

**EFEK *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE* TEH HIJAU  
TERHADAP FUNGSI MEMORI SPASIAL, KADAR  
MALONDIALDEHID, DAN TNF- $\alpha$   
(Studi Experimental pada Mencit Balb/c yang Diinduksi D-Galaktose)**

***THE EFFECT OF GREEN TEA EPIGALLOCATECHIN-3-  
GALLATE ON SPATIAL MEMORY FUNCTION,  
MALONDIALDEHYDE AND TNF- $\alpha$  LEVEL  
(An Experimental Study on Balb/c Mice Induced by D-Galactose)***



**Tesis  
Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-2**

**Ainun Rahmasari Gumay  
22010113410007**

**PROGRAM PASCASARJANA  
MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2016**

**TESIS**

**EFEK *EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE* TEH HIJAU TERHADAP FUNGSI  
MEMORI SPASIAL, KADAR MALONDIALDEHID, DAN TNF- $\alpha$   
(Studi Experimental pada Mencit Balb/c yang Diinduksi D-Galaktose)**

Disusun oleh :

Ainun Rahmasari Gumay, dr

NIM. 22010113410007

telah dipertahankan di depan Tim Penguji

pada tanggal 29 Januari 2016

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

**Menyetujui,**

Pembimbing,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.Dr.dr. Suprihati,M.Sc,Sp.THT-KL(K)

NIP. 195006211977032001

Dr.dr.Dwi Pudjonarko, M.Kes,Sp.S(K)

NIP. 196607201995121001

**Mengetahui,**

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Kisdjamiatun RMD, M.Sc

NIP. 196401301990032001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong *Plagiarism* sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No. 17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Januari 2016

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : dr. Ainun Rahmasari Gumay  
Tempat/ Tanggal Lahir : Ambarawa/ 17 September 1987  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Petompon 07 Semarang : Lulus tahun 1999
2. SLTP Negeri 3 Semarang : Lulus tahun 2002
3. SMA Negeri 3 Semarang : Lulus tahun 2004
4. Fakultas Kedokteran Undip Semarang : Lulus tahun 2010
5. Magister Ilmu Biomedik PPs Undip Semarang : (2013 – sekarang)

### C. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter Klinik MER-C Semarang (Oktober 2010 – Juli 2011)
2. Dokter Klinik Sehati Sampangan, Semarang (2010 – 2011)
3. CPNS Dosen Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Undip Semarang  
(1 Desember 2010 – 1 Desember 2012)
4. PNS Dosen Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Undip Semarang  
(1 Desember 2012 – sekarang)

**D. Riwayat Keluarga**

1. Nama Orang Tua :

Ayah : Ir. Ispen Safrel, M.Si

Ibu : Dra. Istyarini, M.Pd

2. Nama Suami : dr. Saekhol Bakri

3. Nama Anak : Irsyad Hanan Bakri

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul ”Efek *Epigallocatechin-3-Gallate* Teh Hijau terhadap Fungsi Memori Spasial, Kadar Malondialdehid, dan TNF- $\alpha$  (Studi Experimental pada Mencit Balb/c yang Diinduksi D-Galaktose)”. Tulisan ini merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna karena keterbatasan penulis. Namun karena bimbingan dan dorongan dari berbagai macam pihak, maka tulisan ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih, penghormatan, dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Sudharto P. Hadi, MES, Ph.D selaku rektor Universitas Diponegoro saat penulis memulai pendidikan (rektor periode 2010 – 2015) dan Prof. Dr. Yos Johan Utama, S.H., M.H selaku rektor Universitas Diponegoro saat ini, yang telah memberikan ijin bagi penulis untuk menempuh pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
2. dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K) selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro saat penulis memulai pendidikan (dekan periode 2010 – 2015) dan Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku dekan

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro saat ini yang juga telah memberikan izin bagi penulis untuk menempuh pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

3. Prof. Dr. dr. Tri Nur Kristina, DMM, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik saat penulis memulai pendidikan, dan Dr. dr. Kisdjamiatun RMD, M.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik saat ini, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
4. Dr. dr. Hardian selaku Ketua Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan izin serta bimbingan dan motivasi kepada penulis selama menempuh pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.
5. Prof. Dr. dr. Suprihati, M.Sc, Sp.THT-KL(K) selaku pembimbing utama dan Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes, Sp.S(K) selaku pembimbing kedua dalam penelitian tesis ini, yang dengan kesabaran, petunjuk, dan bimbingannya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik.
6. Tim penguji proposal maupun tesis, Prof.dr. Lisyani Suromo, Sp.PK(K) dan Dr. dr. Dodik Tugasworo, Sp.S(K), yang telah berkenan memberikan masukan dan arahan guna terselesaikannya penulisan tesis ini.
7. Rekan-rekan dan senior di bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Prof.dr. Zainal Muttaqin, Ph.D., Sp.BS, Dr. dr. Shofa Chasani, Sp.PD-KGH(K), dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K), dr. Yosef Purwoko,

M.Kes.,Sp.PD, dr. Budi Laksono, dr. Yuriz Bakhtiar, Ph.D, dr. Muflihatul Muniroh, Ph.D, dr. Gana Adyaksa, M.Si.Med, dr. Tanjung Ayu Sumekar, M.Si.Med, dan dr. Darmawati Ayu Indraswari, yang selalu memotivasi dan membantu penulis dalam menyelesaikan studi di Program Studi Magister Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Diponegoro Semarang.

8. Semua dosen staf pengajar Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro Semarang, yang senantiasa memberikan pengarahan, ilmu, dan dukungan moril selama mengikuti pendidikan magister dan penyusunan karya akhir ini.
9. dr. Ginus Partadiredja, M.Sc, Ph.D, dosen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada, yang banyak memberi arahan penulis selama melaksanakan penelitian di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
10. Analis Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gajah Mada Yogyakarta, Ibu Istini, Bapak Samidi, dan Bapak Bayu, yang telah banyak membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian.
11. Laboran di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta, Bapak Suparno, yang juga banyak membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian.
12. Kepada orang tua tercinta, Bapak Ir. Ispen Safrel, M.Si dan Ibu Dra. Istyarini, M.Pd, dan adik-adik, Luthfi Azizi Gumay, ST, dan Miftah Nur Azizah Gumay, penulis ucapkan terima kasih yang tak terhingga atas dorongan, pengertian, dukungan moril maupun materiil, serta doa tulusnya sehingga



penulis dapat menyelesaikan pendidikan Program Magister Ilmu Biomedik ini dengan baik.

13. Kepada bapak dan ibu mertua, Bapak H. Mad Thoyib, dan Ibu Hj. Saonah, penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas dukungan dan doa tulusnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan baik.

14. Kepada suami tercinta, dr. Saekhol Bakri, dan ananda tercinta, Irsyad Hanan Bakri, terima kasih atas semua kesabaran, pengertian, dukungan, dan doa tulusnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini dengan lancar.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tulisan ini masih sangat jauh dari sempurna, untuk itu penulis mengharapkan masukan dan saran dari semua pihak, agar penulis dapat memperbaikinya pada penulisan-penulisan ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis ucapkan mohon maaf yang sebesar-besarnya kepada semua pihak, bila dalam masa pendidikan maupun dalam pergaulan sehari-hari ada tutur kata dan sikap yang kurang berkenan di hati. Semoga rahmat hidayah dan lindungan-Nya senantiasa tercurah kepada kita semua. Amin.

Semarang, Januari 2016

Penulis

## ABSTRAK

**Latar belakang.** Stres oksidatif dan proses neuroinflamasi berperan dalam mekanisme *brain aging* dan penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer. *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) diketahui memiliki efek antioksidan, antiinflamasi, dan neuroprotektif.

**Tujuan.** Membuktikan efek EGCG teh hijau terhadap fungsi memori spasial, status stres oksidatif, dan neuroinflamasi pada mencit Balb/c yang diinduksi D-galaktose.

**Metode.** Penelitian experimental dengan "*post test only control group design*", menggunakan 18 ekor mencit Balb/c jantan usia 6-8 minggu, dibagi dalam 3 kelompok. Kelompok kontrol (K) diinduksi D-galaktose 150 mg/kgBB subkutan setiap hari selama 6 minggu. Kelompok perlakuan P1 dan P2 diinduksi D-galaktose dan diberi EGCG oral 2 mg/kgBB dan 6 mg/kgBB selama 5 minggu. Indikator yang diperiksa adalah fungsi memori spasial (*morris water maze*), kadar MDA dan TNF- $\alpha$  hipokampus dengan Elisa. Uji beda antar kelompok menggunakan *One-way Anova* dan *Kruskal-Wallis*. Uji korelasi menggunakan *Pearson*.

**Hasil.** Rerata % waktu latensi dan jarak tempuh mencit pada kelompok EGCG 2 mg/kgBB {42,02(SD=5,9);43,47(SD=5,97)%} dan 6 mg/kgBB {40,45(SD=6,5); 41,78(SD=6,77)%} lebih tinggi dari kontrol {28,68(SD=9,15);32,98(SD=7,75)%} dan berbeda bermakna ( $p=0,013$ ;  $p=0,04$ ). Rerata kadar MDA kelompok EGCG 2 mg/kgBB {587,79(SD=76,04)ng/ml} lebih kecil dari kontrol {722,64(SD=134,78)ng/ml} dan berbeda bermakna ( $p=0,037$ ). Rerata kadar TNF- $\alpha$  pada semua kelompok tidak berbeda ( $p=0,786$ ). Terdapat korelasi yang bermakna dan kuat antara kadar MDA dan fungsi memori spasial ( $r=-0,551$ ;  $p=0,018$ ).

**Simpulan.** EGCG terbukti mampu memperbaiki fungsi memori spasial dan status stres oksidatif, tetapi tidak terbukti mampu memperbaiki status neuroinflamasi pada mencit yang diinduksi demensia.

**Kata kunci.** *Epigallocatechin-3-gallate* teh hijau, fungsi memori spasial, MDA, TNF- $\alpha$ , D-galaktose

## ABSTRACT

**Background.** Oxidative stress and neuroinflammation process play an important role in the mechanism of brain aging and neurodegenerative diseases such as Alzheimer. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) are known to have antioxidant, anti-inflammatory, and neuroprotective effects.

**Objective.** To prove the effect of green tea EGCG on spatial memory function, oxidative stress, and neuroinflammation in Balb/c mice induced by D-galactose.

**Method.** An experimental study using "post test only control group design". The samples were 18 male Balb/c mices, aged 6-8 weeks, divided into 3 groups. Group K (control) was induced by subcutaneous injection of D-galactose (150 mg/kg) once daily for 6 weeks. P1 and P2 was induced by D-galactose and orally administered by 2 and 6 mg/kg EGCG once daily for 5 weeks. The indicator of examination were the spatial memory function using morris water maze, MDA and TNF- $\alpha$  level using Elisa. One-way Anova, Kruskal-Wallis, and Pearson were used for statistical analysis.

**Result.** Means of % escape latency time and path length in the EGCG group with dose 2 mg/kg {42,02(SD=5,9);43,47(SD=5,97)%} and 6 mg/kg {40,45(SD=6,5); 41,78(SD=6,77)%} were higher than K {28,68(SD=9,15);32,98(SD=7,75)%} and significantly different ( $p=0,013$ ;  $p=0,04$ ). MDA level in the EGCG group 2 mg/kg {587,79(SD=76,04)ng/ml} was significantly smaller than K {722,64(SD=134,78)ng/ml,  $p=0,037$ }. TNF- $\alpha$  level in all groups was not different ( $p=0,786$ ). There was a significant and strong correlation between MDA level and spatial memory function ( $r=-0,551$ ;  $p=0,018$ ).

**Conclusion.** EGCG may improve spatial memory function and oxidative stress in mice induced dementia, but it may not improve the status of neuroinflammation.

**Keyword.** Green tea epigallocatechin-3-gallate, spatial memory function, MDA, TNF- $\alpha$ , D-galactose

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xviii</b>
 <b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
1.5 Orisinalitas.....	7
 <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1..Demensia Akibat Penyakit Alzheimer .....	11
2.1.1. Definisi dan diagnosis demensia.....	11
2.1.2. Klasifikasi demensia .....	12
2.1.3. Gangguan fungsi kognitif dan proses penuaan ( <i>brain aging</i> ), dan neuroinflamasi.....	13

2.1.4. Demensia Alzheimer.....	16
2.1.5. Fungsi D-galaktose dalam pembuatan model hewan coba dengan gangguan fungsi neuro kognitif.....	17
2.2.. Fungsi Neurokognitif.....	20
2.2.1 Definisi dan klasifikasi fungsi neurokognitif .....	20
2.2.2 Fungsi memori spasial dan peran hipokampus.....	22
2.2.3 Tahapan fungsi kognitif pada usia lanjut.....	24
2.3 Malondialdehid (MDA) sebagai Produk Hasil Stres Oksidatif.....	25
2.4 TNF- $\alpha$ : Neuroinflamasi dan <i>Excitotoxicity</i> .....	28
2.5 <i>Epigallocatechin-3-gallate</i> (EGCG) Teh Hijau .....	31
2.5.1 Polifenol teh hijau .....	31
2.5.2 Peran <i>epigallocatechin-3-gallate</i> teh hijau terhadap fungsi memori spasial dan neuroprotektif.....	33
2.6 Kerangka Teori.....	36
2.7 Kerangka Konsep .....	37
2.8 Hipotesis .....	37

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Ruang Lingkup Penelitian .....	38
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	38
3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	38
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian .....	40
3.4.1 Populasi penelitian.....	40
3.4.2 Sampel penelitian .....	40

3.4.2.1	Besar sampel.....	40
3.4.2.2	Cara pengambilan sampel.....	42
3.5	Variabel Penelitian .....	43
3.5.1	Variabel bebas .....	43
3.5.2	Variabel tergantung .....	43
3.5.3	Variabel perantara.....	43
3.6	Definisi Operasional .....	43
3.7	Alat dan Bahan .....	44
3.8	Cara Kerja .....	45
3.8.1	Pengadaan <i>epigallocatechin-3-gallate</i> (EGCG) teh hijau dan penghitungan dosis.....	45
3.8.2	Pembagian kelompok.....	46
3.8.3	Induksi D-galaktose .....	46
3.8.4	Prosedur pengujian memori spasial dengan <i>morris water maze</i> (MWM).....	47
3.8.5	Pengambilan sediaan jaringan hipokampus otak .....	50
3.8.6	Pembuatan supernatan jaringan hipokampus otak .....	51
3.8.7	Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$ dengan ELISA.....	51
3.8.8	Pemeriksaan kadar MDA dengan ELISA .....	51
3.9	Alur Penelitian .....	52
3.10	Analisis Data .....	53
3.11	Etika Penelitian .....	54

**BAB IV HASIL PENELITIAN**

4.1	Gambaran umum .....	55
4.2	Efek EGCG terhadap fungsi memori spasial pada pemeriksaan <i>morris water maze</i> (MWM).....	56
4.3	Efek EGCG terhadap kadar Malondialdehid (MDA) .....	66
4.4	Efek EGCG terhadap kadar TNF- $\alpha$ .....	68
4.5	Korelasi antar variabel.....	69

**BAB V PEMBAHASAN ..... 73****BAB VI SIMPULAN DAN SARAN**

6.1	Simpulan .....	83
6.2	Saran .....	83

**DAFTAR PUSTAKA ..... 84****LAMPIRAN..... 90**

**DAFTAR GAMBAR**

1.	Peran TNF- $\alpha$ dalam proses neuroinflamasi dan <i>excitotoxicity</i> .....	30
2.	Diagram klasifikasi polifenol teh hijau dan struktur kimia dari katekin.....	33
3.	Kerangka teori.....	36
4.	Kerangka konsep.....	37
5.	Skema rancangan penelitian.....	39
6.	Alur Penelitian .....	52
7.	Grafik perbandingan waktu latensi mencit pada fase latihan.....	60
8.	Grafik perbandingan jarak tempuh mencit pada fase latihan.....	60
9.	Grafik perbandingan rerata % waktu tempuh mencit fase <i>probe trial</i> .....	63
10.	Grafik perbandingan rerata % jarak tempuh mencit fase <i>probe trial</i> .....	65
11.	Grafik perbandingan rerata kadar MDA (ng/ml) antar kelompok .....	68
12.	Diagram pancar korelasi kadar MDA (ng/ml) dan fungsi memori spasial..	70
13.	Diagram pancar korelasi kadar TNF- $\alpha$ (pg/ml) dan fungsi memori spasial	71
14.	Diagram pancar korelasi kadar MDA (ng/ml) dan TNF- $\alpha$ (pg/ml) .....	72
15.	Kurva standar MDA.....	95
16.	Kurva standar TNF- $\alpha$ .....	97



## DAFTAR TABEL

1.	Penelitian yang berhubungan dengan EGCG, fungsi kognitif, dan neuroinflamasi. ....	7
2.	Definisi operasional .....	43
3.	Hasil penilaian waktu latensi mencit pada fase <i>visual testing</i> (detik) .....	56
4.	Hasil penilaian jarak tempuh mencit pada fase <i>visual testing</i> (meter) .....	56
5.	Hasil penilaian waktu latensi mencit pada fase latihan (detik) .....	58
6.	Hasil penilaian jarak tempuh mencit pada fase latihan (meter) .....	58
7.	Hasil % waktu tempuh mencit pada fase " <i>probe trial</i> " .....	61
8.	Perbandingan % waktu tempuh mencit pada fase " <i>probe trial</i> " .....	62
9.	Hasil % jarak tempuh mencit pada fase " <i>probe trial</i> " .....	63
10.	Perbandingan % jarak tempuh mencit pada fase " <i>probe trial</i> " .....	64
11.	Hasil penghitungan kadar MDA jaringan hipokampus (ng/ml) .....	66
12.	Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> kadar MDA antar kelompok .....	67
13.	Hasil penghitungan kadar TNF- $\alpha$ jaringan hipokampus (pg/ml) .....	68
14.	Hasil uji korelasi <i>Pearson</i> antar variabel .....	69
15.	Konversi dosis antar spesies.....	94
16.	Data pengamatan absorbansi standar MDA.....	95
17.	Data pengamatan absorbansi dan kadar MDA.....	96
18.	Data Pengamatan Absorbansi Standar TNF- $\alpha$ .....	96
19.	Data pengamatan absorbansi dan kadar TNF- $\alpha$ .....	97

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran 1.</b> <i>Ethical Clearance</i> .....	90
<b>Lampiran 2.</b> Surat Ijin Penelitian .....	91
<b>Lampiran 3.</b> Penentuan Dosis EGCG Teh Hijau.....	94
<b>Lampiran 4.</b> Hasil Perhitungan Kadar MDA dan TNF- $\alpha$ dengan Elisa Kit .....	95
<b>Lampiran 5.</b> Output SPSS .....	98