507	-35.9258	102.4258	
AI/ TH 114,52		AI/ AQ	-52.2500	23.30013	.167	-121.4258	16.9258	
		AI/ TH 252	16.2500	23.30013	.896	-52.9258	85.4258	
AI/ TH 252		AI/ TH 314,87	-19.0000	23.30013	.846	-88.1758	50.1758	
		AI/ AQ	-68.5000	23.30013	.053	-137.6758	.6758	
AI/ TH 114,52		AI/ TH 114,52	-16.2500	23.30013	.896	-85.4258	52.9258	
		AI/ TH 314,87	-35.2500	23.30013	.460	-104.4258	33.9258	

AI/ TH 314,87	AI/ AQ	-33.2500	23.30013	.507	-102.4258	35.9258
	AI/ TH 114,52	19.0000	23.30013	.846	-50.1758	88.1758
	AI/ TH 252	35.2500	23.30013	.460	-33.9258	104.4258

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

Homogeneous Subsets

Jam 2-0

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
AI/ TH 252	4	-60.0000	
AI/ TH 114,52	4	-46.2500	
AI/ 314,87	4	-45.0000	
AI/ AQ	4		13.5000
Sig.		.782	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Jam 4-0

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
AI/ TH 252	4	-73.0000	
AI/ TH 114,52	4	-57.2500	
AI/ TH 314,87	4	-50.0000	-50.0000
AI/ AQ	4		1.7500
Sig.		.635	.077

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Jam 6-0**Tukey HSD**

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05
		1
AI/ TH 252	4	-68.7500
AI/ TH 114,52	4	-52.5000
AI/ TH 314,87	4	-33.5000
AI/ AQ	4	-.2500
Sig.		.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.