

SKRIPSI

EFEK *EPIGALLOCATECHIN GALLATE* (EGCG) TERHADAP BERAT BADAN DAN SISTEM MELANOCORTIN DI HIPOTALAMUS MENCIT PADA KONDISI *NICOTINE WITHDRAWAL*



**RETNO INTAN AVINA RAHMAWATI
NIM 051811133008**

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMASI PRAKTIS
SURABAYA
2022**

SKRIPSI

EFEK *EPIGALLOCATECHIN GALLATE* (EGCG) TERHADAP BERAT BADAN DAN SISTEM MELANOCORTIN DI HIPOTALAMUS MENCIT PADA KONDISI *NICOTINE WITHDRAWAL*



**RETNO INTAN AVINA RAHMAWATI
NIM 051811133008**

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN FARMASI PRAKTIS
SURABAYA
2022**

Lembar Pengesahan

**EFEK *EPIGALLOCATECHIN GALLATE* (EGCG)
TERHADAP BERAT BADAN DAN SISTEM
MELANOCORTIN DI HIPOTALAMUS MENCIT PADA
KONDISI *NICOTINE WITHDRAWAL***

SKRIPSI

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2022**

Oleh:

**Retno Intan Avina Rahmawati
NIM 051811133008**

Skripsi ini telah disetujui pada tanggal 25 Juli 2022 oleh

Pembimbing Utama


apt. Mahardian Rahmadi, S.Si., M.Sc., Ph.D.
NIP 198103142005011002

Pembimbing Serta


apt. Chrismawan Ardianto, S.Farm., M.Sc., Ph.D.
NIP 198402292008011003

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Retno Intan Avina Rahmawati

NIM : 051811133008

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa saya tidak melakukan tindakan/kegiatan plagiarisme dalam menyusun Naskah Tugas Akhir/Skripsi dengan judul:

Efek *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap Berat Badan dan Sistem Melanocortin di Hipotalamus Mencit pada Kondisi *Nicotine withdrawal*

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila dikemudian hari diketahui bahwa Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pencabutan kelulusan dan/atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Demikian lembar pernyataan ini saya buat untuk dipergunakan dengan semestinya.

Surabaya, 25 Juli 2022

Yang membuat pernyataan,



Retno Intan Avina Rahmawati
NIM 051811133008

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Retno Intan Avina Rahmawati

NIM : 051811133008

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak skripsi yang saya tulis dengan judul:

Efek *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap Berat Badan dan Sistem Melanocortin di Hipotalamus Mencit pada Kondisi *Nicotine withdrawal*

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 25 Juli 2022

Yang membuat pernyataan,



Retno Intan Avina Rahmawati
NIM 051811133008

KATA PENGANTAR

Puji Syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yaitu Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya lah, penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan judul **“EFEK *EPIGALLOCATECHIN GALLATE* (EGCG) TERHADAP BERAT BADAN DAN SISTEM MELANOCORTIN DI HIPOTALAMUS MENCIT PADA KONDISI *NICOTINE WITHDRAWAL*”** sebagai persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Di dalam penyusunan maupun penulisan naskah skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kata pengantar ini penulis akan menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak apt. Mahardian Rahmadi, S.Si., M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama atas segala bentuk bantuan, dukungan, arahan, kesabaran, serta pengalaman dalam proses pembimbingan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
2. Bapak apt. Chrismawan Ardianto, S.Farm.,M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing serta atas arahan, pengalaman dan masukan maupun saran yang telah diberikan selama proses pengerjaan skripsi.
3. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA. selaku Rektor Universitas Airlangga dan Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
4. Bapak apt. Andi Hermansyah, S.Farm., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Departemen Farmasi Praktis dan dosen wali yang telah memberikan dukungan, nasihat, motivasi dan arahan selama 4 tahun kepada penulis dalam menyelesaikan program studi sarjana farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
5. Bapak Drs. apt. Didik Hasmono, MS. dan Ibu Dra. apt. Toetik Aryani, M.Si. selaku dosen penguji skripsi yang memberikan kritik, saran dan masukan selama ujian proposal maupun skripsi guna tercapainya naskah skripsi yang lebih baik.
6. Prof. Dr. apt. Djoko Purwanto, M.Si. yang telah memberikan inspirasi dalam pengembangan penelitian *Epigallocatechin gallate* (EGCG) sebagai terapi di bidang ilmu kesehatan.

7. Seluruh dosen Fakultas Farmasi yang telah banyak memberikan ilmu maupun pengalaman di bidang kefarmasian serta seluruh staff dan pegawai di lingkungan Fakultas Farmasi maupun seluruh lingkungan Universitas Airlangga yang membantu dalam memfasilitasi proses belajar mengajar.
8. Ayah Krisna Rahmad Darwiyono dan Mamah Siti Barokah, Adik Amanda dan Satria serta seluruh keluarga tercinta yang telah memberikan banyak dukungan, pengajaran, pengalaman hidup, doa dan tulus mencintai serta menyayangi penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan program studi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga dengan baik.
9. Mas Ahmad Dzulfikri dan Mas Budi Sumartha selaku asisten peneliti yang telah berbagi ilmu dan pengalaman serta berbagai hal selama proses pengerjaan skripsi laboratorium eksperimental.
10. Kakak tingkat topik nikotin yaitu Mbak Dian Suasana, Mbak Nadya Ratri serta Mbak Vida Softyana yang telah berbagi ilmu, pengalaman dan cerita kepada penulis.
11. Rekan satu topik skripsi nikotin yaitu Theresia Florida yang telah bekerja bersama dan selalu kebersamai dalam proses penemuan penelitian dan pengambilan data skripsi laboratorium eksperimental.
12. Adik-adik farmasi angkatan 2019 yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu namanya, baik yang selalu mensupport penulis dalam kepenulisan naskah skripsi ini maupun yang telah membantu dalam penelitian di laboratorium eksperimental.
13. Seluruh teman terdekat penulis yang dicintai dan disayangi yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu namanya, yang telah memberikan dukungan dan keceriaan kepada penulis.
14. Kakak tingkat dan teman-teman Biomedik Farmasi (Para Farmakolog Cerdas) telah berbagi ilmu dalam *Journal Reading* dan berjuang dalam proses pengerjaan skripsi maupun tesis di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
15. Kakak tingkat dan teman-teman organisasi BEM FF UNAIR 2020 dan 2021 yang telah berbagi pengalaman dan cerita.

Demikian ucapan terima kasih yang dapat penulis ucapkan. Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlebih dan berlimpah kepada semuanya. Semoga naskah skripsi ini dapat memberikan banyak manfaat kepada semua pihak dalam pengembangan

ilmu pengetahuan maupun kepada peneliti selanjutnya. Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritikan, masukan ataupun saran yang dapat membangun guna menyempurnakan naskah skripsi ini.

Surabaya, 25 Juli 2022

Penulis

RINGKASAN

Efek *Epigallocatechin gallate* (EGCG) terhadap Berat Badan dan Sistem Melanocortin di Hipotalamus Mencit pada Kondisi *Nicotine Withdrawal*

Retno Intan Avina Rahmawati

Penghentian nikotin pada perokok kronik secara mendadak dapat menyebabkan suatu gejala yang dinamakan *nicotine withdrawal*. Gejala *nicotine withdrawal* ditandai dengan adanya perubahan afektif, somatik dan kognitif. Perubahan somatik ditandai dengan adanya perubahan pada perilaku makan/*feeding behavior* yang mengarah pada perubahan berat badan. Peningkatan berat badan ketika *nicotine withdrawal* merupakan fenomena unik di masyarakat yang menjadi kekhawatiran akan berat badan yang tidak ideal. Pada *nicotine withdrawal*, terdapat perubahan sistem melanocortin hipotalamus yang merupakan pusat pengendali nafsu makan (*control centre of appetite*) yang terdiri dari *pro-opiomelanocortin* (POMC), *Melanocortin-4 Receptor* (MC4R) dan *Agouti-Related Protein* (AgRP). Peningkatan ekspresi mRNA AgRP (*orexigenic*), penurunan ekspresi mRNA POMC (*anorexigenic*) dan penurunan fungsi MC4R ketika *nicotine withdrawal* dapat menyebabkan peningkatan *food intake*, penurunan *energy expenditure* serta peningkatan berat badan.

Epigallocatechin gallate (EGCG) sebagai senyawa uji dalam penelitian ini merupakan polifenol katekin pada teh hijau yang memiliki manfaat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antiobesitas. EGCG diketahui mampu meningkatkan ekspresi mRNA POMC dan menurunkan ekspresi mRNA AgRP di hipotalamus. Model hewan *nicotine withdrawal* pada penelitian ini dengan diinduksi nikotin bitartat dosis 3,35 mg/kgBB tiga kali sehari selama 10 hari dan kemudian dilakukan *spontaneous withdrawal*. Setelah itu, dilakukan pemberian EGCG 50 mg/kgBB dua kali sehari selama 10 hari. Pengujian *behavioral* dilakukan dengan melihat perubahan pada *food intake* dan berat badan. Pengujian *molecular* dilakukan dengan melihat perubahan pada sistem melanocortin di hipotalamus dengan teknik *reverse transcript-polymerase chain reaction* (RT-PCR).

Hasil uji *behavioral* menunjukkan bahwa pada kondisi *nicotine withdrawal* terjadi kecenderungan dalam peningkatan *food intake* dan berat badan dibandingkan dengan normal. Selain itu, hasil uji *molecular* menunjukkan bahwa pada kondisi *nicotine withdrawal* terjadi penurunan ekspresi mRNA POMC tetapi tidak terjadi perubahan ekspresi mRNA MC4R di hipotalamus, sedangkan hasil ekspresi mRNA AgRP di hipotalamus tidak dapat ditarik kesimpulan dikarenakan primer tidak spesifik. Dari penelitian ini, disimpulkan bahwa pemberian EGCG 50 mg/kgBB dua kali sehari mampu menurunkan *food intake* dan berat badan pada *nicotine withdrawal* melalui mekanismenya dalam meningkatkan ekspresi mRNA POMC yang merupakan peptida *anorexigenic* di hipotalamus. Berdasarkan hasil tersebut, disarankan untuk menentukan dosis EGCG yang tepat dengan rentang dosis EGCG 12-50 mg/kg BB. Selain itu, perlu dilakukan pengukuran pada *energy expenditure* dan ekspresi mRNA NPY, CART, orexin dan MCH yang berperan pada *appetite* di hipotalamus.

viii

ABSTRACT

The Effects of *Epigallocatechin gallate* (EGCG) on Body Weight and The Melanocortin System in The Hypothalamus of Mice under Nicotine Withdrawal

Retno Intan Avina Rahmawati

Spontaneous nicotine withdrawal in chronic smokers causes nicotine withdrawal symptoms, which include affective, somatic, and cognitive changes. In nicotine withdrawal, molecular changes such as changes in melanocortin signaling in the hypothalamus may occur in the brain leading to increasing feeding behavior and body weight as a somatic change. EGCG, as the largest component in green tea, is expected to affect AgRP, POMC, and MC4R expression in the brain under nicotine withdrawal. This experimental study uses five groups of ddY male mice. Doses used were normal saline 1.0 mL/kg BW as a control group, nicotine bitartat 3.35 mg/kg BW, and EGCG 50 mg/kg BW. Behavior test results showed that nicotine withdrawal slightly increased body weight and significantly increased food intake compared to the normal group. In addition, EGCG significantly decreased body weight and food intake compared to the nicotine withdrawal mice without EGCG. PCR results showed that the nicotine withdrawal with the EGCG treatment group exhibited a significant increase in POMC but not MC4R mRNA expression in the hypothalamus compared to the nicotine withdrawal group. This research proves that EGCG reduces food intake and body weight in nicotine withdrawal, possibly by increasing POMC mRNA expression in the hypothalamus. There was no conclusive result for AgRP mRNA expression due to a lack of primer specificity.

Keywords: EGCG, nicotine withdrawal, food intake, body weight, melanocortin system.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 <i>Cigarette Smoke</i>	3
2.2 Nikotin	3
2.2.1 Asal dan Kimiawi Nikotin	3
2.2.2 Farmakokinetika dan Farmakodinamika Nikotin	4
2.3 <i>Nicotine Addiction</i>	5
2.3.1 Pengertian <i>Nicotine Addiction</i>	5
2.3.2 Mekanisme <i>Nicotine Addiction</i>	6
2.3.3 Terapi <i>Nicotine Addiction</i>	7
2.4 <i>Nicotine withdrawal</i>	7
2.4.1 Pengertian <i>Nicotine withdrawal</i>	7
2.4.2 Mekanisme <i>Nicotine withdrawal</i>	8
2.4.3 Model Penelitian <i>Nicotine withdrawal</i>	8
2.4.4 Gejala <i>Nicotine withdrawal</i>	9
2.5 Sistem Melanocortin	9

2.5.1	<i>Pro-opiomelanocortin (POMC)</i>	9
2.5.2	<i>α-Melanocortin Stimulating Hormone (α-MSH)</i>	10
2.5.3	<i>Agouti Related Protein (AgRP)</i>	10
2.5.4	<i>Melanocortin 4 Receptor (MC4R)</i>	10
2.6	<i>Epigallocatechin gallate (EGCG)</i>	11
2.6.1	Asal dan Kimiawi EGCG	11
2.6.2	Farmakokinetika dan Farmakodinamika EGCG	12
2.6.3	Mekanisme Kerja EGCG.....	12
2.7	Pengamatan dan Pengukuran.....	13
2.7.1	<i>Behavioral</i>	13
2.7.2	<i>Molecular dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	13
2.8	Hewan Percobaan.....	14
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....		15
3.1	Skema Kerangka Konseptual.....	15
3.2	Uraian Kerangka Konseptual.....	16
3.3	Hipotesis	17
BAB IV METODE PENELITIAN		18
4.1	Jenis Penelitian dan Pengelompokan Hewan Coba	18
4.2	Sampel Penelitian.....	18
4.2.1	Jenis Sampel	18
4.2.2	Jumlah Sampel	19
4.2.3	Teknik Pengambilan Sampel.....	19
4.3	Variabel Penelitian.....	19
4.3.1	Variabel Bebas (<i>Independent</i>).....	19
4.3.2	Variabel Tergantung (<i>Dependent</i>)	19
4.3.2	Variabel Kendali	19
4.4	Bahan dan Alat	20
4.4.1	Bahan.....	20
4.4.2	Alat.....	20
4.5	Definisi Operasional	21
4.6	Kerangka Operasional Penelitian.....	22

4.7	Prosedur Kerja	22
4.8	Cara Analisis Data	30
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		31
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		42
6.1	Kesimpulan	42
6.2	Saran	42
DAFTAR PUSTAKA		43
LAMPIRAN.....		49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
IV. 1 Urutan Primer	25
IV. 2 Komponen <i>cDNA synthesis</i>	27
IV. 3 Komponen <i>GoScriptTM Reverse Transcription System</i>	28
IV. 4 <i>Cleaver Scientific</i>	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Struktur Kimia Nikotin.....	3
2. 2 (A) nAChR dan (B) Subunit nAChR.....	5
2. 3 Jalur Adiksi Nikotin	6
2. 4 Struktur Kimia <i>Epigallocatechin gallate</i>	11
3. 1 Kerangka Konseptual	15
4. 1 Bagan Pengelompokan Hewan Coba	18
4. 2 Kerangka Operasional Penelitian	22
5. 1 % Perubahan <i>Food Intake</i> Ketika Kondisi <i>Nicotine Withdrawal</i>	32
5. 2 % Perubahan Berat Badan Ketika Kondisi <i>Nicotine Withdrawal</i>	33
5. 3 <i>Locomotor Activity</i> Ketika Kondisi <i>Nicotine Withdrawal</i>	36
5. 4 (a) Band Ekspresi mRNA POMC (b) Ekspresi Relatif mRNA POMC/ β -actin	37
5. 5 (a) Band Ekspresi mRNA MC4R (b) Ekspresi Relatif mRNA MC4R/ β -actin.....	38
5. 6 Band Ekspresi mRNA AgRP.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Sertifikat Laik Etik.....	50
2 Data Hasil Pengamatan dan %Perubahan <i>Food intake</i> Ketika <i>Nicotine withdrawal</i>	51
3 Analisis Statistik Uji Normalitas dan Homogenitas Data <i>Food intake</i>	51
4 Analisis Statistik <i>Two-way</i> ANOVA %Perubahan <i>Food intake</i>	52
5 Data Pengamatan dan %Perubahan Berat Badan Ketika <i>Nicotine withdrawal</i>	54
6 Analisis Statistik Uji Normalitas dan Homogenitas Data Berat Badan	55
7 Analisis Statistik <i>Two-way</i> ANOVA %Perubahan Berat Badan	55
8 Data <i>Locomotor Activity</i> dengan Jumlah <i>Crossing</i> menggunakan <i>Open Field Test</i>	59
9 Analisis Statistik Uji Normalitas dan Homogenitas Data <i>Locomotor Activity</i>	59
10 Analisis Statistik <i>One-way</i> ANOVA Data <i>Locomotor Activity</i>	59
11 Data Hasil Rata-Rata Ekspresi mRNA POMC di Hipotalamus	60
12 Analisis Statistik Uji Normalitas dan Homogenitas Data POMC	60
13 Analisis Statistik <i>One-way</i> ANOVA Ekspresi mRNA POMC Hipotalamus	61
14 Data Hasil Rata-Rata Ekspresi mRNA MC4R di Hipotalamus.....	61
15 Analisis Statistik Uji Normalitas dan Homogenitas Data MC4R.....	62
16 Analisis Statistik <i>One-way</i> ANOVA Ekspresi mRNA MC4R Hipotalamus.....	62

DAFTAR SINGKATAN

ACh	: <i>Acetylcholine</i>
ACTH	: Adrenokortikotropik
AgRP	: <i>Agouti-Related Protein</i>
AMG	: <i>Amygdala</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
ARC	: <i>Arcuata</i>
CART	: <i>Cocaine-and-Amphetamine Related Transcript</i>
cDNA	: <i>Complementary DNA</i>
DA	: <i>Dopamine</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DST	: <i>Dorsal Striatum</i>
EGCG	: <i>Epigallocatechin gallate</i>
GABA	: <i>Gamma-Aminobutyric Acid</i>
GPCR	: <i>G-Protein Coupled Receptor</i>
LHA	: <i>Lateral Hypothalamic Area</i>
MAO	: <i>Monoamine Oxidase</i>
MCR	: <i>Melanocortin Receptor</i>
mRNA	: <i>Massanger RNA</i>
MSH	: <i>Melanocortin Stimulating Hormone</i>
MCH	: <i>Melanin-Concentrating Hormone</i>
NAcc	: <i>Nucleus Accumbens</i>
nAChR	: <i>Nicotinic Acetylcholine Receptor</i>
NaCl	: <i>Natrium Clorida</i>
NB	: <i>Nicotine Bitartate</i>
Nic Kron	: Nikotin Kronik
NW	: <i>Nicotine withdrawal</i>
NPY	: Neuro-peptida Y
OFT	: <i>Open Field Test</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>

PFC : *Pre-Frontal Cortex*
POMC : *Pro-Opio Melanocortin*
PVN : *Paraventricular Nucleus*
RNA : *Ribonucleic Acid*
MTA : *Ventral Tegmental Area*
5-HT : *5-Hydroxytryptamine*