

Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol teh hijau pada tikus putih

Antidiabetic activity of of green tea ethanol extract on white mouse

Dadan Rohdiana¹, Adang Firmansyah², Anik Setiawati², Nuni Yunita²

¹Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung
Pasirjambu, Kabupaten Bandung; Kotak Pos 1013 Bandung 40010
Telepon 022 5928780, Faks. 022 5928186

²Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Diajukan; 14 Februari 2012; diterima; 16 Maret 2012

Abstract

In China, India, United State, and some small other countries, tea has been consumed to prevent various disease, such as diabetes mellitus. A number of recent research revealed that consumption of green tea has an impact on the ability of insulin sensitivity in reducing glucose content in human body. Research to know antidiabetic activity of ethanol extract of green tea on experimental rats has been conducted using glucose tolerance method on rats. Results showed that application of 720 mg/kg BW of ethanol extract of green tea at 120, 180, and 240 minutes after application could reduce glucose content in the body. While applications of 180 mg/kg BW and 360 mg/kg BW of ethanol extract of green tea reduced glucose content of the body at 180 and 240 minutes after application respectively.

Keywords: *antidiabetic activity, green tea*

Abstrak

Di Cina, India, Amerika Serikat, dan beberapa negara kecil lainnya, teh telah dikonsumsi untuk mencegah beberapa penyakit, termasuk *diabetes mellitus*. Sejumlah penelitian terkini telah berhasil menghubungkan kebiasaan minum teh hijau dengan pengaruhnya terhadap kemampuan peningkatan sensitivitas insulin dalam menurunkan kandungan glukosa dalam tubuh manusia. Penelitian untuk mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak etanol teh hijau pada hewan coba telah dilakukan dengan menggunakan metode toleransi glukosa pada tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian 720 mg/kg BB ekstrak etanol teh hijau pada pengujian 120, 180 dan 240 menit dapat menurunkan kandungan glukosa. Sedangkan pemberian 180 dan 360 mg/kg BB ekstrak etanol teh hijau hanya mampu menurunkan glukosa setelah pemberian pada menit ke 180 dan 240 secara berturut-turut.

Kata kunci: aktivitas antidiabetes, teh hijau

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil teh terbesar yang sebenarnya dapat memberikan kontribusi dalam mengembangkan potensi teh yang bermanfaat untuk kesehatan, seperti yang dilakukan oleh beberapa negara sehingga didapatkan data dan bukti secara ilmiah. Di Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung terdapat jenis teh yang terdiri atas tiga kelompok utama, yaitu *black tea* (teh hitam) yang dalam pengolahannya melalui proses fermentasi secara penuh; *oolong tea* yang dalam pengolahannya hanya melalui setengah proses fermentasi, dan *green tea* (teh hijau) adalah jenis *teh* yang dalam pengolahannya tidak melalui proses fermentasi (Sulthoni dkk, 1994).

Teh hijau sudah banyak diteliti secara farmakologi sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimutagenik, dan anti karsinogenik, serta dapat mencegah gangguan fungsi jantung (Atoui *et al.*, 2005; Bonoli *et al.*, 2003; Cabrera *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2005; Dorsten *et al.*, 2006; Friedman *et al.*, 2005). Studi epidemiologi menunjukkan bahwa dengan mengkonsumsi teh hijau dapat mencegah diabetes tipe 2, di mana beberapa senyawa kandungan pada teh hijau dapat meningkatkan insulin basal dan meningkatkan insulin yang menstimulasi pengambilan glukosa dari jaringan adipose, menghambat absorpsi glukosa dari usus dengan menurunkan natrium glukosa transporter pada sel epithelial, dan juga pada penelitian lain menunjukkan dapat menurunkan kadar glukosa serum pada tikus yang diinduksi

aloksan (Anderson and Polonsky, 2002; Henning *et al.*, 2006; Higdon and Frei, 2003; Mulder *et al.*, 2007).

Pengujian langsung terhadap manusia telah dilakukan di Jepang, dengan mengkonsumsi enam cangkir teh hijau setiap hari dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak mengkonsumsi. Pengujian menunjukkan adanya penurunan resiko diabetes tipe 2 pada kelompok uji yang mengkonsumsi teh hijau tersebut. Penelitian serupa dilakukan juga dengan membandingkan pemberian dua cangkir setiap hari terhadap satu kelompok terhadap kelompok lain yang mengkonsumsi tiga cangkir setiap hari menunjukkan adanya perbedaan dengan adanya penurunan resiko diabetes tipe 2 (Baer, 2007; Kuo *et al.*, 2005).

Bertolak belakang dengan bukti-bukti penelitian yang positif terhadap teh hijau sebagai antidiabetes tipe 2, terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan hasil sebaliknya di mana setidaknya terdapat dua penelitian uji klinik yang menunjukkan tidak adanya penurunan kadar glukosa atau peningkatan sensitivitas insulin. Hal ini mungkin disebabkan adanya perbedaan bahan baku dari teh hijau tersebut, baik dari varietas, tempat tumbuh, atau proses pembuatan, atau penanganan panen dan pasca-panen (Baer, 2007; Kuo *et al.*, 2005).

Merujuk hal tersebut di atas, diperlukan suatu pengujian langsung aktivitas antidiabetes tipe 2 dari teh hijau yang berasal dari Indonesia, khususnya dalam hal ini klon Gambung, untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antidiabetes dari klon Gambung.

BAHAN DAN METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer (DIRUI DR-7000E), *Centrifuge* (K PLC Series), mikropipet (Assipette), *Vortex Mixer* (VM-1000).

Bahan yang digunakan adalah teh hijau yang diperoleh dari Kebun Gambung Pusat Penelitian Teh dan Kina Bandung dan dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNPAD, *pulvis gummi arabicum* (PT Brataco), daonil (Aventis Pharma), glukosa (PT Brataco), kit glukosa (*Diasys*).

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar dari Laboratorium Biologi FMIPA UNPAD Jatiningor dengan berat badan 200-220 gram. Penelitian ini dilaksanakan di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung, pada tahun 2010.

Metode penelitian

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dan refluks, masing-masing diperoleh rendemen 32,60 % dan 40,24%. Kemudian dilakukan penapisan fitokimia, kromatografi lapis tipis (KLT), dan penetapan karakteristik sesuai dengan yang ditetapkan dalam *Materia Medika Indonesia* (MMI) pada simplisia dan ekstrak.

Penyiapan hewan uji

Dalam penelitian ini, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar. Sebelum digunakan hewan tersebut diadaptasikan selama tujuh hari dan diberi makanan setiap hari tetapi sehari sebe-

lumnya tikus putih kemudian dipuasakan selama 18-24 jam.

Pengujian aktivitas antidiabetes ekstrak etanol teh hijau

Aktivitas antidiabetes diuji dengan menggunakan metode toleransi glukosa, dibagi menjadi enam kelompok antara lain kelompok normal, kelompok pembanding, kontrol negatif dan kelompok uji variasi tiga dosis dari teh hijau masing-masing sebesar 0,180 g/kg BB; 0,360 g/kg BB; dan 0,720 g/kg BB.

Hewan percobaan yang telah dikelompokkan secara acak diambil cuplikan darahnya ($T = 0$) untuk penentuan kadar glukosa awal, kelompok uji diberi sediaan uji secara oral, kelompok normal diberi air suling, kontrol negatif diberi larutan pulvis gummi arabican (PGA) 2%, kelompok pembanding diberi daonil. Setelah 30 menit kemudian, semua hewan percobaan diberi larutan glukosa secara oral. Setiap 1 jam cuplikan darah diambil dari masing-masing hewan percobaan. Setelah darah dalam tabung sampel mikro disentrifugasi, kadar glukosa darah ditentukan secara uji kolorimetri dengan metode enzimatis Glucose Oxidase Phenol 4-Aminoantipirin (GOD-PAP).

Analisis data

Analisis data percobaan dilakukan menggunakan *analisis of varians* (ANOVA) dengan rancang percobaan desain blok lengkap acak (DBLA), kemudian dilanjutkan dengan uji *Newman-Keuls*.

Hasil penelitian

Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan pelarut etanol 95% agar dalam proses pemekatan lebih cepat, tetapi meng-

gunakan dua metode dan proses yang berbeda, yaitu maserasi dan refluks. Hal ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan kandungan metabolit sekunder yang dapat ditarik dengan proses perlakuan yang berbeda. Umumnya maserasi dan refluks merupakan proses ekstraksi paling sederhana dan cara pengerjaannya mudah serta dapat menghemat waktu.

Penapisan fitokimia

Hasil penapisan fitokimia diketahui bahwa simplisia dan ekstrak etanol teh hijau mengandung alkaloid, tanin dan polifenol, flavonoid, kuinon, saponin, monoterpen dan seskuiterpen. Tidak ada perubahan kandungan metabolit sekunder pada hasil ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi maupun proses refluks.

Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

TABEL 1
Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Tanin & polifenol	+	+
Steroid & triterpenoid	-	-
Kuinon	+	+
Monoterpen & seskuiterpen	+	+
Saponin	+	+

Keterangan:

(+) = terdeteksi, (-) = tidak terdeteksi

Kromatografi lapis tipis (KLT)

Hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan larutan pengembang n-heksan dan etil asetat perbandingan 2:8 antara simplisia dan ekstrak hasil maserasi dan refluks membuktikan bahwa terdapat pada warna noda, yaitu ungu, kuning, dan hijau. Atas hasil yang diperoleh dari penapisan fitokimia dan KLT tersebut, maka pene-

litian selanjutnya pada pengujian farmakologi hanya menggunakan ekstrak hasil refluks karena ekstrak dengan proses pemanasan cenderung kandungan senyawanya akan mengalami beberapa perubahan, sehingga dengan demikian apabila ekstrak etanol teh hijau hasil refluks memberikan efek antidiabetes, maka secara tidak langsung ekstrak hasil maserasi akan memiliki aktivitas yang sama.

Hasil pemeriksaan menggunakan KLT dapat dilihat pada Tabel 2.

TABEL 2
Hasil kromatografi lapis tipis

KLT dengan larutan pengembang n-heksan: etil asetat (2:8)	Harga Rf ekstrak etanol teh hijau		
	Rf 1	Rf 2	Rf 3
Ekstrak hasil maserasi	0,17	0,44	0,60
Ekstrak hasil refluks	0,16	0,44	0,56

Karakteristik simplisia

Faktor-faktor yang menentukan kualitas simplisia di antaranya adalah kadar air, kadar ekstrak larut etanol dan kadar ekstrak larut air. Hasil analisis terhadap simplisia menunjukkan bahwa ketiga faktor penentu mutu simplisia sudah sesuai dengan MMI seperti diperlihatkan pada Tabel 3.

TABEL 3
Hasil karakteristik simplisia

Karakteristik	Hasil (%)	Persyaratan MMI
Kadar Air	3,7	3-4 %
Kadar sari larut etanol	10,5	> 9 %
Kadar sari larut air	9,7	> 8 %

Selanjutnya, ekstrak larut etanol dianalisis kadar abu totalnya dan dibandingkan terhadap persyaratan MMI. Hasil analisis kadar abu total ekstrak etanol teh hijau dapat dilihat pada Tabel 4.

TABEL 4

Hasil kadar abu total ekstrak etanol teh hijau

Karakteristik	Ekstrak (Maserasi)	Ekstrak (Refluks)	Persyaratan MMI
Kadar abu total	4,5 %	3,5 %	< 7 %

Uji aktivitas antidiabetes

Ekstrak etanol teh hijau selanjutnya diuji aktivitas antidiabetesnya. Pada uji aktivitas antidiabetes dengan menggunakan metode toleransi glukosa, setiap hewan dalam satu kelompok perlakuan memperlihatkan perubahan kadar glukosa (awal dan lama kerja) yang beragam mulai dari menit ke-60 sampai menit ke-240. Berdasarkan grafik terlihat bahwa pada menit ke-120 ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 720 mg/kg BB sudah menunjukkan aktivitas antidiabetes dan terus berlanjut sampai dengan menit ke-240. Sedangkan pada ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 180 mg/kg BB dan dosis 360 mg/kg BB, aktivitas antidiabetes baru terjadi pada menit ke-180 dan 240. Sedangkan pada hasil uji ANOVA terlihat bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$. Ini berarti bahwa H_0 ditolak sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antara perlakuan yang diberikan parameter yang diukur pada taraf nyata (α) 0,01. Dengan kata lain, ekstrak etanol teh

hijau pada dosis 180 mg/kg BB, 360 mg/kg BB, dan 720 mg/kg BB memberikan perbedaan yang bermakna terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus dengan tingkat kepercayaan 99%. Hasil uji aktivitas antidiabetes yang dinyatakan dalam kadar glukosa darah (mg/dl) dapat dilihat pada Tabel 5.

Kadar glukosa darah relatif

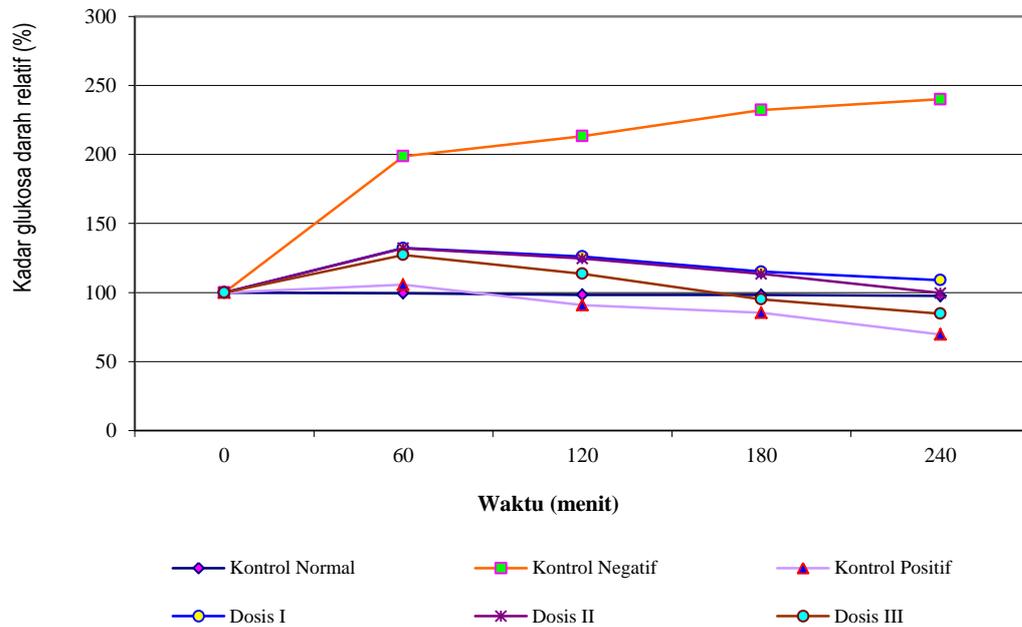
Uji *Newman-Keuls* digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang nyata antara tiap kelompok pada taraf nyata (α) 0,01. Dari hasil perhitungan *Newman-Keuls* diketahui bahwa variasi dosis ekstrak yang digunakan memiliki perbedaan yang nyata terutama pada waktu ke-240 menit, yaitu dengan penurunan kadar glukosa darah relatif masing-masing sebesar 91,94 % (0,180 g/kg BB), 98,56 % (0,360 g/kg BB), dan 109,06 % (0,720 g/kg BB) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, sehingga dari hasil analisis data pada pengujian aktivitas antidiabetes ekstrak etanol teh hijau diketahui bahwa ekstrak tersebut memiliki efek antidiabetes.

Kadar glukosa darah relatif (%) Masing-masing kelompok uji variasi tiga dosis ekstrak etanol teh hijau sebelum dan sesudah pemberian glukosa 2 g/kg BB pada Tikus putih dapat dilihat pada Tabel 6.

TABEL 5

Rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) masing-masing kelompok uji variasi tiga dosis ekstrak etanol teh hijau sebelum dan sesudah pemberian glukosa 2 g/kg BB pada tikus putih

Menit	Kadar glukosa darah (mg/dl)					
	KN	K-	K+	D I	D II	D III
0	125,00	130,67	129,00	151,33	152,33	151,67
60	124,67	259,67	136,33	200,00	201,33	193,00
120	123,00	278,67	117,33	190,67	189,67	172,33
180	123,00	303,33	110,00	174,00	173,00	144,33
240	122,00	312,67	89,67	164,67	151,67	128,33



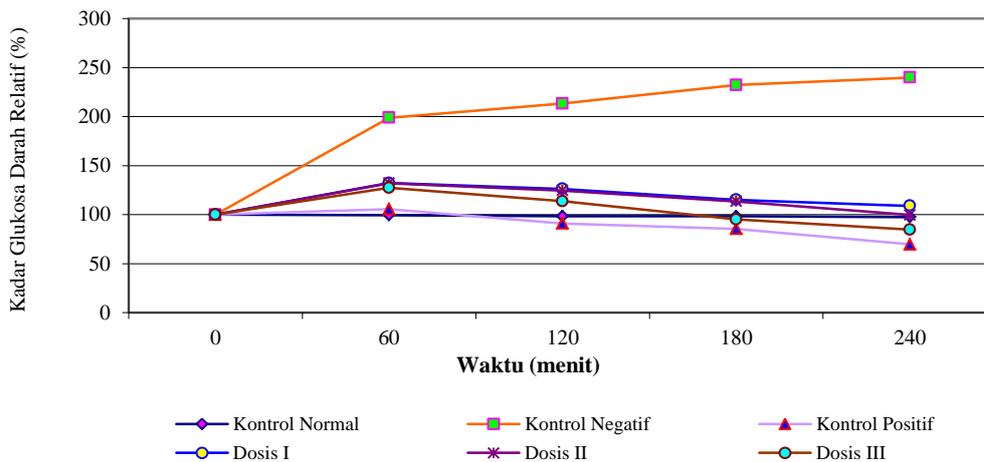
GAMBAR 1
Rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) dari masing-masing kelompok uji

TABEL 6
Rata-rata kadar glukosa darah relatif (%) masing-masing kelompok uji variasi tiga dosis ekstrak etanol teh hijau sebelum dan sesudah pemberian glukosa 2 g/kg BB pada tikus putih.

Menit	Kadar glukosa darah relatif (%)					
	KN	K-	K+	D I	D II	D III
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
60	99,85	198,75	105,71	132,26	132,13	127,27
120	98,33	213,29	90,98	126,16	124,63	113,66
180	98,27	232,19	85,42	115,16	113,55	95,15
240	97,56	239,32	69,67	108,99	99,60	84,72

Keterangan:

- KN : PGA 2%
- K(+): PGA 2% + daonil 0,45 mg/kg BB + glukosa 2 g/kg BB
- K(-): PGA 2% + glukosa 2 g/kg BB
- D I : PGA 2% + ekstrak etanol teh hijau 0,180 g/kg BB + glukosa 2 g/kg BB
- D II : PGA 2% + ekstrak etanol teh hijau 0,360 g/kg BB + glukosa 2 g/kg BB
- D III : PGA 2% + ekstrak etanol teh hijau 0,720 g/kg BB + glukosa 2 g/kg BB



GAMBAR 2
Rata-rata kadar glukosa darah relatif (%) dari masing-masing kelompok uji

KESIMPULAN

Hasil penelitian pengujian aktivitas antidiabetes ekstrak etanol teh hijau dengan metode toleransi glukosa pada tikus putih diketahui memiliki aktivitas antidiabetes dan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah relatif setelah pemberian ekstrak berturut-turut dengan dosis 0,180 g/kg BB, dosis 0,360 g/kg BB dan dosis 0,720 g/kg BB yang dibandingkan terhadap kontrol positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, R.A. and M.M. Polonsky. 2002. Tea enhances insulin activity. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7182-7186.
- Atoui, A. K., A. Mansuori, G. Boskou, dan P. Epalas. 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem.* 89: 27-31.
- Baer, David J. 2007. *Tea consumption, insulin sensitivity and diabetes.* Fourth International Scientific Symposium on Tea & Human Health. *Proceeding.*
- Bonoli, M., P. Colabufalo, M. Pelillo, G. Toshi, and G. Lercker. 2003. Fast determination of catechins and xanthines in tea beverages by micellar electrokinetic chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1141-114.
- Cabrera, G., R. Gimenez, and M.C. Lopez. 2003. Determination of tea component with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4427-4435.
- Chen, R.L.C., C.H. Lin, C.Y. Chung, and T.J. Cheng. 2005. Determination of tannin in green tea infusion by flow-injection analysis based on quenching the fluorescence of 3-amino-phthalate. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8443-8446.

- Dorstern, F.A.V., C.A. Daykin, T.P. Mulder, and Duynhoven. 2006. Metabolismic approach to determine metabolic differences between green tea and black tea consumption. *J. Agric. Food Chem.* 54: 6929-6938.
- Freidman, M., S.Y. Kim, S.J. Lee, G.P. Han, and N. Kozukue. 2005. Distribution of catechin, theaflavin, caffeine, and theobromine in 77 teas consumed in the United States. *J. Food Chem. and Toxicol.* 70(9): C550-C559.
- Henning, S.M., W. Aronson, Y. Niu, F. Conde, N.H. Lee, N.P. Seenam, R.P. Lee, D.M. Harris, A.J. Moro, Hong, L. Pat-Shan, R.J. Barnard, H.G.Ziaee, G. Csathgo, V.L. Go, and H. Wang. 2006. Tea polyphenols and theaflavin are present in prostate tissue human and mice after green and black tea consumption. *J. Nutrition* 136(7): 1839-1843.
- Higdon, J.V. and B.T. Frei. 2003. Tea catechin and polyphenols: Health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45: 89-1143.
- Kuo, K.L., M.S. Weng, C.T. Chiang, Y.J. Tsa, S.Y.L. Shiau, and J.K. Lin, 2005. Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats. *J. Agric. Food Chem.* 53: 480-489.
- Mulder, T.P., A.G. Rietveld, and van J.M. Amelsvoort. 2005. Consumption of both black tea and green tea results in an increase in the excretion of hippuric acid into urine. *Am. J. Clin. Nutr.* 81: 2860-2865.
- Sulthoni, A. (Ed.) 1994, *Petunjuk Praktis Pengolahan Teh*. Bandung: Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung, h.1-11, 87-107.