

**PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU DENGAN
METFORMIN TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE DAWLEY
DENGAN DIET TINGGI LEMAK**

Skripsi

**Oleh
KEITH SHAWN JEFF LINUS**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU DENGAN
METFORMIN TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE DAWLEY
DENGAN DIET TINGGI LEMAK**

Oleh
KEITH SHAWN JEFF LINUS

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

EFFECT COMPARISON OF GREEN TEA LEAF EXTRACT WITH METFORMIN TO KIDNEY HISTOPATHOLOGY OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) SPRAGUE DAWLEY STRAIN WITH HIGH-FAT DIET

By

Keith Shawn Jeff Linus

Background: Peoples who live in big cities tend to have limited time so they need food easily and practically. Fast food restaurants provide convenience and fast service in serving food but many have high fat content. This high-fat diet can cause damage to body organs, especially the kidneys. Metformin and green tea have the ability to reduce fat levels in the body. The purpose of this study was to know the effect comparison of green tea leaf extract with metformin to kidney histopathology of white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley strain with high-fat diet.

Methods: Experimental analytical research with post test only control group design. The sample in this study were 25 white rats (*Rattus norvegicus*) divided into 5 groups, that are control (K) (not given treatment), treatment 1 (P1) (given metformin 100mg/kgBW/day), treatment 2 (P2) (given metformin 300mg/kgBW/day), treatment 3 (P3) (given green tea leaf extract 81mg/kgBW/day), and treatment 4 (P4) (given green tea leaf extract 270mg/kgBW/day), which were also given a high-fat diet. Then surgery is performed for histopathological examination.

Results: In this study the mean score of kidney damage in the K, P1, P2, P3, and P4 groups were 2.88, 2.32, 1.84, 2.32, and 2.08. Then in the Mann-Whitney Post-Hoc test the p value between P1 and P2 are 0.095, P1 and P3 are 1,000, P1 and P4 are 0.262, P2 and P3 are 0.095, P2 and P4 are 0.268, and P3 and P4 are 0.262.

Conclusion: There is no effect comparison of green tea leaf extract with metformin to kidney histopathology of white rats (*Rattus norvegicus*) Sprague Dawley strain with high-fat diet.

Keywords: Green tea leaf extract, High-fat diet, Kidney, Metformin

ABSTRAK

PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU DENGAN METFORMIN TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE DAWLEY DENGAN DIET TINGGI LEMAK

Oleh

Keith Shawn Jeff Linus

Latar Belakang: Masyarakat yang tinggal di kota besar cenderung memiliki keterbatasan waktu sehingga membutuhkan makanan dengan mudah dan praktis. Restoran cepat saji memberikan kemudahan dan pelayanan yang cepat dalam menyajikan makanan namun banyak memiliki kandungan lemak yang tinggi. Diet tinggi lemak ini dapat membuat kerusakan pada organ tubuh terutama ginjal. Metformin dan teh hijau memiliki kemampuan untuk mengurangi kadar lemak dalam tubuh. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan pengaruh ekstrak daun teh hijau dengan metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.

Metode: Penelitian analitik eksperimental dengan rancangan post test only control group design. Sampel dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjumlah 25 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok, yaitu kontrol (tidak diberikan perlakuan), perlakuan 1 (diberikan metformin 100mg/kgBB/hr), perlakuan 2 (diberikan metformin 300mg/kgBB/hr), perlakuan 3 (diberikan ekstrak daun teh hijau 81mg/kgBB/hr), dan perlakuan 4 (diberikan ekstrak daun teh hijau 270mg/kgBB/hr), yang juga diberikan diet tinggi lemak. Kemudian dilakukan pembedahan untuk pemeriksaan histopatologi.

Hasil: Pada penelitian ini didapatkan rerata skor kerusakan ginjal pada kelompok K, P1, P2, P3, dan P4 adalah 2,88, 2,32, 1,84, 2,32, dan 2,08. Kemudian pada uji Post-Hoc Mann-Whitney didapatkan nilai p antara P1 dan P2 adalah 0,095, P1 dan P3 adalah 1,000, P1 dan P4 adalah 0,262, P2 dan P3 adalah 0,095, P2 dan P4 adalah 0,268, dan P3 dan P4 adalah 0,262.

Simpulan: Tidak terdapat perbandingan pengaruh ekstrak daun teh hijau dengan metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.

Kata Kunci: Diet tinggi lemak, Ekstrak daun teh hijau, Ginjal, Metformin

Judul Skripsi : **PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU DENGAN METFORMIN TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE DAWLEY DENGAN DIET TINGGI LEMAK**

Nama Mahasiswa : Keith Shawn Jeff Linus

No. Pokok Mahasiswa : 1418011112

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing


dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA
NIP. 197907012008121003


dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes
NIP. 197609032005012001

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Dyah Wulan SRW, SKM., M.Kes
NIP. 197206281997022001

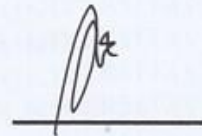
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA**



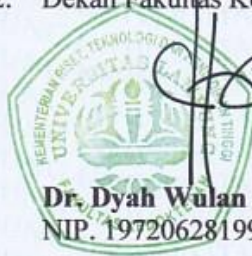
Sekretaris : **dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Dyah Wulan SRW, SKM., M.Kes
NIP. 197206281997022001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 25 April 2019

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PERBANDINGAN PENGARUH EKSTRAK DAUN TEH HIJAU DENGAN METFORMIN TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE DAWLEY DENGAN DIET TINGGI LEMAK”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, Maret 2019

Pembuat Pernyataan,



Keith Shawn Jeff Linus

*Bukankah Engkau Bapa kami? Sungguh,
Abraham tidak tahu apa-apa tentang kami,
dan Israel tidak mengenal kami. Ya TUHAN,
Engkau sendiri Bapa kami; nama-Mu ialah
“Penebus kami” sejak dahulu kala. (LAI PL
Yesaya 63:16)*

Pada mulanya adalah Firman; Firman itu bersama-sama dengan Allah dan Firman itu adalah Allah. (LAI PB Yohanes 1:1)

Firman itu telah menjadi manusia, dan diam di antara kita, dan kita telah melihat kemuliaan-Nya, yaitu kemuliaan yang diberikan kepada-Nya sebagai Anak Tunggal Bapa, penuh kasih karunia dan kebenaran. (LAI PB Yohanes 1:14)

SANWACANA

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah Tritunggal Yang Maha Esa karena hanya oleh kasih karuniaNya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Terima kasih Allah Bapa, Tuhan Yesus Kristus, dan Roh Kudus atas kekuatan dan kesabaran yang diberikan dalam pembuatan skripsi ini.

Skripsi penulis dengan judul “Perbandingan Pengaruh Ekstrak Daun Teh Hijau Dengan Metformin Terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Dengan Diet Tinggi Lemak” merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapat banyak saran, bimbingan, dukungan, dan bantuan doa dari berbagai pihak. Maka dalam kesempatan ini juga penulis mau mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

- Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P, selaku Rektor Universitas Lampung;
- Dr. Dyah Wulan SRW, SKM., M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
- dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA, selaku Pembimbing Utama atas kesediaannya untuk memberikan waktu, bimbingan, saran, kritik, nasihat, dan dukungan yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;

- dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes, selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya untuk memberikan waktu, bimbingan, saran, kritik, nasihat, dan dukungan yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
- Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc, selaku Pembahas atas kesediaannya untuk memberikan waktu, bimbingan, saran, kritik, nasihat, dan dukungan yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
- Papa, Mama, kakak, adik, kakek, nenek, juga paman dan tante penulis yang terkasih yang selalu mengingatkan hanya Tuhan saja sumber kekuatan, juga untuk doa, harapan, kasih sayang, motivasi, nasihat, dukungan, pengorbanan, segalanya yang telah diberikan;
- dr. Fitria Saftarina, S.Ked., M.Sc, DK, selaku Pembimbing Akademik atas nasihat dan bimbingan yang diberikan selama perkuliahan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung ini;
- dr. Agustyas Tjiptaningrum, S.Ked., Sp.PK, dr. Putu Ristyaning Ayu, S.Ked., M.Kes., Sp.PK, Mbak Novi, Mbak Vienda, dan teman-teman asisten dosen Patologi Klinik 2016/2017 atas segala ilmu, motivasi, dan pengalaman yang telah diberikan;
- Seluruh staf dosen dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas waktu, ilmu, tenaga dan kesabarannya selama proses dalam perkuliahan;
- Harry Salomo sebagai rekan penelitian serta teman-teman Pet House (Kholifah, Leni, Nana, Nandya, Ninis, Ocsi, Raqi, Vincha, Dzul, Komang, dkk) yang membuat penelitian menjadi menyenangkan dan tidak jenuh;
- Sindi, Ebeth, Febe, Grace, Karen, Purnama, Vei, Via, Cia, Gita, Nao, Tania, Yona, Renti, Theo, Devi, Eva, Zefanya, Cakra, Harry, Rian, William, Yosua

sebagai Permakomedis 14 yang selalu siap menolong, berbagi, dan belajar bersama;

- Selina, Dela, Efry, Lidya, Celine, Dea, Christi, Novita, Mona, Hendro, Josi, Mundo, Ndon, Nicho, adik-adik Permakomedis 15 terkasih yang memberikan doa, semangat dan dukungan yang sangat berarti;
- Asri, Ananda, Brigita, Ester, Gwen, Jessica, Jovanka, Laurencia, Marla, Rika, Carlos, Ian, Janu, Jeffrey, Kristian, Ray, Rendy, Restu, Samuel, dkk, adik-adik Permakomedis 16 terkasih yang telah memberikan doa dan semangat;
- Ivytha, Clara, Dear, Isabel, Jeje, Selin, Shania, Yovani, Dansen, Abel, Billy, Daniel, Smith, dkk, adik-adik Permakomedis 17 terkasih yang telah memberikan doa dan semangat;
- Keluarga besar Permakomedis terutama Bang Patrick, Bang Wil, Bang Abdi, Bang Ogie, Kak Yvon, Kak Ruth, Kak Gaby, Bang Lexy, Bang Radian, Kak Desi Indah, Kak Widy, Bang Edgar, Bang Irfan untuk semangat dan nasihat yang diberikan;
- Aliansi Perak (Fakih, Muhlis, Panji, Rama, Rizky, dkk) yang telah memberikan nasihat dan dorongan terus-menerus;
- Anak-anak KKN Masa Gitu 'Surabaya Baru' (Aprilia, Atri, Clara, Karina, Mona, Suci, Sylvia, Zahрати, Ardiansyah, Arya, Randi, Tiyasz) untuk pengalaman berharga selama berada di desa;
- Teman dan sahabat saya Riri, Faustine, Jean, Adam, Tony, Leo, Antonius, David, Valent, Moses, Jo, Elo serta Ipa Dahsyat untuk pengalaman dan dukungan selama ini;

- Frans dan The Cengkeh untuk hari-hari yang penuh kebersamaan dalam satu atap setiap harinya;
- Teman-teman sejawat angkatan 2014 ‘Cran14I’ atas kebersamaannya dalam suka maupun duka selama ini, semoga sukses selalu di masa yang akan datang;
- Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan serta motivasi dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Bandar Lampung, Maret 2019

Penulis,

Keith Shawn Jeff Linus

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ginjal	6
2.1.1 Anatomi.....	6
2.1.2 Histologi.....	7
2.1.3 Fisiologi	10
2.2 Pengaruh Diet Tinggi Lemak Terhadap Ginjal	12
2.3 Pengaruh Diet Tinggi Lemak Terhadap Tubuh.....	14
2.4 Daun Teh Hijau	16
2.4.1 Taksonomi dan Morfologi Teh Hijau	16
2.4.2 Kandungan Teh Hijau	18
2.5 Pengaruh Teh Hijau Terhadap Kesehatan	19
2.6 Pengaruh Teh Hijau Terhadap Berat Badan	20
2.7 Metformin.....	22
2.8 Penggunaan Metformin pada Obesitas	23
2.9 Tikus Putih Galur Sprague Dawley	28
2.10 Kerangka Penelitian	30
2.10.1 Kerangka Teori.....	30

2.10.2	Kerangka Konsep	31
2.10.3	Hipotesis.....	31
BAB 3 METODE PENELITIAN		32
3.1	Desain Penelitian	32
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	32
3.3	Subjek Penelitian	33
3.3.1	Populasi dan Sampel	33
3.3.2	Kriteria Inklusi	35
3.3.3	Kriteria Eksklusi.....	35
3.4	Alat dan Bahan Penelitian	35
3.4.1.	Alat Penelitian.....	35
3.4.2.	Bahan Penelitian.....	36
3.5	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	37
3.5.1.	Identifikasi Variabel.....	37
3.5.2.	Definisi Operasional.....	38
3.6	Prosedur Penelitian	39
3.6.1.	Prosedur Perlakuan.....	39
3.6.2.	Prosedur Pembuatan Slide.....	44
3.7	Alur Penelitian.....	49
3.8	Analisis Data	50
3.9	Etika Penelitian.....	50
3.9.1	Prinsip 3R.....	50
3.9.2	Prinsip 5F	51
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		53
4.1	Hasil Penelitian.....	53
4.1.1	Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus	53
4.1.2	Analisis Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus	58
4.2	Pembahasan	62
4.3	Keterbatasan Penelitian	65
BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN		66
5.1	Simpulan.....	66
5.2	Saran	66

DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Definisi Operasional	38
Tabel 2. Rerata Skor Kerusakan Ginjal.....	59
Tabel 3. Hasil Analisis <i>Mann-Whitney</i>	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Anterior Potongan Koronal Ginjal (Moore, Dalley, 2013).	7
Gambar 2. Histologi Ginjal (Mescher, 2013).....	9
Gambar 3. Daun <i>Camellia sinensis</i> (Kress, 2011).	17
Gambar 4. Struktur Kimia Metformin (Katzung, Trevor, 2015).	23
Gambar 5. Efek Metformin Pada Usus (Pryor, Cabreiro, 2015).	25
Gambar 6. Tikus Putih Galur Sprague Dawley (Krinke, 2000).....	29
Gambar 7. Kerangka Teori (Askandar, Setiawan, Santoso <i>et al</i> , 2007; He, Tu, Lee <i>et al</i> , 2011; Marks, 2010; Wolfram, Wang, Thielecke, 2006; Yogiantoro, 2012).....	30
Gambar 8. Kerangka Konsep.	31
Gambar 9. Alur Penelitian.....	49
Gambar 10. Histopatologi Ginjal Tikus K (Pembesaran 400x).	54
Gambar 11. Histopatologi Ginjal Tikus P1 (Pembesaran 400x).....	55
Gambar 12. Histopatologi Ginjal Tikus P2 (Pembesaran 400x).....	56
Gambar 13. Histopatologi Ginjal Tikus P3 (Pembesaran 400x).....	57
Gambar 14. Histopatologi Ginjal Tikus P4 (Pembesaran 400x).....	58

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masyarakat yang tinggal di kota besar saat ini cenderung memiliki tingkat stres yang tinggi akibat kesibukan dan kegiatan yang sangat padat. Keterbatasan waktu membuat masyarakat berpikir mudah dan praktis dalam memenuhi kebutuhan terhadap makanan (Harsa, 2014). Masyarakat cenderung memanfaatkan kemudahan dan pelayanan cepat yang ditawarkan oleh restoran cepat saji meskipun makanan yang disajikan tersebut mengandung lemak yang sangat tinggi. Sebagian besar masyarakat cenderung mengabaikan dampak buruk mengonsumsi berbagai macam makanan cepat saji yang tinggi lemak, hal ini seiring dengan semakin menjamurnya restoran cepat saji yang selalu penuh dengan pengunjung. Kemudahan dan kenikmatan yang ditawarkan oleh restoran cepat saji dewasa ini menghilangkan keyakinan masyarakat bahwa mengonsumsi makanan tinggi lemak setiap hari dalam waktu singkat dapat menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan masyarakat yaitu meningkatnya prevalensi kegemukan (obesitas) dan sindrom metabolik (Askandar, Setiawan, Santoso *et al*, 2007).

Diet tinggi lemak dapat mengakibatkan keadaan hiperinsulinemia yang menyebabkan peningkatan dalam penyimpanan nutrisi sehingga obesitas

terjadi lebih cepat (Barclay, Shostak, Leliavski *et al*, 2013; Berry, Jeffery, Rodeheffer, 2014; Mehran, Templeman, Brigidi *et al*, 2012). Asupan lemak yang tinggi menyebabkan penumpukan dalam tubuh dan jika penumpukan lemak terjadi di ginjal dapat meningkatkan resiko gagal ginjal kronis dan hipertensi (Foster, Hwang, Porter *et al*, 2011). Kelebihan lemak dalam tubuh ditimbun di dalam jaringan subkutan, sekitar organ tubuh dan kadang terjadi perluasan sampai ke dalam jaringan organ (Misnadierly, 2007).

Lemak di dalam tubuh akan dipecah menjadi trigliserida, kolesterol, asam lemak bebas dan fosfolipid. Semua senyawa lemak tersebut diserap dalam darah dan ditranspor dalam bentuk lipoprotein. Lipoprotein terdiri dari triasilgliserol, apoprotein dan kolesterol. Peningkatan konsumsi kolesterol akan meningkatkan kadar kolesterol dalam darah yang disebut hiperkolesterolemia (Marks, 2010). Individu dengan hiperkolesterolemia ditandai dengan adanya hipertriasilgliserol, meningkatnya kadar kolesterol total, meningkatnya *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan rendahnya kadar *High Density Lipoprotein* (HDL). Kondisi ini merupakan penyebab timbulnya aterosklerosis dini, sehingga individu tersebut memiliki risiko tinggi mengalami penyakit gangguan pembuluh darah (Bahri, 2004; Ganong, 2008).

Aterosklerosis menyebabkan pembuluh darah menjadi kehilangan distensibilitasnya, dan karena daerah dinding pembuluh berdegenerasi, pembuluh menjadi mudah ruptur (Guyton, Hall, 2006). Aterosklerosis yang terjadi didalam glomerulus disebut glomerulosklerosis. Glomerulus

mengalami penetrasi LDL ke subendotel, proliferasi sel otot, permeabilitasnya meningkat, dan mudah terjadi trombosis. Kerusakan glomerulus ini mengakibatkan filtrat glomerulus mengandung protein, eritrosit maupun leukosit sehingga terjadi peradangan. Radang adalah respon awal dari suatu jaringan terhadap *injury*. Peradangan yang terjadi di dalam glomerulus disebut glomerulonefritis (Yogiantoro, 2012).

Keadaan hiperinsulinemia akibat diet tinggi lemak bisa diinterupsi lebih lanjut dengan obat yang meningkatkan sensitivitas yaitu metformin (He, Tu, Lee *et al*, 2011). *British Journal of Clinical Pharmacology* meneliti penggunaan metformin secara *unlicensed* di UK dari tahun 2000 sampai tahun 2010. Secara *evidence* metformin dapat digunakan untuk obesitas (Hsia, Dawoud, Sutcliffe *et al*, 2012).

Metformin terbukti dapat menurunkan berat badan, dan mengurangi lemak visceral (Reinehr, Kiess, Kappellen *et al*, 2004). Pada penderita perlemakan hati (*fatty liver*), didapatkan perbaikan signifikan dengan penggunaan metformin (Tock, D'Amaso, Piano *et al*, 2010). Metformin juga terbukti mempunyai efek protektif terhadap komplikasi makrovaskular (Holman, Paul, Bethel *et al*, 2008). Dapat disimpulkan bahwa efek metformin dapat digunakan sebagai terapi obesitas (Levri, Slaymaker, Last *et al*, 2005).

Metformin mempengaruhi metabolisme lemak, tidak hanya lemak perifer namun juga lemak pada hepar, miokardium, dan beberapa jaringan lainnya. Metformin dapat mengaktifkan enzim *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) (Katzung, Trevor, 2015). AMPK selain di

hipotalamus, dapat ditemukan di bagian tubuh perifer (Malin, Kashyap, 2014; Nakano, Inui, 2012). AMPK memiliki peran penting dalam regulasi metabolisme lemak di perifer dengan cara; fosforilasi dan menghambat *acetyl-coenzyme A carboxylase 1* (ACC1) dan *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A* (HMG-CoA), mengurangi *fatty acid synthase* (FAS) dan mengaktivasi *malonyl-CoA carboxylase* yang pada akhirnya mengurangi asam lemak dan sintesa kolesterol (Nakano, Inui, 2012).

Selain itu tanaman herbal juga dapat menurunkan berat badan (obesitas), salah satunya adalah teh hijau (*Camelia sinensis*). Penurunan berat badan ini terjadi melalui penghambatan diferensiasi dan proliferasi adiposit. Juga dengan mengurangi dalam penyerapan karbohidrat dan lemak melalui hambatan enzim pencernaan (Wolfram, Wang, Thielecke, 2006). Selain itu kegunaan teh untuk mengobati sakit kepala, diare, sebagai penyubur dan penghitam rambut, darah tinggi, infeksi saluran cerna, mencegah osteoporosis, menurunkan berat badan, dan menurunkan resiko penyakit kanker. Teh hijau merupakan teh yang tidak mengalami proses fermentasi dan banyak dikonsumsi orang karena nilai medisnya. Teh hijau kerap digunakan untuk membantu proses pencernaan dan juga karena kemampuannya dalam membunuh bakteri (Kushiyama, Shimazaki, Murakami *et al*, 2009).

Dari uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk meneliti tentang perbandingan pengaruh ekstrak daun teh hijau dengan metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbandingan pengaruh ekstrak daun teh hijau dengan metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui perbandingan pengaruh ekstrak daun teh hijau dengan metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi ilmu pengetahuan

Memberikan informasi ilmiah mengenai efek penggunaan metformin dan daun teh hijau terhadap kerusakan ginjal dengan diet tinggi lemak.

2. Bagi masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai efek metformin dan daun teh hijau terhadap ginjal dengan diet tinggi lemak.

3. Bagi peneliti

Menjadi suatu wawasan dan bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya mengenai efek metformin dan daun teh hijau terhadap pola diet tinggi lemak.

4. Bagi institusi (FK Unila)

Memberikan pengetahuan tentang efek metformin dan daun teh hijau terhadap kerusakan ginjal dengan diet tinggi lemak.

BAB 2

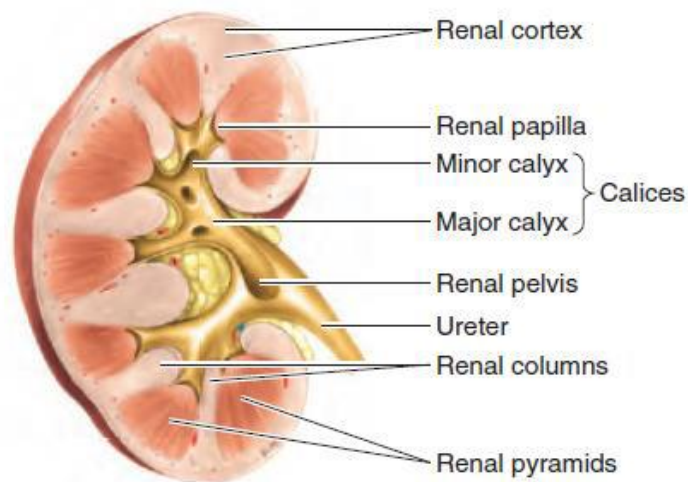
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Anatomi

Ginjal terletak retroperitoneal pada dinding posterior abdomen, dan terletak setinggi T12-L3 dengan posisi ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah daripada ginjal kiri karena besarnya lobus hepatis dekstra. Selama hidup, ginjal memiliki warna coklat kemerahan dan memiliki ukuran panjang sekitar 10cm, lebar 5cm, dan tebal 2,5cm (Price, Wilson, 2012).

Batas medial konkaf setiap ginjal adalah celah vertikal yaitu hilus renale, di mana arteria renalis masuk dan vena renalis serta pelvis renalis meninggalkan sinus renalis. Sinus renalis adalah suatu ruang di dalam ginjal yang diisi oleh pelvis renalis, *calices*, pembuluh dan saraf, serta sejumlah lemak. Pelvis renalis adalah ekspansi ujung superior ureter yang rata dan berbentuk seperti terowongan. Pelvis renalis menerima 2-3 *calices renales majore*, yang masing-masing membagi menjadi 2-3 *calices renales minores* (Moore, Dalley, 2013).



Gambar 1. Anterior Potongan Koronal Ginjal (Moore, Dalley, 2013).

Aliran darah pada ginjal berasal dari arteri renalis yang merupakan percabangan langsung dari aorta abdominalis. Saat memasuki hilus ginjal, arteri renalis akan terbagi menjadi 5 cabang arteri segmental. Arteri segmental kemudian akan berlanjut menjadi arteri lobaris yang selanjutnya akan bercabang lagi menjadi 2 atau 3 arteri interlobaris. Arteri interlobaris kemudian akan berjalan di korteks pada masing-masing sisi piramida renal dan akan berubah menjadi arteri arkuata di persimpangan antara korteks dan medula. Arteri arkuata kemudian akan berlanjut menjadi arteri interlobular hingga akhirnya menjadi arteriol afferen glomerulus. Adapun aliran darah balik ginjal dialirkan melalui vena renalis yang nantinya akan bermuara di vena kava inferior (Snell, 2012).

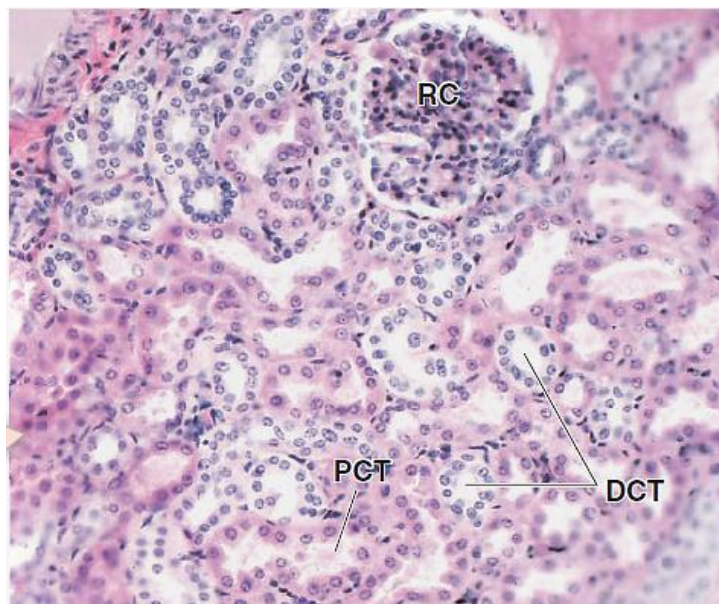
2.1.2 Histologi

Setiap ginjal dilapisi oleh kapsul jaringan ikat padat tidak teratur. Irisan sagital ginjal menunjukkan korteks yang lebih gelap di bagian

luar, dan medula yang lebih terang di bagian dalam, dimana pada medula terdapat banyak piramid ginjal berbentuk kerucut. Basis setiap piramid menghadap ke korteks dan membentuk batas kortikomedularis, sedangkan apeks setiap piramid yang bulat meluas ke arah pelvis renalis untuk membentuk papila renalis. Setiap papila renalis dikelilingi oleh kaliks minor berbentuk corong, yang mengumpulkan urin dari papila. Kaliks minor kemudian bergabung di sinus renalis dan membentuk kaliks mayor. Kaliks mayor bergabung membentuk pelvis renalis, bentuk corong yang lebih besar. Pelvis renalis keluar dari ginjal melalui hilus, menyempit menjadi ureter, dan turun ke arah kandung kemih di masing-masing sisi dinding tubuh posterior (Eroschenko, 2010).

Unit fungsional setiap ginjal adalah tubulus uriniferus. Tubulus terdiri atas nefron dan duktus koligens yang berfungsi untuk menampung curahan dari nefron. Nefron terbagi lagi menjadi dua komponen, yaitu korpuskulum ginjal dan tubulus ginjal. Korpuskulum ginjal adalah segmen awal setiap nefron. Jutaan nefron terdapat di setiap korteks ginjal. Korpuskulum ginjal terdiri atas suatu kumpulan kapiler yang disebut glomerulus, yang dikelilingi oleh dua lapis sel epitel yaitu kapsula Bowman. Kapsula Bowman tersusun atas 2 stratum, yaitu stratum viscerale dan stratum parietale. Stratum viscerale kapsul terdiri atas sel epitel khusus bercabang, yaitu podosit. Podosit berbatasan dan membungkus kapiler glomerulus. Sedangkan stratum parietale kapsul glomerulus terdiri atas epitel selapis gepeng. Filtrasi

darah di korpuskulum ginjal difasilitasi oleh endotel glomerulus. Endotel di kapiler glomerulus adalah kapiler fenestra dan sangat permeabel terhadap banyak substansi di dalam darah, kecuali elemen darah yang terbentuk atau protein plasma. Darah disaring di korpuskulum ginjal melalui kapiler-kapiler di glomerulus, dan filtrat masuk ke spatium capsulare (urinarium) yang terletak diantara stratum parietale dan viscerale kapsul glomerulus (Eroschenko, 2010).



Gambar 2. Histologi Ginjal. Keterangan: RC = Renal Corpuscle (Korpuskulum Ginjal), PCT = Proximal Convoluted Tubule (Tubulus Kontortus Proksimal), DCT = Distal Convoluted Tubule (Tubulus Kontortus Distal) (Mescher, 2013).

Setelah mengalami proses filtrasi, filtrat glomerulus keluar dari korpuskulum ginjal dan mengalir sampai ke tubulus ginjal yaitu tubulus koligens dan duktus koligens. Bagian tubulus ginjal yang berawal di korpuskulum ginjal adalah tubulus kontortus proksimal. Awalnya tubulus terletak di korteks, namun selanjutnya tubulus

tersebut turun ke dalam medula untuk menjadi ansa Henle. Ansa Henle terdiri dari beberapa bagian yaitu bagian desenden yang tebal di tubulus kontortus proksimal, segmen asenden dan desenden yang tipis serta bagian asenden yang tebal yang disebut tubulus kontortus distal. Filtrat glomerulus kemudian mengalir dari tubulus kontortus distal ke tubulus koligens (Eroschenko, 2010).

2.1.3 Fisiologi

Menurut Sherwood (2014), fungsi ginjal antara lain:

- a. Mempertahankan keseimbangan H_2O di dalam tubuh.
- b. Mempertahankan osmolaritas cairan tubuh yang sesuai, terutama melalui regulasi keseimbangan H_2O .
- c. Mengatur jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion pada cairan ekstraseluler (CES).
- d. Mempertahankan volume plasma yang tepat, yang penting dalam pengaturan jangka panjang tekanan darah arteri.
- e. Membantu mempertahankan keseimbangan asam-basa tubuh yang tepat dengan menyesuaikan pengeluaran H^+ dan HCO_3^- melalui urin.
- f. Mengekskresikan produk-produk sisa metabolisme.
- g. Menghasilkan hormon eritropoietin untuk merangsang produksi sel darah merah.
- h. Menghasilkan enzim renin untuk memicu suatu reaksi berantai yang penting dalam penghematan garam oleh ginjal.
- i. Mengubah vitamin D menjadi bentuk aktifnya.

Tiga proses dasar yang terlibat dalam pembentukan urin pada ginjal yaitu filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus, dan sekresi tubulus. Pembentukan urin dimulai dengan filtrasi sejumlah besar cairan dari kapiler glomerulus ke kapsula Bowman. Kebanyakan zat dalam plasma, kecuali protein, difiltrasi secara bebas sehingga konsentrasinya pada filtrat glomerulus hampir sama dengan konsentrasi pada plasma. Ketika cairan yang telah difiltrasi ini meninggalkan kapsula Bowman dan mengalir melewati tubulus, cairan ini akan mengalami perubahan akibat adanya reabsorpsi air dan zat terlarut spesifik kembali ke dalam darah atau sekresi zat-zat lain dari kapiler peritubulus ke dalam tubulus (Sherwood, 2014; Guyton, Hall, 2006).

Sebagian besar zat yang harus dibersihkan dari darah, terutama produk akhir metabolisme seperti urea, kreatinin, dan asam urat ataupun zat asing dan obat-obatan tertentu hanya direabsorpsi sedikit, dan karena itu, diekskresi dalam jumlah besar ke dalam urin. Sebaliknya, elektrolit seperti ion natrium, klorida, dan bikarbonat direabsorpsi dalam jumlah besar, sehingga hanya sejumlah kecil saja yang tampak dalam urin. Sedangkan zat nutrisi tertentu, seperti asam amino dan glukosa, direabsorpsi secara lengkap dari tubulus dan tidak muncul dalam urin meskipun sejumlah besar zat tersebut difiltrasi oleh kapiler glomerulus (Sherwood, 2014; Guyton, Hall, 2006).

2.2 Pengaruh Diet Tinggi Lemak Terhadap Ginjal

Diet tinggi lemak dapat mengakibatkan keadaan hiperinsulinemia yang menyebabkan peningkatan dalam penyimpanan karbohidrat sehingga obesitas terjadi lebih cepat (Barclay, Shostak, Leliavski *et al*, 2013; Berry, Jeffery, Rodeheffer, 2014; Mehran, Templeman, Brigidi *et al*, 2012). Kelebihan lemak dalam tubuh ditimbun di dalam jaringan subkutan, sekitar organ tubuh dan kadang terjadi perluasan sampai ke dalam jaringan organ (Misnadierly, 2007). Penimbunan lemak pada tubuh disimpan oleh sel adiposa yang dapat semakin banyak atau semakin besar sehingga jika terjadi pada sel adiposa di organ, dapat membuat peningkatan tekanan (Guyton, Hall, 2006).

Lemak yang tinggi dari asupan juga akan menumpuk dan jika penumpukan terjadi di ginjal dapat meningkatkan resiko gagal ginjal kronis dan hipertensi (Foster, Hwang, Porter *et al*, 2011). Akumulasi lemak perut khususnya lemak viseral adalah yang paling banyak dihubungkan dengan risiko gangguan kesehatan. Jaringan lemak viseral memiliki hubungan kuat dengan faktor risiko sindrom metabolik dibandingkan dengan jaringan lemak subkutan (Pou, Massaro, Hoffman *et al*, 2009). Komplikasi akibat obesitas adalah gangguan fungsi ginjal. Namun belum banyak perhatian tentang akibat obesitas terhadap ginjal. Obesitas dapat mempengaruhi progresifitas dan dapat memicu gagal ginjal tahap akhir pada pasien-pasien yang sebelumnya telah mengidap penyakit ginjal. Begitu pun pada orang sehat, obesitas dapat berpotensi menyebabkan kerusakan pada ginjal (Jong, Verhave, Sietsma *et al*, 2002).

Lemak di dalam tubuh akan dipecah menjadi trigliserida, kolesterol, asam lemak bebas dan fosfolipid. Semua senyawa lemak tersebut diserap dalam darah dan ditranspor dalam bentuk lipoprotein. Lipoprotein terdiri dari triasilgliserol, apoprotein dan kolesterol. Peningkatan konsumsi kolesterol akan meningkatkan kadar kolesterol dalam darah yang disebut hiperkolesterolemia (Marks, 2010). Individu dengan hiperkolesterolemia ditandai dengan adanya hipertriasilgliserol, meningkatnya kadar kolesterol total, meningkatnya Low Density Lipoprotein (LDL) dan rendahnya kadar High Density Lipoprotein (HDL). Kondisi ini merupakan penyebab timbulnya aterosklerosis dini, sehingga individu tersebut memiliki risiko tinggi mengalami penyakit gangguan pembuluh darah (Bahri, 2004; Ganong, 2008).

Aterosklerosis menyebabkan pembuluh darah menjadi kehilangan distensibilitasnya, dan karena daerah dinding pembuluh berdegenerasi, pembuluh menjadi mudah ruptur (Guyton, Hall, 2006). Aterosklerosis yang terjadi didalam glomerulus disebut glomerulosklerosis. Glomerulus mengalami penetrasi LDL ke subendotel, proliferasi sel otot, permeabilitasnya meningkat, dan mudah terjadi trombosis. Kerusakan glomerulus ini mengakibatkan filtrat glomerulus mengandung protein, eritrosit maupun leukosit sehingga terjadi peradangan. Radang adalah respon awal dari suatu jaringan terhadap *injury*. Peradangan yang terjadi di dalam glomerulus disebut glomerulonefritis (Yogiantoro, 2012).

Glomerulosklerosis menyebabkan menurunnya jumlah nefron fungsional, akibatnya aliran darah dan *glomerulus filtration rate* (GFR) menurun. Penurunan GFR menyebabkan penurunan besar terhadap air dan zat terlarut oleh ginjal sehingga terjadi edema karena akumulasi cairan dalam tubuh. Penurunan aliran darah ke ginjal menyebabkan iskemia ginjal (Price, Wilson, 2012). Iskemia adalah istilah yang dipakai untuk melukiskan jaringan yang kekurangan darah teroksigenasi. Epitel-epitel ginjal menjadi rusak secara cepat karena pada dasarnya pada keadaan normal sel-sel epitel ini memiliki metabolisme yang tinggi dan memerlukan sejumlah besar zat-zat nutrisi. Akibat iskemia tersebut adalah nekrosis tubuler yang berat dengan kematian sel-sel tubuler dan pengelupasan serta penghambatan tubulus untuk melakukan fungsinya (Guyton, Hall, 2006).

2.3 Pengaruh Diet Tinggi Lemak Terhadap Tubuh

Diet tinggi lemak mengakibatkan hiperinsulinemia yaitu meningkatnya kadar sekresi insulin yang lebih lanjut dapat mengakibatkan obesitas (Barclay, Shostak, Leliavski *et al*, 2013; Mehran, Templeman, Brigidi *et al*, 2012; Templeman, Skovso, Page *et al*, 2017). Telah ada empat penelitian baik klinis maupun eksperimental yang menunjukkan bahwa hiperinsulinemia dapat mengakibatkan obesitas (Gerbaix, Metz, Ringot *et al*, 2010; Marques, Meireles, Norberto *et al*, 2015; Mehran, Templeman, Brigidi *et al*, 2012). Hiperinsulinemia patologis pada sirkulasi benar bertanggungjawab akan terjadinya obesitas dan komplikasi lainnya, tapi tidak *evidence* jika kita katakan insulin menyebabkan obesitas. Pada percobaan tikus diinduksi diet tinggi lemak dalam jangka panjang dapat meningkatkan level *Uncoupling*

protein 1 (Ucp1) pada lemak putih bagian viseral, tetapi menurunkan Ucp1 pada daerah subkutan (Marques, Meireles, Norberto *et al*, 2015). Ucp1 sendiri merupakan regulator pengeluaran energi melalui simpatis dan termogenesis terdapat pada lemak coklat dan lemak putih (Sherwood, 2014; Marques, Meireles, Norberto *et al*, 2015). Secara relatif, hiperinsulinemia yang maladaptif mengakibatkan peningkatan berat badan, mengakibatkan kelelahan sel beta, atau memperburuk sensitivitas reseptor insulin (resistensi insulin) (Mehran, Templeman, Brigidi *et al*, 2012).

Hiperinsulinemia merupakan respon kompensasi untuk mencegah hiperglikemia ketika jaringan perifer gagal untuk mengambil kelebihan glukosa di darah yang diakibatkan obesitas. Karakteristik dari kondisi obesitas, akumulasi lipid toksik dalam jaringan non adiposa dan peningkatan sitokin proinflamasi, dapat menginduksi atau memperburuk resistensi insulin, dan glukosa darah yang dihasilkan memiliki potensi untuk merangsang peningkatan sekresi insulin. Obat yang meringankan atau mencegah hiperinsulinemia dapat menyebabkan penurunan berat badan dan dapat meningkatkan penyerapan glukosa yang diinduksi insulin (Templeman, Skovso, Page *et al*, 2017).

Penelitian biokimia telah membuktikan insulin menjadi juru kunci akumulasi lemak putih, dengan menghambat lipolisis dan meningkatkan simpanan lemak bebas, sintesis trigliserida, juga ekspresi gen yang meningkatkan simpanan lemak (Berry, Jeffery, Rodeheffer, 2014).

Peningkatan insulin sirkulasi secara cepat disebabkan oleh asupan makanan direspon dengan penyimpanan nutrisi pada jaringan target perifer utama, terutama dengan merangsang penyerapan glukosa di jaringan adiposa dan otot, glikolisis serta sintesis glikogen dalam otot dan hati, lipogenesis di jaringan adiposa dan hati, dan sintesis protein di otot dan hati. Sebaliknya, insulin memiliki fungsi represif pada glikogenolisis, lipolisis dan pemecahan protein, serta glukoneogenesis dan ketogenesis di hati (Templeman, Skovso, Page *et al*, 2017). Bahkan menurut penelitian tersebut, pada tikus kadar insulin lebih sensitif terhadap lemak dibandingkan karbohidrat pada kadar menetapnya (Mehran, Templeman, Brigidi *et al*, 2012).

Ekspansi jaringan adiposa putih yang mengakibatkan obesitas dapat terjadi dengan cara hipertrofi (*lipid filling*) maupun hiperplasia (adipogenesis maupun diferensiasi adiposit) (Templeman, Skovso, Page *et al*, 2017; Berry, Jeffery, Rodeheffer, 2014).

2.4 Daun Teh Hijau

2.4.1 Taksonomi dan Morfologi Teh Hijau

Kingdom	: Plantae
Superdivision	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Dicotyledoneae
Subclass	: Dilleniidae
Order	: Theales
Family	: Theaceae

Genus : *Camellia*

Species : *Camellia sinensis*

(Mahmood, Akhtar, Khan, 2010).

Tanaman teh hijau merupakan pohon yang memiliki tinggi 10m sampai 15m di alam bebas dan untuk pembudidayaan dipertahankan tinggi 0,6m sampai 1,5m. Teh hijau memiliki daun berwarna hijau muda dengan panjang 5cm sampai 30cm dan lebar sekitar 4cm. Memiliki bunga berwarna putih dengan diameter 2,5cm sampai 4cm dan biasanya berdiri sendiri atau saling berpasangan dua-dua. Tanaman teh hijau juga memiliki buah, bentuknya pipih, bulat, dan terdapat satu biji dalam masing-masing buah dengan ukuran sebesar kacang (Ross, 2005).



Gambar 3. Daun *Camellia sinensis* (Kress, 2011).

2.4.2 Kandungan Teh Hijau

Teh hijau memiliki senyawa-senyawa yang kompleks yaitu protein (15-20%); asam amino seperti teanine, asam aspartat, tirosin, triptofan, glisin, serin, valin, leusin, arginin (1-4%); karbohidrat seperti selulosa, pektin, glukosa, fruktosa, sukrosa (5-7%); lemak dalam bentuk asam linoleat dan asam linolenat; sterol dalam bentuk stigmasterol; vitamin B, C, dan E; kafein dan teofilin; pigmen seperti karotenoid dan klorofil; senyawa volatil seperti aldehida, alkohol, lakton, ester, dan hidrokarbon; mineral seperti Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K, F, dan Al (5%) (Cabrera, Artacho, Gimenez, 2006).

Teh hijau telah dilaporkan memiliki lebih dari 4000 campuran bioaktif dimana sepertiganya merupakan senyawa-senyawa polifenol. Polifenol merupakan cincin benzena yang terikat pada gugus-gugus hidroksil. Polifenol dapat berupa senyawa flavonoid ataupun non-flavonoid. Namun, polifenol yang ditemukan dalam teh hampir semuanya merupakan senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid tersebut merupakan hasil metabolisme sekunder dari tanaman yang berasal dari reaksi kondensasi *cinnamic acid* bersama tiga gugus malonyl-CoA. Banyak jenis-jenis flavonoid yang ada di dalam teh, tetapi yang memiliki nilai gizi biasanya dibagi menjadi enam kelompok besar (Mahmood, Akhtar, Khan, 2010).

Flavanol atau dikenal dengan *catechin*, merupakan senyawa yang menyumbang berat 20-30% dari daun teh yang kering. Senyawa *catechin* tidak berwarna, larut dalam air, dan berfungsi untuk memberikan rasa pahit pada teh. Modifikasi pada *catechin* dapat mengubah warna, aroma, dan rasa pada teh. Pengurangan kadar *catechin* dalam teh dapat menambah kualitas aroma dari suatu teh. Selain flavanol, ada juga senyawa yang disebut flavonol. *Quercetin*, *myricetin*, dan *kaempferol* merupakan contoh flavonol utama yang menjadi ekstrak cair dari suatu teh. Flavonol biasanya ditemukan dalam bentuk *glycosidic* karena bentuk yang *non-glycosidic* tidak dapat larut dalam air. Di dalam teh juga terdapat zat kafein (Turkoglu, Ugurlu, Gedik *et al*, 2010).

2.5 Pengaruh Teh Hijau Terhadap Kesehatan

Penelitian di Jepang pada wanita usia 40 tahun dengan tromboli yang minum teh 3-5 gelas perhari menunjukkan insiden terjadinya stroke lebih rendah dari pada yang tidak minum teh. Polifenol dalam teh hijau dapat berperan sebagai antioksidan yang potensial. Pada penelitian tikus yang diinduksi dengan adjuvan arthritis, polifenol terbukti dapat mengeliminasi superoxid dan radikal bebas sehingga kerusakan jaringan sendi dapat ditekan (Chung, 2000).

Efek lain dari teh hijau ialah sebagai zat antioksidan, dengan meningkatkan enzim-enzim antioksidan, dalam studi pada tikus yang diberi teh hijau selama 30 hari ditemukan peningkatan aktivitas dari *glutathione peroxidase*, *glutathione reduktase*, *glutathione S-transferase*, *katalase*, dan *quinone reductase*

yang merupakan enzim antioksidan dan detoksifikan pada usus halus dan paru-paru. Teh hijau juga menahan formasi dari komponen yang menyebabkan kanker seperti nitrosamin, menekan aktivasi dari zat karsinogenik juga detoksifikasi, katekin pada teh hijau dapat juga sebagai anti aterosklerosis. Penelitian pada manusia, teh hijau dapat mencegah beberapa jenis kanker terutama kanker pada pencernaan, paru-paru, kanker yang berhubungan dengan estrogen seperti kanker payudara (Bradshaw, Nguyen, Surlles, 2000).

Komponen katekin teh hijau yang berupa *epigallocatechin gallate* (EGCG) mempunyai target spesifik dalam signal transduksi metabolisme sel. Oleh karena itu zat aktif ini efektif berfungsi sebagai antioksidan eksogen. Hal ini menguatkan pendapat yang menyatakan bahwa polifenol dapat secara langsung berfungsi sebagai *scavenger* radikal bebas dalam tubuh. Selanjutnya meneliti pengaruh polifenol teh hijau dalam pengaturan sekresi insulin pada sel beta pankreas secara *in vitro*. Hasilnya, disimpulkan bahwa polifenol teh hijau dapat membantu dalam pengaturan sekresi insulin (Changhong, 2006).

2.6 Pengaruh Teh Hijau Terhadap Berat Badan

Efek anti obesitas dari teh hijau diperantarai melalui penghambatan diferensiasi adiposit dan proliferasi adiposit. Selanjutnya, teh hijau berpotensi mengurangi serapan karbohidrat dan lemak dengan menghambat berbagai enzim pencernaan dengan senyawa aktifnya katekin dan EGCG. Efek EGCG pada diferensiasi adiposit, berhubungan dengan penurunan dari PPAR γ dan C/EBP α pada mRNA dan kadar protein serta aktivasi dari *AMP-activated*

protein kinase (AMPK) supresor dari ekspresi PPAR γ dan C/EBP α . EGCG ditemukan meningkatkan pelepasan gliserol dan ekspresi hormon sensitif lipase dan *carnitine palmitoltransferase-1* (CPT-1) yang terlibat dalam asam lemak β -oksidasi dalam sel 3T3-L1 (Wolfram, Wang, Thielecke, 2006).

Kadar mRNA Uncoupling Protein (UCP) yang merupakan protein kunci dalam termogenesis lemak meningkat bergantung dosis oleh EGCG (0-10 μ M). Selain itu EGCG, mengurangi ekspresi resistin, sebuah adipokin inflamasi adiposit yang diturunkan yang berhubungan dengan resistensi insulin. Oleh karena itu, menurunkan kadar stres oksidatif menjadi strategi penting untuk menghadapi perubahan terkait obesitas (Perry, Wang, 2012).

Pada tikus wistar yang meminum teh hijau selama 3 minggu, terjadi penurunan berat badan dan jaringan adiposa dibandingkan dengan kontrol air minum secara signifikan. Kadar plasma asam lemak bebas dan kolesterol total juga berkurang dan menurunkan LDL, sehingga memiliki efek yang menguntungkan bagi profil lipid. Teh hijau memiliki efek peningkatan translokasi GLUT4 di otot rangka dan penurunan GLUT4 di jaringan adiposa, sehingga glukosa lebih terpakai daripada disimpan. Ekspresi protein dari PPAR γ yang mengatur diferensiasi adiposit menurun pada jaringan adiposa, menampilkan aksi peningkatan beta-oksidasi dan penurunan penyerapan lipid. Sampai saat ini, enam studi telah meneliti efek anti obesitas dari teh hijau dan katekin pada manusia. Sebagian besar dari studi ini melaporkan mengalami penurunan berat badan dan massa lemak yang signifikan secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tiga studi pada manusia

menunjukkan peningkatan oksidasi lemak, yang dapat berkontribusi terhadap hilangnya lemak. Dengan demikian, efek anti obesitas dari teh hijau, katekin teh hijau, dan (EGCG) ditunjukkan di kedua model *in-vitro* dan *in-vivo*. Secara umum, tampak bahwa pengetahuan tradisional tentang efek anti obesitas dari teh hijau dapat dikonfirmasi dan divalidasi oleh bukti ilmiah (Wolfram, Wang, Thielecke, 2006).

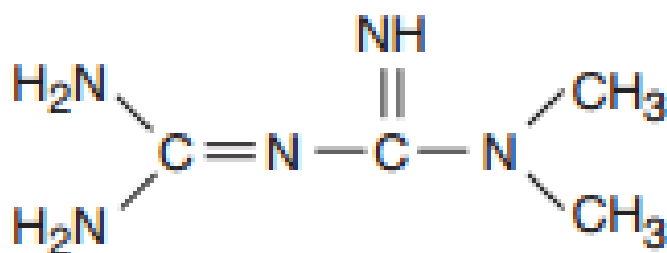
Peningkatan konsentrasi seluler cAMP yang merupakan mediator intraseluler penting untuk aksi katekolamin pada termogenesis. Katekolamin di otak mungkin memainkan peran utama dalam rasa kenyang. Kedua katekin, polifenol dan kafein mungkin merupakan promotor efektif termogenesis dan oksidasi lemak (Auvichayapat, Prapochanung, Tunkamnerdthai *et al*, 2008).

2.7 Metformin

Metformin berasal dari golongan biguanid dan bekerja dengan cara menurunkan produksi glukosa oleh hati, terutama saat pagi hari dimana saat itu produksi glukosa meningkat. Metformin juga membuat penggunaan glukosa darah lebih efektif dengan meningkatkan sensitifitas dari reseptor perifer sehingga tidak terjadi peningkatan produksi oleh sel beta pankreas yang dapat menyebabkan hipoglikemia (Mycek, Harvey, Champe, 2009).

Metformin memiliki cara kerja yang masih belum penuh dipahami. Namun telah diketahui bahwa efek primer dari metformin ialah mengaktifkan enzim *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) sehingga dapat mengurangi produksi glukosa hati (Katzung, Trevor, 2015). AMPK diaktivasi dengan fosforilasi ketika simpanan energi dalam sel berkurang. AMPK yang

telah aktif tersebut menstimulasi terjadinya oksidasi asam lemak, penyerapan glukosa, dan metabolisme non-oksidatif, serta mengurangi lipogenesis dan glukoneogenesis. Mengakibatkan peningkatan glikogen otot, peningkatan sensitivitas insulin, penurunan produksi glukosa hati, dan penurunan kadar glukosa darah (Randa, Laurence, 2015).



Gambar 4. Struktur Kimia Metformin (Katzung, Trevor, 2015).

Metformin memiliki efek samping yang paling sering terjadi pada saluran cerna. Asidosis laktat sangat jarang terjadi, dan pada penggunaan jangka panjang dapat mengganggu absorpsi vitamin B12. Kontraindikasi metformin adalah terhadap pasien dengan penyakit ginjal dan/atau hepar, infark miokardium akut, infeksi berat, ketoasidosis diabetikum, dan pada gagal jantung dapat meningkatkan resiko ketoasidosis laktat. Metformin digunakan pada dosis awal 500mg lalu ditingkatkan menjadi 1000mg dengan pemberian 2 kali sehari, dosis maksimal yaitu 2550mg (Mycek, Harvey, Champe, 2009; Katzung, Trevor, 2015).

2.8 Penggunaan Metformin pada Obesitas

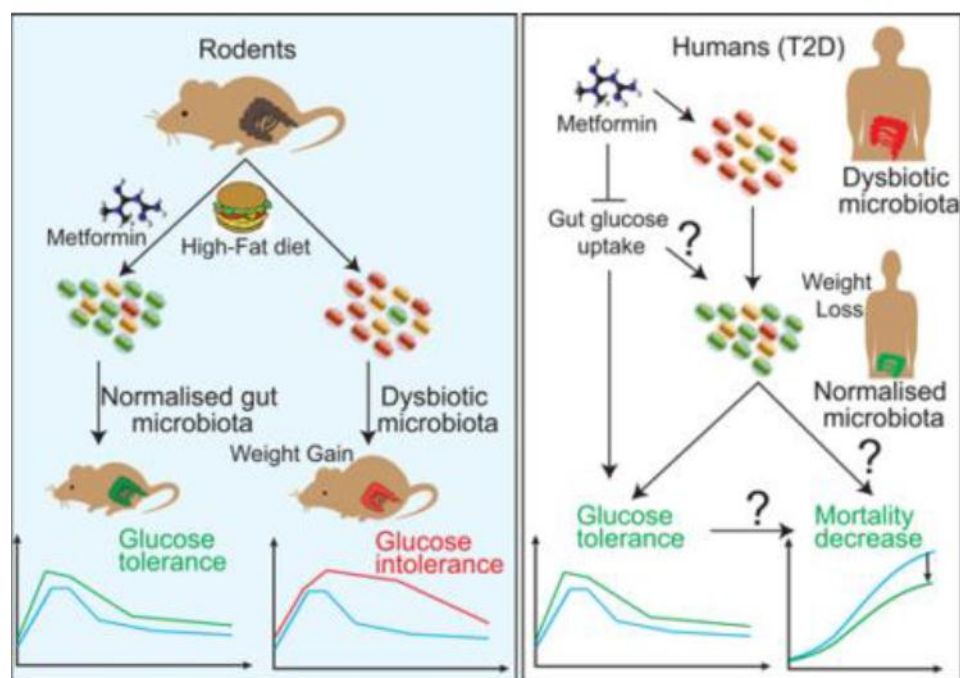
Metformin dilaporkan dapat menurunkan berat badan secara signifikan pada pasien dengan obesitas (Mycek, Harvey, Champe, 2009; Katzung, Trevor,

2015). Pada konsentrasi tinggi, metformin diketahui mampu meningkatkan sensitifitas insulin perifer, yang menghasilkan stabilitas berat badan atau penurunan berat badan pada pasien obesitas. Dalam percobaan 6 bulan, rata-rata BMI berkurang $1,4\text{kg/m}^2$ atau sebesar 3kg (Yanovski, Krakoff, Salaita *et al*, 2011).

Pada penelitian 16 minggu, metformin juga menurunkan berat badan rerata 3kg, dengan dosis 1.000mg dua kali sehari (Jarskog, Hamer, Catellier *et al*, 2013). Penelitian 48 minggu, menunjukkan bahwa penurunan signifikan terjadi pada minggu 12 dan 24, penelitian ini menggunakan Metformin 500mg, 2 kali sehari menunjukkan penurunan BMI sekitar 0,9 (Wilson, Abrams, Aye *et al*, 2010). Penurunan signifikan terjadi pada hari ke 7 yaitu 0,47kg tapi tidak pada hari ke 14, hasil yang maksimal diperoleh jika dikombinasi dengan diet rendah kalori (Suwandani, 2010).

Pada penelitian dengan tikus yang diinduksi diet tinggi lemak (60%) dengan atau tanpa metformin 300mg/kgBB setiap hari, selama 28 minggu, mikrobiota usus yaitu bakteroides, diketahui meningkat $77.45\% \pm 8.73\%$, padahal seharusnya menurun. Diketahui biosintesis lipopolisakarida, metabolisme *sphingolipid*, fruktosa dan metabolisme mannose, pentosa dan glukuronat interkonversi, dan metabolisme propanoat, yang diperkaya cukup signifikan. Pada metabolisme mikrobiota usus, terjadi perubahan metabolisme yaitu peningkatan pada jalur KEGG. Penanda korelasinya dengan mikrobiota adalah berkorelasi negatif dengan kadar glukosa serum, dengan berat badan, dengan PPAR α (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α*) dan GLUT2,

namun berkorelasi positif dengan $\text{TNF-}\alpha$, MUC2, dan MUC5 (Lee, 2014). Pada gambar 5, efek metformin pada usus pasien, metformin memicu penurunan berat badan dan toleransi glukosa membaik, baik dengan mengurangi penyerapan glukosa usus atau dengan perubahan langsung dari mikrobiota usus yang akhirnya dapat menyebabkan peningkatan kelangsungan hidup (Pryor, Cabreiro, 2015).



Gambar 5. Efek Metformin Pada Usus (Pryor, Cabreiro, 2015).

Metformin mengurangi berat badan juga dengan mempengaruhi regulasi sistem saraf pusat. Di hipotalamus, metformin mengurangi konsumsi jumlah makanan melalui pengurangan peptida orexigenik (contohnya ghrelin), neuropeptide-Y (NPY), dan agouti-related protein (AgRP) (Malin, Kashyap, 2014). Metformin mengatur regulasi interaksi resistensi insulin dan AMPK di hati, otot, jaringan lemak dan hipotalamus. Saat gula darah rendah atau terjadi defisit kalori, tubuh akan mengeluarkan ghrelin dari lambung yang

menstimulasi nafsu makan melalui AMPK. Namun metformin dapat menghambat aktivasi AMPK yang disebabkan oleh hipoglikemia. Selain dari jalur AMPK, metformin juga mengatur regulasi nafsu makan melalui meningkatkan *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3) yang mempengaruhi reseptor leptin (Scott, 2014; Malin, Kashyap, 2014).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi konsumsi makanan pasien adalah melalui efek samping gastrointestinal yang disebabkan oleh metformin seperti mual, diare, dan perubahan indera mengecap. Namun faktor ini tidak mempengaruhi penurunan berat badan jangka panjang karena efek samping gastrointestinal metformin berkurang seiring berjalannya waktu dan dapat dikurangi dengan memperlambat peningkatan dosis (Malin, Kashyap, 2014).

Metformin mengurangi massa lemak dan juga mempengaruhi mekanisme modulasi sinyal dari sel adiposa ke otak. Leptin sebuah hormon dari sel adiposa yang mengatur keseimbangan energi dan melawan kerja dari ghrelin (Malin, Kashyap, 2014). Leptin juga mengikat ke reseptor obesitas B di hipotalamus untuk meningkatkan pengeluaran energi, menghambat aktivitas AMPK di hipotalamus untuk mengurangi AgRP dan NPY, juga mengaktivasi STAT3 yang meningkatkan pengaruh anoreksia di hipotalamus. Jumlah leptin yang ada di darah proporsional dengan jumlah sel adiposa; di pasien obesitas seringkali ditemukan jumlah leptin yang banyak, sehingga diduga terjadi resistensi leptin pada pasien obesitas (Malin, Kashyap, 2014; Perry, Wang, 2012). Metformin mengurangi sekresi leptin sebelum penurunan berat badan, tetapi meningkatkan sensitivitas. Insulin juga memiliki efek serupa dengan

leptin. Terlebih lagi, obesitas berkaitan kuat dengan resistensi insulin yang meningkatkan aktivitas AMPK di hipotalamus dan mengurangi pro-opiomelanocortin (POMC) (Malin, Kashyap, 2014). Dengan demikian, meningkatkan sensitivitas insulin menggunakan metformin dapat memperbaiki regulasi nafsu makan (Malin, Kashyap, 2014; Perry, Wang, 2012).

Metformin meningkatkan penurunan berat badan melalui peningkatan hormon *satiety* atau kenyang yang disekresikan oleh *L-cell* di traktus gastrointestinal yaitu GLP-1. Hormon ini juga memiliki produksi sekunder di sistem saraf pusat, di nukleus traktus solitarius. GLP-1 berfungsi untuk mengurangi nafsu makan melalui mempengaruhi nervus vagus afferen yang mencapai NTS dan mengurangi aktivitas AMPK di hipotalamus. Di sistem gastrointestinal, GLP-1 melambatkan motilitas usus sehingga mengurangi penyerapan karbohidrat dan glukosa. Metformin meningkatkan jumlah GLP-1 di tubuh dengan cara menghambat dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) yaitu sebuah enzim yang mendegradasi GLP-1 (Malin, Kashyap, 2014).

Metformin mempengaruhi metabolisme lemak, tidak hanya lemak perifer namun juga lemak pada hepar, miokardium, dan beberapa jaringan lainnya. AMPK selain di hipotalamus, dapat ditemukan di bagian tubuh perifer (Malin, Kashyap, 2014; Nakano, Inui, 2012). AMPK memiliki peran penting dalam regulasi metabolisme lemak di perifer dengan cara; fosforilasi dan menghambat *acetyl-coenzyme A carboxylase 1* (ACC1) dan *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A* (HMG-CoA), mengurangi *fatty acid synthase*

(FAS) dan mengaktivasi *malonyl-CoA carboxylase* yang pada akhirnya mengurangi asam lemak dan sintesa kolesterol (Nakano, Inui, 2012).

Regulasi AMPK pada hipotalamus memiliki hubungan langsung dengan AMPK pada perifer. Dapat dilihat dari peptida leptin yang sejak awal dijelaskan menghambat fungsi AMPK pada otak, ternyata secara langsung meningkatkan aktivitas AMPK pada perifer. Leptin secara langsung meningkatkan pemecahan *fatty acid* perifer, dan mengurangi nafsu makan sehingga secara keseluruhan membantu penurunan berat badan (Malin, Kashyap, 2014; Perry, Wang, 2012; Nakano, Inui, 2012).

2.9 Tikus Putih Galur Sprague Dawley

Klasifikasi tikus putih menurut taksonomi saat ini adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Class : Mammalia
Order : Rodentia
Suborder : Odontoceti
Family : Muridae
Genus : Rattus
Species : *Rattus norvegicus*

(Krinke, 2000).

Tikus putih merupakan keturunan dari tikus coklat, yang dikembangbiakan di dalam laboratorium untuk kepentingan percobaan ilmiah. Tikus putih saat ini memiliki banyak galur, tiga macam galur diantaranya yaitu Sprague Dawley,

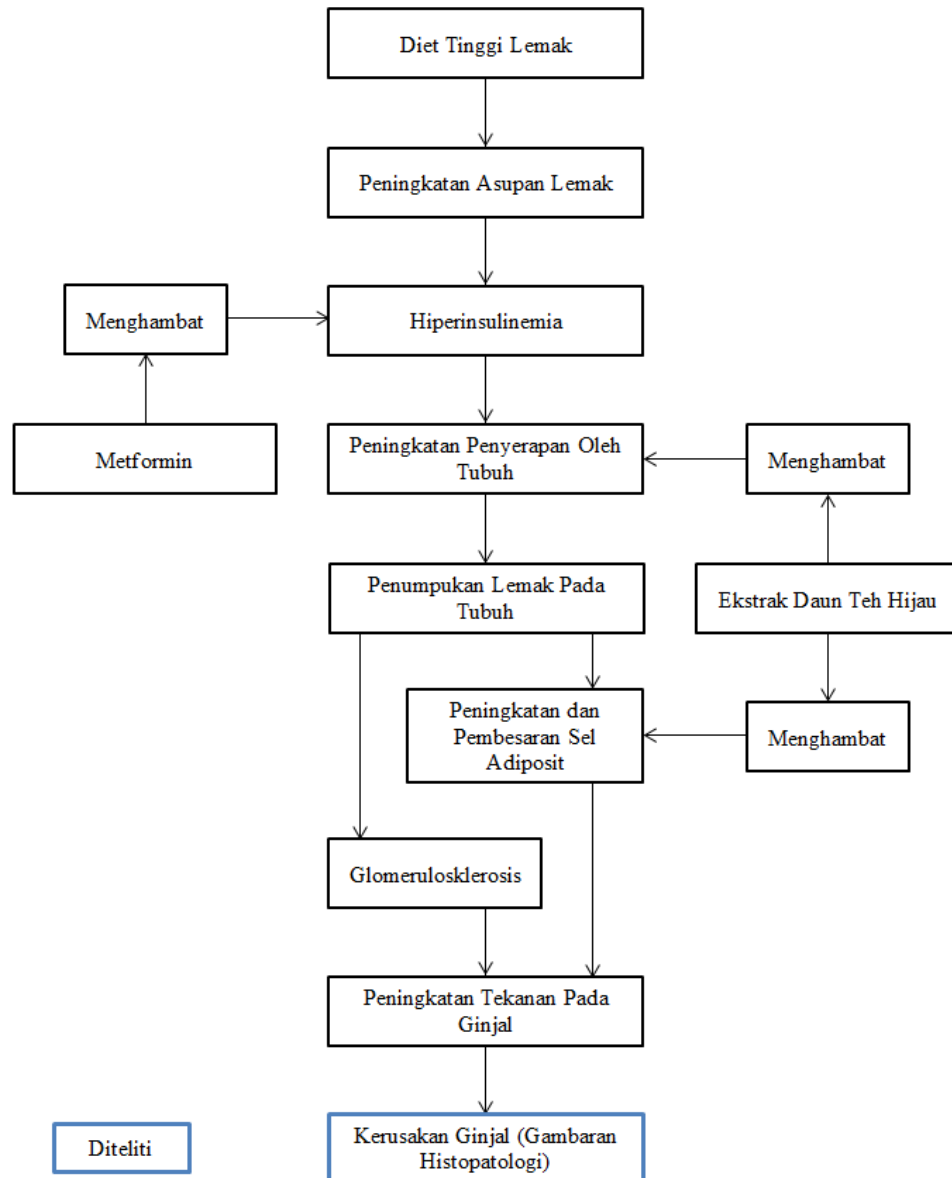
Long Evans dan Wistar. Tikus galur Sprague Dawley merupakan penemuan dari seorang ahli kimia dari Universitas Wisconsin yaitu Dawley. Dawley mengkombinasikan nama dirinya sendiri dengan nama pertama dari istri pertamanya yaitu Sprague sehingga menjadi Sprague Dawley. Tikus putih memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, kemampuan laktasi tinggi, pertumbuhannya cepat, dan temperamennya baik. Tikus putih galur Sprague Dawley memiliki beberapa sifat yang berbeda serta menguntungkan sebagai hewan uji penelitian dibandingkan tikus putih galur lainnya yaitu lebih mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak, tidak agresif, lebih tenang, dan lebih mudah diberi penanganan/perlakuan (Krinke, 2000).



Gambar 6. Tikus Putih Galur Sprague Dawley (Krinke, 2000).

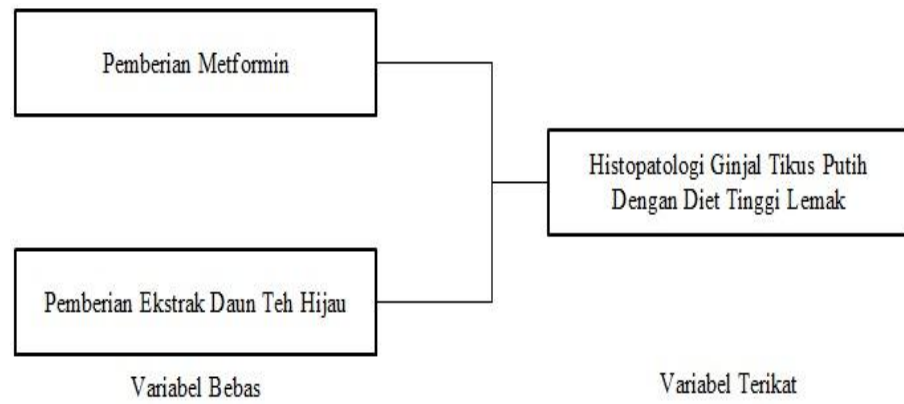
2.10 Kerangka Penelitian

2.10.1 Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka Teori (Askandar, Setiawan, Santoso *et al*, 2007; He, Tu, Lee *et al*, 2011; Marks, 2010; Wolfram, Wang, Thielecke, 2006; Yogiantoro, 2012).

2.10.2 Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep.

2.10.3 Hipotesis

Terdapat perbandingan pengaruh ekstrak daun teh hijau dengan metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian analitik eksperimental menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pendekatan *post test only control group design*. Penelitian akan dilakukan dengan membandingkan hasil antara kelompok eksperimental dan kontrol, dimana kelompok-kelompok tersebut akan dianggap sama sebelum dilakukannya perlakuan. Subjek penelitian yang akan digunakan adalah 25 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dewasa galur Sprague Dawley, sehat, umur lebih dari 7 minggu dengan dipilih secara *random* dan dibagi ke dalam 5 kelompok.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Hewan dipelihara di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pengambilan spesimen dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Pembuatan dan pembacaan preparat di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Periode penelitian ini dilakukan selama kurang lebih 2 bulan.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley berumur 8 sampai 10 minggu yang diperoleh dari Balai Penelitian Veteriner Bogor. Penentuan jumlah adalah minimal 5 tikus untuk setiap kelompoknya. Menurut Federer (1995), rumus penentuan sampel untuk uji eksperimental adalah:

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

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah sampel pada setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga penghitungan sampel menjadi:

$$(5)(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Dari perhitungan diatas, jumlah sampel yang didapat untuk setiap kelompok percobaan sebanyak 4 ekor dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 5 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus putih. Untuk mengantisipasi hilangnya eksperimen (Notoatmodjo, 2012), maka dilakukan koreksi dengan rumus:

$$N = n / (1-f)$$

Dimana N adalah besar sampel koreksi, n adalah besar sampel awal, dan f adalah perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10% sehingga:

$$N = n / (1-f)$$

$$N = 4 / (1-10\%)$$

$$N = 4 / 0,9$$

$$N = 4,44$$

Jadi total sampel yang digunakan tiap kelompok percobaan adalah sebanyak 5 ekor ($N = 4,44$; dibulatkan) dan keseluruhan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 25 ekor tikus yang dibagi ke dalam 5 kelompok. Adapun ke lima kelompok tikus ini terdiri dari:

1. Kelompok Kontrol (K) merupakan kelompok tikus yang diberi Aquades. Kelompok ini digunakan sebagai kelompok kontrol.
2. Kelompok Perlakuan 1 (P1) merupakan kelompok tikus yang diberi Metformin dengan dosis 100mg/kgBB/hr selama 28 hari berturut-turut.
3. Kelompok Perlakuan 2 (P2) merupakan kelompok tikus yang diberi Metformin dengan dosis 300mg/kgBB/hr selama 28 hari berturut-turut.
4. Kelompok Perlakuan 3 (P3) merupakan kelompok tikus yang diberi Ekstrak daun teh hijau dengan dosis 81mg/kgBB/hr selama 28 hari berturut-turut.
5. Kelompok Perlakuan 4 (P4) merupakan kelompok tikus yang diberi Ekstrak daun teh hijau dengan dosis 270mg/kgBB/hr selama 28 hari berturut-turut.

3.3.2 Kriteria Inklusi

Adapun tikus yang digunakan pada penelitian ini memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut:

1. Sehat (tidak tampak sakit, rambut tidak rontok dan tidak tampak kusam, aktivitas aktif).
2. Spesies *Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley.
3. Jenis kelamin jantan.
4. Berusia diatas 7 minggu.
5. Tidak ada kelainan anatomi.

3.3.3 Kriteria Eksklusi

Adapun kriteria eksklusi pada penelitian ini, ialah sebagai berikut:

1. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus serta genital).
2. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi.
3. Mati selama masa pemberian perlakuan.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

1. Alat Penelitian.

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

- a. Kandang tikus terbuat dari bahan plastik berukuran 40x20x20cm dengan tutup kawat.

- b. Neraca analitik dengan tingkat ketelitian 0,01g.
 - c. Gelas ukur.
 - d. Sonde lambung.
 - e. Spuit 1cc dan 3cc.
 - f. Spuit oral.
 - g. Alat bedah minor set.
 - h. Tabung untuk meletakkan organ ginjal.
 - i. *Handschoen*, kapas, dan alkohol.
 - j. Blender.
2. Alat Pembuatan Preparat Histopatologi
- Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi dan interpretasi hasil, yaitu *object glass*, *deck glass*, *tissue cassette*, *rotary microtome*, *oven*, *waterbath*, *platening table*, *autotechnicome processor*, *staining jar*, *staining rack*, kertas saring, *histoplast*, *paraffin dispenser* dan mikroskop.

3.4.2. Bahan Penelitian

1. Bahan Penelitian.
Bahan penelitian yang digunakan yaitu:
 - a. Makanan hewan.
 - b. Air bersih.
 - c. Metformin.
 - d. Daun Teh Hijau.
 - e. Margarin.
 - f. Alkohol.

g. Kloroform.

h. Aquades.

2. Bahan Pembuatan Preparat Histopatologi.

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi dengan metode parafin, yaitu larutan formalin 10%, alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, xylol, pewarna *Hematoxylin Eosin* (HE), dan entelan.

3.5 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.5.1. Identifikasi Variabel

Pada penelitian ini terdapat 2 variabel yakni variabel *dependen* (variabel terikat) dan variabel *independen* (variabel bebas). Adapun variabel penelitian pada penelitian ini diuraikan sebagai berikut:

1. Variabel *independen* pada penelitian ini adalah pemberian metformin dan ekstrak daun teh hijau.
2. Variabel *dependen* pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi ginjal dengan diet tinggi lemak.

3.5.2. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Metformin	Obat golongan biguanid lepas lambat yang dapat digunakan pada pasien dengan berat badan berlebih	Neraca analitik	Kelompok penelitian: P1 dan P2	Numerik
Ekstrak Daun Teh Hijau	Herbal konsumsi sehari-hari masyarakat yang diekstrak etanol dipercaya punya dampak terhadap penurunan berat badan	Neraca analitik	Kelompok penelitian: P3 dan P4	Numerik
Diet Tinggi Lemak	Asupan tinggi lemak membuat lebih banyak sel-sel lemak tertimbun di dalam organ dan memperberat kerja organ sehingga kerusakan organ dapat terjadi	Timbangan	Seluruh Kelompok Penelitian	Numerik
Histopatologi Ginjal	<p>Gambaran histopatologi ginjal tikus putih dilihat dengan melakukan pengamatan preparat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 5 (lima) lapang pandang berdasarkan kriteria ada tidaknya kerusakan jaringan ginjal (Oktaria, 2017):</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kerusakan glomerulus: <ul style="list-style-type: none"> 0 = Gambaran normal 1 = Infiltrasi sel radang 2 = Edema spatium Bowman 3 = Nekrosis 2. Kerusakan tubulus: <ul style="list-style-type: none"> 0 = Gambaran normal 1 = Infiltrasi sel radang 2 = Pembengkakan sel epitel tubulus 3 = Nekrosis <p>Skor kerusakan glomerulus dan tubulus kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan sebagai nilai derajat kerusakan</p>	Mikroskop cahaya	Total skor sesuai kriteria	Numerik

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1. Prosedur Perlakuan

1. Adaptasi Tikus.

Tikus sebanyak 25 ekor pertama kali dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan sebelum perlakuan, tikus diadaptasi selama 7 hari. Setelah masa adaptasi, tikus diberi makan tinggi lemak serta minuman air *ad libitum*.

2. Prosedur Pemberian Pakan Tinggi Lemak.

Pemberian pakan *ad libitum* dengan menggunakan sumber pakan lengkap 511 ditambahkan sumber lemak dari margarin, masing-masing 60% dan 40% selama 28 hari (Mehran, Templeman, Brigidi *et al*, 2012).

3. Prosedur Pemberian Metformin.

Metformin dengan dosis 100mg/kgBB/hr untuk tikus kelompok P1, 300mg/kgBB/hr untuk tikus kelompok P2, diberikan selama 28 hari berturut-turut secara peroral dengan menggunakan sonde lambung. Selama perlakuan, tikus tetap diberikan makan tinggi lemak dan minum air *ad libitum*.

Dosis metformin dihitung berdasarkan *Human Equivalent Dose* (HED) yaitu:

$$\text{HED} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times \left(\frac{\text{BBhewan}[\text{kg}]}{\text{BBmanusia}[\text{kg}]} \right)^{1-0,67}$$

HED = *Human Equivalent Dose*

NOAEL = *Non Observed Adversed Effect Level*

BSA = *Body Surface Area*

0,67 = eksponen BSA yang diaplikasikan untuk tikus

Dikatakan bahwa 70kg pada manusia setara dengan 200g tikus (Cendhikalistya, Nabawiyati, Makiyah, 2009).

Pada kelompok P1 diberikan dosis sesuai dengan dosis yang secara luas biasa dikonsumsi oleh pasien yaitu 1000mg/hr, dimana juga merupakan dosis awal (Randa, Laurence, 2015).

Dosis tersebut kemudian dikonversikan menggunakan HED menjadi:

$$\text{HED} \left(\frac{1000}{70} \right) = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times \left(\frac{0,2}{70} \right)^{1-0,67}$$

$$14,29 = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times 0,145$$

$$\frac{14,29}{0,145} = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right)$$

$$\text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = 98,5$$

Jumlah 98,5mg/kgBB dibulatkan menjadi 100mg/kgBB.

Pada kelompok P2 diberikan dosis tinggi yang diperbolehkan kepada pasien yaitu 3000mg/hr (Katzung, Trevor, 2015).

Dosis tersebut kemudian dikonversikan menggunakan HED menjadi:

$$\text{HED} \left(\frac{3000}{70} \right) = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times \left(\frac{0,2}{70} \right)^{1-0,67}$$

$$42,86 = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times 0,145$$

$$\frac{42,86}{0,145} = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right)$$

$$\text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = 295,59$$

Jumlah 295,59mg/kgBB dibulatkan menjadi 300mg/kgBB.

4. Prosedur Pemberian Ekstrak Daun Teh Hijau.

Pembuatan ekstrak daun teh hijau menggunakan $\pm 200\text{g}$ daun teh hijau kering lalu diseduh sebanyak dua kali dengan air mendidih sebanyak 6000ml, kemudian dipekatkan dengan *magnetic stirrer* dan dianginkan dengan kipas angin pada suhu 80°C sampai hampir kering. Larutan pekat tersebut kemudian di oven dengan suhu 80°C sampai kering, dan didapatlah hasil 150g (sekitar 20%). Hasil tersebut kemudian diblender selama 10 menit dalam etanol 90%, lalu disaring dengan corong Büchner dan ampasnya dibuang. Filtrat kemudian ditambahkan kloroform dan dimasukkan dalam corong pisah lalu lapisan kloroform dibuang. Sedangkan setelah lapisan air ditambahkan etil asetat dan dimasukkan ke dalam corong pisah, lapisan air tersebut dibuang, namun lapisan etil asetat dipekatkan dengan *magnetic stirrer* pada suhu 40°C sampai pekat. Kemudian tambahkan sedikit air, lalu dikeringkan dengan *freeze dried*, dan hasil yang didapat adalah sekitar 13.2% atau sekitar 99g (Gunawijaya, Gandasentana, Wahyudi, 2000).

Ekstrak daun teh hijau 81mg/kgBB/hr untuk tikus kelompok P3, 270mg/kgBB/hr untuk tikus kelompok P4, diberikan selama 28

hari berturut-turut secara peroral dengan menggunakan sonde lambung. Selama perlakuan, tikus tetap diberikan makan tinggi lemak dan minum air *ad libitum*.

Dosis ekstrak daun teh hijau juga dihitung berdasarkan *Human Equivalent Dose* (HED) yaitu:

$$\text{HED} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times \left(\frac{\text{BBhewan}[\text{kg}]}{\text{BBmanusia}[\text{kg}]} \right)^{1-0,67}$$

HED = *Human Equivalent Dose*

NOAEL = *Non Observed Adversed Effect Level*

BSA = *Body Surface Area*

0,67 = eksponen BSA yang diaplikasikan untuk tikus

Dikatakan bahwa 70kg pada manusia setara dengan 200g tikus (Cendhikalistya, Nabawiyati, Makiyah, 2009).

Pada kelompok P3 diberikan dosis harian yang biasa dikonsumsi manusia yaitu sebanyak segelas teh atau sekitar 5g daun teh kering, dimana jika diekstraksikan didapatkan hasil 823mg (Thielecke, Boschmann, 2009).

Dosis tersebut kemudian dikonversikan menggunakan HED menjadi:

$$\text{HED} \left(\frac{823}{70} \right) = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times \left(\frac{0,2}{70} \right)^{1-0,67}$$

$$11,76 = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times 0,145$$

$$\frac{11,76}{0,145} = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right)$$

$$\text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = 81,10$$

Jumlah 81,10mg/kgBB dibulatkan menjadi 81mg/kgBB.

Pada kelompok P4 diberikan dosis tinggi yang dipakai untuk penurunan berat badan pada manusia yaitu 3 gelas teh per hari atau sekitar 15g daun teh kering yang diekstrak hasilnya sebanyak 2741mg (Wolfram, Wang, Thielecke, 2006).

Dosis tersebut kemudian dikonversikan menggunakan HED menjadi:

$$\text{HED} \left(\frac{2741}{70} \right) = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times \left(\frac{0,2}{70} \right)^{1-0,67}$$

$$39,15 = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) \times 0,145$$

$$\frac{39,15}{0,145} = \text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right)$$

$$\text{NOAEL hewan} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = 270,05$$

Jumlah 270,05mg/kgBB dibulatkan menjadi 270mg/kgBB.

5. Prosedur Perlakuan.
 - a. Tikus sebanyak 25 ekor pertama kali dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Seluruh kelompok diberikan pakan tinggi lemak. Kelompok K adalah kelompok kontrol positif yang hanya diberikan aquades melalui sonde tanpa adanya perlakuan lain. Kelompok P1 dan P2 adalah kelompok perlakuan yang diberikan metformin dengan dosis berturut-turut 100mg/kgBB/hr, dan 300mg/kgBB/hr. Kelompok P3

dan P4 adalah kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun teh hijau berturut-turut 81mg/kgBB/hr, dan 270mg/kgBB/hr. Semua kelompok diberikan selama 28 hari berturut-turut.

- b. Setelah itu, dengan selang waktu 18 jam paska perlakuan terakhir, dilakukan proses terminasi (Almajwal, Elsadek, 2015). Terminasi dilakukan dengan menggunakan uap kloroform.
- c. Setelah tikus dipastikan mati, dilakukan laparotomi dan ginjal tikus diambil untuk dijadikan sediaan mikroskopis. Pembuatan sediaan mikroskopis dengan metode parafin dan pewarnaan HE.

3.6.2. Prosedur Pembuatan Slide

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan menggunakan metode sebagai berikut (Mahesya, 2013):

1. *Fixation.*
 - a. Spesimen berupa potongan organ ginjal yang telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam.
 - b. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.
2. *Trimming.*
 - a. Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm.
 - b. Potongan organ ginjal tersebut lalu dimasukkan ke dalam *tissue cassette*.

3. Dehidrasi.

a. Mengeringkan air dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu.

b. Dehidrasi dengan:

- Alkohol 70% selama 0,5 jam.
- Alkohol 96% selama 0,5 jam.
- Alkohol 96% selama 0,5 jam.
- Alkohol 96% selama 0,5 jam.
- Alkohol absolut selama 1 jam.
- Alkohol absolut selama 1 jam.
- Alkohol absolut selama 1 jam.
- Alkohol xylol 1:1 selama 0,5 jam.

4. *Clearing*.

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan xylol I dan II, masing-masing selama 1 jam.

5. Impregnasi.

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C.

6. *Embedding*.

a. Sisa parafin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.

- b. Parafin cair disiapkan dengan memasukkan parafin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58°C.
- c. Parafin cair dituangkan ke dalam pan.
- d. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
- e. Pan dimasukkan ke dalam air.
- f. Parafin yang berisi potongan ginjal dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4-6°C beberapa saat.
- g. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
- h. Lalu diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya dan dibuat ujungnya sedikit meruncing.
- i. Memblok parafin, siap dipotong dengan mikrotom.

7. *Cutting.*

- a. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
- b. Sebelum dipotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
- c. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
- d. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya dengan cara menekan

salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.

- e. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* suhu 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
 - f. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan slide bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
 - g. Slide yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.
8. *Staining* (Pewarnaan) dengan Prosedur Pulasan *Hematoksilin-Eosin*.

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik. Selanjutnya secara berurutan dimasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu tertentu sebagai berikut:

- a. Dilakukan deparafinisasi dalam:
 - Larutan xylol I selama 5 menit.
 - Larutan xylol II selama 5 menit.
 - Ethanol absolut selama 1 jam.
- b. Hidrasi dalam:
 - Alkohol 96% selama 2 menit.
 - Alkohol 70% selama 2 menit.
 - Air selama 10 menit.
- c. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - Haris hematoksilin selama 15 menit.

- Air mengalir.
- Eosin selama maksimal 1 menit.

d. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:

- Alkohol 70% selama 2 menit.
- Alkohol 96% selama 2 menit.
- Alkohol absolut 2 menit.

e. Penjernihan:

- Xylol I selama 2 menit.
- Xylol II selama 2 menit.

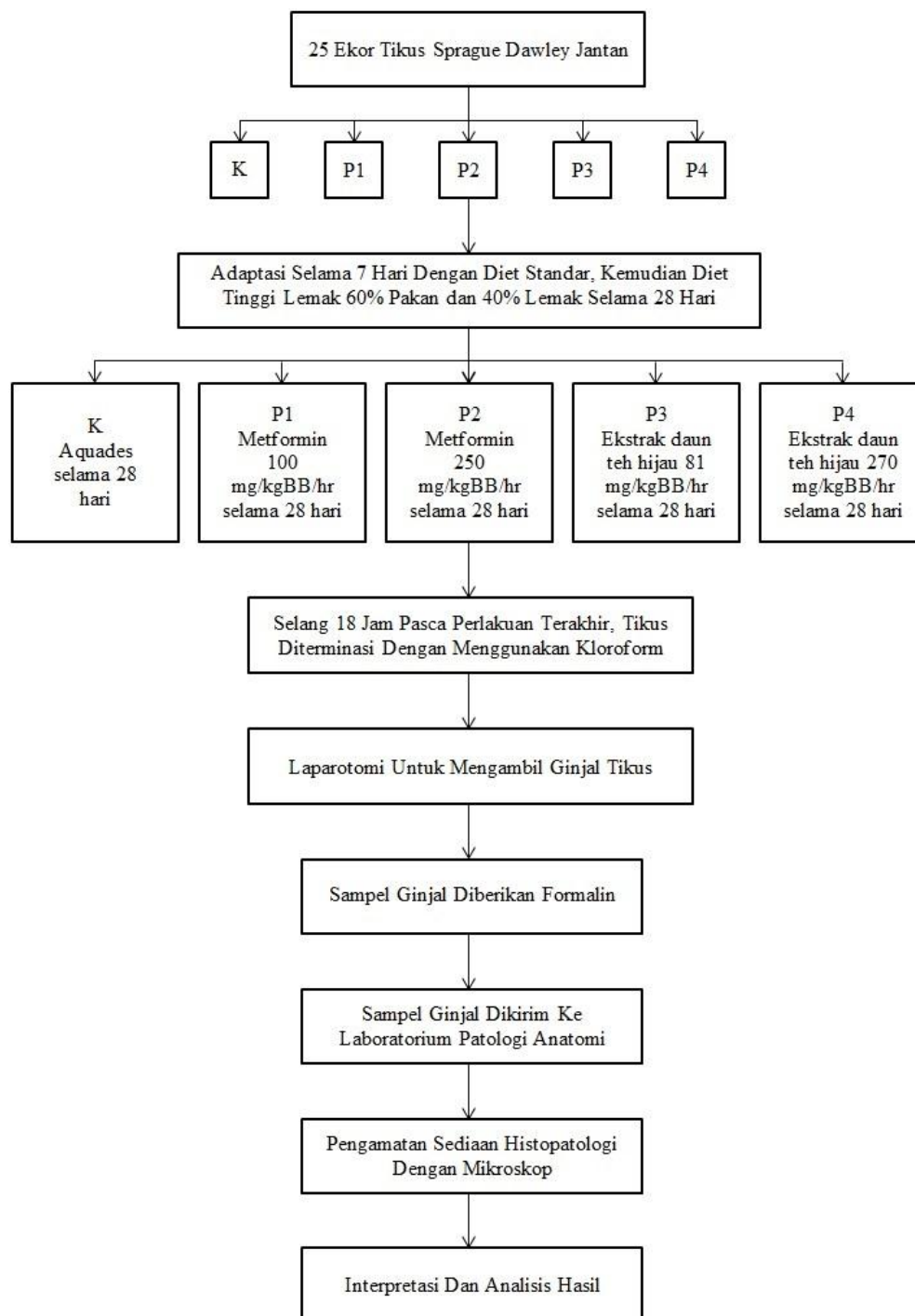
9. *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*.

Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan *mounting* yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

10. *Slide* dibaca dengan mikroskop.

Slide diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x dan 40x dan dilihat dari seluruh lapang pandang. Adapun gambaran kerusakan ginjal yang dilihat adalah kerusakan pada bagian glomerulus dan tubulus ginjal.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian.

3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dideskripsikan terlebih dahulu secara univariat. Kemudian data yang telah diperoleh dianalisis menggunakan aplikasi pengolahan data dengan tingkat signifikansi $p=0,05$. Hasil penelitian dianalisa dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui distribusi normal atau tidak dengan jumlah sampel ≤ 50 . Jika terdistribusi normal maka berikutnya digunakan uji parametrik *One-Way ANOVA*. Jika tidak terdistribusi normal maka digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Hipotesis dianggap bermakna bila $p < 0,05$. Jika pada uji *One-Way ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* menghasilkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post-Hoc* untuk melihat perbedaan antara dua kelompok perlakuan.

3.9 Etika Penelitian

Peneliti telah mengajukan *ethical clearance* kepada tim Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan menerapkan prinsip 3R dan 5F dalam prosedur penelitian menggunakan hewan coba dan telah mendapatkan persetujuan etik dengan nomor 5294/UN26.18/PP.05.02.00/2019.

3.9.1 Prinsip 3R

1. *Replacement* (menggantikan), penggunaan hewan coba untuk keperluan dalam membuktikan suatu hipotesis. Menggunakan hewan dengan tingkatan paling rendah dan tidak dapat

digantikan dengan makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.

2. *Reduction* (pengurangan), penggunaan hewan dalam jumlah sangat sedikit namun menghasilkan data yang optimal sesuai harapan penelitian. Jadi, informasi yang dihasilkan dari penelitian tetap maksimal walaupun jumlah hewan atau jumlah perlakuan (rasa kesakitan yang timbul oleh tindakan penelitian) tidak bertambah. Sampel ini berdasarkan rumus Federer (1995), yaitu $(t)(n-1) \geq 15$, dengan t adalah banyak kelompok perlakuan dan n adalah jumlah hewan yang diperlukan.
3. *Refinement* (penghalusan), upaya modifikasi manajemen pemeliharaan atau prosedur tindakan penelitian sehingga meningkatkan kesejahteraan hewan atau mengurangi atau menghilangkan rasa sakit dan stres pada hewan coba (Sajuthi, 2012).

3.9.2 Prinsip 5F

1. *Freedom from hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus); pemberian pakan dan minum yang *ad libitum* dan kemudahan akses pakan dan minum.
2. *Freedom from discomfort* (bebas dari rasa tidak nyaman); menjaga kebersihan kandang, pemberian sarang yang sesuai, penjagaan temperatur, kelembaban, ventilasi, dan pencahayaan yang sesuai kondisi alamiah hewan.

3. *Freedom from pain, injury, and disease* (bebas dari rasa sakit, luka, dan penyakit); penggunaan obat pengurang rasa sakit, mengikuti program kesehatan yang telah ditetapkan, sebisa mungkin menggunakan teknik non-invasif, menggunakan metode eutanasia yang dianjurkan oleh komisi etik.
4. *Freedom from fear and distress* (bebas dari rasa takut dan stres); diadaptasi sebelum penelitian, menghindari prosedur atau teknik yang sebabkan rasa takut atau stres pada hewan, kandang tidak ditempat yang berisik.
5. *Freedom to express natural behavior* (bebas untuk mengekspresikan tingkah laku alamiah); kandang yang cukup luas, kualitas kandang baik, teman dari hewan sejenis dengan memperhatikan sosialisasi dan tingkah laku spesifik (Sajuthi, 2012).

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

- a. Tidak terdapat perbandingan pengaruh ekstrak daun teh hijau dengan metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.
- b. Terdapat pengaruh ekstrak daun teh hijau terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.
- c. Terdapat pengaruh metformin terhadap histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan diet tinggi lemak.

5.2 Saran

Peneliti menyarankan untuk penelitian lebih lanjut dengan pemberian ekstrak spesifik suatu zat seperti *catechin*, *quercetin*, *myricetin*, *kaempferol* maupun zat lainnya yang terkandung dalam daun teh hijau.

DAFTAR PUSTAKA

- Almajwal AM, Elsadek MF. 2015. Lipid-lowering and hepatoprotective effects of *Vitis vinifera* dried seeds on Paracetamol-Induced hepatotoxicity in rats. *Nutr Res Pract.* 9(1):37-42.
- Askandar T, Setiawan PB, Santoso D, Soegiharto G. 2007. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Surabaya:Airlangga University Press.
- Auvichayapat P, PrapoChanung M, Tunkamnerdthai O, Sripanidkulchai B, Auvichayapat N, Thinkhamrop B *et al.* 2008. Effectiveness of green tea on weight reduction in obese Thais: A randomized, controlled trial. *Physiology and Behavior.* 93(3):486-491.
- Bahri A. 2004. Dislipidemia sebagai faktor resiko penyakit jantung koroner. [diunduh 12 Januari 2018]. Tersedia dari e-USU Repositor.
- Barclay JL, Shostak A, Leliavski A, Tsang AH, Johren O, Muller-Fielitz H *et al.* 2013. High-fat diet-induced hyperinsulinemia and tissue-specific insulin resistance in *Cry*-deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 304(10):E1053-E1063.
- Berry R, Jeffery E, Rodeheffer MS. 2014. Weighing in on Adipocyte Precursors. *Cell Metabolism.* 19(1):8-20.
- Bradshaw C, Nguyen A, Surlles J. 2000. Green Tea *Camelia sinensis*. [diakses 16 Maret 2018]. Tersedia dari <http://www.geocities.com>.
- Cabrera C, Artacho R, Gimenez R. 2006. Beneficial Effects of Green Tea: A Review. *J Am Coll Nutr.* 25(2):79-99.
- Cendhikalistya GO, Nabawiyati S, Makiyah N. 2009. Pengaruh pemberian VCO (Virgin Coconut Oil) terhadap berat badan. 9(1):33-41.
- Changhong L. 2006. Green Tea Polyphenols Modulate Insulin Secretion by Inhibiting Glutamate Dehydrogenase. *The Journal of Biol Chem* (281) 15:10214-10221.

- Chung SY. 2000. Effect of Tea Consumption on Nutrition and Health. Piscataway:Department of Pharmacy, Rutgers, The State University of Jersey. *J Nutrition* (14):2409-2412.
- Deji N, Kume S, Araki S, Soumura M, Sugimoto T, Isshiki K *et al.* 2009. Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 296:F118-F126.
- Eroschenko VP. 2010. Atlas Histologi diFiore: Dengan Korelasi Fungsional Edisi 11. Jakarta:EGC.
- Federer WT. 1995. Statistical Design and Analysis for Intercropping Experiments. Ithaca:Springer Science and Business Media.
- Foster MC, Hwang SJ, Porter SA, Massaro JM, Hoffmann U, Fox CS. 2011. Fatty Kidney, Hypertension, and Chronic Kidney Disease. The Framingham Heart Study. *Hypertension.* 58:784-790.
- Ganong WF. 2008. Buku ajar fisiologi kedokteran edisi 22. Jakarta:EGC.
- Gerbaix M, Metz L, Ringot E, Courteix D. 2010. Visceral fat mass determination in rodent: validation of dual-energy X-ray absorptiometry and anthropometric techniques in fat and lean rats. *Lipids in health and disease.* 9(1):140.
- Gunawijaya FA, Gandasentana R, Wahyudi K. 2000. Efek pemberian katekin teh hijau pada pertumbuhan tumor kelenjar susu mencit strain GR. *Jurnal Kedokteran Trisakti.* 18(2):61-67.
- Guyton AC, Hall EJ. 2006. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9. Jakarta:EGC.
- Harsa IMS. 2014. Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lemak Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran.* Vol. 3 No. 1.
- He XX, Tu SM, Lee MH, Yeung SCJ. 2011. Thiazolidinediones and metformin associated with improved survival of diabetic prostate cancer patients. *Annals of Oncology.* 22(12):2640-2645.
- Holman RR, Paul SK, Bethel MA, Matthews DR, Neil HA. 2008. 10-year follow up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 359:1577-1589.
- Hsia Y, Dawoud D, Sutcliffe AG, Viner RM, Kinra S, Wong ICK. 2012. Unlicensed use of metformin in children and adolescents in the UK. *British Journal of Clinical Pharmacology.* 73(1):135-139.

- Jarskog LF, Hamer RM, Catellier DJ, Stewart DD, Lavange L, Ray N *et al.* 2013. Metformin for weight loss and metabolic control in overweight outpatients with schizophrenia and schizoaffective disorder. *The American Journal of Psychiatry.* 170(9):1032-1040.
- Jong PE, Verhave JE, Sietsma SJ, Hillege HL. 2002. Obesity and Target Organ Damage: The Kidney. *International Journal of Obesity.* Vol. 26. No. 4.
- Juhryyah S. 2008. Gambaran Histopatologi Organ Hati Dan Ginjal Tikus Pada Intoksikasi Akut Insektisida (Metofluthrin, D-Phenothrin, D-Allethrin) Dengan Dosis Bertingkat. [Skripsi]. Bogor:Institut Pertanian Bogor.
- Katzung BG, Trevor AJ. 2015. Section 7: endocrine drugs. *Basic & Clinical Pharmacology 13th Ed.* New York:Mc-Graw Hill.
- Kress H. 2011. Practical Herbs. [diunduh 28 Februari 2018]. Tersedia dari <http://www.henriettesherbal.com/pictures/p03/pages/camellia-sinensis-1.htm>.
- Krinke GJ. 2000. History, Strains and Models. *The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals)*. Gillian R. Bullock (series ed.), Tracie Bunton (series ed.). Academic Press. pp. 3-16.
- Kushiya M, Shimazaki Y, Murakami M, & Yamashita Y. 2009. Relationship Between Intake of Green Tea and Periodontal Disease. *J Periodontal.*
- Levri KM, Slaymaker E, Last A, Yeh J, Ference J, D'Amico F *et al.* 2005. Metformin as Treatment for Overweight and Obese Adult: A Systematic Review. *Annals of Family Medicine.* Vol. 3 No. 5.
- Mahesya AP. 2013. Pengaruh Pemberian Minyak Goreng Bekas Yang Dimurnikan Dengan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Gambaran Hepatosit Tikus Putih Wistar Jantan. [Skripsi]. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Mahmood T, Akhtar N, Khan BA. 2010. The Morphology, Characteristics, and Medical Properties of Camellia Sinensis Tea. *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(19):2028-2033.
- Malin K, Kashyap S. 2014. Effects of metformin on weight loss: Potential mechanisms. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 21(5):323-329.
- Marks. 2010. *Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinis.* Jakarta: EGC.
- Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D *et al.* 2015. Highfat diet-induced obesity rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte,* 5:1-11.

- Mehran AE, Templeman NM, Brigidi GS, Lim GE, Chu KY, Hu X *et al.* 2012. Hyperinsulinemia drives diet-induced obesity independently of brain insulin production. *Cell Metabolism*. 16(6):723-737.
- Mescher AL. 2013. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas 13th Edition*. New York:McGraw Hill Education.
- Misnadierly. 2007. *Obesitas Sebagai Faktor Resiko Berbagai Penyakit*. Jakarta: Pustaka Obor Populer.
- Moore KL, Dalley AF. 2013. *Anatomi Berorientasi Klinis Edisi 5*. Jakarta: Erlangga.
- Mycek MJ, Harvey RA, Champe CC. 2009. *Farmakologi ulasan bergambar. Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology*. Penerjemah Azwar Agoes. Edisi II. Jakarta:Widya Medika.
- Nakano M, Inui A. 2012. Metformin and incretin-based therapies up-regulate central and peripheral adenosine monophosphate-activated protein kinase affecting appetite and metabolism. *Indian J Endocrinol Metab*. 16(3):S529-S531.
- Notoatmodjo S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta:Rineka Cipta.
- Oktaria R. 2017. *Efek Protektif Thymoquinone Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague Dawley Yang Diinduksi Rifampisin*. [Skripsi]. Bandarlampung:Universitas Lampung.
- Perry B, Wang Y. 2012. Appetite Regulation And Weight Control: The Role Of Gut Hormones. *Nutrition & Diabetes*. Ed. 26. Tersedia dari <https://www.nature.com/articles/nutd201121>.
- Pou K, Massaro JM, Hoffmann U, Lieb K. 2009. Patterns of Abdominal Fat Distribution. *Diabetes Care*. Vol. 32. No. 3.
- Price SA, Wilson LM. 2012. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6*. Jakarta:EGC.
- Pryor R, Cabreiro F. 2015. Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets. *Biochemical Journal*. 471(3):307-322.
- Randa HD, Laurence B. 2015. Section 5: hormones and hormones antagonist. *Goodman and Gilman Manual of Pharmacology and Therapeutics 2nd*. New York:Mc-Graw Hill.
- Reinehr T, Kiess W, Kappellen T, Andler W. 2004. Insulin sensitivity among obese children and adolescents, according to degree of weight loss. *Pediatrics*. 114:1569-1573.

- Ross IA. 2005. Tea Common Names and Its Uses In: Medicinal Plants of the World 3rd Vol. New Jersey:Humana Press.
- Sajuthi D. 2012. Workshop on bioethics: Prinsip-prinsip kesejahteraan hewan (animal welfare) di dalam penelitian biomedis. Bogor:Institut Pertanian Bogor.
- Scott A. 2014. Is Metformin Effective for Weight Loss? Medscape. [diakses 23 April 2018]. Tersedia dari <https://www.medscape.com/viewarticle/836254>.
- Sherwood L. 2014. Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem Edisi 6. Jakarta:EGC.
- Snell RS. 2012. Clinical Anatomy by Regions 9th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Suwandani S. 2010. Diet Rendah Kalori Dan Metformin Menurunkan Berat Badan Lebih Tinggi Daripada Diet Rendah Kalori Atau Metformin Saja Pada Pasien Obesitas. [Tesis]. Denpasar:Universitas Udayana.
- Templeman NM, Skovso S, Page MM, Lim GE, Johnson JD. 2017. A causal role for hyperinsulinemia in obesity. *The Journal of Endocrinology*. 3:R173-R183.
- Thielecke F, Boschmann M. 2009. The potential role of green tea catechins in the prevention of the metabolic syndrome – A review. *Phytochemistry*. 70(1):11-24.
- Tobar A, Ori Y, Benchetrit S, Milo G, Herman M, Zingerman B *et al.* 2013. Proximal tubular hypertrophy and enlarged glomerular and proximal tubular urinary space in obese subjects with proteinuria. *PLoS One*. 8(9):1–9.
- Tock L, D'Amaso A, Piano A, Carnier J. 2010. Long-Term Effects of metformin and lifestyle modification on non-alcoholic fatty liver disease obese adolescents. *J Obese*. 831901:6.
- Tortora GJ, Derrickson B. 2012. Principles of Anatomy & Physiology 13th edition. Hoboken. New Jersey:John Wiley & Sons, Inc.
- Turkoglu M, Ugurlu T, Gedik G, Yilmaz AM, Yalcin AS. 2010. In Vivo Evaluation of Black and Green Tea Dermal Products Against UV Radiation. *Drug Discoveries & Therapeutics*. 4(5):362-367.
- Wilson DM, Abrams SH, Aye T, Lee PDK, Lenders C, Lustig RH *et al.* 2010. Metformin extended release treatment of adolescent obesity: a 48-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial with 48-week follow-up. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 164(2):116-23.

- Wolfram S, Wang Y, Thielecke F. 2006. Anti-obesity effects of green tea: From bedside to bench. *Molecular Nutrition and Food Research*. 50(2):176-187.
- Yanovski JA, Krakoff J, Salaita CG, McDuffie JR, Kozlosky M, Sebring NG *et al.* 2011. Effects of metformin on body weight and body composition in obese insulin-resistant children a randomized clinical trial. *Hispanic*. 60(2):1-9.
- Yogiantoro M. 2012. Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan Ilmu Penyakit Dalam XVII. Surabaya:Lab-SMF Penyakit Dalam FK Unair RSU Dr. Soetomo.
- Zowail MEM, Khater EHH. 2009. Protective effect of green tea extract against cytotoxicity induced by enrofloxacin in rat. *Egypt. Acad J Biolog Sci*. 1(1):45-64.