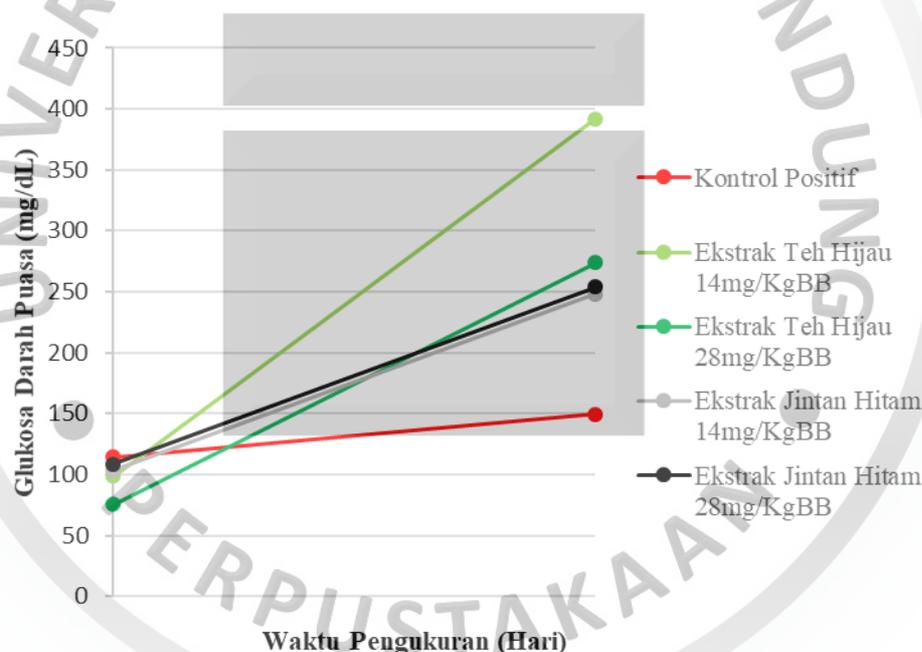


## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menganalisis perbandingan glukosa darah pada 21 ekor mencit yang dibagi menjadi enam kelompok. Mencit melalui proses adaptasi dan induksi sebelum perlakuan. Peningkatan kadar glukosa darah diukur setelah induksi aloksan pada lima kelompok yang diinduksi. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4.1. Kelompok normal tidak dimasukkan karena tidak dilakukan induksi.



**Gambar 4.1 Grafik Perubahan Kadar Glukosa Darah Puasa Sebelum dan Sesudah Induksi Aloksan**

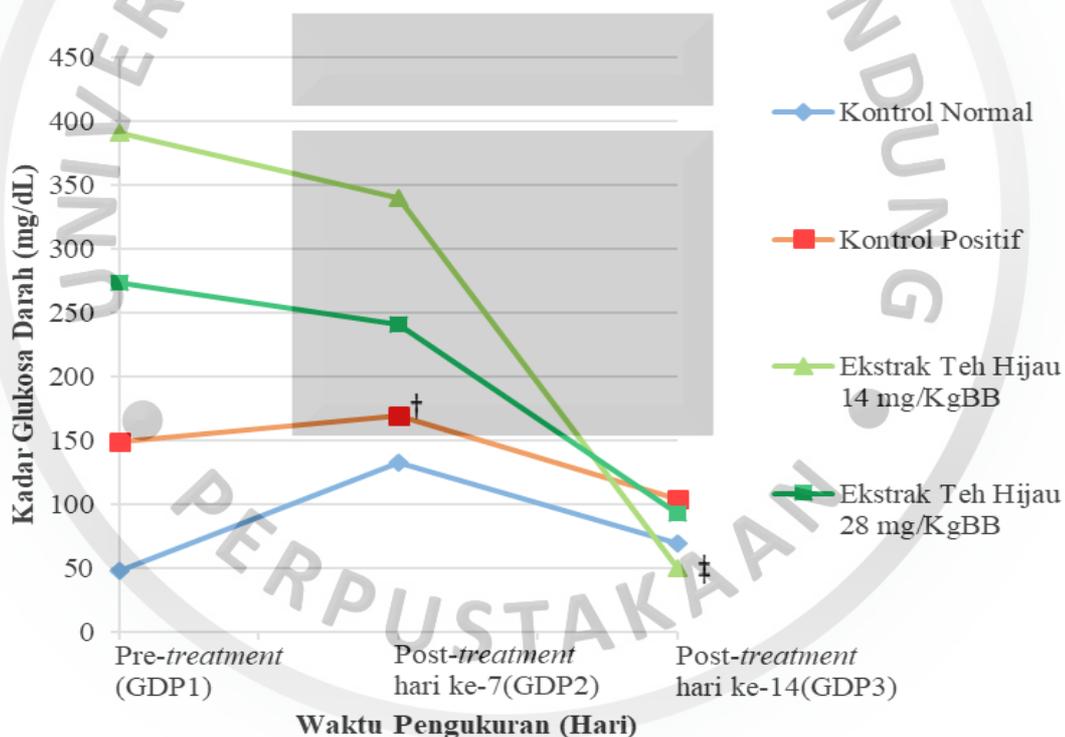
Grafik menampilkan peningkatan glukosa darah setelah induksi. Pengukuran dilakukan dalam kondisi puasa, sesaat sebelum induksi untuk GDP0 dan tiga hari setelah induksi untuk GDP1.

Gambar 4.1 menampilkan grafik perubahan glukosa darah puasa pada sebelum dan setelah induksi pada setiap kelompok, yang kemudian mendapat perlakuan pemberian daun teh hijau, biji jintan hitam, atau kontrol positif.

Kelompok ekstrak teh hijau 14 mg/KgBB menunjukkan peningkatan yang amat tinggi, sedangkan untuk peningkatan kadar paling rendah ada pada kelompok kontrol positif.

#### 4.1.1 Analisa Kadar Glukosa Darah dengan Perlakuan Ekstrak Daun Teh Hijau

Objek penelitian diberikan perlakuan selama 14 hari. Pengukuran glukosa saat perlakuan dilakukan dua kali, yakni hari ke-7 (GDP2) dan hari ke-14 (GDP3). Gambar 4.2 memperlihatkan kecenderungan penurunan kadar glukosa darah perlakuan ekstrak daun the hijau dan kontrol.



**Gambar 4.2** Penilaian Kadar Glukosa Darah *Pre-treatment* dan *Post-treatment* (GDP2 dan GDP3) pada Ekstrak Teh Hijau

Grafik menampilkan data kadar glukosa darah yang diambil di tiga waktu, sebelum perlakuan (GDP1), setelah tujuh hari perlakuan (GDP2), dan setelah 14 hari perlakuan (GDP3). Keterangan: <sup>†</sup>Uji T Dependen GDP1-GDP2: signifikan Kelompok kontrol normal ( $p=0,001$ ) <sup>‡</sup>Uji T Dependen GDP1-GDP3 Kelompok ekstrak teh hijau 14 mg/KgBB ( $p=0,003$ ).

Pada Gambar 4.2 terlihat setelah tujuh hari, glukosa darah cenderung meningkat untuk kelompok kontrol. Kontrol positif signifikan ( $p = 0,001$ ) GDP meningkat. Kadar GDP tertinggi pada GDP1 dimiliki oleh kelompok ekstrak teh hijau 14 mg/KgBB sebesar 391,6 mg/dL, sedangkan terendah pada kontrol positif dengan rerata 50 mg/dL. Pada hari ke-7 kadar glukosa darah cenderung menurun pada kelompok yang mendapat perlakuan ekstrak air daun teh hijau.

Pada hari ke-14, glukosa darah kembali turun jauh di bawah GDP1 kecuali kontrol normal. Penurunan glukosa secara signifikan ( $p = 0,003$ , uji t dependen) hanya terjadi pada kelompok teh hijau 14 mg/KgBB. Kecenderungan penurunan juga terlihat pada kelompok lain tetapi tidak bermakna secara statistik. Penurunan glukosa darah pada kelompok kontrol positif terlihat tidak jauh berbeda dengan kelompok ekstrak teh hijau 28 mg/KgBB.

Gambar 4.2 juga menampilkan gambaran penurunan kadar glukosa darah hari ke-7 (GDP1) ke hari-14. Tabel 4.1 memberikan informasi lebih rinci.

**Tabel 4.1 Perbandingan Kadar Glukosa Darah Puasa setelah Perlakuan (GDP2, GDP3) pada Kelompok Kontrol dan Ekstrak Teh Hijau**

Kelompok	Mean±SD GDP 2	Mean±SD GDP 3	Nilai p* GDP2-GDP3
Kontrol Normal	133,2±17,0	70,0±24,4	0,00 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	170,1±123,0	104,3±47,7	0,27
Ekstrak Teh Hijau 14 mg/KgBB	339,7±116,2	50,3±24,9	0,03 <sup>a</sup>
Ekstrak Teh Hijau 28 mg/KgBB	241,0±61,7	92,7±20,5	0,01 <sup>a</sup>

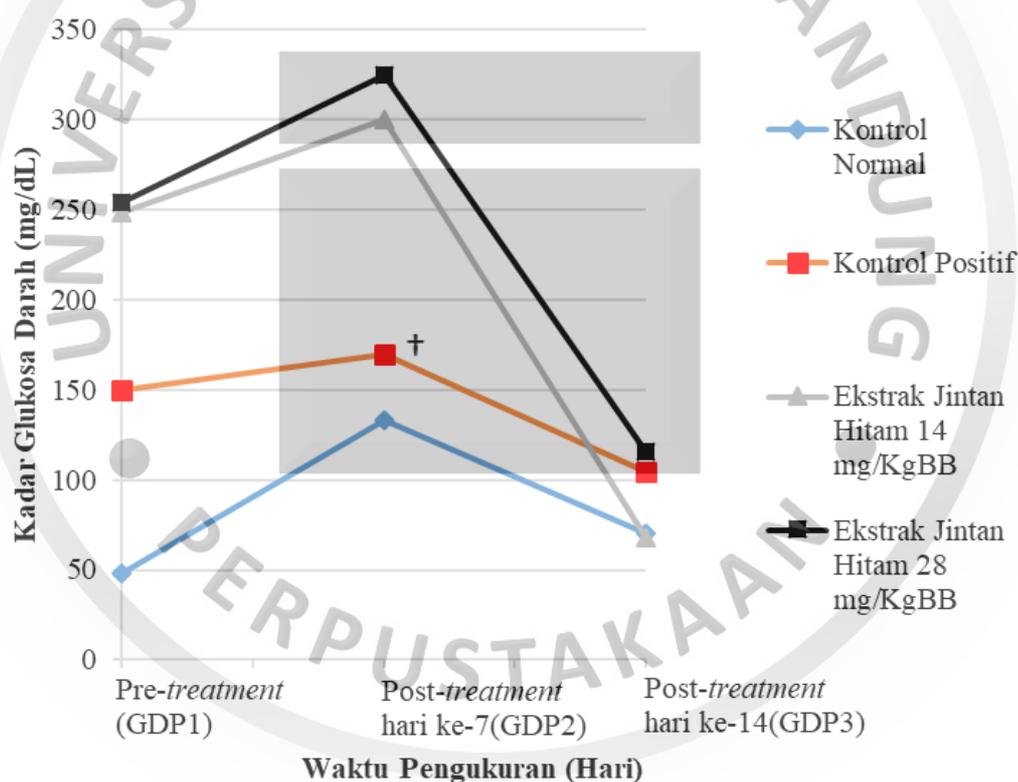
Keterangan: \*uji T Dependen, <sup>a</sup>nilai p signifikan

Pada seluruh kelompok terjadi penurunan kadar glukosa darah dan secara statistik signifikan ( $p < 0,05$ ) terkecuali pada kelompok kontrol positif. Hal ini terlihat karena kelompok perlakuan teh hijau dan kontrol normal pada hari ke-7 masih tinggi. Namun, setelah 14 hari perlakuan, GDP menurun drastis.

Temuan ini menyimpulkan setelah 14 hari, kelompok ekstrak teh hijau 14 mg/KgBB secara signifikan terdapat penurunan kadar glukosa darah. Selain itu, Kadar glukosa darah semakin menurun setelah hari ke-7 untuk dua variasi dosis.

#### 4.1.2 Analisa Kadar Glukosa Darah dengan Perlakuan Ekstrak Biji Jintan Hitam

Seperti halnya sub bab 4.1.1, pada bagian ini ditampilkan data analisis setelah perlakuan, namun hanya untuk kelompok kontrol dan perlakuan ekstrak biji jintan hitam.



**Gambar 4.3 Penilaian Kadar Glukosa Darah Pre-treatment dan Post-treatment (GDP2, GDP3) pada Ekstrak Jintan Hitam**

Grafik menampilkan data kadar glukosa darah yang diambil di tiga waktu, sebelum perlakuan, setelah tujuh hari perlakuan, dan setelah 14 hari perlakuan. Keterangan: †Uji T Dependen GDP1-GDP2: signifikan Kelompok kontrol normal ( $p=0,001$ ).

Gambar 4.3 menunjukkan kecenderungan kadar glukosa darah empat kelompok. Terlihat bahwa keempatnya mengalami peningkatan kadar glukosa pada hari ke-7 dan baru menurun pada hari ke-14. GDP2 menunjukkan kadar tertinggi dimiliki kelompok ekstrak biji jintan hitam 28 mg/KgBB dan terendah pada kontrol normal. Kenaikan kadar glukosa secara signifikan pada kelompok kontrol positif ( $p = 0,00$ ; uji t dependen).

Pada hari ke-14, glukosa darah turun dibandingkan GDP1 kecuali kontrol normal. Meskipun terjadi penurunan, hal ini secara statistik tidak bermakna. Rerata GDP3 terendah dimiliki kelompok ekstrak jintan hitam dosis rendah sebesar 67,7 mg/dL dan GDP tertinggi pada pemberian ekstrak dosis tinggi sebesar 104,3 mg/dL.. Seperti halnya pada perlakuan teh hijau, kadar ekstrak jintan hitam 28 mg/KgBB menunjukkan nilai tidak jauh berbeda dengan kontrol positif.

Penurunan glukosa darah drastis terlihat antara GDP2 ke GDP3 dengan perlakuan ekstrak air biji jintan hitam. Rincian lebih lanjut terlihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2 Perbandingan Kadar Glukosa Darah Puasa setelah Perlakuan (GDP2, GDP3) pada Kelompok Kontrol dan Ekstrak Jintan Hitam**

Kelompok	Mean±SD GDP 2	Mean±SD GDP 3	Nilai p* GDP2-GDP3
Kontrol Normal	133,2±17,0	70,0±24,4	0,00 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	170,1±123,0	104,3±47,7	0,27
Ekstrak Jintan Hitam 14mg/KgBB	300,0±116,0	67,7±12,8	0,03 <sup>a</sup>
Ekstrak Jintan Hitam 28mg/KgBB	324,6±118,7	115,6±82,7	0,03 <sup>a</sup>

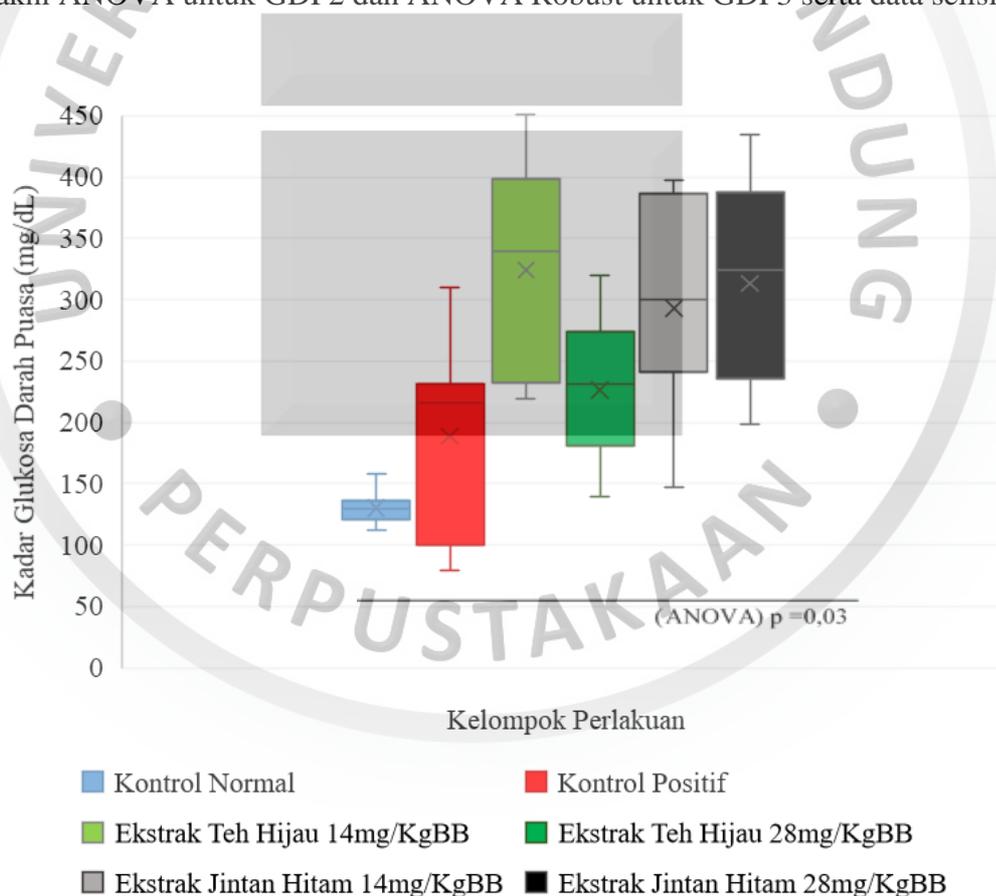
Keterangan: \*uji T Dependen, <sup>a</sup>nilai p signifikan

Penilaian kadar glukosa antara hari ke-7 dan hari ke-14 menunjukkan bahwa kelompok-kelompok yang diberikan perlakuan jintan hitam menunjukkan perubahan signifikan, baik untuk kadar jintan hitam 14 mg/KgBB maupun 28

mg/KgBB.hal ini juga terlihat pada kontrol normal. Hasil temuan secara keseluruhan untuk biji jintan hitam adalah tidak ada perbedaan secara statistik kadar glukosa darah sebelum dan sesudah perlakuan (GDP1 ke GDP3), namun terlihat penurunan signifikan setelah pemberian ekstrak dari tujuh hari ke 14 hari.

#### 4.1.3 Perbandingan Ekstrak Daun Teh Hijau dengan Ekstrak Jintan Hitam terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Hiperglikemia

Perbandingan ekstrak dilakukan pada data glukosa darah hari ke-7, hari ke-14, serta selisih kadar GDP3 ke GDP1. Data ditampilkan dalam bentuk grafik *box-plot* untuk melihat sebaran data. Selain itu uji antar kelompok juga dilakukan, yakni ANOVA untuk GDP2 dan ANOVA Robust untuk GDP3 serta data selisih.



**Gambar 4.4 Kadar Glukosa Darah Post-treatment Hari ke-7 (GDP2)**

*Box plot* menampilkan kadar glukosa darah setelah perlakuan selama tujuh hari. Sebaran data normal dan. Data diolah dengan melihat nilai rerata dan variasi kadar glukosa darah. Uji ANOVA dipilih untuk perbandingan enam kelompok perlakuan.

Gambar 4.4 menampilkan kadar glukosa darah yang diukur pada hari ke-7 setelah pemberian perlakuan menunjukkan rentang glukosa darah yang diukur. Kadar terendah mulai dari 79 mg/KgBB di kelompok hijau tua hingga tertinggi 450 mg/KgBB di kelompok hijau muda. Rentang nilai yang sempit terlihat pada kelompok normal menunjukkan nilai yang konsisten yang terlihat pula pada kelompok teh hijau 28 mg/KgBB.

Perlakuan secara signifikan masih memiliki kadar yang tinggi. Hal ini terutama pada kelompok teh hijau 14 mg/KgBB dibanding kelompok normal dan kontrol positif dilihat pada Tabel 4.3.

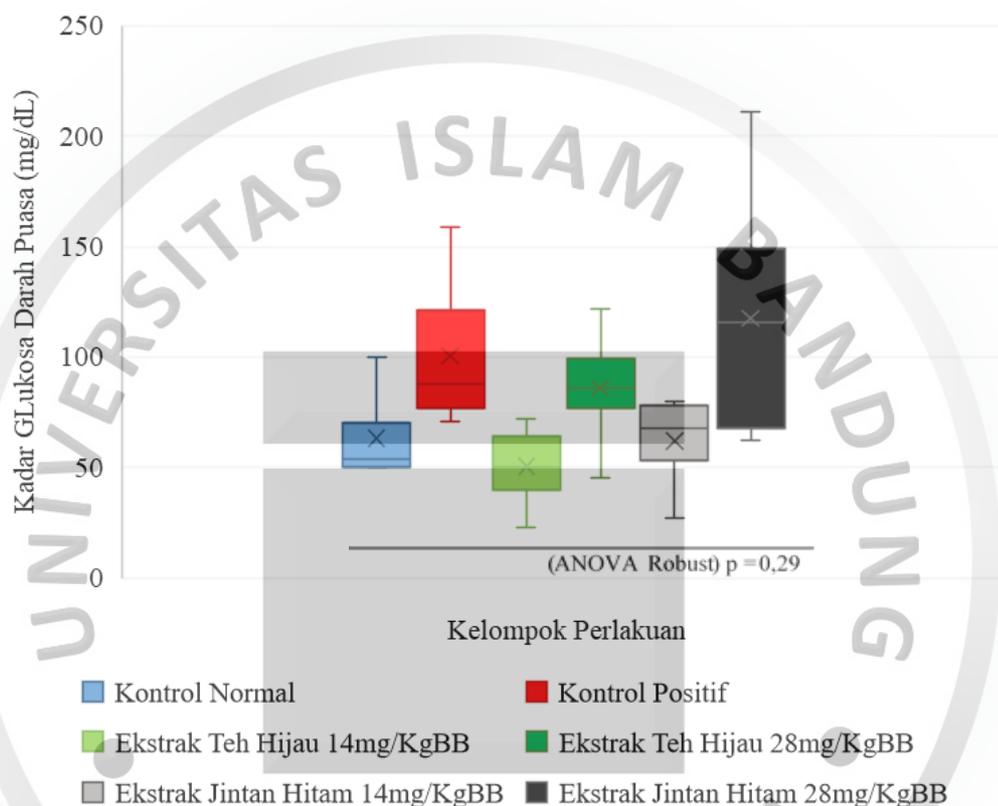
**Tabel 4.3 Uji *Post hoc* Glukosa Darah Puasa *Post-treatment* hari ke-7 (GDP2)**

Kelompok	Perbandingan	Nilai p*
Kontrol Normal	Kontrol Positif	0,195
	Teh Hijau 14 mg/KgBB	0,000 <sup>a</sup>
	Teh Hijau 28 mg/KgBB	0,005 <sup>a</sup>
	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,010 <sup>a</sup>
	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,014 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	Teh Hijau 14 mg/KgBB	0,011 <sup>a</sup>
	Teh Hijau 28 mg/KgBB	0,131
	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,226
	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,230
Teh Hijau 14 mg/KgBB	Teh Hijau 28 mg/KgBB	0,152
	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,085
	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,119
Teh Hijau 28 mg/KgBB	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,727
	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,801
Jintan Hitam 14 mg/KgBB	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,942

\*Post hoc LSD <sup>a</sup>Nilai secara statistik berbeda.

Seperti halnya penilaian pada hari ke-7, penilaian GDP pada hari ke-14 menampilkan rerata kadar glukosa pada setiap kelompok termasuk rentang kadarnya. Dari gambar 4.5 terlihat bahwa rentang terendah dimiliki oleh kelompok teh hijau kadar rendah senilai 23 mg/dL dan tertinggi pada kelompok

teh hijau kadar tinggi sebesar 211 mg/dL. Jika dilihat dari rerata kadar glukosa, kelompok-kelompok yang diberi perlakuan teh hijau memiliki rentang rerata di yang tidak jauh berbeda. Hal ini berbeda dari pengukuran pada waktu sebelumnya (GDP2).



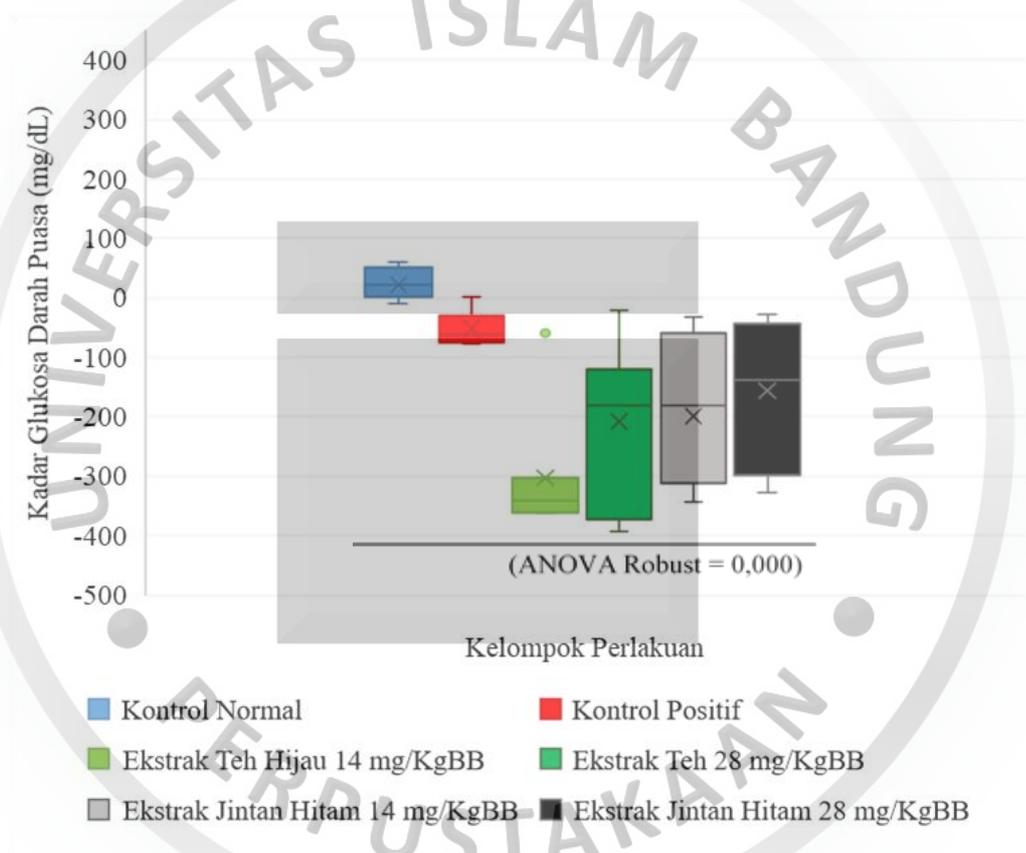
**Gambar 4.5 Kadar Glukosa Darah Post-treatment Hari ke-14 (GDP2)**

*Box plot* menampilkan kadar glukosa darah 14 hari setelah perlakuan. Sebaran data normal namun tidak homogen. Data diolah dengan melihat nilai rerata dan variasi kadar glukosa darah. Uji ANOVA Robust dipilih untuk perbandingan enam kelompok perlakuan.

Rentang kadar serta rerata glukosa darah pada kelompok yang diberi perlakuan jintan hitam menampilkan data yang amat berbeda. Kelompok jintan kadar rendah memiliki rerata 69 mg/dL, sedikit sejajar dengan kadar minimal di kelompok jintan kadar tinggi sebesar 62 mg/dL. Pada ekstrak air daun teh hijau teridentifikasi bahwa selisih rerata kadar akhir GDP di hari ke-14 dengan

kelompok yang diberikan metformin sebesar 11,6 mg/dL (92,7 mg/dL pada teh hijau dan 104,3 mg/dL pada metformin). Untuk biji jintan hitam, selisih rerata yang dihitung sebesar 11,3 mg/dL (115,6 mg/dL pada jintan hitam dan 104,3 mg/dL pada metformin).

Selain diukur kadar glukosa darah di hari ke-7 dan hari ke-14, selisih glukosa darah dihitung antara GDP1 dan GDP3.



**Gambar 4.6 Selisih Kadar Glukosa Darah GDP1 dengan GDP3**

*Box plot* menampilkan selisih kadar glukosa darah dengan mengurangi GDP3 dengan GDP1. Sebaran data normal namun tidak homogen. Data diolah dengan melihat nilai rerata dan variasi kadar glukosa darah. Uji ANOVA Robust dipilih untuk perbandingan enam kelompok perlakuan.

Gambar 4.6 menampilkan sebaran data selisih tiap kelompok yang menunjukkan variasi sempit pada kelompok-kelompok kontrol dan kelompok

ekstrak teh hijau 14 mg/KgBB namun memiliki *outlier*. Untuk sebaran data di tiga kelompok lainnya menampilkan rentang yang luas.

Kelompok kontrol normal memiliki rerata selisih 21,6 mg/dL yang artinya kadar glukosa GDP3 lebih besar dari GDP1 sehingga hasil pengurangan tetap positif. Hal ini tidak terlihat pada kelompok lainnya. Perbedaan bermakna terlihat pada selisih antar kelompok, terutama kelompok teh hijau 14 mg/KgBB yang secara statistik selisihnya lebih besar dibandingkan kontrol normal, metformin, dan kelompok jintan hitam 28 mg/KgBB. Hasil dapat dilihat pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4 Uji Post Hoc Selisih Kadar Glukosa Darah GDP3 ke GDP1**

Kelompok	Perbandingan	Nilai p*
Kontrol Normal	Kontrol Positif	0,431
	Teh Hijau 14 mg/KgBB	0,000 <sup>a</sup>
	Teh Hijau 28 mg/KgBB	0,017 <sup>a</sup>
	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,017 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,071
	Teh Hijau 14 mg/KgBB	0,006 <sup>a</sup>
	Teh Hijau 28 mg/KgBB	0,136
	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,138
Teh Hijau 14 mg/KgBB	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,330
	Teh Hijau 28 mg/KgBB	0,083
	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,082
Teh Hijau 28 mg/KgBB	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,043 <sup>a</sup>
	Jintan Hitam 14 mg/KgBB	0,993
	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,627
Jintan Hitam 14 mg/KgBB	Jintan Hitam 28 mg/KgBB	0,633

\*Post hoc LSD <sup>a</sup> Nilai berbeda dan secara statistik berbeda

Tiga grafik di atas menunjukkan perbandingan keseluruhan kadar glukosa perlakuan di semua kelompok. Dari dua grafik memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan ekstrak teh hijau, namun perbandingan selisih menunjukkan pada kadar 14 mg/KgBB, ekstrak air teh hijau lebih besar dari jintan hitam 28 mg/KgBB.

## 4.2 Pembahasan

Penelitian ini menguji kadar glukosa darah mencit diinduksi aloksan yang diberikan ekstrak daun teh hijau dengan ekstrak biji jintan hitam. Kedua ekstrak dianalisis dengan menilai glukosa darah sebelum dan setelah perlakuan pemberian masing-masing ekstrak, serta membandingkan kedua ekstrak pada kadar glukosa darah setelah perlakuan. Hasil penelitian didapatkan efek penurunan pada hari ke 14 di kelompok teh 14 mg/KgBB dibandingkan sebelum perlakuan, yang tidak terlihat pada kelompok lainnya.

Dari hasil penelitian terlihat bahwa cukup banyak objek yang dieksklusi karena tidak mencapai kondisi hiperglikemia tiga hari setelah induksi aloksan. Pada penelitian ini terlihat bahwa dari 50 ekor mencit yang diinduksi, terdapat 20 ekor saja yang berhasil mengalami peningkatan. Jumlah ini dikarenakan 14% diantaranya mati selama proses induksi serta sisanya hidup sampai pengukuran GDP1 namun tidak menunjukkan peningkatan (46 %).

Aloksan merupakan senyawa yang umum digunakan pada penelitian terkait diabetes untuk hewan coba<sup>24</sup>. Hal ini terlihat dari penelitian selama tahun 2000 sampai dengan 2016 menunjukkan 30,3 % menggunakan aloksan. Mekanisme kerja aloksan dalam induksi secara kimia pada hewan coba dengan melalui sel beta pankreas hewan secara selektif melakukan *uptake* aloksan, sehingga terakumulasi di dalam sel.<sup>24,67</sup>

Mekanisme selektif sel beta pankreas terhadap aloksan diperantarai beberapa hal, yakni struktur molekular dan transport glukosa jenis GLUT-2 yang terekspresikan secara masif di pankreas.<sup>24</sup> Terkait dengan transporter glukosa, penelitian Elsner dalam Ighodaro menemukan bahwa aloksan *uptake* rentan

dibawa oleh GLUT-2.<sup>24</sup> Transporter ini diekspresikan tidak di semua organ, cukup spesifik di pankreas.

Meski spesifik pada sel beta pankreas, beberapa penelitian menyatakan keterbatasan penggunaan aloksan karena beberapa sifatnya autoreversibel, serta paruh waktu yang cepat. Dalam dosis sub optimal 90–140 mg/KgBB, sel beta pankreas dapat kembali ke kondisi semula.<sup>68</sup> Injeksi peritoneal di bawah 150 mg/KgBB ditemukan di penelitian lain sehingga menguatkan temuan sebelumnya.<sup>24</sup> Hal ini juga dikarenakan efek aloksan pada glukosa darah secara multifasik dan kembali ke normal dalam waktu seminggu. Paruh waktu aloksan setelah masuk kedalam tubuh selama 1,5 menit. Hal ini mengakibatkan dapat dengan mudah disintegrasi dalam larutan air. Keterbatasan di atas dapat diantisipasi dengan meningkatkan dosis pemberian serta pembuatan larutan aloksan sesaat sebelum diberikan pada hewan coba.<sup>24</sup>

Penelitian ini sudah meminimalisir efek reversibel yang dilaporkan, sehingga dosis induksi sebesar 200 mg/KgBB. Sediaan aloksan dilakukan sesaat sebelum diberikan atau untuk setiap kelompok. Hal ini dilakukan dengan pertimbangan saran penelitian sebelumnya adalah dosis harus di atas 170 mg/KgBB serta berdasarkan pre-penelitian pada tiga dosis aloksan. Meskipun demikian, penelitian ini tetap menghasilkan mencit yang mati 14 % dan 46 % yang tidak terlihat peningkatan. Dari hasil ini terlihat bahwa ada dua kutub dalam penggunaan aloksan sebagai pilihan induksi hiperglikemia, yakni toksisitas dan kondisi normal dari hasil pengukuran glukosa darah. Penelitian di tahun 2019 oleh Soni menunjukkan bahwa dosis 170 mg/KgBB aloksan yang diberikan pada hewan coba mengakibatkan kematian 70 % dari total objek.<sup>67</sup> Kematian setelah

induksi juga dilaporkan bervariasi dengan persentase 30--60 %.<sup>68,69</sup> Kegagalan peningkatan kadar glukosa mungkin dikarenakan dalam persiapan larutan masih kurang cepat sehingga tetap ada yang terdisintegrasi sebelum diberikan secara peritoneal. Akibatnya, efek aloksan pun tidak terlihat pada kadar glukosa darah yang diukur setelah induksi.

Setelah dipastikan hiperglikemia, pada kelompok perlakuan ekstrak teh hijau, terdapat penurunan kadar dari kondisi sebelumnya. Penurunan mulai terlihat pada pemberian hari-ke-7 meski belum sampai kadar normal. Baru setelah 14 hari, kelompok-kelompok ini memiliki kadar glukosa normal. Pemberian teh hijau 14 mg/KgBB berbeda secara statistik dengan sebelum perlakuan. Hasil yang bahkan tidak terlihat pada pemberian obat standar serta kadar ekstrak teh lebih tinggi. Meskipun demikian dari hari ke-7 sampai ke-14 penurunan di semua kelompok perlakuan dan obat standar signifikan secara statistik.

Hal di atas sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian pada tikus yang diinduksi *streptozotocin* yang diberikan 2 g/KgBB ekstrak teh.<sup>70</sup> Penelitian tersebut menunjukkan penurunan drastis glukosa darah pada minggu ke-2 perlakuan ekstrak.<sup>70</sup> Penurunan kadar glukosa dimulai dari angka di atas 600 mg/dL yang berubah menjadi sekitar 100 mg/dL setelah 14 hari perlakuan.<sup>70</sup> Pada pengukuran hari ke-7 pun sudah terdapat penurunan kadar glukosa darah di angka 400 mg/dL. Hal yang membedakan antara penelitian sebelumnya dan penelitian ini adalah ekstrak yang digunakan berupa teh putih *Camellia sinensis*, berasal dari pucuk muda sebelum cukup dewasa menjadi teh hijau.<sup>70</sup> Penelitian lain dilakukan oleh Al-Hilfy yang menggunakan ekstrak air teh hijau pada dosis 200 mg/KgBB untuk tikus.<sup>35</sup> Setelah pemberian selama empat minggu, kelompok yang diberikan

ekstrak setelah induksi aloksan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah, meski tidak mencapai kadar normal.

Daun teh hijau dalam penelitian ini didapatkan dari pemasok ke Perkebunan Daun Manoko, Lembang. Penelitian sebelumnya mengenai daun teh hijau menyatakan bahwa metabolit sekunder yang teridentifikasi adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, kuinon, triterpenoid, monoterpenoid, sampai seskueterpenoid dari ekstrak maserasi etanol.<sup>71</sup> Kadar alkaloid dan tanin dari daun teh hijau berasal dari perkebunan yang sama terbukti lebih besar daripada teh hitam.<sup>72</sup> Proses ekstraksi daun teh hijau dengan larutan air menarik komponen polifenol dengan baik serta secara kualitatif positif dengan komponen flavonoid.<sup>73,74</sup> Hal ini penting diketahui untuk menjelaskan mekanisme yang mungkin terjadi dalam penurunan glukosa setelah perlakuan teh hijau.

Mekanisme teh hijau terhadap glukosa darah telah ditelaah dari tingkat *in vitro*, *in vivo*, bahkan manusia. Secara *in vitro* mekanisme yang dilaporkan dari ekstrak air daun teh hijau ialah terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase.<sup>20,75</sup> Penelitian Miao menampilkan informasi mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase yang dilakukan ekstrak teh hijau melalui mekanisme non spesifik, yakni ECG (komponen *catechin*) berikatan kuat dengan enzim  $\alpha$ -amilase pada sisi aktif yang akhirnya bertindak sebagai inhibitor alami.<sup>20</sup> Pada enzim  $\alpha$ -glukosidase mekanisme sama terjadi, namun yang lebih berperan adalah komponen *catechin 3-gallate* terutama EGCG yang menunjukkan inhibisi 90% untuk enzim, bahkan lebih poten dari obat inhibitor *acarbose*.<sup>75</sup> Chacko memberikan mekanisme berbeda yang menunjukkan EGCG juga dapat menurunkan produksi glukosa pada sel kultur hepatoma. Komponen ini bertindak mirip dengan insulin, dengan

meningkatkan fosforilasi tirosin di reseptor insulin serta menurunkan ekspresi gen enzim glukoneogenik.<sup>76</sup>

Temuan di atas didukung dengan penelitian *in vivo* di berbagai tingkat hewan coba. Studi pada hamster menunjukkan suplementasi yang diperkaya EGCG memperbaiki homeostasis glukosa melalui peningkatan ekspresi protein PPAR- $\alpha$  dan PPAR- $\gamma$  yang meningkatkan sensitivitas insulin serta polifenol lainnya yang meningkatkan aktivitas insulin.<sup>23,35</sup> EGCG juga dilaporkan melindungi sel beta pankreas dari destruksi induksi pada tikus setelah induksi aloksan serta memiliki aktivitas insulinotropik melalui penghambatan glukoneogenesis di hepar tikus.<sup>35,76</sup> Antioksidan terlihat menjadi komponen yang ditingkatkan dengan adanya ekstrak teh hijau terbukti dengan peningkatan kapasitas antioksidan setelah pemberian 200 mg/KgBB ekstrak.<sup>77</sup>

Pada manusia, seduhan teh hijau telah diteliti menurunkan kadar glukosa darah *post-prandial* dibandingkan dengan *placebo* pada *test meal* dengan menurunkan pencernaan pati dan absorpsi dengan kadar polifenolnya.<sup>51,78</sup> Pada objek sehat, teh hijau meningkatkan rasa kenyang dan penuh meski tidak menurunkan glukosa *post-prandial* atau meningkatkan insulin.<sup>79</sup> Hal berbeda ditemukan bahwa ekspresi *Glucagon-like peptide 1* (GLP-1) meningkat setelah pemberian ekstrak yang berperan pada sekresi insulin dari sel pankreas pada kelompok yang dibandingkan.<sup>80</sup>

Hasil penelitian lainnya dari perhitungan kadar glukosa darah sebelum dan sesudah perlakuan adalah pada kelompok dengan perlakuan ekstrak air biji jintan hitam. Pada kelompok ini terlihat di hari ke-7 terjadi peningkatan kadar, sebelum menurun di hari ke-14. Hasil akhir di hari ke-14 sejalan dengan penelitian

Bensiameur-Touati yang menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol, diabetes, dan kelompok perlakuan ekstrak air biji jintan hitam. Perbedaan terlihat pada kelompok yang diberikan 2g/KgBB ekstrak air biji jintan hitam. Namun, perubahan ini dilihat setelah 8 minggu perlakuan dengan induksi yang dilakukan selama tiga minggu dengan 200 mg/KgBB aloksan intraperitoneal. Durasi pemberian ekstrak biji jintan hitam baru memperlihatkan efek setelah 10 hari perlakuan menurut penelitian Abdelmeguid.<sup>81</sup>

Mekanisme kerja biji jintan hitam terus ditelaah dari berbagai penelitian. Ekstrak air biji jintan hitam yang diujikan pada jejunum tikus secara in vitro menunjukkan inhibisi terhadap absorpsi glukosa.<sup>82</sup> Inhibisi absorpsi glukosa dilakukan melalui blokade *Sodium-Glucose Transporter 1* (SGLT-1), transporter glukosa di dinding usus. Selain itu, pengujian dibanding dengan obat glukosidase inhibitor, *acarbose*, ekstrak etil asetat jintan hitam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase lebih baik. Namun untuk  $\alpha$ -amilase hanya 29,16% inhibisi dibanding obat standar.<sup>21</sup> Pada sel pre-adiposit, ekstrak minyak jintan hitam memiliki aktivitas antioksidan total yang signifikan.<sup>83</sup>

Temuan mekanisme antioksidan juga terlihat pada uji coba dengan tikus Wistar yang diinduksi streptozotocin. Pemberian timokuinon, bahan aktif dari jintan hitam, memberikan efek antioksidan yang mengeliminasi oksigen reaktif dengan struktur kuinin.<sup>40,84,85</sup> Selain itu, terjadi inhibisi peroksidasi lipid melalui proses non enzimatis, serta mengembalikan aktivitas katalase di hepar dan pankreas. Penurunan kadar glukosa darah puasa setelah pemberian timokuinon memperlihatkan mekanisme insulinotropik dan perbaikan parsial sel beta pankreas sehingga terjadi peningkatan produksi insulin.<sup>40,41,85</sup> Bahan aktif ini juga

menurunkan ekspresi glukoneogenik enzim yang berakibat pada penurunan produksi glukosa hepatic.<sup>85,86</sup>

Pengobatan dengan biji jintan hitam merupakan pengobatan yang dianjurkan Rasulullah shalallahu 'alaihi wasallam.<sup>21</sup> Hal tersebut dikarenakan biji jintan hitam termasuk kedalam *Thibbun Nabawi* dan dikatakan dapat mengobati seluruh penyakit terkecuali ketuaan dan kematian.<sup>87</sup> Thibun Nabawi sendiri didefinisikan dalam Rumkhami sebagai pengobatan-pengobatan medis, peresepan obat untuk penyakit, serta berbagai hal berkaitan dengan kesehatan yang direkomendasikan Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wasallam.<sup>40,88</sup> Hal ini didukung dengan *review* pada 23 studi langsung di manusia, jintan hitam memberikan efek suplementasi terutama dalam kondisi sindrom metabolik spesifik untuk masalah glukosa, yakni glukosa darah puasa dan HbA1C.<sup>89,90</sup>

Biji jintan hitam didapatkan dari perkebunan di Indonesia di daerah Solo. Biji jintan hitam asli Indonesia teridentifikasi memiliki metabolit sekunder alkaloid, kuinon, dan flavonoid ketika dilakukan ekstraksi dengan etanol<sup>58</sup>. Ekstraksi dengan metanol menunjukkan positif secara kualitatif terhadap alkaloid, flavonoid, fenol, glikosida, serta steroid. Tabel 4.4 menampilkan metabolit sekunder teridentifikasi dari beberapa tipe pelarut.<sup>58,91</sup>

Proses ekstraksi dengan air sudah dilakukan pada beberapa penelitian.<sup>41,81,82,92,93</sup> Namun demikian tidak ada satu penelitian pun yang dapat menyebutkan komponen ekstrak air biji jintan hitam berbeda atau tidak dengan cara ekstraksi biji jintan hitam lainnya. Satu-satunya penelitian dengan ekstrak air biji jintan hitam merupakan campuran dengan dua tumbuhan lain, yakni akar

sarsaparilla india (*Hemidesmus indicus*) dan rizoma sarsaparilla (*Smilax glabra*).<sup>94</sup>

**Tabel 4.5 Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Jintan Hitam dengan Berbagai Pelarut**

Fitokimia	Petroleum eter	Etil Asetat	Metanol	Etanol
Alkaloid	-	-	+	+
Flavonoid	-	-	+	+
Fenol	-	-	+	N/A
Tanin	+	+	-	N/A
Glikosida	-	-	+	N/A
Steroid	+	+	+	-
Saponin	-	-	-	N/A
Terpenoid	+	+	-	-
Kuinon	N/A	N/A	N/A	+

Keterangan: + ada komponen, - tidak ada komponen, N/A tidak ada keterangan  
Dikutip dari: Yessuf dan Fajri.<sup>58,91</sup>

Gambar 4.3 pada sub bab 4.1 menunjukkan bahwa meskipun mengalami kecenderungan penurunan glukosa, pemberian ekstrak biji jintan hitam terhadap kadar glukosa darah secara statistik tidak signifikan. Hal ini kemungkinan karena bahan aktif dalam biji jintan hitam yang berkaitan dengan mekanisme terhadap kadar glukosa darah, yakni timokuinon tidak teridentifikasi dalam ekstrak air. Perbandingan antara ekstrak air dan etanol menunjukkan bahwa timokuinon, bahan aktif dalam jintan hitam, tidak ditemukan dalam ekstrak air setelah melalui uji *High Performance Lipid Chromatography* (HPLC).<sup>94</sup> Mekanisme dari bahan lain mungkin bekerja pada ekstrak air ini adalah flavonoid yang bersifat semi polar dan kemungkinan dapat ditarik dengan ekstraksi air.<sup>95</sup> Artinya mekanisme yang mungkin terjadi pada penelitian ini adalah yang berkaitan dengan kerja antioksidan.

Masih di gambar 4.2 serta gambar 4.3, Dapat diamati bahwa penurunan kadar setelah 14 hari perlakuan ekstrak di dosis tinggi (28 mg/KgBB) memiliki

rerata kadar glukosa darah yang tidak jauh berbeda dengan pengobatan standar. Meskipun demikian, gambar 4.6 menampilkan bahwa sebaran data di kelompok-kelompok ini cukup bervariasi meski data ditampilkan dalam rerata kadar karena memang berdistribusi normal. Seluruh kelompok rerata kadarnya tidak berbeda secara signifikan. Hal ini mungkin dikarenakan terdapat mekanisme yang mirip dari ekstrak daun teh hijau, ekstrak biji jintan hitam, dan juga metformin. Ketiganya memiliki efek di pencernaan glukosa serta pada proses glukoneogenesis. Metformin memiliki mekanisme di pencernaan glukosa dengan meningkatkan *uptake* glukosa untuk digunakan di enterosit, sehingga tidak banyak dikeluarkan ke pembuluh darah.<sup>30</sup> Hal ini sedikit berbeda dengan daun teh hijau yang berperan dalam inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase pati tidak tercerna dan akhirnya tidak terabsorpsi.<sup>75</sup> Dengan mekanisme yang sama, biji jintan hitam pun mencegah absorpsi sebagai  $\alpha$ -glukosidase inhibitor, disertai mekanisme inhibisi dari transporter SGLT-1.<sup>21</sup>

Persamaan lainnya adalah ketiganya mencegah pembentukan glukosa hepatic, hasil dari proses glukoneogenesis. Metformin memberikan efek inhibisi *Complex I* di mitokondria yang berakibat pada penurunan produksi ATP. Sehingga, rasio AMP:ATP meningkat dan menginduksi sinyal AMPK yang meningkatkan sensitivitas insulin (via metabolisme lemak), juga menurunkan cAMP yang akhirnya mengurangi ekspresi enzim-enzim glukoneogenik.<sup>30</sup> Enzim fosfoenol-piruvat kinase merupakan target enzim yang diinhibisi oleh epigallocatechin-gallate, serta enzim fosfoenol-piruvat karboksikinase yang ekspresi gennya diturunkan.<sup>35,96,97</sup> Pada jintan hitam, mekanisme yang terjadi

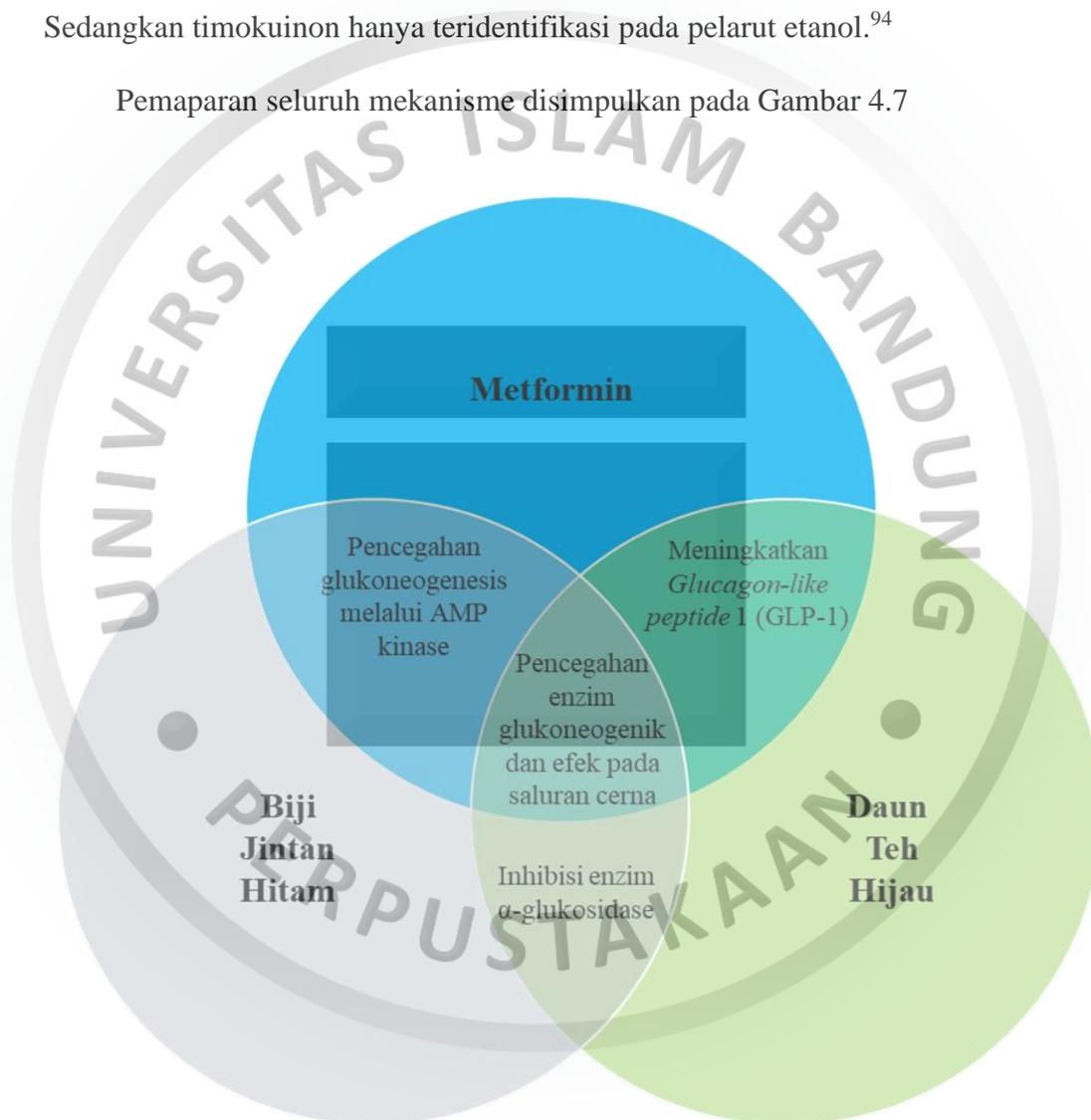
serupa dengan metformin, yakni melalui sinyal AMPK yang akhirnya mengakibatkan ekspresi enzim glukoneogenesis menurun.<sup>98</sup>

Seperti halnya antara metformin dan ekstrak biji jintan hitam, ekstrak daun teh hijau juga memiliki persamaan dengan metformin. Metformin dan ekstrak daun teh hijau, terutama EGCG meningkatkan ekspresi GLP-1.<sup>23,31,80</sup> *Glucagon-like peptide I* merupakan molekul yang memiliki waktu paruh pendek, berasal dari ekspresi gen preproglukagon di kromosom 17.<sup>6</sup> Meningkatnya kadar GLP-1 dapat memperbaiki kesehatan sel  $\beta$  pankreas. Mekanisme yang terjadi dependen terhadap glukosa dan berefek pada supresi glukagon.<sup>6</sup> Sel  $\beta$  pankreas yang diperbaiki oleh GLP-1 mengakibatkan produksi insulin kembali bekerja.

Gambar 4.4 dan 4.5 menampilkan perbandingan kedua ekstrak beserta juga kelompok kontrol post-treatment di hari ke-7 dan hari ke-14. Hasil hari ke-7 hanya memperlihatkan bahwa kelompok yang diberi ekstrak masih memiliki kadar yang tinggi. Argumen dari kondisi ini telah dipaparkan sebelumnya, yakni teh hijau sudah memperlihatkan kecenderungan penurunan, sedangkan jintan hitam membutuhkan waktu 10 hari untuk memberikan efek.<sup>41,70</sup> Baru akhirnya pada hari ke-14 terlihat kadar glukosa tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok. Hal ini mungkin terjadi karena persamaan mekanisme antara daun teh, jintan hitam, dan metformin yang dipaparkan sebelumnya. Hal tersebut adalah efek pada pencernaan, glukoneogenesis, serta ekspresi GLP-1. Selain itu, khusus pada kelompok perlakuan, terdapat persamaan juga yakni kemampuan sebagai antioksidan yang mengakibatkan degenerasi oksigen reaktif, serta proteksi pada sel  $\beta$ -pankreas pada tikus dan hewan coba setelah induksi secara kimiawi.<sup>77,84</sup>

Pada akhirnya, Gambar 4.6 menampilkan analisis selisih penurunan glukosa darah antar enam kelompok menunjukkan nilai signifikan perbedaan, terutama daun teh hijau 14 mg/KgBB lebih besar dari biji jintan hitam 28 mg/KgBB. Hal ini terjadi kemungkinan karena bahan aktif pada daun teh hijau lebih banyak dibandingkan ekstrak jintan hitam. Polifenol dapat ditarik dalam larutan air.<sup>73</sup> Sedangkan timokuinon hanya teridentifikasi pada pelarut etanol.<sup>94</sup>

Pemaparan seluruh mekanisme disimpulkan pada Gambar 4.7



**Gambar 4.7 Mekanisme terkait Penurunan Glukosa Darah**

Terdapat mekanisme yang beririsan pada metformin, daun teh hijau, dan biji jintan hitam untuk penurunan kadar glukosa darah.

### 4.3 Keterbatasan Penelitian

Selama proses penelitian ini, terdapat keterbatasan yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, yaitu:

1. Penelitian ini tidak mengidentifikasi secara pasti bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak dengan skrining fitokimia, sehingga tidak dapat mengetahui secara pasti komponen dalam ekstrak yang memengaruhi hasil penelitian.
2. Penelitian ini tidak melakukan uji toksisitas secara langsung untuk melihat kadar yang aman bagi hewan coba pada ekstrak yang digunakan pada penelitian ini.
3. Penelitian ini hanya membandingkan dua konsentrasi pada setiap jenis ekstrak sehingga tidak dapat melihat kecenderungan terkait *dose-response* ekstrak pada kadar glukosa darah.
4. Penelitian ini tidak melihat efek gabungan dari daun teh hijau dan biji jintan hitam.